

Isolasi dan Karakterisasi Jamur Endofit Daun Belimbing Hutan (*Cnestis palala* (Lour.) Merr)

Isolation and Characterization of Endophytic Fungi from Leaves of (*Cnestis palala* (Lour.) Merr)

Nurvidya Sistha Azzahra, Nisa Naspiah, Lizma Febrina*

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia

*Email Korespondensi: lizma@farmasi.unmul.ac.id

Abstrak

Belimbing hutan (*Cnestis palala* (Lour.) Merr) dikenal sebagai tanaman khas Kalimantan Timur yang umumnya digunakan sebagai obat penyakit dalam, obat pasca melahirkan, sakit perut dan gangguan saluran kemih oleh masyarakat sekitar. Khasiat dari belimbing hutan ini tidak terlepas dari senyawa yang terkandung di dalamnya. Namun, populasi yang terbatas membuat eksplorasi tumbuhan ini menjadi terhambat. Jamur endofitik merupakan salah satu alternatif menarik untuk mengeksplorasi metabolit sekunder dari tanaman ini. Sepanjang pengetahuan, belum ada laporan ilmiah mengenai jamur endofitik belimbing hutan. Penelitian ini berhasil mengisolasi dan mengkarakterisasi tiga isolat dari daun belimbing hutan dengan kode isolat IJP₁ yang memiliki karakteristik koloni berwarna putih dan tekstur halus seperti kapas, IJP₂ koloni berwarna putih dan berbentuk serabut, IJH₁ koloni berwarna hijau disertai lingkaran konsentris. Beragamnya jamur endofitik daun belimbing hutan membuka peluang ditemukannya senyawa potensial dari ekstrak jamur endofitik daun belimbing hutan.

Kata Kunci: *Cnestis palala* (Lour.) Merr, Jamur Endofit, Isolasi, Karakteristik

Abstract

Belimbing hutan (*Cnestis palala* (Lour.) Merr) is recognized as a distinctive plant in East Kalimantan, commonly used by the local community for treating internal diseases, postpartum conditions, abdominal pain, and urinary tract disorders. The benefits of belimbing hutan cannot be separated from the compounds contained in it. However, the limited population makes exploration of this plant hampered. Endophytic fungi are an interesting alternative for exploring secondary metabolites from this plant. To date, there have been no scientific reports on endophytic fungus of belimbing hutan. This research successfully isolated and characterized three isolates from the leaves of belimbing hutan with

isolate codes IJP₁ exhibiting white colonies with a cotton-like texture, IJP₂ colonies are white and fiber-shaped, IJH₁ with green colonies accompanied by concentric circles. The diversity of endophytic fungi in belimbing hutan leaves opens up possibilities for discovering potential compounds from the extracts of these fungi.

Keywords: *Cnestis palala* (Lour.) Merr, Endophytic Fungi, Isolation, Characterization

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v18i1.719>



Copyright (c) 2023, Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences (Proc. Mul. Pharm. Conf.). Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia. This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

Cara Sitasi:

Azzahra, N. S., Naspiah, N., Febrina, L., 2023. Isolasi dan Karakterisasi Jamur Endofit Daun Belimbing Hutan (*Cnestis palala* (Lour.) Merr). *Proc. Mul. Pharm. Conf.* **18**(1). 149-154. DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v18i1.719>

1 Pendahuluan

Tumbuhan merupakan salah satu sumber daya alam hayati yang dapat dimanfaatkan secara optimal sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit dengan cara mengisolasi senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Namun, isolasi senyawa bioaktif secara langsung dari tumbuhan membutuhkan sangat banyak biomassa atau bagian dari tumbuhan tersebut [1]. Hal ini dapat mempengaruhi ketersediaan sumber daya alam hayati karena terus dilakukannya eksploitasi secara besar-besaran. Oleh karena itu, dibutuhkan tindakan untuk tetap menjaga kelestarian tumbuhan dengan penerapan bioteknologi dalam meningkatkan produksi metabolit sekunder dari suatu tumbuhan melalui mikroba khususnya jamur melalui proses fermentasi [2].

Jamur endofit merupakan salah satu mikroba penghasil senyawa bioaktif yang didapat dengan cara mengisolasi bagian tanaman yang dapat memproduksi senyawa aktif, seperti akar, daun, batang, bunga dan buah [3]. Jamur endofit hidup bersimbiosis mutualisme di dalam jaringan tumbuhan inang selama sebagian hidupnya tanpa menimbulkan gejala penyakit yang nyata pada inangnya. Kemampuannya dalam memproduksi senyawa

metabolit sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat baik untuk dimanfaatkan sebagai obat dan berdampak baik pada konservasi tumbuhan [4].

Belimbing hutan (*Cnestis palala* (Lour.) Merr) merupakan salah satu tumbuhan yang ditemukan di dalam hutan dan pinggiran Sungai Mahakam, Kalimantan Timur. Tumbuhan ini telah dimanfaatkan secara empiris oleh masyarakat lokal untuk digunakan sebagai alternatif pengobatan, seperti pengobatan penyakit dalam, pengobatan pasca melahirkan, obat sakit perut dan gangguan saluran kemih [5]. Penggunaannya sebagai alternatif obat yang berlebih dapat menyebabkan eksplorasi belimbing hutan menjadi terhambat. Sehingga diperlukannya peran bioteknologi dan jamur endofit dalam pengembangannya. Untuk mengembangkan pemanfaatan jamur endofit maka perlu dilakukan proses isolasi dan identifikasi jamur endofit yang berkolonisasi pada bagian tumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi isolat jamur endofit yang berkolonisasi pada daun belimbing hutan (*Cnestis palala* (Lour.) Merr).

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian, yaitu autoklaf, batang pengaduk, pembakar bunsen, cawan petri, *cover glass*, *object glass*, gelas kimia, gunting, *hot plate*, labu erlenmeyer, *laminar air flow*, mikroskop, ose bulat, pinset, pipet tetes, pisau steril dan timbangan analitik. Bahan yang digunakan dalam pemelitian, yaitu daun belimbing hutan, akuades steril, alkohol 70%, antibiotik ampicillin, benang godam, NaOCl 0,5% dan 3%, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), *methylene blue*, kertas label, kapas, kasa, plastik wrap dan tisu.

2.2 Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Sampel daun belimbing hutan (*Cnestis palala* (Lour.) Merr) diambil dari daerah Long Iram, Kutai Barat, Kalimantan Timur. Kemudian sampel diidentifikasi di Herbarium Mulawarman, Laboratorium Ekkologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis, Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman, Samarinda.

2.3 Isolasi Jamur Endofit

Jamur endofit diisolasi dari daun belimbing hutan (*Cnestis palala* (Lour.) Merr) dengan metode tanam langsung yang pengerjaannya dilakukan di dalam *laminar air flow* (LAF). Daun belimbing hutan dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dipotong dengan ukuran $\pm 1 \times 1$ cm menggunakan pisau steril. Kemudian, dilakukan sterilisasi permukaan dengan merendam daun belimbing hutan ke dalam alkohol 70% selama 1 menit, lalu direndam ke dalam larutan NaOCl 3% selama 1 menit, selanjutnya direndam kembali ke dalam alkohol 70% selama 30 detik dan terakhir dibilas dengan akuades steril masing-masing sebanyak 4 kali selama 30 detik.

Potongan daun yang telah disterilisasi kemudian diletakkan di atas tisu steril untuk dikeringkan selama beberapa menit. Potongan daun lalu ditanam pada permukaan media PDA + Ampicillin di dalam cawan petri steril, tiap cawan berisi tiga potongan daun. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu ruang (25-27°C) selama 2-14 hari sembari mengamati pertumbuhan

koloni jamur endofit yang mulai menunjukkan sifat morfologinya [3].

2.4 Pemurnian Jamur Endofit

Jamur endofit yang telah tumbuh kemudian dimurnikan satu per satu sesuai morfologinya (warna dan bentuk koloni) dengan cara mengambil koloni yang terdapat pada permukaan media dengan jarum ose bulat dan dipindahkan ke media baru untuk ditumbuhkan kembali. Selanjutnya, diinkubasi selama 7-10 hari pada suhu ruang. Jika hasil pemurnian masih terdapat pertumbuhan koloni yang berbeda secara makroskopis, maka dilakukan pemurnian ulang hingga diperoleh isolat murni. Setiap isolat murni dibuat duplo, masing-masing sebagai kultur stok dan kultur untuk penelitian [6].

2.5 Karakterisasi Isolat Jamur Endofit

Karakterisasi dilakukan untuk mengetahui ciri-ciri dari isolat jamur endofit sehingga memudahkan untuk identifikasi jenis jamur. Karakterisasi dapat dilakukan dengan melakukan pengamatan morfologi isolat jamur endofit secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik dilakukan dengan mengamati secara langsung warna koloni, warna sebalik, dan bentuk koloni, dan ada tidaknya lingkaran konsentris. Sedangkan pengamatan mikroskopik menggunakan bantuan alat berupa mikroskop dengan menempelkan sedikit hifa pada *object glass* lalu ditetesi dengan *methylene blue* dan ditutup dengan *cover glass*. Preparat diamati di bawah mikroskop untuk melihat spora, hifa, dan bentuk konidianya. Ciri makroskopik dan mikroskopik yang sudah didapatkan kemudian dibandingkan dengan buku referensi [7].

3 Hasil dan Pembahasan

Hasil identifikasi tumbuhan menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah *Cnestis palala* yang berasal dari famili Connaraceae. Isolasi jamur endofit dari daun belimbing hutan menggunakan metode tanam langsung pada media PDA + Ampicillin untuk pertumbuhannya. Sampel daun yang akan digunakan sebaiknya dipilih daun yang tua. Pada proses isolasi jamur endofit, hal yang harus diperhatikan adalah saat sterilisasi permukaan sampel agar tidak terjadi

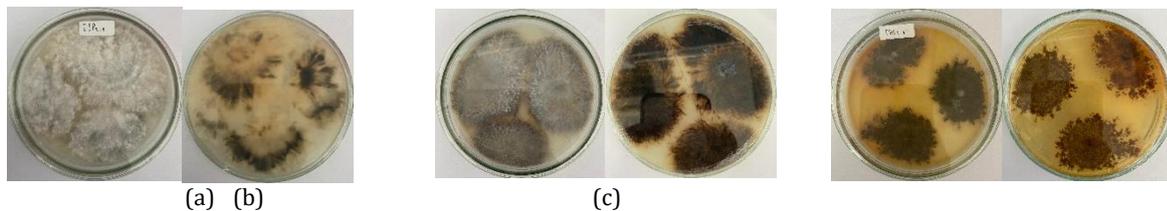
kontaminasi. Sterilisasi permukaan sampel bertujuan untuk menghilangkan kotoran, bakteri dan jamur yang ada pada sampel, sehingga saat penanaman sampel tidak ditumbuhi bakteri atau jamur lain di permukaan media selain jamur endofit yang berasal dari jaringan tanaman sampel [8].

Langkah isolasi diawali dengan mencuci daun belimbing hutan dengan air mengalir lalu dipotong $\pm 1 \times 1$ cm menggunakan pisau steril. Potongan daun direndam dengan alkohol 70% selama 1 menit, NaOCl 3% selama 1 menit, alkohol 70% selama 30 detik dan akuades steril selama 30 detik sebanyak 4 kali. Potongan daun yang sudah steril kemudian diletakkan pada cawan petri berisi media. Setiap cawan petri berisi 3 potongan daun dan diinkubasi selama 2-14 hari pada suhu ruang. Penambahan ampicillin pada media PDA bertujuan untuk mencegah atau menghambat terjadinya pertumbuhan bakteri endofit atau bakteri kontaminan yang mungkin dapat mengkontaminasi [3].

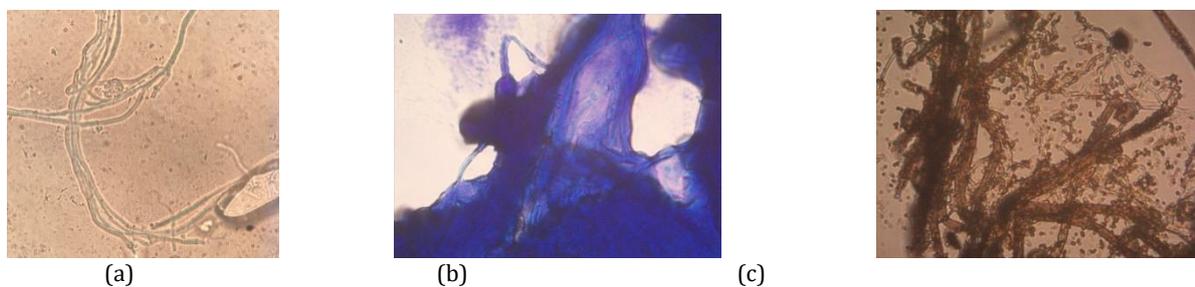
Setiap jamur endofit yang dianggap memiliki perbedaan morfologi dari tiap isolat yang tumbuh pada media isolasi selanjutnya dimurnikan untuk memperoleh isolat tunggal.

Pemurnian dilakukan dengan memindahkan koloni berdasarkan bentuk dan warna yang terdapat pada permukaan media dengan jarum ose bulat ke media baru lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 7-10 hari [9]. Umumnya, isolat jamur endofit yang dihasilkan dari tumbuhan inang dapat menghasilkan jenis isolat yang berbeda-beda dengan jumlah yang bervariasi. Hasil isolasi jamur endofit daun belimbing hutan diperoleh tiga isolat dengan kode isolate, yaitu IJP₁, IJP₂, IJH (Gambar 1).

Hasil isolat jamur endofit dari proses pemurnian kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik karena masing-masing isolat memiliki karakteristik yang berbeda (Tabel 1). Pengamatan makroskopik isolat jamur endofit dilakukan secara langsung dengan mengamati warna koloni, warna sebalik, dan bentuk koloni. Pengamatan mikroskopis dilakukan menggunakan bantuan alat mikroskop dengan menempelkan sedikit hifa isolat pada *object glass* lalu ditetesi *methylene blue* dan ditutup dengan *cover glass*. Preparat diamati di bawah mikroskop perbesaran 100x untuk melihat hifa, konidia dan spora (Gambar 2).



Gambar 1. Tampak depan dan belakang isolat jamur endofit daun belimbing hutan (a) IJP₁, (b) IJP₂, (c) IJH



Gambar 2. Pengamatan mikroskopis isolat jamur endofit daun belimbing hutan perbesaran 100x, (a) IJP₁, (b) IJP₂, (c) IJH

Tabel 1. Karakteristik isolat jamur endofit daun belimbing hutan

No	Kode Isolat	Makroskopik			Mikroskopis	Genus
		Warna Permukaan	Warna Sebalik	Bentuk Koloni		
1	IJP ₁	Putih	Putih Kehitaman	Bulat halus seperti kapas	Hifa bersepta, konidiofor ramping	Fusarium sp.
2	IJP ₂	Putih hitam	Hitam	Bulat kasar berserabut	Hifa bersepta	Neoscytalidium sp.
3	IJH	Hijau tua	Hijau	Bulat dengan lingkaran konsentris	Hifa bersepta, konidiofor bercabang	Trichoderma sp.

Hasil yang diperoleh dari pengamatan makroskopik isolat IJP₁ memiliki warna putih pada permukaan dan sebaliknya, tetapi pada hari ke-9 warna sebalik berubah menjadi putih kuning kehitaman, memiliki bentuk bulat dengan tekstur seperti kapas atau tepung. Pengamatan secara mikroskopik menunjukkan adanya hifa bersekat, konidiofor tegak dan ramping. Berdasarkan ciri makroskopik dan mikroskopik tersebut dan mengacu pada buku *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* [10], maka dapat diketahui bahwa isolat IJP₁ termasuk ke dalam genus *Fusarium* sp.

Pengamatan makroskopik isolat IJP₂ menunjukkan bahwa pertumbuhan awal koloni berwarna putih pada permukaan dan sebaliknya, tetapi pada hari ke-3 warna sebalik berubah menjadi kekuningan dan lama kelamaan menjadi warna hitam, memiliki bentuk bulat, permukaan kasar dan berserabut. Pengamatan secara mikroskopik menunjukkan adanya hifa bersepta. Berdasarkan ciri makroskopik dan mikroskopik tersebut maka dapat diketahui bahwa isolat IJP₂ termasuk ke dalam genus *Neoscytalidium* sp [11].

Hasil yang diperoleh dari pengamatan makroskopik isolat IJH mula-mula memiliki warna putih dengan bagian tengah berwarna hijau muda pada permukaan dan sebaliknya, kemudian pada hari ke-7 permukaan koloni mulai berubah menjadi warna hijau tua disertai lingkaran konsentris, memiliki bentuk bulat. Pengamatan secara mikroskopik menunjukkan adanya hifa bersepta, konidiofor bercabang, konidia berwarna hijau dan berbentuk oval. Berdasarkan ciri makroskopik dan mikroskopik isolat IJH dan mengacu pada buku *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* [10], maka dapat diketahui bahwa isolat IJH termasuk ke dalam genus *Trichoderma* sp.

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa jamur endofit berhasil

diisolasi dari daun belimbing hutan (*Cnestis palala* (Lour.) Merr) dan memperoleh tiga isolat dengan kode isolat IJP₁, IJP₂ dan IJH. Hasil identifikasi makroskopik dan mikroskopik masing-masing isolat menunjukkan bahwa IJP₁ merupakan genus *Fusarium* sp, IJP₂, merupakan genus *Neoscytalidium* sp, dan IJH merupakan genus *Trichoderma* sp.

5 Pernyataan

5.1 Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis ucapkan kepada Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian Farmaka Tropis Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

5.2 Penyandang Dana

Penelitian ini tidak mendapatkan pendanaan dari sumber manapun.

5.3 Kontribusi Penulis

Semua penulis berkontribusi dalam penulisan artikel ini.

5.4 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

6 Daftar Pustaka

- [1] Fitri, L. 2018. Potensi Antimikroba Aktinobakteri Endofit Daun Sirih (*Piper betle* L.). *Jurnal Bioleuser*, 2(1), 1-4.
- [2] Kuncoro, H., & Sugijanto, N. E. 2011. Jamur Endofit, Biodiversitas, Potensi dan Prospek Penggunaannya Sebagai Sumber Bahan Obat Baru. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 1(3), 247-262.
- [3] Hasiani, V. V., Ahmad, I., & Rijai, L. 2015. Isolasi Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan Dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(4), 146-153.
- [4] Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. 2016. Plant

- Growth Promoting Bacterial Endophytes. *Microbiological Research*, 183, 92-99.
- [5] Ningsih, D. A., Ramadhan, A. M., & Rusli, R. 2019. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Belimbing Hutan (*Cnestis palala* (Lour.) Merr) Asal Kalimantan Timur. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(1), 18-24.
- [6] Kandou, F. E., & Singkoh, M. F. 2018. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Pada Tumbuhan Paku *Asplenium nidus*. *Jurnal MIPA*, 7(2), 24-28.
- [7] Gandjar, I., & Rifai, M. A. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- [8] Pakaya, M. S., Uno, W. Z., Papeo, D. R. P., & Moo, D. R. 2022. Isolasi dan Karakterisasi Jamur Endofit Lamun (*Thalassia hemprichii*) Dari Kawasan Teluk Tomini. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(3), 519-524.
- [9] Deponda, R. A., Fitriana, F., Nuryanti, S., & Herwin, H. 2019. Isolasi Fungi Endofit Kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) yang Berpotensi Sebagai Antibakteri Secara Metode KLT-Bioautografi. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 11(2), 147-153.
- [10] Barnett, H.L., & Hunter, B.B. 2006. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition*. Columbia: University of Missouri Press.
- [11] Izzatinnisa., Utami, U., & Mujahidin, A. 2020. Uji Antagonisme Beberapa Fungi Endofit Pada Tanaman Kentang Terhadap Fusarium Oxysporum Secara In Vitro. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*, 2(1), 18-25.