

# REIDENTIFIKASI DAN PEMURNIAN FUNGI ENDOFIT LBKURCC40 DARI UMBI TANAMAN DAHLIA (*DAHLIA VARIABILIS*)

Nabella Suraya<sup>1\*</sup>, Titania Tjandrawati Nugroho<sup>1</sup>, Saryono<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pascasarjana Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau  
Universitas Riau, Jalan, Panam, Pekanbaru 28423

e-mail : <sup>1</sup>[nabellasureaya@grad.unri.ac.id](mailto:nabellasureaya@grad.unri.ac.id), <sup>1</sup>[titania.nugroho@lecturer.unri.ac.id](mailto:titania.nugroho@lecturer.unri.ac.id), <sup>1</sup>[saryono@lecturer.unri.ac.id](mailto:saryono@lecturer.unri.ac.id);

## ABSTRAK

Identifikasi fungi endofit yang diisolasi dari umbi tanaman dahlia berbunga jingga dari Padang luar, Sumatera Barat oleh Lorenita *et al.*, (2013) dan pra penelitian oleh peneliti menunjukkan hasil yang berbeda, sehingga dilakukan pemurnian secara serial. Tujuan pemurnian secara serial yang dilakukan pada penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat yang murni. Pemurnian dilakukan dengan cara pengenceran serial spora fungi mulai dari  $10^{-1}$ – $10^{-30}$ . Identifikasi morfologi secara mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX41. Hasil penelitian dari pemurnian secara serial diperoleh dua isolat, yaitu LBKURCC40A dan LBKURCC40B, dan Identifikasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan LBKURCC40A dan LBKURCC40B adalah *Aspergillus* sp.

**Kata kunci :** *Aspergillus* sp, fungi endofit, reidentifikasi

## ABSTRACT

Identification of endophytic fungi isolated from orange flowering dahlia tubers of plants from outside Padang, West Sumatra by Lorenita *et al.*, (2013) and pre-study by researchers showed different results, so that carried serially purification. Interest purification serially performed in this study is to obtain pure isolates. Purification is done by serial dilutions ranging from  $10^{-1}$ – $10^{-30}$  fungi spores. Identification Microscopic morphology using a light microscope Olympus CX41. The results of the purification are serially obtained two isolates, namely LBKURCC40A and LBKURCC40B, and identification of macroscopic and microscopic morphology showed LBKURCC40A and LBKURCC40B is *Aspergillus* sp.

**Keywords :** *Aspergillus* sp, endophytic fungi, identification

## PENDAHULUAN

Tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*) merupakan salah satu famili *Compositae/Asteraceae* yang memiliki potensi menghasilkan senyawa bioaktif sehingga dapat digunakan sebagai obat-obatan (Rakhmana *et al.*, 2015). Senyawa bioaktif juga dapat dihasilkan oleh mikroba endofit yang terdapat pada tanaman inangnya. Tanaman dahlia merupakan salah satu tanaman yang telah berhasil diteliti mengandung fungi endofit, dan dapat melindungi inangnya terhadap serangga, patogen, dan herbivora (Saryono, 2015).

Fungi LBKURCC40 merupakan salah satu fungi endofit yang berasal dari umbi tanaman dahlia, koleksi kultur Laboratorium Biokimia Universitas Riau. Shinta *et al.* (2015) dan Saryono *et al.* (2015) berhasil membuktikan bahwa fungi endofit dari tanaman dahlia memiliki senyawa bioaktif sebagai agen antimikroba.

Identifikasi fungi LBKURCC40 sebelumnya pernah dilakukan oleh Lorenita *et al.*, (2013) secara morfologi, namun diperoleh hasil identifikasi yang berbeda dengan pra penelitian yang dilakukan oleh peneliti. Identifikasi oleh Lorenita (2013) menunjukkan fungi LBKURCC40 adalah *Monilia* sp, dan hasil pra penelitian oleh peneliti menunjukkan bahwa isolat LBKURCC40 adalah *Aspergillus* sp. Perbedaan hasil yang diperoleh ini kemungkinan disebabkan karena belum murninya isolat DNA LBKURCC40 yang diperoleh. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pemurnian isolat LBKURCC40 secara pengenceran serial spora untuk mendeteksi kepastian genus dari LBKURCC40 yang telah diperoleh dari penelitian sebelumnya.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu autoklaf All American model 1925/KY-23, vortek Mixer H-VM-300, mikrosentrifuse model *Biofuge Pico Heraeus* (Germany), unit gel elektroforesis horizontal, UV Transilumintor, *Thermal cycle* model PCR Techne TC-312, mesin sekuensing (Lembaga Eijkman), Kamera digital SONY Optical Steady Shot DSC-W730, dan peralatan gelas lain yang diperlukan sesuai prosedur kerja.

### Mikroorganisme yang digunakan

Isolat fungi LBKURCC40 yang diisolasi dari umbi dahlia berbunga jingga dari Padang Luar, Sumatera Barat, koleksi Laboratorium Riset Enzim, Fermentasi, dan Biomolekuler FMIPA Universitas Riau.

### Peremajaan Fungi LBKURCC40

Fungi stok LBKURCC40 diambil menggunakan ose secara aseptis dan diinokulasikan ke media PDA agar miring. Media PDA yang telah diinokulasikan isolat LBKURCC40 diinkubasi pada temperatur ruang.

### Pemurnian Fungi LBKURCC40

Tahap awal pemurnian dilakukan dengan cara menambahkan sebanyak 3 mL larutan NaCl 8% ke dalam isolat LBKURCC40 yang telah diremajakan pada media PDA. Campuran disaring dengan menggunakan *glasswool* dan dihomogenkan menggunakan vortek. Selanjutnya, 1 mL suspensi diencerkan secara serial dari  $10^{-1}$ – $10^{-26}$  kedalam tabung reaksi yang telah berisi larutan NaCl sebanyak 9 mL. Masing-masing suspensi yang telah diencerkan secara serial diinokulasikan sebanyak 100  $\mu$ L pada media di cawan petri menggunakan metode *spread plate*. Suspensi dibiarkan meresap selama  $\pm$  1 jam, dan

diinkubasi pada suhu kamar hingga koloni-koloni fungi tumbuh.

### Identifikasi Morfologi

Fungi endofit yang telah diinkubasi pada suhu kamar diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi makroskopis dilakukan dengan cara isolat fungi diinokulasikan pada media PDA pada cawan petri dengan cara di *plug*. Pertumbuhan fungi diamati hingga pertumbuhan fungi memenuhi cawan petri. Pengamatan dilakukan dengan cara melihat warna koloni, warna sebalik koloni dan pola penyebaran koloni.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Fungi endofit LBKURCC40 memiliki perbedaan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Lorenita *et al.*, (2013). Oleh karena itu dilakukan pemurnian secara serial spora fungi. Hasil dari pemurnian isolat LBKURCC40 menghasilkan dua isolat yang berbeda secara morfologi, dan diberi kode LBKURCC40A dan LBKURCC40B.

Fungi LBKURCC40A berdasarkan pengamatan makroskopis menunjukkan ciri-ciri, yaitu memiliki pertumbuhan yang cepat, warna koloni pada hari pertama berwarna putih, dan kemudian menjadi hijau tua dengan terbentuknya konidia, memiliki tekstur seperti beludru dan pada hari ke-7 belakang media berubah menjadi kuning. Sedangkan untuk fungi LBKURCC40B menunjukkan warna koloni berwarna putih pada hari pertama dan kemudian menjadi hijau kekuningan, tekstur kasar dan memiliki spora yang banyak banyak.

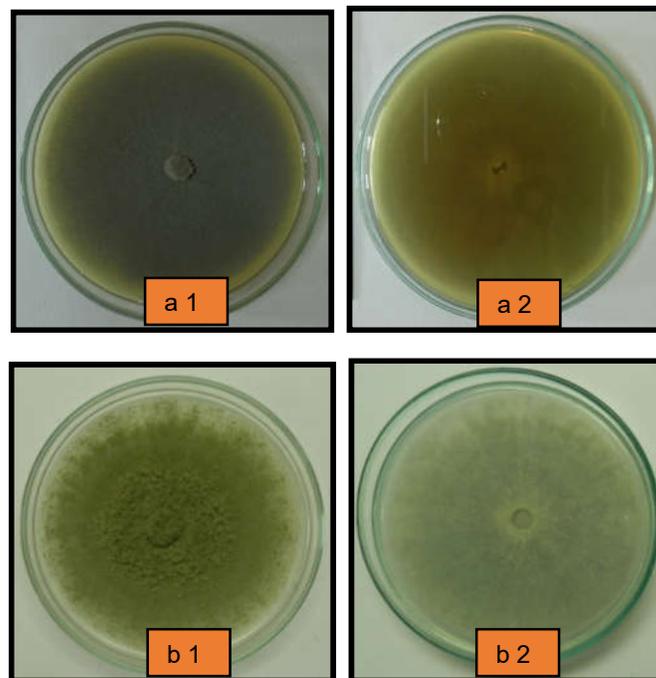
Identifikasi secara mikroskopis menggunakan metode *slide culture* pada hari ke-3. Pengamatan mikroskopis dilakukan di bawah mikroskop dengan diberi pewarna *lactofenol cotton blue*. Pengamatan ciri-ciri mikroskopis meliputi ada atau tidak adanya

spora atau konidia, bentuk hifa atau miselium, dan ada tidaknya sekat pada hifa.

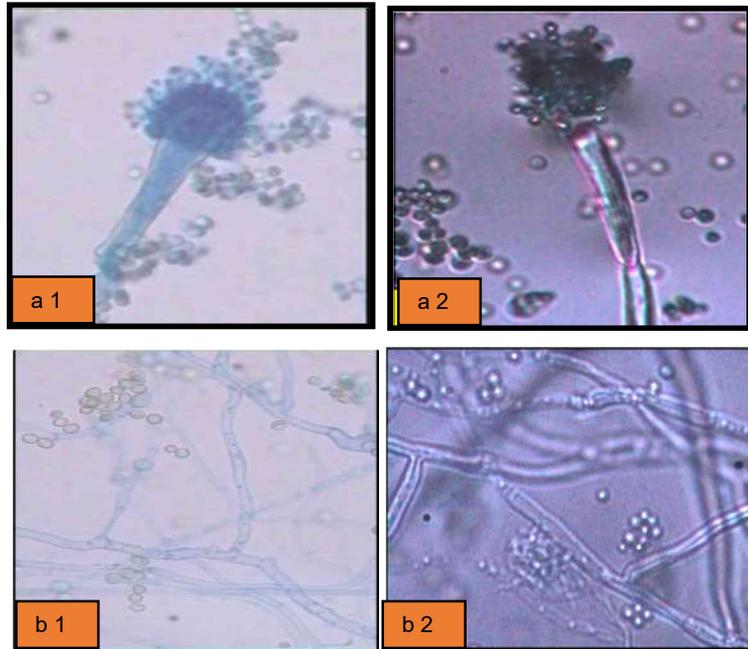
Pengamatan secara mikroskopis pada perbesaran 40x menunjukkan fungi LBKURCC40A dan LBKURCC40B adalah *Aspergillus* sp. Hasil pengamatan ini sesuai dengan identifikasi oleh Samson *et al.*, (2010) yang menunjukkan ciri-ciri sebagai *Aspergillus*, yaitu memiliki hifa bersepta dan bercabang, dan konidiofor muncul dari *foot cell*. Fungi *Aspergillus* sp. sebagian besar memiliki konidiofor yang tidak bercabang, yang masing-masing menghasilkan kepala konidia tunggal.

Hasil identifikasi LBKURCC40A dan LBKURCC40B secara makroskopis maupun mikroskopis menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut adalah *Aspergillus* sp. Hasil identifikasi morfologi

makroskopis LBKURCC40A dan LBKURCC40B dapat dilihat pada **Gambar 1** dan hasil identifikasi morfologi mikroskopis dapat dilihat pada **Gambar 2**. Fungi LBKURCC40 yang semula diidentifikasi sebagai *Molilia* sp. setelah dilakukan pemurnian dan identifikasi ulang baik secara makroskopis maupun mikroskopis menunjukkan ciri-ciri sebagai *Aspergillus* sp. Perbedaan hasil antara tiap peneliti ini kemungkinan disebabkan karena belum murninya isolat yang diperoleh, sehingga hasil identifikasi setiap peneliti berbeda-beda. Selain itu, fungi *Aspergillus* ini memiliki kemampuan bertahan hidup dalam kondisi yang ekstrim, sehingga dapat dengan mudah mengalahkan organisme lain dengan cara mengambil substrat dalam tanah maupun tanaman dan menyebabkan *Molilia* sp kalah.



**Gambar 1.** Morfologi makroskopis koloni *Aspergillus* sp. pada hari ke-7 pada media PDA (a) LBKURCC40A (b) LBKURCC40B (1= permukaan media, 2= belakang media).



**Gambar 2.** Morfologi mikroskopis *Aspergillus* sp. menggunakan mikroskop cahaya (perbesaran 40x) (a) *Aspergillus* sp. LBKURCC40A, (b) *Aspergillus* sp. LBKURCC40B.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil pemurnian secara serial dari isolat LBKURCC40, diperoleh dua isolat yang berbeda secara makroskopis, yaitu LBKURCC40A dan LBKURCC40B. Perbedaan hasil dari peneliti sebelumnya kemungkinan disebabkan karena belum murninya isolat yang diperoleh. Hasil identifikasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan isolat tersebut merupakan *Aspergillus* sp. Hasil identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis belum dapat digunakan untuk menyimpulkan spesies, tetapi hanya dapat mengidentifikasi hingga tingkat genus. Kepastian spesies ditentukan melalui identifikasi secara molekuler dengan membandingkan sekuens pada Genbank.

## SARAN

Fungi LBKURCC40A dan LBKURCC40B yang telah berhasil diidentifikasi sebagai *Aspergillus* perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kepastian spesiesnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai dengan dana Penelitian Hibah 2016 a.n. Saryono.

## DAFTAR PUSTAKA

- Lorenita, M., Haryani, Y., Puspita, F., Trihartomo, D., dan Sikumbang, S. 2013. Screening of endophytic fungi from tubers of *Dahlia variabilis*. *Journal of Agricultural Technology*. 9 (3): 565-570.
- Rakhmana, S., Saryono., dan Nugroho, T. T. 2015. Ekstraksi DNA dan Amplifikasi ITS rDNA isolat fungi endofit LBKURCC67 umbi tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*.
- Samson, R. A., Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C., Andersen, B., 2010. *Food and Indoor Fungi*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center Utrecht. The Netherlands.
- Saryono, Hendris, S., Fitriyah, D., Jose, C., Nugroho, T. T dan Ardhi, A. 2015. Antimicrobial activity and molecular characterization of endophytic fungi strain isolated from dahlia (*Dahlia variabilis*). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. (9S): 201-208.
- Shinta, D. Y., Yusmarini., Santana, H., dan Teruna, H. Y., dan Saryono. 2015. The Media Variance of Production for Antimicrobe Homogeneity from The Endophytic Fungi of Dahlia (*Dahlia variabilis*). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(9S):239-245.