

Cendawan Endofit Akar Bersepta Gelap Pada Sistem Perakaran *Avicennia* sp. Asal Cagar Alam Pulau Dua Banten dan Potensinya sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri

RIDA OKTORIDA KHASTINI¹

¹Pendidikan Biologi FKIP, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa
Email: rida.khastini@untirta.ac.id

ABSTRAK

Avicennia sp. merupakan salah satu vegetasi dominan yang terdapat di cagar alam Pulau Dua Banten. Sistem perakaran tumbuhan ini merupakan habitat yang baik bagi beragam mikroorganisme terutama Cendawan endofit akar bersepta gelap. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan Cendawan endofit akar bersepta gelap pada sistem perakaran *Avicennia* sp. dan melakukan penapisan awal untuk mengetahui aktivitas cendawan endofit akar dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Sebanyak 8 isolat cendawan endofit akar bersepta gelap. Berdasarkan hasil penapisan terhadap bakteri uji *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan CEM 6 dan 7 memiliki rata-rata zona hambat lebih besar pada *E. coli* dibandingkan kontrol dan CEM 8 yang memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *S. Aureus*.

Kata kunci: Cendawan endofit akar bersepta gelap, antibakteri

PENDAHULUAN

Akar tumbuhan merupakan habitat yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme tidak terkecuali cendawan endofit akar. Berbeda dengan mikoriza yang telah banyak dikenal, cendawan endofit akar memiliki perbedaan yang kontras dengan mikoriza antara lain nampak pada morfologi, perkembangan dan transfer nutrisi yang terjadi antara inang dan cendawan tersebut. Interaksi antara cendawan endofit dan akar tanaman akan meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi keduanya.

Cendawan endofit adalah cendawan yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa menunjukkan gejala (Willia *et al.*, 2012). Cendawan endofit mampu mengkolonisasi inangnya dan tumbuh dengan tidak menimbulkan gejala dalam jaringan tanaman yang diinfeksi sehingga tanaman tetap sehat (Petrini, 1997; Sriwati *et al.* 2012). Salah satu cendawan endofit adalah cendawan endofit bersepta gelap Cendawan ini membentuk asosiasi dengan hampir 600 tanaman yang meliputi 320 genus dan 100 famili dan tersebar luas mulai dari daerah tropis sampai kutub dan pegunungan (Jumpponen & Trappe 1998), termasuk *Avicennia* sp. Vegetasi dominan yang tumbuh

di ekosistem mangrove Cagar Alam Pulau Dua.

Cagar Alam Pulau Dua secara geografis terletak di Teluk Banten, Kelurahan Sawah Luhur, Kecamatan Kasemen, Kota Serang. Secara geografis wilayah ini berada pada 106°11'38" - 106°13'14" BT dan 6°11'5" - 6°12'5" LS, dengan topografi kawasan relatif datar pada ketinggian antara 1-3 m dpl dan keadaan lapangan landai serta memiliki kemiringan relatif datar antara 5%-10% (Kemenkehut, 2007; Triyanto, 2012). Menurut klasifikasi Schmidt dan Ferguson, kondisi iklim di kawasan Cagar Alam Pulau Dua termasuk tipe iklim B dengan curah hujan rata-rata 250 mm/tahun. Suhu rata-rata 25°C-32°C, kelembaban udara mencapai 40%-60% dengan bulan basah terjadi pada bulan November sampai Bulan Februari, sedangkan bulan kering terjadi antara Maret sampai bulan Oktober (Kemenkehut, 2007).

Dalam dua dekade ini, cendawan endofit merupakan salah satu sumber utama mikrobia penghasil antibiotik baru (Kauffman dan Carver, 1997; Kurtz, 1997). Brunner dan Petrini (1992) melakukan penapisan terhadap lebih dari 80 spora cendawan, didapatkan

bahwa 79% fungi yang mampu menghasilkan antibiotik adalah kelompok endofit. Selain itu, Tschertter dan Dreyfuss (1992) meneliti beberapa cendawan endofit dan mendapatkan *Cryptosporiosis* spp. mampu menghasilkan metabolit sekunder dengan spektrum patogenisitas lebar, dan beberapa peneliti lain memulai memanfaatkan mikrobial endofit sebagai sumber antibiotik baru (Carrol 1988; Huang dan Kaneko, 1996; Hostettmann dan Wolfender, 1997;).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan Cendawan endofit akar bersepta gelap pada sistem perakaran *Avicennia* sp. dan melakukan penapisan awal untuk mengetahui aktivitas cendawan endofit akar dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

METODE PENELITIAN

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini ialah sampel akar *Avicennia* sp cagar alam Pulau Dua yang akan diisolasi dan diidentifikasi. Isolat bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri uji. Media tumbuh yang digunakan untuk isolasi cendawan berupa media *Potato dextrose agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB). dan *Nutrient agar* (NA). Alat-alat yang diperlukan ialah alat-alat gelas dan mikroskop, peralatan diseksi, laminar, autoklaf.

Isolasi Cendawan Endofit. Cendawan endofit akar bersepta gelap diisolasi dengan metode isolasi secara langsung. Akar, tanaman *Avicennia* sp. dicuci menggunakan air mengalir dan dipotong dengan ukuran panjang 1 cm. Akar, batang dan daun kemudian disterilisasi permukaannya menggunakan alkohol 70% (v/v) selama 1 menit dan NaOCl 0.1% (v/v) selama 15 menit. Setelah itu, seluruh sampel dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Seluruh sampel kemudian dikeringkan dengan menggunakan tissue steril. Setelah potongan-potongan sampel tersebut benar-benar kering, maka potongan sampel tersebut selanjutnya ditempatkan di dalam cawan petri yang telah berisi media *Potato Dekstrosa Agar* (PDA) padat, yang mengandung antibiotik

kloramfenikol 500 mg/L untuk menghindari pertumbuhan atau kontaminasi bakteri. Media yang sudah terdapat sampel tersebut diinkubasikan pada suhu ruang (25°C) hingga tumbuh dan diamati pertumbuhannya. Miselium cendawan yang tumbuh selanjutnya dimurnikan sampai didapatkan isolat murni.

Identifikasi Isolat Cendawan. Setelah didapatkan isolat murni, kemudian diamati karakter morfologi baik secara makroskopis maupun secara mikroskopis dengan mikroskop cahaya. Secara makroskopis karakter yang diamati meliputi; warna dan permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, licin), warna balik koloni (*reverse color*), dan tetes eksudat (*exudates drops*). Pengamatan secara mikroskopis meliputi; ada tidaknya septa pada hifa, pigmentasi hifa, bentuk dan ornamentasi spora (vegetatif dan generatif), bentuk dan ornamentasi tangkai spora. Kemudian hasil diidentifikasi menggunakan buku petunjuk identifikasi cendawan Barnett dan Hunter (1972) dan Watanabe (2002).

Ekstraksi Senyawa Metabolit Cendawan Endofit. Cendawan endofit yang sudah tumbuh pada media PDA dicuplik untuk ditumbuhkan pada media PDB (*Potato Dextrose Broth*). Isolat cendawan ditumbuhkan pada media PDB sebanyak 10 mL pada suhu ruang selama 14 x 24 jam. Selama masa inkubasi, isolat cendawan endofit dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 200 rpm selama 30 menit. Pengocokan menggunakan *shaker* bertujuan untuk menghomogenkan media tumbuh cendawan endofit, sehingga nutrisi tidak mengendap. Setelah miselium cendawan endofit tumbuh, isolat cendawan disentrifuge untuk memisahkan miselium dan ekstrak cendawan endofit. Setelah dilakukan *sentrifuge* akan dihasilkan filtrat (miselium) dan Supernatan (cair), supernatan yang dihasilkan diambil dan disimpan di suhu dingin untuk digunakan pada uji antagonis secara *in vitro*. Kemudian, isolat cendawan ditumbuhkan pada cawan petri yang telah ditumbuhi mikroba uji untuk uji antagonis secara *in vitro* dan diinkubasi pada suhu sekitar 25°C.

Penapisan aktivitas antibiotik.

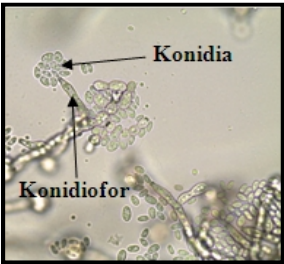
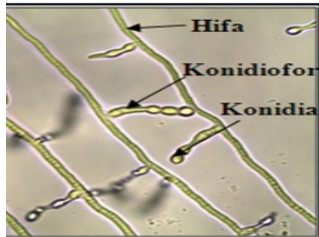
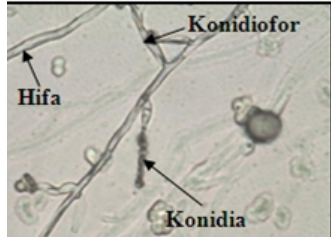
Pelaksanaan uji antagonis secara *in vitro* yang paling banyak dengan menggunakan metode *disk diffusion*, yang juga dikenal sebagai uji *Kirby Bauer*. Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang akan digunakan sebagai mikroba uji diinokulasi pada media NA dan diinkubasi pada suhu 22-37⁰C selama 1 x 24 jam. Selanjutnya, *paper disc* (kertas cakram) yang telah direndam dalam supernatan cendawan endofit selama 30 menit dengan konsentrasi tertentu ditempatkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi mikroba uji. Setelah masa inkubasi pada suhu kamar, jika cendawan endofit berpotensi dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji, akan terbentuk zona penghambatan atau zona jernih di sekitar *paper disc*. Selanjutnya, diameter zona jernih dapat diukur untuk mengetahui sensitivitas mikroba terhadap senyawa antibiotik (Tortora, 2010: 572).

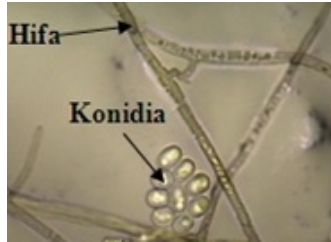
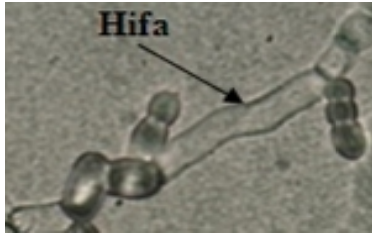
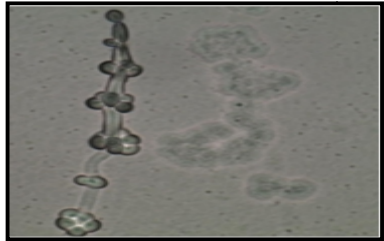
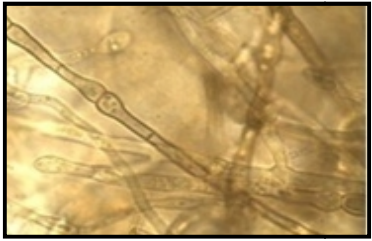
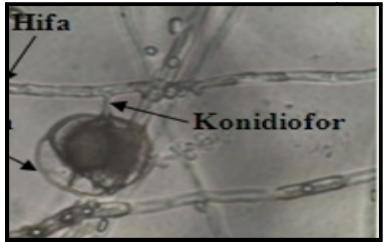
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi diperoleh sebanyak 8 isolat cendawan endofit akar bersepta gelap (Tabel 1). Jaringan akar tanaman secara morfologi, fisik, dan kimianya menyediakan habitat bagi beragam komunitas mikroorganisme, termasuk cendawan endofit akar. Selain itu, menurut Schadt *et al.* (2001) akar banyak dikolonisasi oleh beragam cendawan endofit, terutama kelompok endofit bersepta gelap.

Pengamatan morfologi cendawan secara makroskopis pada media tumbuh menunjukkan warna koloni yang gelap. Cendawan ini pada umumnya memiliki pertumbuhan yang lambat. Berdasarkan pengamatan mikroskopik memperlihatkan bahwa pada umumnya miselium berwarna gelap dengan sel-sel bersekat pendek dan bercabang atau menyerupai rantai yang tumbuh. Beberapa isolat hanya memperlihatkan struktur somatik saja tanpa terbentuk struktur reproduktifnya.

Tabel 1. Hasil isolasi cendawan endofit akar bersepta gelap pada sistem perakaran *Avicennia* sp.

Kode Isolat	Karakter Morfologi
CEM 1 	Koloni berwarna coklat kehitaman, diameter koloni ± 4,5 cm, permukaan koloni bergranul, tekstur seperti beludru, warna balik koloni hitam. Hifa bersekat yang berwarna hijau kekuningan, berinti satu sel, konidia berbentuk silindris yang berwarna kuning kehijauan, konidiofor tegak berwarna kehijauan
CEM 2 	Koloni berwarna abu-abu kehitaman, diameter koloni ± 2,5 cm, permukaan koloni cembung, tesktur permukaan koloni seperti beludru, warna balik koloni abu-abu kehitaman hifa bersekat yang berwarna hijau kekuningan, konidia berbentuk semi bulat yang berwarna cokelat keemasan, konidiofor sederhana berwarna kehijauan.
CEM 3 	Koloni berwarna hitam kehijauan, diameter koloni ± 2,5 cm, permukaan koloni bergranul, tekstur permukaan koloni seperti beludru, warna balik koloni abu-abu kehitaman. hifa bersekat yang berwarna kehijauan, konidia berbentuk semi bulat yang berwarna cokelat kehitaman

 <p>CEM 4</p>	<p>Koloni berwarna abu-abu kehitaman, diameter koloni $\pm 2,9$ cm, permukaan koloni bergranul, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni putih kehitaman hifa bersekat yang berwarna kuning kehijauan, konidia berbentuk bulat berwarna kuning kehijauan, konidiofor tegak berwarna kuning kehijauan.</p>
 <p>CEM 5</p>	<p>Koloni berwarna abu-abu kehitaman, diameter koloni $\pm 2,3$ cm, permukaan koloninya bergranul, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni hitam, tetes eksudat berwarna bening. Hifa bersekat yang berwarna coklat kehijauan, konidia berbentuk subglobose berwarna hijau kehitaman, konidiofor tegak berwarna hijau kehitaman</p>
<p>CEM 6</p> 	<p>Koloni abu-abu kehitaman, diameter koloni $\pm 1,5$ cm, permukaan koloninya bergranul, tekstur koloninya seperti beludru, warna balik koloni hitam. Cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat yang berwarna kehitaman, konidia berbentuk bulat telur berwarna kehitaman, bantalan konidia berada di sisi lateral, menghasilkan konidia lain dengan tunas</p>
<p>CEM 7</p> 	<p>Koloninya berwarna kecokelatan, diameter koloni $\pm 3,3$ cm, permukaan koloninya bergranul, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni coklat kehitaman, dan tetes eksudat berwarna cokelat bening. Cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat berwarna kekuningan, miselia steril.</p>
<p>CEM 8</p> 	<p>Koloninya berwarna keabu-abuan, diameter koloni $\pm 5,3$ cm, permukaan koloninya bergranul, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni putih keabu-abuan, tetes eksudat berwarna kuning bening. Cendawan endofit ini memiliki hifa tidak bersekat berwarna kehijauan, konidia bulat berwarna cokelat kehitaman, konidiofor sederhana berwarna cokelat kehitaman.</p>

Cendawan endofit akar bersepta gelap yang diisolasi dari sistem perakaran tumbuhan *Avicennia* sp. asal Cagar Alam Pulau Dua memiliki kemampuan dalam

menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Potensi ini diketahui berdasarkan hasil uji antagonis yang dilakukan pada koleksi cendawan

endofit akar terhadap dua bakteri uji yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Cendawan endofit ini diuji secara *in vitro*

menggunakan metode *disc diffusion* atau yang dikenal sebagai uji Kirby-Bauer dengan aktivitas yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengujian isolat cendawan endofit akar bersepta gelap pada bakteri uji.

Perlakuan	Daya hambat			
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Rataan zona hambat (mm)	Kategori	Rata-rata zona hambat (mm)	Kategori
K	12.67 ^{abc} ±3.055	K	20.33 ^{bc} ± 1.528	SK
CEM 1	14.67 ^{cd} ±2.082	K	19.67 ^{abc} ± 4.163	K
CEM 2	12.67 ^{bcd} ±2.082	K	15.33 ^{ab} ± 2.082	K
CEM 3	10.33 ^{abc} ±1.528	K	15.67 ^{ab} ± 2.517	K
CEM 4	15.67 ^d ±4.041	K	15.00 ^{ab} ± 2.646	K
CEM 5	10.67 ^{abc} ±2.082	K	17.00 ^{abc} ± 3.606	K
CEM 6	8.00 ^a ±1.000	S	16.00 ^{ab} ± 2.646	K
CEM 7	8.67 ^{ab} ±1.528	S	14.33 ^a ± 2.082	K
CEM 8	11.00 ^{abc} ±2.000	K	21.33 ^c ± 2.517	SK

Ket: Angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan signifikansi pada taraf 5% berdasarkan uji Duncan. K: kuat, S: sedang, SK: sangat Kuat, L: Lemah

Berdasarkan hasil pengukuran diameter tersebut terlihat adanya variasi diameter zona hambat yang dihasilkan oleh masing-masing

CEM dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji yang dikelompokkan kekuatan daya hambatnya berdasarkan Tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi kekuatan hambatan pertumbuhan bakteri menurut Greenwood yang dikutip oleh Pratama (2005)

Diameter	Kekuatan Daya Hambat
< 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
>21 mm	Sangat kuat

Pada penghambatan pertumbuhan bakteri *E. coli* tampak bahwa hanya dua isolat cendawan CEM 6 dan 7 yang memiliki rata-rata zona hambat lebih besar dari kontrol, sedangkan hanya satu isolat yaitu CEM 8 yang memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Dharmawan *et al.* (2009) mengatakan bahwa adanya variasi besar zona hambat yang diperoleh dalam penelitian disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh masing-masing isolat yang memiliki struktur kimia, komposisi, kandungan yang berbeda. Besarnya zona hambat yang melebihi kontrol

menunjukkan adanya potensi dari isolat tersebut untuk diteliti dan dikembangkan lebih lanjut untuk diisolasi senyawa metabolit sekunder berupa antibiotik yang dihasilkan sehingga diharapkan dapat memberikan solusi untuk masalah resistensi.

Pengetahuan mengenai potensi isolat cendawan endofit akar sangat penting untuk diketahui melihat kemampuannya yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan seperti sebagai sumber obat-obatan baru. Kemampuan cendawan endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang

sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari cendawan endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya tersebut (Sriwati *et al.*, 2012). Silva *et al.*, (2011) melaporkan bahwa cendawan endofit asal mangrove *Languncularia racemosa* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis*. Selain itu, cendawan endofit *Micelia sterilia* FEL66 berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *B. subtilis*, *M. luteus* dan *E. coli*.

KESIMPULAN

Sebanyak 8 isolat cendawan endofit akar bersepta gelap telah berhasil diisolasi dari sistem perakaran tumbuhan mangrove *Avicennia* sp. yang berasal dari cagar alam Pulau Dua Banten. Berdasarkan hasil penelitian, isolat-isolat ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E.coli* dan *S. aureus*. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengisolasi senyawa antibakteri dan mengembangkannya menjadi bahan obat baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Barnett, H. L. & B. B. Hunter. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess Publ. Co. Minneapolis.
- Carroll GC. 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to Mutualistic symbiont. *Ecology* 69: 2-9.
- Dharmawan, I.W.E., K. Retno & M. S. Parwanayoni. Isolasi *Streptomyces* spp. pada kawasan hutan Provinsi Bali serta uji daya hambatnya terhadap lima strain Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Jurnal biologi XIII*(1): 1-6.
- Hostettmann K, Potterat O, Wolfender JL. 1998. The potential of higher plants as a resources of new drugs. *Chimia*, 52:10-17
- Huang LH, Kaneko T. 1996. Pyrenomycetes and Loculomycetes as Sources of Secondary Metabolites. *J. Industrial Microbiol.* 17:402-416.
- Jumpponen A, Trappe JM. 1998. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root colonizing fungi. *New Phytol* 140:295– 310.
- Kauffman CA, Carver PL. 1997. Antifungal agents in the 1990s. Current status and future developments (Review). *Drugs.* 53:539-549.
- Kementerian Kehutanan. 2007. Pulau dua satu-satunya cagar alam tempat berbiaknya burung air di Kota Serang. Direktorat Jenderal PHKA Balai Besar KSDA Jawa Barat Bidang KSDA Wilayah I Bogor Seksi Konservasi Wilayah I.
- Kurtz MB. 1997. New antifungal drugs targets: A vision for the future. *ASM News.*64:31-39.
- Petrini O, Sieber TN, Toti L, Viret O. 1992. Ecology Metabolite Production and Substrate Utilization in Endophytic Fungi. *Natural Toxins* 1:185-196.
- Petrini, O. 1997. Ecological and physiological aspects of host-specificity in endophytes fungi. Dalam: S. C. Redlin & L. M. Carris (eds.). *Endophytic fungi in grasses and woody plants.* The American Phytopathological Society, USA: 87-100.
- Pratama, M.R. 2005. Pengaruh ekstrak serbuk kayu siwak (*Salvadora persica*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* dan *S. aureus* dengan metode difusi agar. Skripsi Sarjana pada IPB Bogor.
- Schadt, C. W., R. B. Mullen & S. K. Schmidt. 2001. Isolation and phylogenetic identification of a dark-septate fungus associated with the alpine plant *Ranunculus adoneus*. *New Phytologist* 150: 747-755.
- Silva, M. R. O., A. C. Almeida, F. V. F. Arruda & N. Gusmao. 2011. Endophytic fungi from Brazilian mangrove plant *Languncularia racemosa* (L.) Gaertn. (Combretaceae): their antimicrobial potential. *Science against microbial pathogens:* 1260—1266
- Sriwati, R., Susanna & P. Yuni. 2012. Pengaruh perasan beberapa jenis daun terhadap pertumbuhan cendawan endofit *Tricorderma* Sp. Secara in vitro. *J. Floratek* 7: 125-132.
- Tortora, G.J., B. R. Funke & C. L. Case. 2010. *Microbiology* an

- introduction. Pearson Education, United State of America.
- Triyanto, U. 2012. Tanah timbul-tenggelam di cagar alam Pulau Dua, Banten. *Warta Konservasi Lahan Basah* 20 (2): 3 dan 16.
- Tscherter H, Dreyfuss. 1992. *New Metabolites , Processes for Their Production and Uses. International Application Published Under The Patent Cooperation Treaty (PCT). International Publication Number 38 : 28-45.*
- Watanabe T. 2002 *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. By. 2nd edn. CRC Press, Boca Raton. ISBN 0 8493 1118 7.*
- Wilia, W., I. Hayati & D. Ristiyadi. 2012. *Eksplorasi cendawan endofit dari tanaman padi sebagai agens pemacu pertumbuhan tanaman. ISSN 1 (4):299-304.*