



dapat diakses melalui <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo>



Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Tumbuhan Paku *Asplenium nidus*.

Suhartina^a, Febby E.F. Kandou^{a*}, Marina F.O. Singkoh^{a*}

^aJurusan Biologi, FMIPA, Unsrat, Manado

KATA KUNCI

K Jamur endofit
Asplenium nidus
Tumbuhan Paku
Isolasi
Identifikasi

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi jamur endofit pada tumbuhan paku *Asplenium nidus*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolasi jamur endofit, pemurnian jamur endofit, dan identifikasi jamur endofit secara makroskopik dan mikroskopik. Hasil isolasi dan pemurnian jamur endofit diperoleh lima isolat jamur endofit yaitu AN1, AN2, AN3, AN4 dan AN5. Teridentifikasi sebagai genus *Gliocladium*, *Neoscytalidium*, *Humicola*, *Phialophoroides* dan *Aspergillus*.

KEYWORDS

Endophytic Fungus
Asplenium nidus
Fern
Isolation
Identification

ABSTRACT

This study aims to isolate and identify endophytic fungi in *Asplenium nidus*. The method used in this research is endophytic fungal isolation, purification of endophytic fungi, and identification of macroscopic and microscopic endophytic fungi. Results of isolation and purification of endophytic fungi obtained five endofit fungal isolates are AN1, AN2, AN3, AN4 and AN5. Identified as genus *Gliocladium*, *Neoscytalidium*, *Humicola*, *Phialophoroides* and *Aspergillus*.

TERSEDIA ONLINE

01 Agustus 2018

1. Pendahuluan

Tumbuhan paku-pakuan merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai obat. Secara tradisional, tumbuhan paku digunakan masyarakat sebagai obat antibakteri, obat malaria, pencahar, obat penghenti pendarahan, obat pasca persalinan, obat penyakit kulit dan antiradang (Arini dan Kinho, 2012). Dalam penelitian ekstrak tumbuhan paku *Selaginella delicatula* dan *Hymenophyllum* sp. (Oroh et al., 2014), *Adiantum capillus-veneris* dan *Asplenium nidus* (Kandou dan Pandiangan, 2018) dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Djoronga et al. (2014) dan Ondo et al. (2013) menyatakan bahwa pada tumbuhan paku-pakuan memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, triterpenoid, saponin, dan steroid.

Mikroorganisme endofit secara alami hidup di dalam jaringan tumbuhan, namun tidak memberikan dampak negatif terhadap tumbuhan tersebut (Tan and Zou, 2001). Mikroorganisme endofit dapat berupa bakteri atau jamur, namun yang paling banyak ditemukan adalah jamur (Simarmata et al., 2007).

Jamur endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman inangnya dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan yang dihasilkan oleh tanaman inangnya (Radji, 2005), contohnya jamur endofit yang berhasil diisolasi dari tumbuhan taxus juga memiliki kemampuan yang sama untuk memproduksi senyawa taxol (Strobel dan Daisy 2003). Jamur endofit dikenal sebagai sumber metabolit sekunder berupa enzim atau senyawa bioaktif lainnya sehingga perlunya mengisolasi dan mengidentifikasi jamur endofit tersebut dari inangnya. Tujuan penelitian yaitu mengisolasi dan mengidentifikasi jamur endofit pada tumbuhan paku *Asplenium nidus*.

2. Material dan Metode

Isolasi Jamur Endofit

Sampel yang digunakan adalah daun dari tumbuhan paku tersebut, dipilih daun yang segar dan tidak bercacat (tidak bernoda/bercak-bercak). Daun dipotong dengan ukuran 1cm x 1cm dengan pisau steril. Selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan yaitu potongan daun dicuci dibawah air mengalir selama ± 5 menit. Sampel daun direndam dalam alkohol 70 % selama 1 menit, kemudian direndam dalam larutan natrium hipokloit selama 5

*Corresponding author: Jurusan Biologi FMIPA UNSRAT, Jl. Kampus Unsrat, Manado, Indonesia 95115

Email address: febykandou@unsrat.ac.id

Published by FMIPA UNSRAT (2018)

menit lalu direndam kembali ke dalam alkohol 70 % selama 30 detik dan terakhir dibilas dengan akuades steril selama 3-5 detik. Potongan daun yang telah disterilisasi kemudian diletakkan di atas kertas saring.

Potongan daun ditempatkan pada cawan petri yang berisi media PDA. Penanaman sampel dilakukan secara duplo, tiap cawan berisi lima potongan daun. Media yang telah diinokulasi dengan potongan daun diinkubasi pada suhu ruang selama 7-10 hari. Akuades bilasan terakhir diambil dan diisolasi ke PDA lainnya. Perlakuan ini berfungsi sebagai kontrol sterilisasi permukaan daun.

Pemurnian Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah tumbuh di medium PDA kemudian dimurnikan ke dalam medium PDA baru dengan cara menginokulasi sedikit hifa dengan ose steril dari setiap koloni endofit yang berbeda. Kultur jamur endofit diinkubasi selama 7-10 hari pada suhu ruang. Pemurnian dilakukan berdasarkan perbedaan secara makroskopis yaitu warna dan bentuk koloni jamur.

Pengamatan morfologi dilakukan selama 7-10 hari dan apabila masih ditemukan pertumbuhan koloni yang berbeda secara makroskopis, maka dilakukan pemurnian ulang hingga diperoleh isolat murni. Setiap isolat yang didapat dibuat duplo sebagai *working culture* dan *stock culture*. *Stock culture* diinkubasi pada suhu ruang selama 7-10 hari, kemudian disimpan pada suhu 4°C sebagai kultur cadangan.

Identifikasi Isolat Jamur Endofit

Identifikasi dari jamur endofit dilakukan dengan mengamati morfologinya baik secara makroskopik maupun mikroskopik. Pengamatan makroskopik dilakukan dengan mengamati warna koloni, warna sebalik, permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, licin, ada atau tidak tetes-tetes eksudat), diameter pertumbuhan koloni jamur, dan lingkaran-lingkaran konsentris.

Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan menggunakan mikroskop, dengan cara pada kaca objek diletakkan sedikit hifa lalu ditetaskan dengan pewarna metilen blue setelah itu dilakukan pengamatan identifikasi isolat jamur endofit.

3. Hasil dan Pembahasan

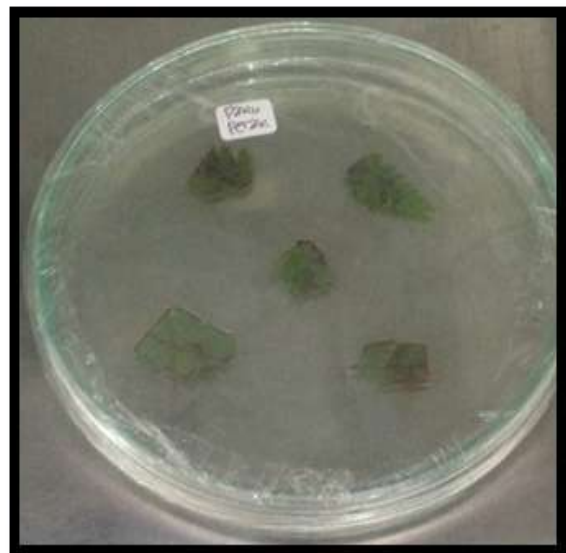
Preparasi Sampel

Untuk isolasi jamur endofit, terlebih dahulu dilakukan proses sterilisasi permukaan yang diawali dengan pencucian daun dibawah air mengalir kemudian perendaman dalam alkohol, NaClO, alkohol dan terakhir pembilasan dengan akuades steril. Tujuan proses ini untuk menghilangkan mikroorganisme yang berada pada permukaan tumbuhan sehingga jamur yang tumbuh pada media isolasi merupakan jamur endofit (Strobel and Daisy, 2003).

Alkohol dan natrium hipoklorit yang digunakan memiliki aktivitas yang berbeda. Alkohol mendenaturasikan protein dengan cara dehidrasi

dan menginaktifkan enzim. Efek dari alkohol lebih baik dibandingkan alkohol murni, karena protein didenaturasi lebih cepat dengan adanya air (Rutala *et al.*, 2008). Natrium hipoklorit merupakan senyawa yang mengandung klorin yang bekerja dengan mengoksidasi secara *irreversible* gugus sulfhidril pada enzim dan mengganggu fungsi metabolik dari sel bakteri (Valera, 2008).

Potongan daun yang sudah disterilisasi diletakkan pada cawan petri yang berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Setiap cawan petri berisi lima potongan daun (Gambar 1) dan diinkubasi selama 7-10 hari pada suhu ruang. Media PDA bersifat selektif terhadap jamur dan mengandung kentang sebagai sumber karbohidrat yang merupakan sumber nutrisi bagi pertumbuhan jamur (Ariyono *et al.*, 2014).



Gambar 1. Penanaman daun pada media PDA

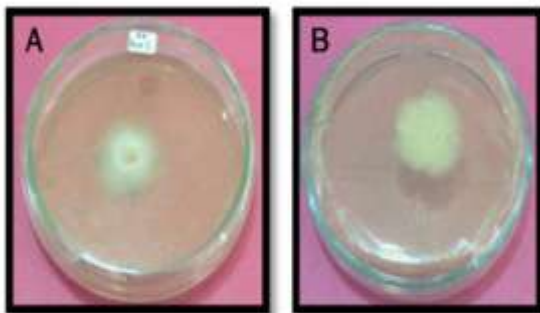
Isolasi, Pemurnian dan Identifikasi Jamur Endofit

Pada penelitian ini berhasil diisolasi 5 isolat jamur endofit yaitu AN1, AN2, AN3, AN4 dan AN5. Identifikasi jamur endofit dilakukan dengan mengamati secara makroskopik dan mikroskopik, dapat dilihat pada (Tabel 2). Pengamatan makroskopik meliputi warna koloni, warna sebalik, permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, licin ada atau tidak tetes eksudat), diameter pertumbuhan koloni jamur dan lingkaran-lingkaran konsentris dan bentuk koloni (Kumala, 2014). Pengamatan mikroskopik meliputi ada atau tidaknya sekat pada hifa, pertumbuhan hifa (bercabang atau tidak bercabang), ada tidaknya konidia, bentuk konidiofor (Halus, persegi panjang, dan septat), bentuk konidia (Bulat dan terdapat artrokonidia) dan phialid (Ariyono *et al.*, 2014). Berikut adalah hasil identifikasi jamur endofit tumbuhan paku *Asplenium nidus* yang dicocokkan dengan buku identifikasi *Compendium of soil fungi* (Domsch *et al.*, 1980 dalam Ilyas 2006).

Kode Isolat	Pengamatan								
	Makroskopik			Mikroskopik					
	Warna permukaan	Warna sebalik	Tekstur	Bentuk Koloni	Bentuk Konidia	Bentuk Konidiofor	Phialid	Hifa	Genus
AN1	Putih	Putih	Licin	Bulat	Bulat	Halus persegi panjang dan septata	Panjang	Septat	<i>Gliocladium</i>
AN2	Putih	Putih	Granular	Bulat	Bulat dan terdapat artrokonidia	Septat	-	Septat	<i>Neoscytalidium</i>
AN3 dan AN4	Putih	Putih	Beludru	Bulat	Bulat	Panjang dan bercabang	Panjang	Hialin	<i>Hemicola</i>
AN5	bagian tengah warna putih dan bagian tepi oranye	Merah	Menggunung	Bulat	Bulat	Panjang	Panjang	-	<i>Aspergillus</i>

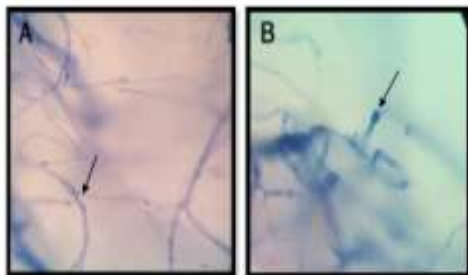
Isolat AN1

Berdasarkan pengamatan makroskopik isolat AN1 (Gambar 2) meliputi : warna koloni putih, permukaan koloni licin, warna sebalik putih diameter pertumbuhannya 4,45 cm.



Gambar 2. Makroskopik. Isolat AN1: A. Tampak depan, B. Tampak sebalik.

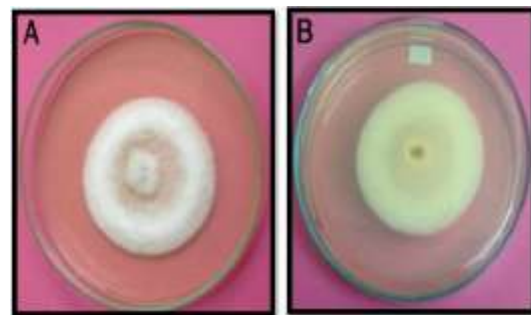
Secara mikroskopik (Gambar 3), jamur tersebut memiliki hifa berbentuk septat dengan konidiofor bersekat dan bercabang konidia kecil menumpuk diatas phialid membentuk suatu kumpulan yang dibungkus oleh getah atau lendir. Phialid berbentuk labu dan bersekat. Berdasarkan ciri-ciri tersebut maka isolat AN1 dimasukkan dalam Genus *Gliocladium* famili Hypocreaceae.



Gambar 3. Mikroskopik. pengamatan perbesaran 400x : A. Hifa septat, B. Konidia diatas phialid.

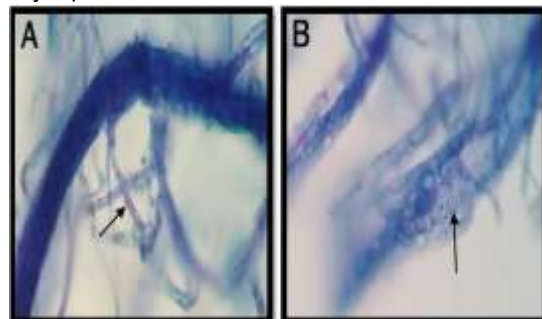
Isolat AN2

Berdasarkan pengamatan makroskopik isolat AN2 (Gambar 4) meliputi: warna koloni putih, permukaan koloni granular, warna sebalik putih diameter pertumbuhannya 5,3 cm.



Gambar 4. Makroskopik. pengamatan: A. Tampak depan, B. Tampak sebalik.

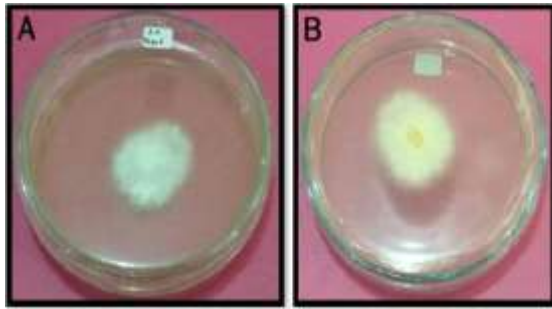
Secara mikroskopik koloni jamur *Neoscytalidium* dapat dilihat pada gambar 5. Jamur tersebut memiliki hifa septat dan bercabang dengan tanpa konidia. Artrokonidia memanjang dan rata, pada bagian ujung, berbentuk persegi panjang dan berwarna coklat. Berdasarkan ciri-ciri maka isolat AN2 dimasukkan dalam genus *Neoscytalidium* famili Botryosphaerales.



Gambar 5. Mikroskopik pengamatan perbesaran 400x: A. Hifa septat, B. Artrokonidia.

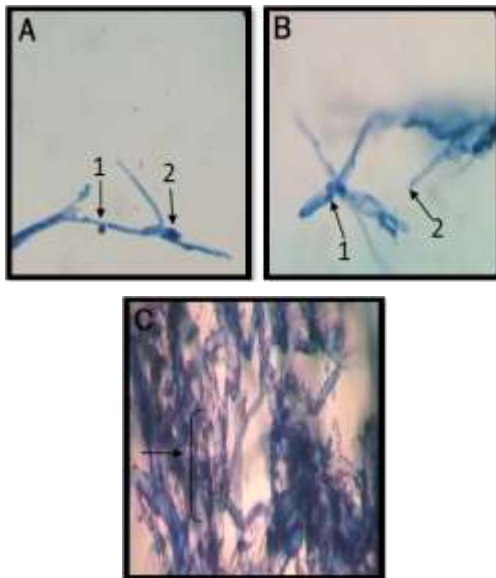
Isolat AN3 dan AN4

Berdasarkan pengamatan makroskopik isolat AN3 dan AN4 (Gambar 6) meliputi: warna koloni putih, permukaan koloni seperti tepung, warna sebalik putih, diameter pertumbuhannya 6,45cm



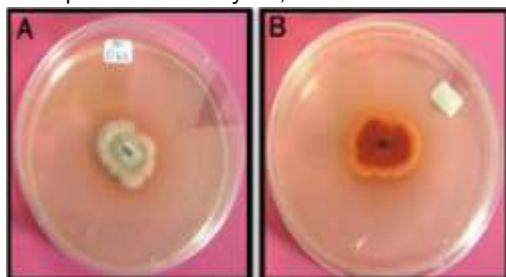
Gambar 6. Makroskopik. pengamatan : A. Tampak depan, B. Tampak sebalik.

Secara mikroskopik koloni jamur *Humicola* dapat dilihat pada gambar 7. Jamur tersebut memiliki konidia berbentuk bulat, aleuspora, klamidospora, phialid panjang yang berbentuk piring dan percabangan konidiofor. Berdasarkan ciri-ciri maka isolat AN3 dan AN4 dimasukkan dalam genus *Humicola* famili Clavulinaceae.



Gambar 7. Mikroskopik pengamatan perbesaran 400x: A. (1) Aleuspora, (2) Klamidospora, B. (1) Aleuspora, (2) pialit, C. Percabangan konidiofor. 4. Isolat AN5

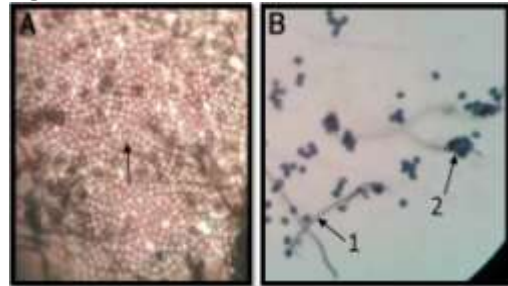
Berdasarkan pengamatan makroskopik isolat AN5 (Gambar 8) meliputi: warna koloni pada bagian tengah berwarna putih dan pada bagian tepi oranye, permukaan mengggunung, warna sebalik merah, diameter pertumbuhannya 2,05 cm.



Gambar 8. Mikroskopik pengamatan: A. Tampak depan, B. Tampak sebalik.

Secara mikroskopik koloni jamur *Aspergillus* dapat dilihat pada gambar 9. Jamur tersebut memiliki konidia yang pada umumnya (tembus /

transparan / tidak berwarna), bentuk konidia kecil dan kasar, tidak bercabang dan berwarna putih. Phialid berbentuk labu (panjang bulat) dan vesikel berbentuk bulat bantalan. Berdasarkan ciri-ciri maka isolat AN5 dimasukkan dalam genus *Aspergillus* famili Trichocomaceae.



Gambar 9. Mikroskopik *Aspergillus* perbesaran 400x: A. Kumpulan konidia, B. (1) Konidiospor panjang, (2) konidia diatas phialid.

Jamur yang memiliki genus *Gliocladium* tidak hanya tumbuh pada tumbuhan paku-pakuan, namun dapat pula tumbuh pada tanaman tembakau (Agustina, 2013). Menurut Ilyas (2007), genus *Gliocladium* juga tumbuh pada serasah daun tumbuhan yang ada di kawasan Gunung lawu. Papavizas (1985), menyatakan bahwa *Gliocladium* dapat hidup baik sebagai saprofit maupun parasit pada jamur lain, dapat menghasilkan zat penghambat dan bersifat hiperparasit.

Jamur *Neoscytalidium* dapat pula bertumbuh pada akar tanaman ubi kayu (Saifudin, 2017). Menurut Soepena (1993), jamur *Neoscytalidium* mulanya tumbuh sebagai saprofit, tetapi jika bertemu atau menemukan tanaman inangnya berubah menjadi patogen dan hidup sebagai parasit yang dapat menyebabkan kematian tanaman.

Jamur *Humicola* dapat juga tumbuh pada serasah daun tumbuhan yang ada di kawasan Gunung lawu (Ilyas, 2007). Menurut Domsch et al., (1980), beberapa taksa jamur seperti *Aspergillus japonicas* dan *Trichoderma harzianum*, genus *Acremonium*, *Cunninghamella* dan *Humicola* secara alami memiliki sebaran habitat pada rizosfir tumbuhan hutan seperti puspa, rasamala dan saninten. Jamur-jamur tersebut memiliki asosiasi simbiotik dengan tumbuhan hutan dan berperan penting dalam menjaga kelangsungan daur materi dan tingkat kesuburan alami tanah hutan. Menurut Handayanto (2007), cara hidup jamur *Humicola* dikenal sebagai fungi parasit dan fungi saprofit.

Jamur *Aspergillus* juga memiliki sebaran habitat pada rizosfir tumbuhan hutan. Jamur tersebut juga berperan penting dalam menjaga tingkat kesuburan alami tanah hutan.

4. Kesimpulan

1. Isolasi jamur endofit dari daun tumbuhan paku *Asplenium nidus*, diperoleh lima isolat jamur endofit.
2. Berdasarkan hasil identifikasi diperoleh empat genus jamur endofit, yaitu :*Gliocladium*, *Neoscytalidium*, *Humicola*, *Aspergillus*

Daftar Pustaka

- Agustina, I., Pinem, I.M. dan Zahara, F. 2013. Uji Efektivitas Jamur Antagonis *Trichoderma* sp. dan *Gliocladium* sp. untuk Mengendalikan Penyakit Lanas (*Phytophthora nicotianae*) pada Tanaman Tembakau Deli (*Nicotiana tabaccum* L.) . Fakultas Pertanian USU Medan. **1**: 4.
- Arini, D.I.D. dan Kinho, J. 2012. Keragaman Jenis Tumbuhan Paku (Pteridophyta) Di Cagar Alam Gunung Ambang Sulawesi Utara. *Balai Penelitian Kehutanan Manado*. **2(1)**: 17-39.
- Ariyono, R.Q., Djauhari, S., dan Sulistyowati, L. 2014. Keanekaragaman Jamur Endofit Daun Kangkung Darat (*Ipomoea Reptans Poir*) pada Lahan Pertanian Organik dan Konvensional. *Jurnal HPT*. **2(1)**: 19-28.
- Djoronga, M.I., Pandiangan, D., Kandou, F.E.F., dan Tangapo, A. 2014. Penapisan Alkaloid Pada Tumbuhan Paku dari Halmahera Utara. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. **3(2)**: 102-107.
- Handayanto, E. 2007. Biologi Tanah. Pustaka Adipura. Yogyakarta.
- Ilyas, M. 2007. Isolasi dan Identifikasi Mikoflora Kapang pada Sampel Serasah Daun Tumbuhan di Kawasan Gunung Lawu, Surakarta, Jawa Tengah. *Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)*. **8**: 2
- Kandou, F.E.F., dan Pandiangan, D. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Tumbuhan Paku *Adiantum capillus-veneris* dan *Asplenium nidus* Terhadap Bakteri Gram Negatif *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Agar. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. **7(1)**: 25-28.
- Kumala, S. 2014. Mikroba Endofit: Pemanfaatan Mikroba Endofit dalam Bidang Farmasi. Jakarta : ISFI.
- Ondo, J.P., Louis, C.O., Timoleon, A.B., Gontran, Edouard, and Jacques, L. 2013. Phytochemical Screening, Total Phenolic Content, and Antiradical Activity Of *Asplenium africanum* (Aspleniaceae) and Fruit Of *Megaphrinium macrostachyum* (Marantaceae). *Journal Of Applied Pharmaceutical Science* **3(08)**:92-96.
- Oroh, S.B., Kandou, F.E.F., Pelealu, J., Pandiangan, D. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol *Selaginella delicatula* dan *Diplazium dilatatum* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *Jurnal Ilmiah Sains*. **15(1)**: 54-56.
- Papavizas.G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology, and Potential for Biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*.p. **23**.
- Radji, M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian* **2(3)**: 113-126.
- Rutala et al. 2008. Guideline for Disinfection and Sterilization in Helathcare Facilities.
- Saifudin, M. 2017. Pengaruh Pupuk *Zincmicro* Terhadap Perkembangan Penyakit Jamur Akar pada Tanaman Ubikayu (*Manihot esculenta* Crantz) Di Sulusuban Kecamatan Anak Tuha Kabupaten Lampung Tengah. [Skripsi]. Universitas Lampung. Lampung.
- Simarmata, R., Lekatompessy, S. dan Sukiman, H. 2007. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berk. Penel. Hayati* **13**: 85-90.
- Soepena, H. 1993. Pemberantasan Jamur Akar Putih Dengan *Trichoderma*. Pusat Penelitian Karet. Disampaikan dalam Rapat Panitia Kultura Karet (PAKULRET) Sungai Putih 14-15 April 1993. *Warta Perkebunan*. **12(1)**:17-22.
- Strobel, G. dan Daisy, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *American Society of Microbiology* **67(4)**: 491-502.
- Tan, R.X. dan Zou, W.X. 2011. Endophyte: a rich source of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep* **18**: 448-459.
- Valera, M.C.,K. et al. 2008. Antimicrobial Actifity of Sodium Hypochlorite Associated with Intracanal Medication for *Candida albicans* and enterococcus faecalis inoculated In Root Canals. *Journal Applied Oral Science*. **17(6)**: 555-559