

**SKRIPSI**

**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK JAMUR ENDOFIT *Aspergillus fumigatus* SEBAGAI SUMBER BAHAN BAKU OBAT**



**Oleh:  
WINDI RAHAYU PUTRI  
NIM: 2010262048**

**PRODI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2024**

**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK JAMUR ENDOFIT *Aspergillus fumigatus* SEBAGAI SUMBER BAHAN BAKU OBAT**

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar  
Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis

Oleh:  
**WINDI RAHAYU PUTRI**  
NIM: 2010262048

**PRODI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2024**



a) Tempat/Tgl lahir : Balai Selasa, 28 Januari 2002, b) Nama Orang Tua (Ayah) Alm.Armon Yandra (Ibu) Rostina, c) Program Studi: Sarjana Terapan TLM; d) Fakultas Ilmu Kesehatan; e) NIM: 2010262048, f) Tgl lulus : 22 Juli 2024, g) Prdikat Lulus : Pujian, h) IPK : 3,78, i) Lama Studi : 4 Tahun, j) Alamat : Pesisir Selatan

**ISOLASI DAN KARAKTERISTIK JAMUR ENDOFIT *Aspergillus fumigatus* SEBAGAI SUMBER BAHAN BAKU OBAT**

**SKRIPSI**

Oleh : Winda Rahayu Putri

Pembimbing : 1.Apt.Dewi Yudiana Shinta,M.Si 2.M.Diki Juliandi,M.Biotek

**Abstrak**

Endofit merupakan mikroorganisme yang menghabiskan seluruh atau sebagian hidupnya di dalam jaringan hidup tanaman inang tanpa menimbulkan gejala yang membahayakan tanaman inang itu sendiri. Mikroorganisme seperti kapang, khamir, dan bakteri berasosiasi dengan tumbuhan dan membantu proses metabolisme dalam produksi metabolit sekunder pada tumbuhan inang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana isolasi dan karakteristik jamur endofit *Aspergillus fumigatus* sebagai sumber bahan baku obat. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksplorasi deskriptif yang dilakukan dengan cara mengisolasi dan mengkarakterisasikan jamur endofit *Aspergillus Fumigatus* dari umbi dahlia (*Dahlia variabilis*). Hasil penelitian yang dilakukan yaitu terdapatnya jamur endofit yang diisolasi dari Umbi Dahlia (*Dahlia Variabilis*), yaitu diperoleh sebanyak 3 isolat jamur endofit dengan kode isolat IST-2, IST-4H, IST-4B yang mempunyai karakteristik koloni berwarna hijau/kecoklatan, hifa yang tidak bersekat, konidia berbentuk bulat tersusun seperti rantai-rantai longgar membentuk askospora. Setelah dilakukan uji PCR didapatkan hasil temuan spesies jamur endofit dari umbi dahlia dengan kode isolat IST-4B yaitu *Aspergillus Fumigatus*. Saran diharapkan pada peneliti berikutnya untuk selalu melakukan identifikasi secara biomolekuler karena jamur endofit yang tumbuh bisa jadi berbeda tergantung dari ekosistem dan lingkungan sekitar.

**Kata Kunci : Isolasi, Jamur endofit, *Aspergillus Fumigatus***

Skripsi ini telah dipertahankan di depan sidang pengujian dan dinyatakan LULUS pada 22 Juli 2024.

Abstrak ini telah disetujui oleh pengujian :

Tanda Tangan	1.	2.	3.
Winda Rahayu Putri	Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si	M.Diki Juliandi, M.Biotek	Adi Hartono, M.Biomed

Mengetahui,

Ketua Program Studi: Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si

Tanda Tangan



a) Place/Date of Birth: Balai Selasa, January 28 2002, b) Names of Parents (Father) Late Armon Yandra (Mother) Rostina, c) Study Program: TLM Applied Bachelor; d) Faculty of Health Sciences; e) NIM: 2010262048, f) Graduation date: July 22 2024, g) Pass Predicate : Commendations, h) GPA : 3.78, i) Length of Study : 4 Years, j) Address : Pesisir Selatan

**ISOLATION AND CHARACTERISTICS OF THE ENDOPHYTIOUS FUNGI *Aspergillus fumigatus* AS A SOURCE OF MEDICINE RAW MATERIALS**

THESIS

By : Windi Rahayu Putri

Mentors : 1. Dr.Apt.Dewi Yudiana Shinta,M.Si 2. M.Diki Juliandi,M.Biotek

**Abstract**

Endophytes are microorganisms that spend all or part of their lives in the living tissue of the host plant without causing symptoms that harm the host plant itself. Microorganisms such as molds, yeasts and bacteria associate with plants and assist metabolic processes in the production of secondary metabolites in host plants. The aim of this research is to determine the isolation and characteristics of the endophytic fungus *Aspergillus fumigatus* as a source of medicinal raw materials. This research was carried out using a descriptive exploration method which was carried out by isolating and characterizing the endophytic fungus *Aspergillus Fumigatus* from dahlia tubers (*Dahlia variabilis*). The results of the research carried out were the presence of endophytic fungi isolated from Dahlia tubers (*Dahlia Variabilis*), namely that 3 isolates of endophytic fungi were obtained with isolate codes IST-2, IST-4H, IST-4B which had characteristics of green/brownish colonies, hyphae that non-separated, round conidia arranged in loose chains to form ascospores. After carrying out the PCR test, the results showed that an endophytic fungal species was found from dahlia tubers with the isolate code IST-4B, namely *Aspergillus Fumigatus*. Advice for future researchers is to always carry out biomolecular identification because the endophytic fungi that grow can be different depending on the ecosystem and surrounding environment.

**Keywords: Isolation, Endophytic fungi, *Aspergillus Fumigatus***

This thesis has been defended in front of the examiner session and was declared to have passed on July 22, 2024.

This abstract has been approved by the examiner:

Signature	1.	2.	3.
Windi Rahayu Putri	Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si	M.Diki Juliandi, M.Biotek	Adi Hartono, M.Biomed

Know

Head of Study Program: Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si

Signature

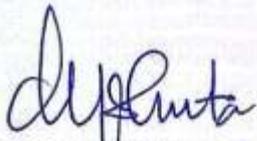
**LEMBAR PERSETUJUAN**

Judul : Isolasi dan Karakteristik Jamur Endofit *Aspergillus fumigatus* sebagai Sumber Bahan Baku Obat  
Nama Mahasiswa : Windi Rahayu Putri  
NIM : 2010262048  
Program Studi : Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis

Skripsi ini telah disetujui oleh Pembimbing untuk diajukan dihadapan dalam ujian komprehensif skripsi, yang merupakan salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis pada Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.

**Menyetujui**  
**Komisi Pembimbing**

**Pembimbing I**



Dr. Apt Dewi Yudiana Shinta, M.Si  
NIDN : 1010017602

**Pembimbing II**



M. Diki Juliandi, M. Biotek  
NIDN : 1010079501

**SKRIPSI****ISOLASI DAN KARAKTERISTIK JAMUR ENDOFIT *Aspergillus fumigatus* SEBAGAI SUMBER BAHAN BAKU OBAT**

Disusun oleh:  
Windi Rahayu Putri  
NIM: 2010262048

Telah diujikan didepan Penguji SKRIPSI  
Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia

Pada tanggal 22 Juli 2024, dan dinyatakan

**LULUS**

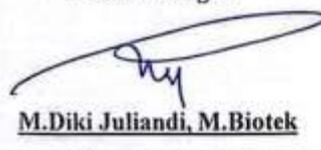
Pembimbing I



Dr. Apt. Dewi Yuliana Shinta, M.S.i

NIDN : 1016017602

Pembimbing II



M. Diki Juliandi, M. Biotek

NIDN: 1010079501

Penguji

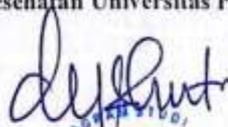


Adi Hartono, M. Biomed

Skripsi penelitian ini telah memenuhi persyaratan sebagai laporan penelitian akhir yang telah dikerjakan

Mengetahui:

Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia



Dr. Apt. Dewi Yuliana Shinta, M.Si

NIDN: 1016017602



**PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Windi Rahayu Putri

NIM : 2010262048

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang ditulis dengan judul "**Isolasi dan Karakteristik Jamur Endofit *Aspergillus fumigatus* sebagai Sumber Bahan Baku Obat**" adalah kerja/karya sendiri dan bukan merupakan duplikat dari hasil karya orang lain, kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar maka status kelulusan saya menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, 22 Juli 2024

Menyatakan



Windi Rahayu Putri



## Plagiarism Checker X - Report

Originality Assessment

# 15%



Overall Similarity

**Date:** Oct 22, 2024

**Matches:** 1410 / 9631 words

**Sources:** 56

**Remarks:** Moderate similarity detected, consider enhancing the document if necessary.

**Verify Report:**

Scan this QR Code



v 9.0.3 - WML 4

FILE - SKRIPSI WINDI RAHAYU PUTRI.DOCX

## BIODATA



Nama : Windi Rahayu Putri  
Tempat, Tanggal Lahir : Balai Selasa, 28 Januari 2002  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Alamat : Pesisir Selatan  
Riwayat Pendidikan : 1. SDN 13 Ranah Pesisir (2008-2014)  
2. SMPN 5 Ranah Pesisir (2014-2017)  
3. SMAN 1 Ranah Pesisir (2017-2020)  
4. Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis  
(2020-2024)

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “**Isolasi dan Karakteristik Jamur Endofit *Aspergillus fumigatus* sebagai Sumber Bahan Baku Obat**”.

Tujuan penulisan skripsi adalah salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan program studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan di Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia Padang.

Dalam Penyelesaian Skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan baik materil maupun moril dari berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Yohanes, SH., MH selaku Ketua Yayasan Perintis Sumbar.
2. Ibu Yaslina, S.Kep. M.Kep, NS. Sp.Kom sebagai PLT Rektor Universitas Perintis Indonesia.
3. Bapak Dr. rer. nat. Ikhwan Resmala Sudji, S.Si., M.Si sebagai Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.
4. Ibu Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si selaku Ketua program studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Perintis Indonesia.
5. Ibu Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si selaku Pembimbing I yang telah mengarahkan, membina, memberi petunjuk dan saran yang senantiasa diberikan kepada penulis.
6. Bapak M. Diki Juliandi, M. Biotek selaku Pembimbing II yang telah memberikan masukan kepada penulis demi tercapainya skripsi ini.

7. Bapak Adi Hartono, M.Biomed selaku penguji yang telah memberi kritik dan saran serta masukan yang membangun dalam proses penulisan skripsi ini.
8. Seluruh Dosen dan staf pengajar Universitas Perintis Indonesia yang telah berkenan memberikan ilmunya kepada penulis.
9. Buk Meri Wulandari, M.Biotek selaku Dosen sekaligus kakak yang sangat hebat dan motivator yang sangat berpengaruh besar pada setiap proses yang telah dilalui si penulis.
10. Alm. Papa Armon Yandra, Laki-laki hebat sekaligus cinta pertamaku, banyak hal yang menyakitkan yang telah saya lalui, babak belur dihajar kenyataan yang terkadang tidak sejalan dengan fikiran, rasa iri dan rindu yang seringkali membuat saya terjatuh dan tertampar realita, tapi itu semua tidak sedikitpun mengurasi rasa semangat saya untuk menggapai ini semua, Doa dari beliau berhasil membuat saya bangkit dari kata menyerah, dan keterpurukan sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik walaupun harus di hiasi dengan air mata atas sebuah kepergian yang tidak pernah saya duga ada di cerita hidup saya. Ini semua ku persembahkan untuk mu malaikat pelindung ku di Surga.
11. Mama tercinta Ibu Rostina, pintu surgaku yang merupakan sosok wanita yang paling hebat dan kuat yang selalu menjadi penyemangat sehingga penulis bisa menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik. Skripsi sederhana ini juga penulis persembahkan untukmu wanita terhebatku. Terimakasih sudah melahirkan, merawat dan membesarkanku dengan penuh cinta dan kasih sayang yang sangat luar biasa , dan terimakasih juga sudah berjuang dan bekerja keras serta

menjadi tulang punggung keluarga untuk kehidupan penulis selama ini sehingga penulis bisa tumbuh dewasa seperti saat sekarang ini.

12. Kakak dan abangku tercinta yaitu Apri Hari Roswinta dan Bayu Sanjaya Putra, yang selalu memberikan dukungan dan motivasi baik secara moril dan materil dengan tulus dan ikhlas.
13. Spesial kepada Fajar Allistio Putra, terimakasih atas waktu, dukungan, semangat, serta telah menjadi tempat berkeluh kesah yang selalu ada dalam keadaan suka maupun duka selama proses penyusunan skripsi ini. You are the best support system.
14. Teman sebaya Friska Marta Ningsih dan Fatiha Muslina yang sudah bersedia menjadi teman sekaligus sahabat sedari maba sampai terselesaikannya skripsi ini, semangat terus untuk kita bertiga untuk menggapai cita-cita kita inginkan.
15. Sahabatku Ilhammi, terimakasih banyak sudah menjadi sahabat dan teman cerita yang selalu ada untuk saya sedari masa putih abu-abu yg selalu menghibur dan memberi semangat kepada saya bahkan di masa terpuruk saya.

Penulis juga menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca guna untuk memperbaiki dan menyempurnakan skripsi ini.

Padang, 22 Juli 2024

Windi Rahayu Putri

## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK .....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PERSETUJUAN .....</b>	Error! Bookmark not defined.
<b>SKRIPSI.....</b>	Error! Bookmark not defined.
<b>PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....</b>	Error! Bookmark not defined.
<b>BIODATA .....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1    Latar Belakang .....	1
1.2    Perumusan Masalah.....	2
1.3    Tujuan Penelitian.....	2
1.3.1    Tujuan Umum .....	2
1.3.2    Tujuan Khusus .....	2
1.4    Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1    Bagi Peneliti .....	3
1.4.2    Bagi Institusi Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1.    Jamur Endofit .....	4
2.1.1    Defenisi Jamur Endofit .....	4
2.1.2    Ekologi jamur endofit .....	6
2.1.3    Manfaat Jamur Endofit.....	6
2.2.    Jamur <i>Aspergillus Fumigatus</i> .....	13
2.2.1    Defenisi <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	13
2.2.2    Morfologi <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	14
2.2.3    Identifikasi <i>aspergillus fumigatus</i> .....	15
2.3. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i> .....	16
2.3.1    Defenisi PCR.....	16
2.3.2    Komponen PCR .....	17

2.3.3	Tahapan PCR .....	19
2.3.4	Manfaat PCR.....	21
2.4.	Isolasi.....	21
2.4.1	Defenisi Isolasi.....	21
2.4.2	Prinsip Isolasi .....	22
2.4.3	Teknik Isolasi .....	23
2.5.	Kerangka Teori.....	24
2.6.	Hipotesis .....	25
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>		<b>25</b>
3.1	Jenis dan Desain Penelitian .....	26
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian .....	26
3.3	Populasi dan Sampel .....	26
3.3.1	Populasi.....	26
3.3.2	Sampel.....	26
3.4	Kriteria Sampel.....	26
3.4.1	Kriteria Inklusi .....	26
3.4.2	Kriteria Eksklusi.....	27
3.5	Teknik Pengambilan Sampel.....	27
3.6	Bahan dan Alat Penelitian .....	27
3.6.1	Bahan.....	27
3.6.2	Alat Penelitian.....	27
3.7	Variabel Penelitian .....	28
3.7.1	Variabel Independen .....	28
3.7.2	Variabel Dependen.....	28
3.8	Defenisi Operasional .....	28
3.9	Pengumpulan, Pengolahan dan Analisis Sampel .....	28
3.9.1	Pengumpulan Sampel.....	28
3.9.2	Pengolahan Sampel .....	29
3.9.3	Analisis Sampel.....	29
3.10	Prosedur Kerja .....	30
3.10.1	Proses Isolasi Jamur Endofit .....	30
3.10.2	Proses Kerja PCR.....	30

3.11 Kerangka Operasional Penelitian .....	32
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>33</b>
4.1 Isolasi Jamur Endofit dari Tanaman Umbi Dahlia ( <i>Dahlia Variabilis</i> ) .	33
4.2 Karakteristik Isolat Jamur Endofit dari Tanaman Umbi Dahlia ( <i>Dahlia Variabilis</i> ).....	34
4.2.1 Makroskopis .....	34
4.2.2 Mikroskopis .....	35
4.3 Hasil <i>sequencing</i> PCR Jamur Endofit IST-4 B .....	39
<b>BAB V PEMBAHASAN .....</b>	<b>42</b>
5.1 Pembahasan .....	42
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>46</b>
6.1 Kesimpulan.....	46
6.2 Saran .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>47</b>

**DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
Defenisi Operasional.....	31
Deskripsi bentuk warna koloni isolat jamur endofit.....	37

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Halaman
Makroskopis <i>flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	17
Mikroskopis jamur <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	17
Pertumbuhan koloni Jamur endofit dari tanaman umbi dahlia ( <i>Dahlia variabilis</i> ).....	36
Hasil Makroskopis Jamur endofit.....	38
Hasil Mikroskopis Isolat Jamur Endofit.....	39

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Endofit merupakan mikroorganisme yang menghabiskan seluruh atau sebagian hidupnya di dalam jaringan hidup tanaman inang tanpa menimbulkan gejala yang membahayakan tanaman inang itu sendiri. Mikroorganisme seperti kapang, khamir, dan bakteri berasosiasi dengan tumbuhan dan membantu proses metabolisme dalam produksi metabolit sekunder pada tumbuhan inang (Shinta, 2021).

Jamur endofit dapat bermanfaat bagi inangnya dengan menghasilkan metabolit sekunder yang memberikan perlindungan, mengatur pertumbuhan, antimikroba, antivirus, dan insektisida, atau bahkan menjadi perantara untuk melindungi terhadap beberapa jenis cekaman abiotik. Produksi metabolit sekunder dianggap disebabkan oleh ko-evolusi atau transfer genetik dari inang ke cendawan endofit (Shinta, 2021).

Selain itu, penelitian (Shinta et al., 2019) menemukan bahwa endofit membantu tanaman inangnya dengan melindunginya dari serangan serangga, patogen, dan hewan herbivora. Dalam penelitian sebelumnya, jamur endofit dari umbi dahlia *Monilia sp* (LBKURCC 40), *Fusarium sp* (LBKURCC 41), *Moniliella sp* (LBKURCC 42), dan *Sporothrix sp* (LBKURCC 43) telah diisolasi. Semua isolat ini menunjukkan bioaktivitas antimikroba terhadap bakteri gram positif dan gram negatif, serta terhadap jamur. *Fusarium sp* (LBKURCC 41) dan *Sporothrix sp* (LBKURCC 43) menghasilkan metabolit sekunder dengan aktivitas antimikro (Shinta et al., 2023).

Tanaman dahlia juga dikenal sebagai dahlia variabilis, merupakan bunga berumbi yang digunakan sebagai tanaman hias atau untuk dipotong. Karena kemampuan tanaman dahlia untuk menghasilkan senyawa bioaktif, tanaman ini dapat digunakan sebagai obat manusia. Diketahui bahwa ekstrak umbi dahlia mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan saponin yang memiliki sifat antimikroba terhadap *S. aureus*, *E. coli*, dan *Bacillus subtilis* (Shinta, 2021).

Berdasarkan hal diatas dengan ini peneliti ingin meneliti tentang isolasi dan karakteristik jamur endofit *Aspergillus fumigatus* sebagai bahan baku obat.

## **1.2 Perumusan Masalah**

1. Bagaimana cara mengisolasi jamur *Aspergillus fumigatus* sebagai sumber bahan baku obat.
2. Bagaimana karakteristik jamur endofit *Aspergillus fumigatus* sebagai sumber bahan baku obat.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui bagaimana isolasi dan karakteristik jamur endofit *Aspergillus fumigatus* sebagai sumber bahan baku obat.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengisolasi jamur endofit *Aspergillus fumigatus* sebagai sumber bahan baku obat.
2. Untuk mengkarakterisasi jamur endofit *Aspergillus fumigatus* dari tanaman umbi dahlia (*dahlia variabilis*).

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Bagi Peneliti**

Menambah dan memperluas ilmu pengetahuan, wawasan serta pengalaman dalam bidang penelitian ilmiah khususnya di bidang toksikologi, serta menambah informasi tentang isolasi dan karakteristik jamur endofit *Aspergillus fumigatus*. Hal ini dapat memberikan kontribusi pada pengembangan karir dan reputasi ilmiah peneliti.

### **1.4.2 Bagi Institusi Penelitian**

Hasil penelitian dapat meningkatkan citra lembaga sebagai pusat penelitian yang berkontribusi pada inovasi di bidang obat-obatan dan sumber daya alam. Penelitian ini juga dapat membuka peluang kolaborasi dan penelitian lanjutan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Jamur Endofit**

##### **2.1.1 Defenisi Jamur Endofit**

Istilah "endofit" mengacu pada jamur yang hidup di dalam tanaman, peneliti kemudian menemukan bahwa bakteri juga dapat hidup di dalam tanaman. (Harmileni et al., 2023).

Endofit merupakan mikroorganisme yang hidup sebagian atau seluruhnya pada jaringan hidup tanaman inangnya. Dalam kebanyakan kasus, semua tumbuhan tingkat tinggi mengandung setidaknya beberapa mikroorganisme endoparasit yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa biologis atau metabolit sekunder. Kemampuan mikroorganisme endofit ini biasanya muncul melalui koevolusi atau transfer gen dari tanaman inang ke mikroorganisme endofit. Kemampuan ini memungkinkan mikroorganisme endofit mengisolasi dari tanaman inang untuk menghasilkan metabolit sekunder. Hal ini semakin menarik karena terdapat sekitar 300.000 spesies tumbuhan di bumi, dan semua tumbuhan mengandung setidaknya satu mikroorganisme endoparasit. (Shinta, 2021).

Tumbuhan tingkat tinggi dihuni oleh mikroorganisme yang disebut endofit. Mikroorganisme endofit berpotensi menjadi sumber metabolit baru dalam bidang medis, pertanian, dan industri. Saat ini, Endofit dianggap sebagai sumber produk alami dengan aktivitas biologis yang sangat baik. Tumbuhan tingkat tinggi hidup di berbagai lingkungan. Kehadiran endofit merupakan faktor penting dalam seleksi tanaman, karena dapat mempengaruhi kualitas dan aktivitas produk yang

berasosiasi dengan endofit. Sejak penelitian tentang endoparasit dimulai pada tahun 1904 di Darnell, Jerman, banyak definisi telah dibuat tergantung pada perspektif penelitian. Mikroorganisme endofit biasanya hidup di dalam tumbuhan tanpa merugikannya. Meskipun endofit sering dianggap sebagai mitra tanaman, mereka juga dapat menjadi saprofit aktif dan patogen. Jamur adalah mikroorganisme endoparasit yang paling umum. Namun, mikroorganisme lain seperti Mycoplasma dan Archaea juga dapat bertindak sebagai endoparasit di dalam tanaman, namun belum ada bukti mengenai hal ini (Harmileni et al., 2023) (Shinta et al., 2023).

Jamur endofit merupakan jamur yang hidup pada sistem jaringan tanaman seperti daun, bunga, tunas, dan akar serta mempunyai kemampuan menginfeksi jaringan tanaman yang sehat dan menghasilkan enzim, mikotoksin, dan antibiotik. Bakteri endofit hidup secara mutualistik dengan tanaman inangnya karena memperoleh nutrisi dari hasil metabolisme tanaman inangnya. Pada gilirannya, endofit berfungsi untuk melindungi tanaman dari kerusakan makanan yang disebabkan oleh hewan, serangga, atau jaringan patogen. Selain itu, tanaman inang menerima nutrisi dan bahan aktif yang penting untuk kelangsungan hidup tanaman dari endofit (Shinta, 2021).

Endofit beradaptasi dengan mengadopsi sebagian DNA tanaman inangnya. Hal ini memungkinkan endofit dan tanaman inangnya menghasilkan senyawa metabolit yang sama. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa berbagai jenis endofit dapat berhasil diisolasi dari tanaman inang dan dikultur pada media yang sesuai. Mikroorganisme endoparasit ini menghasilkan metabolit sekunder

yang dapat diisolasi dan dimurnikan, dan struktur molekulnya kemudian dijelaskan (Shinta, 2021).

### **2.1.2 Ekologi jamur endofit**

Endofit tumbuh dan mengkolonisasi jaringan tanaman (inang), terutama akar, batang, dan daun. Karena bakteri endofit mengalami koevolusi transfer gen dari inang, diduga bakteri endofit dapat menghasilkan senyawa bioaktif dan metabolit sekunder yang sama. Mikroorganisme endofit mempunyai potensi besar dalam pengembangan obat herbal karena mudah dibudidayakan, mempunyai siklus hidup yang pendek, dan dapat menghasilkan banyak senyawa bioaktif melalui fermentasi (Hasiani et al., 2015) .

Jamur endofit berkembang biak di dalam saluran xilem dan berakar hanya ketika inangnya hampir mati. Jamur endoparasit tidak terlihat dan tidak dapat menyerang. Mereka memasuki pembuluh xilem melalui luka, jaringan muda, atau ujung akar. Selain itu, bahan ini tidak menyerang jaringan dan dapat menembus lubang alami tanpa merusak jaringan. Tanaman sehat tidak dirusak oleh kolonisasi bakteri endofit di dalam pembuluh darah kortikal. Jamur endofit ditemukan di banyak spesies tumbuhan di seluruh dunia, termasuk pohon, semak, rerumputan, lumut, pakis, dan lumut kerak (Hasiani et al., 2015).

### **2.1.3 Manfaat Jamur Endofit**

Endofit adalah mikroorganisme jamur atau bakteri yang mengkolonisasi jaringan tanaman sehat tanpa menunjukkan gejala penyakit. Hal ini dapat terjadi secara intraseluler atau antar sel. Mereka ada dimana-mana dan menjajah setiap tanaman. Sampai saat ini, mereka telah memelihara hampir semua sistem yang dipelajari. Mikroorganisme ini berinteraksi dengan inangnya melalui cara yang

kompleks, termasuk mutualisme dan antagonisme, namun interaksi tersebut tidak merugikan tanaman inangnya. Pembatasan pertumbuhan menghambat pertumbuhan endofit, dan endofit secara bertahap beradaptasi dengan lingkungan hidup mereka melalui sejumlah mekanisme. Untuk menjaga kestabilan simbiosis, endofit menghasilkan beberapa senyawa yang mendorong pertumbuhan tanaman dan membantu beradaptasi dengan lingkungan (Harmileni et al., 2023).

Zat bioaktif baru yang sangat penting diproduksi oleh spesies endoparasit. Berbeda dengan epifit dan mikroorganisme yang ditularkan melalui tanah, hubungan antara berbagai spesies endoparasit dan tumbuhan internalnya dianggap saling berhubungan dalam produksi molekul aktif biologis yang banyak dan beragam. Kami sangat termotivasi untuk menerapkan bioteknologi baru pada empat spesies jamur endofit, termasuk fitoremediasi dan bioremediasi. Endofit memainkan peran penting dalam kesehatan tanaman melalui tiga mekanisme: pemupukan biologis, fitostimulasi, dan pengendalian biologis (Harmileni et al., 2023).

Manfaat jamur endofit dalam tanaman adalah sebagai berikut (Harmileni et al., 2023) :

### **1. Fitostimulasi**

Tumbuhan memerlukan 16 unsur esensial, antara lain C, H, N, O, dan P, serta 11 unsur lainnya. Unsur-unsur penting tersebut dapat diperoleh tanaman secara kimia dari atmosfer, tanah, udara, dan bahan organik. Endofit juga membantu penyerapan nutrisi ini. Bakteri endofit menghasilkan berbagai hormon tanaman seperti auksin, sitokinin, dan asam giberelat, yang membantu tanaman fescue tinggi beradaptasi terhadap kekurangan fosfor. Bakteri simbiosis diazotrofik

*Burkholderia vietnamiensis* diisolasi dari kapas liar (*Populus trichocarpa*) dan menghasilkan asam indol asetat (IAA), mendorong pertumbuhan tanaman. Hal ini dikonfirmasi dengan membandingkan tanaman yang diinokulasi dengan *B. vietnamiensis* dengan kontrol yang tidak diinokulasi pada media bebas nitrogen, dengan tanaman yang diinokulasi memiliki lebih banyak nitrogen dan berat kering. *Glycine max* (L) Strain baru jamur *Cladosporium sphaerospermum* diisolasi dari akar Merr. menunjukkan bahwa konsentrasi bioaktif GA3, GA4, dan GA7 yang tinggi meningkatkan pertumbuhan tanaman varietas padi dan kedelai.

## 2. Produksi Pigmen

Laporan pertama tentang glikosida kuersetin yang diproduksi oleh jamur endofit adalah pigmen oranye yang ditemukan dari jamur endofit *Penicillium sp.* Strain jamur endofit SX01 dari mengomel *Ginkgo biloba* L, yang kemudian dikenal sebagai *Penicillium purpurogenum*, memiliki kemampuan untuk menghasilkan banyak warna merah yang dapat digunakan sebagai pewarna makanan alami. Beberapa bakteri patogen manusia, seperti *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* dan *Vibrio cholerae*, dapat dihilangkan dengan menggunakan pigmen yang diisolasi dari bakteri endofit *Monodictis castanae*. Pewarna ini lebih aktif dibandingkan streptomisin.

## 3. Produksi Enzim

Beberapa mikroorganisme menghasilkan banyak enzim yang penting untuk industri. Jamur endofit seperti *Acremonium terricola*, *Aspergillus japonicus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Fusarium lateritium*, *Monodictys castanae*, *Nigrospora sphaerica*, *Penicillium*

*aurantiogriseum*, *Penicillium glandicola*, *Pestalotiopsis guepinii*, *Phoma tropica*, *Phomopsis archeri*, *Tetraploa aristata*, dan *Xylaria sp.* adalah beberapa enzim penting yang diproduksi oleh *Acremonium zae*, salah satu endofit, menghasilkan enzim hemiselulase secara ekstraseluler dari jagung. Ini mungkin enzim hidrolitik *A. zae* yang bagus untuk proses biokonversi biomassa lignoselulosa menjadi gula yang dapat difermentasi.

#### **4. Aktivitas Antimikroba**

Kebanyakan jamur endofit yang diisolasi dari tumbuhan memiliki sifat antimikroba yang membantu melawan mikroorganisme patogen pada hewan dan tumbuhan. Bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman obat menunjukkan aktivitas biologis terhadap berbagai jenis mikroorganisme patogen. 37 endofit *Tectona grandis L.* dan *Samanea saman Merr.* Delapan belas di antaranya secara bersamaan dapat menghasilkan inhibitor yang efektif terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*, dan tiga di antaranya dapat mencegah perkembangan *Candida albicans* in vitro.

#### **5. Sumber Bioaktif dan Senyawa Baru.**

Penelitian terbaru telah menemukan ratusan produk alami dari bakteri endofit, termasuk alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan steroid. Sebagian besar senyawa bioaktif yang diisolasi dari jamur endofit berperan sebagai antibiotik, immunosupresan, agen antikanker, agen pengendali hayati dan fungsi lainnya. Biologi endofit tentunya dipengaruhi oleh musim, lokasi, kondisi lingkungan, tanah, umur, dan jaringan tanaman inang. Kondisi kultur dan teknik validasi juga dapat mempengaruhi jenis dan keanekaragaman metabolit. Menurut laporan tersebut, kondisi seperti pengumpulan jaringan tanaman, pengambilan sampel,

ukuran, komposisi medium, pH, suhu inkubasi, waktu inkubasi, pengadukan, dan kultur yang digunakan untuk isolasi mempengaruhi produksi senyawa bioaktif di laboratorium jaringan tanaman mengendalikan seksualitasku.

## 6. Agen Biokontrol

Mikroorganisme endofit dianggap sebagai alternatif yang efektif untuk pengendalian kimia. Jamur endofit telah dilaporkan mengendalikan serangga herbivora di tumbuhan runjung dan rumput. Jamur endofit *Beauveria badsiana* yang juga dikenal sebagai patogen entomo dapat mengendalikan serangga penggerek pada bibit sorgum dan kopi. Penyimpanan buah tomat menyebabkan penyakit serius yang disebabkan oleh jamur patogen *Botrytis cinerea*.

Dalam penelitian in vitro, bakteri endofit *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari *Speranskaia tuberculata* (Bge.) Baill menunjukkan resistensi yang kuat terhadap patogen *B. cinerea*. Endofit alami digunakan untuk pengendalian biologis dan juga dimodifikasi secara genetik untuk mengubah protein pengendalian hama seperti lektin. Ada upaya awal untuk memasukkan gen asing ke dalam mikroorganisme endoparasit untuk memerangi serangga. Seiring waktu, banyak ilmuwan telah mengerjakan bagian ini, dan baru-baru ini menjadi salah satu penelitian terpenting tentang endoparasit. *Gen aglutinin* (PtA) *Pinellia ternate* didistribusikan melalui jamur endofit *Chaetomium globosum YY-11* dan bakteri endofit *Enterobacter sp.* dan *Bacillus subtilis* dari benih padi. Jamur endofit rekombinan yang membawa gen PtA ini terbukti sangat efektif mengendalikan populasi hama penghisap getah benih tanaman tertentu.

Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit rekombinan *Enterobacter cloacae* yang mengekspresikan gen PtA dapat bertindak

sebagai bioinsektisida terhadap jamur putih *Sogatella furcifera*. Penggunaan endofit rekombinan sebagai agen biokontrol yang mengubah berbagai protein anti hama merupakan teknologi yang menjanjikan untuk mengendalikan hama tanaman, karena endofit ini dapat dengan mudah menjajah berbagai tanaman.

## **7. Siklus nutrisi**

Siklus nutrisi adalah proses penting yang berkelanjutan yang berfungsi untuk menjaga keseimbangan nutrisi dan memastikan bahwa nutrisi tersedia untuk seluruh bagian ekosistem. Biodegradasi biomassa mati merupakan langkah kunci dalam siklus ini, yang bertujuan untuk mengembalikan nutrisi yang digunakan ke ekosistem untuk digunakan kembali oleh organisme lain.

Proses ini membentuk serangkaian siklus di mana banyak saprofit memainkan peran penting. Penelitian telah menunjukkan bahwa jamur endofit berperan penting dalam proses biodegradasi serasah daun tanaman inang. Sebelum biodegradasi, mikroorganisme endoparasit menjajah tanaman, memungkinkan mikroorganisme saprofit berinteraksi secara kompetitif dan meningkatkan efisiensi penguraian serasah. Penelitian lain menunjukkan bahwa setiap endoparasit dapat mendegradasi komponen organik yang berbeda seperti lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Namun beberapa kelompok endofit lebih menyukai senyawa organik tertentu.

## **8. Bioremediasi**

Endofit sangat baik dalam memecah senyawa kompleks. Bioremediasi menggunakan mikroorganisme untuk menghilangkan limbah dan polutan dari lingkungan. Metode ini mengandalkan proses biologis yang dilakukan oleh mikroorganisme untuk menguraikan limbah.

Keanekaragaman mikroorganisme yang sangat besar membuat metode ini berhasil. Sebuah tim peneliti menyelidiki fungsi jamur endofit dalam bioremediasi tanaman tembakau (*Nicotiana tabaccum*). Tanaman tembakau yang diinokulasi dengan jamur endofit menghasilkan produksi biomassa yang lebih tinggi, terutama pada tanaman yang terkena kondisi cekaman kadmium (Cd). Tanaman yang diinokulasi juga menunjukkan konsentrasi kadmium yang lebih tinggi dibandingkan tanaman yang tidak diinokulasi.

Hasil ini menunjukkan bahwa inokulasi endofit pada benih mengurangi akumulasi logam dan toksisitas. Untuk meningkatkan keanekaragaman endofit dalam proses degradasi plastik, beberapa isolat endofit diuji kemampuannya dalam menghancurkan polimer sintetik *polyester polyurethane* (PUR). Meskipun beberapa mikroorganisme menunjukkan kemampuan menghancurkan PUR baik dalam suspensi padat maupun cair, dua isolat mikrospora *Pestalotiopsis* menunjukkan kemampuan menghancurkan. Karakterisasi molekul menunjukkan bahwa enzim serin hidrolase bertanggung jawab atas degradasi PUR ini.

## **9. Senyawa antikanker**

Paclitaxel, obat antikanker bernilai miliaran dolar pertama di dunia, diproduksi oleh jamur endoparasit dari berbagai spesies *Taxus* (*Taxus*) di seluruh dunia. Spesies yew endoparasit yang paling umum adalah *Pestalotiopsis*, dan spesies yang paling umum adalah *P. microspora*. Menariknya, *P. microspora* yang berasal dari pohon cemara Carolina Selatan (*Taxodium distichum*) juga mampu menghasilkan paclitaxel. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan paclitaxel tidak hanya terbatas pada pohon saja.

Mungkin ada kemiripan dengan fakta bahwa paclitaxel merupakan salah satu jenis fungisida.

Patogen tanaman seperti *Pythium spp.* dan spesies *Phytophthora*, patogen yang merusak tanaman di seluruh dunia, rentan terhadap paclitaxel. Menariknya, sensitivitas mereka terhadap paclitaxel tampaknya disebabkan oleh interaksi dengan protein tubulin serupa dengan sel kanker manusia yang berkembang biak dengan cepat.

## **2.2. Jamur *Aspergillus Fumigatus***

### **2.2.1 Defenisi *Aspergillus fumigatus***

*Aspergillus* merupakan jamur dari kelas Ascomycota yang tumbuh di lingkungan alami. *Aspergillus* tumbuh sebagai saprofit di tanah, debu organik, dan makanan, serta pada tanaman yang membusuk. *Aspergillus* berkembang biak dengan membentuk hifa atau tunas pada media pertumbuhan dan menghasilkan konidiofor yang bersporulasi. *Aspergillus* membentuk filamen panjang bercabang, miselium dan konidiospora. Karena spora tersebar luas di udara luar, tidak dapat dipungkiri bahwa spora akan masuk ke paru-paru melalui saluran pernapasan (Ejmal et al., 2018).

Karena kandungan udaranya yang tinggi (setidaknya 7%) dan suhu yang tinggi, tanah merupakan habitat alami bagi spesies *Aspergillus*. *Aspergillus* dapat tumbuh pada suhu 37°C. Negara tropis Indonesia merupakan tempat yang tepat untuk budidaya jamur. Oleh karena itu, masyarakat sering terkena penyakit jamur, termasuk spesies *Aspergillus flavus* yang menghasilkan racun alfa (Syarifuddin, 2017).

*Aspergillus fumigatus* adalah jamur saprofit yang banyak terdapat di mana-mana, terutama terkait dengan perbanyakan sayuran dan tanah. Meski sebelumnya dianggap aseksual, kemampuan reproduksi seksual jamur ini baru-baru ini dibuktikan di laboratorium. Di alam, *Aspergillus fumigatus* tumbuh sebagai kumpulan hifa bercabang, menghasilkan spora aseksual dalam jumlah besar yang disebut konidia di dalam struktur yang disebut konidia. Konidia dapat terbawa udara dan dilepaskan ke lingkungan, sehingga berpotensi mencemari makanan dan udara. Jumlah konidia di udara adalah 1 sampai 100 per meter kubik. Ukurannya (kira-kira 2-3  $\mu\text{m}$ ) memungkinkannya menembus jauh ke dalam saluran pernapasan bagian bawah. (Syaifurrisal, 2017).

### **2.2.2 Morfologi *Aspergillus fumigatus***

*Aspergillus fumigatus* memiliki ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis:

#### **a. Makroskopis**

Pada media PDA (*potato dextrose agar*) pada suhu kamar, *Aspergillus fumigatus* tumbuh dengan cepat, membentuk koloni granular, berserabut yang tetap bening dan berwarna hijau tua (Andriani, 2019)

#### **b. Mikroskopis**

mempunyai vesikel, rantai konidia oval kecil yang melekat pada ujung satu atau dua baris sterigmata yang terartur melingkar pada permukaan ujung konidiafor. Kepala konidial berukuran panjang 100-200  $\mu\text{m}$  dan lebarnya 50-60  $\mu\text{m}$  . Konidofor hialin berukuran panjang 150-300  $\mu\text{m}$  dan lebarnya 3-5  $\mu\text{m}$  . Vesikel berbentuk bulat seperti telur sampai berbentuk labu berdiameter 15-25  $\mu\text{m}$ . Sterigmata uniseriate, konidia berbentuk golobose, konidia berbentuk telur

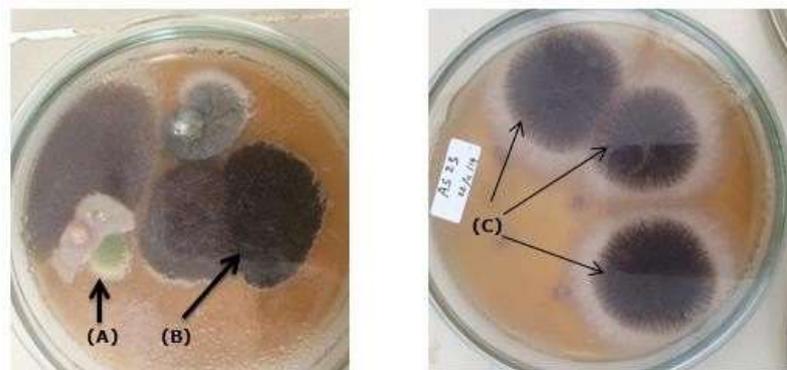
dan konidofor hialin berukuran panjang 150-300  $\mu\text{m}$  dan lebarnya 3-5  $\mu\text{m}$  (Syaifurrisal, 2017).

### 2.2.3 Identifikasi *aspergillus fumigatus*

*Aspergillus fumigatus* diidentifikasi sebagai berikut:

#### a) Makroskopis

Konidia *Aspergillus fumigatus* berbentuk bulat dan berwarna hijau sampai hijau kotor. (Pujiati, 2018).

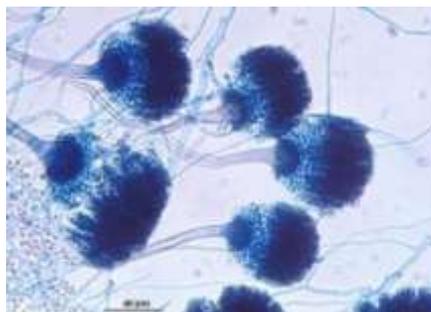


Sumber: (Putri et al., 2021)

Gambar 2.1 (A) *Aspergillus flavus*, (B) *Aspergillus niger*, (C) *Aspergillus fumigatus*

#### b) Mikroskopis

*Aspergillus fumigatus* Versikel memiliki bentuk seperti piala, dengan konidiofora berdinding halus yang biasanya hijau, konidia glubusa, dan ekinulat hijau (Pujiati, 2018).



Sumber : (Pujiati, 2018)

Gambar 2.2 Hasil identifikasi jamur *Aspergillus fumigatus* secara mikroskopis.

Karena jamur jenis *Aspergillus* ini mampu hidup pada media dengan derajat keasamaan rendah dan kandungan gula dekstrosa yang tinggi, media *Potato Dextrose Agar* (PDA) adalah media kultur yang paling umum digunakan untuk mengidentifikasi jamur jenis *Aspergillus* ini (Gandi et al., 2019).

### **2.3. *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**

#### **2.3.1 Defenisi PCR**

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah metode atau prosedur untuk memperbanyak (replikasi) DNA secara enzimatik tanpa menggunakan organisme. Karena biayanya yang rendah dan hanya memerlukan jumlah sampel yang kecil, PCR banyak digunakan di bidang biokimia dan biologi molekuler, di mana ia dapat menghasilkan jumlah besar DNA dalam waktu yang relatif singkat. (Ikram, 2019).

Suatu proses sintesis enzimatik yang bertujuan untuk mengamplifikasi nukleotida secara *in vitro* disebut reaksi polimerase, juga dikenal sebagai reaksi rantai *polimerase* (PCR). Metode PCR memiliki kemampuan untuk meningkatkan jumlah urutan DNA sebanyak ribuan bahkan jutaan kali dari jumlah awal, sekitar  $10^6$  hingga  $10^7$  kali untuk setiap urutan basa nukleotida yang diamplifikasi. Jumlah target DNA akan dua kali lipat pada setiap siklus PCR. Menemukan metode untuk meminimalkan amplifikasi urutan DNA non-target dan terbatas pada urutan DNA target merupakan bagian penting dari proses PCR (Yanti, 2017).

### **2.3.2 Komponen PCR**

Pada reaksi PCR diperlukan cetakan DNA, primer spesifik, enzim DNA polimerase yang termostabil, bufer PCR, ion  $Mg^{2+}$ , dan gene cycler (Yanti, 2017).

#### **A. Cetakan DNA**

Target amplifikasi DNA biasanya berukuran kurang dari 1000 pasangan basa (bp) atau 1 kb, dan hasil amplifikasi yang efisien berkisar antara 100 hingga 400 bp. Meskipun hasil amplifikasi mungkin melebihi 1 kb, prosesnya kurang efisien karena produk yang lebih panjang lebih rentan terhadap inhibitor yang mempengaruhi kerja enzim DNA polimerase dan memerlukan waktu lebih lama. Hal ini dapat mengakibatkan amplifikasi yang tidak diinginkan (Yanti, 2017).

Kemurnian DNA target sangat penting, karena pengotor dalam suspensi DNA dapat mempengaruhi reaksi amplifikasi dan menghambat enzim DNA polimerase. Namun, dalam beberapa situasi, amplifikasi PCR juga dapat bekerja dalam suspensi kasar. Stabilitas genetik wilayah atau urutan nukleotida yang diinginkan harus dipertimbangkan ketika memilih target amplifikasi. Jika urutan target diubah atau hilang sebagian, reaktivitas akan hilang. Infeksi atau isolasi yang berturut-turut dapat mengakibatkan hilangnya elemen genetik. Amplifikasi harus dilakukan segera setelah isolasi DNA selesai (Yanti, 2017).

#### **B. Primer**

Primer terdiri dari rangkaian nukleotida yang dapat diunduh dari GeneBank Center dan disintesis berdasarkan rangkaian nukleotida terstruktur tertentu. Syarat preparasi primer adalah primer terdiri atas sekuens nukleotida sepanjang 15-32 bp pada ujung 5' pita cetakan DNA dan komplemennya. (Yanti, 2017).

### **C. Taq DNA Polimerase**

Enzim ini berasal dari *Thermos Aquaticus* dan bersifat termostabil. Polimerisasi DNA terjadi dari ujung 5' ke ujung 3', dan aktivitas enzimatis berlangsung selama sekitar empat puluh menit pada suhu 95°C. Biasanya, dua hingga dua dan setengah unit Taq polimerase ditambahkan untuk setiap 100 µl volume reaksi. Jika Anda menggunakan enzim ini, Anda harus memperhatikan cara menyimpannya (selalu di freezer pada suhu -20 °C), dan saat meminumnya, jangan biarkan terlalu lama di suhu ruang; Anda harus selalu menjaga suhu enzim di 4°C dalam kotak es air. Hal ini dilakukan untuk menghindari kerusakan enzim yang dapat disebabkan oleh perubahan suhu. (Yanti, 2017).

### **D. Bufer PCR dan Konsentrasi Mg<sup>2+</sup>**

Standar bufer PCR terdiri dari 50 mM KCl, 10 mM Tris-Cl (pH 8,3), dan 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>. Dengan kondisi tertentu, bufer standar ini bekerja dengan baik untuk cetakan DNA dan primer, tetapi mungkin tidak bekerja dengan baik dengan kombinasi yang lain. (Yanti, 2017).

Saat membuat templat DNA yang tidak mengandung zat pengkhelat konsentrasi tinggi seperti EDTA atau fosfat, konsentrasi ion magnesium dalam buffer PCR dapat memengaruhi proses anil primer dan suhu disosiasi untaian templat DNA. dan produk PCR. Konsentrasi ion magnesium yang ideal sangat rendah. Jika ion Mg<sup>2+</sup> bebas terlalu sedikit atau tidak ada, biasanya tidak ada produk akhir PCR. Namun jika terlalu banyak akan menghasilkan produk PCR yang tidak diinginkan. (Yanti, 2017).

### **E. Nukleotida (dNTP)**

Setiap dNTP biasanya digunakan pada konsentrasi 200  $\mu\text{M}$ , namun konsentrasi keempat dNTP harus disesuaikan dengan titik estimasi  $K_m$ , yaitu 200  $\mu\text{M}$ . Untuk setiap dNTP, 50 mM harus selalu disesuaikan dengan pH 7,0. Konsentrasi tinggi memastikan keseimbangan dengan enzim polimerase, sedangkan konsentrasi rendah memastikan oklusivitas dan spesifisitas tinggi tanpa mempengaruhi hasil akhir. Konsentrasi ion total dan konsentrasi dNTP saling terkait dan tidak bervariasi secara independen. (Yanti, 2017).

### **F. PCR Gene Cyclers**

Perusahaan PerkinElmer adalah pemegang paten pertama untuk PCR gene cycler. Berbagai jenis alat PCR gene cycler saat ini diproduksi oleh berbagai perusahaan. Meskipun namanya berbeda, prinsip kerja alat ini sama. Kontrol secara tepat suhu dan waktu siklus yang diperlukan untuk reaksi amplifikasi yang dapat direproduksi dan akurat. Siklus PCR terdiri dari tiga langkah utama: denaturasi DNA (92–95  $^{\circ}\text{C}$ , 30–60 detik), anil primer (50–62  $^{\circ}\text{C}$ , 30–60 detik), dan ekstensi (70–60 detik)  $^{\circ}\text{C}$ , 30-60 detik). 30-120 detik). Ulangi siklus ini 30-35 kali. Siklus utama ini dimulai dengan denaturasi awal (misalnya, 5 menit pada 94 $^{\circ}\text{C}$ ). Hal ini dilakukan untuk memaksimalkan proses denaturasi tidak sempurna yang dapat mengakibatkan kegagalan PCR. Perpanjangan program akhir selama 7-10 menit pada suhu 70-72 $^{\circ}\text{C}$  ditambahkan di akhir siklus utama. (Yanti, 2017).

#### **2.3.3 Tahapan PCR**

Proses PCR terdiri dari siklus berulang yang melibatkan denaturasi, anil, dan ekstensi enzim DNA polimerase. Sepasang primer oligonukleotida khusus

digunakan untuk membuat hibrid dengan untai DNA target dari ujung 5' ke ujung 3' dan mengamplifikasinya ke urutan yang diinginkan. (Yanti, 2017).

### **1. Denaturasi**

Salah satu langkah penting dalam proses PCR adalah denaturasi untai DNA ganda. Ini terjadi karena suhu tinggi pada awal proses yang memecah untai DNA ganda menjadi dua untai cetakan DNA tunggal. Pada tahap denaturasi, suhunya adalah 92-95°C selama 30-60 detik, dan suhu standar adalah 94°C. (Yanti, 2017).

### **2. Annealing**

Pada langkah ini, proses pengenalan dan penempelan primer cetakan DNA terjadi, dan suhu annealing (TA) ditentukan oleh susunan primer. Ini dimulai dengan penghitungan suhu pelepasan ( $T_m$ ) dari ikatan primer dan cetakan DNA, yang sebenarnya 5°C lebih rendah dari  $T_m$  primer. Untuk menghindari mispriming, suhu annealing tidak boleh kurang dari 37°C, sehingga amplifikasi berjalan lebih efisien. Akibatnya, amplifikasi produk yang spesifisitas tinggi akan dihasilkan pada suhu sekitar 55°C. Primer akan menempel pada urutan nukleotida yang sepadan dengan primer itu sendiri dan pada suhu ujung 5' dari untai DNA target yang telah dijelaskan sebelumnya. (Yanti, 2017).

### **3. Ekstensi**

Pada tahap ini, untai DNA baru terbentuk melalui polimerisasi. Ini dimulai dengan posisi primer yang terikat pada urutan basa nukleotida DNA tujuan, yang berada di ujung lima hingga tiga inci dari untai DNA tunggal. Waktu yang diperlukan bervariasi tergantung pada seberapa panjang ukuran DNA yang digandakan sebagai produk amplifikasi. Untuk menambah satu kilobase (1000 bp) diperlukan satu menit; hanya 30 detik jika kurang dari 500 bp; dan dua menit

untuk setiap siklus jika kisaran 500 tetapi kurang dari 1 kb. Suhu ekstensi adalah 70-72°C. (Yanti, 2017).

#### **2.3.4 Manfaat PCR**

PCR digunakan untuk amplifikasi urutan nukleotida, memutar kondisi urutan nukleotida suatu DNA yang mengalami mutasi, 16 bidang kedokteran forensik, dan membandingkan sidik jari untuk menemukan asal-usul seseorang. PCR saat ini digunakan secara luas untuk berbagai tujuan, salah satunya adalah sekuensing DNA, yang merupakan urutan basa DNA yang dapat diidentifikasi dengan menggunakan metode sekuensing DNA. Metode yang paling umum saat ini adalah metode Sanger, yang telah dimodifikasi menggunakan terminator rantai warna-dideoksi. Pada awalnya, PCR dilakukan dengan reaksi PCR dengan pereaksi yang agak berbeda, menggunakan hanya satu primer (PCR biasanya menggunakan 2 primer) dan adanya urutan basa (Ikram, 2019).

### **2.4. Isolasi**

#### **2.4.1 Defenisi Isolasi**

Di lingkungan alam, mikroorganisme adalah populasi berbagai jenis mikroorganisme, baik yang terdapat di tanah, udara, atmosfer, makanan, maupun di tubuh hewan dan tumbuhan. Persyaratan bakteri diperlukan untuk mengidentifikasi jenis, morfologi, fisiologi dan sifat bakteri. Metode ini disebut metode yang menggabungkan pemurnian dan pemisahan. (Sabbathini et al., 2017).

Isolasi melibatkan pertumbuhan mikroorganisme alami dalam media buatan, sedangkan identifikasi melibatkan identifikasi atau penamaan organisme berdasarkan karakteristik atau perbedaannya. (Rosa et al., 2020).

Isolasi mikroorganisme dari lingkungannya untuk mencegah pencampuran perkembangbiakan . Agar isolasi endofit mungkin terjadi, spesimen atau tanaman yang digunakan harus sehat. Untuk menghindari mikrospora udara, tanaman yang masih segar dianggap sehat. (Ambarwati, 2023).

Sterilisasi permukaan spesimen dan pemotongan menjadi potongan kurang lebih 1 cm adalah langkah penting untuk isolasi. Dengan menggunakan etanol 70% dan air steril, proses sterilisasi dilakukan untuk mencegah permukaan sampel terkontaminasi oleh campuran mikroorganisme lainnya. Ethanol 70% memiliki kemampuan untuk membunuh mikroorganisme dengan melisiskan protein mikroba di membran sel, menyebabkan lisis (Ambarwati, 2023).

Untuk isolasi, metode inokulasi sering digunakan pada spesimen yang sudah dibersihkan. Media *Potato Dextrose Agar* (PDA), yang mengandung karbohidrat untuk makanan jamur endofit dan frekuensi, biasanya digunakan. (Ambarwati, 2023).

#### **2.4.2 Prinsip Isolasi**

Prinsip isolasi mikroba adalah membedakan suatu jenis mikroorganisme dengan jenis mikroorganisme lainnya, yang dihasilkan dari campuran berbagai jenis mikroorganisme. Hal ini terjadi melalui pertumbuhan mikroorganisme pada media padat dimana sel mikroba membentuk koloni sel padat. Beberapa metode memperoleh budaya murni dari budaya campuran. Dua metode yang paling umum adalah metode gelas gores dan metode gelas tuang. Cara kedua didasarkan pada prinsip pengenceran untuk memperoleh spesies unik. Karena setiap koloni dapat berasal dari tipe sel yang dapat diamati (Sabbathini et al., 2017).

### **2.4.3 Teknik Isolasi**

Teknik isolasi untuk memperoleh mikroorganisme digunakan untuk memperoleh jamur dari berbagai habitat, baik dari lingkungan maupun dari orang yang sakit. Teknik pemisahannya adalah sebagai berikut: (Pujiati, 2018)

#### **a. Metode Perangkap**

Cara penangkapan ini sangat mudah digunakan dan dapat digunakan untuk mengumpulkan spora dari lingkungan khususnya udara dengan cara membuka sedikit cawan petri yang berisi media tempat tumbuhnya jamur. Cara ini memungkinkan Anda melihat bentuk dan morfologi koloni jamur.

#### **b. Metode Pengenceran**

Metode pengenceran biasanya menggunakan sampel berasal dari minuman atau apa pun yang berbentuk cair untuk menentukan bentuk koloni dan morfologi jamur.

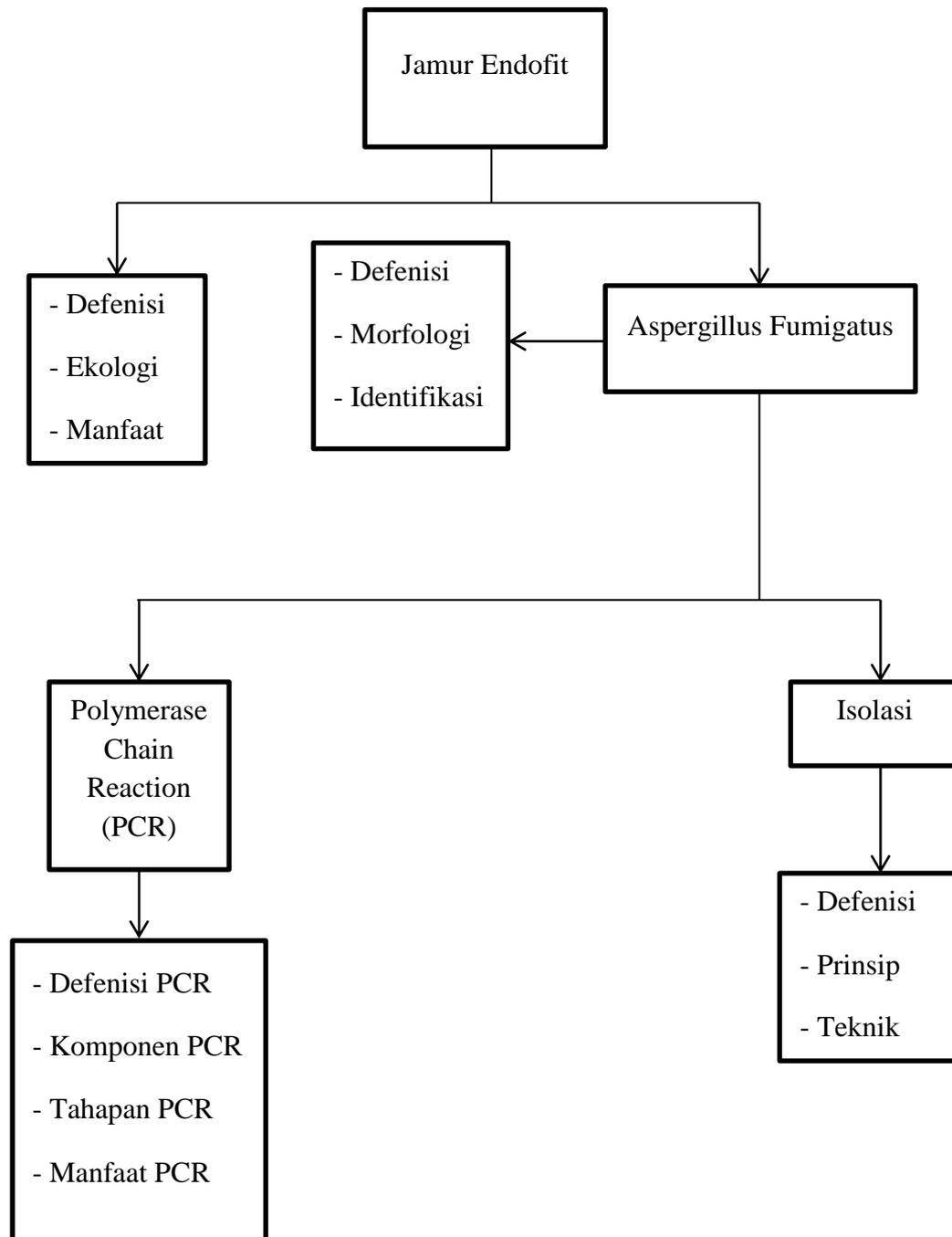
#### **c. Metode Semai atau tabur**

Metode tabur sampel dari media SDA mengidentifikasi morfologi dan spesies jamur. Teknik ini banyak digunakan untuk mendapatkan berbagai jenis jamur dari sampel tanah, tepung, dan penderita.

#### **d. Metode Tanam Langsung**

Dengan metode tanam langsung, bentuk koloni dan morfologi jamur yang ditanam pada media SDA dapat diamati. Sampel yang biasa digunakan untuk teknik ini adalah kerokan kulit atau rambut.

## 2.5. Kerangka Teori



## 2.6. Hipotesis

H<sub>0</sub> : Tidak ada perbedaan signifikan dalam isolasi dan karakteristik *Aspergillus fumigatus* antara kelompok jamur endofit yang diisolasi.

H<sub>a</sub> : Terdapat perbedaan signifikan dalam isolasi dan karakteristik *Aspergillus fumigatus* antara kelompok jamur endofit yang diisolasi.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Desain Penelitian**

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksplorasi deskriptif yang dilakukan dengan cara mengisolasi dan mengkarakterisasikan jamur endofit *Aspergillus Fumigatus* dari umbi dahlia (*Dahlia variabilis*).

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Universitas Perintis Indonesia. Penelitian ini dirancang dan dilaksanakan pada bulan Juni 2023 – Februari 2024.

#### **3.3 Populasi dan Sampel**

##### **3.3.1 Populasi**

Populasi penelitian ini adalah tanaman umbi dahlia sesuai dengan kriteria inklusi.

##### **3.3.2 Sampel**

Sampel pada penelitian ini adalah jamur endofit *Aspergillus fumigatus* yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi

#### **3.4 Kriteria Sampel**

##### **3.4.1 Kriteria Inklusi**

Kriteria inklusi pada penelitian ini meliputi:

1. Umbi dahlia
2. Jamur berwarna hijau atau kecoklatan
3. Versikel berbentuk piala
4. Konidia Memanjang
5. Konidiofora berdinding halus

### 3.4.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini meliputi:

1. Bukan berasal dari umbi dahlia
2. Jamur tidak berwarna hijau atau kecoklatan
3. Versikel tidak berbentuk piala
4. Konidia memendek
5. Konidiofora berdinding tebal

### 3.5 Teknik Pengambilan Sampel

Umbi *Dahlia Variabilis* dikumpulkan dari Bukittinggi, Sumatera Barat secara acak. Sampel (umbi dahlia) dicuci dengan air kran yang mengalir dan disterilisasi permukaannya dengan cara direndam dalam alkohol/etanol 70% selama 3 menit, kemudian direndam dalam asam peroksida 15% selama 5 menit dan dipindahkan lagi ke etanol 70% selama 1 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril, dan dikeringkan dengan kertas saring steril.

### 3.6 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.6.1 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu media SDA, PDA, aquadest, kertas cakram, etanol 70%, asam peroksida 15%, alkohol 70%, kertas saring, kapas, tissue, label, karet, aluminium foil.

#### 3.6.2 Alat Penelitian

Dalam penelitian ini, alat-alat berikut digunakan: cawan petri, kaca beaker, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, spatula, neraca analitik, autoklaf, inkubator, oven, aliran udara laminar, meja panas, stirer, meja tetes, rak tabung reaksi, jarum ose, dan bunsen (lampu spritus).

### 3.7 Variabel Penelitian

#### 3.7.1 Variabel Independen

Variabel independen dalam penelitian ini adalah jamur endofit *Aspergillus fumigatus*.

#### 3.7.2 Variabel Dependen

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah bahan baku obat.

### 3.8 Defenisi Operasional

NO	Variabel Penelitian	Defenisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Jamur Endofit	Endofit merupakan jamur yang menghabiskan seluruh atau sebagian hidupnya di dalam jaringan hidup tanaman inang tanpa menimbulkan gejala yang membahayakan tanaman inang itu sendiri.	Kultur	Koloni jamur	Nominal
2	<i>Aspergillus Fumigatus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i> adalah jenis jamur yang termasuk dalam genus aspergillus dan merupakan salah satu spesies jamur endofit yang umum ditemukan dialam	Mikroskop	Bentuk hifa, warna	Nominal

### 3.9 Pengumpulan, Pengolahan dan Analisis Sampel

#### 3.9.1 Pengumpulan Sampel

Sebelum memulai penelitian, para peneliti memilih tanaman inang (umbi dahlia) yang mungkin mengandung jamur endofit *Aspergillus fumigatus*. Selanjutnya, mereka memilih lokasi yang tepat untuk mengambil sampel.

### **3.9.2 Pengolahan Sampel**

Setelah sampel dikumpulkan, mereka dikumpulkan dalam beberapa kelompok menurut variabel yang ada. Kemudian, mereka dievaluasi melalui prosedur seperti memeriksa morfologi jamur endofit, menemukan senyawa kimia yang dihasilkan, dan membuka kemungkinan mereka dapat digunakan sebagai bahan baku obat. Profil senyawa bioaktif dapat diidentifikasi dengan menggunakan metode kromatografi dan spektrometri. Untuk menilai perbedaan sampel antar dan menentukan signifikansinya, mungkin diperlukan analisis statistik. Pastikan untuk mencatat secara menyeluruh setiap langkah agar hasilnya dapat dikonversi dengan benar.

### **3.9.3 Analisis Sampel**

Untuk menghasilkan berbagai jenis dan karakteristik morfologi yang berbeda, sampel yang dikumpulkan kemudian dievaluasi dengan mengidentifikasi jamur endofit dari sampel tertentu. Dengan menggunakan sekuensing DNA, analisis filogenetik menunjukkan hubungan genetik yang kuat antar-isolat. Ini menunjukkan kemungkinan keberagaman genetik dalam populasi. Selain itu, data aktivitas biologi menunjukkan bahwa isolat tertentu mungkin menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat. Analisis statistik juga menunjukkan perbedaan besar antara kelompok isolat, memperkuat temuan ini. Secara keseluruhan, data analisis temuan mendukung gagasan bahwa jamur

endofit mungkin merupakan sumber biologi yang berharga untuk pengembangan obat.

### **3.10 Prosedur Kerja**

#### **3.10.1 Proses Isolasi Jamur Endofit**

Sampel (umbi dahlia) yang telah dicuci dengan air kran yang mengalir, kemudian disterilisasi permukaannya dengan cara direndam dalam alkohol/etanol 70% selama 3 menit, kemudian direndam dalam asam peroksida 15% selama 5 menit dan dipindahkan lagi ke etanol 70% selama 1 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril, dan dikeringkan dengan kertas saring steril. Untuk memastikan bahwa sterilisasi permukaan berhasil, aliquot air suling steril yang digunakan pada pembilasan akhir diinokulasikan ke permukaan pelat SDA yang dilengkapi dengan Cefat 30 µg/ml selama 3 hari. Setiap sampel yang disterilkan permukaannya dipotong menjadi fragmen-fragmen berukuran sekitar 1 cm<sup>2</sup> dan diletakkan di atas permukaan lempeng SDA yang dilengkapi dengan Cefat 30 µg/ml. Pelat diinkubasi pada suhu kamar selama 5-7 hari. Koloni jamur endofit yang tumbuh pada media tersebut kemudian dipindahkan ke media SDA steril baru yang telah ditambah dengan Cefat 30 µg/ml. Jamur endofit yang diisolasi kemudian diidentifikasi secara morfologi di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Perintis Indonesia (Haryani et al., 2013).

#### **3.10.2 Proses Kerja PCR**

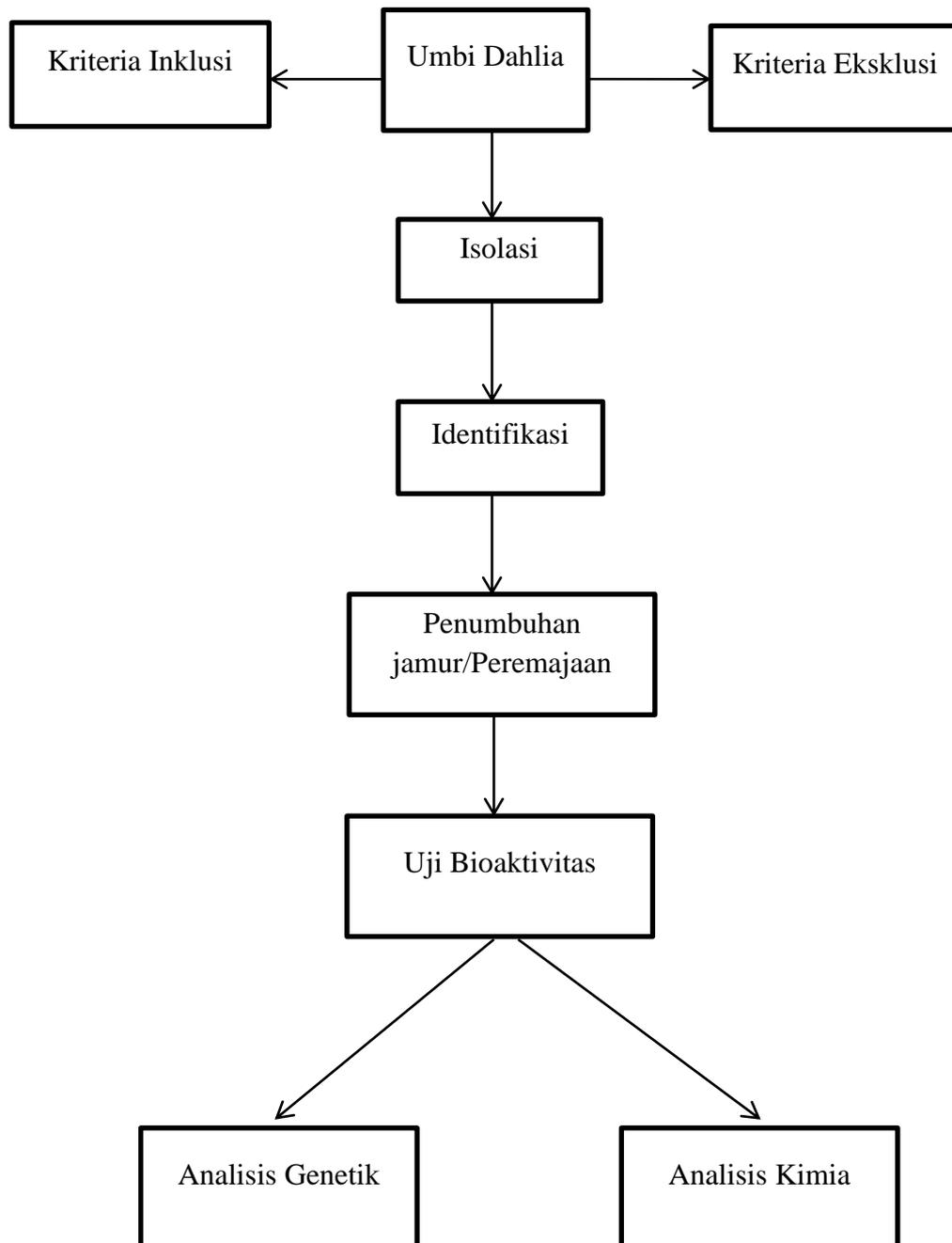
PCR melibatkan tiga siklus suhu yang berurutan: denaturasi templat (94-95 °C), anil (penempelan) pasangan primer pada untai ganda target DNA (50-60 °C), dan pemanjangan (72 °C). (Setyawati & Zubaidah, 2021). Faktor-faktor yang menentukan keberhasilan PCR diantaranya adalah: (Setyawati & Zubaidah, 2021)

- a) Konsentrasi dan kualitas DNA,
- b) Temperatur annealing dari kedua primer,
- c) Konsentrasi MgCl<sub>2</sub>,
- d) Enzim polimerase,
- e) Konsentrasi dan kualitas primer
- f) Jumlah siklus PCR
- g) Deoksinukleotida triphosphate (dNTP), dan faktor lain seperti larutan buffer .

Proses kerja PCR yaitu: (Setyawati & Zubaidah, 2021)

1. Pre denaturasi 94°C selama 5 menit
2. Denaturasi 94°C selama 30 detik
3. *Annealing* 56°C, 58°C, 60°C, 62°C selama 30 detik
4. Extension 72°C selama 30 detik ulangi sebanyak 35 kali
5. Final extension 72°C selama 5 menit

### 3.11 Kerangka Operasional Penelitian



## BAB IV HASIL PENELITIAN

### 4.1 Isolasi Jamur Endofit dari Tanaman Umbi Dahlia (*Dahlia Variabilis*)

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan pada bulan Juni 2023 sampai Februari 2024, peneliti telah berhasil menemukan 3 isolat jamur endofit pada umbi dahlia. Untuk mengetahui hasil isolat jamur endofit yang berhasil ditumbuhkan pada media PDA dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Pertumbuhan koloni Jamur endofit dari tanaman umbi dahlia (*Dahlia Variabilis*) pada media PDA.

Gambar 4.1 menunjukkan temuan penelitian. Setelah diisolasi dan diinkubasi dalam medium PDA, tanaman umbi dahlia telah menunjukkan reaksinya dengan tumbuhnya jamur endofit pada akarnya. Tumbuhnya jamur endofit pada akar menunjukkan bahwa jamur dapat ditemukan pada jaringan tanaman umbi dahlia, dimana jamur tampak tumbuh di sisi kiri dan bagian tengah umbi. Haryani (2013) juga menyebutkan bahwa Jamur endofit didefinisikan sebagai jamur yang hidup di jaringan tanaman tingkat tinggi yang sehat dengan cara berkoloni tanpa menimbulkan efek negatif pada inangnya.

Setelah dilakukan pemurnian berdasarkan bentuk dan warna secara makroskopis pada media PDA pada media yang baru, di hasilkan 3 macam isolat jamur endofit. Masing-masing koloni menampakkan fisik yang beranekaragam, dapat dilihat pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1. Deskripsi bentuk warna koloni isolat jamur endofit**

<b>Kode Isolat</b>	<b>Ciri-Ciri Makroskopis</b>	<b>Hasil Penelitian</b>
<b>IST-2</b>	Koloni awalnya berwarna putih, namun lama kelamaan warnanya berubah menjadi hijau muda, koloni padat.	<i>Aspergillus Flavus</i>
<b>IST-4 H</b>	Koloni awalnya berwarna putih, namun lama kelamaan warnanya berubah menjadi hijau, koloni padat.	<i>Aspergillus Fumigatus</i>
<b>IST-4 B</b>	Koloni awalnya berwarna putih, namun lama kelamaan warnanya berubah menjadi biru kehitaman, koloni padat.	<i>Aspergillus Fumigatus</i>

#### **4.2 Karakteristik Isolat Jamur Endofit dari Tanaman Umbi Dahlia (*Dahlia Variabilis*)**

Berdasarkan hasil observasi yang dilakukan, tiga isolat jamur endofit berhasil diisolasi dari umbi dahlia yaitu isolat jamur dengan kode isolat IST-2, IST-4 H dan IST-4 B. Identifikasi/karakterisasi isolat jamur endofit tersebut dilakukan sebagai berikut :

##### **4.2.1 Makroskopis**

Secara makroskopis koloni jamur endofit berwarna hijau tua dan biru kehitaman yang merupakan kumpulan hifa dan di atasnya terdapat serbuk spora. Mula-mula koloni berwarna putih, tapi lama-kelamaan warna berubah menjadi hijau tua dan biru gelap/kehitaman, koloni tebal, dengan bentuk koloni granular dan kompa, semakin lama koloni berubah warna menjadi hijau

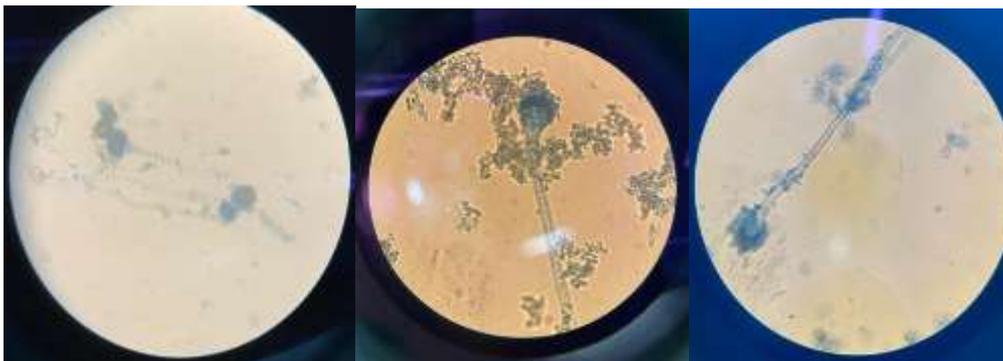
kecoklatan. Tepi koloni tidak rata dan berwarna putih berserabut pada medium PDA, dilihat dari bawah tampak berwarna putih tulang. Adapun koloni isolat jamur endofit dapat dilihat secara makroskopis pada gambar 4.2.



4.2. Gambaran secara Makroskopis jamur endofit

#### 4.2.2 Mikroskopis

Bakteri endofit diisolasi dari umbi dahlia dan ditumbuhkan pada media PDA. Endofit mempunyai hifa yang tidak terpisahkan, dan konidia merupakan hasil pertumbuhan dari ujung hifa, dengan konidia bulat tersusun dalam rantai longgar membentuk ascospora. Gambar mikroskopis isolator pada perbesaran 100x ditunjukkan pada Gambar 4.3.



4.3. Gambar Mikroskopis Isolat Jamur Endofit

a. IST 2, b. IST 4 H, c. IST 4 B

Pada penelitian yang dilakukan, jamur yang dipakai yaitu jamur endofit dengan kode isolat IST-4 B dengan dugaan spesies *Aspergillus Fumigatus*.

### 4.3 Hasil *sequencing* PCR Jamur Endofit IST-4 B

Kromatogram hasil *sequencing* dari arah pembacaan primer *forward* dan *reverse* gen *ITS* dari jamur Isolate IST-4B di-*contig* bersama dengan sekuens masing-masing primer menggunakan program SeqMan™. Panjang amplicon gen *ITS* yang diampifikasi dengan primer *ITS5* dan *ITS4* berukuran ± 600-an bp. Kromatogram yang berada diluar batas sekuens primer dipotong. Panjang sekuens kromatogram setelah diedit sesuai posisi *contig* bersamaan dengan sekuens masing-masing primer adalah 622 bp, yang mana ukuran ini sesuai dengan estimasi produk amplicon PCR-nya.

Urutan basa penyusun gen *ITS* jamur Isolate IST-4B tersebut selanjutnya di BLAST. Hasil BLAST menunjukkan informasi berdasarkan taksonomi 100 data sekuens terpilih dari database seperti gambar dibawah. Dari 151 *hits* tersebut, 145 *hits* diantaranya merupakan famili *Aspergillaceae*. Selanjutnya pada tingkat genus diperoleh 142 *hits* adalah genus *Aspergillus*. 128 *hits* diantaranya adalah spesies *Aspergillus fumigatus*. Sehingga secara taksonomi diperoleh bahwa jamur Isolate IST-4B tergolong anggota genus *Aspergillus*.

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Eukaryota	eukaryotes		351	
- Fungi	fungi		158	
- - Aspergillaceae	ascomycota fungi		145	
- - - Aspergillus	ascomycota fungi		142	
- - - - Aspergillus fumigatus	ascomycota fungi	1068	128	Aspergillus fumigatus hits
- - - - Aspergillus sp.	ascomycota fungi	1059	8	Aspergillus sp. hits
- - - - Aspergillus sp. 5 BRO-2013	ascomycota fungi	1059	1	Aspergillus sp. 5 BRO-2013 hits
- - - - Aspergillus sp. 4 BRO-2013	ascomycota fungi	1059	1	Aspergillus sp. 4 BRO-2013 hits
- - - - Aspergillus sp. 2 BRO-2013	ascomycota fungi	1059	1	Aspergillus sp. 2 BRO-2013 hits
- - - - Aspergillus sp. TMS-2011	ascomycota fungi	1059	1	Aspergillus sp. TMS-2011 hits
- - - - Aspergillus sp. IARLDF3	ascomycota fungi	1059	1	Aspergillus sp. IARLDF3 hits
- - - - Aspergillus sp. IARLFE3	ascomycota fungi	1059	1	Aspergillus sp. IARLFE3 hits
- - - uncultured Aspergillus	ascomycota fungi	1059	3	uncultured Aspergillus hits
- - uncultured fungus	fungi	1053	2	uncultured fungus hits
- - fungal sp. 31h	fungi	1053	1	fungal sp. 31h hits
- - fungal sp. 51650	fungi	1050	1	fungal sp. 51650 hits
- - fungal sp. 51650i	fungi	1050	1	fungal sp. 51650 hits
- Coleoptera environmental sample	beetles	1055	1	Coleoptera environmental sample hits

Dari 100 data sekuens hasil BLAST jamur Isolate IST-4B didapatkan nilai *query cover* yang berkisar pada nilai 92 – 100%. Lalu nilai *percent identity* yang diperoleh berkisar pada rentang sebesar 97,13 – 99,83%. Data sekuens teratas 15 jamur pada *genebank* yang digunakan sebagai pembandingan pada analisis selanjutnya yakni seperti gambar di bawah.

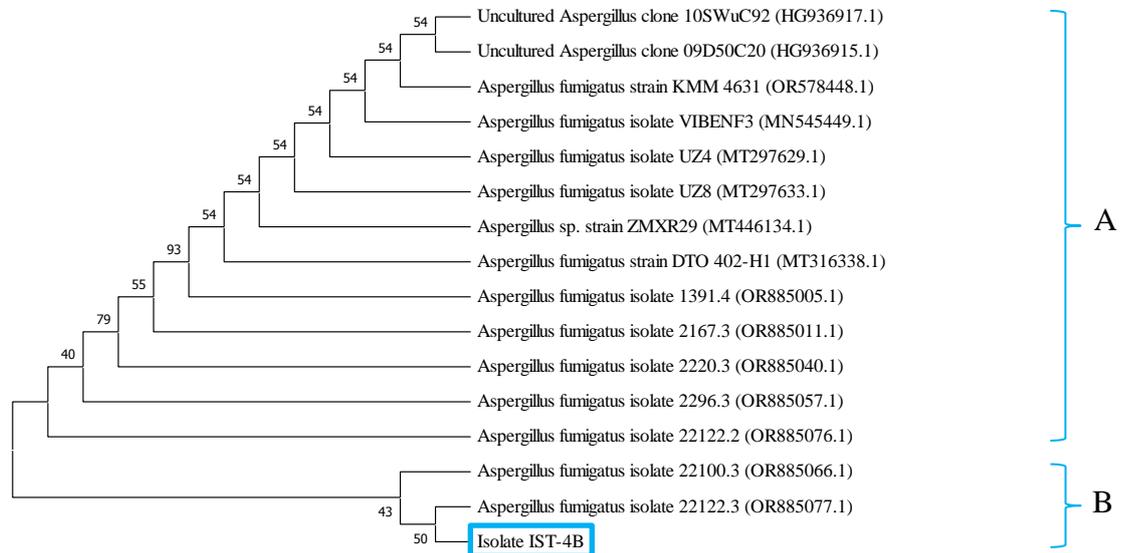
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E-value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<a href="#">Aspergillus fumigatus isolate 22122.3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1068	1068	92%	0.0	99.66%	509	<a href="#">OR055077.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus isolate 22108.3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1068	1068	92%	0.0	99.66%	508	<a href="#">OR055066.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus isolate 22122.2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1068	1066	92%	0.0	99.63%	508	<a href="#">OR055076.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus isolate 2236.3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1062	1062	93%	0.0	99.49%	509	<a href="#">OR055057.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus isolate 2220.3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1062	1062	93%	0.0	99.49%	509	<a href="#">OR055040.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus isolate 2167.3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1061	1061	93%	0.0	99.49%	509	<a href="#">OR055011.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus strain DTG 402.H1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1059	1059	100%	0.0	97.44%	390	<a href="#">MT316328.1</a>
<a href="#">Aspergillus sp. strain ZM5253 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed, sense</a>	<a href="#">Aspergillus sp.</a>	1059	1059	100%	0.0	97.44%	637	<a href="#">MT348134.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus isolate 1623 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed, sp.</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1059	1059	100%	0.0	97.44%	707	<a href="#">MT297653.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus isolate 1624 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed, sp.</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1059	1059	100%	0.0	97.44%	707	<a href="#">MT297629.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus isolate YHBE1F3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1059	1059	100%	0.0	97.44%	703	<a href="#">MH545449.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus isolate 1381.4 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1059	1059	92%	0.0	99.60%	504	<a href="#">OR050205.1</a>
<a href="#">Aspergillus fumigatus strain HMM 4631 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed</a>	<a href="#">Aspergillus fumigatus</a>	1059	1059	100%	0.0	97.44%	1586	<a href="#">OR579448.1</a>
<a href="#">Uncultured Aspergillus sp. DNA contig: 137 rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA s...</a>	<a href="#">Uncultured Aspergillus</a>	1059	1059	100%	0.0	97.44%	362	<a href="#">HQ302017.1</a>
<a href="#">Uncultured Aspergillus sp. DNA contig: 133 rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2 and 28S rRNA s...</a>	<a href="#">Uncultured Aspergillus</a>	1059	1059	100%	0.0	97.44%	362	<a href="#">HQ302015.1</a>

Konstruksi pohon filogenetik dan perhitungan jarak genetik dilakukan dengan menggunakan software MEGA X. Hasil pensejajaran dengan Clustal W untuk data sekuens jamur Isolate IST-4B dengan 15 data jamur lainnya menunjukkan terdapat 5 variasi basa yang ditampilkan pada tabel di bawah ini.





antara jamur Isolate IST-4B dengan 15 jamur pembanding dari *genebank* berdasarkan sekuens fragmen gen *ITS* yaitu sebagai berikut.



Berdasarkan konstruksi pohon filogenetik, terdapat dua klaster yang dinamakan klaster A dan klaster B. Klaster A terdiri dari 13 jamur sedangkan klaster B terdiri dari 3 jamur. Jamur Isolate IST-4B terdapat pada klaster B yaitu ditunjukkan kotak biru. Pada cabang terdekat, jamur Isolate IST-4B berada pada satu cabang dengan jamur *Aspergillus fumigatus* isolate 22122.3 (OR885077.1). Kemudian diikuti oleh jamur *Aspergillus fumigatus* isolate 22100.3 (OR885066.1). Posisi pada cabang pohon filogenetik antara jamur Isolate IST-4B dengan 2 jamur ini disebabkan tingkat kekerabatannya yang paling dekat. Dimana dibuktikan dengan hasil BLAST berada pada 2 posisi teratas. Berdasarkan hasil BLAST, *alignment*, penghitungan jarak genetik, dan konstruksi pohon filogenetik disimpulkan bahwa jamur Isolate IST-4B adalah spesies *Aspergillus fumigatus*.

**Klasifikasi :**

Klasifikasi dari Aspergillus adalah sebagai berikut : (Syaifurrisal, 2017)

Kingdom : Fungi  
Divisi : Amastigomycota  
Kelas : Deutromycetes  
Ordo : Moniliales  
Famili : Moniliaceae  
Genus : Aspergillus  
Spesies : Aspergillus Fumigatus

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

#### **5.1 Pembahasan**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi dahlia (*Dahlia variabilis*). Tanaman ini sering digunakan sebagai tanaman obat karena mempunyai sifat antibakteri. Beberapa kriteria digunakan untuk mengisolasi jamur endofit, diantaranya adalah tumbuhan yang biasa dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tradisional, tumbuhan endemik, tumbuhan yang tumbuh di daerah dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, dan tumbuhan yang berasal dari lingkungan yang unik dan dapat bertahan hidup pada kondisi iklim yang tidak stabil. (Munirah, 2020).

Penelitian ini menggunakan sampel umbi dahlia karena karena dapat menghasilkan metabolit sekunder yang mempunyai sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak umbi dahlia diketahui mengandung fenol, flavonoid, dan saponin yang memiliki sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. (Shinta, 2021).

Faktor fisik lingkungan tanaman inang, substrat, kelembaban, suhu, pH, dan senyawa dalam lingkungan tanaman inang mempengaruhi pertumbuhan jamur. Apabila syarat tumbuhnya terpenuhi maka keanekaragaman jenis jamur endofit yang muncul dari tanaman inang bervariasi jumlah dan jenisnya. Variasi ini disebabkan oleh cara endofit beradaptasi terhadap ekologi mikroba dan kondisi fisiologis tanaman inangnya yang lebih unik. Faktanya, berbagai jenis jamur endoparasit terdapat di jaringan tanaman. (Munirah, 2020).

Bakteri endofit dipilih sebagai bahan baku farmasi karena dapat menghasilkan metabolit sekunder yang dapat digunakan dalam pengembangan bahan baku farmasi. Pemanfaatan bakteri endofit sebagai sumber bahan baku obat alami mengurangi kerusakan alam akibat eksploitasi tanaman obat dalam jumlah besar. Produksi senyawa antimikroba secara kultur massal memerlukan tanaman dalam jumlah besar, sehingga memerlukan lahan yang luas dan waktu tunggu musim tanam yang lama. Mikroorganisme endoparasit yang hidup pada jaringan tanaman merupakan contoh metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah tersebut. (Shinta et al., 2019).

Pemurnian dilakukan berdasarkan berbagai kriteria morfologi koloni. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tiga isolat jamur endofit dengan kode isolat IST 2, IST 4 H, dan IST 4 B ditemukan pada umbi dahlia. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Worang bahwa jamur endofit dapat ditemukan di jaringan tanaman seperti daun, bunga, umbi, mengomel, batang, dan akar.

Untuk mengetahui jenis jamur endofit yang didapat, isolat jamur endofit yang didapat kemudian dikarakterisasi dengan morfologi makroskopik dan mikroskopik. Ciri-ciri makroskopik dan mikroskopik pada isolat IST 4 B, setelah dibandingkan dengan buku identifikasi Barnett (1976), menunjukkan bahwa koloninya berwarna hijau adalah ciri dari genus *Aspergillus Fumigatus*. (Primiani, 2018)

Identifikasi morfologi makroskopis dan mikroskopis dilakukan untuk mengidentifikasi spesies jamur endofit ini. Namun, identifikasi ini masih belum dapat menjamin spesies pastinya, karena beberapa jamur memiliki ciri morfologi yang sama. Oleh karena itu, perlu dilakukan verifikasi hasil identifikasi dengan

menggunakan teknik identifikasi molekuler. Wilayah DNA ribosom (rDNA) ITS (internal transcribed spacer) dapat digunakan untuk identifikasi molekuler. Langkah pertama dalam proses identifikasi molekuler adalah isolasi DNA dan amplifikasi PCR wilayah rDNA ITS. Urutan DNA pada wilayah rDNA ITS berevolusi lebih cepat dibandingkan wilayah genetik lainnya sehingga bervariasi antar spesies. Derajat kemiripan urutan DNA (homologi) pada wilayah ITS dari satu jamur dengan jamur lainnya memudahkan identifikasi spesies. (Rahayu et al., 2015)

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa antibakteri seperti flavanoid yang ada pada ekstrak umbi dahlia dapat menghentikan perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Flavanoid mengganggu sintesis asam nukleat, fungsi membran sel, dan metabolisme energi yang diperlukan untuk biosintesis makromolekul bakteri dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Interaksi flavanoid dengan DNA bakteri dapat menyebabkan permeabilitas dinding sel, mikrosom, dan lisosom bakteri (Munirah, 2020).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa antibakteri seperti flavanoid dalam ekstrak umbi dahlia dapat mencegah bakteri *S. aureus* dan *E. coli* berkembang biak. Dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri, flavonoid menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sel, dan metabolisme energi yang diperlukan untuk biosintesis makromolekul bakteri. Perabilitasme dinding sel, mikrosom, dan lisosom bakteri dapat terjadi ketika flavanoid berinteraksi dengan DNA bakteri.

Dari 100 data sekuens hasil BLAST jamur Isolate IST-4B didapatkan nilai *query cover* yang berkisar pada nilai 92 – 100%. Lalu nilai *percent identity* yang diperoleh berkisar pada rentang sebesar 97,13 – 99,83%.

Selain itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi atau aktivitas senyawa murni yang dihasilkan oleh jamur endofit *Aspergillus fumigatus* dari umbi dahlia atau dikenal dengan nama dahlia *variabilis*. Penelitian ini menentukan dosis senyawa murni yang dihasilkan dari metabolit sekunder jamur *Aspergillus fumigatus* yang dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan didapatkan kesimpulan bahwa:

1. Terdapatnya jamur endofit yang diisolasi dari Umbi Dahlia (*Dahlia Variabilis*), yaitu diperoleh sebanyak 3 isolat jamur endofit dengan kode isolat IST-2, IST-4H, IST-4B.
2. Jamur endofit *Aspergillus Fumigatus* mempunyai karakteristik koloni berwarna hijau/kecoklatan, hifa yang tidak bersekat, konidia berbentuk bulat tersusun seperti rantai-rantai longgar membentuk askospora. Setelah dilakukan uji PCR didapatkan hasil temuan spesies jamur endofit dari umbi dahlia dengan kode isolat IST-4B yaitu *Aspergillus Fumigatus*

#### **6.2 Saran**

Diharapkan pada peneliti berikutnya untuk selalu melakukan identifikasi secara biomolekuler karena jamur endofit yang tumbuh bisa jadi berbeda tergantung dari ekosistem dan lingkungan sekitar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, D. (2023). *UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT FUNGI ENDOFIT DAUN LAMUN (Halodule uninervis) TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus ATCC 6538*. 4(1), 88–100.
- Andriani, D. (2019). Identifikasi Jamur Aspergillus sp Pada Kacang Hijau. Karya Tulis Ilmiah. Program Studi Diploma III Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Medika, Jombang. *STIKES Insan Cendekia Medika Jombang*, 1–77.
- Ejmal, M. A., Holland, D. J., Macdiarmid, R. M., & Pearson, M. N. (2018). Aspergillus Pubmed. *Viruses*, 10(30), 539. <https://doi.org/10.3390/v10100539>
- Gandi, N. L. G., Getas, I. W., & Jannah, M. (2019). Studi Jamur Aspergillus fumigatus penyebab Aspergillosis di Pasar Cakranegara Kota Mataram dengan Media Pertumbuhan Potato Dextrose Agar (PDA). *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6(1), 81. <https://doi.org/10.32807/jambs.v6i1.128>
- Harmileni, Saragih, G., Hidayani, T. R., Mirnandaulia, M., Ginting, C. N., & Fachrial, E. (2023). *MIKROBA ENDOFIT DALAM DUNIA KESEHATAN: MANFAAT DAN APLIKASI* (F. Piska (ed.)). UNPRI Press.
- Haryani, Y., Riau, U., Puspita, F., Riau, U., Saryono, S., & Riau, U. (2013). *Skrining jamur endofit dari umbi Dahlia variabilis*.
- Hasiani, V. V., Ahmad, I., & Rijai, L. (2015). Isolasi Jamur Endofit dan Produksi

- Metabolit Sekunder Antioksidan dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(4), 146–153. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i4.32>
- Ikram, A. M. (2019). *OPTIMASI METODE PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) PADA BAKTERI INDIGEN PENDEGRADASI XILAN DARI LIMBAH VINASSE*. Skripsi.
- Pujiati, W. (2018). Identifikasi jamur *Aspergillus* sp pada tepung di Terigu (Studi di Pasar Legi Jombang). *STIKes Insan Cendekia Medika*, 67.
- Putri, M. C., Erina, E., Abrar, M., & AK, M. D. (2021). Isolasi dan Identifikasi *Aspergillus* Sp. pada Kantong Hawa Puyuh (*Cortunix Japonica*). *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 9(2), 134–142. <https://doi.org/10.29244/avi.9.2.134-142>
- Rosa, L. P., Wahyuni, D., & Murdiyah, S. (2020). Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit Tanaman Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth). *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 22(1), 26–45. <https://doi.org/10.14710/bioma.22.1.26-45>
- Sabbathini, G. C., Pujiyanto, S., Wijanarka, & Lisdiyanti, P. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Genus *Sphingomonas* dari Daun Padi (*Oryza sativa*) di Area Persawahan Cibinong. *Jurnal Akademika Biologi*, 6(1), 59–64. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19523>
- Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of*

*Laboratory*, 4(1), 36. <https://doi.org/10.22146/ijl.v4i1.65550>

Shinta, D. Y. (2021). *Jamur endofit sebagai sumber bahan obat alami*.

Shinta, D. Y., Juliandi, M. D., Widyastuti, Herix Sonata, M. S., & Saryono. (2023). Microbial inhibition test and optimization of temperature, aeration fermentation of endophytic *Fusarium* sp LBKURCC 41 from *Dahlia tuber* (*Dahlia variabilis*). *Bali Medical Journal*, 12(3), 77–82. <https://doi.org/10.15562/bmj.v12i3.4879>

Shinta, D. Y., Yusmarini, Y., Sonata MS, H., Teruna, H. Y., & Saryono, S. (2019). Uji Bioaktivitas Antibakteri Senyawa murni dari Jamur Endofit *Sporothrix* sp Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Dinamika Lingkungan Indonesia*, 6(1), 37. <https://doi.org/10.31258/dli.6.1.p.37-44>

Syaifuddin, A. N. (2017). Identifikasi Jamur *Aspergillus* Sp Pada Roti Tawar Berdasarkan Masa Sebelum dan Sesudah Kadaluarsa. *STIKes Insan Cendekia Medika*, 3, 1–33.

Syaifurrisal. (2017). Klasifikasi pada Jamur *Aspergillus*. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.

Yanti, A. (2017). Uji Autentifikasi Daging Kambing Terhadap Cemaran Daging Babi Menggunakan Real-TIME PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION). *Skripsi*, 76.

Munirah, C. P. (2020). Isolasi Dan Uji Aktivitas Jamur Endofit Asal Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Dell.) Sebagai Antibakteri Multi Drugs Resistant

(MDR) *Escherichia coli*. *Skripsi*, 1–54.

Primiani, C. N. (2018). *fermented by Aspergillus niger*. 23(2), 84–89.

Rahayu, F., Saryono, & Nugroho, T. T. (2015). ISOLASI DNA DAN  
AMPLIFIKASI PCR DAERAH ITS rDNA FUNGI ENDOFIT UMBI  
TANAMAN DAHLIA (*Dahlia variabilis*) LBKURCC69. *Jom Fmipa*, 2(1),  
100–106.