

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI PRIMER JAMUR ENDOFIT DARI TUMBUHAN OBAT
NAGASARI (*Mesua ferrea*)**

**ISOLATION AND PRIMARY IDENTIFICATION OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM IRON WOOD
(*Mesua ferrea*)**

Dwi Hartanti

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Jl. Raya Dukuwaluh, PO Box 202, Kembaran, Banyumas 53182
Email: dwihartantihamad@gmail.com

ABSTRAK

Tujuh isolat jamur endofit berhasil diisolasi dari daun dan ranting nagasari (*Mesua ferrea*) yang tumbuh di Kedungbanteng, Banyumas. Isolat jamur diidentifikasi berdasarkan morfologi koloni dan pengamatan spora menggunakan mikroskop cahaya. Salah satu isolat jamur diidentifikasi sebagai *Aspergillus* sp., dua isolat jamur endofit merupakan *Aspergillus* sp., dan empat isolat lain belum teridentifikasi.

Kata kunci: *Aspergillus* sp., endofit, *Mesua ferrea*, *Penicillium* sp.

ABSTRACT

Seven isolates of endophytic fungi were collected from the leaves and stems of iron wood (*M. ferrea*) collected from Kedungbanteng, Banyumas, Indonesia. All isolates were identified based on their colony morphology and examination of spores using light microscopes. One isolate was identified as *Penicillium* sp., two isolates belonged to *Aspergillus* sp., and four strains were unidentified.

Key words: *Aspergillus* sp., endophyte, *Mesua ferrea*, *Penicillium* sp.

Pendahuluan

Jamur endofit adalah jamur yang menghuni *intra* dan/atau *interseluler* tanaman tingkat tinggi tanpa menimbulkan efek negatif terhadap tanaman inangnya (Schulz and Boyle, 2006). Jamur endofit dilaporkan menghasilkan berbagai metabolit bioaktif, baik senyawa yang sudah dikenal maupun senyawa baru (Alvin *et al.*, 2014; Pimentel *et al.*, 2011; Suryanarayanan, 2013; Yu *et al.*, 2010). Dalam rangka mendapatkan senyawa metabolit sekunder bioaktif dari jamur endofit, salah satu pendekatan yang bisa digunakan adalah pemilihan tanaman inang yang telah diketahui memiliki bioaktivitas yang dimaksud.

Nagasari (*Mesua ferrea*) dilaporkan aktif sebagai antimikroba terhadap bakteri gram positif, bakteri gram negatif dan yeast (Ali *et al.*, 2004; Chanda *et al.*, 2013; Teh *et al.*, 2013; Ullah *et al.*, 2013). Senyawa metabolit sekunder yang telah berhasil diisolasi dari nagasari yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antimikroba antara lain 18 turunan 4-alkil- dan 4-fenilkumarin (Verotta *et al.*, 2004), juga 7 turunan kumarin yang aktif sebagai penghambat *NorA efflux pump* pada

beberapa bakteri gram positif dan negatif (Roy *et al.*, 2013).

Hingga saat ini, belum ada laporan tentang jamur endofit yang diisolasi dari nagasari yang tumbuh di Indonesia. Publikasi tentang jamur endofit yang diisolasi dari nagasari masih terbatas, yaitu *Apiosordaria stratiatispota* dari nagasari yang tumbuh di Chiang Mai, Thailand (Hyde *et al.*, 1997) dan *Phomopsis* sp. dari nagasari yang tumbuh di Tamil Nadu, India (Jayanthi *et al.*, 2011). Fokus penelitian ini adalah isolasi dan identifikasi primer jamur endofit dari nagasari yang tumbuh di Kedung Banteng, Banyumas.

Metode Penelitian

Isolasi Jamur Endofit

Ranting dan daun nagasari dicuci dengan air suling steril, kemudian direndam dalam alkohol 70% selama 5 menit dan dibilas dengan air suling steril. Ranting dan daun nagasari selanjutnya direndam dalam Clorox™ 50% selama 5 menit, lalu 3 kali dibilas dengan air suling steril (Mangunwardoyo *et al.*, 2012; Sugijanto *et al.*, 2004). Ranting dan daun nagasari steril ditanam dalam media dan diinkubasi selama 3-14 hari. Bila dalam jangka waktu tersebut ranting dan daun tetap steril, sampel lalu dipotong secara

aseptis. Bagian dalam ranting kemudian ditanam dalam media baru dan diinkubasi sampai dengan 28 hari hingga tumbuh miselium. Subkultivasi dan pemisahan jamur dilakukan setelah kultur tumbuh dengan baik dan dilakukan dengan *streak plate isolation method* (Strobel and Daisy, 2003; Sugijanto *et al.*, 2004). Pemisahan dan pemurnikan satu isolat jamur dari koloni tersebut dilakukan dengan *streak plate isolation method* (Janssen *et al.*, 2002).

Identifikasi Primer Jamur Endofit

Isolat jamur endofit dikarakterisasi berdasarkan penampakan makroskopis dan mikroskopis yang dilihat dari *slide culture* dari sampel pada

mikroskop cahaya. Identifikasi jamur berdasarkan pola pertumbuhan, bentuk hifa, serta bentuk dan warna spora dari jamur yang berumur tiga hari (Saithong *et al.*, 2010).

Hasil dan Pembahasan

Jamur endofit yang berhasil diisolasi dari ranting dan daun nagasari sebanyak tujuh isolat. Dari ranting nagasari didapatkan lima isolat jamur, yaitu MFR-01, MFR-02, MFR-03, MFR-04, dan MFR-05, sedangkan dari daun nagasari didapatkan dua isolat, yaitu MFD-01 dan MFD-02. Karakteristik dari koloni masing-masing isolat jamur dirangkum pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik koloni isolat jamur endofit dari tumbuhan inang nagasari

Jamur	Bentuk	Elevasi	Tepi	Permukaan	Warna
MFR-01	<i>Rhizoid</i>	<i>Flat</i>	<i>Filiform</i>	<i>Cottony</i> , tipis	Putih
MFR-02	<i>Irregular</i>	<i>Flat</i>	<i>Undulate</i>	<i>Cottony</i> , tebal	Putih
MFR-03	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	<i>Grainy</i>	Lingkaran dalam hitam, luar putih
MFR-04	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	<i>Grainy</i>	Lingkaran dalam hijau muda, luar putih
MFR-05	<i>Filamentous</i>	<i>Flat</i>	<i>Filiform</i>	<i>Cottony</i> , tebal	Putih
MFD-01	<i>Circular</i>	<i>Nimbonate</i>	<i>Entire</i>	<i>Velvety</i>	Lingkaran dalam hijau tua kebiruan, luar putih
MFD-02	<i>Circular</i>	<i>Nimbonate</i>	<i>Entire</i>	<i>Dull</i>	coklat

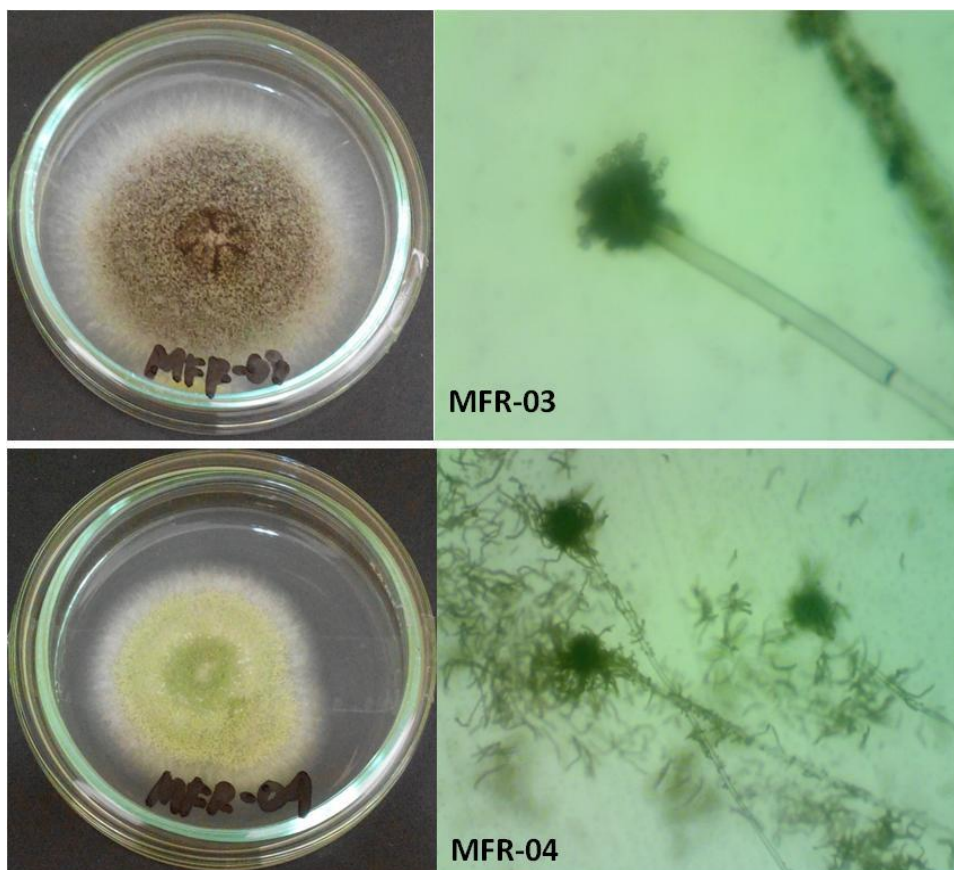
Morfologi MFR-03 dan MFR-04 (Gambar 1) menunjukkan bahwa keduanya merupakan anggota marga

Aspergillus. Kedua isolat jamur tersebut memiliki morfologi yang identik, kecuali pada warnanya. Koloni MFR-03

berbentuk *circular*, dengan permukaan *grainy* berwarna hitam, sedangkan koloni MFR-04 berwarna hijau. Secara mikroskopik, kedua jamur tersebut memiliki *conidial head* yang bulat yang diselubungi oleh *conidiophora*.

Aspergillus spp. telah banyak diisolasi sebagai endofit dan beberapa di antaranya memiliki aktivitas sebagai antimikroba, seperti yang diisolasi dari tumbuhan inang *Andropogon paniculata*

(Elfita *et al.*, 2011), *Garcinia mangostana* (Elfina *et al.*, 2014), *Citrus* sp. (Puspita *et al.*, 2013), *Zea mays* (Amin *et al.*, 2013), *Solanum tuberosum* (Tirtana *et al.*, 2013), *Capsicum annuum* (Nurzannah *et al.*, 2014), *Sonchitis* sp. (Suciati and Rahmansyah, 2013), *Rhizophora mucronata* (Tarman *et al.*, 2013), *Vanilla planifolia* (Sudantha and Abadi, 2007), *Cynodon dactylon* (Ge *et al.*, 2009), dan *Gloriosa superba* (Budhiraja *et al.*, 2013).

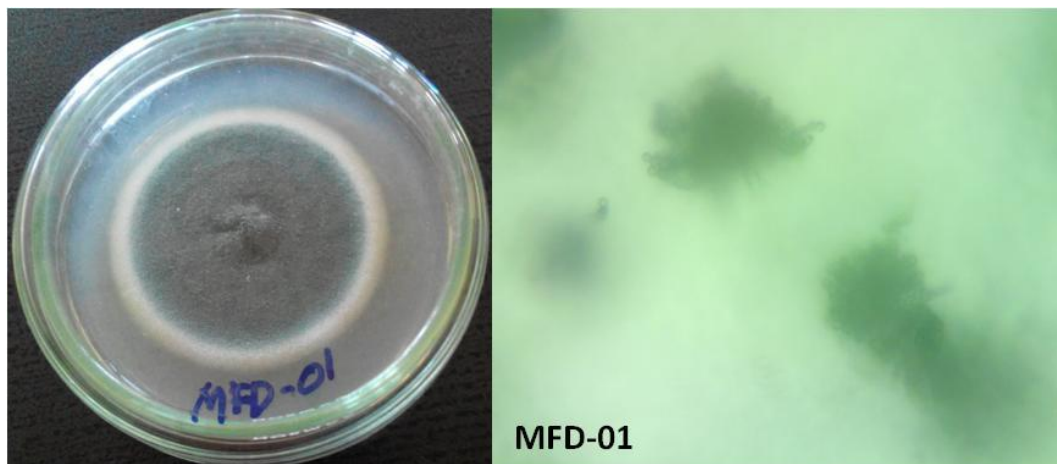


Gambar 1. Morfologi jamur endofit MFR-03 (atas) dan MFR-04 (bawah). Kedua isolat diidentifikasi sebagai *Aspergillus* sp.

MFD-01 menunjukkan koloni yang tumbuh dengan cepat, berwarna biru kehijauan dengan lingkaran putih disebelah luar. Gambaran mikroskopis menunjukkan adanya untaian *conidia* yang bergerombol di sekitar *phialide*. Berdasarkan identifikasi primer tersebut, MFD-01 merupakan suatu *Penicillium* sp. (Gambar 2). *Penicillium* spp. telah banyak dilaporkan sebagai endofit yang memiliki bioaktivitas sebagai antimikroba dan bersifat sitotoksik. Beberapa contohnya adalah *Penicillium* spp. yang diisolasi dari *Annona squamosa* (Yunianto *et al.*, 2014), *G.*

mangostana (Elfina *et al.*, 2014), *C. annum* (Nurzannah *et al.*, 2014), *V. planifolia* (Sudantha and Abadi, 2007), *S. tuberosum* (Tirtana *et al.*, 2013), *Soneratia* sp. (Suciatmih and Rahmansyah, 2013), dan *Quercus viriabilis* (Ge *et al.*, 2008).

Identitas dari MFD-01, MFR-01, MRR-02, dan MFR-05 tidak bisa dipastikan hanya dengan menggunakan gambaran morfologi jamur-jamur tersebut. Keempat jamur tidak menunjukkan morfologi spesifik yang bisa digunakan sebagai dasar identifikasi.



Gambar 2. Morfologi jamur endofit MFD-01 yang diidentifikasi sebagai *Penicillium* sp.

Kesimpulan

Tujuh isolat jamur endofit berhasil diisolasi dari ranting dan daun nagasari. Berdasarkan morfologinya,

satu isolat diidentifikasi sebagai *Penicillium* sp. dan dua isolat diidentifikasi sebagai *Aspergillus* sp. Empat isolat yang lain belum bisa

diidentifikasi dan disarankan dilakukan *sequencing* ITS-DNA untuk memastikan identitasnya.

Daftar Pustaka

- Ali, M.A., Sayeed, M.A., Bhuiyan, M.S.A., Sohel, F.I., Yeasmin, M.S. 2004. Antimicrobial screening of *Cassia fistula* and *Messua ferrea*. *J. Med. Sci.*, 4:24-29.
- Alvin, A., Miller, K.I., Neilan, B.A. 2014. Exploring the potential of endophytes from medicinal plants as sources of antimycobacterial compounds. *Microbiol. Res.*, 169:483–495.
- Amin, N., Daha, L., Nasruddin, A., Junaed, M., Iqbal, A. 2013. The use of endophytic fungi as biopesticide against downy mildew *Peronosclerospora* spp. on maize leaf blight, *Helminthosporium maydis*. *Academic Res. Int.*, 4:153-159.
- Budhiraja, A., Nepali, K., Sapra, S., Gupta, S., Kumar, S., Dhar, K. 2013. Bioactive metabolites from an endophytic fungus of *Aspergillus* species isolated from seeds of *Gloriosa superba* Linn. *Med. Chem. Res.*, 22:323-329.
- Chanda, S., Rakholiya, K., Parekh, J. 2013. Indian medicinal herb: Antimicrobial efficacy of *Mesua ferrea* L. seed extracted in different solvents against infection causing pathogenic strains. *J. Accute Dis.*, 2(4):277-281.
- Elfina, D., Martina, A., Roza, R.M. 2014. Isolasi dan karakterisasi fungi endofit dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L) sebagai antimikroba terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Online Mahasiswa Bidang MIPA*, 1:1-10.
- Elfita, Muharni, Munawar, Salni, Oktasari, A. 2011. Senyawa antimalaria dari jamur endofitik tumbuhan sambiloto (*Andographis paniculata* Nees). *J. Natur Indonesia* 13:123-129.
- Ge, H.M., Shen, Y., Zhu, C.H., Tan, S.H., Ding, H., Song, Y.C., Tan, R.X. 2008. Penicidones A–C, three cytotoxic alkaloidal metabolites of an endophytic *Penicillium* sp. *Phytochemistry*, 69:571-576.
- Ge, H.M., Yu, Z.G., Zhang, J., Wu, J.H., Tan, R.X. 2009. Bioactive alkaloids from endophytic *Aspergillus fumigatus*. *J. Nat. Prod.*:DOI: 10.1021/np800700e.
- Janssen, P., Yates, P., Grinton, B., Taylor, P., Sait, M. 2002. Improved culturability of soil bacteria and isolation in pure culture of novel members of the divisions Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, and Verrucomicrobia. *App. Environment. Microbiol.*, 68(5):2391-2396.
- Mangunwardoyo, W., Suciati, Gandjar, I. 2012. Frequency of endophytic fungi isolated from *Dendrobium crumenatum* (Pigeon orchid) and antimicrobial activity. *Biodiversitas*. 13:34-39.

- Nurzannah, S.E., Lisnawita, Bakti, D. 2014. Potensi jamur endofit asal cabai sebagai agens hayati untuk mengendalikan layu *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*) pada cabai dan interaksinya. *J. Online Agroekoteknologi*, 2:1230-1238.
- Pimentel, M.R., Molina, G., Dionisio, A.P., Junior, M.R.M., Pastore, G. 2011. The use of endophytes to btain bioactive compounds and their application in biotransformation process. *Biotech. Res. Int.* 2011:doi:10.4061/2011/576286.
- Puspita, Y.D., Sulistyowati, L., Djauhari, S. 2013. Eksplorasi jamur endofit pada tanaman jeruk (*Citrus* sp.) fusiprotoplas dengan ketahanan berbeda terhadap *Botriodiplodia theobromae* Pat. *J. HPT*, 1:67-76.
- Roy, S.K., Kumari, N., Pahwa, S., Agrahari, U.C., Bhutani, K.K., Jachak, S.M., Nandanwar, H. 2013. NorA efflux pump inhibitory activity of coumarins from *Mesua ferrea*. *Fitoterapia*. 90:140-150.
- Schulz, B., Boyle, C. 2006. What are endophytes?, in: B. Schulz, *et al.* (Eds.), *Soil Biology: Microbial Root Endophytes*. Berlin: Springer-Verlag, pp. 1-13.
- Strobel, G., Daisy, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 67:491-502.
- Suciatmih, Rahmansyah, M. 2013. Endophytic fungi isolated from mangrove plant and have antagonism role against *Fusarium* Wilt *ARPN J. Agricul. Biol. Sci.*, 8:251-257.
- Sudantha, I.M., Abadi, A.L. 2007. Identifikasi jamur endofit dan mekanisme antagonismenya terhadap jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* pada tanaman vanili. *Agroteksos*, 7:27-38.
- Sugijanto, N.E.N., Indrayanto, G., Zaini, N.C. 2004. Isolation and determination endophytic fungi from *Aglaia eclipctica*, *Aglaia eusideroxylon*, *Aglaia odorata* and *Aglaia odoratissima* *Media Jurnal Penelitian Medika Eksakta* 5.
- Suryanarayanan, T.S. 2013. Endophyte research: going beyond isolation and metabolite documentation. *Fungal Ecol.*, 6:561-568.
- Tarman, K., Safitri, D., Setyaningsih, I. 2013. Endophytic fungi isolated from *Rhizophora mucronata* and their antibacterial activity. *Squalen*, 8:69-76.
- The, S.S., Ee, G.C.L., Mah, S.H., Yong, Y.K., Lim, Y.M., Rahmani, M., Ahmad, Z. 2013. In-vitro cytotoxic, antioxidant, and antimicrobial activities of *Mesua beccariana* (Baill.) Kosterm., *Mesua ferrea* Linn., and *Mesua congestiflora* extracts. *BioMed. Res. Int.*, 2013:1-7.
- Tirtana, Z.Y.G., Sulistyowati, L., Cholil, A. 2013. Eksplorasi jamur endofit pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L) serta potensi antagonisnya terhadap

- Phytophthora infestans* (Mont.) de Barry penyebab penyakit hawar daun secara in vitro. *J. HPT*, 1:91-101.
- Ullah, H.M.A., Tareq, S.M., Huq, I., Uddin, M.B., Salauddin, M. 2013. Antimicrobial and cytotoxic activity assessment of the aqueous methanolic and pet-ether extracts of the leaves of *Mesua ferrea*. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 4:3563-3568.
- Verotta, L., Lovaglio, E., Vidari, G., Finzi, P.V., Neric, M.G., Raimondi, A., Parapini, S., Taramelli, D., Riva, A., Bombardelli, E. 2004. 4-Alkyl- and 4-phenylcoumarins from *Mesua ferrea* as promising multidrug resistant antibacterials. *Phytochemistry*, 65:2867-2879.
- Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., Li, W., Sun, P., Qin, L. 2010. Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiol. Res.*, 165:437-449.
- Yunianto, P., Rusman, Y., Saepudin, E., Suwarso, W.P., Sumaryono, W. 2014. Alkaloid (meleagrine and chrysogine) from endophytic fungi (*Penicillium* sp.) of *Annona squamosa* L. *Pak. J. Biol. Sci.* 17:667-674.