

## Observasi Histologik dan Identifikasi Fungi Endofit yang Diisolasi dari *Cananga odorata* (Lam.) Hook.F. & Thomson

### Histologic Observation and Identification of Endophytic Fungi Isolated from *Cananga odorata* (Lam.) Hook.F. & Thomson

Utami Sri Hastuti<sup>1,\*</sup>, Dwi Rahmawati<sup>1</sup>, Ria Yustika Sari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Malang, Indonesia

\*Corresponding author: tuti\_bio\_um@yahoo.com

**Abstract:** Some endophytic fungi live in medicinal plant tissue, include medicinal plant. This research was done to: 1) determine the endophytic fungi position in the *Cananga odorata* plant tissue by histological observation; 2) identify the endophytic fungi species isolated from the leaf, twig, and petal flower of *C. odorata*. The position determination of endophytic fungi in the *C. odorata* plant tissue is done by microscopic observation. The endophytic fungi were isolated from the leaf, twig, and flower petal of *C. odorata* plant by cutted these plant parts, then inoculated on Potato Dextrose Agar (PDA) medium and incubated in 27°C during 7 x 24 hours, each fungi that grow on the PDA medium were isolated, then the morphology and microscopic characteristic of each fungi colony isolates were described. Each endophytic fungi isolates were identified. The research result were: 1) the endophytic fungi position are on the epidermis cell wall and on the stomata guard cell wall of the leaf tissue, on the parenchymal cell wall of the twig tissue, and on the epidermis cell wall of the flower tissue; 2) Nine endophytic fungi species were isolated from the *C. odorata* leaf, twig, and flower petal are: *Nigrospora sphaerica*, *Colletotrichum alienum*, *Mycellia sterilia*1, *C. kahawae*, *Rhizoctonia* sp., *C. aotearoa*, *Micellia sterilia*2, *C. alatae*, dan *C. queenslandicum*.

**Keywords:** endophytic fungi, *Cananga odorata*, histologic observasion, identification

## 1. PENDAHULUAN

Kenanga (*Cananga odorata*) merupakan salah satu macam tanaman yang sering dipanen bunganya yang berbau harum dan digunakan dalam acara-acara ritual adat. Minyak atsiri yang diekstrak dari tanaman digunakan terutama dalam industri parfum, selain itu juga digunakan untuk aroma terapi (Loh *et al.*, 2015). Ekstrak tanaman tersebut juga dapat dimanfaatkan untuk mengobati beberapa penyakit, misalnya: malaria, bronchitis. Ekstrak kenanga mempunyai sifat antimikroba, antiinflamasi. Beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman tersebut meliputi: monoterpen, sesquiterpen dan phenilpropanoid (Loh *et al.*, 2015).

Tanaman kenanga mempunyai daya adaptasi tinggi terhadap lingkungannya dan dapat tumbuh pada semua jenis tanah. Oleh sebab itu kenanga relatif mudah dijumpai dan digunakan untuk berbagai keperluan, termasuk untuk pengobatan melalui ekstrak tanaman yang bersifat antimikroba. Selain mempunyai adaptasi tinggi pada habitatnya, ada kemungkinan tanaman kenanga hidup bersimbiosis mutualisme dengan fungi endofit yang hidup dalam jaringan tanaman inang. Fungi endofit melindungi tanaman inang dari mikroorganisme penyebab penyakit dan hewan herbivora, sebaliknya

fungiendofit mendapat tempat hidup dan nutrisi dalam jaringan tanaman inangnya. Fungi endofit selain mendapat nutrisi dan tempat hidup, juga mendapat perlindungan dari faktor- faktor abiotik yang merugikan dengan cara hidup bersimbiosis mutualisme dengan tanaman inang (Clay &Schardl, 2002). Beberapa spesies fungi endofit mampu menghasilkan senyawa-senyawa yang bersifat antibakteri, antiviral, antifungal, antiinflamasi, dan antitumor, sehingga dapat melindungi tanaman inang dari infeksi yang disebabkan oleh mikroba. Senyawa-senyawa yang dapat dihasilkan oleh fungi endofit dan dapat melindungi tanaman inangnya termasuk dalam kelompok alkaloid, steroid, flavonoid dan terpenoid (Guo *et al.*, 2008; Yu *et al.*, 2010). Pada beberapa tanaman yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat ditemukan beberapa spesies fungi endofit. Beberapa spesies fungi endofit hidup dalam jaringan tanaman kemangi (*Ocimum sanctum*), yaitu: *Aspergillus candidus*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *A. japonica*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium avenaceum*, *Alternaria humicola*, dan *Mycelia sterilia* (Sharma & Kumar, 2013). Fungi endofit *Trichoderma viridae* dan *Alternaria* sp. terdapat dalam akar *Zingiber nimmonii* (Das, 2012). Fungi endofit yang hidup dalam jaringan tanaman inang juga dapat memproduksi metabolit yang sama atau dengan



aktivitas yang lebih tinggi daripada yang dihasilkan oleh tanaman inangnya.

Fungi endofit yang hidup dalam jaringan tanaman kenanga masih belum diteliti secara histologik tentang keberadaannya dalam jaringan tanaman tersebut, selain itu juga belum dilakukan identifikasi untuk menentukan nama-nama spesiesnya. Apabila spesies-spesies fungi endofit yang hidup dalam daun, ranting dan mahkota bunga kenanga dapat diisolasi dan diidentifikasi serta diteliti letaknya melalui observasi histologik, maka akan memperluas wawasan tentang fungi endofit pada kenanga. Selain itu perlu juga dilakukan analisis kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh spesies-spesies fungi endofit pada kenanga. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit dapat dideteksi dalam kultur cair fungi endofit yang terisolasi dari daun, ranting dan mahkota bunga kenanga. Hal ini merupakan alternatif lain untuk memperoleh metabolit sekunder, disamping dengan cara mengekstraksi bagian-bagian tanaman kenanga. Penelitian ini bertujuan untuk: 1) menentukan letak fungi endofit dalam jaringan tanaman *Cananga odorata*, 2) mengidentifikasi fungi endofit yang diisolasi dari daun, ranting, dan mahkota bunga *C. odorata*.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah bagian-bagian tanaman kenanga, yaitu: daun, ranting, dan mahkota bunga, aquades steril, alkohol 70%, larutan NaOCl 1%, medium lempeng PDA, larutan lachtophenol cotton blue.

### 2.2. Prosedur

#### 2.2.1 Preparasi Daun, Ranting Dan Mahkota Bunga Kenanga Untuk Menentukan Letak Fungi Endofit Dalam Jaringan Tanaman Kenanga

Bagian-bagian tanaman kenanga yang berupa: daun, ranting dan mahkota bunga dicuci bersih, kemudian dikering-anginkan. Bagian daun dibuat sayatan paradermal dan transversal, ranting dibuat sayatan transversal, sedangkan mahkota bunga dibuat sayatan paradermal dengan menggunakan silet yang tajam. Selanjutnya masing-masing sayatan dibuat preparat yang ditetesi dengan larutan lactophenol cotton blue dan diamati menggunakan mikroskop cahaya. Pengamatan dilakukan terhadap letak hifa pada jaringan daun, ranting dan mahkota bunga.

#### 2.2.2 Isolasi dan Identifikasi Kapang Endofit dalam Jaringan Daun, Ranting dan Mahkota Bunga Kenanga

Daun dan mahkota bunga dipotong dengan ukuran 1x1 cm<sup>2</sup>, ranting dipotong dengan ukuran panjang 0,5 cm. Tiap bagian tanaman disiapkan 3 potong dan dibuat sebanyak 3 ulangan. Semua potongan bagian tanaman tersebut direndam larutan NaOCl 1% selama 1 menit, dibilas dengan aquades steril, lalu direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian dibilas lagi dengan aquades steril. Selanjutnya potongan bagian tanaman tersebut diinokulasikan pada medium lempeng PDA, tiap medium lempeng PDA diinokulasi dengan 3 potongan bagian tanaman yang sama, selanjutnya diinkubasikan selama 7x24 jam dengan suhu 27<sup>0</sup>C. tiap macam koloni fungi endofit diisolasi dan dibuat preparat. Preparat dibuat dengan metode slide culture.

#### 2.2.3 Identifikasi Fungi Endofit yang Terisolasi dari Jaringan Tanaman Kenanga

Tiap isolat fungi endofit dideskripsikan ciri-ciri morfologi koloni dan ciri-ciri mikroskopisnya, kemudian dirujuk pada buku kunci identifikasi fungi untuk menentukan spesies fungi endofit.

## 3. HASIL DAN DISKUSI

### 3.1. Hasil Observasi Histologi Terhadap Letak Fungi Endofit Pada Jaringan Daun, Ranting Dan Mahkota Bunga Kenanga

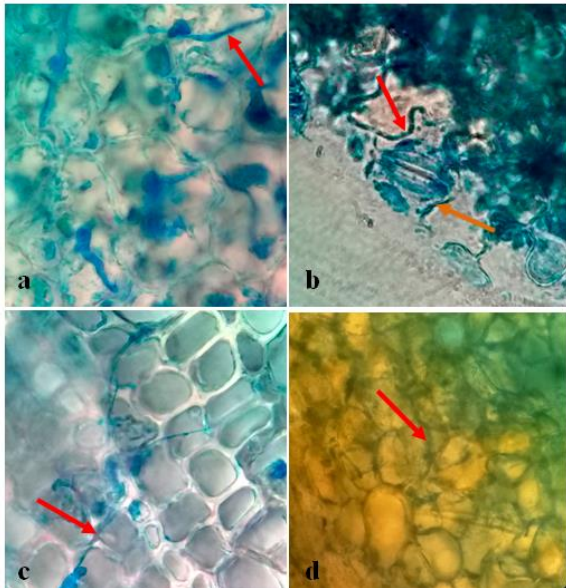
Observasi histologik terhadap letak fungi endofit pada jaringan daun, ranting dan mahkota bunga kenanga dilakukan secara mikroskopis. Miselium fungi endofit ditemukan pada dinding sel epidermis dan dinding sel penutup stoma daun (Gambar 1a dan 1b), pada dinding sel parenkim ranting (Gambar 1c), dan pada dinding sel epidermis mahkota bunga (Gambar 1d). Tidak ada miselium yang menembus dinding sel maupun sitoplasma. Walaupun fungi endofit hidup dalam jaringan tanaman inang, tetapi fungi endofit tidak menyebabkan kerusakan pada inangnya. Fungi endofit tidak menyerap nutrisi dari sel inangnya, melainkan hanya menyerap sedikit nutrisi yang tidak digunakan oleh inangnya, sehingga tidak menyebabkan kematian pada tanaman kenanga.

### 3.2. Hasil Identifikasi Fungi Endofit yang Diisolasi dari Tanaman Kenanga

Fungi endofit yang terisolasi dari daun, ranting dan mahkota bunga kenanga berjumlah 9 isolat.

Selanjutnya masing-masing isolat fungi endofit dideskripsikan ciri-ciri morfologi koloni dan ciri-ciri mikroskopisnya. Ciri-ciri mikroskopis dideskripsi berdasarkan hasil pengamatan preparat yang dibuat dengan metode slide culture. Selanjutnya ciri-ciri dari masing-masing isolat fungi endofit dirujuk pada buku kunci identifikasi untuk menentukan nama spesies. Tabel 1 menjelaskan nama-nama spesies fungi endofit pada tanaman kenanga yang diteliti. Hasil deskripsi ciri-ciri morfologi koloni dan ciri-ciri mikroskopis masing-masing isolat fungi endofit ditunjukkan pada Tabel 2.

6	F	<i>Colletotrichum autearoa</i>	Daun, mahkota bunga
7	G	<i>Mycellia sterilia 2</i>	Daun, ranting, mahkota bunga
8	H	<i>Colletotrichum alatae</i>	Daun, mahkota bunga
9	I	<i>Colletotrichum queenslandicum</i>	Daun, ranting, mahkota bunga



Gambar 1. Hasil observasi histologik terhadap letak fungi endofit pada jaringan daun, ranting dan mahkota bunga kenanga. Keterangan: (a) pada dinding sel epidermis daun (tanda panah merah); (b) pada dinding sel penutup stoma (tanda panah coklat) dan pada dinding sel epidermis daun (tanda panah merah); (c) pada dinding sel parenkim ranting (tanda panah merah); pada dinding sel epidermis mahkota bunga (tanda panah merah).

Berdasarkan hasil identifikasi terhadap 9 isolat fungi endofit yang terisolasi dari daun, ranting dan mahkota bunga kenanga dapat ditentukan nama-nama spesies fungi endofit berikut ini.

Tabel 1. Nama Spesies Fungi Endofit yang Terdapat pada Daun, Ranting dan Mahkota Bunga Kenanga

No	Kode Isolat	Nama Fungi	Bagian Tanaman
1	A	<i>Nigrospora sphaerica</i>	Mahkota bunga
2	B	<i>Colletotrichum alienum</i>	Daun, mahkota bunga
3	C	<i>Mycellia sterilia 1</i>	Ranting, mahkota bunga
4	D	<i>Colletotrichum kahawae</i>	Daun
5	E	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Daun

Letak fungi endofit dapat diamati melalui preparat jaringan tanaman yang dibuat melalui irisan paradermal atau transversal. Miselium dapat diamati letaknya antara lain: pada ruang antar sel, melekat pada dinding sel epidermis, dinding sel penutup stoma, dan dinding sel parenkim. Fungi endofit dapat ditemukan pada beberapa bagian tanaman, antara lain: akar, rimpang, daun, batang, dan bunga. Miselium fungi endofit terdapat pada jaringan epidermis dan korteks akar, batang dan daun *Stevia rebaudiana* (Bert); miselium fungi endofit juga ditemukan mengelilingi dinding sel xilem dan floem tanaman inang tersebut (Kumari & Chandra, 2013). Miselium fungi endofit yang terdapat pada bagian daun dan batang tanaman *Azadirachta indica* dijumpai pada dinding sel epidermis, sel palisade, sel parenkim sponsa, jaringan ikatan pembuluh pada daun dan batang (Verma *et al.*, 2012). Hasil observasi mikroskopis pada tanaman kenanga menunjukkan bahwa miselium fungi endofit terdapat baik pada daun, ranting, maupun mahkota bunga. Miselium fungi endofit pada bagian-bagian tanaman kenanga tersebut terdapat pada dinding sel epidermis daun dan mahkota bunga, dinding sel penutup stoma daun dan dinding sel parenkim ranting. Fakta tentang letak miselium fungi endofit pada jaringan tanaman kenanga yang sehat tersebut memperkuat informasi mengenai interaksi simbiosis mutualisme antara fungi endofit dan tanaman kenanga sebagai inangnya. Fungi endofit mendapat keuntungan, yaitu tempat hidup dalam jaringan tanaman inang, sehingga terlindung dari faktor-faktor abiotik yang dapat menghambat pertumbuhannya. Di samping itu fungi endofit memperoleh nutrisi di sekitar sel-sel tanaman inang yang tidak dimanfaatkan oleh tanaman kenanga sebagai tanaman inangnya. Sebaliknya fungi endofit dapat melindungi tanaman inangnya dari patogen dan hama, karena menghasilkan senyawa antimikroba (Arnold *et al.*, 2003; Akello *et al.*, 2007).

Fungi endofit yang terisolasi dari tanaman kenanga terdiri dari sembilan spesies, yaitu: *Nigrospora sphaerica*, *Colletotrichum alienum*, *Mycelia sterilia 1*, *Colletotrichum kahawae*, *Rhizoctonia* sp., *Colletotrichum aotearoa*, *Mycelia sterilia 2*, *Colletotrichum alatae*, dan *Colletotrichum queenslandicum*.

Tabel 1. Menunjukkan karakteristik dari fungi endofit yang terisolasi dari daun, ranting dan



mahkota bunga kenanga. *Colletotrichum* spp. mempunyai konidia sebagai organ reproduksi, berbentuk silindris. Bentuk apresorium dari

*Colletotrichum* spp. bervariasi antara silindris dan tidak beraturan.

Tabel 2. Karakteristik Kapang Endofit yang Ditemukan pada Jaringan Daun, Ranting, dan Mahkota Bunga Tanaman Kenanga

Spesies	Kode Isolat	Morfologi Koloni	Vesikula, Metula, Fialida, Bentuk, Ukuran	Konidia, Bentuk, Ukuran	Appresorium, Bentuk, Ukuran	Sklerotium, Bentuk, Ukuran
<i>Nigrospora sphaerica</i>	A	Warna: putih kelabu Karakteristik: kapas Reverse: kelabu kehitaman	Vesikula: pipih, 5µm Metula: tidak ada Fialida: tidak ada	Konidia globose, kasar berduri, 3µm	-	-
<i>Colletotrichum alienum</i>	B	Warna: putih keabu-abuan Karakteristik: kapas Reverse: kuning pucat	-	Konidia silindris, halus, 9-15 µm x 3-5µm	Appresorium silindris dengan ujung membulat, 12,5 µm x 7,5 µm	-
<i>Mycellia sterilia 1</i>	C	Warna: putih kecoklatan Karakteristik: kapas Reverse: putih kecoklatan	-	-	-	Sklerotium, 45 µm -120 µm
<i>C. kahawae</i>	D	Warna: putih kecoklatan Karakteristik: kapas Reverse: coklat kehitam	-	Konidia silindris, halus, 10-15 µm x 2-3 µm	Appresorium tidak beraturan, 9µm x 10µm	-
<i>Rhizoctonia</i> sp.	E	Warna: hitam Karakteristik: serbuk Reverse: hitam pucat	-	-	-	Sklerotium, 50 µm – 37,5 µm
<i>C. aotearoa</i>	F	Warna: putih-merah muda kehitaman Karakteristik: beludru Reverse: merah muda, oranye kehitaman	-	Konidia silindris ujung memulat, halus, 12,5-15µm x 3,75-5µm	Appresorium tidak beraturan, 10 µm x 7,5µm	-
<i>Mycellia sterilia 2</i>	G	Warna: putih kecoklatan Karakteristik: beludru Reverse: putih abu-abu	-	-	-	Sklerotium, 20 µm -100 µm
<i>C. alatae</i>	H	Warna: oranye kehitaman Karakteristik: beludru berserbuk oranye pada permukaan koloni Reverse: oranye-merah muda ber-bercak abu-abu	-	Konidia silindris, kasar, 10-25 µm x 3-5 µm	-	-
<i>C. queenslandicum</i>	I	Warna: putih kehitaman Karakteristik: kapas Reverse: hitam kecoklatan	-	Konidia silindris panjang, 7-15 µm x 3 µm	Tidak beraturan, 10µm x 5µm	-

Konidia pada *Nigrospora sphaerica* berbentuk globose. Warna koloni *Colletotrichum* spp bervariasi antara lain: putih keabu-abuan, putih kehitaman, putih kecoklatan, oranye kehitaman; sedangkan sifat koloni serupa kapas dan adapula yang serupa beludru. Koloni *Nigrospora sphaerica* berwarna putih kelabu dan bersifat serupa kapas. Koloni *Mycelia sterilia 1* dan 2 berwarna putih kecoklatan dan bersifat serupa kapas. Koloni *Rhizoctonia* sp. berwarna hitam dan bersifat serupa serbuk.

*Colletotrichum* spp. Banyak dijumpai sebagai fungi endofit. Hasil penelitian tentang biodiversitas fungi endofit pada tanaman obat tradisional China

menunjukkan bahwa 20% tergolong dalam genus *Colletotrichum* (Huang *et al.*, 2008). *Mycelia sterilia* juga sering ditemukan sebagai fungi endofit pada 27 dari 29 macam tanaman obat yang digunakan dalam *screening* fungi endofit (Huang *et al.*, 2008). *Colletotrichum alienum* dan *Colletotrichum aotearoa* juga ditemukan sebagai fungi endofit pada tanaman *Hedygium acuminatum* Roscoe (Hastuti *et al.*, 2017).

Berdasarkan hasil penelitian ini telah diperoleh informasi bahwa dalam daun, ranting dan mahkota bunga kenanga (*Canarium odorata*) terdapat sembilan spesies fungi endofit yang berada pada



dinding sel epidermis, dinding sel penutup stoma, dan dinding sel parenkim. Perlu dilakukan analisis tentang metabolit sekunder yang dihasilkan oleh masing-masing spesies fungi endofit yang telah ditemukan, agar dapat menambah informasi mengenai potensi fungi endofit sebagai sumber antibiotik alami.

#### 4. SIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini ialah: 1) letak fungi endofit pada dinding sel epidermis daun dan dinding sel penutup stoma daun, dinding sel parenkim ranting, dan dinding sel epidermis mahkota bunga kenanga, 2) sembilan isolat fungi endofit telah terisolasi dari daun, ranting, dan mahkota bunga kenanga, ialah: *Nigrospora sphaerica*, *Colletotrichum alienum*, *Mycelia sterilia* 1, *C. kahawae*, *Rhizoctonia* sp., *C. aotearoa*, *Mycelia sterilia* 2, *C. alatae*, dan *C. queenslandicum*.

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Akelo, J., Dubois, T., Gold, C.S., Coyne, D., Nakaruma, J., Paparu, P. 2007. *Beauveria bassiana* as An Endophyte in Tissue Culture Banana (*Musa* sp.). *Journal of Invertebrate Pathology*, 96: 34-42.
- Arnold, A.E., Mejia, L.C., Kyllö, D., Rujas, E.L., Maynard, Z., Robbins, N., Herre, E.A. 2003. Fungal Endophytes Limit Pathogen Damage in A Tropical Tree. *PNAS Journal*, 100: 15649-15654.
- Clay K & Schardl CL. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist* 160: S99-S127.
- Das, M. 2012. Endophytic Fungi from *Zingiber nimmonii* (J. Graham) Dalzell. (Zingiberaceae): an Endemic Medicinal Plant of Western Ghats, Southern India. International Conference on Biodiversity and Sustainable Energy Development.
- Guo L. D., Huang G. R., Wang Y. (2008). Seasonal and tissue age influences on endophytic fungi of *Pinus tabulaeformis* (Pinaceae) in the Dongling Mountains, Beijing. *J. Integr. Plant. Biol.* 50, 997-1003.
- Hastuti, U.S., Al-Asna, P.M., and Rahmawati, D. 2017. Histologic Observation, Identification, and Secondary Metabolites Analysis of Endophytic Fungi Isolated from A Medicinal Plant, *Hedichium acuminatum* Roscoe, dipresentasikan pada The 5th International Conference Biological Sains, 16 September 2017.
- Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Hyde, K.D., Corke, H., Sun, M. 2008. Biodiversity of Endophytic Fungi Associated with 29 Traditional

Chinese Medicinal Plants. *Fungal diversity*, 33: 61-75.

- Kumari, M & Chandra, S. 2013. Localisation and Isolation of Fungal Endophytes from Healthy Tissue of *Stevia rebaudiana* (Bert.). *International Journal of Phytomedicine*, 5(4): 435-440.
- Loh Teng Hern Tan, Learn Han Lee, WaiFong Yin, Chim Kei Chan, Habsah Abdul Kadir, K.G.C. and B.H.G., 2015. Traditional Uses, Phytochemistry, and Bioactivities of *Cananga odorata* (Ylang-Ylang). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Sharma, R & Kumar, V. 2013. Isolation Characterization and Antioxidant Potential of Endophytic Fungi of *Ocimum sanctum* Linn. Lamiaceae. *Indian Journal of Applied Research* 3(7):5-10. \
- Verma, V.C., Singh, S.K., & Kharwar, R.N. 2012. Histological Investigation of Fungal Endophytes in Healthy Tissues of *Azadiracta indica* A. Juss. *Kasetsart J (Nat. Sci)*, 46: 229-237.
- Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., Li, W., Sun, P., Qin, L. 2010. Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiol. Res.*, 165:437-449.

#### Diskusi:

#### Penanya:

Bernadeta Leni Fibriati

Tanaman *Cananga odorata* biasanya diambil bunganya yang berbau harum. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa terdapat fungi endofit baik pada bunga juga pada daun. Bila dibandingkan antara bunga dan daun, lebih banyak spesies fungi endofit yang terdapat dibagian bunga atau daun?

**Jawab:** Baik pada daun maupun bunga *Cananga odorata* terdapat fungi endofit. adapun jumlah spesies pada daun sama dengan pada bunga. Pada umumnya spesies fungi endofit yang terdapat pada bunga juga terdapat pada daun *Cananga odorata*