

ISOLASI DAN KARAKTERISASI JAMUR ENDOFIT PADA TUMBUHAN PAKU SEJATI *DRYOPTERIS FILIX-MAS* DARI HUTAN WISATA ALAM OELUAN SEBAGAI ANTIBAKTERI

¹⁾Julia Hendrigues*, ²⁾Gergonius Fallo, ³⁾Lukas Pardosi

^{1, 2, 3} Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Sains, dan Kesehatan, Universitas Timor

 juliahendrigueslia@gmail.com

Abstrak

Tumbuhan paku-pakuan (*Pteridophyta*) merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai obat tradisional. Tumbuhan paku digunakan masyarakat TTU sebagai antibakteri, obat malaria, obat penghenti pendarahan, obat pasca persalinan, obat penyakit kulit, dan antiradang. Jamur endofit merupakan jamur yang terdapat pada sistem jaringan tanaman yang tidak menyebabkan gejala penyakit pada tanaman. Jamur endofit menghabiskan sebagian bahkan seluruh siklus hidup koloninya di dalam maupun di luar sel jaringan hidup tanaman inangnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakterisasi jamur endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan paku sejati dan untuk mengetahui potensi jamur endofit yang berasosiasi dengan tumbuhan paku sejati. Pengambilan sampel tumbuhan paku sejati langsung diambil dari hutan Wisata Alam Oeluan kemudian sampel dipotong menggunakan *cutter* tanpa merusak koloni. Daun tumbuhan paku yang mudah ditumbuhkan pada media PDA dengan media penanaman langsung. Hasil penelitian memperoleh 4 isolat dan hasil karakterisasi dari 4 isolat tersebut memiliki bentuk koloni oval, warna spora coklat, kekuningan, dan hitam, bentuk konodia bulat, bentuk konidiafor tegak, dan bentuk hifanya bersekat. Dari keempat isolat tersebut diduga jamur endofit. Hasil uji bakteri *Bacillus subtilis* ke empat isolat diketahui berpotensi sebagai antibakteri yaitu isolat STPS1 zona hambat 3,4 mm, STPS2 zona hambat 2,5 mm, STPS3 zona hambat 0,6 mm, STPS4 zona hambat 2,30.

Kata Kunci: antibakteri; endofit; jamur; tumbuhan.

1. Pendahuluan

Timor Tengah Utara merupakan bagian dari Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) di Wilayah Indonesia bagian tengah, yang memiliki tipe ekosistem dan topografi wilayah yang khas. TTU di kenal sebagai daerah yang kering dengan curah hujan yang rendah. Di Kabupaten TTU terdapat kawasan dengan hutan yang hijau dan sejuk serta menjadi kawasan konservasi, dimana salah satunya yaitu kawasan hutan Wisata Alam Oeluan yang berada pada wilayah administratif Desa Bijeli, Kecamatan Noemuti (Tnunay dan Dicky, 2020).

Tumbuhan paku-pakuan (*Pteridophyta*) merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai obat tradisional. Tumbuhan paku digunakan oleh masyarakat TTU sebagai antibakteri, obat malaria, obat penghenti pendarahan, obat pasca persalinan, obat penyakit kulit, dan antiradang. Tumbuhan paku juga dimanfaatkan manusia sebagai bahan makanan (sayuran), pembuatan kerajinan tangan, dan tanaman hias (Suhartina *et al*, 2018).

Tumbuhan paku sejati *Dryopteris filix-mas* merupakan jenis tanaman pakis yang biasa ditemukan di daerah yang terkena sinar matahari. Karena bentuk daunnya yang unik, *Dryopteris filix-mas* berpotensi sebagai tanaman hias karena menarik sehingga terlihat indah untuk dijadikan sebagai tanaman hias. Selain itu *Dryopteris filix-mas* juga

dimanfaatkan manusia sebagai obat untuk mengobati cacingan, usus, sakit perut, dan mencret (Kinho, 2009). Salah satu cara hidup fungi antar organisme yaitu simbiosis mutualisme dimana fungi hidup dan berkembang di dalam jaringan tanaman disebut jamur endofit (Arini dan Kinho, 2012).

Jamur endofit merupakan jamur yang terdapat pada sistem jaringan tanaman yang tidak menyebabkan gejala penyakit pada tanaman inang. Jamur endofit menghabiskan sebagian bahkan seluruh siklus hidup koloninya di dalam maupun di luar sel jaringan hidup tanaman inangnya (Worang, 2010). Jamur endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman inangnya dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama dengan yang dihasilkan oleh tanaman inangnya (Radji, 2005). Jamur endofit dikenal sebagai sumber metabolit sekunder berupa enzim atau senyawa bioaktif lainnya sehingga perlunya mengisolasi dan mengidentifikasi jamur endofit tersebut dari inangnya.

Jamur endofit yang terdapat pada tumbuhan paku memiliki potensi sebagai antibakteri. Pada umumnya jamur endofit yang terdapat pada tumbuhan paku mengandung metabolit sekunder seperti senyawa golongan flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin (Pratiwi, 2014). Flavonoid adalah kelompok fenol yang mempunyai kecenderungan untuk menghambat aktivitas enzim mikroba dan tanin yang dapat mengumpulkan protein.

2. Metode

Penelitian ini akan dilaksanakan pada Bulan Maret hingga selesai tahun 2024, bertempat di Laboratorium Fakultas Pertanian, Sains, dan Kesehatan, Universitas Timor, Kefamenanu.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: oven, autoklaf, laminar air flow, jarum ose, inkubator, mikroskop, erlenmeyer, cawan petri, batang pengaduk, timbangan analitik, tabung reaksi, rak tabung, kamera, pensil, buku, api bunsen, gelas ukur, pipet tetes, pinset, gunting, pisau, kaca preparat, dan penutup preparat, spatula, gelas objek, *cutter*, gelas beaker, hot plate, dan mistar.

Bahan yang digunakan dalam pelitian ini antara lain: Jamur endofit yang diisolasi dari jenis tumbuhan paku sejati *Dryopteris filix-mas*, tisu, kapas, kertas label, spiritus, aquades, plastik pembungkus, alkohol 70%, media PDA (Potato Dextrose Agar), media MHA (Mueller Hinton Agar), Bakteri *Bacillus subtilis*, aluminium foil, agar, gelas benda, gelas penutup, larutan NaCl, dan kertas saring.

Prosedurnya yang pertama yaitu pengambilan sampel, sampel tumbuhan paku sejati *Dryopteris filix-mas* diambil dari hutan Wisata Alam Oeluan, kemudian sampel dipotong menggunakan *cutter* tanpa merusak koloni. dikumpulkan sesuai kebutuhan dan selanjutnya diidentifikasi dengan cara mencocokkan ciri morfologinya.

Prosedur kedua isolasi jamur endofit sampel yang digunakan adalah daun tumbuhan paku. Dipilih daun yang segar dan tidak cacat (tidak bernoda/bercak-bercak). Daun dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm 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 hipoklorit selama 5 menit lalu direndam kembali ke dalam alkohol 70% selama 30 detik dan terakhir dibilas dengan aquades 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 petri berisi satu potongan daun. Media yang telah diinokulasi

dengan potongan daun diinkubasi pada suhu ruang selama 5-7 hari. Perlakuan ini berfungsi sebagai kontrol sterilisasi permukaan daun (Suhartina et al, 2018).

Prosedur ketiga yaitu pemurnian jamur endofit yang bertujuan untuk memisahkan koloni endofit dengan mengamati perbedaan morfologi koloni. Permurnian jamur dilakukan dengan cara mengambil miselium jamur yang tumbuh dengan menggunakan kawat ose steril. Selanjutnya bagian dari jamur tersebut dipindahkan kembali ke media PDA steril. Hal yang sama juga dilakukan pada miselium jamur yang memiliki morfologi makroskopis koloni yang berbeda sampai dihasilkan biakan murni (Posangi & Bara, 2014).

Prosedur keempat yaitu karakterisasi jamur endofit. Setelah dimurnikan, jamur endofit akan dikarakterisasi. Karakterisasi isolat jamur endofit dilakukan dengan cara makroskopik dimana diamati warna dari koloni isolat jamur endofit dan secara mikroskopik langsung. Mikroskopik secara langsung dilakukan dengan cara diambil 1 ose isolat jamur endofit yang diperoleh, digoreskan di atas *object glass* yang telah disterilkan kemudian difiksasi dengan pembakar spiritus. Selanjutnya ditetesi dengan 1 tetes aquades dan ditutup dengan *cover glass* dan diamati dengan mikroskop pada perbesaran 40 dan 100 kali (Hasiani et al, 2015).

Prosedur kelima, yaitu uji kemampuan jamur endofit sebagai antibakteri. Penyiapan bakteri uji yaitu satu ose biakan murni *Bacillus subtilis* diinokulasikan pada media agar miring, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil peremajaan yang diperoleh, diambil 1 ose lalu disuspensikan dalam 10 ml NaCl fisiologis 0,9%. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Hasil isolasi makroskopis menunjukkan ke-4 isolat memiliki warna koloni putih tebal, tepi koloni licin, berombak, pinggir koloni dengan sedikit warna kekuningan, permukaan koloni halus, elevasi koloni datar dan karakterisasi mikroskopis memiliki bentuk spora oval, warna spora kuning, coklat, dan hitam bentuk konodia bulat, bentuk konidiofor tegak, dan memiliki hifa bersekat.
2. Hasil uji isolat jamur endofit sebagai antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* diketahui memiliki zona bening yaitu isolat STPS1 dengan zona hambat tertinggi 3,9 mm dan isolat STPS3 dengan zona hambat terendah 0,6 mm dengan kriteria penghambat lemah.

Uji antagonis dilakukan untuk mengetahui jamur endofit menghasilkan antibakteri. Media MHA dituang secara aseptis kedalam cawan petri steril sebanyak 5 ml dan dibiarkan memadat. Setelah itu diambil 1 ml suspensi *Bacillus subtilis* diinokulasikan pada masing-masing permukaan media MHA dengan menggunakan mikropipet dan disebarluaskan menggunakan batang sebar. Tanamkan isolat jamur endofit diatas medium MHA yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran diameter zona hambat (Elviasari et al, 2016). Tuliskan metode pelaksanaan pengabdian untuk memecahkan masalah mitra, waktu pelaksanaan kegiatan, program kerja, dan detail lokasi kegiatan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Isolasi

Hasil isolasi jamur endofit pada tumbuhan paku sejati *Dryopteris filix-mas* menggunakan media PDA didapatkan 4 isolat. Hasil karakterisasi makroskopis berupa warna, bentuk, permukaan, elevasi, dan tepi dari 4 isolat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Morfologi Makroskopis Jamur Endofit dari Tumbuhan Paku Sejati *Dryopteris filix-mas*.

Karakteristik Makroskopis					
Isolat Jamur	Warna Koloni	Bentuk Koloni	Permukaan Koloni	Elevasi Koloni	Tepi Koloni
STPS1	Putih	Bulat	Halus	Datar	Licin
STPS2	Putih	Bulat	Halus	Datar	Licin
STPS3	Putih	Tidak Beraturan	Halus	Datar	Berombak
STPS4	Putih	Bulat	Halus	Datar	Berbenang

Isolat jamur STPS1, memiliki ciri morfologi warna putih dan bentuknya bulat, permukaan koloni halus, elevasi koloni yang datar, tepi koloni licin. Isolasi jamur STPS2, memiliki ciri morfologi warna putih dan bentuknya bulat, permukaan koloninya halus, elevasi yang datar, tepi koloni licin. Isolasi jamur STPS3, memiliki ciri morfologi warna putih dan bentuknya tidak beraturan, permukaan yang halus, elevasi yang datar, tepi koloni berombak. Isolasi jamur STPS4, memiliki ciri morfologi warna putih dan bentuknya bulat, permukaan yang halus, elevasi yang datar, dan tepi koloni berbenang.

Menurut Kumala (2019), 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. Sedangkan 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.

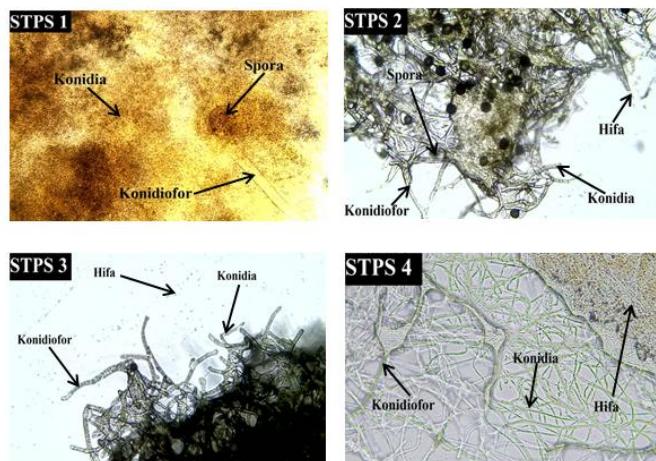
3.2 Karakterisasi Jamur Endofit secara Mikroskopis

Karakterisasi mikroskopis ke-4 isolat dilakukan dengan mengamati warna spora, bentuk spora, hifa, konodia, dan konidiafor. Hasil karakterisasi mikroskopis terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Mikroskopis Jamur Endofit yang Diisolasi dari Tumbuhan Paku Sejati *Dryopteris filix-mas*

Kode Isolat	Bentuk Spora	Warna Spora	Bentuk Konidia	Bentuk Konidiafor	Bentuk Hifa
STPS1	Oval	Kuning kecoklatan	Bulat	Tegak	Bersekat
STPS2	Oval	Hitam	Bulat	Tegak	Bersekat
STPS3	Oval	Hitam	Bulat	Tegak	Bersekat
STPS4	Oval	Kecoklatan	Bulat	Tegak	Bersekat

Hasil karakterisasi mikroskopis dari keempat isolat diketahui secara keseluruhan isolat memiliki bentuk konidia bulat, konidiofor tegak, dan bentuk hifa bersekat. Secara umum dari ke empat isolat memiliki bentuk hifa yang bersekat. Hasil penelitian Andriani *et al.* (2019) menyatakan bahwa hasil pengamatan mikroskopis meliputi ada atau tidaknya sekat pada hifa, pertumbuhan hifa, ada tidaknya konidia, bentuk konidiofor, dan bentuk konidia.



Gambar 1. Karakteristik Isolat Jamur Endofit secara Mikroskopis

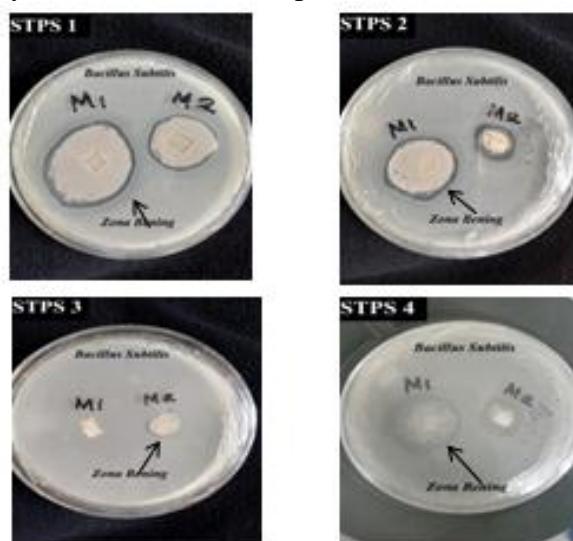
3.3 Uji Kemampuan Jamur Endofit sebagai Antibakteri

Berdasarkan hasil uji jamur endofit pada tumbuhan paku terhadap bakteri *Bacillus subtilis* setelah inkubasi 7 hari dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Antibakteri Jamur Endofit Tumbuhan Paku terhadap *Bacillus Subtilis*

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)
STP1	3,9
STP2	2,55
STP3	0,6
STP4	2,3

Uji jamur endofit sebagai antibakteri dilakukan untuk mengetahui kemampuan yang dihasilkan oleh jamur endofit dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Media MHA digunakan untuk menguji aktivitas jamur endofit dan bakteri pengujian itu menggunakan bakteri yang berumur 24 jam dan bakteri masih dalam keadaan aktif dan pertumbuhannya itu dalam kondisi optimal.

Gambar 2. Hasil Uji Isolat Jamur Endofit terhadap *Bacillus subtilis*

Hasil uji jamur endofit sebagai antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* menunjukkan aktivitas yang berbeda-beda setiap isolat. Aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona hambat berupa daerah jernih di sekitaran jamur endofit. Berdasarkan hasil uji antibakteri dilihat pada Tabel 3 menunjukkan bahwa isolat jamur endofit yang memiliki zona hambat tertinggi ditunjukkan pada kode isolat STPS1 dengan zona hambat 3,9 mm dan isolat jamur endofit yang memiliki zona hambat terendah ditunjukkan pada kode isolat STPS3 dengan zona hambat 0,6 mm. Menurut pendapat Strobel & Daisy (2003) jamur endofit memiliki kemampuan untuk memproduksi suatu zat antibakteri. Zakariah *et al.* (2015) menjelaskan bahwa kemampuan jamur endofit dalam menghambat pertumbuhan suatu bakteri tergantung suatu senyawa yang dihasilkan dalam tubuh organisme tersebut sehingga mampu mendegradasi dinding sel bakteri.

4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa hasil isolasi makroskopis menunjukkan ke-4 isolat memiliki warna koloni putih tebal, tepi koloni licin, berombak, pinggir koloni dengan sedikit warna kekuningan, permukaan koloni halus, elevasi koloni datar dan karakterisasi mikroskopis memiliki bentuk spora oval, warna spora kuning, coklat dan hitam bentuk konodia bulat, bentuk konidiofor tegak dan memiliki hifa bersekat. Hasil uji isolat jamur endofit sebagai antibakteri terhadap *Bacillus subtilis* diketahui memiliki zona bening yaitu isolat STPS1 dengan zona hambat tertinggi 3,9 mm dan isolat STPS3 dengan zona hambat terendah 0,6 mm dengan kriteria penghambat lemah.

Daftar Pustaka

- Andriani, Selvi, Fitratul Aini, Mahya Ihsa. (2019). Isolasi dan Identifikasi Jamur Patogen pada Tanaman Merr. Var. tangkit, *Jurnal Bio- Site* (Biologi & Sains Terapan), 04 (01) 05: 2019
- Arini D. I. D., & Kinho, J. (2012). Keragaman Jenis Tumbuhan Paku (*Pteridophyta*) di Cagar Alam Gunung Ambang Sulawesi Utara. *Jurnal penelitian. Info BPK* Manado, 2 (1).
- Hasiani, V. V., Islamudin. A., Laode R. (2015). Isolasi Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioxidan Dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis L*), *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 1 (4). 147-148.
- Kumala, S. (2014). Mikroba Endofit: Pemanfaatan Mikroba Endofit Dalam Bidang Farmasi (Edisi 2). Jakarta: PT. ISFI. Penerbitan.
- Pratiwi, R. H. (2014). Potensi Kapuk Randu (*Ceiba Pentandra Gaertn.*) Dalam Penyediaan Obat Herbal. *E-Journal Widya Kesehatan dan Lingkungan*, 1. (1): 53-60.
- Radji, M. (2005). Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. 3, 113-126.
- Strobel, G. dan Daisy, B., (2003). Bioprospecting For Microbial Endophytes and Their Natural Products, *Microbial and Mol. Biology Reviews*. 67 (4).
- Suhartina., Febby E. F. Kandou., Marina F. O. Singkoh. (2018). Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Tumbuhan Paku *Asplenium nidus*. *Jurnal Biologi FMIPA UNSRAT*. 7 (2). 25.

- Tnunay, I. M. Y., dan Dicky, F. H. (2020). Keragaman Tumbuhan Paku Sebagai Pendukung Objek Wisata di Hutan Wisata Alam Oeluan, Timor Tengah Utara. *Jurnal Saintek Lahang Kering*, 3 (1). 10.
- Worang, (2010). *Makalah Individu Pengantar Falsafah Sains* (PPS702) Bogor: Program Pascasarjana/S3 Intitut Pertanian Bogor.
- Zakaria, A., Nani, R., & La Ode, S. (2015). Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Tanaman Kina. *Al-Kauniayah Jurnal Biologi*, 8 (2): 51-58.