Aktivitas Amilolitik Mikrofungi Endofit Serasah Daun dan Daun Mangrove *Avicennia* di Desa Sungai Bakau Kabupaten Mempawah

Warsidah^{1*}, Mayang Sari Retno Marlengen¹, Mega Sari Juane Sofiana¹

¹ Program studi Ilmu Kelautan, FMIPA, Universitas Tanjungpura, Pontianak-Indonesia

*Correspondence email: Warsidah

✉ warsidah@fmipa.untan.ac.id

Received: 26 September 2018- Accepted: 2 October 2018

Published: 31 October 2018 © Author(s) 2018. This article is open access

Abstract: Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan jenis mikrofungi endofit yang berpotensi memiliki aktivitas amilolitik dari serasah dan daun mangrove *Avicennia*. Mikrofungi endofit diisolasi pada media *Potato Dextrose Agar* diperoleh 42 isolat yang didominasi oleh isolat genus *Aspergillus* dan *Penicillium*. Skrining aktivitas amilolitik menggunakan media Glukosa, *Yeast extract*, *Pepton*, *Starch Agar* dan diuji dengan larutan iodin yang akan terbentuk zona bening pada media jika positif memiliki aktivitas amilolitik. Tujuh belas dari 42 isolat ditemukan memiliki aktivitas amilolitik. Kemampuan amilolitik yang paling besar didapat pada beberapa isolat berdasarkan zona beningnya, yaitu *Fusarium ventricosum*, *Aspergillus parasiticus*, dan *Oidiodendron cerealis*.

Keywords: Amilolitik, mikrofungi endofit, *avicennia*

1. Pendahuluan

Mangrove menjadi ekosistem sumber daya alam di daerah tropis yang memiliki manfaat yang sangat luas (Bengen, 2004). Vegetasi mangrove lebih berperan sebagai penyedia nutrisi melalui serasahnya terutama serasah yang berasal dari daun mangrove. Daun mangrove merupakan bagian terpenting dari produksi primer serasah. Daun mangrove *Avicennia* berperan sebagai tempat hidupnya berbagai jenis mikrofungi (Babu *et al.*, 2012; Costa *et al.*, 2012).

Mikrofungi endofit telah ditemukan hampir di semua bagian tumbuhan mangrove, seperti akar, ranting dan daun (Ananda, 2004). Mikrofungi endofit mempunyai fungsi bagi ekologi seperti meningkatkan pengambilan nutrisi guna

meningkatkan pertumbuhan tumbuhan (Li *et al.*, 2016). Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan, bahwa mikrofungi endofit pada mangrove merupakan sumber penting penemuan senyawa bioaktif baru dan enzim ekstraseluler (Ravindran *et al.*, 2010; Monika *et al.*, 2015; Ling *et al.*, 2016).

Salah satu enzim ekstraseluler yang banyak dihasilkan oleh mikroorganisme adalah enzim amilase. Enzim *amilase* adalah kelompok enzim hidrolitik yang dominan diproduksi dan diperdagangkan. Enzim ini memiliki peran penting dalam dunia industri, farmasi dan agrokimia seperti pembuatan sirup, kapsul obat, dan pembungkus pestisida (Sianturi, 2008; Sunitha *et al.*, 2012). Penelitian yang telah dilakukan pada daun mangrove *Avicennia* di Hong Kong banyak

ditemukan sumber isolat mikrofungi endofit yang mampu menghasilkan aktivitas amilolitik adalah *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Mycelia sterelia*, *Phoma* sp. dan *Rhizopus* sp. (Choi *et al.*, 2005; Job *et al.*, 2015). Daun serasah basah dan kering mangrove *Avicennia* di India banyak ditemukan sumber isolat mikrofungi endofit yang menghasilkan aktivitas amilolitik adalah *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Acremonium* sp., *Culvularia lunata*, *Glomerella* sp. dan *Cladosporium cladosporoides* (Kumaresan, 2002).

2. Metode

2.1 Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Agustus 2018. Pengambilan sampel serasah daun dan daun mangrove *Avicennia* dilakukan di Desa Sungai Bakau Kecil, Kabupaten Mempawah. Isolasi, identifikasi dan uji aktivitas amilolitik mikrofungi endofit serasah dan daun mangrove dilakukan di Laboratorium Riset dan Bioteknologi dan Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura.

2.2 Pengambilan Sampel

Sampel daun mangrove *Avicennia* yang diambil adalah dibedakan berdasarkan umurnya, yaitu daun serasah, daun tua, dan

daun muda. Pengambilan daun muda dan tua dipetik langsung dari pohon mangrove *Avicennia* masing-masing sebanyak 5 helai daun dimasukkan dalam plastik sampel steril. Pengambilan serasah daun mangrove *Avicennia* dilakukan dengan menggunakan perangkap serasah yang terbuat dari net dengan mesh size 1,5 x 1,5 mm yang berukuran 100 x 100 cm (Sa'ban *et al.*, 2013) yang diletakkan dibawah pohon mangrove. Perangkap serasah diletakkan selama 1 minggu.

2.3 Analisis Data

2.3.1 Isolasi Mikrofungsi Endofit

Serasah daun dan daun mangrove *Avicennia* masing-masing dicuci dengan akuades steril. Permukaan daun disterilisasi dengan memasukkannya ke dalam larutan etanol 70% selama 3 menit, kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaOCl 4% selama 1 menit dan dikeringkan. Sampel selanjutnya dibilas dengan akuades steril. Daun yang telah bersih dipotong 1x1 cm, lalu diletakkan di atas cawan petri yang berisi media PDA dan disimpan pada suhu 28⁰C selama 3-7 hari (Ling *et al.*, 2016). Mikrofungi yang tumbuh diamati morfologi secara makroskopis, yaitu warna dan bentuk hifa (Adebola *et al.*, 2015).

2.3.2 Uji Aktivitas Amilolitik

Isolat mikrofungi endofit ditumbuhkan pada media agar GYP (Glukosa, Yeast Ekstrak, dan Pepton) dengan 0,2% *solube starch* dan

Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel

Tabel 1. Aktivitas amilolitik mikrofungi endofit serasah daun dan daun mangrove *Avicennia*

No.	Spesies	Aktivitas Amilolitik	Zona Bening (mm)
1.	<i>Gonatobotrys</i> sp.	-	0
2.	<i>Basipetospora rubra</i>	-	0
3.	<i>Plenodomus</i> sp.	-	0
4.	<i>Torula</i> sp.	-	0
5.	<i>Mycocentrospora acerina</i>	-	0
6.	<i>Chrysonilia</i> sp.	-	0
7.	<i>Dicyma pulvinata</i>	-	0
8.	<i>Fusarium ventricosum</i>	+	8,1
9.	<i>Phialophora</i> sp.	-	0
10.	<i>Gliocladium roseum</i>	-	0
11.	<i>Aspergillus parasiticus</i>	+	1
12.	<i>Penicillium janthinellum</i>	+	0,8
13.	<i>Taeniolella phialosperma</i>	-	0
14.	<i>Oidiodendron flavum</i>	-	0
15.	<i>Acremonium</i> sp.	+	1,4
16.	<i>Mycelia sterelia</i>	-	0
17.	<i>Aspergillus clavati</i>	+	0,9
18.	<i>Culvularia prasadii</i>	+	1,5
19.	<i>Aspergillus parasiticus</i>	+	8,9
20.	<i>Sporotrichum</i> sp.	-	0
21.	<i>Mucor circinoides</i>	+	4,6
22.	<i>Botryotrichum piluliferum</i>	-	0
23.	<i>Chloridium virescens</i>	-	0
24.	<i>Phytophthora cryptogea</i>	+	1,2
25.	<i>Glioladium viride</i>	-	0
26.	<i>Rhizopus stolonizer</i>	+	1,7
27.	<i>Cylindrocladium citri</i>	-	0
28.	<i>Sclerotium</i> sp.	-	0
29.	<i>Aspergillus niger</i>	+	2,6
30.	<i>Oidiodendron cerealis</i>	+	7,2
31.	<i>Stachybotrys bisbyi</i>	+	0,7
32.	<i>Aspergillus niger</i>	+	0,8
33.	<i>Penicillium lanosum</i>	+	1,1
34.	<i>Mycelia sterelia</i>	-	0
35.	<i>Penicillium resticulosum</i>	+	2
36.	<i>Mycelia sterelia</i>	+	1,7

+: positif; - : negatif

diinkubasi selama 4 hari. Isolat mikrofungi yang telah tumbuh, kemudian ditambahkan 1% iodin dan 2% potasium iodida. Aktivitas amilolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar isolat mikrofungi (Desire *et al.*, 2014).

2.3.2 Identifikasi Isolat Mikrofungi Endofit

Mikrofungi endofit pada daun serasah dan daun *Avicennia* diidentifikasi secara mikroskopis. Pengamatan ciri mikroskopis dengan melihat struktur hifa (bersekat atau tidak, hialin atau berwarna), bentuk struktur

reproduksi aseksual (spora, konidia, dan konidiofor) (Ananda *et al.*, 2004). Identifikasi mikrofungi hasil isolasi mengacu pada buku identifikasi *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species* (Watanabe, 2010).

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil dari ketiga sampel daun mangrove *Avicennia* yang diisolasi, diperoleh koloni mikrofungi sebanyak 42 isolat yang terdiri dari 19 isolat pada serasah daun (MS), 18 isolat pada daun tua (MT) dan 5 isolat pada daun muda (MM). Setelah dilakukan seleksi pada 42 isolat yang berpotensi menghasilkan aktivitas amilolitik hanya terpilih 17 isolat (Tabel 1).

Aktivitas amilolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni mikrofungi yang tumbuh. Daerah di luar zona bening terlihat berwarna biru tua setelah ditetesi larutan iodin (Gambar 3). Warna biru tua terbentuk akibat adanya reaksi antara larutan iodin dengan pati yang tidak dihidrolisis. Zona bening tidak ikut terwarnai oleh larutan iodin karena pada zona tersebut amilum sudah terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti disakarida atau monosakarida. Koloni mikrofungi yang tumbuh dan ditetesi larutan iodin untuk mengetahui kemampuan mikrofungi dalam menghidrolisis amilum menjadi maltosa atau glukosa (Susilawati *et al.*, 2015; Prahesti *et al.*, 2018).

Gambar 2. Zona bening isolat MT03

Tujuh belas isolat dari 42 isolat mikrofungi endofit yang positif memiliki kemampuan amilolitik yang paling besar diperoleh 3 isolat berdasarkan zona beningnya, yaitu *Fusarium ventricosum*, *Aspergillus parasiticus*, dan *Oidiodendron cerealis*. Ketiga jenis tersebut memiliki potensi yang paling besar dalam menghasilkan enzim amilase, seperti pada

spesies *Stachybotrys bisbyi* memiliki kemampuan amilolitik yang paling kecil, sehingga pada jenis ini memiliki potensi yang rendah dalam menghasilkan enzim amilase. Hal ini sesuai dengan pernyataan Maria *et al.*, (2005), bahwa potensi isolat penghasil enzim amilase dengan diameter zona bening yang semakin besar, maka memiliki potensi yang sangat bagus dalam menghasilkan enzim amilase.

Aktivitas amilolitik dihasilkan pada saat isolat mikrofungi berada pada fase eksponensial. Fase eksponensial terjadi pertumbuhan jumlah sel yang sangat banyak. Aktivitas sel pada fase ini sangat meningkat, sehingga mikrofungi akan menghasilkan banyaknya enzim yang diproduksi pada fase ini (Madavasamy *et al.*, 2012; Ariandi, 2016). Aktivitas amilolitik akan menurun setelah sel mencapai fase eksponensial akhir, karena amilum dalam medium mulai habis, sehingga enzim tidak diproduksi lagi. Selain itu, akumulasi zat toksik di dalam medium dapat menyebabkan penurunan aktivitas amilolitik (Susilawati *et al.*, 2015).

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil dari isolasi sampel serasah daun dan daun mangrove *Avicennia* didapat 42 isolat murni yang terdiri dari 19 isolat dari daun serasah, 18 isolat dari daun tua dan 5 isolat dari daun muda.
2. Mikrofungi endofit yang menghasilkan aktivitas amilolitik didapat 17 isolat yaitu dari genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Culvularia*, *Oidiodendron*, *Stachybotrys*, dan *Acremonium*. Genus yang paling dominan ditemukan pada *Aspergillus*, dan *Penicillium*.

5. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia atas program beasiswa Bidikmisi sehingga penulis dapat menyelesaikan riset di FMIPA UNTAN.

Daftar Pustaka

Adebola, A.L., Muid S., Mohamad H.B., Mansor W.Z., 2015, Microfungal Diversity on Leaves of *Eusideroxylon zwageri*, A Threatened Plant

- Species in Sarawak, Northern Borneo, J. Biodiversitas, 16:264-268.
- Ananda, K., K.R. Sridhar, 2004, Diversity of Endophytic Fungi in the Roots of Mangrove Species on the West Coast of India, J. Microbiology, 48:871-878.
- Ariandi, 2016, Pengenalan Enzim Amilase dan Reaksi Enzimatiknya Menghidrolisis Amilosa Pati menjadi Glukosa, J. Dinamika, 7:74-82.
- Babu, K.H., D. Ravi T., and K. Ramaneswari, 2012, Preliminary Observations on Microbial Diversity from Krishna Mangroves at Palakayattip, Hamsaladevi in Andhra Pradesh on the East Coast of India, J. Pharm. Bio. Sci., 3:1181-1185.
- Bengen, D.G, 2004, Ekosistem dan Sumberdaya Alam Pesisir dan Laut serta Prinsip Pengelolaannya, Pusat Kajian Sumberdaya Laut dan Pesisir Institut Pertanian, Bogor.
- Choi, Y.W., Hodgkiss, and K.D. Hyde, 2005, Enzyme Production by Endophytic of *Brucea javanica*, J. Agri. Tech., 4:55-66.
- Costa, I.P.M.W., Leonor C.M., Maria A.C., 2012, Diversity of Leaf Endophytic Fungi in Mangrove Plants of Northeast Brazil, J. Microbiology, 107:1165-1173.
- Desire, M.H., Fosto B., Muiyang R.F., Chiatoh T.A., and Omokolo, 2014, Enzymes and Qualitative Phytochemical Screening of Endophytic Fungi Isolated from *Lantana camara* Lin. Leaves, J. Bio. Biotech., 2:001-006.
- Hughes, E., 2017, Endophytic Fungi Diversity, Characterization and Biocontrol, Nova Press, New York.
- Job, N., Manomi S., Rosamma P., 2015, Isolation and Characterisation of Endophytic Fungi *Avicennia officinalis*, J. Bio. Biotech., 5:4-8.
- Kumaresan, V., and T.S. Suryanarayanan, 2002, Endophyte Assemblages in Young, Mature, and Senescent Leaves of *Rhizophora apiculata*: Evidence for the Role of Endophyte in Mangrove Litter Degradation, J. Fungal Diversity, 9:81-91.
- Li, J.L., Xiang S., Liang C., and Liang D. G., 2016, Community Structure of Endophytic Fungi of Four Mangrove Species in Southern China, J. Fungal Biology, 7:180-190.
- Ling, O.M., Lim P.T., Azani M., Peter P., and Moritz M., 2016, Initial Screening of Mangrove Endophytic Fungi for Antimicrobial Compounds and Heavy Metal Biosorption Potential, J. Sains, 45:1063-1071.
- Maria, G.L., K.R. Sridhar, 2005, Antimicrobial and Enzyme Activity of Mangrove Endophytic Fungi of Southwest Coast of India, J. Agri. Tech., 4:67-80.
- Monika, O.J., Anna J.W., Jolanta J.S., Katarzyna S., Artur R., Magdalena J., Ewa O., dan Malgorzata M., 2015, Extracellular Polysaccharides from Ascomycota and Basidiomycota: Production Conditions, Biochemical Characteristics, and Biological Properties, J. Micro. Bio, 31:1823-1844.
- Prahesti, D.A., Sri P., dan MG iswono R., 2018, Isolasi, Uji Aktivitas, dan Optimasi Inhibitor Amilase Isolat Kapang Endofit Tanaman Binahong, J. Biologi, 7:43-51.
- Ravindran, C., T. Naveenan and G.R. Varatharajan, 2010, Optimization of Alkaline Celulase Production by the Marine Derived Fungus *Chaetomium* sp. Using Agricultural and Industrial Wastes as Substrates. J. Botanical Marine, 53:275-28.
- Sa'ban., Muh. Ramli., dan Wa Nurgaya, 2013, Produksi dan Laju Dekomposisi Serasah Mangrove dengan Kelimpahan Plankton di Perairan Mangrove Teluk Moramo, J. Mina Laut Indonesia, 3: 132-146.
- Sunitha, V.H., Ramesha A., Savitha J., and Srinivas C., 2012, Amylase Production by Endophytic Fungi *Cylindrocephalum* sp. Isolated from Medicinal Plant *Alpinia Calcarata* (HAW) Roscoe, J. Microbiology, 105:1213-1221.
- Sunitha, V.H., D. Nirmala, C. Srinivas, 2013, Extracellular Enzymatic Activity of Endophytic Fungal Strains Isolated from Medicinal Plants, J. Sciences, 9:01-09.
- Susilawati, I.O., Umami M.B., dan Hesti R., 2015, Analisis Aktivitas Amilase yang Berasal dari Bakteri Tanah di Kawasan Universitas Jambi, J. Sains, Tek., 4:359-367.
- Watanabe, T., 2010, Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species, Third Edition, CRC Press, New York.