

Dr. Rida Oktorida Khastini M.Si.

Cendawan Endofit Akar Asal Mangrove Cagar Alam Pulau Dua Banten

Kajian Karakteristik dan Interaksinya dengan Tumbuhan



Rida Oktorida Khastini dilahirkan di Majalengka, Jawa Barat, anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan suami istri Bapak Khasmuin (Alm) dan Ibu Tatin Sustiatin S. Pd. Pendidikan SD diselesaikan di SD YPWKS 1 Cilegon (19869-1993), SMPN 2 Cilegon (1993-1996), SMAN 1 Cilegon (1996-1999). Tahun 1999 melanjutkan kuliah di Institut Pertanian Bogor (IPB) Jurusan Biologi melalui jalur PMDK dan lulus pada tahun 2004. Pada Tahun yang sama melanjutkan kuliah S-2 di Program Studi Mikrobiologi Sekolah Pascasarjana IPB dan lulus tahun 2007. Tahun 2009 berkesempatan melanjutkan kuliah S-3 di Department of Symbiotic Science of Environment and Natural Resource, The United Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology Jepang dengan beasiswa Monbukagakusho (MEXT) dan lulus pada tahun 2012.

Riwayat pekerjaan dimulai pada tahun 2002 bekerja sebagai tutor bimbingan belajar Primagama di Bogor. Selama kuliah di IPB dipercaya menjadi asisten dosen dan peneliti serta berkesempatan untuk melakukan penelitian cendawan terutama cendawan mikoriza dan cendawan endofit. Pada tahun 2008 diterima sebagai Dosen PNS di Program Studi Pendidikan Biologi dengan mata kuliah yang diampu yaitu Mikrobiologi dan Mikologi. Pada Tahun 2015-2020 dipercaya sebagai Ketua Jurusan Pendidikan Biologi FKIP Universitas Sultan Ageng Tirtayasa (UNTIRTA)

Setelah menjadi dosen, hibah penelitian yang didapatkan yaitu pada tahun 2009 berupa hibah penelitian dosen muda LPPM-UNTIRTA tentang Variasi Pewarna Alami Pada Nata Untuk Pengembangan Makanan Sehat. Pada tahun 2013 mendapatkan Hibah Fundamental DIKTI mengenai Isolasi, Seleksi dan Karakterisasi Cendawan Endofit Akar Asal Ekosistem Mangrove di Cagar Alam Pulau Dua Serang Bantengan Hibah Bersaing DIKTI mengenai Eksplorasi Sianobakteria di Ekosistem Mangrove Pulau Dua Banten sebagai Agen Reforestasi Mangrove. Pada Tahun 2014 mendapatkan Hibah Fundamental lanjutan tentang Isolasi, Seleksi dan Karakterisasi Cendawan Endofit Akar Asal Ekosistem Mangrove di Cagar Alam Pulau Dua, dan pada tahun 2015 mendapatkan Hibah Inovasi Pembelajaran FKIP mengenai Akselerasi Keterampilan Bertanya Mahasiswa dengan Macromedia Flash dan Gaya Berpikir pada Konsep Keanekaragaman Makhluk Hidup (Studi kualitatif pada Mata kuliah Pendidikan Lingkungan dan Sosial Budaya untuk Mahasiswa Pendidikan Biologi) dan tahun yang sama juga mendapatkan Hibah Internal Pengabdian Kepada Masyarakat LPPM Untirta mengenai Pemberdayaan Ibu Balita dalam Pemanfaatan Cendawan *Monascus Purpurea* Sebagai Pewarna Alami Makanan Guna Pencegahan Demam Berdarah Dengue Di Posyandu Beringin III dan Beringin IV Kota Serang.

Dr. Rida Oktorida Khastini, M.Si.

Cendawan Endofit Akar Asal Mangrove Cagar Alam
Pulau Dua Banten



Dr. Rida Oktorida Khastini, M.Si.

Cendawan Endofit Akar Asal Mangrove Cagar Alam Pulau Dua Banten

Kajian Karakteristik dan Interaksinya dengan Tumbuhan



Jl. Raya Jakarta, Km. 4,
Telp. (0254) 280330 Ext 111 Serang
E-mail: penerbit@up.untirta.ac.id
Website: <http://www.up.untirta.ac.id>



Dr. Rida Oktorida Khastini, M.Si.

**CENDAWAN ENDOFIT
AKAR ASAL MANGROVE
CAGAR ALAM PULAU DUA
BANTEN**

(Kajian Karakteristik dan Interaksinya
dengan Tumbuhan)



UNTIRTA PRESS
Menebar Ilmu Menembus Waktu



**CENDAWAN ENDOFIT AKAR ASAL MANGROVE
CAGAR ALAM PULAU DUA BANTEN
(Kajian Karakteristik dan Interaksinya dengan Tumbuhan)**

© Dr. Rida Oktorida Khastini, M.Si.

All right reserved

Hak cipta dilindungi Undang-Undang.
Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini
tanpa izin tertulis dari penulis/penerbit.

Cetakan Pertama:
November 2016

Editor:
Arip Senjaya

Desain Sampul & Tata Letak:
Desma Yuliadi Saputra

Cendawan Endofit Akar Asal Magrove Cagar Alam/
Oktorida Khastini, Rida.
Untirta Press
vi+102 hlm.: 16 x 24 cm

Diterbitkan atas Kerja sama
Untirta Press dengan LP3M Untirta
Jl. Raya Jakarta, Km. 4, Telp. (0254) 280330 Ext 111 Serang
E-mail: penerbit@up.untirta.ac.id
Website: <http://www.up.untirta.ac.id>

ISBN 978-602-1013-72-4

Prakata

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan buku ajar berbasis riset yang berjudul Cendawan Endofit Akar Asal Magrove Cagar Alam Pulau Dua Banten. Kajian Karakteristik dan Interaksinya dengan Tumbuhan. Penulisan buku ini dilatarbelakangi oleh rendahnya informasi mengenai cendawan endofit akar di Indonesia khususnya di Provinsi Banten dan potensinya bagi kesejahteraan manusia. Salah satu cara yang dapat dijadikan solusi atas permasalahan tersebut adalah dengan adanya penelitian dan publikasi mengenai cendawan endofit akar. Buku ini dapat menjadi rujukan mahasiswa untuk memperkaya pengetahuan dalam proses pembelajaran terutama dalam mata kuliah mikrobiologi ataupun mata kuliah lainnya yang terkait.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan buku ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada tim peneliti hibah fundamental yaitu Siti Gia Syauqiyah Fitri M. Biotech dan Pipit Marianingsih M. Si atas masukan dan saran serta mahasiswa Jurusan Pendidikan Jurusan Biologi FKIP Universitas Sultan Ageng Tirtayasa

yang telah terlibat dan membantu dalam tim penelitian. Tidak lupa penulis ucapkan terima kasih kepada DP2M DIKTI yang telah mendanai melalui hibah fundamental 2014 dan lanjutannya (2015) melalui LPPM Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.

Kepada kedua orang tua tercinta Bapak Khasmuin (Alm.) dan Ibu Tatin Sustiatin S. Pd terima kasih atas kasih sayang, kesabaran dan doanya, suami Yuli Wiluya S. Pd yang telah memberikan motivasi besar untuk terus maju dan ananda Alea Ramadhani Wiluya “*apple of my eyes*”.

Buku ini masih jauh dari sempurna, karena itu kritik dan saran membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan buku ini. Besar harapan penulis bahwa buku ini dapat diterima sehingga akan menambah khazanah wawasan mengenai cendawan endofit akar.

Serang, Juni 2016

Penulis

Daftar Isi

Prakata	3
Daftar Isi	5
BAB 1. Pendahuluan	1
BAB 2. Ekosistem Mangrove Cagar Alam Pulau Dua Banten	7
BAB 3. Cendawan Endofit Akar	15
BAB 4. Teknik dalam Mempelajari Cendawan Endofit Akar	21
BAB 5. Komposisi Cendawan Endofit pada Mangrove di Cagar Alam Pulau Dua Serang Banten	29
BAB 6. Bioprospeksi Cendawan Endofit Akar	45
BAB 7. Produk Metabolit Cendawan Endofit	49
BAB 8. Potensi Cendawan Endofit Akar Sebagai Agen Pengendali Hayati	57
BAB 9. Ketahanan Tanaman Inang Cendawan Endofit Akar Terhadap Cekaman Lingkungan	69
BAB 10. Cendawan Endofit Akar Agen Pemacu Pertumbuhan Tanaman	75
Daftar Pustaka	79
Index	97

BAB 1

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman sumber daya hayati yang melimpah dan menjadi pusat keanekaragaman hayati dunia. Bersama dengan Brazil, Zaire, Peru dan Colombia, Indonesia termasuk dalam 10 besar negara mega diversitas dunia yang memiliki keanekaragaman paling tinggi di dunia (MacKinnon *et al.* 1986). Brazil menjadi negara dengan tingkat keanekaragaman yang tertinggi di dunia karena memiliki hutan Amazon yang merupakan hutan tropis terluas di dunia. Lain halnya dengan Indonesia, tingginya keanekaragaman hayati di Indonesia disebabkan karena letak Indonesia secara geografi berada di kawasan tropis yang memiliki iklim stabil tiap tahunnya. Posisi Indonesia yang berada di antara dua benua, Asia dan Australia menyebabkan Indonesia menjadi pusat distribusi biota (Oriental dan Australia). Biota yang ada memiliki ciri khas dan keunikan untuk setiap wilayah dan pulau yang ada di Indonesia

Keanekaragaman hayati merupakan kekayaan atau bentuk kehidupan di bumi, baik tumbuhan, hewan, mikroorganisme, genetika yang dikandungnya, maupun ekosistem, serta proses proses ekologi yang dibangun menjadi lingkungan hidup (Primark *et al.* 1998). Sedangkan menurut Balai Kliring Keanekaragaman Hayati Nasional (2008),

keanekaragaman hayati merupakan keanekaragaman diantara makhluk hidup dari semua sumber, termasuk diantaranya daratan, lautan dan ekosistem akuatik lain, serta kompleks-kompleks ekologi yang merupakan bagian dari keanekaragamannya, mencakup keanekaragaman di dalam spesies, antara spesies, dan ekosistem). Berdasarkan data dari Kementerian Lingkungan Hidup (2013) mengenai keragaman hayati di Indonesia sekitar 12% (515 spesies, 39% endemik) dari total spesies binatang menyusui, berada di urutan kedua di dunia, 7,3% (511 spesies, 150 endemik) dari total spesies reptilia, urutan keempat di dunia 17% (1531 spesies, 397 endemik) dari total spesies burung di dunia, urutan kelima 270 spesies amfibi, 100 endemik, urutan keenam di dunia 2827 spesies binatang tidak bertulang belakang, selain ikan air tawar. Selanjutnya, Indonesia memiliki 35 spesies primata (urutan keempat, 18% endemik), dan 121 spesies kupu-kupu (44% endemik), serta memiliki lebih dari 38.000 spesies tumbuhan, 55% diantaranya endemik. Selain flora dan fauna, mikroorganisme seperti bakteri dan cendawan juga merupakan kekayaan yang tidak ternilai harganya. Hingga saat ini sekitar 100 jenis mikroorganisme yang telah diketahui potensinya dan tidak menutup kemungkinan seiring dengan perkembangan teknologi dan informasi, jumlah ini akan semakin bertambah.

Tingginya jumlah keanekaragaman hayati yang dimiliki ini merupakan aset yang tidak ternilai harganya yang dapat dimanfaatkan untuk kesejahteraan rakyat. Namun pemanfaatan potensi alam ini masih terkendala oleh kurangnya informasi dan data mengenai potensi keanekaragaman hayati tersebut. Hal ini dikarenakan masih terbatasnya kegiatan eksplorasi, identifikasi maupun inventarisasi keanekaragaman hayati yang dilakukan.

Penelitian mengenai keanekaragaman hayati sangat penting untuk dilakukan khususnya di suatu daerah dengan potensi keanekaragaman yang tinggi. Dengan melakukan studi biodiversitas di suatu daerah, maka lebih besar pula peluang bagi daerah tersebut untuk dapat memanfaatkan keanekaragaman hayati tersebut. Dengan demikian, daerah yang memiliki keanekaragaman hayati tinggi, masyarakat mempunyai

peluang besar untuk memperoleh keuntungan dari pemanfaatan keanekaragaman hayati.

Banten merupakan salah satu provinsi di Indonesia dengan wilayah yang memiliki potensi alam dan tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi untuk dieksplorasi dan dimanfaatkan. Gambar 1 menunjukkan peta wilayah Provinsi Banten. Secara geografis Provinsi Banten terletak antara $105^{\circ} 01'11''$ sampai $106^{\circ} 07'12''$ Bujur Timur, serta $05^{\circ} 07'50''$ sampai $07^{\circ} 01'01''$. Batas-batas wilayah Banten, sebelah utara berbatasan dengan Laut Jawa, sebelah timur dengan Provinsi DKI Jakarta dan Provinsi Jawa Barat, sebelah selatan dengan Samudra Hindia, dan sebelah barat dengan Selat Sunda. Temperatur di daerah pantai dan perbukitan wilayah Provinsi Banten berkisar antara 22°C dan 32°C , sedangkan suhu di pegunungan dengan ketinggian antara 400-2.000 m dpl mencapai antara 18°C - 29°C . Secara rata-rata temperatur di Bulan Oktober relatif lebih panas dibandingkan dengan bulan yang lain, sedangkan di Bulan Februari relatif lebih dingin. Curah hujan tertinggi terjadi di Bulan Februari yaitu 349 mm^3 dan terendah pada Bulan Juli hanya $0,2 \text{ mm}^3$. Tidak ada perbedaan siklus hujan yang mencolok dalam beberapa tahun terakhir. Pada periode Januari-Maret curah hujan relatif tinggi, kemudian mulai menurun. Secara umum kondisi topografi wilayah Provinsi Banten merupakan dataran rendah yang berkisar antara 0-200 mdpl yang terletak di daerah Kota Cilegon, Kota Tangerang, Kabupaten Pandeglang, dan sebagian besar Kabupaten Serang. Adapun daerah Lebak Tengah dan sebagian kecil Kabupaten Pandeglang memiliki ketinggian berkisar 201-2.000 mdpl dan daerah Lebak Timur memiliki ketinggian 501-2.000 mdpl yang terdapat di Puncak Gunung Sanggabuana dan Gunung Halimun.



Gambar 1. Peta wilayah Provinsi Banten

Provinsi Banten sebagai daerah dataran tropis yang terletak di ujung Barat Pulau Jawa memiliki kekayaan dan kekhasan keanekaragaman hayati. Keberadaan berbagai jenis flora dan fauna tersebut sangat berkaitan dengan tipe dan kondisi ekosistem yang ada didalamnya. Setiap jenis satwa dan tumbuhan menempati tipe habitat yang spesifik dan berbeda satu sama lain. Salah satu kekayaan dan kekhasan keanekaragaman hayati Provinsi Banten yang menjadi bagian dari perlindungan dan kekayaan alam dunia (*the world heritage*) adalah Badak Jawa (*Rhinoceros sondaicus*). Selain itu kekayaan dan kekhasan keanekaragaman hayati lainnya terdiri dari: Sawo (*Achras zapota*) dan Itik Damiaking (*Anas* sp.) didasarkan pada Surat Keputusan (SK) Bupati Serang, No. 522.52/SK.57-Huk/1995, Purut (*Parartocarpus venosa becc*) dan Kambing Banten (*Capra aegagrus*) didasarkan pada SK Bupati Pandeglang, No. 522.51/SK.18/Huk/1993, Nam nam (*Cynometra cauliflora* L.) dan Owa abu-abu (*Hylobates Moloch*) didasarkan pada SK Bupati Lebak, No. 522.51/SK.233/Ekon/1993 dan Rambutuan Parakan (*Nephelium* sp.) dan Ayam Wareng (*Gallus gallus* sp.) didasarkan pada SK Bupati Tangerang, No. 522.51/SK.21-LH/1995. Keanekaragaman hayati lainnya yang sedang diusulkan dan menunggu penetapan dari Departemen Dalam Negeri Republik Indonesia, untuk flora dan fauna khas untuk Flora dan Fauna Provinsi Banten terdiri dari: Kokoleceran (*Vatica*

bantamensis); untuk Kota Cilegon terdiri dari: Asem Ranji (*Dialium Indum* L.) dan Kerbau Gerem (*Bubalus* sp.) dan untuk Kota Tangerang Jambu Air Cingcalo Gondrong (*Eugenia* sp.).

Provinsi banten juga memiliki merupakan kawasan-kawasan endemis yang kaya dengan keanekaragaman hayati, kawasan perlindungan baik untuk kepentingan pelestarian keanekaragaman hayati, seperti Taman Nasional Gunung Halimun-Salak di perbatasan Jawa Barat dengan Banten Selatan, Taman Nasional Ujung Kulon dan Taman Wisata Alam Pulau Sanghyang, dan Cagar Alam Pulau Dua. Untuk menjaga kelestarian dari keanekaragaman hayati tersebut, pemerintah kabupaten/kota mengeluarkan surat keputusan yang diharapkan dapat mendorong masyarakat untuk membudidayakan dan melestarikan aset berharga tersebut.

Data dan informasi tersebut di atas, hanya merupakan sebagian kecil dari kekayaan keanekaragaman hayati yang dimiliki oleh Provinsi Banten. Banten masih memiliki daftar panjang keanekaragaman hayati, yang dapat menjadi aset dan modal dasar dalam berbagai upaya pembangunan. Hal yang harus disadari, bahwa belum adanya kegiatan inventarisasi dan konservasi seluruh keanekaragaman hayati yang dimiliki oleh Provinsi Banten.

Konservasi keanekaragaman hayati itu sendiri bertolak pada pengelolaan pada tingkat genetik, jenis dan ekosistem. Pada tingkat genetik, konservasi keanekaragaman genetik diarahkan pada konservasi *in-situ* maupun konservasi *ex-situ*. Arah pengelolaan sumberdaya genetik di masa depan adalah pemanfaatan sumberdaya genetik untuk mendukung pengembangan budidaya tanaman maupun ternak melalui pengembangan kultivar-kultivar unggul. Pada tingkat jenis, konservasi dalam jangka panjang bertujuan untuk mencegah terjadinya kepunahan jenis yang diakibatkan oleh penyebab utama terancamnya jenis dari kepunahan, yaitu kerusakan habitat dan pemanfaatan yang tidak terkendali. Bagi jenis-jenis yang populasinya sudah dalam kondisi kritis maka pengelolaannya harus diarahkan pada pemulihan populasi dengan berbagai cara termasuk perbaikan habitat, rehabilitasi satwa hasil sitaan

serta penangkaran untuk dilepas kembali ke alam. Selain itu dilakukan upaya pengelolaan sumberdaya alam mencakup aktivitas penelitian, inventarisasi, monitoring dan evaluasi terhadap potensi flora, fauna dan ekosistemnya termasuk sumber daya air. Data potensi yang diperoleh dari kegiatan penelitian atau inventarisasi tersebut dijadikan sumber data untuk mendukung perkembangan sistem informasi manajemen dan sekaligus untuk kepentingan dalam penentuan rencana dan kebijakan pengelolaan daerah. Untuk itu tujuan jangka panjang konservasi keanekaragaman hayati daerah ini harus dapat menjamin kelestarian fungsi ekosistem sebagai penyangga kehidupan, khususnya di luar kawasan konservasi.

Penentuan kebijakan pembangunan serta pelaksanaan pembangunan yang memperhatikan faktor sumber daya alam dan keanekaragaman hayati menjadi penting untuk dilakukan. Hal ini dilakukan mengingat sumber daya alam dan keanekaragaman hayati merupakan aset dan modal dasar untuk mendukung pelaksanaan pembangunan, sehingga jika sumber daya alam dan keanekaragaman hayati menjadi punah, pada akhirnya akan menghilangkan daya dukung sumber daya alam dan keanekaragaman hayati pada keberlanjutan pembangunan itu sendiri.

BAB 2

Ekosistem Mangrove Cagar Alam Pulau Dua Banten

Cagar Alam Pulau Dua yang merupakan kawasan konservasi di Provinsi Banten dengan keanekaragaman hayati yang ada didalamnya. Konservasi berasal dari kata *Conservation* yang terdiri atas kata *con* (*together*) dan *servare* (*keep/save*) yang memiliki pengertian mengenai upaya memelihara yang dimiliki (*keep/save what you have*), dan dilakukan secara bijaksana (*wise use*). Istilah ini dikenalkan oleh Theodore Roosevelt pada Tahun 1902. Konservasi juga dapat dipandang dari segi ekonomi dan ekologi dimana konservasi dari segi ekonomi berarti mencoba mengalokasikan sumberdaya alam untuk masa kini. Sedangkan dari segi ekologi, konservasi merupakan alokasi sumber daya alam bukan hanya untuk masa kini melainkan juga untuk masa yang akan datang. Berdasarkan definisi tersebut maka kawasan konservasi adalah suatu wilayah yang dilindungi ditetapkan oleh pemerintah berdasarkan berbagai macam kriteria sesuai dengan kepentingannya. Tiap negara mempunyai kategori sendiri untuk penetapan kawasan yang dilindungi berdasarkan tujuan dan perlakuan yang mungkin berbeda-beda. Pada tingkat internasional pengelolaan kawasan yang dilindungi secara umum di dunia, baik untuk kawasan darat maupun perairan berada di bawah tanggung jawab khusus organisasi *World Commission on Protected Areas*

(WCPA) yang dulunya bernama *Commision on National Parks and Protected Areas* (CNPPA).

Kawasan/Hutan konservasi dalam skala nasional mencakup 2 kelompok besar, yaitu kawasan suaka alam (KSA) dan kawasan pelestarian alam (KPA). Kawasan Suaka Alam terdiri Cagar Alam (CA) dan Suaka Margasatwa, bertujuan untuk perlindungan sistem penyangga kehidupan dan pengawetan sumberdaya alam hayati dan ekosistemnya. Sementara untuk KPA yang terdiri dari Taman Nasional, Tahura, Taman Wisata Alam dan Taman Buru, selain kedua tujuan tersebut, juga bertujuan untuk pemanfaatan yang lestari.

Berdasarkan Pasal 1 ayat 7 PP No 28 tahun 2011, Cagar Alam adalah kawasan suaka alam yang karena keadaan alamnya mempunyai kekhasan/keunikan jenis tumbuhan dan/atau keanekaragaman tumbuhan beserta gejala alam dan ekosistemnya yang memerlukan upaya perlindungan dan pelestarian agar keberadaan dan perkembangannya dapat berlangsung secara alami. Penetapan suatu kawasan yang ditetapkan menjadi Cagar Alam dimaksudkan untuk menjaga agar suatu spesies, habitat, kondisi geologi, ekosistem, juga proses ekologis agar tetap seperti apa adanya, tanpa campur tangan manusia dengan tujuan utama untuk kepentingan ilmiah atau pemantauan lingkungan. Pengelolaan Cagar Alam dikenal dengan istilah *zero management* karena hanya berupa monitoring termasuk didalamnya adalah penelitian dan riset serta pengamanan saja. Jenis kegiatan pemanfaatan yang diperbolehkan dalam Cagar Alam ini sangat terbatas, terutama yang berkaitan dengan kepentingan ilmiah serta bukan kegiatan yang sifatnya ekstraktif yaitu mengambil sesuatu yang berupa fisik dari kawasan. Hal ini sesuai dengan Pasal 33 Peraturan Pemerintah Nomor 28 Tahun 2011 tentang pemanfaatan kawasan Cagar Alam yaitu di dalam Cagar alam hanya dapat dilakukan: a) kegiatan penelitian dan pengembangan ilmu pengetahuan; b) pendidikan dan peningkatan rasa sadar dan mengetahui tentang pentingnya konservasi alam; c) penyerapan dan/atau penyimpanan karbon; dan d) pemanfaatan sumber plasma nutfah untuk penunjang budidaya

Cagar Alam Pulau Dua yang lebih dikenal dengan sebutan Pulau Burung, ditetapkan sebagai Cagar Alam pada tanggal 30 Juli 1937 No. 21 Stbl. 474 dengan luas wilayah 8 Ha. Terbentuknya tanah timbul di sekitar cagar alam, menjadikan luas kawasan ini bertambah, dan pada tahun 1978 menyatu dengan daratan Pulau Jawa. Untuk menjamin kelestarian ekosistem Pulau Dua, maka diterbitkan SK Menteri Kehutanan No. 253/Kpts-II/1984 tgl 26 Desember 1984 yang menetapkan bahwa tanah timbul di selatan Pulau Dua menjadi bagian dari kawasan cagar alam, sehingga luas cagar alam ini bertambah menjadi 30 Ha (Triyanto, 2012).



Gambar 2.1. Peta Cagar Alam Pulau Dua
(Sumber: Rahmat, 2007)

Cagar Alam Pulau Dua secara geografis terletak di Teluk Banten, Kelurahan Sawah Luhur, Kecamatan Kasemen, Kota Serang. Secara geografis wilayah ini berada pada $106^{\circ}11'38'' - 106^{\circ}13'14''$ BT dan $6^{\circ}11'5'' - 6^{\circ}12'5''$ LS (Gambar 2.1), 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).

Cagar Alam Pulau Dua termasuk tipe vegetasi hutan dataran rendah dan sebagian merupakan tipe ekosistem mangrove. Ekosistem merupakan interaksi antar hubungan suatu komunitas dengan lingkungannya. Setiap spesies di dalam ekosistem mempunyai suatu relung ekologi yang khas. Setiap spesies juga hidup di tempat dengan faktor-faktor lingkungan yang khas yaitu di suatu habitat tertentu. Fungsi ekosistem adalah ketergantungan dan hubungan sebab akibat, yang merupakan perangkaian komponen-komponen untuk membentuk satuan-satuan fungsional (Irwan, 2012). Ekosistem Mangrove merupakan suatu ekosistem peralihan antara darat dan laut. Salah satu komponen utama penyusun ekosistem mangrove adalah vegetasi mangrove

Mangrove adalah salah satu komponen penting ekosistem pesisir dunia yang menutupi sekitar 75% garis pantai tropis (Pattiasina, 2010). Tumbuhan ini mampu tumbuh dan berkembang pada daerah pasang surut sesuai dengan toleransinya terhadap salinitas, lama penggenangan, substrat dan morfologi pantai. Mangrove dapat dijumpai pada daerah sepanjang muara sungai atau daerah yang banyak dipengaruhi oleh aliran sungai (*fluvio-marine*) dan daerah yang umumnya didominasi oleh faktor laut (*marino-fluvial*) (DKP, 2004). Hutan mangrove merupakan ekosistem yang kompleks terdiri atas flora dan fauna daerah pantai, hidup sekaligus di habitat daratan dan air laut, diantara batas air pasang dan surut. Mangrove diketahui mempunyai daya adaptasi fisiologis yang sangat tinggi. Tumbuhan mangrove sering disebut juga tumbuhan halofit karena dapat bertahan pada lingkungan dengan suhu perairan yang tinggi, fluktuasi salinitas yang luas dan tanah yang anaerob. Salah satu faktor yang penting dalam adaptasi fisiologis adalah sistem akar

udara. Tidak semua tumbuhan mangrove memperoleh oksigen untuk akar-akarnya dari tanah yang mengandung oksigen, mangrove tumbuh di tanah yang tidak mengandung oksigen dan memperoleh hampir seluruh oksigen untuk akar-akar mereka di atmosfer (Fachrul, 2008).

Tanah mangrove memiliki karakteristik dapat dibedakan menjadi dua kategori yaitu *halic hydraquent* dan *halic sulfaquent*. Sedangkan keadaan tekstur tanah secara umum sangat halus dengan kadar partikel-partikel koloid yang tinggi. Kesuburan tanah mangrove tergantung dari endapan yang dibawa oleh air sungai, yang umumnya kaya akan bahan organik dan mempunyai nilai nitrogen tinggi. Kehadiran bahan-bahan organik yang dibawa air sungai tersebut sangat menentukan tekstur tanah, tempat bahan-bahan tersebut diendapkan. Perubahan tekstur yang cepat dan tiba-tiba menyebabkan terganggunya vegetasi yang ada di tempat tersebut. Topografi tanah pada komunitas mangrove pada umumnya landai atau bergelombang dengan tanahnya yang bertekstur *klei*, *klei* berdebu dan *lom*. Topografi hutan mangrove mempengaruhi intensitas dan seringnya penggenangan yang mengakibatkan perbedaan kadar garam dalam tanah (Tomlison, 1986).

Sitorus dan Djokosudardjo (1979) menyatakan bahwa pengaruh air pasang yang mengandung garam-garam terlarut akan mewarnai susunan kimia tanah di daerah tersebut sebagai hasil pertukaran dan penyerapan kation-kation oleh koloid tanah. Selanjutnya Matondang (1979) menyatakan bahwa tanah yang dipengaruhi air asin dapat dicirikan oleh sifat halik tanah yang biasanya dapat didekati dari daya hantar listrik (DHL), persentase kejenuhan natrium (ESP) atau nisbah jerapan natrium (SAR).

Salinitas tanah yang tinggi pada ekosistem mangrove disebabkan karena pengaruh air payau atau air asin pada saat tanah daerah mangrove terbentuk. Tanah daerah mangrove dengan salinitas tinggi umumnya mempunyai DHL sebesar 20-35 mmhos/cm pada 25°C atau kadar garam 0.80% sampai lebih. Tanah tersebut umumnya memiliki nilai alkalinitas yang tinggi dengan nilai Na-dd mencapai lebih dari 15% dan nisbah jerapan Na (SAR)-nya sekitar 15-40. Nilai SAR dan ESP

tanah menentukan tingkat sodisitas tanah, di mana pada tanah non-sodik persentase ESP berkisar antara 0-5%, pada tanah sodik persentase ESP berkisar antara 5-15%, dan di atas 15% tanah tergolong ke dalam tanah sangat sodik. Nilai kematangan tanah (n-value) daerah mangrove yang dipengaruhi pasang surut berkisar antara 1.4 sampai dengan 2.0, sedangkan yang kadang-kadang dipengaruhi pasang surut n-value berkisar antara 0.7 sampai dengan 1.4 (Wiradinata, 1992). Hardjowigeno (1986) juga menambahkan bahwa tanah daerah mangrove selain memiliki salinitas tanah yang tinggi, tingkat kematangan tanah yang rendah, serta mengandung tanah klei masam (*cat clay*). Klei masam (*cat clay*) adalah klei dalam tanah yang mengandung sejumlah sulfida atau sulfat. Hal ini terjadi karena pengaruh pasang air laut atau air payau pada saat pembentukan tanah ini dan proses pasang surut selanjutnya.

Menurut Sitorus dan Djokosudardjo (1979) daerah pasang surut mempunyai aneka ragam sifat-sifat kimia terutama dalam susunan kation pada kompleks jerapan tanah. Susunan kation dinilai berdasarkan urutan dominasi kation-kation (K, Na, Ca, dan Mg) pada kompleks jerapan tanah. Terdapat 3 model susunan kation berdasarkan tingkat dominasinya yaitu Model I (Na>Mg>Ca atau K), Model II (Mg>Ca>Na atau K) dan Model III (Ca>Mg>Na atau K). Model I terdapat di daerah dekat laut/pantai atau muara sungai-sungai utama (daerah pengaruh air laut); semakin menjauhi laut atau sungai-sungai utama (daerah pengaruh payau) susunan kation mengikuti Model II dan daerah yang lebih jauh lagi (daerah pengaruh air tawar) mengikuti Model III.

Vegetasi yang tumbuh pada ekosistem mangrove beragam. Berdasarkan morfologinya, tumbuhan mangrove dibagi ke dalam lima kategori, yaitu pohon (*tree*), semak (*shrub*), liana (*vine*), paku/palem (*fern/palm*), dan herba/rumput (*herb/grass*). Bentuk-bentuk perakaran tumbuhan mangrove yang khas adalah; (1) Akar pasak (*pneumatophore*). Akar pasak merupakan akar yang muncul dari sistem akar kabel di dalam tanah dan berdiri tegak keluar tanah ke arah udara seperti pasak. Akar pasak ini terdapat pada jenis *Avicennia*, *Xylocarpus* dan *Sonneratia*. (2) Akar

lutut (*knee root*). Akar lutut merupakan modifikasi dari akar kabel yang pada awalnya tumbuh ke arah permukaan substrat kemudian melengkung menuju ke substrat lagi. Akar jenis ini terdapat pada *Bruguiera* spp. (3) Akar tunjang (*stilt root*). Akar tunjang merupakan akar (cabang-cabang akar) yang keluar dari batang tumbuhan mangrove dan tumbuh ke dalam substrat. Akar ini terdapat pada *Rhizophora* spp. (4) Akar papan (*buttress root*). Akar papan hampir sama dengan akar tunjang tetapi akar ini melebar menjadi bentuk lempeng, mirip seperti struktur silet. Akar ini terdapat pada *Heritiera*. (5) Akar gantung (*aerial root*). Akar gantung adalah akar yang tidak bercabang yang muncul dari batang atau cabang bagian bawah tetapi biasanya tidak mencapai substrat. Akar gantung terdapat pada *Rhizophora*, *Avicennia* dan *Acanthus* (Onrizal, 2008).

Ekosistem asli kawasan Cagar Alam Pulau Dua adalah hutan mangrove yang memiliki berbagai tumbuhan pantai yang terdiri dari lima komunitas seperti jenis api-api (*Avicennia marina* Vierh.) bakau (*Rhizophora apiculata* BI.) dan *Diospyros maritime* pada bagian Timur dan tumbuhan campuran antara laut dan darat seperti santigi. Pada garis pantai bagian Timur menghadap Utara dijumpai formasi tumbuhan api-api yang masih muda sebagai akibat dari kemungkinan pengaruh perluasan pulau. Daerah dalam pulau terdapat rawa-rawa yang didominasi oleh api-api diselingi bakau (*Rhizophora apiculata* BI.) dan *Sonneratia* sp., ki duduk (*Phemphis acidula*), ki getah dan waru laut (*Hibiscus tiliaceus* L.) (Takandjandji dan Kwatrina, 2011).

Menurut Irwan (2012) berdasarkan frekuensi air pasang zona hutan mangrove dapat dibagi menjadi lima bagian, masing-masing zona ditumbuhi oleh tipe vegetasi yang berbeda, yaitu (1) Zona yang paling dekat dengan laut didominasi oleh *Avicennia* dan *Sonneratia*. (2) Zona hutan pada substrat yang lebih tinggi didominasi oleh *Bruguiera cylindrica*. Zona hutan ini dapat dicapai oleh beberapa air pasang saja dan tumbuh pada tanah yang cukup keras atau tanah liat. (3) Zona ini lebih jauh dari pantai dan didominasi oleh *Rhizophora*. (4) Zona hutan bakau yang didominasi oleh *Bruguiera parviflora*. (5) Zona hutan mangrove yang didominasi oleh *Bruguiera gymnorrhiza*.

Cakupan sumberdaya mangrove secara keseluruhan menurut Kusmana *et al.* (2003) terdiri atas: (1) satu atau lebih spesies tumbuhan yang hidupnya terbatas di habitat mangrove, (2) spesies-spesies tumbuhan yang hidupnya di habitat mangrove, namun juga dapat hidup di habitat non-mangrove, (3) biota yang berasosiasi dengan mangrove (biota darat dan laut, lumut kerak, cendawan, ganggang, bakteri dan lain-lain) baik yang hidupnya menetap, sementara, sekali kali, biasa ditemukan, kebetulan maupun khusus hidup di habitat mangrove, (4) proses-proses alamiah yang berperan dalam mempertahankan ekosistem ini baik yang berada didaerah bervegetasi maupun diluarnya, dan (5) daratan terbuka/hamparan lumpur yang berada antara batas hutan sebenarnya dengan laut.

Mangrove di Cagar Alam Pulau Dua mempunyai peran penting untuk kehidupan laut, misalnya menjadi tempat yang ideal bagi ikan untuk berkembang biak, menjadi habitat yang nyaman untuk kepiting dan burung-burung air, dan dapat menyaring pencemaran logam berat dari daratan sebelum mengalir ke lautan. Peranan mangrove bagi kehidupan laut yang sangat penting yaitu sebagai penyambung antara daerah daratan dan daerah lautan; meminimalisir terjadinya gejala alam yang ditimbulkan oleh perairan laut, seperti abrasi, gelombang, dan badai; dan sebagai habitat bagi satwa lainnya seperti burung, biawak, ular, katak, dan lain-lain

Keseimbangan ekosistem mangrove tak lepas dari peranan mikro-organisme, seperti bakteri, fungi, dan lain-lain. Syarmalina (2003) telah melakukan penelitian mengenai cendawan endofit dari ranting dan akar tumbuhan *Avicennia* di daerah Jakarta dan mengisolasi antara lain cendawan dari genus *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Penicillium* dan *Trichoderma*. Isolat-isolat cendawan tersebut ada yang memiliki sifat antimikroba terhadap *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*.

BAB 3

Cendawan Endofit Akar

Fungi adalah organisme eukariotik yang bersifat heterotrof, memiliki dinding sel spora yang mengandung kitin, tidak berfotosintesis, umumnya memiliki hifa yang berdinding yang dapat berinti banyak (multinukleat) atau berinti tunggal (mononukleat), dan memperoleh nutrient melalui penyerapan/absorpsi (Gandjar & Sjamsuridzal, 2006). Sebagian pakar menggunakan istilah jamur sebagai padananan fungi, sebagian menggunakan istilah cendawan.

Fungi hidup pada lingkungan yang beragam, daerah perairan maupun terestrial. Berdasarkan cara memperoleh makanannya, fungi dapat bersifat saprotrofik, maupun berasosiasi dengan organisme lain yang dapat bersifat positif melalui simbiosis mutualisme, maupun bersifat negatif sebagai organisme parasit. Salah satu contoh asosiasi fungi dengan organisme lain yang bersifat positif adalah cendawan endofit. Organisme ini dapat bersimbiosis dengan tumbuhan karena tumbuhan ini memiliki *niche* (kondisi/lingkungan yang baik untuk tempat tumbuh) yang beragam untuk cendawan endofit.

Istilah simbiosis didefinisikan pertama kali oleh ahli botani Jerman Heinrich Anton de Bary pada tahun 1879 sebagai hubungan fisik yang erat di antara spesies yang bertahan untuk jangka waktu yang signifikan

dari siklus hidupnya. Organisme eukariotik dapat berasosiasi dengan berbagai mikroorganisme seperti cendawan dan bakteri, dan pada tanaman khususnya membutuhkan bantuan dari mikroorganisme tertentu untuk dapat beradaptasi pada relung ekologi tertentu sehingga dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Begitu pula dengan cendawan endofit. Organisme ini sebagian besar atau seluruh siklus hidupnya berada pada jaringan tumbuhan dan tidak menyebabkan penyakit pada tumbuhan tersebut (Sinclair & Cerkauskas, 1996). Interaksi yang terjadi antara cendawan endofit dan tanaman tidak menyebabkan gejala penyakit dimungkinkan karena hubungan antara endofit dan tanaman bersifat antagonisme yang seimbang (Schulz & Boyle 2006)

Secara umum cendawan endofit terbagi menjadi dua kelompok besar kedekatan evolusinya, taksonomi, tanaman inang, dan fungsi ekologi yang dijelaskan dalam Tabel 1 yaitu cendawan endofit dari kelompok Clavipitaceae dan kelompok Non Clavipitaceae.

Tabel 1. Klasifikasi Cendawan Endofit (Rodrigues *et al.* 2006)

Kriteria	Clavipitaceous		Non Clavipitaceous	
	Kelas 1	Kelas 2	Kelas 3	Kelas 4
Kisaran Inang	Sempit	Luas	Luas	Luas
Lokasi Jaringan inang yang terinfeksi	Tunas dan rhizoma	Tunas, akar dan rhizoma	Tunas	Akar
Transmisi	Vertikal dan Horizontal	Vertikal dan Horizontal	Horizontal	Horizontal
Manfaat	NHA*	NHA dan HA*	NHA*	NHA*

Keterangan:

- * NHA: *Nonhabitat-Adapted* manfaat seperti toleransi kekeringan dan pertumbuhan
- * HA : *Habitat-Adapted* manfaat seperti toleransi pH, temperatur dan silinitas

Interaksi antara endofit dengan tanaman inang sangat luas, dari yang sangat spesifik dan umum. Jika mempertimbangkan perbandingan antara jumlah tumbuhan vaskuler dan spesies cendawan yaitu 1:4 atau

1:5. Petrini *et al.* (1992) memperkirakan bahwa kurang lebih 1 juta spesies baru cendawan endofit akan berhasil ditemukan dan diidentifikasi. Beberapa taxa dominan umumnya dijumpai pada satu atau pada beberapa spesies tanaman inang, dan interaksi seperti ini dapat diklasifikasikan sebagai *host-specific endophyte*. Penelitian menunjukkan terdapat perbedaan spesies endofit yang diisolasi dari tanaman yang berbeda pada satu lokasi yang sama. Selain spesifitas di tingkat spesies, spesifitas endofit pada organ dan jaringan yang berbeda juga diketahui. Jenis cendawan endofit berbeda didapatkan dari satu jenis tanaman pada bagian tanaman yang berbeda yakni pada akar, kulit pohon, dan daun. Cendawan endofit yang tumbuh pada akar tumbuhan sebagian besar berbeda dengan cendawan endofit yang tumbuh pada batang, daun, bunga, buah atau biji tumbuhan (Bills, 1997).

Faktor lingkungan, selain mempengaruhi persentase cendawan endofit juga diketahui juga mempengaruhi spesifitas cendawan endofit (Murali *et al.* 2007). Sejumlah besar tanaman telah dipelajari mengenai keberadaan cendawan endofit ini meliputi tanaman gymnospermae (Stone *et al.* 2000), palmae (Rodrigues, 1994; Taylor *et al.* 1999) dan beberapa tanaman tropis (Suryanaran & Vijaykrishna, 2000).

Tumbuhan memiliki jaringan kompleks penyusun organ yaitu akar, batang, daun, bunga, buah dan biji dan menjadi habitat bagi beragam mikroorganisme tidak terkecuali cendawan endofit. Akar tanaman merupakan habitat yang baik bagi pertumbuhan cendawan endofit. Akar merupakan organ yang penting bagi tumbuhan. Tjondronegoro *et al.* (1989) menyatakan bahwa akar selain berguna untuk menyerap dan melekat, juga berfungsi sebagai cadangan dan penyaluran makanan. Akar pertama pada tumbuhan berasal dari embrio dan disebut akar primer. Akar primer dan cabang-cabangnya atau akar lateral membentuk sistem perakaran. Sistem perakaran inilah yang menjadi habitat bagi cendawan endofit akar.

Cendawan endofit akar memiliki kesamaan dengan cendawan mikoriza yaitu sama-sama mengkolonisasi bagian akar tumbuhan. Perbedaan yang kontras antara cendawan endofit akar dan mikoriza

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. Daerah pada bagian permukaan akar tanaman atau yang umum disebut *rhizoplane* dan *rhizosfer* adalah selapis tanah yang menyelimuti permukaan akar tanaman yang masih dipengaruhi oleh aktivitas akar merupakan tempat tumbuh yang baik bagi mikroorganisme lainnya yang juga berinteraksi dengan tanaman tersebut. Pada akar tanaman akan mengeluarkan bahan-bahan organik berupa:

1. Eksudat akar: bahan yang dikeluarkan dari aktivitas sel akar hidup seperti gula, asam amino, asam organik, asam lemak dan sterol, faktor tumbuh, nukleotida, flavonon, enzim. Enzim utama yang dihasilkan oleh akar adalah oksidoreduktase, hidrolase, liase, dan transferase. Sedang enzim yang dihasilkan oleh mikroba di rhizosfer adalah selulase, dehidrogenase, urease, fosfatase dan sulfatase
2. Sekresi akar: bahan yang dipompakan secara aktif keluar dari akar.
3. Lisat akar: bahan yang dikeluarkan secara pasif saat autolisis sel akar.
4. Musigel: bahan sekresi akar, sisa sel epidermis, sel tudung akar yang bercampur dengan sisa sel mikroba, produk metabolit, koloid organik dan koloid anorganik.

Pada saat terjadinya interaksi tanaman dengan cendawan endofit akar, tanaman bereaksi seperti halnya pada saat tanaman terinfeksi patogen yakni dengan memproduksi metabolit yang berfungsi sebagai pertahanan serta beberapa respon pertahanan yang lain. Selama virulensi dari endofit dan pertahanan tanaman seimbang, interaksi *asymptomatic*/tanpa menimbulkan gejala yang akan muncul. Cendawan endofit akar terdiri dari beragam kelompok fungi. Sebagai contoh spesifik yaitu cendawan endofit akar berseptata gelap, genus *Piriformospora* dan genus *Trichoderma* diketahui sebagai cendawan endofit akar sejati.

Cendawan endofit akar berseptata gelap adalah kelompok cendawan yang memiliki pigmen gelap melanin, mengkolonisasi akar diantara daerah epidermis sampai korteks secara interseluler dan intraseluler

dan terkadang membentuk agregasi hifa menyerupai yang disebut mikrosklerosa. Spesies dari cendawan endofit akar bersepta gelap ini tersebar di seluruh dunia (Jumpponen & Trappe, 1998; Wang & Zhao, 2005; Šraj-Kržiè *et al.* 2006). Salah satu contoh spesies dari cendawan endofit akar bersepta gelap ini adalah *Veronaeopsis simplex* (Gambar 3.1). Berdasarkan hasil penelitian Khastini *et al.* (2012), *V. simplex* ini dapat mengkolonisasi akar tanaman *Brasica* yang tidak bisa dikolonisasi oleh cendawan mikoriza. Dengan adanya asosiasi antara *V. simplex* maka tanaman *Brasica* mendapatkan keuntungan dengan adanya perlindungan terhadap patogen. Selain itu tanaman dapat biomassa tanaman *Brasica* dapat meningkat karena cendawan endofit akar membantu penyerapan nutrisi dan mensekresikan hormon tumbuh seperti IAA.



Gambar 3.1 Morfologi koloni cendawan *Veronaeopsis simplex* pada medium CMMY. Skala bar 10 µm

Piriformospora spp. adalah cendawan endofit akar yang berasal dari Gurun Thar India dan termasuk dalam Basidiomycetess (Varma *et al.* 1999). Cendawan ini membentuk klamidospora aseksual berbentuk seperti buah pir dan dapat tumbuh pada berbagai media (Pham *et al.* 2004). Cendawan ini mengkolonisasi korteks akar dari banyak spesies tanaman. Sama halnya dengan cendawan mikoriza arbuskula, *Piriformospora indica* mempunyai kisaran yang luas dalam membunuh

cendawan patogen asal tanah. Cendawan ini juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dan menginduksi ketahanan terhadap berbagai hama tanaman.

Trichoderma merupakan spesies utama yang menjadi penyusun keanekaragaman hayati mikroorganisme tanah dan berasosiasi dengan banyak tumbuhan di dunia. *Trichoderma* telah banyak dimanfaatkan sebagai agen pengendali hayati patogen asal tanah (Whipps, 2001). Berbagai macam senyawa toksin seperti gliotoksin, gliovirin dan enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh spesies ini dapat membunuh cendawan patogen yang masuk dan menyerap nutrisi tumbuhan inang.

BAB 4

Teknik dalam Mempelajari Cendawan Endofit Akar

Pengetahuan tentang cendawan endofit yang tumbuh pada akar tumbuhan sampai saat ini sangat minim. Berbagai teknik konvensional maupun molekuler telah dikembangkan untuk mempelajari cendawan endofit. Identifikasi cendawan endofit dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain dengan karakter morfologi, molekuler dengan membandingkan sekuen DNA, dan kemotaksonomi.

A. Identifikasi Cendawan Endofit Akar

Identifikasi dengan membandingkan penampilan morfologi biasanya sangat bergantung pada media dan kondisi pertumbuhan yang akan mempengaruhi terbentuknya struktur reproduksi seksual dan aseksual (Hyde & Soyong, 2007). Berbagai cara dilakukan untuk merangsang cendawan endofit bersporulasi dalam media pertumbuhan sehingga dapat diidentifikasi antara lain dengan menggunakan berbagai media dan kondisi inkubasi. Guo *et al.* (2000) menggunakan beberapa media seperti *potato dextrose agar* (PDA), *malt extract agar* (MEA), *corn meal agar* (CMA), *potato carrot agar* (PCA), dan *water agar* (WA), atau dengan menambahkan potongan atau ekstrak jaringan tanaman inang pada kultur biakan. Meskipun sudah diinduksi untuk merangsang

terjadinya sporulasi, sejumlah cendawan tidak juga bersporulasi dalam media pertumbuhan yang disebut miselia sterilis (Lacap *et al.* 2003).

Pengamatan morfologi dilakukan dengan menumbuhkan biakan murni cendawan pada media. Isolat cendawan yang telah tumbuh diamati ciri-ciri makroskopiknya yaitu ciri koloni seperti sifat tumbuh hifa, warna dan diameter koloni dan warna massa spora atau konidia (bentuk, warna, tangkai spora, dan ornamen pada permukaan spora). Isolat cendawan juga ditumbuhkan pada kaca objek dengan Metode *Riddel* yaitu dengan cara meletakkan potongan agar sebesar 4 x 4 x 2 mm yang telah ditumbuhi cendawan pada kaca objek, yang kemudian ditutup dengan kaca penutup. Isolat pada kaca objek ini ditempatkan dalam cawan Petri berdiameter 9 cm, yang telah diberi pelembab berupa kapas basah. Isolat cendawan pada kaca objek ini dibiarkan selama beberapa hari pada kondisi ruang sampai isolat cendawan tumbuh cukup berkembang. Ketika isolat cendawan telah berkembang dilakukan pengangkatan kaca penutup yang telah ditumbuhi cendawan dengan hati-hati untuk membuang potongan agarnya. Selanjutnya pada bekas potongan agar ditetesi larutan pewarna seperti laktofenol untuk membuat kultur permanen. Kaca penutup yang juga telah ditumbuhi cendawan selanjutnya ditempatkan di atas larutan laktofenol di atas kaca objek. Kultur kaca ini diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya untuk mengetahui ciri mikroskopik cendawan. Setelah itu dicocokkan dengan kunci identifikasi fungi (Domsch *et al.* 1980; Barnett & Hunter, 1998; Fassatiova, 1986; Gandjar *et al.* 1999). Pemeliharaan biakan murni dilakukan dengan cara penyimpanan di dalam gliserol 15% steril yang menutupi seluruh permukaan biakan, penyimpanan pada suhu -80°C atau penyimpanan dengan cara liofilisasi (kering beku).

Penggunaan berbagai teknik molekuler dalam mikrobiologi dalam mengidentifikasi mikroba pada tahun terakhir ini telah menyebabkan revolusi dalam taksonomi mikroba. Berbeda dengan karakterisasi morfologi, identifikasi molekuler merupakan metode yang tidak bergantung pada media pertumbuhan. Identifikasi molekuler yang saat ini berkembang antara lain dengan sekuensing rDNA ITS (*internal transcribed*

spacer), *denaturing gradient gel electrophoresis* (DGGE), dan *terminal restriction fragment length polymorphism* (TRFLP).

DNA ribosom (rDNA) adalah daerah penyandi genom untuk komponen RNA ribosom (rRNA). Gen ini banyak digunakan dalam filogenetika, klasifikasi, dan identifikasi untuk cendawan karena sifat keberadaannya yang universal, struktur sekuennya yang konservatif dan terdapat dalam jumlah banyak. Sekuens daerah *internal transcribed spacer* (ITS) banyak digunakan dalam menganalisis karakter molekuler cendawan endofit. ITS terdiri atas daerah ITS1 dan ITS2. Daerah ITS1 terletak diantara gen 18s rRNA dan 5.8s rRNA, sedangkan daerah ITS2 terletak diantara gen 5.8s rRNA dan 28s rRNA. Kedua daerah ITS merupakan DNA non-coding yang terletak pada nukleus (White *et al.* 1990). Gen 5.8s merupakan gen yang terkonservasi (Hillis dan Dixon 1991), sedangkan daerah ITS (ITS1 dan ITS2) merupakan daerah yang memiliki keragaman sekuens diantara spesies sehingga dapat digunakan untuk identifikasi hingga tingkat spesies. Ukuran daerah ITS1 sangat beragam sekitar 180 pb dan ITS2 sekitar 170 pb, sedangkan ukuran subunit 5.8s sekitar 160 pb (Nilsson *et al.* 2002). Untuk mengamplifikasi ruas ITS1-28S rDNA dapat menggunakan berbagai primer, yaitu NS7, ITS5, ITS3, dan NL1 sebagai primer *forward* dan NS6, NS8, ITS2, ITS4, dan NL4 sebagai primer *reverse* dengan ukuran hasil amplifikasi sekitar 550 pasang basa.

Selama analisis sekuensing ITS, gen 5.8S merupakan gen yang terkonservasi dan ukuran gen 5.8s relatif identik untuk semua spesies cendawan sehingga baik untuk digunakan sebagai analisis filogenetik pada tingkat taksonomi yang lebih tinggi sedangkan daerah ITS (ITS1 dan ITS2) merupakan daerah dengan keragaman yang tinggi sehingga digunakan untuk menganalisis filogenetik pada tingkat yang lebih rendah dan ukuran daerah ITS bervariasi bergantung pada spesies cendawan. Chen *et al.* (2008) menambahkan bahwa analisis sekuens daerah ITS efektif terutama dalam mengidentifikasi cendawan yang tidak ber-*sporulasi* dan juga untuk mengurangi pengaruh subjektivitas dalam pengamatan morfologi. Lin *et al.* (2007) menggunakan metode tersebut dan

dapat mengidentifikasi sebanyak 48.9% cendawan endofit yang tidak bersporulasi (miselia sterilia) yang diperoleh dari tanaman *Camptotheca acuminata*. Beberapa studi terbaru menunjukkan bahwa daerah ITS rDNA berhasil digunakan dalam identifikasi cendawan endofit.

Identifikasi cendawan endofit menggunakan teknik PCR dan perunutan DNA memiliki kepekaan yang tinggi, cepat, dan akurat. Identitas cendawan endofit dapat diketahui hingga tingkat spesies berdasarkan pada analisis BLASTN hasil perunutan DNA. Seiring dengan perkembangan biologi molekuler, metode ini menjadi pilihan untuk mengidentifikasi, terutama bila identifikasi secara morfometri sulit untuk dilakukan.

Analisis urutan DNA penyandi ribosom, terutama daerah ITS telah digunakan untuk identifikasi cendawan endofit. Ho *et al.* (2012) berhasil mengidentifikasi beberapa genus seperti *Colletotrichum*, *Guignardia*, *Hypoxylon*, *Nigrospora*, *Phomopsis* dan *Xylaria* yang berasal dari tanaman inang tanaman Rutaceae dan Lauraceae menggunakan bantuan primer ITS1 dan ITS4. Genus cendawan endofit *Acremonium furcatum*, *Chaetomium globosum*, *Cylindrocarpon pauciseptatum*, *Paecilomyces marquandii*, dan *Trichoderma citrinoviride* berhasil diisolasi dari tanaman *Actinidia macrosperma*, yang merupakan tanaman obat asal Tiongkok dan berhasil diidentifikasi secara molekuler menggunakan bantuan primer ITS4 dan ITS5 (Lu *et al.* 2012). Di Indonesia, penggunaan daerah ITS untuk identifikasi cendawan secara molekuler juga telah dilaporkan. Ginting *et al.* (2013) melaporkan bahwa cendawan endofit *Acremonium*, *Beltraniella*, *Cylindrocarpon*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, dan *Glomerella* berhasil diisolasi dari tanaman jahe merah dengan bantuan primer ITS1 dan ITS4.

Prinsip penggunaan DGGE dalam mengidentifikasi cendawan endofit yaitu melalui pemisahan fragmen DNA yang mempunyai panjang yang sama tetapi sekuen pasangan basa berbeda. Bahkan walaupun perbedaannya hanya satu pasang basa nukleotida akan muncul sebagai pita pada posisi yang berbeda di dalam gel poliakrilamid (Muyzer & Smalla 1998). Gel Poliakrilamid adalah gel yang secara kimia terbentuk dari polimerisasi akrilamid yang berikatan secara *cross link*

dengan N-N'-metilbisakrilamid. Reaksinya adalah polimerisasi radikal bebas dengan bantuan amonium persulfat (APS) yang menjadi inisiator dan N,N,N',N'-tetrametilenediamin (TEMED) sebagai katalis. Gel ini dapat memisahkan DNA dengan resolusi tinggi dan hasil yang murni sehingga sangat baik digunakan untuk analisis molekuler.

DNA yang diisolasi merupakan campuran spesies cendawan endofit yang berbeda yang diamplifikasi dengan menggunakan primer universal yang disisipi susunan GC berulang (*GC-clamp*) sepanjang 40 basa. Susunan ini berfungsi sebagai penjepit rantai ganda DNA sehingga tidak terpisah menjadi rantai tunggal ada saat dielektroforesis pada gel yang mengandung zat pendenaturasi.

Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) adalah metode sidik jari untuk menganalisis komunitas mikroba dalam hal ini cendawan endofit. Pada teknik ini, gen target (biasanya gen ITS) di-amplifikasi dengan PCR menggunakan pasangan primer yang diberi label dengan pewarna fluoresens pada bagian terminal salah satu atau kedua primer. Produk PCR kemudian dipotong dengan satu (atau lebih) enzim restriksi yang memotong DNA pada urutan tertentu. Enzim restriksi yang digunakan akan mengenali situs pemotongan spesifik pada 4 pasangan basa gen yang telah diamplifikasi. Hasilnya adalah fragmen DNA dengan berbagai ukuran atau disebut juga terminal restriction fragment (TRF). Hasil pemotongan kemudian dipisahkan dengan alat sekuensing DNA untuk mendeteksi fragmen yang berlabel fluoresens.

Data T-RFLP disajikan dalam bentuk elektroferogram yang menunjukkan ukuran fragmen terminal (TRF) dari DNA yang berlabel. Tinggi puncak menunjukkan intensitas fluoresens TRF. Keragaman komunitas mikroba kemudian dianalisis berdasarkan ukuran, jumlah dan ketinggian TRF. Setiap TRF diasumsikan sebagai OTU (*operational taxonomic unit*) tunggal atau ribotipe (Rastogi & Sani 2011). Data T-RFLP dapat dianalisis menggunakan database dari sekuens DNA yang telah diketahui untuk membuat profil komunitas mikroba. Shyu *et al.* (2007) telah mengembangkan database berbasis web yang disebut MiCA (*Microbial Analysis Community*). MiCA merupakan program perangkat lunak

yang memungkinkan untuk membandingkan fragmen observasi hasil keluaran mesin sekuensing dengan fragmen prediksi hasil pemotongan DNA secara virtual. Dari fragmen prediksi tersebut kemudian dapat diketahui identitas bakteri dari database. Dengan program MiCA, juga dapat dilakukan simulasi amplifikasi DNA dan digesti hasil amplifikasi secara virtual.

Keunggulan T-RFLP ialah sensitif, mudah, murah dan cepat untuk menentukan profil mikrobiota pada lingkungan fermentasi (Bokulich & Mills 2012). Metode T-RFLP dapat mengurangi beban kerja untuk mengidentifikasi koloni pada konsorsium mikroba. Kekurangan metode ini adalah akurasinya yang kurang dalam mendeteksi komunitas mikroba yang sangat beragam (Li *et al.* 2007) dan adanya T-RF yang sama yang dapat dihasilkan oleh populasi dengan kekerabatan yang berbeda (Marsh, 1999). Selain penggunaan T-RFLP, diperlukan penambahan teknik lain seperti *pyrosequencing* untuk identifikasi lebih lanjut sehingga diperoleh gambaran komunitas mikroba yang lebih rinci (Juste *et al.* 2008).

B. Teknik Mempelajari Cendawan Endofit Akar dalam Akar Tanaman

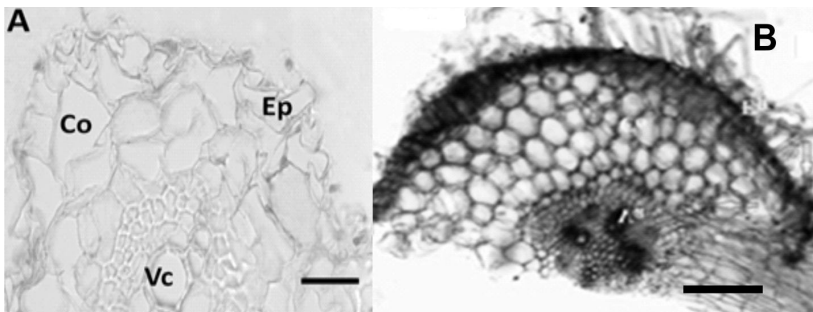
Pertumbuhan cendawan endofit pada akar tanaman inang dapat dipelajari dengan menggunakan metode pewarnaan cendawan pada akar. Metode pewarnaan akar merupakan metode yang memanfaatkan zat pewarna (*staining*) untuk mewarnai jaringan cendawan sehingga struktur cendawan pada akar tanaman dapat dikenali. Terdapat dua macam metode pewarnaan yaitu *non vital staining* dan *vital staining*.

Pada metode pewarnaan *non vital staining*, pewarna yang digunakan diantaranya ialah biru tripan (Koske & Gemma, 1989) dan *chloraol black E* (Brundrett *et al.* 1984) yang akan bereaksi dengan dinding sel cendawan baik yang hidup maupun yang mati, sehingga tidak dapat membedakan jaringan cendawan yang hidup dan yang mati. Selain itu metode ini tidak dapat digunakan untuk mengenali cendawan yang bersimbiosis dalam sistem yang hidup. Metode *vital staining* dapat digunakan untuk mewarnai struktur cendawan yang hidup. Pewarna yang

digunakan dapat berupa substrat bagi enzim hidrolisis (*fluorescein diacetate*) atau akseptor elektron yang akan berubah warna pada saat terjadinya reduksi (garam tetrazolium) atau substrat bagi reaksi lainnya (alkalin fosfatase). Efektivitas pewarna tersebut bergantung pada penetrasinya ke dalam sel dan dipengaruhi oleh suberinasi dinding sel tanaman atau ketebalan dinding sel tanaman tersebut. Pada metode *vital staining*, kuantifikasi cendawan pada sistem simbiosis hidup juga tidak bisa dilakukan sama halnya dengan metode *non vital staining*. Hal ini disebabkan pada metode tersebut, perlu adanya preparasi yang akan merusak sistem simbiosis tersebut.

Proses kolonisasi dan struktur infeksi cendawan endofit akar pada akar tanaman uji secara invitro diamati dengan menggunakan metode metode pewarnaan biru tripan (Kormanik & McGraw, 1982). Akar tanaman inang dipotong sebesar 1 cm kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir. Akar kemudian direndam dalam larutan KOH 10% (v/v) untuk menghilangkan isi sel akar. Akar dicuci dengan menggunakan akuades kemudian direndam dalam larutan HCl 1% (v/v). Akar diwarnai dengan pewarna biru tripan dan disimpan dalam larutan gliserol asam. Kolonisasi cendawan diamati dan dibawah mikroskop.

Analisis kolonisasi cendawan endofit pada tanaman kedelai menunjukkan bahwa cendawan endofit menginfeksi akar pada hari ke 3 setelah inokulasi.



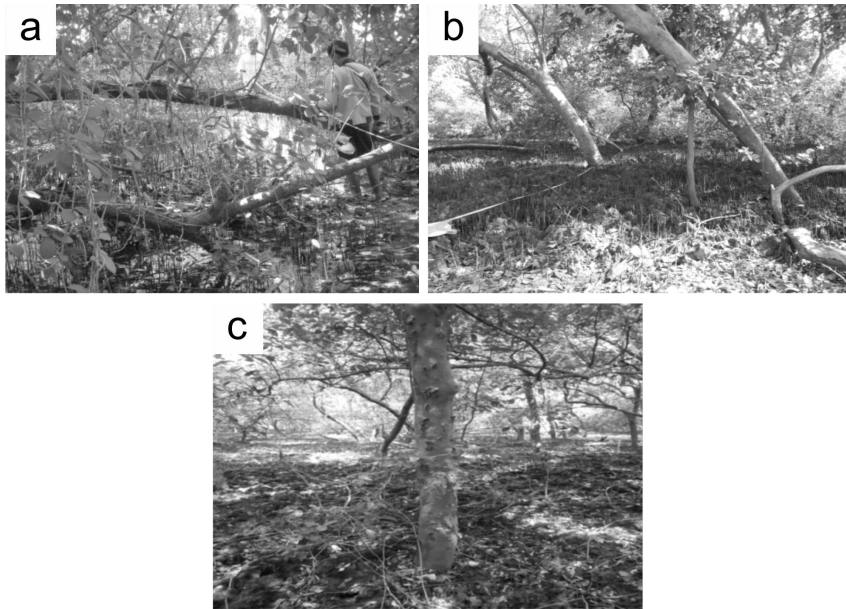
Gambar 3. Anatomi melintang akar tanaman kedelai. A. tidak diinokulasi Cendawan endofit akar; B. diinokulasi cendawan endofit akar.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa proses infeksi awal telah terbentuk pada akar tanaman kedelai yang diinokulasi dengan isolat cendawan endofit (Gambar 3B). Proses kolonisasi dimulai dengan masuknya hifa cendawan endofit akar menembus dinding sel epidermis akar dan mengkolonisasi secara intraseluler maupun ekstra seluler. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa proses infeksi awal telah terbentuk pada akar tanaman kedelai yang diinokulasi dengan isolat cendawan endofit (Gambar 3B). Proses kolonisasi dimulai dengan masuknya hifa cendawan endofit akar menembus dinding sel epidermis akar dan mengkolonisasi secara intraseluler maupun ekstra seluler, sedangkan pada akar tanaman kontrol yaitu tanaman tanpa inokulasi cendawan endofit tidak tampak adanya struktur infeksi (Gambar 3A). Pada permukaan akar tampak jalinan miselium cendawan endofit akar menyelubungi akar menyerupai mantel pada akar tanaman berektomikoriza.

BAB 5

Komposisi Cendawan Endofit pada Mangrove di Cagar Alam Pulau Dua Serang Banten

Komposisi dan keragaman cendawan endofit pada mangrove di Cagar Alam Pulau Dua diketahui berdasarkan hasil kegiatan eksplorasi, isolasi dan karakterisasi. Pembagian stasiun di lokasi berdasarkan kondisi fisik yaitu vegetasi mangrove dan aksesibilitas. Stasiun I didominasi oleh api-api (*Avicennia* sp.) dan waru laut (*Hibiscus tiliaceus* L.) dengan tingkat kerapatan vegetasi mangrove sedang, sehingga intensitas cahaya matahari yang masuk juga sedang. Selain itu, stasiun ini digenangi oleh air (Gambar 4.1.a). Tekstur tanahnya berpasir yang berwarna hitam dan terdapat karang-karang kecil. Vegetasi didominasi pada stasiun II yaitu api-api (*Avicennia* sp.) dan bakau (*Rhizophora* sp.). Stasiun II mendapat pencahayaan yang cukup banyak karena tingkat kerapatan vegetasi mangrove pada stasiun ini tidak terlalu rapat, selain itu sebagian daerah digenangi air (Gambar 4.1.b). Tekstur tanahnya sedikit liat, berpasir dan berwarna hitam. Stasiun III didominasi oleh api-api (*Avicennia* sp.) yang tidak terlalu rapat, sehingga intensitas cahaya matahari yang masuk cukup banyak. Kondisi vegetasi di stasiun III sedikit tergenangi air (Gambar 4.1.c). Tekstur tanah di stasiun ini liat dan berwarna cokelat.



Gambar 4.1. Stasiun pengambilan sampel. a. Stasiun I. b. Stasiun II. dan c. Stasiun III

Sampel cendawan endofit yang ditumbuhkan pada media PDA selanjutnya dimurnikan dan diidentifikasi secara morfologi, baik makroskopis maupun mikroskopis secara sederhana. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan 38 isolat cendawan endofit dari akar tanaman *Avicennia* sp. dari tiga stasiun yang berbeda asal CAPD Serang Banten. Dari hasil penelitian didapatkan delapan genus cendawan endofit yang terdapat pada asal CAPD Serang Banten, yaitu *Acremonium*, *Basipetospora*, *Humicola*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Aureobasidium* dan *Paecilomyces*

Dari hasil penelitian menunjukkan pada stasiun I didapatkan 3 genus yaitu, *Basipetospora*, *Humicola*, dan *Aspergillus*. Pada stasiun II didapatkan 6 genus yaitu, *Acremonium*, *Humicola*, *Verticillium*, *Rhizoctonia*, *Aureobasidium* dan *Paecilomyces*. Pada stasiun III didapatkan 2 genus yaitu, *Acremonium* dan *Humicola*.

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi keragaman genus cendawan endofit akar pada tanaman mangrove, di antaranya keter-

sediaan substrat untuk kolonisasi cendawan sangat penting dalam mengatur keragaman cendawan di ekosistem bakau (Jones & Alias, 1996). Hyde dan Jones (1988) juga menyatakan bahwa wilayah laut, genangan pasang surut, sifat serasah lantai hutan, jenis kayu (lembut, keras atau herba), salinitas dan pH juga mempengaruhi terjadinya cendawan di ekosistem mangrove. Berdasarkan hasil pengamatan, *Avicennia* sp. merupakan jenis kayu keras. Selanjutnya, kondisi lokasi stasiun saat pengambilan sampel sedang surut, serasah lantai hutan basah, salinitas tanah di CAPD rata-rata 6,25 g/L, pH air yang menggenangi lokasi penelitian sebesar 7,42 dan pH tanahnya sebesar 6,72 (Tabel 4.2.).

Tabel 4.1. Hasil pengukuran parameter lingkungan di setiap stasiun

Parameter	Sampel	Stasiun		
		I	II	III
Salinitas (g/L)	Air	1	1	1
	Tanah	6,80	7,55	4,39
pH	Air	7,24	7,27	7,75
	Tanah	7,3	5,28	7,58

Panjang musim hujan dan tingkat gangguan dari manusia, seperti penebangan hutan dan polusi juga dapat mempengaruhi komunitas cendawan, keragaman dan fungsi ekosistem mangrove (Maria dan Sridhar, 2003). Selain itu, daun tumbuhan mangrove yang gugur dan jatuh ke tanah menyumbang nutrient ke lumpur yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme di lingkungan tersebut. Hal itu berkaitan dengan lingkungan mangrove pada waktu pasang digenangi air laut, maka mikroorganisme yang hidup di daerah tersebut harus memiliki ketahanan terhadap lingkungan berkadar garam tinggi. Aliran sungai-sungai yang bermuara ke daerah tersebut juga membawa bahan organik dari daratan ke lautan hingga mencapai lingkungan mangrove

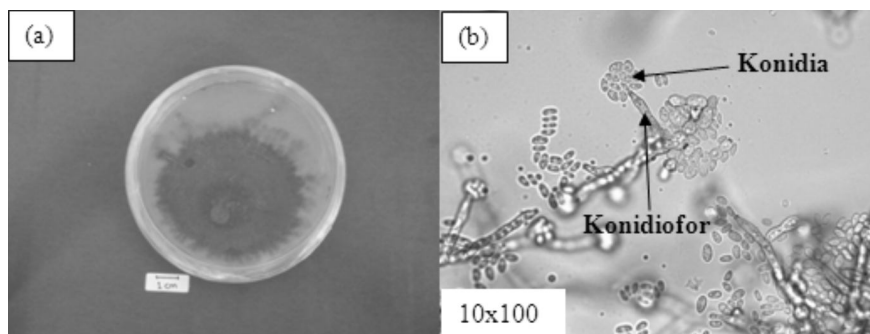
Jumlah cendawan endofit yang diisolasi didominasi pada organ akar. Hal ini sesuai dengan penelitian Paul *et al.* (2007) yang melaporkan bahwa akar adalah bagian organ tanaman yang paling tinggi frekuensi isolatnya dibandingkan dengan daun dan batang. Jaringan akar tanaman

secara morfologi, fisik, dan kimianya menyediakan habitat bagi beragam komunitas mikroorganisme, termasuk cendawan endofit. Selain itu, akar banyak dikolonisasi oleh beragam cendawan endofit, terutama kelompok endofit bersepta gelap (Schadt *et al.* 2001).

Berikut ini merupakan deskripsi Genus Cendawan Endofit pada Mangrove di Cagar Alam Pulau Dua Serang Banten

a. *Acremonium*

Cendawan endofit *Acremonium* memiliki koloni berwarna coklat kehitaman, diameter koloni \pm 4,5 cm, permukaan koloni bergranul, tekstur seperti beludru, warna balik koloni hitam Watanabe (2002),. Berdasarkan Barnett dan Hunter (1972) dan Watanabe (2002), cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat yang berwarna hijau kekuningan, berinti satu sel, konidia berbentuk silindris yang berwarna kuning kehijauan, konidiofor tegak berwarna kehijauan. *Acremonium* merupakan genus cendawan dari ordo Hypocreales, famili Hypocreaceae.



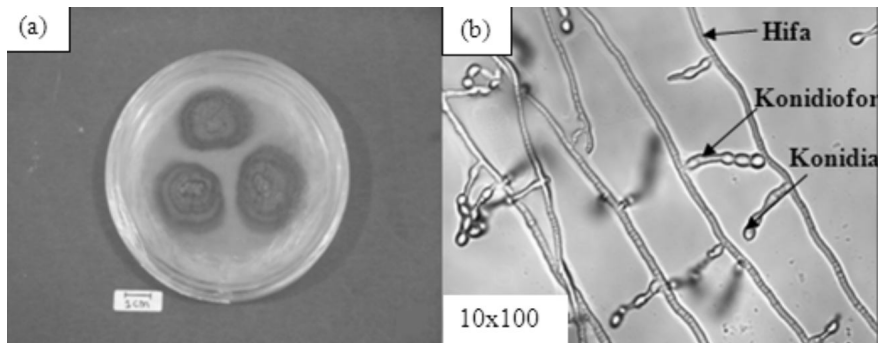
Gambar 4.2. Morfologi *Acremonium* sp.
a. koloni. b. struktur mikroskopis.

Salah satu contoh spesies dari genus ini yaitu *Acremonium coenophialum* memproduksi *indole-3-acetic acid* (IAA) dan *indole-3-asetonitril* atau yang lebih dikenal dengan auksin (Clay dalam Petrini *et al.* 1992). Berdasarkan hasil penelitian dari Amin *et al.* (2011) juga menunjukkan bahwa cendawan endofit dari genus *Acremonium* sp. yang diisolasi dari perakaran jagung mampu menghambat pertumbuhan patogen *Helminthosporium*

maydis sampai dengan 90% pada skala invitro. Pengendalian hayati dengan biofungisida berbahan aktif cendawan endofit yang terseleksi ini diharapkan dapat mengurangi ketergantungan para petani pada penggunaan fungisida sintetis yang berbahaya. Selain itu, untuk mengurangi dampak negatif dari pemakaian fungisida sintetis terhadap lingkungan dan produk pertanian.

b. *Humicola*

Cendawan endofit *Humicola* memiliki koloni berwarna abu-abu kehitaman, diameter koloni $\pm 2,5$ cm, permukaan koloni cembung, tekstur permukaan koloni seperti beludru, warna balik koloni abu-abu kehitaman. Berdasarkan Barnett dan Hunter (1972) dan Watanabe (2002), cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat yang berwarna hijau kekuningan, konidia berbentuk semi bulat yang berwarna cokelat keemasan, konidiofor sederhana berwarna kehijauan. *Humicola* merupakan genus cendawan dari ordo Sordariales, famili Chaetomiaceae.

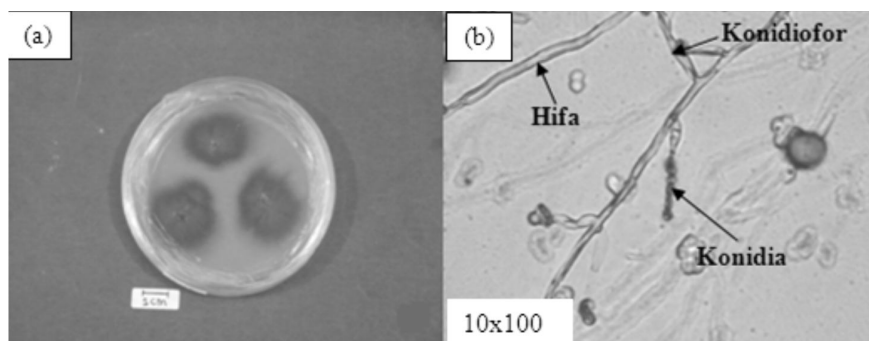


Gambar 4.3. Morfologi *Humicola* sp.
a. koloni. b. struktur mikroskopis.

Genus *Humicola* merupakan kelompok cendawan termofilik dan kosmpolitan. Genus ini mampu menghasilkan enzim ekstraseluler. Berdasarkan hasil penelitian Campos dan Felix (1995), *Humicola grisea* menghasilkan enzim ekstraseluler glukoamilase termostabil. Enzim yang terkandung 5% karbohidrat, menunjukkan aktivitas maksimal pada pH 6,0 dan 60°C, dan stabil pada 55°C dan pH 6,0 selama 2 jam.

c. *Basipetospora*

Cendawan endofit *Basipetospora* memiliki koloni berwarna hitam kehijauan, diameter koloni $\pm 2,5$ cm, permukaan koloni bergranul, tekstur permukaan koloni seperti beludru, warna balik koloni abu-abu kehitaman. Berdasarkan Barnett dan Hunter (1972) dan Watanabe (2002), cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat yang berwarna kehijauan, konidia berbentuk semi bulat yang berwarna coklat kehitaman. *Basipetospora* termasuk genus cendawan dari famili Monascaceae.



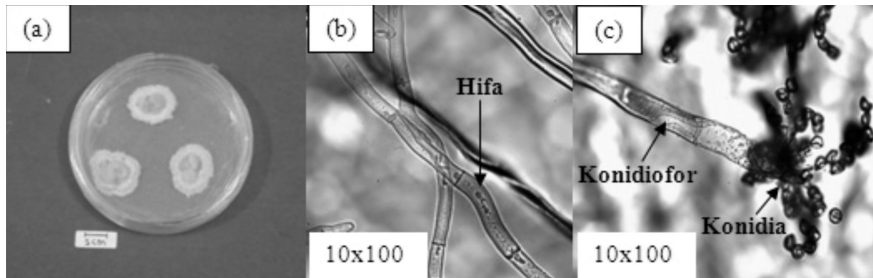
Gambar 4.4. Morfologi *Basipetospora* sp.
a. koloni. b. struktur mikroskopis.

Pada bentuk anamorf disebut *Basipetospora*, sedangkan bentuk teleomorfnya *Monascus*. *Monascus* telah ditemukan untuk menjadi sumber penting senyawa aroma, seperti asam lemak volatil atau ester, lakton, aldehida, alkohol dan keton, yang berperan penting dalam produksi makanan. Mereka memiliki aktivitas biologi yang tinggi, toksisitas rendah dan digunakan dalam bidang pengobatan klasik, makanan, parfum, industri kosmetik dan farmasi dan lain-lain (Chayawat *et al.* 2009).

d. *Aspergillus*

Cendawan endofit *Aspergillus* memiliki diameter koloni $\pm 1,8$ cm. Koloninya berwarna putih keabu-abuan, permukaan koloni menggunung, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni hijau kecokelatan. Berdasarkan Watanabe (2002), cendawan endofit ini hifanya

bersekat berwarna kehijauan, konidia berbentuk bulat berwarna hijau kekuningan dan konidiofor lurus. *Aspergillus* termasuk genus cendawan dari ordo Eurotiales, famili Trichomaceae.



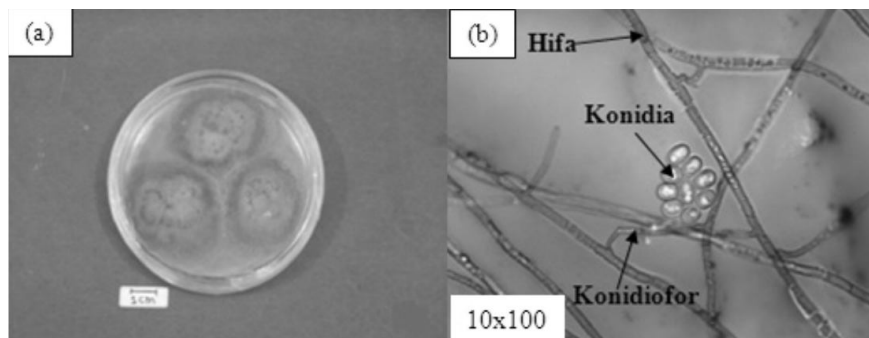
Gambar 4.5. Morfologi *Aspergillus* sp.
a. koloni. b dan c. struktur mikroskopis.

Aspergillus pertama kali diidentifikasi pada tahun 1729, katalog *Aspergillus* pertama oleh seorang ahli biologi Italia yaitu P. Micheli. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tirtana *et al.* (2013), *Aspergillus* sp. berpotensi antagonis pengendali hayati dan mampu menekan pertumbuhan koloni *Phytophthora infestans*. Maria *et al.* (2005) juga menguji potensi *Aspergillus* sp. yang diisolasinya dari tanaman mangrove dan hasilnya menunjukkan aktivitas antimikroba yang tinggi terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Selain itu, genus *Aspergillus* memiliki peran penting dalam bidang industri pangan, seperti kelompok *Aspergillus flavus-oryzae* yang berperan dalam proses fermentasi makanan tradisional dan untuk memproduksi enzim. *Aspergillus oryzae* digunakan dalam fermentasi makanan pembuatan tauco dan *Aspergillus wentii* digunakan dalam proses pembuatan kecap. Genus ini juga ada yang menyebabkan kerusakan pada makanan, seperti *Aspergillus repens* yang mampu tumbuh dengan baik pada substrat dengan konsentrasi gula dan garam yang tinggi (Waluyo, 2007).

e. *Verticillium*

Cendawan endofit *Verticillium* memiliki koloni berwarna abu-abu kehitaman, diameter koloni $\pm 2,9$ cm, permukaan koloni bergranul,

tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni putih kehitaman. Berdasarkan Watanabe (2002), cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat yang berwarna kuning kehijauan, konidia berbentuk bulat berwarna kuning kehijauan, konidiofor tegak berwarna kuning kehijauan. *Verticillium* termasuk genus cendawan dari ordo Sordariales, famili Plectosphaerellaceae.

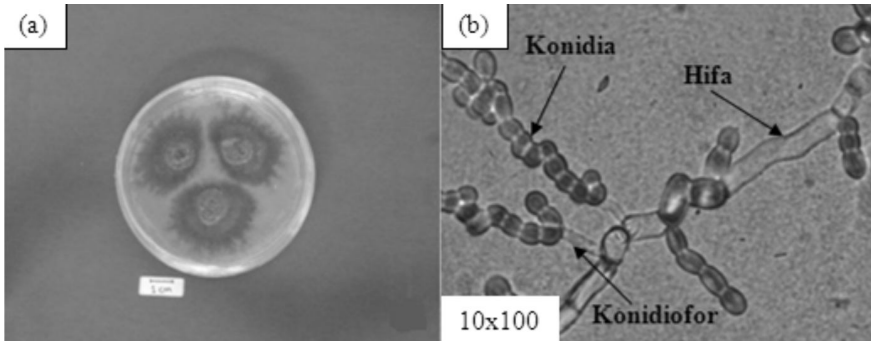


Gambar 4.6. *Verticillium* a. koloni. b. struktur mikroskopis.

Genus ini ada yang bersifat sebagai cendawan antagonis. Salah satu spesies yang telah di uji sifat antagonistiknya adalah *Verticillium lecanii*. Berdasarkan hasil penelitian Ginting (2008), spesies *V. lecanii* cenderung mampu menurunkan keparahan penyakit karat daun kopi yang disebabkan oleh cendawan *Hemileia vastatrix*. Oleh karena itu potensi *V. lecanii* dapat dijadikan sebagai agensia hayati untuk mengendalikan penyakit tanaman.

f. *Rhizoctonia*

Cendawan endofit *Rhizoctonia* memiliki 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. Berdasarkan Barnett dan Hunter (1972) dan Watanabe (2002), cendawan ini memiliki hifa bersekat yang berwarna coklat kehijauan, konidia berbentuk subglobose berwarna hijau kehitaman, konidiofor tegak berwarna hijau kehitaman. *Rhizoctonia* merupakan genus cendawan dari ordo Cantharellales, famili Ceratobasidiaceae.



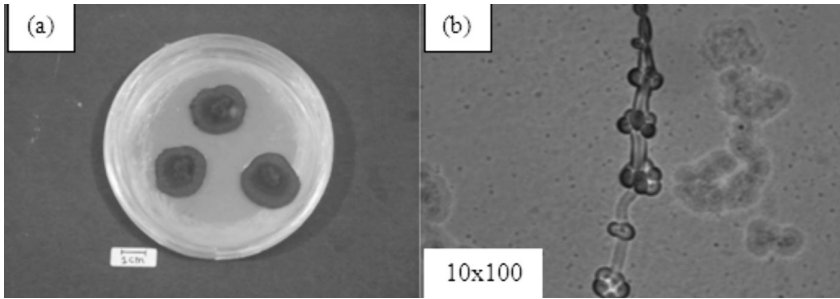
Gambar 4.7. Morfologi *Rhizoctonia*
a. koloni. b. struktur mikroskopis.

Konsep genus *Rhizoctonia* pertama dibentuk oleh De Candolle pada tahun 1815, karakter dasar dari genus ini adalah produksi sclerotia dengan tekstur seragam dan asosiasi miselium dengan akar tanaman hidup. *Rhizoctonia* biasanya dilaporkan menjadi komponen cendawan mikoriza pada tanaman anggrek. Asosiasi mikoriza ini disebut sebagai endomikoriza, karena hifa dari cendawan ini ditemukan dalam sel-sel di protocorms anggrek dan akar, tidak sekitar jaringan tanaman ini intraseluler. Genus *Rhizoctonia* yang diketahui ada hubungan simbiosis dengan anggota Orchidaceae adalah *Ceratobasidium*, *Thanatephorus* (Ceratobasidiales), *Sebacina* (Exidiales) dan *Tulasnella* (Tulasnellales) (Andersen & Rasmussen, 1996). Namun, ada juga spesies dari genus ini yang bersifat patogen pada tanaman, seperti *Rhizoctonia solani* yang menyebabkan penyakit busuk pangkal batang padi (Budi *et al.* 2011) dan penyakit hawar pelepah daun jagung (Mulyati, 2009).

g. *Aureobasidium*

Cendawan endofit *Aureobasidium* memiliki koloni abu-abu kehitaman, diameter koloni $\pm 1,5$ cm, permukaan koloninya bergranul, tekstur koloninya seperti beludru, warna balik koloni hitam. Berdasarkan Barnett dan Hunter (1972), 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. *Aureobasidium* termasuk genus cendawan dari ordo Dothidiales, famili Dothidiaceae.

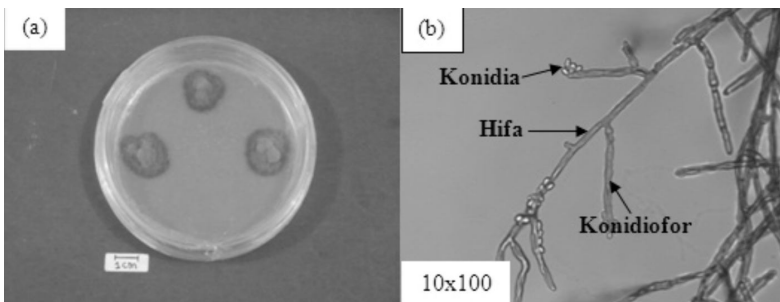


Gambar 4.8. Morfologi *Aureobasidium*
a. koloni. b. Struktur mikroskopis.

Genus *Aureobasidium* memiliki potensi yang dapat dikembangkan dalam pertumbuhan tanaman. Contohnya pada spesies *Aureobasidium pullulans* (De Bary) telah mempengaruhi perkecambah biji baik positif atau negatif Petrini *et al.* 1992). Hal tersebut berkaitan dengan faktor auksin. Secara *in vitro* *Aureobasidium pullulans* telah terbukti memiliki indole-3-acetic acid (IAA) dan indole-3-asetonitril Dengan itu, *Aureobasidium pullulans* dapat dijadikan sebagai biofertilizer bagi tanaman.

h. *Paecilomyces*

Cendawan endofit *Paecilomyces* memiliki koloni berwarna coklat kehitaman, diameter koloni $\pm 1,5$ cm, permukaan koloninya bergranul, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni hijau kehitaman.



Gambar 4.9. Morfologi *Paecilomyces*.
a. koloni. b. Struktur mikroskopis.

Berdasarkan Watanabe (2002), cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat yang berwarna hijau kekuningan, konidia berbentuk silindris berwarna coklat keemasan, konidiofor bervariasi berwarna kekuningan. *Paecilomyces* merupakan genus cendawan dari ordo Eurotiales, famili Trichomaceae.

Beberapa spesies *Paecilomyces* bersifat termofilik, seperti *Paecilomyces fulvus* suhu optimumnya adalah 45°C dan *Paecilomyces crustaceus* sampai pada suhu 55°C (Liang *et al.* 2005). Studi terbaru menunjukkan bahwa beberapa spesies *Paecilomyces* dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang sangat berguna (Liang *et al.* 2005). *Paecilomyces arovirens* yang diisolasi dari kutu persik yang ditemukan di sebuah rumah kaca, dapat menghasilkan metabolit yang menunjukkan aktivitas insektisida terhadap banyak hama serangga termasuk *Aphis gossypii*, *Tetranychus viennensis* dan larva *Pietis rapae*. Uji potensi pada efek fisiologis metabolit dari cendawan ini pada *Triticum aestivum* dan *Cucumis sativus* dan *naphthye asam asetat* (NAA), menunjukkan bahwa secara fisiologis metabolit aktif dari cendawan ini mirip dengan NAA. Metabolit cendawan ini terdiri dari tipe baru atau berbagai jenis zat pengatur tumbuh. Cendawan ini dapat dikembangkan sebagai insektisida baru yang tidak hanya mampu mengontrol hama serangga, tetapi juga dapat merangsang pertumbuhan tanaman.

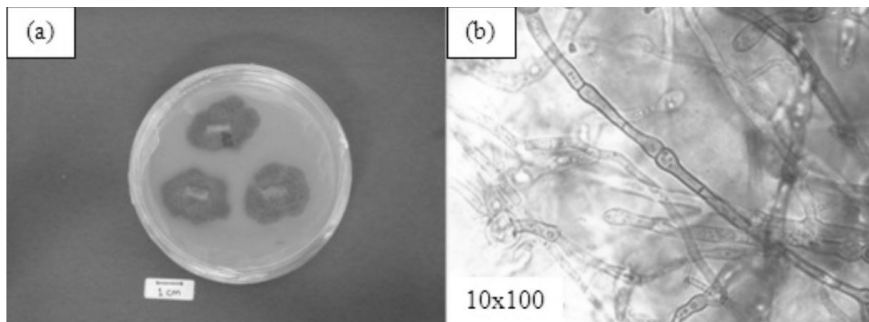
4.2.2 Spesimen Lain

Untuk menentukan suatu genus, dalam metode identifikasi secara sederhana pada penelitian ini melalui pengamatan struktur hifa dan struktur reproduksinya. Dari 8 isolat yang berhasil diamati, tidak semua isolat menunjukkan struktur reproduksinya dengan jelas, sehingga yang bisa diamati hanya struktur hifanya saja. Terdapat beberapa kemungkinan yang menyebabkan tidak munculnya struktur reproduksi pada cendawan, salah satunya adalah faktor pertumbuhan cendawan tersebut. Cendawan yang hanya menunjukkan miselium steril berdasarkan karakter morfologi yang mirip disebut *morphospecies*. Dalam penelitian ini, terdapat dua isolat yang tidak menunjukkan struktur reproduksi, sehingga hanya berdasarkan struktur hifanya saja. Adapun enam isolat

lainnya berhasil diamati struktur reproduksinya, namun kesulitan yang dialami adalah menentukan termasuk genus apa dalam buku identifikasi. Hal tersebut dikarenakan tidak ada yang menyerupai dengan hasil identifikasi yang diperoleh.

a. Isolat PD1

Cendawan endofit PD1 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 coklat bening. Cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat berwarna kekuningan, miselia steril.

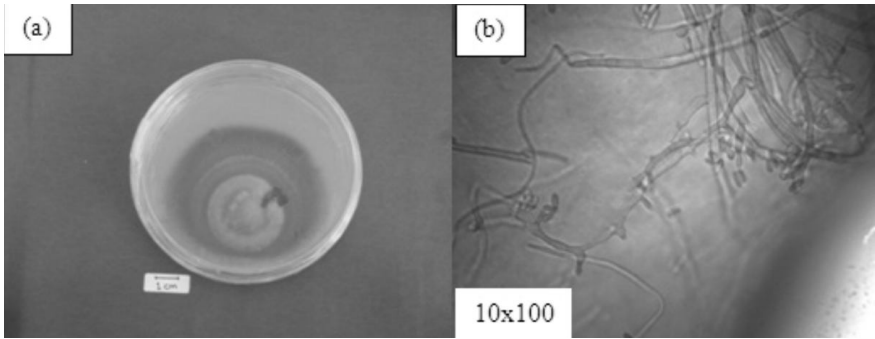


Gambar 4.10. Morfologi Isolat PD1.

a. koloni. b. Struktur mikroskopis.

b. Isolat PD2

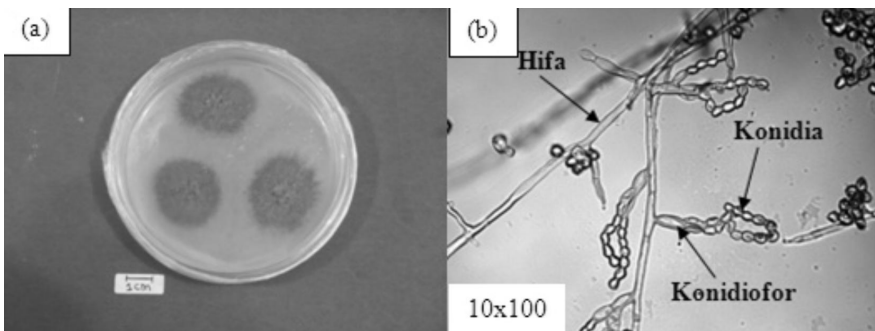
Cendawan endofit PD2 koloninya berwarna coklat kehitaman, diameter koloni $\pm 4,3$ cm, permukaan koloninya bergranul, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni putih kehijauan. Cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat berwarna kehijauan, konidia seperti tabung berwarna hijau kekuningan, konidiofor sederhana berwarna hijau kekuningan transparan.



Gambar 4.11. Morfologi Isolat PD2.
a. koloni. b. Struktur mikroskopis.

c. Isolat PD3

Cendawan endofit PD3 koloninya berwarna coklat keabu-abuan, diameter koloni ± 1 cm, permukaan koloninya cembung, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni kehitaman. Cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat berwarna kuning kecokelatan, konidia berbentuk batang berwarna kuning kecokelatan tapi tidak terlihat jelas, konidiofor sederhana berwarna kuning kecokelatan.

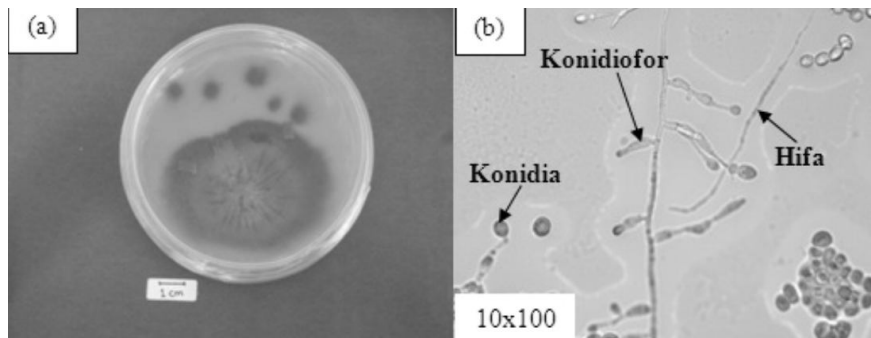


Gambar 4.12. Morfologi Isolat PD3.
a. Morfologi koloni. b. Struktur mikroskopis.

d. Isolat PD4

Cendawan endofit PD4 koloninya berwarna coklat keabu-abuan, diameter koloni ± 1 cm, permukaan koloninya cembung, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni kehitaman. Cendawan endofit ini

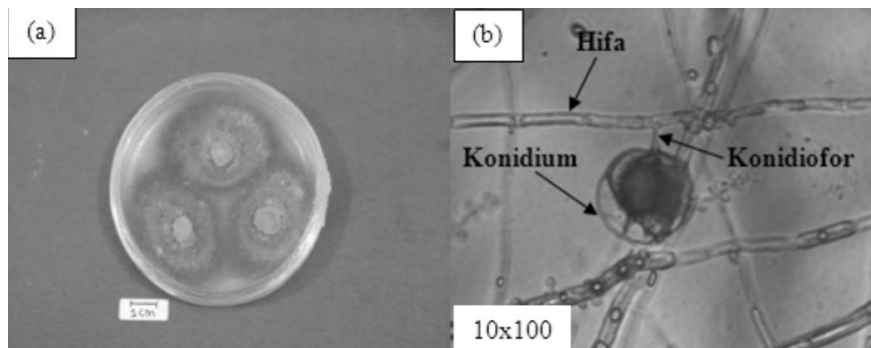
memiliki hifa bersekat berwarna hijau pucat, konidia berbentuk subglobose berwarna hijau pucat, konidiofor sederhana berwarna hijau pucat.



Gambar 4.13. Morfologi Isolat PD4.
a. koloni. b. Struktur mikroskopis.

e. Isolat PD5

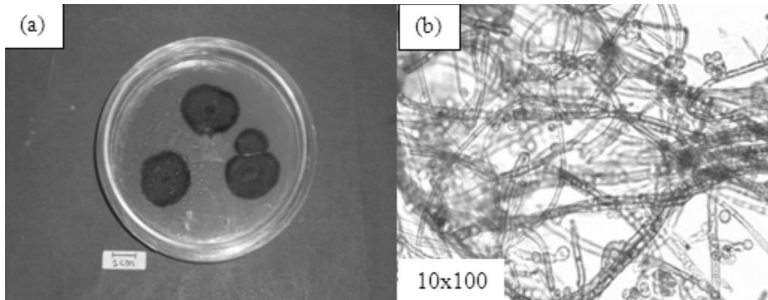
Cendawan endofit PD5 koloninya berwarna keabu-abuan, diameter koloni $\pm 5,3$ cm, permukaan koloninya bergranul, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni putih keabu-abuan, tetes eksudat berwarna kuning bening. Cendawan endofit ini memiliki hifa tidak bersekat berwarna kehijauan, konidia bulat berwarna cokelat kehitaman, konidiofor sederhana berwarna cokelat kehitaman.



Gambar 4.14. Morfologi Isolat PD5.
a. koloni. b. Struktur mikroskopis.

f. Isolat PD6

Cendawan endofit PD6 koloninya berwarna coklat kehitaman, diameter koloni $\pm 2,3$ cm, permukaan koloninya bergranul, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni hitam. Cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat berwarna kecokelatan, konidia bulat berwarna coklat, konidiofor tegak berwarna coklat tapi tidak dapat dibedakan dengan hifa.

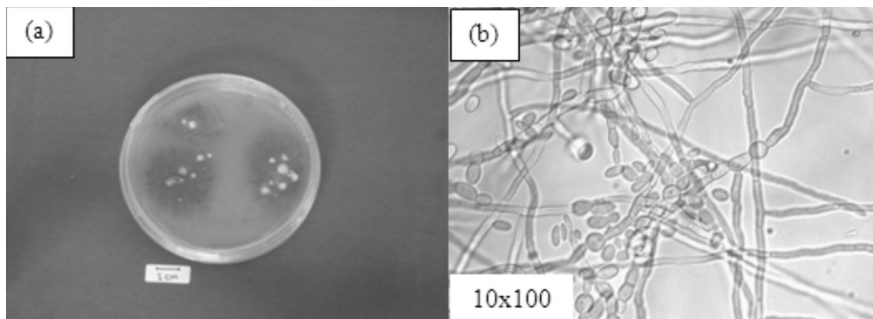


Gambar 4.15. Morfologi isolat PD6.

a. koloni. b. Struktur mikroskopis.

g. Isolat PD7

Cendawan endofit PD7 koloninya berwarna kecokelatan, diameter koloni $\pm 3,3$ cm, permukaan koloninya bergranul, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni coklat kehitaman, tetes eksudat berwarna coklat bening. Cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat berwarna hijau kecokelatan, konidia elips berwarna hijau kecokelatan, konidiofor sederhana berwarna hijau kecokelatan.

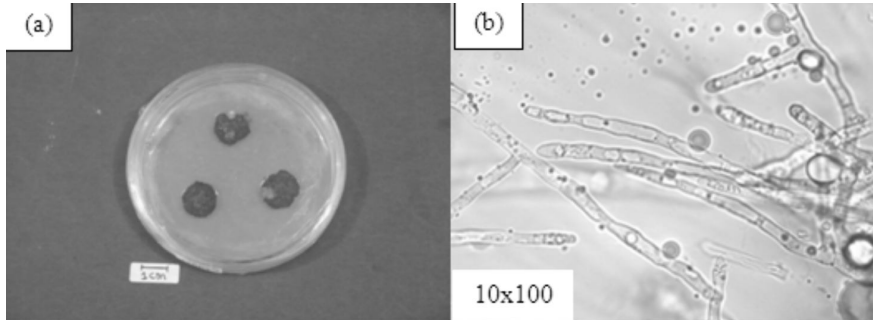


Gambar 4.16. Morfologi isolat PD7.

a. Morfologi koloni. b. Struktur mikroskopis.

h. Isolat PD8

Cendawan endofit PD8 koloninya berwarna hijau kehitaman, diameter koloni ± 2 cm, permukaan koloninya granul, tekstur koloni seperti beludru, warna balik koloni coklat kehitaman. Cendawan endofit ini memiliki hifa bersekat berwarna hijau pucat, miselia steril.



Gambar 4.17. Morfologi Isolat PD8.
a. koloni. b. Struktur mikroskopis.

BAB 6

Bioprospeksi Cendawan Endofit Akar

Bioprospeksi pada dasarnya adalah manfaat keanekaragaman hayati dan pengetahuan tradisional untuk mendapatkan sumber genetik dan senyawa biokimia yang bernilai ekonomi tinggi (Reid *et al.* 1993; Posey, 1997). Di dalam bioprospeksi terdapat serangkaian kegiatan yang bertujuan untuk mencari dan menemukan senyawa bioaktif baru melalui pemanfaatan keanekaragaman hayati. Cakupan bioprospeksi meliputi beberapa bidang, seperti kehutanan, pertanian, peternakan, perikanan dan kelautan, dan bidang lain yang berkaitan dengan organisme. Supriatna (2008) mendefinisikan bioprospeksi sebagai eksplorasi terhadap keanekaragaman hayati untuk mencari sumberdaya genetik dan biokimia untuk kepentingan komersial. Sejalan dengan hal tersebut, Wiratno *et al.* (2004) menyatakan bahwa dalam prakteknya kegiatan bioprospeksi ini dibarengi dengan munculnya isu-isu hak kepemilikan intelektual, pembagian keuntungan yang adil dan merata, serta dampak negatif akibat pemanfaatan produk rekayasa genetik. Kegiatan bioprospeksi penting untuk mendokumentasikan sumberdaya genetik dan sekaligus mengembangkan manfaat ekonominya sebelum sumberdaya ini habis tereksploitasi. Oleh karena itu, keanekaragaman, struktur, dan sumber genetik dan komponen utama habitat perlu dikaji dan dianalisis.

Landasan utama peraturan/kebijakan dalam pengembangan bioprospeksi (bioprospecting) adalah konvensi keanekaragaman hayati (*Convention on Biological Diversity/CBD*) yang mengatur tentang keanekaragaman hayati yang telah diratifikasi oleh Pemerintah Republik Indonesia ke dalam Undang-undang Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 1994 tentang Pengesahan *United Nations Convention on Biological Diversity* (Konvensi Perserikatan Bangsa-bangsa Mengenai Keanekaragaman Hayati) yang disahkan pada tanggal 1 Agustus 1994. Adapun tujuan konvensi tersebut adalah konservasi keanekaragaman hayati; pemanfaatan komponen-komponennya secara berkelanjutan; dan membagi keuntungan yang dihasilkan dari pendayagunaan sumberdaya genetik secara adil dan merata, termasuk melalui akses yang memadai terhadap sumberdaya genetik dan dengan alih teknologi yang tepat guna, dan dengan memperhatikan semua hak atas sumber daya dan teknologi itu, maupun dengan pendanaan yang memadai.

Landasan utama lainnya berkenaan dengan bioprospeksi adalah Nagoya Protocol yang merupakan instrumen pengaturan internasional untuk implementasi tujuan ketiga dari *Convention on Biological Diversity* (CBD) yang juga telah diratifikasi oleh Pemerintah Republik Indonesia ke dalam Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 11 Tahun 2013 tentang Pengesahan Protokol Nagoya tentang Akses pada Sumberdaya Genetik dan Pembagian Keuntungan yang Adil dan Seimbang yang Timbul dari Pemanfaatannya Atas Konvensi Keanekaragaman Hayati yang disahkan pada tanggal 8 Mei 2013. Protokol Nagoya merupakan perjanjian internasional di bidang lingkungan hidup dalam kerangka Konvensi Keanekaragaman Hayati yang mengatur akses terhadap sumber daya genetik dan pembagian keuntungan yang adil dan seimbang antara pemanfaat dan penyedia sumber daya genetik berdasarkan persetujuan atas dasar informasi awal dan kesepakatan bersama serta bertujuan untuk mencegah pencurian keanekaragaman hayati (*biopiracy*).

Bioprospeksi bertujuan mengidentifikasi dan mengoleksi spesies-spesies yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan secara

komersial, terutama dengan memanfaatkan teknik bioteknologi, sehingga dapat memberikan nilai tambah komersial. Potensi suatu jenis dapat dilihat dari kandungan senyawa kimia dan pengujian bahan bioaktif yang terkandung di dalamnya. Kandungan senyawa kimia terutama metabolit sekunder yang berpeluang mengandung bahan bioaktif dapat dilakukan dengan uji kimia dan senyawa bioaktif terutama metabolit sekundernya (Sirait, 2007).

Kegiatan bioprospeksi cendawan endofit merupakan upaya yang sangat penting untuk memperoleh nilai tambah manfaat cendawan endofit akar tersebut. Melalui kegiatan bioprospeksi diharapkan semua komponen yang terlibat dalam kegiatan tersebut dapat merasakan manfaatnya, terutama manfaat yang dapat diterima oleh masyarakat lokal dan manfaat yang dapat diterima secara global.

Cendawan endofit memiliki potensi yang besar dalam pencarian sumber-sumber obat baru karena dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif seperti enzim, dan senyawa organik untuk dikembangkan menjadi obat ataupun sebagai bahan kosmetika. Produksi enzim ekstraseluler yang dilakukan oleh cendawan endofit dalam mekanismenya selalu melibatkan komponen di dalam tanaman inang. Cendawan endofit menggunakan komponen sel seperti pektin dan xilan untuk memproduksi enzim seperti peroksidase, kitinasi, lakase dan glukonase (Li *et al.* 2004).

Pigmen merupakan bentuk senyawa bioaktif lain yang juga dapat diproduksi oleh cendawan endofit. Quercetin glycoside, pigmen berwarna jingga yang dihasilkan oleh *Penicillium* sp. (Liu, 2008). *Penicillium pupurogenum* SX01 yang berasosiasi dengan tanaman *Ginkgo biloba* menghasilkan pigmen berwarna merah. Kedua jenis pigmen ini dapat diaplikasikan sebagai pewarna makanan yang aman dikonsumsi. Cendawan endofit bukan merupakan organisme yang obligat sehingga mudah ditumbuhkan, memiliki siklus hidup yang pendek dan dapat menghasilkan jumlah senyawa bioaktif dalam jumlah besar dengan metode fermentasi.

BAB 7

Produk Metabolit Cendawan Endofit

Metabolit sekunder adalah produk senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan suatu organisme dan memiliki karakteristik tertentu antara spesies yang satu dan lainnya. Senyawa metabolit sekunder ini memiliki fungsi khusus bagi organisme dalam berinteraksi dengan lingkungannya misalnya untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan atau bertindak sebagai molekul sinyal. Metabolit sekunder dapat pula memiliki fungsi lain yaitu untuk mencegah akumulasi metabolit primer selama fase istirahat (*resting phase*) yang dapat membahayakan sel.

Cendawan endofit akan merupakan organisme yang juga dapat menghasilkan produk alami metabolit sekunder. Telah diketahui bahwa biosintesis produk alami ini biasanya berasosiasi dengan diferensiasi atau perkembangan sel. Pada kenyataannya metabolit sekunder dihasilkan oleh organisme yang memiliki filamen dan morfologi kompleks (Calvo *et al.*, 2002). Metabolit sekunder ini umumnya berasosiasi dengan proses sporulasi (Sekiguchi & Gaucher 1977). Metabolit sekunder yang berasosiasi dengan sporulasi dapat dikelompokkan ke dalam tiga kategori, yaitu metabolit yang mengaktifkan sporulasi (misalnya komponen asam linoleat yang dihasilkan oleh *Aspergillus nidulans*) (Calvo *et al.* 2002), pigmen yang diperlukan untuk struktur sporulasi (contoh

melanin untuk pembentukan spora aseksual dan seksual serta tubuh buah) (Alspaugh *et al.* 1997), dan metabolit toksik yang disekresikan oleh pertumbuhan koloni saat sporulasi (misalnya biosintesis produk alami, seperti mikotoksin) (Hicks, 1997).

Metabolit primer dan komponen antara berakumulasi pada cendawan dan diubah menjadi produk berbeda (metabolit sekunder) yang tidak dibuat secara normal selama pertumbuhan aktif dan tidak dibutuhkan untuk proliferasi vegetatif. Beberapa metabolit sekunder merupakan molekul kompleks dan dihasilkan ketika cendawan tidak tumbuh secara aktif, pembentukannya bersamaan dengan diferensiasi dan sporulasi cendawan. Beberapa produk berguna untuk kepentingan ekonomi (antibiotik) tetapi produk lain dapat berbahaya (mikotoksin) bagi manusia dan hewan (Isaac, 1997).

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh cendawan endofit dapat berperan penting dalam industri farmasi. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dapat berupa alkaloid, terpen, steroid, flavonoid, kuinon, fenol dan lain sebagainya yang mempunyai potensi besar sebagai senyawa bioaktif (Tan & Zou, 2001). Senyawa bioaktif ini dapat berpotensi sebagai antimikroba (menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba-mikroba patogen) (Castillo *et al.* 2005); antikanker (Kumala 2005), contohnya senyawa taksol (Li *et al.* 1996); antiserangga (Azevedo *et al.* 2000); zat pengatur tumbuh (Tan dan Zou, 2001); serta penghasil enzim hidrolitik seperti amilase, selulase, xilanase, ligninase (Choi *et al.* 2005), dan kitinase (Zinniel *et al.* 2002). Kajian-kajian mengenai cendawan endofit dilakukan untuk melihat potensi biologis lainnya seperti sebagai senyawa antiimunopresif (Lee *et al.* 1995), anti-HIV, antioksidan (Strobel, 2002), antivirus (Guo *et al.* 1998), antidiabetes (Zhang *et al.* 1999), anti-HSV-1, antituberkular (Agusta, 2009), dan antimalaria (Lu *et al.* 2000).

Dalam dua dekade ini, cendawan endofit merupakan salah satu sumber utama mikrobia penghasil antibiotik baru (Kauffman & 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 & Kaneko, 1996; Hostettmann *et al.*, 1998).

Identifikasi senyawa metabolit sekunder yang diproduksi oleh cendawan endofit dapat dilakukan dengan menggunakan spektroskopi infra merah yang telah digunakan secara luas untuk analisis secara kualitatif dan kuantitatif. Hal ini dikarenakan spektroskopi infra merah mempunyai spektrumnya sangat kompleks yang terdiri dari banyak puncak-puncak serapan. Spektrum infra merah dari senyawa organik mempunyai sifat-sifat fisik yang karakteristik. Setiap senyawa mempunyai spektrum spesifik dan kemungkinan dua senyawa mempunyai spektrum yang sama adalah sangat kecil kecuali senyawa isomer optik. Spektrum infra merah terletak pada daerah dengan panjang gelombang 780 - 1.000.000 nm (0.78 - 1000 mm), atau bilangan gelombang 1200-10 cm^{-1} . Dilihat dari panjang gelombang dan dari segi aplikasinya, spektrum infra merah dibagi dalam tiga daerah yaitu infra merah dekat, pertengahan, dan infra merah jauh. Daerah infra merah yang digunakan untuk keperluan analisis kimia adalah pada daerah sekitar 4000 sampai dengan 670 cm^{-1} atau 2.5 -15 mm.

Cendawan endofit dapat diisolasi dari jaringan tanaman dan ditumbuhkan pada medium tertentu. Cendawan endofit dilaporkan juga dapat menghasilkan senyawa bioaktif dalam media biakan. Cendawan umumnya menghasilkan metabolit sekunder pada saat organisme tersebut berada pada fase kritis yaitu fase stasioner. Cendawan endofit dapat juga menghasilkan senyawa bioaktif yang sejenis dengan yang dihasilkan inangnya, sebagai contoh, cendawan endofit *T. andreanae* menghasilkan senyawa bioaktif yang sejenis dengan inangnya yaitu paclitaxel (Shrestha *et al.* 2001).

Dibandingkan dengan tanaman inangnya, pemanfaatan cendawan endofit untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder mempunyai

beberapa kelebihan antara lain lebih cepat menghasilkan produk dengan mutu seragam, dapat diproduksi dalam skala besar, dan kemungkinan diperoleh komponen bioaktif baru dengan memberikan kondisi yang berbeda (Stierle *et al.* 1995). Hal ini karena cendawan tersebut mempunyai siklus hidup yang lebih pendek dibandingkan dengan tanaman. Pertumbuhan cendawan endofit lebih mudah dimanipulasi terutama memanipulasi media dan kondisi pertumbuhannya. Untuk mendapatkan cendawan endofit potensial perlu diperhatikan sumber cendawan endofit tersebut dan teknik sterilisasi permukaan untuk mengeliminasi tumbuhnya cendawan epifit dan kontaminan.

Sumber cendawan endofit potensial menurut Strobel dan Daisy (2003) yaitu tanaman yang hidup di niche dan lingkungan unik, seperti tanaman yang hidup di tanah yang sangat masam, sangat kering, dan lain sebagainya, tanaman yang mempunyai sejarah etnobotanikal dan digunakan oleh masyarakat setempat, tanaman endemik, tanaman yang hidup di areal yang mempunyai keragaman yang tinggi, tanaman yang hidup di sekitar tanaman yang terserang penyakit, dan jaringan tanaman muda lebih baik dijadikan sebagai sumber cendawan endofit daripada jaringan yang tua. Dengan mengisolasi cendawan endofit dari sumber demikian diharapkan akan diperoleh cendawan endofit potensial bahkan cendawan endofit yang baru yang menghasilkan senyawa bioaktif yang potensial juga. Sebagai contoh cendawan endofit *Colletotrichum* sp. yang berasal dari tanaman obat *Artemisia annua* menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat mengendalikan bakteri dan cendawan parasit pada manusia dan juga sebagai fungistatik bagi cendawan patogen tanaman (Lu *et al.* 2000). Oleh karena kemampuan cendawan endofit dalam menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif potensial, penelitian mengenai cendawan endofit menjadi berkembang yang antara lain mengenai keragaman cendawan endofit tersebut, kandungan metabolit sekundernya, serta hubungan cendawan tersebut dengan inangnya.

Pemanfaatan senyawa metabolit sekunder sebagai obat anti kanker dilakukan pada isolat cendawan endofit *Pestalotiopsis microspora* yang mengkolonisasi sejenis pohon 7 cemara di Himalaya (Strobel *et al.*

1996). Selain itu, cendawan endofit juga mampu untuk melakukan proses metabolisme dan biotransformasi senyawa kimia tertentu menjadi senyawa turunannya (Prana *et al.* 2010). Cendawan endofit *Diaporthe* sp. dapat mengubah senyawa kurkumin menjadi senyawa turunannya yaitu (3R, 5R)- tetrahidrokurkumin, (3R, 5S)-heksahidrokurkumin, neoheksahidrokurkumin, (3S, 5S)-oktahidrokurkumin, dan mesooktahidrokurkumin yang memiliki nilai IC₅₀ lebih rendah dari kurkumin dalam penghambatan peroksidasi lipid pada mikrosom hati tikus sehingga memiliki kemampuan antioksidan yang lebih baik dari kurkumin (Maehara *et al.* 2011). Selain itu cendawan endofit HF4 dan HF6 yang terdapat di dalam rimpang kunyit mempunyai kemampuan sebagai antimikrob terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Proteus vulgaris* (Jalgaonwala *et al.* 2010).

Cendawan endofit akar asal Cagar Alam Pulau Dua memiliki kemampuan dalam menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur. Potensi ini diketahui berdasarkan hasil uji antagonis yang dilakukan pada koleksi cendawan endofit akar terhadap dua bakteri uji yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta khamir *Candida albicans*. Sebanyak 10 isolat hasil eksplorasi di Cagar Alam Pulau Dua Serang, Banten yaitu *Aspergillus*, *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Basipetospora*, CEM 2, CEM 9, *Humicola*, *Paecilomyces*, *Rhizoctonia*, dan *Verticillium* diuji secara *in vitro* menggunakan metode *disc diffusion* atau yang dikenal sebagai uji Kirby-Bauer.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter tersebut terlihat adanya variasi diameter zona hambat (Gambar 5.1) yang dihasilkan oleh masing-masing CEM dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji yang dikelompokkan kekuatan daya hambatnya berdasarkan Tabel 6.1.

Tabel 6.1 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 *Escherichia coli* tampak bahwa hanya dua isolat cendawan endofit yang memiliki rata-rata zona hambat lebih besar dari kontrol, yaitu CEM 2 dan *Acremonium*. Sementara itu, pada isolat cendawan endofit *Aureobasidium* menghasilkan zona hambat yang sama dengan kontrol positif, yaitu sebesar 12,66 mm. Selanjutnya, pada bakteri *Staphylococcus aureus* hanya terdapat satu isolat cendawan endofit yang menghasilkan zona hambat lebih besar dibandingkan kontrol positif, yaitu *Verticillium*. Kemudian, pada jamur *Candida albicans* terdapat tiga isolat cendawan endofit yang menghasilkan zona hambat lebih besar dari kontrol positif, yaitu CEM 2, *Humicola*, dan *Rhizoctonia* (Tabel 6.2).

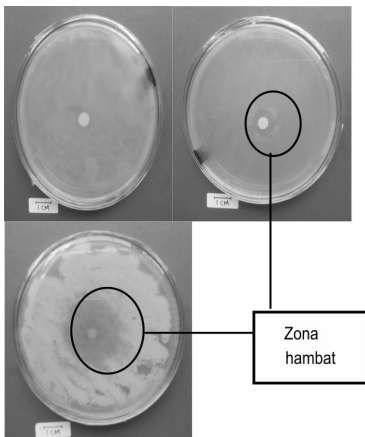
Tabel 6.2 Rata-rata zona hambat pertumbuhan mikroba uji

Perlakuan	Daya hambat					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>		
	Rataan zona hambat (mm)	Kategori	Rata-rata zona hambat (mm)	Kategori	Rataan zona hambat (mm)	Kategori
K	12.67 ^{abc} ± 3.055	K	20.33 ^{bc} ± 1.528	SK	10.00 ^a ± 1.000	S
Asp	10.00 ^{ab} ± 2.646	S	17.33 ^{abc} ± 1.528	K	5.67 ^a ± 4.933	L
Acre	14.67 ^{cd} ± 2.082	K	19.67 ^{abc} ± 4.163	K	5.00 ^a ± 4.359	L
Aure	12.67 ^{bcd} ± 2.082	K	15.33 ^{ab} ± 2.082	K	5.00 ^a ± 4.359	L
Basi	10.33 ^{abc} ± 1.528	K	15.67 ^{ab} ± 2.517	K	5.00 ^a ± 4.359	L
CE M 2	15.67 ^d ± 4.041	K	15.00 ^{ab} ± 2.646	K	11.67 ^a ± 7.234	K
CE M 9	10.67 ^{abc} ± 2.082	K	17.00 ^{abc} ± 3.606	K	4.33 ^a ± 3.786	L
Hum	8.00 ^a ± 1.000	S	16.00 ^{ab} ± 2.646	K	10.67 ^a ± 4.726	S
Pae	8.67 ^{ab} ± 1.528	S	14.33 ^a ± 2.082	K	5.33 ^a ± 4.726	L
Rhi	11.33 ^{abc} ± 1.528	K	14.67 ^a ± 3.786	K	11.33 ^a ± 5.859	K
Vert	11.00 ^{abc} ± 2.000	K	21.33 ^c ± 2.517	SK	5.33 ^a ± 4.726	L

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

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.

Perbedaan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri terhadap antibiotik dipengaruhi oleh struktur dinding sel. Dinding sel bakteri Gram negatif memiliki pelindung tambahan dibagian luar (Glazer & Nikaido, 1998). Hal ini sesuai dengan pernyataan Geidam *et al.* (2007) bahwa adanya struktur membran luar yang kompleks pada bakteri Gram negatif membatasi akses senyawa aktif ke dalam membran sel dan menjadikan bakteri *E. coli* lebih resisten terhadap antibakteri. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif relatif lebih kompleks, berlapis tiga yaitu lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa lipopolisakarida, dan lapisan dalam yang berupa peptidoglikan. Sedangkan struktur dinding sel bakteri Gram positif relatif lebih sederhana



sehingga memudahkan senyawa anti mikroba untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Zuhud *et al.* 2001).

Gambar 5.1 pengamatan zona hambat a. *Escherichia coli*, b. *Staphylococcus aureus* dan c. *Candida albicans*

Sebagian besar dinding bakteri gram negatif terdiri dari peptidoglikan, sedangkan bakteri gram positif terdiri dari kandungan lipid yang tinggi dibandingkan bakteri gram negatif. Membran sel yang tersusun

atas protein dan lipid sangat rentan terhadap zat kimia yang menurunkan tegangan permukaan. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transport nutrisi (senyawa dan ion) melalui membran sel sehingga sel mikroba mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya. Nutrisi masuk ke dalam sel dengan melewati protein khusus yang disebut porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Glazer & Nikaido 1998). Hal ini menyebabkan bakteri *S.aureus* (gram positif) lebih rentan terhadap senyawa antibiotik, sehingga dapat menghasilkan zona hambat pertumbuhan yang lebih besar dibandingkan dengan bakteri *E. coli* (gram negatif).

Pengetahuan mengenai potensi isolat cendawan endofit akar sangat penting untuk diketahui melihat kemampuannya yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan seperti sebagai sumber baru bahan farmasi

BAB 8

Potensi Cendawan Endofit Akar Sebagai Agen Pengendali Hayati

Pengendali hayati pada dasarnya merupakan kegiatan mengendalikan sebuah patogen dengan secara sengaja menggunakan organisme hidup. Pada ekosistem alami, hal tersebut sudah terjadi dalam jumlah yang tak terhitung. Tujuan aplikasi pengendalian hayati adalah untuk mengefektifkan penggunaan organisme yang menguntungkan dan memaksimalkan kemampuannya dalam mengurangi aktivitas patogen dalam sebuah lingkungan namun hal ini terlihat lebih mudah untuk dikatakan dari pada dilakukan karena permasalahan dalam aplikasinya (Lazarovits *et al.* 2001).

Mekanisme pengendalian di alam terjadi secara alami jika populasi semua organisme hidup, berdasarkan aksi alami di habitatnya selalu terdapat pengurangan oleh musuh alaminya. Akan tetapi ketika patogen dikendalikan, hal ini sering disebut sebagai pengendalian hayati dan agen yang digunakan dalam pengendalian disebut sebagai musuh alami. Pengendalian hayati dapat dieksploitasi dan dikontrol berdasarkan berbagai cara untuk menekan populasi patogen. Pengembangan metode pengendalian hayati menjadi sangat berkembang setelah aplikasi pestisida kimia sintetis menjadi metode dominan dari pengendalian patogen. Penggunaan pengendalian hayati berkembang karena para

praktisi membutuhkan untuk mencari solusi terhadap masalah patogen ketika pestisida kimia tidak bekerja dengan baik atau tidak sesuai untuk pengendalian patogen yang spesifik. Dorongan utama lainnya dalam penggunaan pengendalian hayati adalah adanya fakta bahwa pestisida kimia dapat menyebabkan efek negatif terhadap kesehatan manusia dan pencemaran lingkungan sedangkan pengendalian hayati tidak meninggalkan residu kimia (Hajek 2004).

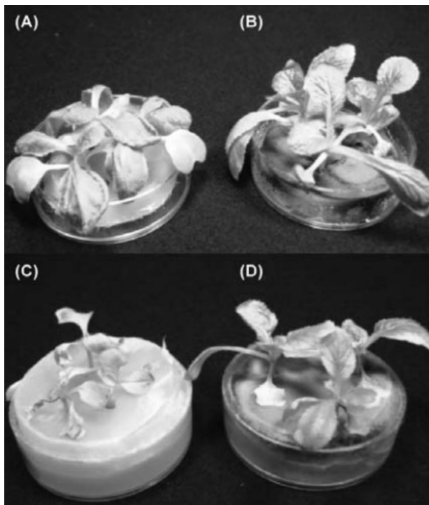
Cendawan endofit telah banyak digunakan untuk mengendalikan hama dan penyakit pada berbagai tanaman budi daya. Fenomena aplikasi agens hayati termasuk didalamnya organisme endofit terhadap tanaman yang memberikan efek terhadap pengurangan insidensi atau keparahan penyakit dapat disebut sebagai pengendalian hayati. Hal ini dilakukan dengan cara menghambat pertumbuhan dan berkompetisi dalam ruang dan nutrisi dengan patogen sasaran dan bersifat menginduksi ketahanan tanaman melalui metabolit sekunder yang dihasilkan oleh cendawan. Tanaman yang diinokulasi cendawan endofit menunjukkan kerentanan yang lebih rendah terhadap patogen terutama karena cendawan endofit tersebut menghasilkan metabolit sekunder yang berfungsi untuk menjaga ketahanan tanaman inang dari serangan penyakit.

Menurut Gao *et al.* (2010) mekanisme cendawan endofit dalam melindungi tanaman terhadap serangga atau patogen meliputi mekanisme penghambatan pertumbuhan patogen secara langsung (*induce systemic resistance*), penghambatan tidak langsung melalui induksi ketahanan tanaman dalam pembentukan metabolit sekunder (*systemic acquired resistance*), perangsangan pertumbuhan tanaman, kolonisasi jaringan tanaman sehingga patogen sulit penetrasi, dan Hiperparasit. Carrol (1988) dan Clay (1992) menyatakan bahwa cendawan endofit yang menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu mampu menghasilkan mikotoksin, enzim, serta antibiotik. Oleh karena itu, asosiasi beberapa cendawan endofit dengan tumbuhan inangnya mampu melindungi tumbuhan inang.

A. Perlindungan Tanaman Terhadap Cendawan Patogen

Dalam pengendalian penyakit, beberapa cendawan endofit mampu mengurangi serangan infeksi beberapa patogen. Cendawan endofit dari jenis *Chaetomium* sp dan *Phoma* sp telah berhasil mengurangi jumlah pustul dan luas serangan daun pada gandum yang disebabkan oleh *Puccinia recondita* f.sp. tritici. Selain itu, pencucian media dari *Chaetomium* dan isolat *Phoma* sp. telah mengaktifasi reaksi pertahanan aktif dari tanaman, sehingga membatasi persebaran dan replikasi patogen (Dingle & Mc Gee 2003).

Pada tanaman kentang aktivitas cendawan endofit *Hetreoconium chaetospora* juga mampu mengurangi penyakit akar gada sebesar 52 - 97% dan mengurangi kejadian penyakit kuning yang disebabkan oleh *Verticilium* sp sebesar 47 - 67% (Narisawa *et al.* 2004).



Gambar 7.1 Pengaruh Inokulasi cendawan endofit akar *Veronaeopsis simplex* terhadap pertumbuhan *Brassica campestris* L yang diinokulasi patogen *Fusarium* sp. Gejala penyakit diamati pada 3 MST. a. Kontrol. b Tanaman yang diinokulasi *V. simplex*. c. Tanaman yang diinokulasi *Fusarium* sp menunjukkan tanaman dengan daun yang kuning dan menggulung. d. Tanaman yang diinokulasi *V. Simplex* tidak menunjukkan gejala penyakit walaupun diinokulasi dengan *Fusarium* sp. pada saat bersamaan.

Gambar 7.1 menunjukkan penelitian yang dilakukan Khastini *et al.* (2012) pada tanaman *Brassica campestris* L yang terserang *Fusarium* sp. Inokulasi cendawan endofit akar dapat membantu tanaman untuk tetap tumbuh sehat walaupun mendapat serangan dari patogen *Fusarium* sp.

Phytophthora merupakan cendawan patogen asal tanah dapat menyebabkan penyakit pada seluruh bagian tanaman termasuk akar, batang, cabang, daun, bunga, serta buah (Zitter 1989; Roberts *et al.* 2000). Beberapa spesies *Phytophthora* dapat menginfeksi daerah di bawah dan atau di atas permukaan tanah, maupun menginfeksi keduanya. Meskipun genus *Phytophthora* dapat menginfeksi bagian atas permukaan tanaman, tapi siklus hidupnya dapat terjadi melalui tular tanah dan tular benih, seperti *P. capsici* yang menyebabkan kematian tanaman akibat dari pembentukan kanker pada batang yang menyebabkan mati pucuk, dan bercak pada daun (Erwin & Ribeiro, 1996; Babadoost, 2004). Proses serangan *P. capsici* tergantung dari fase tanaman yang diinfeksi. Infeksi lebih awal pada tanaman akan menyebabkan kematian tanaman, sedangkan infeksi pada fase pertumbuhan lebih lanjut akan menyebabkan kerusakan parah meski tidak menyebabkan kematian. Sementara itu, pada fase bibit dapat menyebabkan rebah semai, namun jumlah kematiannya relatif rendah jika kondisi lingkungan tidak terlalu lembab (RDP, 2001; Babadoost 2004). Serangan *Phytophthora* pada cabai ini dapat dikendalikan dengan memanfaatkan cendawan endofit. Pada pengujian secara *in vivo*, aplikasi cendawan endofit mampu menekan kejadian penyakit busuk pangkal batang pada bibit cabai dengan tingkat penekanan penyakit sebesar 13.7-27.5% (Ramdhan, 2014).

Mekanisme yang terjadi pada saat proses antagonistik dengan cendawan patogen dapat terjadi melalui beberapa skema. Pada skema mikoparasitisme seperti yang dilakukan oleh *Trichoderma* sp. terjadi melalui beberapa tahapan yaitu pengenalan inang, penetrasi dan proses mematikan fungsi patogen. Pada proses tersebut *Trichoderma* sp. mengeluarkan enzim pendegradasi dinding sel (Vinale *et al.* 2008). Lain halnya dengan Skema lainnya yaitu mensekresi metabolit sekunder seperti anti-fungi yang digunakan untuk menekan pertumbuhan atau membunuh fungsi lawan di daerah pertumbuhannya (Verma *et al.* 2007).

Sifat antagonis cendawan endofit terhadap cendawan patogen disebabkan pula oleh kemampuan dalam menghasilkan enzim kitinase. Rajulu *et al.* (2011) melaporkan isolat cendawan dari golongan

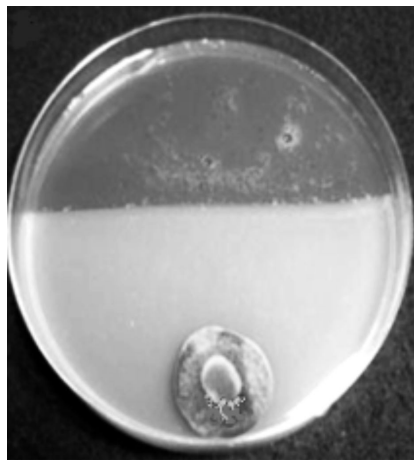
Phomopsis, *Colletotrichum* dapat memproduksi kitinase. Shubakov dan Kucheryavykh (2004) melaporkan tujuh genus dari golongan *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Sporotrichum*, *Beauveria*, dan *Mucor* menunjukkan aktivitas kitinase. Aktivitas selulase yang dihasilkan oleh cendawan endofit dalam mekanisme biokontrol secara tidak langsung akan mendegradasi ketersediaan bahan organik di alam yang nantinya dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan untuk menunjang pertumbuhan tumbuhan tersebut. Beberapa cendawan dengan aktivitas selulase yang banyak disebutkan antara lain berasal dari genus *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Fusarium* (Gautam *et al.* 2012; Kadamoidheen *et al.*, 2012; Khokhar *et al.* 2013; Reddy *et al.* 2014).

Pembentukan siderofor merupakan salah satu mekanisme lainnya yang dapat terjadi dalam menghambat pertumbuhan cendawan patogen di tanaman inang. Menurut Neilands (1995), siderofor berasal dari bahasa Yunani yang artinya pembawa besi. Siderofor merupakan molekul yang memiliki bobot molekul relatif rendah, sebagai agens spesifik pengelat ion Fe yang diuraikan oleh bakteri, cendawan, dan tumbuhan kelompok rumput-rumputan yang tumbuh pada keadaan cekaman lingkungan akibat Fe rendah.

Siderofor memiliki afinitas tinggi untuk Fe^{3+} dan dapat memfasilitasi transportasi besi seluler (Yasmin, 2009). Menurut Glick dan Pasternak (2003) kelompok utama siderofor adalah hidrosamat, katekolat, karboksilat, dan etilendiamina. Umumnya siderofor tipe hidrosamat merupakan ciri khas untuk cendawan, katekolat untuk bakteri, dan karboksilat untuk tumbuhan. Siderofor dapat digunakan dalam pengendalian penyakit tumbuhan dengan memanfaatkan peranannya untuk menyerap besi dari lingkungan dan menyediakan mineral yang penting bagi sel mikroba (Neilands 1995). Kemampuan organisme penghasil siderofor dalam mengikat Fe^{3+} merupakan pesaing terhadap mikroorganisme lain. Mekanisme kerja siderofor terjadi melalui perkembangan yang cepat dari mikroorganisme yang mengolonisasi akar tanaman dan memindahkan besi di daerah permukaan serta terciptanya kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan akar dan tidak sesuai untuk

pertumbuhan mikroba *rhizoplane* (Budzikiewicz, 2001).

Isolat-isolat cendawan endofit akar mangrove asal CA Pulau dua diuji kemampuan dalam memproduksi siderofor dengan menggunakan media agar *CAS-blue* (Neilands, 1997). Siderofor merupakan senyawa pengkelat ion logam besi (Fe^{3+}) dan mentranspor ke dalam sel. Cendawan endofit akar akan berkompetisi dengan *Fusarium* dalam mendapatkan ion besi. Kemampuan membentuk siderofor ditandai dengan berubahnya warna media seperti yang terlihat pada Gambar 7.2.



Gambar.7.2 Aktivitas isolat cendawan endofit akar pembentuk siderofor

Kavroulakis *et al.* (2007) menunjukkan bahwa cendawan endofit memiliki jalur metabolisme untuk membentuk etilen dan pembentukan hormon etilen tersebut dijadikan salah satu cara kerja bagi cendawan endofit dalam menginisiasi ketahanan tanaman inang terhadap cendawan *Fusarium Solani*. Dengan adanya hormon perangsang pertumbuhan tersebut maka persentase perkecambahan benih cabai dengan perlakuan cendawan endofit lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

B. Perlindungan Tanaman Terhadap Bakteri Patogen

Adame-Álvarez *et al.* (2014) melaporkan aktivitas penghambatan cendawan endofit terhadap bakteri patogen *Pseudomonas syringae* pv.

Syringae di dalam tanaman. Kemampuan penghambatan yang kuat akan terlihat jika cendawan endofit tersebut telah menginfeksi tanaman inang terlebih dahulu sebelum bakteri patogen. Dengan demikian cendawan endofit memberikan perlindungan dan resistensi tanaman dari serangan bakteri patogen.

Bakteri fitopatogen *Ralstonia solanacearum* dapat menyebabkan penyakit layu bakteri. Penyakit ini tersebar luas di daerah tropik dan sub tropik. Bakteri ini merupakan patogen tular tanah dan air. Siklus penyakit ini dimulai dengan infeksi patogen ke dalam akar yang diakibatkan oleh nematoda, serangga, dan alat-alat pertanian (Paret *et al.* 2010). Bakteri yang masuk melalui jaringan akar akan berkembang biak di dalam pembuluh kayu (xylem), akar, dan pangkal batang kemudian menyebar ke seluruh bagian tanaman. Tersumbatnya jaringan pengangkut air oleh massa sel *R. solanacearum*, menyebabkan transportasi air dan mineral terhambat (Supriadi *et al.* 2000). Gejala penyakit layu bakteri ditunjukkan oleh daun muda diikuti dengan merunduknya tangkai daun dan kelayuan menyeluruh pada tanaman yang bersifat permanen (Adriani *et al.* 2012). Seringkali akar yang terserang tidak dapat berfungsi lagi. Jaringan pembuluh batang dan akar akan mengalami pembusukan, sehingga menunjukkan warna cokelat tua sampai hitam. Invasi bakteri juga dapat melalui stomata, lenti sel, atau luka. Namun, bakteri berkonsentrasi dan berkembang biak pada jaringan pembuluh. Akibatnya terjadi kelayuan yang sangat parah (Semangun 2007). Layu keseluruhan pada tanaman akan terjadi antara 5 – 14 hari setelah gejala awal, bergantung pada temperatur dan kelembaban (Hong, 2011). Masa inkubasi merupakan waktu yang diperlukan untuk menimbulkan gejala setelah terjadi infeksi. Akan tetapi karena awal penginfeksian bakteri ini sebenarnya sukar dilihat, maka diasumsikan bahwa infeksi dimulai sejak berhasilnya proses infeksi. Masa inkubasi bakteri patogen dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi dan virulensi bakteri patogen serta ketahanan tanaman (Samanhudi 2001).

C. Perlindungan Tanaman Terhadap Virus

Cendawan endofit dapat berperan melindungi tanaman dari serangan virus penyebab penyakit. Salah satu contohnya adalah virus BYDV (*Barley Yellow Dwarf Virus*) yang menyebabkan morfologi tanaman barley menjadi kerdil. Virus ini ditransmisikan oleh semacam kumbang sebagai vektornya. Asosiasi cendawan endofit dengan tanaman dapat menjaga tanaman dari serangan virus. Hal ini disebabkan oleh adanya toksin yang diproduksi oleh cendawan tersebut dapat mematikan kumbang sebagai vektornya sehingga serangan virus pada tanaman menjadi berkurang.

D. Perlindungan Tanaman Terhadap Serangga

Pengendalian tanaman terhadap serangga secara terpadu pada areal pertanaman dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai metode, diantaranya pengendalian secara kimia, kultur teknis, tanaman resisten, regulasi, pengamatan hama dan musuh alami dan pengendalian secara biologi (Hoy, 2011). Pengendalian yang selama ini banyak dilakukan oleh petani adalah dengan insektisida. Menurut Zhang (2003), pengendalian menggunakan pestisida non sistemik terhadap beberapa serangga hama akan sulit dilakukan karena terdapat serangga memiliki kebiasaan berlindung diantara lipatan daun yang mengeriting sehingga tungau kuning sulit terpapar oleh cairan pestisida. Pengendalian hayati merupakan salah satu alternatif pengendalian yang ramah lingkungan dan dapat menjaga keseimbangan ekosistem di alam. Pengendalian secara biologi dapat dilakukan dengan menggunakan musuh alami seperti predator, parasitoid dan agens antagonis (Hoy, 2011). Cendawan endofit merupakan salah satu agen antagonis yang berpotensi untuk mengendalikan serangga. Mekanisme penghambatan cendawan endofit dapat terjadi secara langsung dengan mekanisme antagonis dan secara tidak langsung dengan mekanisme ketahanan terinduksi. Perlindungan tanaman dengan ketahanan terinduksi didasarkan pada rangsangan mekanisme ketahanan oleh adanya perubahan metabolik yang memungkinkan tanaman untuk lebih mengefektifkan ketahanannya (Agrios, 1997).

Cendawan endofit berpengaruh terhadap serangga dari berbagai famili. Cendawan endofit *Acremonium coephalum* pada rumput *Festuca arundinacea* sangat menurunkan laju ketahanan hidup *Schizaphis graminum*, *Rhopalosiphum* padi namun tidak berpengaruh terhadap *Sitobion avenae* dan *Rhopalosiphum maidis*. Perlakuan yang sama juga menghambat larva *Spodoptera frugiperda* dan ulat *Crambus* spp. Cendawan endofit lain yaitu *Acremonium lolii* pada rumput *Lolium perenne* dapat menolak maka dan peletakan telur, menurunkan ketahanan hidup, menghambat aktivitas makan dan laju peletakan telur kumbang *Listronotus bonariensis* dan menimbulkan kematian 100% jangkrik *Acheta domesticus* (Clay, 1988; Carrol, 1992).

Cendawan endofit diketahui dapat menekan populasi serangga hama. Cendawan endofit *Nigrospora* sp. pada tanaman cabai dapat menekan pertumbuhan populasi, menurunkan kepiridian dan memperpanjang siklus hidup *Aphis gossypii* (Hermawati, 2007). Perlakuan cendawan endofit pada tanaman cabai mampu mempengaruhi pertumbuhan populasi *Polyphagotarsonemus latus* Banks yang dikenal tungau teh kuning. Tungau ini merupakan salah satu hama penting pada tanaman cabai. *P. latus* dapat menyerang pada semua fase pertumbuhan tanaman cabai (Setiawati *et al.* 2005).

Salah satu pemanfaatan cendawan endofit bagi tanaman inang adalah meningkatkan resistensi tanaman inang dari serangan hama. Clay (1992) mengemukakan bahwa secara keseluruhan terdapat 21 spesies rumput-rumputan dan tiga teki dari daerah iklim sedang yang berasosiasi dengan cendawan endofit dan dapat meningkatkan ketahanan tanaman inang terhadap serangan serangga. Secara umum, peningkatan toleransi tanaman terhadap serangan serangga herbivora disebabkan oleh produksi senyawa alkaloid oleh cendawan endofit (Faeth & Saari, 2012).

Pada kondisi normal, tanaman juga dapat memproduksi berbagai senyawa alkaloid seperti glucosinolates, phenolic glycosides, dan terpenes yang berpotensi meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangga herbivora tanpa bantuan dari cendawan endofit. Namun

tanaman memiliki keterbatasan karena selain untuk pertahanan, tanaman juga harus mengalokasikan sumber daya tersebut untuk pertumbuhan dan reproduksi. Selain itu, keberadaan cendawan endofit juga memiliki peran dalam memperlambat mekanisme resistensi serangga herbivora terhadap metabolit sekunder yang diproduksi tanaman. Sifat resistensi dari serangga herbivora biasanya bersifat spesifik, sehingga dengan adanya metabolit yang dihasilkan cendawan endofit, mekanisme resistensi serangga hama akan sedikit dihambat.

Beberapa jenis senyawa alkaloid yang dihasilkan oleh cendawan endofit diketahui bersifat racun terhadap serangga. Menurut Tan dan Zou (2001), senyawa alkaloid lolines, agroklaavin dan elimoklaavin yang dihasilkan cendawan endofit *Neotyphodium* bersifat racun syaraf terhadap serangga mamalia dan herbivora. Senyawa 2 α -Hydroxydimeninol dan pestalotiopsins yang dihasilkan cendawan endofit *Pestalotiopsis* spp. bersifat toksik terhadap larva ulat pucuk *Choristoneura fumiferana*. Kemampuan cendawan endofit menghasilkan senyawa alkaloid yang bersifat racun terhadap beberapa serangga hama dapat menurunkan populasi hama tersebut.

Kolonisasi cendawan endofit pada inang tanaman akan berpengaruh terhadap keberadaan serangga, terutama yang memakan inang dan menjadi hama pada inang tersebut. Keberadaan serangga *Phenacoccus solani* (Homoptera: Psudococcidae) pada tanaman barley dapat ditekan secara total, sama dengan *Shipha maydis* (Homoptera: Aphididae) yang menyebabkan nekrosis pada tanaman barley. Beberapa tanaman barley yang telah diinokulasi dengan cendawan endofit tidak mengalami kerusakan yang parah oleh serangan kutu *Shipha maydis* (Homoptera: Aphididae) (Sabzalian *et al.* 2004). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Bing dan Lewis (1991) yang menyatakan bahwa endawan endofit *Beauveria bassiana* mempengaruhi perilaku makan dari *Ostrinia nubilalis*.

E. Perlindungan tanaman terhadap nematoda

Nematoda merupakan organisme dengan bentuk seperti cacing kecil. Panjangnya sekitar 200-1.000 μm . Namun, ada beberapa yang

panjangnya sekitar 1 cm. Umumnya nematoda yang hidup di atas tanah sering terdapat di dalam tanah terdapat di dalam jaringan tanaman atau di antara daun-daun yang melipat, di tunas daun, di dalam buah, di batang, atau di bagian tanaman lainnya. Nematoda juga ada yang hidup di dalam tanaman (endoparasit) dan ada juga yang di luar tanaman (ektoparasit) (Pracaya, 2008). Nematoda yang bersifat patogen pada tanaman sangat merugikan karena dapat menurunkan produktivitas tanaman.

Salah satu contoh nematoda perusak adalah *Radopholus similis* yang merupakan nematoda endoparasit migratori yang tersebar luas di daerah pertanian pisang di dunia. Nematoda masuk ke dalam akar, berpindah-pindah di dalam jaringan, aktif makan dan berkembang biak di dalam akar. Akar tanaman pisang yang terserang menunjukkan gejala bintik-bintik cokelat kemerahan memanjang sejajar dengan silinder pusat pada jaringan korteksnya. Gejala ini akan berubah menjadi luka memanjang berwarna hitam. Umumnya petani menggunakan nematisida berbahan aktif organoposfat dan karbamat untuk mengendalikan serangan nematoda. Penggunaan nematisida kimia berdampak pada keanekaragaman hayati dan proses biologi tanah (Eisenhauer *et al.* 2010). Selain itu aplikasi nematisida memberikan pengaruh negatif terhadap kesehatan lingkungan dan membutuhkan biaya yang cukup besar. Oleh karena itu, pengendalian nematoda parasit tumbuhan pada tanaman pisang yang ramah lingkungan seperti dengan pengendalian biologi menggunakan cendawan endofit.

Peranan cendawan endofit sebagai agen pengendali hayati telah banyak diteliti dan dianalisis. Isolat *Fusarium oxysporum* E.F. Sm yang bersifat non patogen pada tanaman memperlihatkan aktivitas anti-nematoda *Meloidogyne incognita* dan *Radopholus similis* akibat toksin yang dihasilkan cendawan tersebut. Namun mekanisme yang terjadi bukan hanya melibatkan sekresi toksin melainkan melibatkan peranan ketahanan inang yang diinduksi oleh cendawan endofit (Vu *et al.* 2006).

BAB 9

Ketahanan Tanaman Inang Cendawan Endofit Akar Terhadap Cekaman Lingkungan

Cekaman lingkungan merupakan salah satu faktor penghambat dalam produksi tanaman. Cekaman tersebut dapat berupa cekaman abiotik (misalnya: kekeringan, salinitas, kemasaman, logam berat, dan suhu), ataupun cekaman biotik (misalnya: hama, penyakit dan gulma).

Cekaman lingkungan (stres) pada tanaman dapat didefinisikan sebagai faktor eksternal yang berpengaruh buruk (tidak menguntungkan) pada tanaman (Taiz & Zeiger 2010). Faktor tersebut dapat bersifat biotik maupun abiotik. Cekaman biotik dapat berupa hewan pengganggu/pemakan tanaman, mikroba patogen, dan gulma (tanaman pengganggu); sedangkan cekaman abiotik diantaranya adalah kekeringan, salinitas, kemasaman, logam berat, dan suhu lingkungan yang ekstrim. Cekaman pada tanaman biasanya diukur dalam hubungannya dengan pertumbuhan (akumulasi biomasa) atau dengan proses-proses asimilasi primer (seperti: penyerapan CO₂ dan mineral) yang berpengaruh terhadap seluruh pertumbuhan. Kondisi lingkungan yang berpengaruh buruk terhadap pertumbuhan suatu tanaman belum tentu juga berpengaruh buruk terhadap tanaman yang lain. Kemampuan tanaman menghadapi kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhannya inilah yang disebut sebagai resistensi/toleransi tanaman.

Pertumbuhan tanaman tidaklah selalu dalam keadaan normal dan sesuai dengan apa yang diinginkan. Dalam pertumbuhannya tanaman akan mengalami banyak hal seperti perubahan fisiologis maupun perubahan metabolisme ataupun yang lainnya. Sebagai makhluk hidup tanaman tidak ada bedanya dengan manusia maupun hewan, dia akan selalu tanggap dengan apa yang ada disekitarnya. Respon tanaman terhadap segala yang ada disekitarnya sangat tinggi melebihi dengan respon yang manusia berikan.

a. Perlindungan tanaman inang terhadap salinitas

Tanaman yang akan mengalami stress di lingkungan dengan tingkat salinitas yang tinggi seperti pada daerah pantai, rawa. Salinitas tanah akan menjadi masalah jika konsentrasi natrium klorida (NaCl), natrium karbonat (NaCO_3), natrium sulfat (Na_2SO_4) atau garam-garam dari magnesium (Mg) ada dalam jumlah yang berlebih (Poljakoff-Mayber & Gale, 1975). Kadar garam yang terdapat pada tanah memberikan efek yang hampir sama dengan cekaman kekeringan, dimana air menjadi kurang tersedia bagi tanaman. Keadaan ini sangat berbahaya bagi tanaman karena akan menghambat terjadinya pembesaran dan pembelahan sel, penambahan biomassa tanaman dan produksi protein. Apabila keadaan ini terus menerus terjadi pada tanaman maka tanaman tersebut lama-kelamaan akan mati.

Cendawan endofit akan meningkatkan ketahanan tanaman dalam beradaptasi di lingkungan dengan tingkat salinitas yang tinggi. Aly *et al.* (2011) menyatakan bahwa ada tiga teori yang menjelaskan hal ini. Pertama suatu endofit yang menghasilkan senyawa oksigen reaktif untuk mengoksidasi atau denaturasi membran sel inang akan memicu tanaman meningkatkan ketahanannya terhadap tekanan yang menimpanya. Kedua, endofit merupakan mikroorganisme yang paling banyak menghasilkan berbagai macam antioksidan, asam fenol dan derivatnya. Senyawa-senyawa tersebut berperan dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap tekanan luar.

Salah satu contoh peranan cendawan endofit yaitu *Fusarium culmorum* yang mengkolonisasi tumbuhan *Leymus mollis*, yang tumbuh pada pantai berbatu di Puget Sound, Washington, USA. Cendawan endofit tersebut memberikan toleransi terhadap kadar garam kepada tanaman inangnya. Dengan membandingkan isolat *Fusarium culmorum* dari pantai dengan non pantai, diperoleh hasil bahwa hanya isolat pantai memberikan toleransi terhadap kadar garam pada tanaman inangnya (Rodriguez *et al.*, 2008).

**b. Perlindungan tanaman inang terhadap cekaman air/
kekeringan dan suhu tinggi**

Cendawan endofit akar mampu mempengaruhi fisiologis tanaman seperti tahan terhadap stress air (kekeringan). Metode yang sering digunakan untuk mengetahui peranan inokulasi cendawan terhadap tanaman yang mengalami cekaman kekeringan adalah dengan penggunaan larutan *Polyethylene glycole* (PEG). PEG ini larut dalam air, tidak toksik, mampu menahan air sehingga menjadi tidak tersedia bagi tanaman (Michel & Kaufmann, 1973).

Beberapa penelitian terkait dengan pengaruh cendawan endofit terhadap daya tahan tanaman pada stress kekeringan telah dilaporkan, diantaranya pengaruh cendawan endofit *Neotypodium lolii* terhadap daya tahan Lolium perenne pada kekeringan (Cheplick, 2004). Dilaporkan juga oleh Bae *et al.*, (2009), bahwa tanaman kakao yang diinokulasi dengan cendawan endofit *Trichoderma hamatum* lebih tahan terhadap kekeringan. Hal tersebut diduga karena adanya beberapa mekanisme yang mempengaruhi penundaan efek kekeringan pada tanaman, seperti: efek pemicu pertumbuhan (adanya peningkatan beberapa sintesis asam-asam amino), adanya pengabaian status air/kebutuhan air, dan peningkatan kadar air.

Cekaman suhu tinggi atau stres panas adalah suatu kondisi suhu yang dihadapi oleh tanaman yang menyebabkan kerusakan yang tidak dapat balik. Suhu menjadi cekaman bagi tanaman tergantung pada laju perubahan, intensitas maupun durasinya. Toleransi terhadap suhu tinggi

merupakan kemampuan tanaman untuk mempertahankan pertumbuhan dan hasil pada kondisi suhu tinggi (Wahid *et al.* 2007).

Cendawan endofit akar yang berasosiasi dengan tumbuhan dapat membantu tumbuhan tersebut dalam menghadapi cekaman suhu tinggi. Hal ini dibuktikan dengan penelitian terhadap cendawan endofit berkaitan dengan peranannya tersebut. *Curvularia protuberata* telah ditemukan mengkolonisasi *Dichanthelium lanuginosum*, yang memberikan toleransi panas pada tanaman Universitas Sumatera Utara yang tumbuh di tanah geotermal, Taman Nasional Yellowstone, USA. Ketika ditumbuhkan secara terpisah, jamur dan tumbuhan tidak dapat bertahan hidup pada suhu $>38^{\circ}$ C (Redman *et al.* 2002). Lebih jauh lagi, isolat *C. protuberata* dari tanaman non geotermal tidak dapat memberikan toleransi terhadap panas (Rodriguez *et al.* 2008).

c. Perlindungan tanaman inang terhadap logam berat

Logam berat merupakan komponen alami tanah. Elemen ini tidak dapat didegradasi maupun dihancurkan. Logam berat menjadi berbahaya disebabkan sistem bioakumulasi, yaitu peningkatan konsentrasi unsur kimia didalam tubuh makhluk hidup. Faktor yang menyebabkan logam berat termasuk dalam kelompok zat pencemar adalah karena adanya sifat-sifat logam berat yang tidak dapat terurai (*non degradable*) dan mudah diabsorpsi. Dalam kadar rendah logam berat pada umumnya sudah beracun bagi tumbuhan dan hewan, termasuk manusia. Termasuk logam berat yang sering mencemari habitat ialah Hg, Cr, Cd, As, dan Pb.

Organisme pertama yang terpengaruh akibat penambahan polutan logam berat ke tanah atau habitat lainnya adalah organisme dan tanaman yang tumbuh di tanah atau habitat tersebut. Logam-logam berat diketahui dapat mengumpul di dalam tubuh suatu organisme dan tetap tinggal dalam tubuh untuk jangka waktu lama sebagai racun yang terakumulasi (Saeni, 1997).

Telah lama diketahui bahwa cendawan menghasilkan metabolit dalam bentuk asam-asam organik. Sama halnya pada cendawan endofit. Beberapa spesies jamur memiliki kemampuan menghasilkan asam –

asam organik pada media yang mengandung Pb (Ardwisson *et al.* 2010). Berbagai asam organik diketahui memiliki kemampuan untuk melakukan kompleksasi atau menjadi agen pengkelat logam. Beberapa jamur diketahui mampu menghasilkan asam organik dalam metabolismenya dengan kehadiran logam berat dalam tanah. Asam oksalat dan asam sitrat adalah contoh asam organik dengan berat massa rendah yang dapat dihasilkan jamur. Asam organik berberat massa rendah diketahui dapat mempengaruhi distribusi logam dalam tanah yaitu memobilisasi logam berat dengan pembentukan kompleks metal yang larut. Proses mobilisasi ini dipengaruhi beberapa faktor fisik seperti suhu, kelembaban dan penyediaan hara.

Penelitian terhadap keragaman cendawan endofit yang membantu toleransi tanaman terhadap logam berat dilakukan oleh Li *et al.* (2012). Isolat endofit akar *Phoma*, *Alternaria*, *Peyronellaea* menunjukkan sensitivitas terhadap timbal. Isolat-isolat cendawan yang menunjukkan aktivitas tersebut berpotensi untuk dapat diaplikasikan sebagai agen bioremediasi lingkungan. Pengaruh cendawan endofit dalam menyerap logam Cd dan mentranslokasikannya pada tanaman telah diuji pada tanaman *Lolium arundinaceum* yang tumbuh di rumah kaca. Cendawan endofit secara signifikan meningkatkan jumlah biomassa tanaman dalam kondisi cekaman logam berat.

BAB 10

Cendawan Endofit Akar Agen Pemacu Pertumbuhan Tanaman

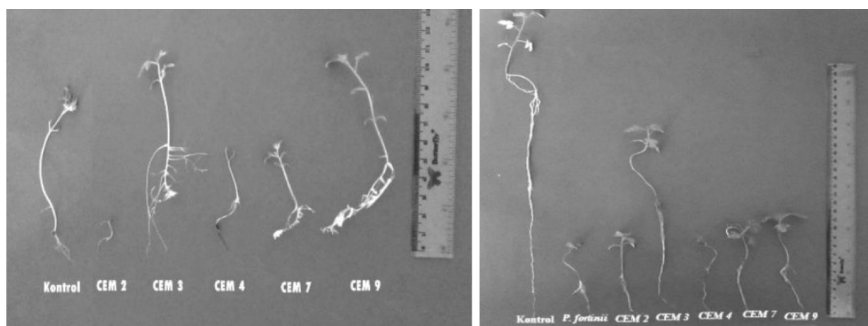
Cendawan endofit akar hidup mengkolonisasi jaringan akar tanpa menyebabkan gangguan pada tanaman tersebut. Dalam interaksi dengan inangnya, berdasarkan banyak hasil penelitian menunjukkan adanya hubungan mutualisme antara cendawan endofit bagi tanaman. Hubungan ini membuat kedua belah pihak mendapat keuntungan. Bagi tanaman inang, cendawan endofit dapat memberikan nutrisi yang konstan, zat pengatur tumbuh dan senyawa metabolit sekunder yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman inang.

Beberapa penelitian tentang asosiasi tanaman dan cendawan endofit menunjukkan adanya peningkatan unsur hara dalam tanaman dibandingkan dengan tanaman yang tidak diinokulasi dengan cendawan endofit. Jumponen *et al.* (2001) dalam risetnya membuktikan bahwa inokulasi fungi endofit terhadap European Alps menunjukkan adanya peningkatan biomassa tanaman dan kadar fosfor dalam tanaman. Selain itu, ditunjukkan pula adanya peningkatan penyerapan N dari tanah dan peningkatan biomassa pada jenis *Pinus contorta*.

Cendawan endofit akar dapat diaplikasikan dalam pertanian pada saat awal pembenihan. Hal ini dapat membantu benih untuk bisa tumbuh dan berkembang. Inokulasi cendawan endofit pada benih dapat

meningkatkan persentase perkecambahan. Menurut Dearnaley dan Brocque (2006), kolonisasi cendawan endofit memiliki peran penting pada saat perkecambahan. Pada saat berkecambah, benih hanya memiliki sedikit kandungan nutrisi esensial. Pada saat benih berkecambah, hifa cendawan endofit mengolonisasi jaringan tanaman dan membentuk struktur yang disebut pelotons. Struktur tersebut digunakan cendawan endofit untuk melakukan pertukaran nutrisi, sedangkan benih mendapatkan suplai gula dan substansi anorganik (nitrogen dan fosfor) yang berguna bagi pertumbuhan tanaman muda tersebut

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan tanaman tomat yang dipengaruhi oleh cendawan endofit akar mangrove asal Cagar Alam Pulau Dua Serang Banten, koleksi laboratorium Pendidikan Biologi Untirta, baik dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo*. Pertumbuhan tanaman tomat secara *in vitro* dilakukan dengan menginokulasikan kecambah tomat pada medium MS yang telah ditumbuhi oleh cendawan endofit, adapun secara *in vivo* dengan menginokulasikan kecambah tomat pada medium zeolit berisi cendawan endofit dengan carier jagung. Pengamatan pertumbuhan secara morfologi dan pengukuran parameter-parameter pertumbuhan dilakukan setelah 5 minggu masa inkubasi. Hasil penelitian menunjukkan isolat yang paling berpotensi memacu pertumbuhan tanaman tomat adalah isolat CEM 9.



Gambar 9.1 Pengamatan morfologi pertumbuhan tanaman tomat secara *in vitro* (a) dan *in vivo* (b), yang diberi perlakuan cendawan endofit akar mangrove (CEM) Cagar Alam Pulau Dua, dengan masa inkubasi 5 minggu.

Manfaat lain yang diperoleh tanaman terkait asosiasi dengan cendawan endofit akar adalah produksi hormon pengatur tumbuh oleh cendawan yang diberikan ke tanaman. Beberapa cendawan endofit mem-produksi fitohormon seperti auksin, sitokinin dan etilen (Bacon *et al.* 2001; Tan & Zou, 2001).

Hormon pengatur tumbuh adalah senyawa organik yang dapat mendorong, menghambat atau secara kualitatif mengubah pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Wattimena, 1992). Hormon pemacu tumbuh terdiri dari lima golongan yaitu auksin, giberelin, sitokinin, asam absisat, dan etilen. Asam indol asetat (IAA) adalah salah satu auksin aktif secara fisiologi. IAA adalah produk umum dari metabolisme L-triptofan oleh mikrob (Shahab *et al.* 2009). Sitokinin memiliki peran kunci dalam regulasi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Sitokinin meningkatkan perkecambahan biji, pembentukan tunas, pelepasan tunas dari dominasi apikal, stimulasi perluasan daun dan perkembangan reproduksi, dan penghambatan dari penuaan. Auksin dan sitokinin di dalam jaringan tumbuhan memiliki sifat yang berlawanan sehingga perbandingan konsentrasi keduanya dalam jaringan tumbuhan akan menentukan arah pertumbuhan tanaman. Perbandingan konsentrasi tinggi auksin terhadap sitokinin menyebabkan terjadinya dominansi apikal dan inisiasi akar lateral serta pemanjangan akar (Aloni *et al.* 2006), namun jika perbandingannya rendah akan memacu pembentukan cabang lateral (Shimizu-Sato *et al.* 2009). Etilen adalah salah satu pengatur tumbuh yang dihasilkan oleh tanaman tingkat tinggi dan juga oleh mikrob. Etilen memainkan beberapa peran aktif dalam tumbuhan termasuk perkecambahan, pembentukan akar dan tunas, perkecambahan biji, dan respon tanaman terhadap stress. Giberelin adalah zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk memacu perkecambahan, misalnya memecah dormansi dan menstimulasi pemanjangan tunas. Penelitian Xin *et al.* (2009) menunjukkan bahwa beberapa isolat cendawan endofit mampu memproduksi hormon indole-3-acetic acid (IAA) setelah diinkubasi oleh triptofan. Cendawan endofit *Williopsis saturnus* asal tanaman jagung mampu menghasilkan hormon perangsang pertumbuhan tanaman, yaitu IAA dan indole-3-pyruvic acid (IPYA) (Nassar *et al.* 2005).

Daftar Pustaka

- [RDP] Report Plant Disease. 2001. Phytophthora blight of pepper. Urbana-Champaign (US): Departement of Crop Scince, University of Illinois
- Adame-Álvarez, R.-M., Mendiola-Soto, J., and Heil, M. (2014). Order of arrival shifts endophyte–pathogen interactions in bean from resistance induction to disease facilitation. *FEMS Microbiol. Lett.* 355, 100–107.
- Adriani, RA, Gusnawati HS, Khaeruni A. 2012. Respon ketahanan berbagai varietas tomat terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*). *J. Agrotekno* 2(2):63-68p
- Agrios GN. 1997. *Plant Pathology* (4th edn). 635 pp. New York, USA: Academic Press
- Agusta A. 2009. *Biologi dan Kimia Jamur Endofit*. Bandung : ITB Press
- Aloni R, Aloni E, Langhans M, Ullrich CI. 2006 Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. *Ann. Bot.* 97: 883-93.
- Alspaugh JA, Perfect JR, Heitman J. 1997 *Cryptococcus neoformans* mating and virulence are regulated by the G-protein alpha subunit GPA1 and cAMP. *Genes Dev* 11 : 3206–3217.

- Aly AH, Debbab A, Kjer J, Proksch P. 2010 Fungal endophytes from higher plants: a prolific source of phytochemicals and other bioactive natural products. *Fungal Divers.*, 41, pp. 1–16
- Amin N, Nasruddin A, Daha L.. 2011. Isolation, Identification, and In Vitro Screening of Fungl Endophytes Againts Patogen of Maize Leaf Blight, *Helmintho-sporium Maydis*. Department of plant protection, Faculty of agriculture, Hasanuddin University, Makassar, Sulawesi Selatan.
- Andersen TF & Rasmussen HN. 1996. The Mycorrhizal spesies of Rhizoctonia. In: Sneh, B., S.Jabaji-Hare, S. neate, & G. Dijst. *Rhizoctonia Spesies: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and disease control*. KAP. London. 379-390 pp
- Ardwidsson Z, Johansson ZE. van Kronkehn T, Allard B, van Haes P. 2010. Remediation of Metal Contaminated Soil by Organic Metabolite from Fungi I- Production of Organic Acid. *Water and Soil Pollut.* 256 : 215-226.
- Azevedo JL, Maccheroni W, Pereira JO, Luiz W. 2000. Endophytic Microorganism: A Review On Insect Control and Recent Advances On Tropical Plants. *Electr J Biotechnol* 3 : 40 - 65.
- Babadoots M. 2004. Phytophthora blight: a seroius threat to cucurbit industries [Internet]. Urbana (US): Departemen of Crop Sciences, University of Illinois;
- Bacon CW, Yates IE, Hinton DM, Meredith F. 2001. Biological control of *Fusarium moniliforme* in maize. *Environ Health Perspect* 109:325–332
- Bae H, Sicher RC, Kim MS, Kim SH, Strem MD, Melnick RL. 2009. The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. *J. Exp. Bot.* 60, 3279–3295. doi: 10.1093/jxb/erp165
- Balai Kliring Kehati Nasional Kementrian Lingkungan Hidup. 2008. Daftar Istilah. <http://lh.or.id/> [3 April 2016].
- Barnett HL Hunter BB. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publ. Co. Minneapolis

- Barnett HL & Hunter BB. 1998. Illustrated marga of imperfect fungi. 4th ed. USA: Prentice-Hall, Inc
- Bills FG. 1997. Isolation and analysis of endophytic fungal communities from woody plants. In Endophytic fungi in grasses and woody plants. Scott C. Redlin and Lori M. Carris (eds). APS Press, St Paul. Pp .31-66.
- Bing LA, Lewis LC, 1991. Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae) by endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Environmental Entomology* 20: 1207–1211
- Bokulich NA & Mills DA. 2012. Differentiation of mixed lactic acid bacteria communities in beverage fermentations using targeted terminal restriction fragment length polymorphism. *Food Microbiology* 31:126-131.
- Brundrett MC, Piche Y, Peterson RL. 1984. A new method for observing the morphology of vesicular arbuscular mycorrhizae. *Canadian Journal of Botany* 62 : 2128±2134.
- Brunner F, Petrini O. 1992. Taxonomy of some *Xylaria* species and xylariaceous endophytes by isozyme electrophoresis. *Mycological Research* 96: 723–733
- Budi IS, Mariana, Fachruzi I. 2011. Formulasi biopestisida berbahan aktif jamur endofitik dan bakteri rhizosfir spesifik lokasi lahan pasang surut untuk pengendalian penyakit busuk pangkal batang padi (*Rhizoctonia solani*). *Semnas Pestisida Nabati* 4: 71-82.
- Budzikiewicz H. 2001. Siderophore-antibiotic conjugates used as Trojan horses against *Pseudomonas aeruginosa*. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1: 73-92.
- Calvo AM , Wilson RA, Bok JW, Keller NP. 2002. Relationship between secondary metabolism and fungal development. *Microbiology Molecular Biology Rev.* 66: 447- 459.
- Campos L & Felix CR. 1995. Purification and characterization of a glucoamylase from *Humicola grisea*. *Applied and Environmental Microbiology* 61 (6): 2436-2438.
- Carroll GC. 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent

- pathogen to Mutualistic symbiont. *Ecology* 69: 2-9.
- Castillo UF, Strobel GA, Ford EJ, Hess WM, Potter H, Jenson JB, Albert H, Robinson R, Condrón MA, Teplow DB. 2002. Munumbicins, Wide Spectrum Antibiotics Produced By *Streptomyces* NRRL 30562, Endophytic On *Kennedia nigricans*. *Microbiology* 148 : 2675 – 2685
- Chayawat J, Jareonkitmongkol S, Songsasen A. Yongsmith, B. 2009. Pigments and anti-cholesterol agent production by *Monascus kaoliang* KB 9 and its color mutants in rice solid cultures. *Kasetsart Journal* 43: 696-702
- Chen YX, Zhang LP, Lu ZT. 2008. Analysis of the internal transcribed spacer (ITS) sequences in rDNA of 10 strains of *Fusarium* spp. *J Anhui Agri Sci* 36:4886–4887.
- Cheplick GP. 2004. Recovery from drought stress in *Lolium perenne* (Poaceae): are fungal endophytes detrimental? *American Journal of Botany* 91: 1960–1968
- Choi YW, Hodgkiss IJ, Hyde KD. 2005. Enzyme Production By Endophytes Of *Brucea javanica*. *J Agric Tech* 1 : 55 – 65
- Clay K. 1992. Endophytes as antagonists of plant pest. Hlm 331-357. dalam: JH. Andrews and SS Hirano (eds). *Microbiology of Leaves*. Springer Verlag, New York.
- Dearnaley J & Le Brocq AF. 2006 Endophytic fungi associated with Australian orchids. *Australasian Plant Conservation: Bulletin of the Australian Network for Plant Conservation*, 15 (2). pp. 7-9. ISSN 1039-6500
- Departemen Kelautan dan Perikanan. 2004. Pedoman Pengelolaan Ekosistem Mangrove. Direktorat Jenderal Pesisir dan Pulau-Pulau Kecil. Direktorat Bina Pesisir. Jakarta.
- Dharmawan IWE, Kawuri R, Parwanayoni MS. 2009. Isolasi *Streptomyces* spp. Pada kawasan hutan Provinsi Bali serta uji daya hambatnya terhadap lima strain diarrheagenic *Escherichia coli*. *Biol.* 13(1):1-6.
- Dingle J & McGee PA. 2003. Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in wheat. *Mycological*

- Research 107:310–316.
- Domsch KH, Gams W, Anderson TH. 1980. Compendium of soil fungi. Volume 1. Academic Press.
- Eisenhauer N, Ackermann M, Gass S, Klier M, Migunova V, Nitschke N, Ruess L, Sabais ACW, Weisser WW, Scheu S. 2010. Nematicide impacts on nematodes and feedbacks on plant productivity in a plant diversity gradient. *Acta Oecologica* 36:477-483
- Erwin DC, Ribeiro OK. 1996. *Phytophthora Disease Worldwide*. St. Paul, Minnesota (US): APS Press.
- Fachrul MF. 2008. *Metode sampling bioekologi*. Bumi Aksara, Jakarta: viii+198 hlm.
- Fassatiova O. 1986. *Moulds and Filamentous. Fungi in Technical Microbiology* New York Elsevier
- Gandjar I & Sjamsuridzal W. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Gandjar, 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor.
- Gao FK, Dai CC, Liu XZ. 2010. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *Afric. J. Microbiol. Res.* 4:1346–1351.
- Gautam S, Bundela P, Pandey A, Awasthi M, Sarsaiya S. 2012. Diversity of cellulolytic microbes and the biodegradation of municipal solid waste by a potential strain. *International journal of microbiology* 2012.
- Geidam YA, Usman H, Abubakar MB, Ibrahim B. 2007. Effects of aqueous leaf extracts of *Psidium guajava* on bacteria isolated from the navel of day-old chicks. *Res. J. Microbiol.* 2, 960-965
- Ginting C. 2008. Pengaruh infestasi *Verticillium lecanii* terhadap keparahan penyakit karat daun kopi pada tanaman dan keterjadian koloninya pada daun. *J. HPT Tropika* 8 (2): 132 – 137.
- Ginting RCB, Sukarno N, Widyastuti U, Darusman LK, Kanaya S. 2013. Diversity of endophytic fungi from red ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) Plant and their inhibitory effect to *Fusarium oxysporum* plant pathogenic fungi. *Hayati J Biosci.* 20(3):127–137. DOI: [Http://dx.doi.org/10.4308/hjb.20.3.127](http://dx.doi.org/10.4308/hjb.20.3.127).

- Glazer AN, Nikaido H. 1995. *Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology*. W.H. Freeman and Company, New York
- Glazer AN, Nikaido H. 1998. *Microbial biotechnology : fundamentals of applied microbiology*. W.H. Freeman and Company. New York.
- Glick BR, Pasternak JJ. 2003. *Molecular Biotechnology: Principles dan Applications of Recombinant DNA*. Ed ke-3. Washington: ASM Press.
- Guo B, Dai J, Ng S, Huang Y, Leong C, Ong W, Carte BK. 2000. Cytonic Acid A & B: Novel Tridepside Inhibitors Of hCMV Protease From The Endophytic Fungus *Cytonaema* Species. *J. Nat. Prod.* 63 : 602
- Guo LD, Hyde KD, Liew ECY. 1998. A method to promote sporulation in palm endophytic fungi. *Fungal Diversity* 1: 109-113.
- Hajek A. 2004. *Natural enemies: an introduction to biological control*. Cambridge University Press, New York. Xv 1 378
- Hermawati, H. 2007. Pengaruh Cendawan Endofit Terhadap Biologi Dan Pertumbuhan Populasi *Aphis gossypii* Glo. (Homoptera: Aphididae) Tanaman Cabai. Institut Fakultas pertanian: Bogor.
- Hicks J, Yu JH, Keller N, Adams TH. 1997. *Aspergillus* sporulation and mycotoxin production both require inactivation of the FadA G-alpha protein-dependent signaling pathway. *EMBO J.* 16:4916-4923.
- Hillis DM & Dixon MT. 1991. Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *Quart. Rev. Biol.*, 66: 411-453
- Ho MY, Chung WC, Huang HC, Chung WH and Chung WH . 2012 Identification of Endophytic Fungi of Medicinal Herbs of Lauraceae and Rutaceae with Antimicrobial Property Taiwan, 57 (3): 229-241, 2012
- Hong JC. 2011. Diversity and control of *Ralstonia solanacearum* in the southeastern united states. [disertasi]. US: University of Florida
- Hostettmann K, Potterat O, Wolfender JL. 1998. The potential of higher plants as a resources of new drugs. *Chimia* , 52:10-17
- Hoy MA. 2012. Overview of a classical biological control project directed against the red palm mite in Florida. *Exp. Appl. Acarol.*

57, 381–393.

- Huang LH, Kaneko T. 1996. Pyrenomycetes and Loculomycetes as Sources of Secondary Metabolites. *J. Industrial Microbiol.* 17:402-416.
- Hyde KD & Jones EBG. 1988 . Marine mangrove fungi. *Marine Ecology.* 9: 15 -33.
- Hyde KD & Soyong K. 2007. Understanding microfungal diversity-a critique. *Cryptogamie Mycologie* 28: 281-289
- Irwan ZD. 2012. Prinsip-prinsip ekologi ekosistem, lingkungan dan pelestariannya. Bumi Aksara, Jakarta: xiv+210 hlm
- Irwan ZD. 2012. Prinsip-prinsip ekologi ekosistem, lingkungan dan pelestariannya. Bumi Aksara, Jakarta: xiv+210 hlm.
- Isaac S. 1997. Mycology answers. Fungi naturally form many diverse biochemical products, some of which are now commercially important; how and why do they do this? *Mycologist* 11: 182-183.
- Jalgaonwala RE, Mohite BV, Mahajan RT. 2010. Evaluation of Endophytes for their Antimicrobial activity from Indigenous Medicinal Plants belonging to North Maharashtra region India. *Int. J. Pharmaceut. Biomed. Res.* , 1, 136-41.
- Jones EBG & Alias SA 1996. Biodiversity of mangrove fungi. In Hyde, K.D. (ed.) *Biodiversity of Tropical microfungi*, Hong Kong University Press, Hong Kong. pp. 71-92.
- Jumpponen A, Trappe JM. 1998. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root colonizing fungi. *New Phytol* 140:295– 310.
- Jumpponen A. 2001. Dark septate endophytes-are they mycorrhizal? *Mycorrhiza* 11:207-211.
- Juste A, Thomma BP, Lievens B. 2008. Recent advances in molecular techniques to study microbial communities in food-associated matrices and processes. *Food Microbiol* 25, 745–761.
- Kadarmoidheen M, Saranraj P, Stella D. 2012. Effect of cellulolytic fungi on the degradation of cellulosis agricultural wastes. *Int. J. Appl. Microbiol. Sci* 1(2):13-23.
- Kauffman CA, Carver PL. 1997. Antifungal agents in the 1990s. *Current*

- status and future developments (Review). *Drugs*. 53:539-549.
- Kavroulakis NS, Zervakis GI, Ehaliotis C, Haralampidis K, Papadopoulou KK (2007). Role of ethylene in the protection of tomato plants against soil-borne fungal pathogens conferred by an endophytic *Fusarium solani* strain. *J. Exp. Bot.* 58: 3853-3864.
- Kementerian Kehutanan. 2007. Pulau dua satu-satunya cagar alam tempat berbiaknya burung air di Kota Serang. Direktorat Jenderal PHKABalai Besar KSDA Jawa BaratBidang KSDA Wilayah I Bogor Seksi Konservasi Wilayah I.
- Kementrian Lingkungan Hidup. 2013. Keanekaragaman Hayati Sebagai Modal dasar Pembangunan.<http://www.menlh.go.id/keanekaragaman-hayati-sebagai-modal-dasar-pembangunan/> [3 April 2016].
- Khastini RO, Ohta H, Narisawa K. 2012. The role of a dark septate **endophytic fungus**, *Veronaeopsis simplex* Y34, in *Fusarium* disease suppression in Chinese cabbage. *J. Microbiol.* 50(4):618-624.
- Khokhar I, Haider MS, Mushtaq S, Mukhtar I. 2013. Isolation and screening of highly cellulolytic filamentous fungi. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 16(3).
- Kormanik PP & McGraw AC. 1982. Quantification of Vesicular - arbuscular Mycorrhizae in Plant Roots. In *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. Ed.N.C. Schenck. The American Phytopathological Society. pp. 37-36.
- Koske RE & Gemma JN. 1989. A Modified Procedure for Staining Roots to Detect VA Mycorrhizas. *Mycological Research*, 92, 486-488. <http://dx.doi.org/10.1016>
- Kurtz MB. 1997. New antifungal drugs targets: A vision for the future. *ASM News*.64:31-39.
- Kusmana C, Wilarso S, Hilwan I, Pamoengkas P, Wibowo C, Tiryana T, Triswanto, A, Hamzah Y. 2003. Teknik Rehabilitasi Mangrove. Fakultas Kehutanan IPB, Bogor.
- Lacap DC, Hyde KD, Liew ECY. 2003. An evaluation of the fungal 'morphotype' concept based on ribosomal DNA sequences. *Fungal Diversity* 12: 53-66.

- Lazarovits, G. 2001. Management of soil-borne plant pathogens with organic soil amendments: a disease control strategy salvaged from the past. *Can. J. Plant Pathol.* 23: 1–7
- Lee JC, Lobokovsky NB, Pliam NB, Strobel GA, Clardy JC. 1995. Subglutinol A and B: immunosuppressive compounds from the endophytic fungus *Fusarium subglutinans*. *Journal of Organic Chemistry* 60: 7076-7077
- Li C, Nan Z, Paul VH, Dapprich P, Liu Y. 2004. A new Neotyphodium species symbiotic with drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*) in China. *Mycotaxon* 90 : 141–147.
- Li J, Strobel GA, Sidhu R, Hess WM, Ford EJ. 1996. Endophytic Taxol Producing Fungi From Bald Cypress, *Taxodium distichum*. *Microbiology* 142 : 2223 - 2226.
- Li K, Guan W, Wei G, Liu B, Xu J, Zhao L, Zhang Y. 2007 Phylogenetic analysis of intestinal bacteria in the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). *J Appl Microbiol* 103:675–682.
- Li Xiaoyan, Cao Yijin, Qi Le, Shu Fu. 2012 The distribution characteristics of heavy metals in Guiyang urban soils. *Chinese Journal of Geochemistry.* 31, 174–180.
- Liang ZQL, Han YF, Chu HL, Liu AY. 2005. Studies on the genus *Paecilomyces* in China. I. *Fungal Diversity* 20: 83-101.
- Lin X, Lu CH, Huang YJ, Zheng ZH, Su WJ, Shen YM. 2007. Endophytic fungi from a pharmaceutical plant, *Camptotheca acuminata*: isolation, identification and bioactivity. *World J Microbiol Biotechnol* 23:1037-1040.
- Liu JL, Du J, Fan LL, Liu XY, Gu L, Ge YB. 2008. Effects of quercetin on hyper-proliferation of gastric mucosal cells in rats treated with chronic oral ethanol through the reactive oxygen species-nitric oxide pathway. *World J Gastroenterol* 14:3242–3248. doi:10.3748/wjg.14.3242
- Lu H, Zou WX, Meng JC, Hu J, Tan RX. 2000. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Sci.* 151, 67–73. doi:10.1016/S0168-9452(99)00199-5

- Lu H, Zou WX, Meng JC, Hu J, Tan RX. 2000. New Bioactive Metabolites Produced By *Colletotrium* sp., An Endophytic Fungus In *Artemisia annua*. *Plant Sci* 151 : 76 - 73.
- Lu Yin, Chen C, Chen H, Zhang J, and Chen W, 2012. Isolation and Identification of Endophytic Fungi from *Actinidia macrosperma* and Investigation of Their Bioactivities, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine (382742) 8 pages,
- MacKinnon J & MacKinnon K. 1986. Review of the Protected Areas System in the Review of the Protected Areas System of the Indo-Malayan Realm. IUCN, Gland, Switzerland
- Machara S, Ikeda M, Haraguchi H, Kitamura C, Nagoe T, Ohashi K et al. 2011. Microbial conversion of curcumin into colorless hydroderivatives by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. associated with *Curcuma longa*. *Chem. Pharm. Bull.* 59, 1042–1044. 10.1248/cpb.59.1042
- Maria GL, Sridhar KR, Raviraja N S. 2005. Antimicrobial and enzyme activity of mangrove endophytic fungi of southwest coast of India. *Journal of Agricultural Technology* 1: 67-80.
- Maria GL, Sridhar KR. 2003. Diversity of filamentous fungi on woody litter of five mangrove plant species from the south-west coast of India. *Fungal Diversity* 14, 109–126.
- Marsh TL. 1999. Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP): an emerging method for characterizing diversity among homologous populations of amplification products. *Current Opinion in Microbiology* , 2 , 323 –327
- Matondang S. 1979. Soil Classification Units and Soil Potentials Of The Tidal Falts Of Jambi And South Sumatera. *Proceeding: Simposium Nasional III Pengembangan Daerah Pasang Surut di Indonesia*. Bogor: Direktorat Jenderal Pengairan Departemen Pekerjaan Umum, Institut Pertanian Bogor.
- Michel BE., Kaufmann MR. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.*, 51: 914–916.
- Mulyati S. 2009. Pengendalian penyakit hawar pelepah daun

- (*Rhizoctonia solani*) menggunakan beberapa agensia hayati golongan cendawan pada tanaman jagung (*Zea mays*). Jurnal Agronomi 13 (2): 37-43.
- Murali TS, Suryanarayanan TS, Venkatesan G. 2007. Fungal endophyte communities in two tropical forests of southern India: diversity and host affiliation. Mycological Progress 6: 191–199
- Muyzer G, Smalla K. 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. Antonie van Leeuwenhoek 73 (1), 127-141
- Narisawa K, Usuki F, Hashiba T. 2004. Control of verticillium yellows in Chinese cabbage by the dark-septate endophytic fungus LtVB3. Phytopathol. 94:412–418.
- Nassar AH, El-tarabily KA, and Sivasithamparam K. 2005. Promotion of Plant Growth by An Auxin-Producing Isolate of The Yeast *Williopsis saturnus* Endophytic in Mayze (*Zea mays* L.) Roots. Biology fertile soil. vol 42:97-106.
- Neilands JB. 1995. Siderophores: structure and functional of microbial iron transport compounds. The Journal of Biological Chemistry 270(45): 26723-26726.
- Nilsson WB, Strom MS. 2002. Detection and identification of bacterial pathogens of fish in kidney tissue using terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis of 16S RNA genes. Dis Aqua Org 48:175-85.
- Onrizal. 2008. Panduan pengenalan dan analisis vegetasi hutan mangrove. Departemen Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatra Utara. Medan: 1-19.
- Paret ML, Cabos R, Kratky BA, Alvarez AM. 2010. Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* race 4 and bacterial wilt of edible ginger. Plant Dis. 94:521-527p
- Pattiasina TF. 2010. Potensi penggunaan data hyperspectral untuk pemetaan sebaran jenis-jenis mangrove. Warta Konservasi Lahan Basah 18 (1): 16-17.

- Paul NC. 2007. Diversity of endophytic fungi of medicinal plants in Korea and their antifungal and plant growth promoting activity. Masters thesis, Chungnam National University, Daejeon, Republic of Korea.
- Petrini O, Sieber TN, Toti L, Viret O. 1992. Ecology Metabolite Production and Substrate Utilization in Endophytic Fungi. *Natural Toxins* 1:185-196.
- Pham G, Kumari H, Singh R, Sachdev AN, Prasad M, Kaldorf R, Buscot M, Oelmüller F, Pećekan R, Weiss T, Hampp MR, Varma A. 2004. Axenic cultures of *Piriformospora indica*. In: A. Varma, L. Abbott, D. Werner, R. Hampp (Eds.), *Plant Surface Microbiology* (pp 593-616). Springer-Verlag, Germany.
- Poljakoff-Mayber A, Gale J. 2010 *The response of plants to saline environments is of interest to people of many disciplines*. Springer – Verlag - Berlin, Heidelberg. New York.
- Posey D. 1996. *Traditional resource rights : International Instruments for protection and compensation for indigenous and local communities*. Gland –Switzerland –Cambridge : IUCN. The World Conservation Union
- Pracaya. 2008. *Pengendalian Hama & Penyakit Tanaman secara Organik*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Prana TK, Srikandace J, Sumitro E, Wulandari D. 2010 The potency of endophytic fungi of turmeric (*Curcuma longa* L.) in biotransformation of curcumin compounds in various media. *Res J Microbiol* 5:1189–1198
- Primack RB, Supriatna J, Indrawan M, Kramadibrata P. 1998. *Biologi Konservasi*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta
- Rahmat A. 2007. *Jalak putih di pulau dua; Penggunaan formasi vegetasi oleh jalak putih (Sturnus melanopterus, DAUDIN, 1800) di cagar alam pulau dua, teluk banten, propinsi banten*. [skripsi]. UNPAD, Bandung: 100 hlm. <https://skripsi.googlecode.com/files/200701.pdf> 11 Desember 2015, pk. 21.57.
- Rajulu MBG, Thirunavukkarasu N, Suryanarayanan TS, Ravishankar

- JP, El Gueddari NE, Moerschbacher BM. 2011. Chitinolytic enzymes from endophytic fungi. *Fungal Diversity* 47(1):43-53
- Ramdan EP. 2014. Eksplorasi Cendawan Endofit sebagai Agens Pengendali Hayati *Phytophthora capsici* Leonian pada Cabai. Skripsi Institut Pertanian Bogor Agrios GN. 1997. *Plant Pathology*. Tokyo (JP): Pres Tokyo.
- Rastogi G, Sani RS. 2011 Molecular techniques to asses microbial community structure, function and dynamics in the environment. In *Microbes and microbial technology: agricultural and environmental applications* Ahmad I, Ahmad F, Pichtel J, eds, pp 29–57. Springer, New York.
- Reddy PLN, Babu BS, Radhaiah A, Sreeramulu A. 2014. Screening, Identification and Isolation of Cellulolytic fungi from soils of Chittoor District, India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 3(7):761-771.
- Redman RS, Sheehan KB, Stout RG, Rodriguez RJ, Henson JM. 2002. Thermotolerance conferred to plant host and fungal endophyte during mutualistic symbiosis. *Science* 298: 1581
- Reid WV, Laird SA, Gamez R, Sittenfeld A, Janzen DH, Gollin MA, Juma C. 1993. A New Lease On Life. In *Biodiversity Prospecting World Resources Institute*. (W. V. Reid, S. A. Laird, C. A. Meyer, R. Gamez, A. Sittenfeld, D. H. Janzen, M. A. Gollin And C. Juma, Eds) Pp 1-52.
- Roberts PD, McGovern RJ, Kucharek TA, Mitchell DJ. 2000. Vegetable disease caused by *Phytophthora capsici* in Florida. Gainesville (US): Plant Pathology Departement, University of Florida [Internet].
- Rodrigues KF. 1994. The foliar fungal endophytes of the Amazonian palm *Euterpe oleracea*. *Mycologia* 86:376-385.
- Rodriguez RJ, White JF, Arnold AE, Redman RS. 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol* 182(2): 314–330.
- Saari S, Faeth SH. 2012. Hybridization of *Neotyphodium* endophytes enhances competitive ability of the host grass. *New Phytologist* 195(1):231-236

- Sabzalian, MR, Mohammadi R, A.F.Mirlohi. 2004. Role of endophytic fungi in forage production of tall fescue, *Festuca arundinacea*. Forth international Iran and Russia conference. Shahr-e-kord.
- Saeni. 1997. Penentuan Tingkat Pencemaran Logam Berat Dengan analisis Rambut. Orasi Ilmiah. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB. Bogor
- Samanhudi. 2001. Skrining ketahanan klon kentang terhadap penyakit layu bakteri [Internet]. [diunduh 2016 Jan 6]. Tersedia pada <http://pertanian.uns.ac.id>.
- Schadt CW, Mullen RB, Schmidt, SK. 2001. Isolation and phylogenetic identification of a dark-septate fungus associated with the alpine plant *Ranunculus adoneus*. *New Phytologist* 150, 747 – 755
- Schulz B & Boyle C. 2006. What are Endophytes?. Schulz B, Boyle C dan Sieber TN, editor. *Microbial root endophytes*. Berlin (DE): Springer-Verlag.
- Sekiguchi J, Gaucher GM. 1977. Conidiogenesis and secondary metabolism in *Penicillium urticae*. *Appl Environ Microbiol.* 33(1):147-58.
- Semangun H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Yogyakarta (ID): UGM Press
- Setiawati, T.A. Soetiarso, and A.S. Duriat. 2005. Whitefly and its control in Indonesia. pp. 211-225. *Proc. of the International Seminar on Whitefly Management and Control Strategy, Taichung, Taiwan, 3-8 October 2005*.
- Shahab SN, Ahmed, Khan NS. 2009. Indole acetic acid production and enhanced plant growth promotion by indigenous PSBs. *African Journal of Agricultural Research* 4: 1312-1316.
- Shimizu-Sato S, Tanaka M, Mori H. 2009. Auxin–cytokinin interactions in the control of shoot branching. *Plant Mol. Biol*, 69 pp. 429–435
- Shrestha K, Strobel GA, Shrivastava SP, Gewali MB. 2001. Evidence for paclitaxel from new endophytic fungi of Himalayan yew of Nepal. *Planta Med* 67 : 374 - 376.
- Shubakov A, Kucheryavykh P. 2004. Chitinolytic activity of filamentous fungi. *Appl Biochem Microbiol* 40(5):445-447.

- Shyu C, Soule T, Bent SJ, Foster JA, Forney LJ. 2007. MiCA: A Web-Based Tool for the Analysis of Microbial Communities Based on Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphisms of 16S and 18S rRNA Genes. *Journal of Microbial Ecology* 53:562-570.
- Sinclair JB & Cerkauskas RF. 1996. Latent infection vs. endophytic colonization by fungi. In: *Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants* (eds. S.C. Redlin and L.M. Carris). APPS Press, St Paul Minnesota: 3-30.
- Sirait M. 2007. *Penuntun Fitokimia Dalam Farmasi*. Bandung: Penerbit ITB. Hal. 158-159.
- Sitorus SRP & Djokosudardjo. 1979. Susunan Kation pada Kompleks Jerapan Tanah di Daerah Pasang Surut di Indonesia Studi Kasus di Daerah Lagan Pantai Timur Jambi dan Karang Agung Sumatera Selatan. *Proceeding: Simposium Nasional III Pengembangan Daerah Pasang Surut di Indonesia*. Bogor: Direktorat Jenderal Pengairan Departemen Pekerjaan Umum, Institut Pertanian Bogor.
- Šraj-Kržiè N, Pongrac P, Klemenc M, Kladnik A, Regvar M, Gaberšèik A. 2006. Mycorrhizal colonisation in plants from intermittent aquatic habitats. *Aquat Bot.* 85: 331-336.
- Stierle A, Strobel G, Stierle D, Grothaus P, Bignami G. 1995. The search for a taxol-producing microorganism among the endophytic fungi of the Pacific yew, *Taxus brevifolia*. *J. Nat. Prod.* 58, 1315–1324. 10.1021/np50123a002
- Stone JK, Bacon CW, White JF, 2000. An Overview of Endophytic Microbes Endophytism Defined. In: *Microbial Endophytes*, Bacon C.W. and J.F. White (Eds.). Marcel Dekker, New York, pp: 3-29.
- Strobel G, Daisy B . 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67: 491–502
- Strobel GA. 2002. Microbial gifts from rain forests. *Can. J. Plant Pathol.*, 24: 14-20.
- Supriadi, MK, Sitepu D. 2000. Strategy for controlling wilt disease of ginger caused by *Pseudomonas solanacearum*. *J Pengembangan*

- Inovasi Pertanian. 19(3):106–111p
- Supriatna J. 2008. Melestarikan Alam Indonesia. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Suryanaran TS, Vijaykrishna D. 2000. Fungal endophytes of aerial roots of *Ficus benghalensis*. *Fungal Diversity* 6:155-161
- Syarmalina. 2003. Mikroba endofitik dari tanaman mangrove *Avicennia* sp. Penghasil senyawa antimikroba. Tesis Magister Biologi, FMIPA, Universitas Indonesia.
- Taiz L, Zeiger E. 2010.: *Plant Physiology*. 5 thEd. Sinauer Associates, Sunderland
- Takandjandji M & Kwatrina RT. 2011. Pengelolaan Cagar Alam Pulau Dua di Provinsi Banten sebagai Ekosistem Bernilai Penting. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, Vol. 8 No. 1
- Tan RX, Zou WX. 2001. Endophytes : A Rich Source Of Functional Metabolites. *Nat Prod Rep* 18 : 488 - 459
- Tan RX, Zou WX. 2001. Endophytes: A rich source of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 18:448 - 459.
- Taylor LE, Hyde KD, Jones EBG. 1999. Endophytic fungi associated with the temperate palm, *Trachycarpus fortunei*, Within and outside its natural geographic range. *New Phytology*. 142: 335-346
- Tirtana ZYG, Sulistyowati L, Cholil A. 2013. Eksplorasi jamur endofit pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L) serta potensi antagonismenya terhadap *Phytophthora infestans* (mont.) De Barry penyebab penyakit hawar daun secara in vitro. *Jurnal HPT* 1 (3): 91-101.
- Tjondronegoro PD, Natasaputra M, Gumawan AW, Djaelani M, Suwanto A. 1989. *Botani Umum*. PAU Ilmu Hayati Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Tomlinson PB. 1986. *The botany of mangrove*. Cambridge University Press. United Kingdom
- 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.
- Varma A, Verma S, Sudha S N, Butehorn B, Franken P. 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied Environmental Microbiology*. 65, 2741-2744.
- Verma M, Brar SK, Tyagi RD, Surampalli RY, Valero JR. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panolply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* 37: 1-20.
- Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Woo SL, Lorito M. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biol Biochem*. 2008;40:1–10.
- Vu T, Hauschild R, Sikora RA. 2006. *Fusarium oxysporum* endophytes induced 2 systemic resistance against *Radopholus similis* on banana. *Nematol* 8, 847-852.
- Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad MR. 2007. Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany*. 61: 199 -223.
- Waluyo L. 2007. *Mikrobiologi umum*. UMM Press, Malang: xx+344 hlm.
- Wang K, Zhao ZW. 2005. Occurrence of Arbuscular Mycorrhizas and Dark Septate Endophytes in Hydrophytes from Lakes and Streams in Southwest China. *Int. Rev. Hydrobiol*. 91:29-37.
- 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.
- Wattimena GAG, Livy AM, Nurhayati, Endang S, Ni MA, Andri E. 1992. *BioteknologiTanaman*.Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Whipps JM. 2001. Microbial Interactions and Biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 52, 487-511. http://dx.doi.org/10.1093/jexbot/52.suppl_1.487
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. (Innis MA,

- Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, New York, USA: 315–322.
- Wiradinata OW. 1992. Pengaruh Sifat-Sifat Tanah Terhadap Zonasi Hutan Mangrove Banyuwedang, Kabupaten Buleleng, Bali. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Wiratno D, Indriyo A, Syarifudin, Kartikasari A. 2004. Berkaca di Cermin Retak: Refleksi Konservasi dan Implikasi Bagi Pengelolaan Taman Nasional. FOREST Press, The Gibbon Foundation Indonesia, Departemen Kehutanan Republik Indonesia, dan PILI-NGO movement. Jakarta.
- Xin G, Glawe D, Doty SL. 2009. Characterization of three endophytic, indole-3-acetic acid -producing yeasts occurring in *Populus* trees. *Mycol Res.* 113: 973-980
- Yasmin F, Othman R, Sijam K, Saad MS. 2009. Characterization of beneficial properties of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from sweet potato rhizosphere. *African Journal of Microbiology Research* 3(11): 815- 821.
- Zhang J, Wang C, Guo S, Chen J, Xiao P. 1999. Studies on the plant hormones produced by 5 species of endophytic fungi isolated from medicinal plants (Orchidacea). *Acta Acad. Med. Sin.* 21, 460–465.
- Zhang WX. 2003. Nanoscale iron particles for environmental remediation: An overview. *Journal of Nanoparticle Research.* 5, 323-332
- Zitter 1989. *Phytophthora blight of cucurbits, pepper, tomato and egg plant.* New York (US): Cornell University
- Zuhud EAM, Rahayu WP, Wijaya CH, Sari PP. 2001. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* Vol XII No.1 : 6 .

INDEKS

A

- Acanthus 13
- Acremonium 24, 30, 32, 53, 64, 76
- Akar pasak 12
- Amonium persulfat 25
- Artemisia annua 52, 88, 90
- Aspergillus 14, 30, 34, 35, 50, 53, 61, 84
- Auksin 32, 38, 77
- Aureobasidium 30, 37, 38, 53, 54
- Avicennia 12, 13, 14, 29, 30, 31, 94

B

- Banten 3, 4, 5, 7, 9, 29, 30, 32, 53, 76, 94, 95
- Basipetospora 30, 34, 53
- Bioprospeksi 45, 46, 47
- Biotransformasi 53
- Brassica campestris L. 59
- Bruguiera spp 13

C

- Cagar Alam 5, 7, 8, 9, 10, 13, 14, 29, 32, 53, 76, 77, 94
Camptotheca acuminata 24, 87
Candida albicans 14, 35, 53, 54, 55
Cendawan 2, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 47, 50, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 71, 72, 73, 75, 76, 77, 89
Chaetomium sp 59
Choristoneura fumiferana 66
Clavipitaceae 16
Colletotrichum 24, 52, 61, 88
Commision on National Parks and Protected Areas 8

D

- DGGE 23, 24, 89

E

- Ekosistem 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 14, 31, 57, 64, 85
Eksudat akar 18
Endofit 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 47, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 77, 81, 94
Enzim restriksi 25
Evolusi 16, 22

F

- Fase istirahat 49
Fungi 15, 80, 81, 83, 84, 85, 87, 88, 90, 93, 95
Fungistatik 52
Fusarium culmorum 71

G

GC berulang 25

Gliotoksin 20

Gliovirin 20

H

Halofit 10

HCl 27

Hifa 15, 19, 22, 28, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 76

Humicola 30, 33, 53, 54, 82

I

Intraseluler 18, 28, 37

ITS 22, 23, 24, 25, 82

K

Kation 93

Keanekaragaman hayati 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 20, 45, 46, 67

Klei 11, 12

Klei berdebu 11

KOH 10% 27

Konservasi 5, 6, 7, 8, 23, 46

L

Laktofenol 22

Lisat 18

Listronotus bonariensis 65

Logam berat 72

Lom 1, 8, 11, 14, 16, 18, 24, 30, 32, 33, 35, 38, 39, 49, 51, 53, 61, 72, 85, 87

M

Metabolit sekunder 49, 50

Metode Riddel 22
Mikrosklerosia 19
Morfologi 10, 12, 18, 21, 22, 23, 30, 32, 39, 49, 64, 76
Musigel 18

N

Nagoya Protocol 46
Natrium 11, 70
Nematoda 67
Non Clavipitaceae 16
Non vital staining 26, 27

P

Paecilomyces 14, 24, 30, 38, 39, 53, 61, 87
PCR 24, 25, 96
Pengendalian hayati 33, 57, 64
Phoma sp 59
Pinus contorta 75
Polyethylene glycole 71
Pulau Dua 5, 7, 9, 10, 13, 14, 29, 32, 53, 76, 77, 94, 95

Q

Quercetin glycoside 47

R

rDNA ITS 22
Rhizoctonia 30, 36, 37, 53, 54, 80, 81, 89
Rhizophora 13, 29

S

Salinitas 11, 70
Schizaphis graminum 65
Serangga 39, 50, 58, 63, 64, 65, 66
Symbiosis 15, 26, 27, 37

Simbiosis mutualisme 15

Sitokinin 77

T

T-RFLP 25, 26, 88, 89

Tegangan permukaan 56

Trichoderma 14, 18, 20, 24, 60, 61, 71, 80, 95

U

Unsur hara 75

V

Veronaeopsis simplex 19, 59, 86

Verticillium 30, 35, 36, 53, 54, 83

Vital staining 26, 27

W

World Commission on Protected Areas 7

X

Xylaria 24, 81

