

## IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT AKAR SELUANG BELUM (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBANYA

IDENTIFICATION OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM SELUANG BELUM ROOT (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.) AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY ASSAY

Nashrul Wathan\*, Witiyasti Imaningsih, M. Ikhwan Rizki

FMIPA ULM, Jalan A.Yani km.36, Banjarbaru, Indonesia

\*Corresponding author: nashrul.far@ulm.ac.id

**Abstract.** Endophytes are microorganisms that part or all of their lives resides in the living plant tissue, no exception there are the roots of seluang belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.). Endophytic fungi that live in the root of seluang belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.) have been successfully isolated using PDA media, the results obtained 11 fungi isolates. Four selected isolates endophytic fungi were tested for their antimicrobial activity against *S. aureus* and *E. coli* by the Kirby-Bauer method, the results 2 isolates (IF2 and IF3) were active against the two tested bacterias, isolate IF8 was only active against *S. aureus*, and isolate IF10 was only active against *E. coli*. The results of identification of endophytic fungi were carried out macroscopically and microscopically, it was found that IF2 and IF10 isolates were included in the *Aspergillus* genus.

**Keywords:** Saluang belum, *Lavanga sarmentosa*, endophytes, antimicrobial, *Aspergillus*

### 1. PENDAHULUAN

Hutan Kalimantan merupakan suatu ekosistem yang kondisi alamnya termasuk lingkungan lahan basah, di dalamnya memiliki kekayaan anekaragam hayati yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat, salah satunya adalah Seluang belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.). Bagian akar dan kayu tumbuhan ini secara empiris diolah menjadi jamu yang digunakan masyarakat Suku Dayak dan Banjar untuk meningkatkan stamina, gairah seksual dan kesuburan pria (Musfirah *et al.*, 2016). Tumbuhan ini memiliki berkas pembuluh sehingga memungkinkan adanya endofit yang hidup di dalamnya.

Endofit merupakan mikroorganisme yang sebagian atau seluruh hidupnya berada di dalam jaringan hidup tumbuhan inang (Bhore & Sathisha, 2010). Jamur endofit menyimpan potensi ekonomi tak terbatas terutama dalam bidang farmasi dan pertanian sebagai sumber bahan baku obat, enzim dan senyawa biologis pengendali hama di masa depan. Menurut Porras-Alfaro & Bayman (2011) selama 20 tahun terakhir terjadi peningkatan dalam penemuan paten metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis bersumber dari endofit. Hal ini didukung dengan semakin banyaknya publikasi mengenai isolasi dan identifikasi senyawa aktif biologis bersumber dari mikroorganisme endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan tropis atau dengan makhluk laut (*marine organisms*) (Sarker *et al.*, 2012).

Penelitian mengenai endofit dalam tumbuhan seluang belum (*L. sarmentosa*) saat ini belum ada yang mempublikasikan, di lain pihak potensi endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan tropis di hutan Kalimantan diyakini menghasilkan senyawa metabolit sekunder aktif dan memiliki variasi yang lebih banyak dibandingkan dengan endofit tanaman-tanaman yang ada di daerah subtropis (Aly *et al.*, 2013) sehingga endofit yang berasosiasi dengan akar seluang belum menarik untuk diteliti lebih lanjut.

### 2. METODE

#### 2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan seluang belum yang diperoleh dari wilayah hutan di Palangka Raya Kalimantan Tengah, larutan pensteril permukaan: larutan natrium hipoklorit (NaOCl) 5,25%, etanol 70%, aquades, media pertumbuhan mikroba: Potato dextrose agar/PDA (Merck) untuk menumbuhkan jamur endofit, Nutrient agar, Potato dextrose broth/PDB (Merck), Yeast extract (Merck), kertas saring Whatman, aluminium foil, kapas, dan tisu.

## 2.2 Determinasi Tumbuhan Seluang Belum

Determinasi terhadap bahan baku tumbuhan seluang belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume.) Kurz.) dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA ULM.

## 2.3 Sterilisasi Sampel

Organ akar dari tumbuhan seluang belum dipotong lebih kurang 1 cm. Potongan organ tersebut selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. Potongan akar kemudian disterilisasi dengan etanol 70% selama lebih kurang 3 menit serta Na hipoklorit (Bayclin 5,25%) selama lebih kurang 20 menit dan kembali disterilkan dengan etanol 70% (Nursanty & Suhartono, 2012).

## 2.4 Isolasi Jamur Endofit

Potongan akar diletakkan di media PDA yang mengandung kloramfenikol 100 mg/L, dilanjut dengan inkubasi selama seminggu pada suhu 30°C. Koloni yang tumbuh kemudian dimurnikan dan diidentifikasi sampai tingkat genus (Barnett & Hunter, 1998). Pemurnian dilakukan dengan menginokulasikan isolat pada media PDA baru dan diinkubasi selama beberapa hari pada suhu 30°C.

## 2.5 Uji Aktivitas Antimikroba

Uji aktivitas metabolit sekunder jamur endofit terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dilakukan dengan meletakkan kertas cakram Whatman No. 42 berdiameter 6 mm yang telah direndam di dalam supernatan kultur jamur endofit terseleksi selama 30 menit di atas medium NA yang mengandung isolat *S. aureus* dan *E. coli*. Masing-masing kultur mengandung mikroba uji sebanyak 10<sup>6</sup> cfu/ml. Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengamatan terhadap zona hambat yang terbentuk dan diukur diameternya.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Determinasi tumbuhan seluang belum

Hasil determinasi tumbuhan menunjukkan sampel tersebut memiliki nama spesies *Lavanga sarmentosa* Kurz. dengan sinonim *Triphasia sarmentosa* Bl. Tumbuhan ini termasuk dalam keluarga Rutaceae.

### 3.2 Sterilisasi Sampel

Jamur endofit yang diisolasi berasal dari akar. Bagian akar yang diambil adalah bagian lateral yang dekat dengan rambut akar. Pertama, sampel akar dibersihkan dengan air mengalir, tujuannya untuk menghilangkan pengotor ataupun tanah yang masih menempel pada bagian akar, selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan yang bertujuan menghilangkan mikroba bukan endofit yang menempel di permukaan sampel sehingga jamur yang nantinya ditumbuhkan dan diisolasi benar-benar merupakan jamur endofit (Strobel & Daisy, 2003). Sterilisasi permukaan dilakukan dengan merendam akar selama 1 menit dalam alkohol 70%, 3 menit dalam larutan NaOCl 5,3% dan 30 detik dalam alkohol 70%. Digunakan larutan alkohol 70% dan tidak digunakan alkohol murni karena dalam proses mematikan mikroba diperlukan air untuk memperantarai proses denaturasi protein yang dimiliki mikroba, penggunaan NaOCl/natrium hipoklorit sendiri karena NaOCl memiliki sifat germisidal dengan jalan merusak membran sel mikroorganisme karena proteinnya teroksidasi dan menginaktivasi enzim mikroorganisme (Pratiwi, 2008). Akar yang telah disterilisasi ditiriskan dengan menggunakan tisu steril dan dipotong menjadi ukuran 1 cm.

### 3.3 Isolasi Jamur Endofit

Metode yang digunakan adalah metode tanam langsung. Masing-masing potongan akar tersebut diletakkan ke dalam cawan Petri berisi medium PDA yang telah dicampur dengan kloramfenikol. Medium PDA merupakan media yang cocok untuk pertumbuhan jamur, di dalamnya mengandung ekstrak kentang sebagai

sumber nutrisi pertumbuhan jamur. Pada media ditambahkan kloramfenikol untuk mencegah tumbuhnya bakteri namun tidak mengganggu pertumbuhan jamur endofit. Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif, dan antibiotik ini dapat berpenetrasi ke dalam media dengan baik (Fayyaz *et al.*, 2013). Potongan akar tadi diletakkan ke cawan petri dan dilakukan replikasi 5 cawan sehingga masing-masing berisi 1 sampel potongan akar, diinkubasi pada suhu ruang selama 5-7 hari, didapatkan hasil yang ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah pertumbuhan koloni pada setiap cawan petri yang berisi potongan akar seluang belum.

Cawan	Koloni yang tumbuh
A	4
B	5
C	1
D	5
E	4

Setelah jamur endofit tersebut tumbuh kemudian dilakukan pemurnian untuk memisahkan koloni jamur endofit hingga diperoleh isolat tunggal jamur endofit. Koloni jamur yang tumbuh di sekeliling sampel akar dimurnikan berdasarkan morfologi makroskopik yang dapat diamati dari warna serta bentuk pertumbuhan koloni jamur (Ariyono, 2014). Hasilnya dari 10 cawan petri yang ditumbuhkan didapat 9 koloni murni dan ada 2 koloni yang tumbuh dalam 1 cawan petri. Koloni tersebut dimurnikan berkali-kali hingga didapat 10 isolat jamur murni dengan kode IF 1 hingga IF 10.

### 3.4 Pengujian Antimikroba dan Identifikasi Endofit

Uji antimikroba dilakukan dengan Metode *Kirby-Bauer* yaitu mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekitar isolat bakteri endofit dan didapat. 2 isolat yaitu IF 2 dan IF 3 memiliki aktivitas antibakteri yang cukup luas yaitu terhadap *S. aureus* (bakteri Gram positif) maupun *E. coli* (bakteri Gram negatif), sedang isolat IF 8 hanya aktif terhadap *S. aureus* dan sebaliknya isolat IF 10 aktif terhadap *E. coli* saja. Hasil identifikasi jamur endofit terpilih yang memiliki aktivitas kemudian dilanjutkan. Metode yang digunakan yaitu pengamatan langsung secara makroskopis dan mikroskopis. Hasilnya diketahui bahwa IF 2 dan IF 10 termasuk ke dalam golongan genus *Aspergillus*.

Tabel 2. Hasil pengamatan makroskopis koloni isolat jamur endofit seluang belum

Kode Isolat Jamur Endofit	Luas Zona Bening (mm)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Kontrol	-	-
IF. 1	10.3	-
IF. 2	8.9	9.1
IF. 3	18.2	12.3
IF. 4	-	10.0
IF. 5	-	9.6
IF. 6	-	8.7
IF. 7	12.3	9.3
IF. 8	9.7	-
IF. 9	8.8	-
IF. 10	-	10.4

Isolat jamur endofit yang dimurnikan, diamati secara makroskopis. Menurut Gandjar *et al.* (1992), dalam melakukan pengamatan morfologi koloni dapat dilihat dari warna permukaan koloni, selain itu dilihat ada tidaknya garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni dan juga ada tidaknya lingkaran-lingkaran konsentris.

#### 4. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil berupa:

1. Aktivitas antimikroba jamur endofit dari akar seluang belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.) menggunakan 4 isolat yaitu IF 2 dan IF 3 memiliki aktivitas antibakteri yang cukup luas terhadap *S. aureus* (bakteri Gram positif) maupun *E. coli* (bakteri Gram negatif), sedang isolat IF 8 hanya aktif terhadap *S. aureus* dan sebaliknya isolat IF 10 aktif terhadap *E. coli* saja.
2. Identifikasi terhadap jamur endofit dari akar seluang belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.) yang memiliki aktivitas antimikroba tersebut IF 2 dan IF 10 termasuk ke dalam golongan genus *Aspergillus*

#### 5. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Ristek Dikti lebih khusus Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Lambung Mangkurat melalui dana PNPB ULM tahun 2020 dan semua pihak yang berperan atas terlaksananya penelitian ini.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

- Aly, A.H., Debbab, A., & Proksch, P. (2013). Fungal Endophytes – Secret Producers of Bioactive Plant Metabolites. *Pharmazie*. 68: 499-505
- Ariyono, R.Q., Syamsuddin D., & Lilik S. (2014). Keanekaragaman Jamur Endofit Daun Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) PAda Lahan Pertanian Organik dan Konvensional. *Jurnal HPT*. 2(1): 19-28
- Barnett, H.L. & B.B. Hunter. (1998). Illustrated marga of imperfect fungi. 4th ed. Prentice-Hall, Inc. USA.
- Bhore, Subhash J. & Sathisha G. (2010). Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin-like compounds: crude cell-free broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumber cotyledon bioassay. *World Journal of Agricultural Sciences*. 6 (4): 345-352.
- Fayyaz, M., Irfan A.M, Zaheer A., Shahid A.A., Amir H., & Shamsad A. (2013). In Vitro Susceptibility of Chloramphenicol Againsts Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*. 23(9): 637-640.
- Gandjar I, Koentjoro IR, Mungunwardoyo W, & Soebagya L. (1992). Pedoman Praktikum Mikrobiologi Dasar. Jurusan Biologi, FMIPA, UI, Jakarta.
- Musfirah Y., Bachri M.S., & Nurani. L.H. (2016). Efek Ekstrak Etanol 70% Akar Saluang Balum (*Lavanga sarmentosa*, Blume kurz) Terhadap Spermatogenesis dan Gambaran Histopatologik Testis Mencit. *Pharmascience*. 3(2): 131-141.
- Nursanty, R. & Suhartono. (2012). Isolasi, karakterisasi dan uji antimikroba bakteri endofit asal tumbuhan Johar (*Cassia siamea* Lamk.). *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. 4(1): 7-10.
- Porras-Alfaro, Andrea. and Bayman, Paul. (2011). Hidden jamur, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annual Review Phytopathology*. 49: 291-315
- Pratiwi, S.T. (2008). Mikrobiologi Farmasi. Erlangga. Jakarta.
- Sarker, Satyajit D. et al. (2012). Natural Products Isolation. Humana Press. New Jersey.
- Strobel, G.A. (2002). Microbial Gifts from Rain Forest. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 24: 14-20.