

IDENTIFIKASI JAMUR ENDOFIT DARI AKAR TUMBUHAN SELUANG BELUM (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz) ASAL KABUPATEN TABALONG KALSEL

Nashrul Wathan^{1*}, Pratika Viogenta², Fery Ramadhan², Sindwi Rinanda Sari², Jehan Azizah²

¹ Prodi Analis Farmasi dan Makanan FMIPA ULM, Jalan A.Yani km.36, Banjarbaru, Indonesia

² Prodi Farmasi FMIPA ULM, Jalan A.Yani km.36, Banjarbaru, Indonesia

*Penulis korespondensi: : nashrul.far@ulm.ac.id

Abstrak. *Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz. merupakan tumbuhan obat dari hutan Kalimantan yang dimanfaatkan masyarakat Suku Dayak dan Banjar, diketahui memiliki mikroba endofit berpotensi yang hidup simbiotik di dalamnya. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi jamur endofit dari Saluang belum (*L. sarmentosa*) dan melakukan identifikasi metabolit yang dikandungnya. Jamur endofit diisolasi dari akar seluang belum dengan cara ditumbuhkan dalam media PDA (Potato Dextrose Agar) hingga didapatkan isolat terpisah. Isolat jamur yang didapat kemudian diidentifikasi secara makroskopik dan mikroskopik untuk mengetahui identitasnya. Isolat jamur lalu difermentasikan dalam media PDB (Potato Dextrose Broth), metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya lalu diekstraksi dengan etil asetat dan diidentifikasi fitokimianya. Hasil penelitian didapatkan 6 isolat endofit yang mana 3 diantaranya diperkirakan sebagai *Corynespora citricola* Ellis, *Alternaria* Nees:Fr., dan *Tripopersimum* Speg. Kandungan fitokimia yang diskriminasi dari ekstrak etil asetat 6 jamur endofit baik ekstraseluler maupun intraseluler hasilnya ada yang positif mengandung golongan senyawa fenolik, flavonoid, steroid, dan terpenoid.

Kata kunci: saluang bilung, *Luvunga sarmentosa*, fungi endofit, bioteknologi farmasi, skrining fitokimia

1. PENDAHULUAN

Seluang belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.) merupakan tumbuhan obat yang menarik untuk diteliti. 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.

Jamur endofit merupakan sumber penting dalam pencarian senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif ini kemungkinan memiliki berbagai aktifitas biologis dan bisa menjadi bahan awal untuk obat-obatan atau "lead structure" untuk pengembangan farmasi atau produk agrokimia. Tumbuhan obat tradisional kemungkinan besar memiliki mikroba endofit berpotensi yang terkandung dan hidup simbiotik di dalamnya, selain itu 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.

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 Desa Mangkupum, Muara Uya, Kabupaten Tabalong Kalsel. Larutan pensteril permukaan: larutan natrium hipoklorit (NaOCl) 5,25%, etanol 70%, aquades, media pertumbuhan mikroba: Potato dextrose agar/PDA (Himedia) untuk menumbuhkan jamur endofit, Nutrient agar (Himedia), Potato dextrose broth/PDB (Himedia), Yeast extract (Merck), amoksisillin, kertas saring Whatman, aluminium foil, kapas, dan tisu, reagen FeCl₃, Liebermann Burchard.



2.2 Determinasi tumbuhan seluang belum

Determinasi terhadap bahan baku tumbuhan seluang belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume.) Kurz.) dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA 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 dan Suhartono, 2012).

2.4 Isolasi jamur endofit

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

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 (Wathan dan Imaningsih, 2019).

3.2 Sterilisasi Sampel

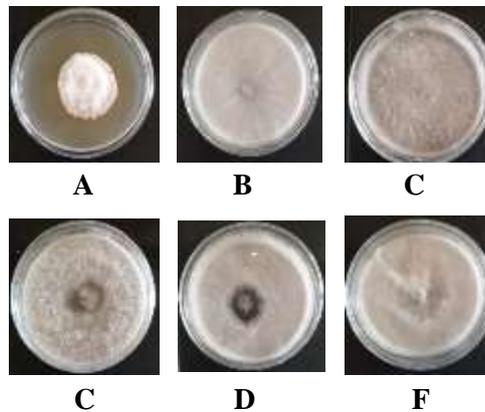
Fungi endofit yang diisolasi berasal dari akar. Bagian akar yang diambil adalah bagian lateral yang dekat dengan rambut akar. Pertama, sampel akar dibersihkan dengan air mengalir, tujuannya untuk menghilangkan pengotor ataupun tanah yang masih menempel pada bagian akar, selanjutnya dilakukan sterilisasi 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 dan 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 amoksisillin. Medium PDA merupakan media yang cocok untuk pertumbuhan jamur, di dalamnya mengandung ekstrak kentang sebagai sumber nutrisi pertumbuhan jamur. Pada media ditambahkan amoksisillin 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 3 cawan sehingga masing-masing berisi 1 sampel potongan akar, diinkubasi pada suhu ruang selama 5-7 hari.



Setelah jamur endofit tersebut tumbuh kemudian dilakukan pemurnian untuk memisahkan koloni fungi endofit hingga diperoleh isolat fungi endofit. Koloni fungi yang tumbuh di sekeliling sampel akar dimurnikan berdasarkan morfologi makroskopik yang dapat diamati dari warna serta bentuk pertumbuhan koloni jamur (Ariyono, 2014). Hasilnya didapat 6 koloni murni yang dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil pemurnian jamur endofit dari akar Seluang belum pada medium PDA

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. Identifikasi lebih lanjut dilakukan di bawah mikroskop dan dicocokkan dengan buku referensi Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi (Watanabe, 2010). Identifikasi dengan metode tersebut dihasilkan 3 jamur endofit yang teridentifikasi yaitu *Corynespora citricola* Ellis, *Alternaria* Nees :Fr., dan *Tripaspermum* Speg. Keenam isolat jamur endofit yang didapat kemudian ditumbuhkan, difermentasi pada media PDB dengan alat *shaker* untuk menghasilkan metabolit sekunder. Proses inkubasi dilakukan selama 14 hari pada suhu ruang, lalu diekstraksi dengan etil asetat dan disentrifuse untuk mendapatkan ekstrak intraseluler dan ekstraseluler. Hasil pengujian skrining metabolit ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etil asetat intraseluler dan ekstraseluler dari endofit seluang belum

Isolat	Uji	Hasil	Ekstrak EA intraseluler	Ekstrak EA intraseluler
1	Fenol	Larutan Coklat Tua	(-)	(-)
	Flavonoid	Orange	(-)	(+)
	Triterpenoid	Cincin coklat tua	(+)	(+)
	Steroid	Tidak terbentuk cincin	(-)	(-)
2	Fenol	Larutan hitam-kehijauan	(-)	(+)
	Flavonoid	Orange	(+)	(+)
	Triterpenoid	Cincin coklat tua	(+)	(+)
	Steroid	Cincin Hijau-kehitaman	(-)	(+)
3	Fenol	Larutan Coklat Tua	(-)	(-)
	Flavonoid	Orange	(+)	(+)
	Triterpenoid	Cincin coklat tua	(+)	(+)
	Steroid	Tidak terbentuk cincin	(-)	(-)
4	Fenol	Larutan Coklat Tua	(+)	(-)
	Flavonoid	Orange	(+)	(+)
	Triterpenoid	Cincin coklat	(+)	(+)
	Steroid	Tidak terbentuk cincin	(+)	(-)
5	Fenol	Larutan Hitam-kehijauan	(+)	(+)
	Flavonoid	Kuning	(-)	(-)
	Triterpenoid	Cincin coklat	(+)	(+)
	Steroid	Tidak terbentuk cincin	(-)	(-)
6	Fenol	Larutan Coklat Tua	(-)	(-)



Flavonoid	Kuning	(+)	(-)
Triterpenoid	Cincin coklat tua	(+)	(+)
Steroid	Tidak terbentuk cincin	(-)	(-)

4. SIMPULAN

Hasil isolasi jamur endofit dari akar seluang belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.) didapatkan 6 isolat jamur endofit dan 3 diantaranya dapat diidentifikasi. Skrining fitokimia dari ekstrak etil asetat 6 jamur endofit baik ekstraseluler maupun intraseluler hasilnya ada yang positif mengandung golongan senyawa fenolik, flavonoid, steroid, dan terpenoid.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan lebih khusus Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Lambung Mangkurat dan dana DIPA ULM Tahun anggaran 2021 Nomor: SP DIPA – 023.17.2.677518/2021 tanggal 23 Nopember 2020 sesuai SK Rektor Universitas Lambung Mangkurat No: 697/UN8/PG/2021 tanggal 22 Maret 2021.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Aly, A.H., Debbab, A., Proksch, P., 2013. Fungal Endophytes – Secret Producers of Bioactive Plant Metabolites. *Pharmazie*, No. 68 p.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. and B.B. Hunter. 1998. *Illustrated marga of imperfect fungi*. 4th ed. USA: Prentice-Hall, Inc.
- Bhore, Subhash J. and 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), p.345-352.
- Fayyaz, M., Irfan A.M, Zaheer A., Shahid A.A., Amir H., dan 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, Mangunwardoyo 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*, Vol 03 no 02, hal 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.
- Pratiwi, S.T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga Jakarta.
- Strobel, G.A. 2002. *Microbial Gifts from Rain Forest*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, Vol. 24, p. 14-20.
- Wathan, N. dan Imaningsih, W., 2019, Isolasi Jamur Endofit Dari Akar Tumbuhan Seluang Belum (*Luvunga sarmentosa* (Blume) Kurz.), *Jurnal Pharmascience* Vol. 06, hal: 68 – 73
- Watanabe T, 2010, *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi, Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species* Third Edition, CRC Press

