

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cendawan endofit merupakan cendawan yang hidup di dalam jaringan tanaman seperti biji, daun, akar, buah, dan batang. Jamur endofit menginvasi tanaman melalui stomata, lentisel, luka alami, radikula yang sedang tumbuh, dan jaringan akar meristematik yang tidak terdiferensiasi (Santoyo et al., 2016). Cendawan endofit memperoleh nutrisi dari hasil metabolisme tanaman, sedangkan tanaman mendapatkan proteksi terhadap herbivor, serangga atau patogen serta memperoleh derivat nutrisi dan senyawa aktif yang dibutuhkan selama hidupnya dari cendawan endofit (Suhandono et al., 2016).

Penelitian yang telah dilakukan Kusumawati et al. (2014) memberikan bukti bahwa cendawan endofit menghasilkan senyawa bioaktif yang mempunyai karakter mirip atau sama dengan senyawa yang diproduksi oleh tumbuhan inangnya. Senyawa bioaktif inilah yang dimanfaatkan dalam berbagai aspek kehidupan seperti kesehatan, pertanian, industri, dan lingkungan (Zhao et al., 2018). Keberadaan populasi jamur endofit sangat bervariasi pada setiap tumbuhan dengan spesies yang sama maupun berbeda. Jamur endofit berkolonisasi di setiap bagian organ tumbuhan terutama pada bagian daun. Studi telah menunjukkan bahwa umur daun mempengaruhi kepadatan jamur endofit pada daun tumbuhan tertentu. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa daun tua menunjang lebih banyak jamur endofit dari pada daun yang relatif muda (Santana, 2011:05).

Tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum*) salah satu jenis tanaman yang memiliki potensi metabolit sekunder yang tinggi, terutama senyawa eugenol yang dikenal memiliki aktivitas antimikroba (Kuswinanti, 2019). Keberadaan senyawa tersebut diyakini berperan dalam membentuk lingkungan mikro yang menunjang pertumbuhan dan keragaman cendawan endofit di dalam jaringan tanaman cengkeh, sehingga eksplorasi cendawan endofit dari tanaman ini diharapkan berpotensi mengidentifikasi spesies atau strain yang berpotensi sebagai agen hayati dan penghasil senyawa bioaktif bernilai tinggi.

Penggunaan mikroba endofit pada tanaman cengkeh sebagai sumber senyawa bioaktif berpotensi menghasilkan produk berkelanjutan yang bermanfaat bagi industri kesehatan dan pertanian. Namun, tantangan masih ada, seperti proses isolasi dan identifikasi yang rumit, konsistensi produksi, serta skalabilitas untuk penerapan luas (Dwimartina et al., 2021). Penelitian ini berfokus pada isolasi cendawan endofit dari jaringan daun dan ranting, karena keduanya merupakan lokasi utama kolonisasi. Menurut Triwidodo et al. (2021), daun memiliki luas permukaan yang memungkinkan cendawan masuk melalui stomata, sedangkan ranting berperan dalam transportasi nutrisi dan menjadi tempat kolonisasi yang mendukung produksi metabolit sekunder. Selain itu, daun dan ranting cengkeh mengandung senyawa bioaktif seperti eugenol, yang dapat memengaruhi komunitas cendawan endofit. Penyebaran cendawan secara horizontal memungkinkan pergerakan lebih bebas,

sehingga populasi cendawan endofit lebih tinggi pada daun dibandingkan jaringan lainnya.

Penelitian oleh Ingkiriwang et al. (2017) menunjukkan bahwa eksplorasi tanaman *Syzygium* dapat dilakukan dengan pendekatan molekuler melalui analisis DNA, seperti teknik DNA barcoding, serta identifikasi morfologi dan karakteristik spesies. Di Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Universitas Hasanuddin, Nurul Fadilah (2024) telah mengidentifikasi spesies *Syzygium sp.* berdasarkan penanda morfologi dan molekuler. Berdasarkan informasi tersebut, eksplorasi lebih lanjut dilakukan pada *S. aromaticum* (cengkeh), dengan fokus pada identifikasi makroskopis dan mikroskopis jaringan daun serta ranting. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan mengenai senyawa bioaktif yang berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroba.

1.2 Landasan Teori

Cendawan endofit adalah mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan penyakit (Kuswinanti, 2019). Keberadaannya dapat memberikan manfaat, seperti perlindungan dari patogen dan peningkatan toleransi terhadap stres lingkungan (Masdan & Kadir, 2020). Dalam interaksi ini, cendawan memanfaatkan nutrisi dari inangnya, sementara tanaman mendapatkan perlindungan dan ketahanan tambahan. Selain itu, cendawan endofit sering menghasilkan metabolit sekunder, seperti senyawa antimikroba dan antioksidan, yang mendukung pertumbuhan serta ketahanan tanaman (Gusmao, Monteiro, & Maia, 2018).

Cendawan endofit membantu tanaman melawan patogen dengan merangsang sistem pertahanan atau bersaing dalam ruang dan nutrisi (Masdan & Kadir, 2020). Beberapa cendawan ini juga menghasilkan senyawa bioaktif seperti antimikroba, anti fungi, dan antioksidan, yang tidak hanya melindungi tanaman, tetapi juga berpotensi dimanfaatkan dalam farmasi dan industri pangan (Gusmao, Monteiro, & Maia, 2018). Keunikan cendawan endofit terletak pada kemampuannya mensintesis berbagai metabolit sekunder dengan struktur kimia kompleks dan aktivitas biologis beragam, seperti anti kanker, anti inflamasi, dan penghambat bakteri (Gusmao et al., 2018). Karena potensinya yang besar, eksplorasi cendawan endofit dari berbagai tanaman menjadi langkah strategis untuk menemukan isolat unggul yang dapat dikembangkan lebih lanjut.

Fungi endofit adalah mikroorganisme polifiletik yang hidup di berbagai jaringan tumbuhan, seperti akar, batang, daun, bunga, biji, dan buah, tanpa merugikan inangnya (Habisukan et al., 2021). Keberadaannya bervariasi pada setiap tumbuhan, dengan kolonisasi utama pada akar dan batang. Batang memiliki dinding sel parenkim yang menjadi tempat hidup miselium fungi endofit (Suliaty et al., 2017). Fungi endofit menginfeksi jaringan tanaman sehat tanpa menunjukkan gejala, tetapi menghasilkan enzim, metabolit sekunder, mikotoksin, dan antibiotik yang bermanfaat bagi ketahanan tanaman terhadap patogen. Sebaliknya, fungi endofit memperoleh nutrisi dari tanaman inang untuk melengkapi siklus hidupnya. Akar adalah bagian tanaman yang paling banyak mengandung fungi endofit karena eksudat akar

menyediakan nutrisi bagi mikroorganismenya, sehingga jumlahnya lebih tinggi dibandingkan bagian tanaman lainnya (Rahayu et al., 2019).

Fungi endofit dan tumbuhan inangnya hidup dalam hubungan mutualisme, di mana fungi memperoleh nutrisi dari tanaman, sementara tanaman mendapat perlindungan dari patogen dan meningkat ketahanannya terhadap kekeringan. Selain itu, fungi endofit membantu tanaman menghadapi stres abiotik, seperti toleransi terhadap suhu ekstrem, pH rendah, salinitas tinggi, serta mendeteksi keberadaan logam berat dalam tanah (Akmalasari et al., 2013).

Cengkeh (*S. aromaticum*), yang banyak ditemukan di Maluku, Sulawesi, dan sekitarnya, termasuk dalam famili Myrtaceae dan ordo Myrtales. Tanaman ini memiliki batang berkayu keras, dapat tumbuh hingga 20-30 meter, dan bertahan lebih dari 100 tahun. Cengkeh tumbuh optimal di daerah tropis dengan ketinggian 600-1000 meter di atas permukaan laut (dpl). Daunnya merupakan daun tunggal dengan tangkai kaku dan tebal sepanjang 2-3 cm. Bentuknya lonjong dengan ujung runcing, tepi rata, serta tulang daun menyirip. Panjang daun berkisar 6-13 cm dan lebarnya 2,5-5 cm. Daun muda berwarna hijau muda, sedangkan daun tua berwarna hijau kemerahan (Mohammed et al., 2015).

Cengkeh (*S. aromaticum*) adalah rempah bernilai ekonomi tinggi yang digunakan secara turun-temurun sebagai bumbu dan obat tradisional. Tanaman ini mengandung senyawa fitokimia dengan sifat antioksidan, seperti saponin, tannin, alkaloid, glikosida, flavonoid, dan minyak atsiri. Kandungan minyak atsiri pada bunga cengkeh mencapai 14-21%, dengan eugenol sebagai senyawa utama sekitar 72-95% (Hadi, 2012; Prastya et al., 2019). Eugenol memberikan aroma khas pada cengkeh, menjadikannya bahan penting dalam industri farmasi, makanan, rokok, parfum, serta sebagai agen antibakteri alami (Kuswinanti, 2019).

Syzygium aromaticum juga memiliki potensi lebih dalam menunjang keanekaragaman mikroorganismenya, khususnya cendawan endofit yang menghuni jaringan tanamannya. Kandungan metabolit sekunder pada cengkeh, seperti senyawa fenol dan eugenol, diyakini memengaruhi komunitas cendawan endofit, yang memiliki adaptasi khusus untuk hidup berdampingan dengan tanaman kaya metabolit sekunder. Cendawan ini berpotensi menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat dikembangkan menjadi agen hayati untuk pengendalian hama dan penyakit tanaman, selain menunjang inovasi di bidang farmasi dan pertanian (Kuswinanti, 2019).

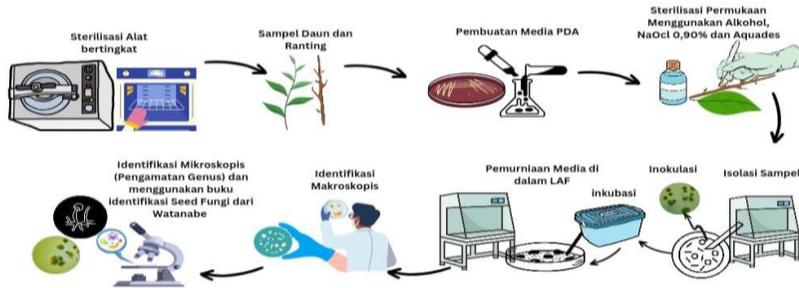
Identifikasi cendawan endofit dimulai dengan pengamatan makroskopis, seperti warna, bentuk, tepi, tekstur, dan pola pertumbuhan koloni pada media agar (Barnett & Hunter, 1998). Selanjutnya, dilakukan pengamatan mikroskopis untuk melihat struktur reproduksi, seperti konidiofor, konidia, sporangium, bentuk hifa, serta ukuran dan bentuk spora (Choi, Hyde, & Ho, 1999). Kombinasi ciri makroskopis dan mikroskopis digunakan sebagai dasar identifikasi hingga tingkat genus atau spesies dengan bantuan kunci determinasi dan referensi mikologi. Meskipun ciri makroskopis memberikan gambaran awal, konfirmasi mikroskopis tetap diperlukan karena beberapa cendawan memiliki kemiripan secara makroskopis. Sebaliknya,

pengamatan mikroskopis saja sering kali tidak cukup untuk memastikan spesies secara akurat (Barnett & Hunter, 1998).

Kawasan Hutan dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Universitas Hasanuddin merupakan area yang dimanfaatkan untuk penelitian, pendidikan, dan pelatihan, dengan kondisi lingkungan yang menunjang keanekaragaman hayati, termasuk mikroorganisme seperti cendawan endofit (Kuswinanti, 2019). Variasi faktor lingkungan, seperti kelembapan, suhu, dan interaksi ekosistem yang kompleks, berperan dalam menunjang keragaman cendawan endofit di kawasan ini. Potensi ekosistem KHDTK Unhas menjadi peluang untuk penelitian lebih lanjut, khususnya dalam bidang mikologi.

Penelitian cendawan endofit yang diisolasi dari tanaman cengkeh (*S. aromaticum*) di KHDTK Unhas memiliki peran penting dalam mengungkap keanekaragaman mikroorganisme, sekaligus memberikan kontribusi terhadap pengembangan agen hayati dan penemuan senyawa bioaktif baru. Temuan ini diharapkan berpotensi menunjang inovasi di sektor pertanian dan industri farmasi, serta meningkatkan nilai ekonomi tanaman cengkeh secara berkelanjutan (Masdan & Kadir, 2020). Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik untuk meneliti dan mengeksplorasi tentang potensi tanaman cengkeh sebagai inang cendawan endofit di ekosistem KHDTK Unhas, dengan fokus pada identifikasi makroskopis dan mikroskopis cendawan endofit pada jaringan tanaman sebagai sumber bioaktif. Selain memperkaya data keanekaragaman hayati, penelitian ini juga berpotensi membuka peluang pengembangan produk hayati yang ramah lingkungan, mendorong konservasi, dan memastikan pemanfaatan sumber daya hayati secara berkelanjutan. Penemuan spesies cendawan endofit yang potensial diharapkan mampu menunjang inovasi di bidang pertanian, kesehatan, dan industri berbasis hayati.

jaringan tanaman. Tahap selanjutnya metode pemurnian dan tahap terakhir melakukan identifikasi makroskopis dan mikroskopis.



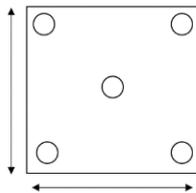
2.3.1 Sterilisasi Alat Bertingkat

Gambar 2. Ilustrasi Alur Penelitian

Sterilisasi yang dilakukan yaitu dengan cara bertingkat menggunakan autoklaf dan oven (Suharti & Rahmayati, 2022). Alat yang berbahan dasar *glass* dicuci bersih kemudian dikeringkan. Setelah kering, alat *glass* dibungkus menggunakan kertas bekas lalu dilakukan proses sterilisasi uap panas menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 20 menit. Setelah dilakukan sterilisasi uap panas, dilakukan sterilisasi panas kering menggunakan oven dengan suhu 150°C selama 2 jam. Alat yang telah melewati sterilisasi disimpan dalam box container dalam suhu ruang laboratorium.

2.3.2 Pengambilan Sampel Daun dan Ranting

Pengambilan sampel daun dilakukan dengan memilih daun yang sehat, tanpa bercak atau tanda serangan patogen, begitu pula dengan rantingnya. Pada penelitian ini, sampel diambil dari pohon yang memiliki diameter lebih dari 20 cm dan jaraknya tidak berdekatan dengan pohon lain, yaitu sekitar ± 5 meter. Pemilihan pohon yang daun dan rantingnya dijadikan sampel dilakukan menggunakan metode *systematic sampling*. Metode ini adalah teknik pengambilan sampel dengan memilih sejumlah tanaman yang terletak di posisi garis diagonal dalam suatu area, sehingga diperoleh lima tanaman yang mewakili dari satu lahan (Gambar 3). Tujuan dari pengambilan sampel ini adalah untuk mendapatkan sampel yang representatif, yaitu sampel yang memiliki karakteristik serupa dengan populasi asalnya (Hibberts et al., 2012). sampel ini adalah untuk mendapatkan sampel yang representatif, yaitu sampel yang memiliki karakteristik serupa dengan populasi asalnya (Hibberts et al., 2012).



Gambar 3. Sketsa Plot Pengambilan Sampel (Sistematik Sampling)

2.3.3 Pembuatan Media

Pembuatan media menggunakan bahan *Potato Dextrose Agar* (PDA). Media PDA memiliki formulasi nutrisi yang sederhana, sehingga memudahkan cendawan dalam menyerap nutrisi (Jahra et al., 2019). Langkah pembuatan media PDA dimulai dengan menyiapkan 19,8 g PDA dan mencampurkannya dengan 250 ml aquades. Campuran ini kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, dihomogenkan, dan dipanaskan selama 10 menit menggunakan *Hot Plate stirrer* pada suhu 60°C dengan kecepatan 500 rpm. Setelah itu, media PDA disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Penambahan cloramfenikol sebagai antibakteri dilakukan setelah media dikeluarkan dari autoklaf, dengan suhu media berkisar antara 50°C hingga 55°C. Proses menuangkan media PDA ke dalam cawan petri dilakukan di dalam *Laminar Air Flow*.

2.3.4 Sterilisasi Permukaan

Perlakuan sterilisasi permukaan dilakukan untuk menghilangkan mikroba yang berasal dari eksplan, lingkungan sekitar, ruang kultur yang kurang steril, maupun saat proses pengambilan sampel (Elfiani & Jakoni, 2015). Sterilisasi permukaan dilakukan dengan mencuci sampel daun dan ranting menggunakan air mengalir. Setelah itu, sterilisasi dilanjutkan dengan merendam daun dan ranting dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian direndam dalam larutan NaOCl (Natrium Hipoklorit) 0,90% selama 1 menit. Proses sterilisasi menggunakan alkohol dan NaOCl dilakukan dua kali secara bertahap. Setelah itu, kedua bahan tersebut dibilas kembali menggunakan aquades dan ditiriskan.

2.3.5 Isolasi Jamur Endofit dari Jaringan Tanaman

Isolasi jaringan tanaman merupakan proses memisahkan mikroorganisme endofit dari lingkungannya dan menumbuhkannya sebagai biakan murni. Daun dipotong menggunakan gunting steril dengan ukuran 1x1 cm, sedangkan ranting dipotong sepanjang 1 cm dan dibelah menggunakan pisau steril (*scalpel*). Potongan daun dan ranting tersebut kemudian diletakkan pada permukaan media PDA dengan posisi jaringan daun menempel pada media. Daun yang ditanam sebanyak 2 potongan begitu pun dengan ranting yang dibelah menjadi dua potongan. Prosedur ini dilakukan di dalam *Laminar Air Flow*. Cawan petri yang berisi sampel yang telah diisolasi kemudian dimasukkan ke dalam kotak inkubasi. Pemurnian cendawan yang tumbuh selama proses isolasi, dimurnikan dengan cara mentransfer secara aseptik sebagian miselium cendawan ke dalam media kultur baru yang telah berisi sampel isolat. Biakan yang telah murni diinkubasi dengan suhu ruangan yaitu kurang lebih 28°C selama 3-7 hari. Pemurnian dilakukan berulang kali hingga sampel koloni benar-benar murni, sehingga selama masa inkubasi akan terlihat perubahan pada media isolat. dan diinkubasi pada suhu kamar (25°-28°C) selama 5-7 hari atau hingga terlihat pertumbuhan jamur (Widowati et al. 2016).

2.3.6 Pemurnian Jamur

Pemurnian jamur dilakukan jika koloni jamur terindikasi kontaminasi atau terdapat lebih dari satu jenis jamur yang tumbuh di cawan petri. Pemurnian (*purification*) adalah proses dalam penelitian mikrobiologi yang bertujuan untuk mendapatkan kultur murni tanpa adanya kontaminasi dari mikroorganisme lain (Ed-har et al., 2017). Pemilihan koloni mikroba yang dimurnikan didasarkan pada perbedaan morfologi koloni, seperti warna, elevasi, tekstur permukaan, garis radial, lingkaran konsentris, serta tetes eksudat, sehingga dihasilkan isolat murni.

Prosedur pemurnian jamur dimulai dengan menandai koloni jamur yang akan diambil menggunakan *spread* bor dan jarum ose yang sudah disterilkan, memilih koloni mikroba yang akan dimurnikan berdasarkan perbedaan morfologi, seperti bentuk dan warna di bagian depan serta belakang koloni (*reverse of colony*) pada cawan petri, kemudian mengambil satu koloni jamur yang akan dimurnikan menggunakan jarum preparat steril dengan metode titik. Setelah itu, koloni jamur ditempatkan di tengah media PDA yang sudah diberi garis, dan dilakukan pengamatan selama 4-7 hari.

2.3.7 Identifikasi Cendawan Makroskopis

Identifikasi jamur secara makroskopis dilakukan dengan observasi visual terhadap morfologi koloni jamur yang tumbuh. Identifikasi ini meliputi pengamatan warna koloni, bentuk koloni dalam cawan petri, tekstur koloni (halus, berbulu, berkerut, dan lain-lain), konsistensi koloni (berlendir, kering, atau lembut), serta kecepatan pertumbuhan koloni (cm/hari). Pengukuran diameter isolat juga dilakukan memanfaatkan penggaris. Selama proses ini, dokumentasi koloni jamur dilakukan dengan memotret setiap peralihan yang terjadi. Ciri-ciri morfologi temuan observasi kemudian dibandingkan dengan literatur atau *database* yang tersedia, seperti buku *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Culture Fungi and Key to Species*, Edisi Ketiga, karya Watanabe (2010).

2.3.8 Identifikasi Cendawan Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis mencakup adanya atau tidaknya septa pada hifa (bercabang atau tidak bercabang), serta warna hifa dan konidia. Prosedur identifikasi jamur secara mikroskopis dimulai dengan mengambil sebagian kecil miselium dari koloni jamur yang tumbuh. Miselium tersebut diletakkan di atas kaca objek dan ditambahkan tetes aquades steril. Kemudian, ditutupi dengan kaca penutup dan diamati di bawah mikroskop cahaya. Temuan pengamatan ini kemudian dibandingkan dengan ciri-ciri mikroskopis jamur (hifa, spora, konidia) yang terdapat dalam deskripsi literatur jamur endofit, memanfaatkan buku *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Culture Fungi and Key to Species*, Edisi Ketiga, karya Watanabe (2010), sebagai acuan.