

Produksi Fitohormon Asam Giberelat (GA₃) oleh *Aspergillus* sp. IIRTA Asal Tanah Gambut Riau pada Variasi Waktu Inkubasi dan Agitasi

Atria Martina, Rodesia Mustika Roza, Wahyu Lestari, Julika Syafriani.

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau

Email: atria..martina@lecturer.unri.ac.id

Abstrak

Asam giberelat (GA₃) merupakan fitohormon yang mampu meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan. GA₃ merupakan komponen dominan dalam kompleks enzim giberelin dan dapat diisolasi dari jamur. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi waktu inkubasi dan agitasi optimum pada *Aspergillus* sp. II RTA asal tanah gambut Riau terhadap produksi GA₃. Inokulum ditumbuhkan pada medium Czapek Dox Broth (CDB) secara fermentasi bawah permukaan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan perlakuan waktu inkubasi (5, 7, 9 hari) dan pemberian agitasi serta non agitasi. Jumlah GA₃ yang dihasilkan diukur menggunakan spektrofotometri. Kondisi optimum produksi asam giberelat adalah pada kondisi agitasi dengan waktu inkubasi 7 hari yaitu 6,725 g L⁻¹. Produksi asam giberelat berkorelasi negatif dengan pH akhir medium fermentasi.

Kata Kunci:

asam giberelat,
fitohormon,
Aspergillus,
agitasi.

PENDAHULUAN

Asam giberelat (GA₃) adalah salah satu dari kelompok giberelin yang merupakan hormon pertumbuhan. GA₃ berfungsi sebagai zat pengatur tumbuh terutama untuk pemanjangan sel, germinasi biji, pembungaan, meningkatkan ukuran dan pematangan buah (Camara *et al*, 2018; Rangaswamy, 2012). Pemberian GA₃ sebelum panen dapat mengontrol pembusukan buah (Kinay *et al*, 2005) sedangkan pemberian GA₃ pasca panen pada buah berperan dalam memperlambat pematangan dan menunda pemasakan (Baldwin, 2003). Asam giberelat merupakan produk bioteknologi penting dan bernilai tinggi yang banyak diproduksi secara komersial untuk industri pertanian dan hortikultura (Hasan 2002).

Produksi asam giberelat sebagai zat pengatur tumbuh secara industri dapat dihasilkan melalui sintesis kimia (Hook *et al*. 1990) ataupun melalui ekstraksi dari tanaman (Musbakri 1990) namun kedua metode tersebut tidak ekonomis sehingga fermentasi bawah permukaan lebih disukai untuk produksi GA₃ dalam skala besar (Luthra *et al*. 2015) Beberapa mikroorganisme mampu menghasilkan asam giberelat dalam jumlah yang tinggi dan tentunya dengan biaya yang lebih rendah. Kelompok mikroorganisme mampu menghasilkan asam giberelat seperti bakteri dan jamur (Rodrigues *et al.*, 2009). Jamur memiliki potensi yang lebih baik dan lebih aktif dalam menghasilkan asam giberelat baik pada kultur murni maupun berasosiasi dengan tanaman (Agustian *et al*. 2010). Dalam skala industri sebagian besar GA₃ diproduksi oleh jamur *Fusarium fujikuroi* (Sivakumar *et al*. 2010). Beberapa jamur juga memiliki kemampuan memproduksi GA₃ seperti *Paecilomyces formosus* (Luthra *et al.*, 2015),

Diterima:

16 September 2018

Dipresentasikan:

22 September 2018

Disetujui Terbit:

10 Desember 2018

Aspergillus niger (Bilkay *et al.*, 2010), *Aspergillus sp.* NPF7 (Pandya *et al.*, 2018). Martina *et al.* (2016) mendapatkan 15 isolat jamur lokal Riau diantaranya *Aspergillus sp.*IIRTA, *Aspergillus fumigatus* KP, *Penicillium* PNE4 yang mampu menghasilkan asam giberelat.

Produksi asam giberelat (GA_3) oleh jamur tergantung pada kondisi pertumbuhannya. Kondisi pertumbuhan yang dibutuhkan jamur dalam menghasilkan GA_3 meliputi beberapa faktor seperti komposisi medium, pH, waktu inkubasi dan ada tidaknya agitasi (Machado *et al.* 2012; Muddapur *et al.* 2015). Waktu inkubasi optimal untuk produksi GA_3 menggunakan *F. moniliforme* adalah pada hari ke-7 (Panchal 2016) sedangkan *F. fujikuroi* SG.2 pada hari ke-9 (Ludhandhi *et al.* 2010). Pemberian agitasi dalam fermentasi lebih meningkatkan hasil produksi asam giberelat, karena agitasi membuat medium homogen dan menyediakan kondisi pertumbuhan yang lebih baik (Bilkay *et al.* 2010). Namun penggunaan agitasi dalam skala industri akan menambah biaya lebih tinggi, karena membutuhkan energi yang lebih besar.

Pada penelitian ini digunakan *Aspergillus sp.*IIRTA bersifat termotoleran yang telah diketahui memiliki kemampuan menghasilkan asam giberelat. Namun waktu inkubasi optimum dan pengaruh agitasi dalam menghasilkan asam giberelat oleh isolat belum diketahui. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk menentukan kondisi optimum isolat dalam menghasilkan asam giberelat.

METODE

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan pada penelitian antara lain adalah kultur *Aspergillus sp.*IIRTA koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau, medium Potato Dextrose Agar (PDA), medium Czapek Dox Broth (CDB), asam giberelat (Sigma), etanol absolut, HCl dan akuades. Peralatan yang digunakan antara lain adalah pipet volume, autoklaf, sentrifus, orbital shaker dan spektrofotometer UV-Visible SHIMADZU UV-1800.

Pemeliharaan kultur dan pembuatan disk kultur

Aspergillus sp. IIRTA asal tanah gambut Riau ditumbuhkan pada medium PDA miring dengan metode streak. Kultur diinkubasi selama 5-7 hari. Kultur dibuat dua seri sebagai stok kultur dan stok kerja. Stok kultur disimpan dalam refrigerator.

Pembuatan disk kultur dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat pada medium PDA di cawan petri selama 7 hari dengan metode totol. Koloni yang tumbuh diambil pada bagian pinggirnya dan dibuat disc berdiameter 6 mm.

Fermentasi untuk produksi GA_3

Sebanyak 4 potongan disc culture diinokulasikan ke dalam erlenmeyer 100 ml yang berisi 50 ml medium CDB. Kultur diinkubasi dengan variasi waktu 5 hari, 7 hari, 9 hari pada suhu ruang yang diagitasi menggunakan orbital shaker dengan kecepatan 150 rpm dan tanpa agitasi. Diakhir masa inkubasi dilakukan pengukuran pH medium fermentasi. Produksi asam giberelat yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer dan dilakukan pembuatan kurva standar.

Ekstraksi dan Analisis Produksi GA_3

Ekstraksi GA₃ dilakukan menggunakan metode menurut Berrios *et al.* (2004), kultur yang telah diinkubasi sesuai perlakuan disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 28°C untuk memperoleh supernatan. Supernatan diambil sebanyak 1 ml dan ditempatkan dalam labu ukur 10 ml lalu ditambahkan etanol absolut sebanyak 1 ml. HCL 3,75 M ditambahkan ke dalam labu ukur hingga mencapai 10 ml dan digoyang selama 10 detik. GA₃ yang dihasilkan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 254 nm. Jumlah produksi GA dikalkulasi berdasarkan kurva standar menggunakan GA₃ standar (Sigma).

Pembuatan Kurva Standar GA₃

Larutan standar dibuat dengan melarutkan 0,5 g GA₃ standar dalam alkohol absolut dan diencerkan hingga 50 ml. Kurva standar dibuat dengan menggunakan larutan standar GA₃ pada konsentrasi 1000 µg/ml, 3000 µg/ml, 5000 µg/ml, 7000 µg/ml dan 9000 µg/ml. Larutan standar diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Analisis Statistik

Data yang diperoleh dari hasil 4 ulangan dianalisis secara statistik dengan ANOVA menggunakan SPSS versi 16.0 Data yang diperoleh kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi waktu inkubasi dan agitasi

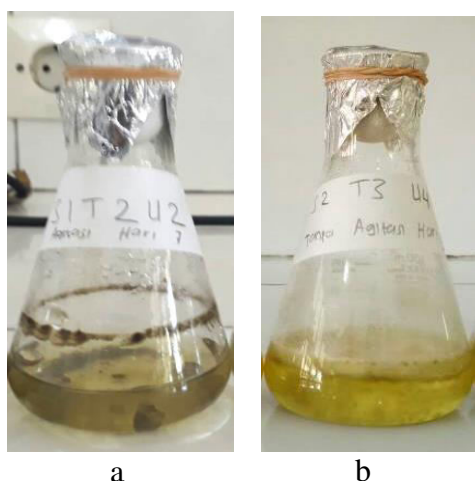
Jamur *Aspergillus* sp.IIRTA isolat lokal Riau dari tanah gambut mampu menghasilkan GA₃ pada medium CDB yang diagitasi. Pengaruh waktu inkubasi dan pemberian agitasi terhadap produksi GA₃ dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Produksi GA₃ (g L⁻¹) oleh *Aspergillus* sp.II RTA pada medium CDB

Perlakuan	Waktu Inkubasi (hari)		
	5	7	9
Agitasi	5,912c ± 0,161	6,725d ± 0,100	5,760c ± 0,068
Tanpa agitasi	5,036b ± 0,139	5,292b ± 0,093	4,291a ± 0,387

Tabel 1 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara masing-masing perlakuan terhadap produksi GA₃, kecuali pada pemberian agitasi di hari ke-5 dengan hari ke-9. Perlakuan tanpa agitasi hari ke-5 juga menunjukkan hasil tidak berbeda nyata dengan tanpa agitasi hari ke-7. Konsentrasi GA₃ tertinggi diperoleh pada kondisi agitasi dengan waktu inkubasi 7 hari yaitu 6,725 mg ml⁻¹, sedangkan pada produksi asam giberelat terendah terdapat pada kondisi tanpa agitasi waktu inkubasi 9 hari yaitu 4,291 mg mL⁻¹. Kultur fermentasi produksi GA oleh isolat dapat dilihat pada Gambar 1. Konsentrasi GA₃ tertinggi pada penelitian ini melebihi hasil yang diperoleh Sleem (2013), yang melaporkan bahwa *F. fujikuroi* hanya menghasilkan asam giberelat pada konsentrasi 0,462 g L⁻¹ di bawah kondisi agitasi dan 0,116 g/L pada kondisi statis. Berdasarkan penelitian Bilkay *et al.* (2010), produksi asam giberelat oleh *Aspergillus niger* pada kondisi agitasi sebanyak 250 mg L⁻¹ sedangkan

pada kondisi statis produksi asam giberelat sebanyak 100 mg L^{-1} . Pandya *et al* (2018) mendapatkan produksi GA_3 sebesar $184.11 \mu\text{g mL}^{-1}$ menggunakan *Aspergillus sp.* NPF7.



Gambar 1. Kultur fermentasi *Aspergillus sp.* IIRTA pada medium CDB diberi agitasi. a. Hari ke-7. b. Hari ke-9

Pada penelitian ini, meskipun hasil produksi asam giberelat tanpa diagitasi memiliki konsentrasi terendah ($4,291 \text{ mg mL}^{-1}$) namun hasil tersebut tergolong tinggi dibandingkan penelitian lainnya yang diberi agitasi sehingga berpotensi untuk digunakan agar mengurangi biaya operasi. Penggunaan agitasi mudah untuk dilaksanakan, akan tetapi untuk skala industri perlu mendapat perhatian. Hal ini dikarenakan agitasi banyak menyerap biaya operasi untuk energi. Menurut Rodrigues *et al.* (2011) tujuan utama dari agitasi adalah untuk memasok oksigen yang diperlukan mikroorganisme untuk mencapai kegiatan metabolisme yang tepat, menjaga mikroorganisme dalam suspensi, dan mengurangi viskositas sehingga dapat meningkatkan produksi senyawa yang diinginkan. Lale *et al.* (2006) menyatakan produksi asam giberelat akan cenderung lebih rendah pada kondisi statis dibandingkan pada kondisi agitasi. Hal ini dikarenakan jamur memiliki miselium yang dapat menutupi seluruh permukaan media sehingga oksigen tidak dapat masuk dan menyebabkan viskositas berlebihan dalam media fermentasi. Luthra *et al.* (2015) menyatakan biosintesis gibberelin melibatkan banyak tahap oksidatif yang dikatalis oleh sitokrom P450 monooksigenase, dioksigenase dan dehidrogenase. Agitasi yang cukup untuk produksi oksigen merupakan hal yang kritical untuk produksi GA_3 . Fermentasi yang diberi agitasi akan memberikan level oksigen yang cukup. Pada penelitiannya produksi GA_3 maksimum oleh *G. fujikuroi* dihasilkan pada kecepatan 240 rpm. Sementara Sleem (2013) menyatakan produksi asam giberelat meningkat dengan meningkatnya kecepatan agitasi sampai kecepatan maksimum 200 rpm (0.462 g/l).

Biosintesis asam giberelat (GA_3) merupakan jalur metabolisme sekunder. Produksi (GA_3) didahului dengan pembentukan antrakuinon, bikaverin dan fusarin C bersamaan dengan GA_3 . Diantara metabolit sekunder ini, jumlah bikaverin perlu dibatasi untuk meningkatkan hasil dan produktivitas (GA_3) (Sukhla *et al.*, 2003). Hal ini dapat diatasi dengan cara mengkultivasi isolat jamur pada kondisi yang sesuai. Menurut Shukla *et al.*, (2003) aerasi dengan kecepatan tinggi dapat menurunkan produksi fusarin C sehingga dapat menstimulasi pertumbuhan dan produksi asam giberelat.

Produksi GA₃ oleh *Aspergillus* sp. IIRTA tertinggi diperoleh pada kondisi agitasi hari ke 7. Hal ini diduga karena isolat berada pada fase stasioner. Hasil ini sama dengan penelitian Johnsen dan Codbaugh (1990) yang melaporkan bahwa hari ke-7 adalah waktu inkubasi optimum untuk produksi asam giberelat menggunakan *Gibberella fujikuroi*. Lale *et al.* (2010) menyatakan produksi asam giberelat oleh jamur telah dimulai dari awal fermentasi dengan produksi optimal pada saat mendekati fase akhir pertumbuhan atau selama fase stasioner dan kemudian menurun setelah itu.

pH akhir medium

Pengukuran pH akhir medium dilakukan setelah proses fermentasi selama 5 hari, 7 hari, dan 9 hari inkubasi pada kondisi agitasi dan tanpa agitasi menggunakan medium CDB. pH akhir medium fermentasi produksi GA₃ dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. pH akhir medium fermentasi setelah diinkubasi pada kondisi agitasi dan tanpa agitasi

Perlakuan	Waktu Inkubasi (hari)		
	5	7	9
Agitasi	6,27 ^b ± 0,050	6,00 ^a ± 0,082	6,50 ^c ± 0
Tanpa agitasi	6,77 ^e ± 0,050	6,70 ^d ± 0	6,82 ^e ± 0,050

pH akhir medium fermentasi menunjukkan perbedaan yang signifikan antara masing-masing perlakuan, kecuali perlakuan tanpa agitasi hari ke-5 dan tanpa agitasi hari ke-9 yang menunjukkan tidak berbeda nyata, namun perlakuan tanpa agitasi hari ke-9 merupakan perlakuan yang memiliki pH akhir medium tertinggi sedangkan perlakuan waktu inkubasi 7 hari dengan agitasi memiliki adalah pH yang terendah.

Pada Tabel 2 terlihat bahwa pH akhir medium cenderung mengalami kenaikan. Menurut Raimbault (1998), pH akhir kultur cenderung berubah untuk merespon aktifitas metabolik. Kenaikan pH pada semua perlakuan diduga terjadi karena adanya pembentukan amonia dengan memanfaatkan sumber nitrogen, baik yang terdapat pada sumber nitrogen yang digunakan yaitu sodium nitrat maupun yang berasal dari hasil mekanisme autolisis sel jamur.

Berdasarkan hasil uji korelasi, diketahui bahwa antara pH akhir medium dengan konsentrasi asam giberelat yang dihasilkan memiliki nilai signifikan 0,000. Nilai signifikan yang diperoleh < 0,05, sehingga dapat dinyatakan antara pH akhir medium berkorelasi negatif dengan konsentrasi asam giberelat .

SIMPULAN

Produksi asam giberelat oleh *Aspergillus* sp. IIRTA yang optimum terdapat pada pemberian agitasi dengan waktu inkubasi 7 hari yaitu sebesar 6,725 g L⁻¹. Pada akhir fermentasi terjadi kenaikan pH medium di semua perlakuan. Konsentrasi asam giberelat berkorelasi negatif dengan pH akhir medium fermentasi

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh DIPA Universitas Riau. Penulis mengucapkan terimakasih kepada LPPM Universitas Riau sebagai penyandang dana.

DAFTAR RUJUKAN

- Agustian, Nuriyani, Maira L, Emalinda O. 2010. Rizobakteria Penghasil Fitohormon IAA pada Rhizosfir Tumbuhan Semak Karamunting, Tironia, dan Tanaman Pangan. *J Solum* 7(1):49-60
- Baldwin E.A. 2003. *Coatings and Other Supplemental Treatments to Maintain Vegetable Quality*. In: Bartz J, Brecht J (Eds), *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*. Marcel Dekker. New York. 413-35.
- Berrios J., Illanes A., Aroca G. 2004. Spectrophotometric Method for Determining Gibberellic Acid in Fermentation Broths. *Biotechnology Letters* 26:67-70
- Bilkay I.S, Karakoc S., Aksoz N. 2010. Indole-3-acetic acid and Gibberellic Acid Production in *Aspergillus niger*. *Turkish Journal of Biology* 34:313-318
- Camara M.C., Vandenberghe L.P.S., Rodrigues C., Oliveira J., Faulds C., Bertrand E., Soccol C.R., 2018. Current Advances In Gibberellic Acid (GA3) Production, Patented Technologies and Potential Applications. *Planta*. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2959-x>
- Hasan H.A.H., 2002. Gibberellin and Auxin Production By Plant Root-Fungi and Their Biosynthesis Under Salinity-Calcium Interaction. *Rostlinna Vyroba* 3:101-106
- Johnson S.W, Coolbaugh R.C. (1990). Light-Stimulated Gibberellin Biosynthesis in *Gibberella fujikuroi*. *Plant Physiol* .94: 1696-1701
- Khan A.L, Hamayun M., Kang S.M., Kim Y., Jung H., Lee J.H., Lee I. 2012. Endophytic Fungal Association via Gibberellins And Indole Acetic Acid can Improve Plant Growth Under Abiotic Stress: An Example of *Paecilomyces formosus* LHL10. *BMC Microbiology*. 12(3):1-14
- Kinay P., Yildiz F., Sen F., Yildiz M., Karacali I. 2005. Intregation of Pre- and Postharvest Treatment to Minimize *Penicillium* Decay of Satsuma Mandarins. *Postharvest Biology and Technology*. 37:31-6.
- Luthra U., Trivedi A., Khadpekar S., Shetty A., Kumar H., 2010. Optimization Of Medium And Physical Parameters For The Bioproduction Of Gibberellic Acid by Submerged Fermentation Using *Gibberella Fujikuroi* At Shake Flask Level. *International Journal of Emerging Technology & Research*.2(5):77-84
- Lale G., Gadre R. 2010. Enhanced Production of Gibberellin A4 (Ga₄) By A Mutant of *Gibberella Fujikuroi* in Wheat Gluten Medium. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 37:297–306.
- Ludhandi S., Kathikeyan S., Sabarinathan K.G. 2010. Gibberellic acid production by *Fusarium fujikuroi* SG2. *J. Sci. Ind Res*. 69:211-214.
- Machado C.M.M, Soccol C.R, Oliveira B.H.D, Pandey A. 2012. Gibberellic Acid Production by Solid-State Fermentation in Coffee Husk. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 102:179-191.
- Martina A., Lestari W., Roza R.M. 2016. *Produksi Giberelin Dalam Biokontrol oleh Jamur Selulolitik dan Ligninolitik Indigenus Riau Sebagai Upaya Pengembangan Biofertilizer* [Laporan PNB]. LPPM, Universitas Riau. Pekanbaru.
- Muddapur U.M, Gadkari M.V, Kulkarni S.M, Sabannavar P.G, Niyonzima F.N and Sunil S. 2015. Isolation And Characterization of Gibberellic Acid 3 Producing *Fusarium*

- sp. from Belgaum Agriculture Land Andits Impact on Green Pea and Rice Growth Promotion. *Aperito J Adv Plant Biol* 1(2):1-9
- Panchal R.R. 2016. Study of Gibberellic Acid Production by Submerged Fermentation using *Fusarium moniliforme*, Sheldon. *International Journal of Scientific Research* 3(10):113-116
- Pandya N. D., Desai P. V., Jadhav H. P., Sayyed R. Z. 2018. Plant Growth Promoting Potential of *Aspergillus* sp. NPF7, Isolated from Wheat Rhizosphere in South Gujarat, India. *Environmental Sustainability*. <https://doi.org/10.1007/s42398-018-0025>.
- Raimbault M, Soccol C.R, Chuzel G. 1998. International Training Course on Solid State Fermentation. Montpellier France: Document ORSTOM.
- Rangaswamy V., 2012. Improved Production of Gibberellic Acid by *Fusarium moniliforme*. *J Microbiol Res* 2(3):51-55): 014.
- Rodrigues C., Vandenberghea L.P.S., de Oliveiraa J., Soccola C.R.. 2016. Production, extraction and Purification of Gibberellic Acid by Solid State Fermentation Using Citric Pulp and Soy Husk. *BAOJ Chem.* 2:2.014
- Sivakumar U., Karthikeyan S., Sabarinathan K.G., 2010. Gibberellic Acid Production by *Fusarium fujikuroi* SG2. *Scientific and Industrial Research Journal* . 69:211-214.
- Sleem D.A.E. ,2013. *Studies on the Bioproduction of Gibberellic Acid from Fungi* . Thesis. Botany Department Faculty of Science. Benha University.
- Shukla R., Srivasta A.K., Chands. 2003. Bioprocess Strategies and Recovery Process in Gibberellic Acid Fermentation. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 8:269-278