

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KAPANG ENDOFIT DARI POHON SENGON PROVENAN KEPULAUAN SOLOMON BERDASARKAN MORFOLOGI DAN MOLEKULER (ANALISIS rDNA ITS (*INTERNAL TRANSCRIBED SPACER*))

Isolation and Identification of Endophytic Fungi of Sengon Trees Provenance Solomon Islands Based On Morphological and Molecular (Analysis of rDNA ITS (Internal Transcribed Spacer))

Oleh: Wahyu Nuryadi H (12308144018)¹, Anna Rakhmawati², Istiana Prihatini³

¹Mahasiswa Program Studi Biologi FMIPA UNY

²Dosen Pembimbing Penelitian I

³Dosen Pembimbing Penelitian II, Peneliti BBBPTH Yogyakarta

Email : Wahyubuatandroid@gmail.com¹

Anna_Rakhmawati@uny.ac.id²

Istianaprihatini@biotifor.co.id³

Abstrak

Kapang endofit merupakan organisme yang memiliki potensi sebagai agen hayati pengendali hama patogen pada tanaman. Perlu adanya penelitian untuk mengisolasi dan mengidentifikasi kapang endofit dari jaringan tanaman yang diketahui memiliki tingkat resistensi terhadap suatu penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi kapang endofit dari pohon sengon provenan Kepulauan Solomon menggunakan analisis rDNA ITS, serta mempelajari karakter morfologi isolat yang berhasil diisolasi. Isolasi kapang endofit dilakukan dengan cara menanam bagian bagian daun, tangkai daun, ranting dan kulit batang pohon sengon pada media MEA, kultur tunggal isolat kapang endofit diidentifikasi berdasarkan morfologi dan molekuler pada sekuen rDNA ITS (ITS1-5.8S-ITS2). Hasil penelitian ini mendapatkan 28 isolat kapang endofit, namun hanya 26 isolat yang menunjukkan hasil *sequencing* yang baik dan digunakan untuk proses analisis filogenetik. Hasil identifikasi diperoleh sebanyak 4 isolat teridentifikasi sebagai genus *Lasiodiplodia*, 4 isolat sebagai famili *Didymellaceae*, 11 isolat teridentifikasi sebagai genus *Phompopsis*, 5 isolat sebagai genus *Colletotrichum*, 1 isolat sebagai genus *Nemania*, dan 1 isolat sebagai genus *Xylaria*.

Kata kunci: Kapang Endofit, Morfologi Kapang, Analisis rDNA ITS, Sengon Provenan Kepulauan Solomon.

Abstract

*Endophytic fungi were organisms that had potential as biocontrol agents pest pathogenic of plants. A research to isolate and identify the endophytic fungi from plant tissue was known had high levels of resistance to a disease is needed. The aim of this study was to isolate and identify morphology and molecular (using ITS rDNA analysis) characters of endophytic fungi Sengon provenance Solomon. Isolation of endophytic fungi carried by planting part of the leaf, stalk leaves, twigs and tree bark sengon on MEA medium. Identification of isolates was done based on morphological and molecular on ITS rDNA sequences (ITS1-5.8S-ITS2). The research yielded 28 isolates of endophytic fungi, but only 26 isolates showed good results sequencing and used for phylogenetic analysis process. This identification shows there are 4 isolates as *Lasiodiplodia* genus, 4 isolates as *Didymellaceae* family, 11 isolates were identified as *Phompopsis* genus, 5 isolates as *Colletotrichum* genus, 1 isolates as *Nemania* genus, and 1 isolate as *Xylaria* genus.*

Keywords: Endophytic Fungi, Morphological Characters Fungi, rDNA ITS Analysis, Sengon Provenance Solomon Islands

PENDAHULUAN

Sengon (*Falcataria moluccana*) merupakan tanaman hutan yang termasuk dalam famili Fabaceae dan memiliki nama lain (sinonim) dengan *Paraserianthes falcataria*., *Adenantha alcate* L., *Adenantha falcataria* L., *Albizia falcate* (L.) Fosb., dan *Albizia moluccana*. Pohon sengon dikenal dengan nama umum dalam Bahasa Inggris : albizia, batai, Indonesian albizia, moluca, paraserianthes, peacock plume, white albizia; dalam Bahasa Filipina: falcate, moluccan sau (Wiryadiputra, 2007: 1). Sengon secara alami tersebar di Indonesia, Papua Nugini, Kepulauan Solomon, dan Australia. Kayu sengon banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam produksi seperti mebel, triplex, rayon dan pulp untuk membuat kertas (Soerianegara dan Lemmens, 1993).

Kebutuhan akan kayu sengon baik dari dalam atau luar negeri setiap tahunnya meningkat. Upaya budidaya pohon sengon unggul perlu dilakukan untuk menjaga kelestariannya dialam, serta untuk memenuhi permintaan pasar tersebut. Salah satu sengon unggul yang memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan sengon lokal serta memiliki resistensi terhadap penyakit adalah sengon provenan Kepulauan Solomon (Setiadi *et al.*, 2014: 1).

Salah satu masalah budidaya tanaman sengon yaitu adanya penyakit karat tumor yang menyerang tanaman ini. Penyebab penyakit karat tumor pada sengon ialah jenis fungi *Uromycladium falcatarium* Sp. nov. (Doungsard *et al.*, 2015: 1). Penyakit ini biasanya menyerang bagian batang tanaman, baik tanaman sengon muda di pembibitan atau di lapangan, hingga tanaman tua atau tanaman tegakan.

Tingginya tingkat kerugian yang disebabkan oleh serangan penyakit karat tumor ini, sehingga membutuhkan upaya pengendalian penyakit tersebut. Salah satu caranya adalah dengan menggunakan agen hayati. Cara ini merupakan cara paling efektif serta ramah

lingkungan, karena memanfaatkan dari alam, yaitu organisme yang bersifat antagonis dari penyebab penyakit. Agen hayati yang memiliki potensi sebagai agen hayati yaitu kapang endofit. Kapang endofit merupakan fungi yang hidup didalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan kerugian pada tanaman inangnya. Upaya yang dilakukan untuk mencari potensi kapang endofit sebagai agen hayati, yaitu dengan melakukan penelitian awal untuk mengisolasi dan mengidentifikasi kapang endofit dari bagian tanaman unggul atau memiliki resistensi terhadap suatu penyakit.

Isolasi kapang endofit dari bagian tanaman dapat dilakukan dengan cara menanam bagian tanaman yang telah disterilisasi pada media pertumbuhan, seperti yang telah dilakukan oleh Safinah *et al.* (2014). Identifikasi kapang endofit dapat dilakukan dengan pengamatan ciri morfologi koloni kapang, serta secara molekuler (Bayman, 2007).

Teknik identifikasi molekuler yang sudah populer untuk fungi yaitu menggunakan analisis rDNA. DNA ribosoman (rDNA) adalah daerah penyandi genom untuk komponen RNA ribosom, memiliki daerah konservatif yaitu gen penyandi rDNA 18S, 5.8S dan 28S yang diantaranya terdapat daerah ITS (*Internal Transcribed Spacer*) (Gomes *et al.*, 2002). Sekuen rDNA region ITS memiliki variasi sekuen relatif tinggi pada gen rDNA tiap spesies, sehingga sangat baik digunakan untuk identifikasi tingkat genus hingga spesies (Buchan *et al.*, 2002).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi kapang endofit dari pohon sengon provenan Kepulauan Solomon berdasarkan morfologi dan molekuler (analisis rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*)).

METODE PENELITIAN

Tanaman sengon yang digunakan didalam penelitian ini didapatkan dari Kebun Semai Benih Uji Keturunan (KSBUK)

Lumajang dengan kode tanaman: 77,83, 98. Target penelitian ini adalah memperoleh isolate yang sudah teridentifikasi secara morfologi dan molekuler kapang endofit dari pohon sengon Provenan Kepulauan Solomon.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler Balai Besar Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan (BBBPTH) Yogyakarta dan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY pada bulan Maret-Mei 2016.

1. Sterilisasi permukaan kulit kayu, ranting, daun dan tangkai daun

Bagian tanaman (kulit kayu, ranting, dan tangkai daun) dipotong-potong dengan panjang 0,5-1cm, sedangkan bagian daun tidak dipotong-potong, kemudian bagian-bagian tanaman tersebut direndam untuk proses sterilisasi permukaan dengan menggunakan larutan ethanol 90% selama 1 menit, dibilas menggunakan air steril, dan dilanjutkan dengan direndam menggunakan larutan hipoklorit (NaOCl_2) selama 5 menit, dibilas kembali menggunakan air steril, dan dikeringkan di atas kertas towel steril.

2. Isolasi kapang

Media yang digunakan yaitu media MEA (*Malt Ekstract Agar*). Organ tanaman diletakkan secara aseptik didalam media MEA, sebanyak 3 potong organ tanaman dalam satu petridish dan diinkubasi selama 10 hari. Koloni kultur campuran jamur yang tumbuh pada media pertama ini selanjutnya di sub-kultur untuk mendapatkan koloni tunggal jamur. Pengamatan terhadap karakter morfologi isolat jamur dilakukan setelah koloni tunggal berumur ± 10 hari.

3. Seleksi isolat berdasarkan karakter morfologi

Isolat tunggal yang telah ditumbuhkan, kemudian diseleksi berdasarkan karakter morfologi koloni untuk memperoleh isolat yang paling berbeda dan akan diidentifikasi secara molekuler. Isolat dipilih berdasarkan karakter morfologi koloni seperti warna koloni, warna sebalik, tekstur koloni, permukaan koloni, *growing zone*, zonasi, dan *radial furrow*. Untuk memperoleh data ciri mikroskopis, dilakukan dengan membuat *slide culture* untuk

mendapatkan preparat miselium kapang endofit.

4. Ekstraksi dan purifikasi DNA

Isolat tunggal kapang endofit digunakan pada tahap ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan buffer SDS (*Sodium Deodecyl Sulphate*) (Raeder and Broda, 1985) sesuai protokol yang digunakan pada Glen *et al.* (2002)

5. Dilusi DNA

Proses dilusi atau pengenceran dilakukan tiap sampel yaitu pengenceran 10x. Dilusi dilakukan dengan mengambil 10 μl sampel hasil purifikasi ditambahkan dengan 90 μl buffer TE, kemudian divortex hingga tercampur. Apabila belum dilanjutkan ke tahap PCR, maka DNA yang ada di dalam tube hasil dilusi dapat disimpan dalam suhu -20°C .

6. Amplifikasi PCR dan Elektroforesis Reaksi

Amplifikasi PCR daerah ITS-1 dan ITS-2 rDNA dilakukan dengan menggunakan pasangan primer ITS-1F (Gardes dan Bruns, 1993) dan ITS-4 (White *et al.*, 1990). Total volume untuk amplifikasi PCR adalah 50 μl , terdiri dari konsentrasi akhir : 25,1 μl akuades steril, 10 μl 5x buffer PCR Boline, 2 μl Mg_2Cl , 1 μl BSA, 0,5 μl dNTP, 0,5 primer 1 (ITS-1F), 0,5 primer 2 (ITS-4), dan 0,4 μl Magotaq Polymerase, 10 μl DNA isolat yang sudah diencerkan 10x menggunakan TE yang ditambahkan akuades steril.

Visualisasi hasil PCR dilakukan melalui elektroforesis pada gel agarose 1%.

7. DNA Sequencing dan Analisis data

Hasil amplifikasi dari reaksi PCR tersebut kemudian dikirim ke 1st Base, Singapura, untuk dilakukan sekuensing menggunakan primer ITS4. Gambar kromatogram hasil sekuensing yang diperoleh dari website 1stBase dianalisa dan bila diperlukan dilakukan pengeditan menggunakan program Bioedit yang dapat diunduh secara gratis (<http://www.mbio.ncsu.edu>). Sekuen DNA jamur kemudian dicocokkan dengan sekuen DNA kapang yang tersedia pada database *Nukleotida National Center for*

Biotechnology Information (NCBI) menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) yang dikembangkan oleh Altschul *et al.*, (1997). Hasil pencocokan identitas jamur tersebut kemudian dikelompokkan sesuai dengan tingkat kemiripannya. DNA jamur sampel dan DNA sekuen dari database yang telah diketahui jenisnya kemudian diolah menggunakan program Clustal W pada program Bioedit untuk membuat *alignment* terhadap semua sekuen. DNA sekuens dari database yang memiliki tingkat kesamaan 98%-100% dari takson yang sama dengan DNA sampel akan dimasukkan dalam proses analisis menggunakan analisis pendekatan *Maximum Likelihood* menggunakan program *construct/Test Maximum Likelihood Tree(s)* dari software Mega 7 (Tamura *et al.*, 2007).

HASIL PENELITIAN

1. Karakterisasi Morfologi Isolat Kapang Endofit

Isolasi kapang endofit dari bagian daun, tangkai daun, ranting dan kulit batang tanaman sengan provenan Kepulauan Solomon yang ditanam di Kebun Semai Benih Uji Keturunan (KSBUK) Lumajang menghasilkan 28 isolat murni jamur endofit dengan karakter morfologi koloni yang berbeda. Hasil isolasi kapang endofit dari bagian kulit batang dan ranting pohon sengan menunjukkan jumlah kehadiran kapang endofit yang paling banyak dibandingkan kapang endofit yang diisolasi dari bagian daun dan tangkai daun. Kapang endofit pada tanaman kode 77 menghasilkan 14 isolat yang berbeda, tanaman kode 83 menghasilkan 5 isolat yang berbeda, tanaman kode 98 menghasilkan 9 isolat yang berbeda.

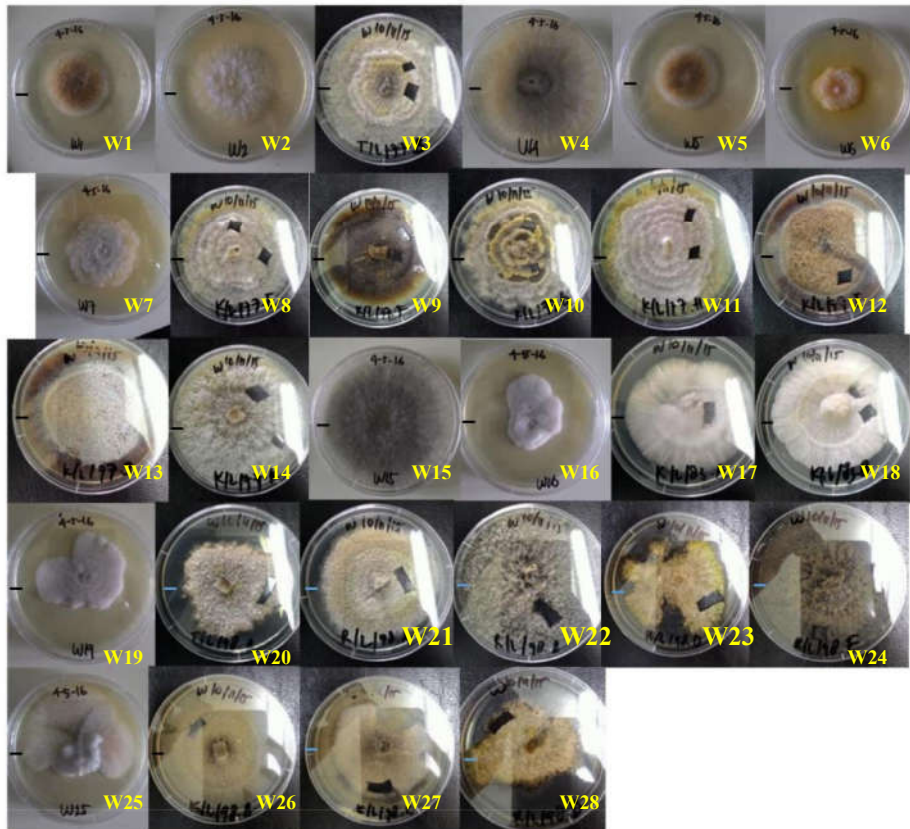
Isolat kapang endofit yang ditanam pada media MEA memiliki karakter morfologi koloni berbeda-beda. Pengamatan morfologi koloni meliputi warna permukaan koloni, warna sebalik koloni, tekstur miselium, Permukaan/*Elevations*, ada tidak nya zonasi,

growing zone dan *radial furrow*. Sebagian besar warna permukaan koloni dan sebalik koloni menampilkan warna yang beragam, mulai dari warna coklat. Pengamatan tekstur miselium pada masing-masing isolat ditemukan bertekstur kapas (*Cottony*), kerak (*Crustose*), *frustose*, *silky* dan *felty*. Rata-rata kapang tumbuh pada media dengan tipe miselium tumbuh di atas agar media (*appressed/raised*), dengan masing-masing kapang ada yang tumbuh membentuk *elevations* jenis *convex*, *flat*, *raised*, dan *crateriform*.

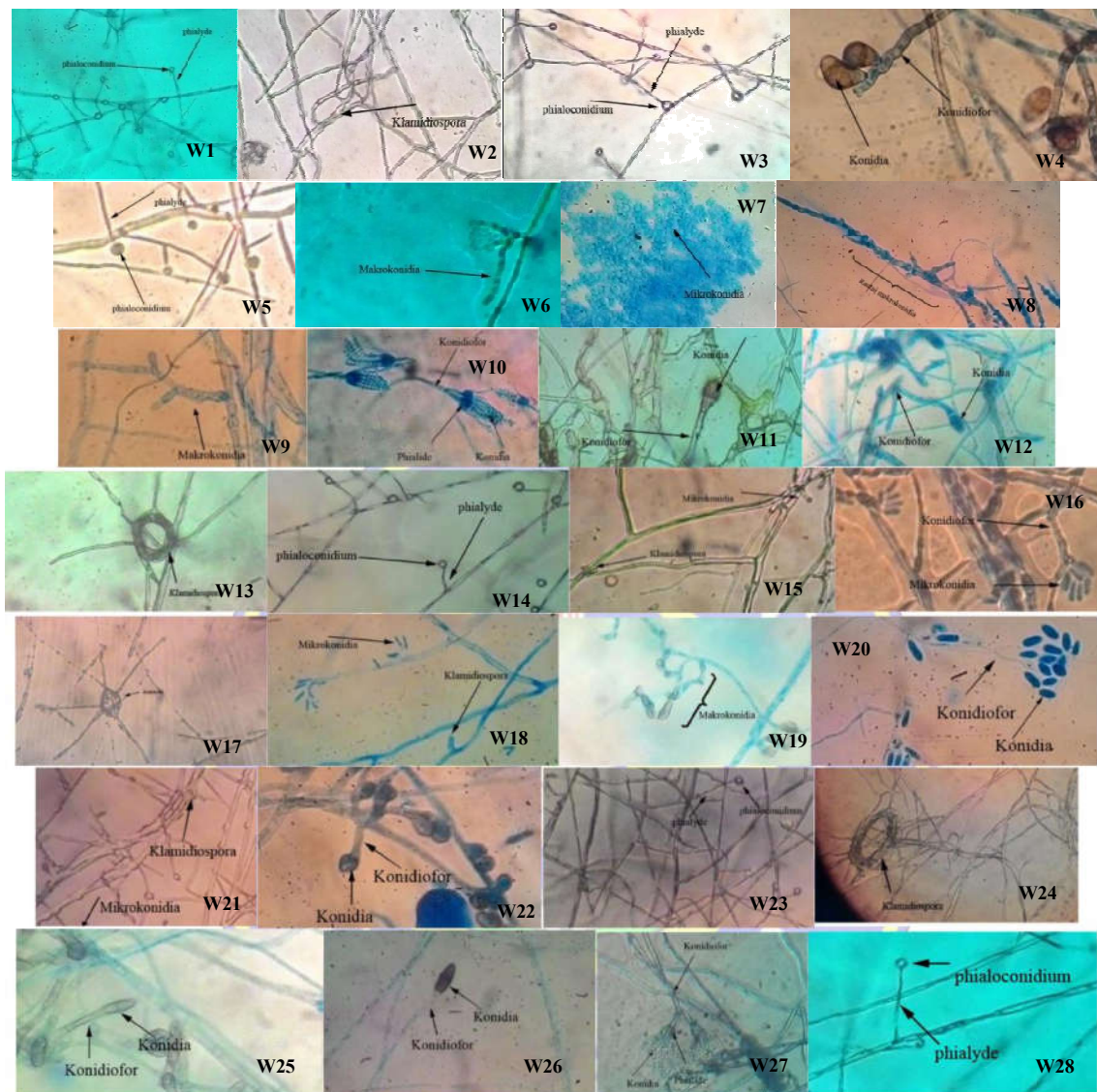
Pengamatan mikroskopis dengan menggunakan pewarnaan laktofenol mengamati bentuk hifa dan alat perkembangbiakan yang tampak. Bentuk hifa dalam pengamatan, yaitu jenis hifa bersepta (bersekat/monositik) dan juga hifa tak bersepta (hifa senositik). Selain bentuk hifa dan konidia, sel konidiogenos juga ikut teramati pada pengamatan ini. Menurut Gandjar *et al.*, (2006: 59): Sel konidiogenos merupakan sel pembentuk konidia, sel ini adalah sel aseksual tunggal yang terbentuk langsung dari sel pada hifa atau suatu sel hifa sendiri yang menghasilkan konidia. Bentuk sel konidiogenos dan konidia yang teramati yaitu sel konidiogenos bentuk lencir, dengan fialid yang tumbuh selalu menjauhi hifa, dengan bentuk konidia bulat berwarna hialin diujungnya. Bentuk lainnya yaitu sel konidiogenos bentuk botol dengan leher panjang atau pun pendek, konidia berbentuk bulat berantai, pada pengamatan baik fialid, maupun konidia tercat berwarna biru. Bentuk konidia lainnya yang teramati yaitu ada yang berbentuk elips (pada pengamatan tercat berwarna biru dan cokelat), dan ovoid yang berwarna hialin. Pada pengamatan juga ditemukan makrokonia yang tumbuh pada tepi hifa dengan bentuk silindris seperti bentuk cerutu dan berwarna hialin. Mikrokonia juga ditemukan dengan bentuk elips dan berwarna hialin.

Tabel 1. Presentasi dan Distribusi Kapang Endofit pada Masing-Masing Kode Pohon dan Bagian Tanaman

Kode Tanaman	Kapang Endofit yang Ditemukan pada Tiap Organ Tanaman			
	Daun	Tangkai Daun	Ranting	Kulit Batang
77	<i>Didymellaceae</i>	<i>Phomopsis</i> Sp. <i>Phomopsis</i> Sp. <i>Lasiodiplodia</i> Sp.	<i>Didymellaceae</i>	<i>Phomopsis</i> Sp. <i>Phomopsis</i> Sp. <i>Phomopsis</i> Sp. <i>Didymellaceae</i> <i>Phomopsis</i> Sp. <i>Phomopsis</i> Sp. <i>Didymellaceae</i> Sp. <i>Phomopsis</i> Sp. <i>Lasiodiplodia</i> Sp.
83				<i>Colletotrichum</i> Sp. <i>Xylaria</i> Sp. <i>Nemania</i> Sp. <i>Colletotrichum</i> Sp. <i>Phomopsis</i> Sp.
98			<i>Lasiodiplodia</i> Sp. <i>Lasiodiplodia</i> Sp. <i>Colletotrichum</i> Sp.	<i>Colletotrichum</i> Sp. <i>Colletotrichum</i> Sp. <i>Phomopsis</i> Sp.



Gambar 1. Karakteristik Makroskopis 28 Isolat (W1-W28) Kapang Endofit Pohon Sengon Provenan Kepulauan Solomon pada Media MEA. Bar = 1 cm



Gambar 2. Karakteristik Mikroskopis 28 Isolat (W1-W28) Kapang Endofit Pohon Sengon Provenan Kepulauan Solomon pada Media MEA.

2. Identifikasi Molekuler Isolat Kapang Endofit

Data sekuens berupa *text file* hasil tahap sekuensing digunakan untuk mencari identitas isolat dengan cara mencari homologi *sequence* spesies terdekatnya pada data *sequens* dalam *database/Genebank* NCBI (Hall, 2004). Maka dengan demikian dapat diketahui spesies-spesies yang memiliki kemiripan ataupun kesamaan dengan urutan basa DNA isolat sampel (*query*). Analisis BLAST *database* NCBI menunjukkan hasil yaitu dari 26 isolat dapat dikelompokkan menjadi dua kelas taksa dari jamur Ascomycotina, kedua kelas taksa tersebut

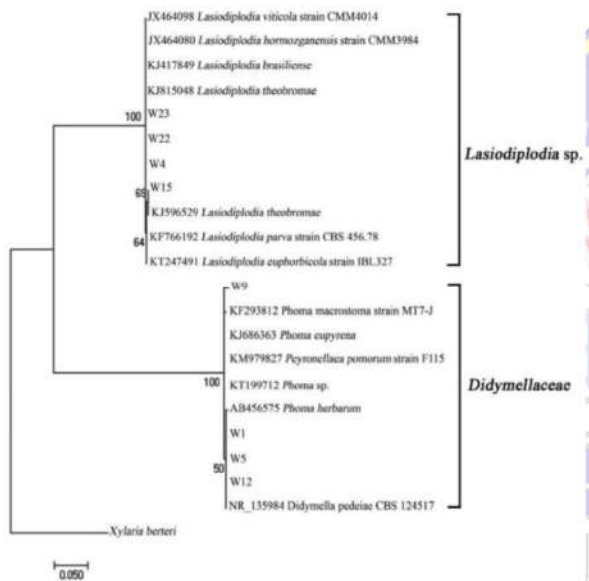
yaitu kelas *Dothideomycetes* dan *Sordariomycetes*.

a. Identifikasi isolat yang termasuk kelas taksa *Dothideomycetes*

Delapan isolat dikelompokkan masuk kedalam kelas taksa *Dothideomycetes*, yaitu isolat kode W1, W4, W5, W9, W12, W15, W22, W23. Setelah dikelompokkan sesuai kelas taksanya, 8 sekuens isolat sampel dan 13 sekuens yang mirip dari *Genebank* NCBI dianalisis menggunakan metode *maximum likelihood* dengan 1000 replikasi *bootstrap* pada aplikasi MEGA 7, sekuens *Xylaria berteri* ikut dimasukkan dalam analisis sebagai *outgroup*.

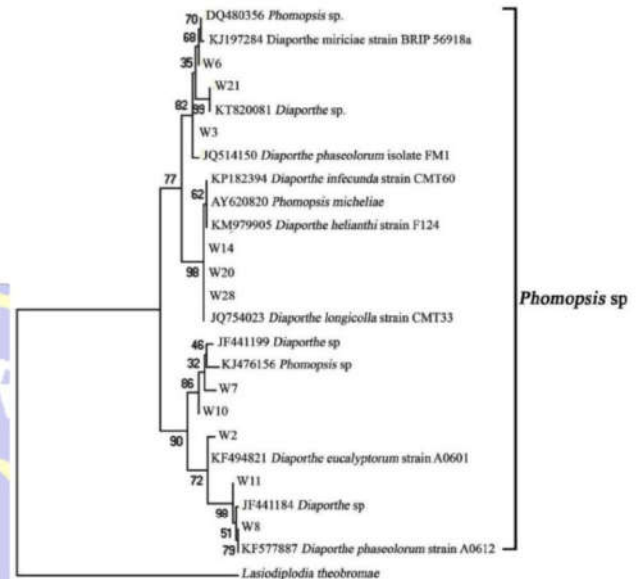
Hasilnya yaitu isolat kode W23, W22, W4, dan W15, diketahui memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan genus *Lasiodiplodia*, ini ditunjukkan dengan nilai bootstrap 100%. Genus *Lasiodiplodia* sendiri merupakan genus dari taksa famili *Botryosphaeriaceae*, dan ordo *Botryosphaeriales*.

Isolat kode W9, W1, W5, dan W12 dari hasil analisis filogenetik, diketahui memiliki tingkat kemiripan dengan famili *Didymellaceae* dengan nilai bootstrap 100%.



Gambar 3. Hasil analisis filogenetik dengan skala genetik dan internal konfiden 1000 replikasi *bootstrap* menggunakan metode *Maximum Likelihood* model Tamura-Nei terhadap sekuen ITS jamur endofit sengon kelompok *Dothideomycetes*. Sekuen jamur *Xylaria berteri* digunakan sebagai *outgroup* dalam analisis ini.

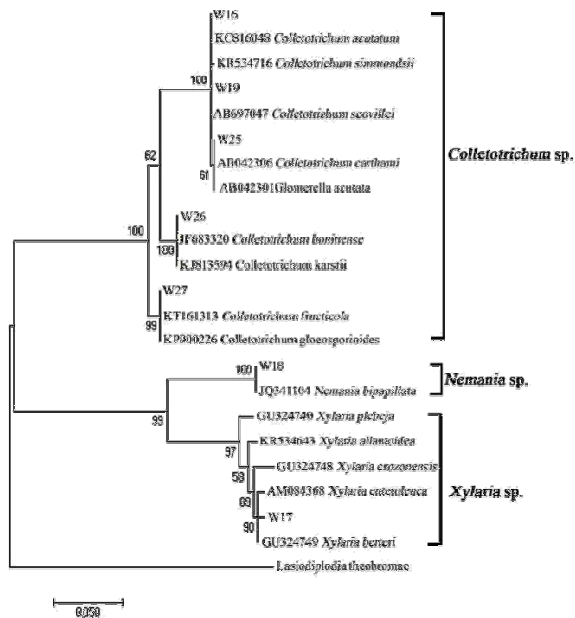
teridentifikasi sebagai genus *Phomopsis*. Isolat kode W16, W19, W25, W26, W27 teridentifikasi sebagai genus *Colletotrichum*. Isolat kode 18 teridentifikasi sebagai genus *Nemania*. Isolat kode 17 teridentifikasi sebagai genus *Xylaria*.



Gambar 4. Hasil analisis filogenetik dengan skala genetik dan internal konfiden 1000 replikasi *bootstrap* menggunakan metode *Maximum Likelihood* model Tamura-Nei terhadap sekuen ITS jamur endofit sengon genus *Phomopsis* sp. Sekuen jamur *Lasiodiplodia theobrome* digunakan sebagai *outgroup* dalam analisis ini.

a. Identifikasi isolat yang termasuk kelas taksa *Sordariomycetes*

Isolat yang masuk kedalam kelompok kelas taksa *Sordariomycetes* ada sebanyak 18 isolat yang selanjutnya dianalisis menggunakan metode *maximum likelihood* dengan 1000 replikasi *bootstrap* pada aplikasi MEGA 7, sekuens *Lasiodiplodia theobrome* digunakan sebagai *outgroup*. Dari hasil filogenetik, isolat kode W6, W21, W3, W14, W20, W28, W7, W10, W2, W11, W8



Gambar 5. Hasil analisis filogenetik dengan skala genetik dan internal konfidensi 1000 replikasi *bootstrap* menggunakan metode *Maximum Likelihood* model Tamura-Nei terhadap sekuen ITS jamur endofit spongenon genus *Colletotrichum*, *Nemaniasp.* dan *Xylaria*. Sekuen jamur *Lasiodiplodia theobromae* digunakan sebagai *outgroup* dalam analisis ini.

PEMBAHASAN

Kapang endofit merupakan mikroorganisme yang hidup berkoloni didalam jaringan tanaman, namun tidak menimbulkan kerugian pada tanaman inangnya. Mencari keberadaan kapang endofit pada jaringan tanaman dapat dilakukan dengan tahap isolasi. Dalam penelitian ini kapang endofit berhasil diisolasi dari pohon spongenon provenan Kepulauan Solomon pada bagian daun, tangkai daun, ranting dan kulit batang. Penelitian lain, dilaporkan oleh Kumar dan Kevin D. Hyde (2004) berhasil mengisolasi kapang endofit dari bagian daun, batang, kulit kayu, akar dan bunga pada tanaman *Tripterygium wilfordii*. Keberagaman dan jumlah kapang endofit yang berhasil diisolasi dari bagian suatu tanaman tertentu mempunyai hasil yang berbeda. Seperti dalam penelitian ini, kapang endofit lebih banyak ditemukan dan diisolasi dari bagian ranting dan kulit batang, dibandingkan

dari bagian daun dan tangkai daun. Menurut Irmawan (2007: 15), kelimpahan dan keragaman jamur endofit pada suatu tanaman dipengaruhi oleh varietas inang tanaman, sehingga keberadaan kapang endofit berhubungan pula dengan metabolisme inang tanaman.

Isolat kapang endofit yang berhasil diisolasi dari bagian daun, tangkai daun, ranting, dan kulit batang ada sebanyak 28 isolat, namun berdasarkan hasil sekuensing, hanya 26 isolat yang digunakan untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan analisis filogenetik. Hasilnya yaitu seluruh isolat masuk kedalam anggota filum Ascomycotina dan terpisah menjadi 2 kelas, yaitu kelas *Dothideomycetes* (31%) dan *Sordariomycetes* (69%).

Anggota kelas *Dothideomycetes* sering ditemukan sebagai patogen, endofit atau epifit pada tanaman hidup, juga sebagai pendegradasi selulosa dan karbohidrat kompleks lainnya pada bagian tanaman yang mati atau pada sampah daun (Conrad L., Schoch *et al.* 2006).

Isolat kode W23, W22, W4 dan W15 teridentifikasi hingga tingkat genus, yaitu genus *Lasiodiplodia* berdasarkan hasil analisis rDNA ITS. Genus *Lasiodiplodia* dilaporkan dalam banyak penelitian sebagai kapang penyebab penyakit pada tanaman. Penelitian Ani Widiastuti dkk (2015) mendapatkan kapang *Lasiodiplodia* sp., menyebabkan gejala busuk pangkal buah pada buah mangga pasca panen, bercak nekrotik hitam pada buah pisang dan sawo pasca panen. Secara makroskopis, *Lasiodiplodia* pada isolat memiliki miselium yang bertekstur seperti kapas atau wol, dengan warna awal putih kemudian berubah menjadi kehitaman. Secara mikroskopis, terlihat kapang membentuk konidia/phyalokonidia. Konidia berbentuk elips dan berwarna cokelat, sedangkan phialokonidia berbentuk bulat berwarna hialin, ciri yang ditemukan ini sesuai dengan yang digambarkan Gandjar *et al* (2006: 37). Keempat isolat pada penelitian ini yang termasuk kedalam genus taksa *Lasiodiplodia* berhasil diisolasi dari bagian ranting dan

tangkai daun pada ketiga kode tanaman sengon provenan Kepulauan Solomon.

Isolat kode W9, W1, W5 dan W12 hanya dapat teridentifikasi hingga famili *Didymellaceae*. Keempat isolat yang masuk kedalam famili *Didymellaceae* diisolasi dari pohon sengon provenan Kepulauan Solomon kode 77 pada bagian daun, ranting dan kulit batang. Dari pengamatan makroskopis dan mikroskopis, isolat kode W1 dengan W5 memiliki kemiripan yaitu warna koloni dan tekstur miselium, pengamatan mikroskopik pun terlihat kedua isolat sama-sama memiliki phialokonidia. Isolat W12 secara morfologi juga terlihat mirip dengan isolat kode W13, sayangnya isolat kode W13 menghasilkan hasil sekuensing yang kurang baik, sehingga tidak diikuti sertakan pada analisis filogenetik. Kemiripan morfologi koloni antara isolat satu dengan isolat yang lain tidak lantas dapat dikatakan bahwa isolat-isolat tersebut merupakan spesies yang sama, sehingga diperlukan teknik identifikasi yang lain untuk memastikannya, yaitu dengan identifikasi secara molekuler. *Didymellaceae* merupakan salah satu famili dari ordo *Pleosporales*. Dari sekian banyak anggota famili *Didymellaceae*, genus *Phoma* mungkin yang paling terkenal sebagai jamur endofit. Beberapa jenis *Phoma* sp., terkenal sebagai penyebab penyakit bercak daun di persemaian pada tanaman pinus (Edy Batara, 2005), namun ada pula *Phoma glomerata* yang memiliki kemampuan untuk menjadi agen pengendalian hayati karena memiliki aktivitas biokontrol terhadap penyakit akar gada pada tanaman caisin dan turnip (Cicu, 2006).

Kelas Sordariomycetes merupakan kelas terbesar dalam filum Ascomycota, dengan lebih dari 600 genus dan 3000 spesies yang telah diketahui (Kirk *et al.*, 2001). Anggota dari kelas ini hidup di hampir seluruh ekosistem sebagai pathogen, endofit pada tanaman, arthropoda, mamalia, serta terlibat dalam proses dekomposisi (Zhang *et al.*, 2006: 1).

Berdasarkan analisis filogenetik antara 11 sekuens isolat dengan 13 sekuens homolog

yang didapat dari *database*, isolat dengan kode W6, W21, W3, W14, W20, W28, W7, W10, W2, W11, dan W8 teridentifikasi sebagai genus *Phomopsis*. Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis koloni, isolat dari kelompok ini memiliki tekstur seperti wol ataupun kapas, memiliki hifa udara, dengan miselium berwarna putih, atau putih kekuningan. Seluruh isolat nampak memiliki konidia/phialokonida, konidia berbentuk bulat hingga elips, tunggal atau berkumpul, dengan warna coklat atau biru karena pewarnaan menggunakan laktofenol. Hal ini serupa dengan hasil penelitian yang diungkapkan oleh Svetlana *et al.* (2007) yaitu morfologi koloni *Phomopsis* memiliki warna putih, putih keabuan hingga kecoklatan dengan tektur yang seperti wol. Konidia berbentuk bulat dengan warna gelap. Isolat pada kelompok genus ini berhasil diisolasi dari bagian tangkai daun, ranting, dan kulit batang pada ketiga kode tanaman sengon provenan Kepulauan Solomon. *Phomopsis* diketahui sebagai pathogen dari tanaman kedelai dan bunga matahari (Jurkovic *et al.*, 2007). Namun ada juga hasil dari penelitian Haiyan Li *et al* (2011), menemukan bahwa kapang *Phomopsis* yang diisolasi dari tanaman obat cina memiliki potensi menjadi agen hayati karena memiliki kemampuan dapat menghambat pertumbuhan *Scopulariopsis* dan *Verticillum* yang merupakan organisme pathogen pada tanaman.

Isolat dengan kode W16, W 19, W25, W26, dan W27 teridentifikasi sebagai genus *Colletotrichum*. Karakteristik isolat yang masuk kedalam genus ini yaitu memiliki warna hifa putih hingga keabu-abuan, dengan tekstur seperti kapas (*Cottony*), dari seluruh isolat ditemukan konidia berwarna hialin berbentuk elips, dan dengan hifa berseptat. Karakteristik koloni ini sama dengan yang dilaporkan oleh Sudirga (2016), yaitu kapang *Colletotrichum* memiliki koloni berwarna putih atau abu-abu dengan tekstur seperti kapas dan yang seperti yang dikatakan oleh Dickman (1993), *Colletotrichum* memiliki hifa yang bersekat, serta menghasilkan konidia yang berwarna hialin. Pada penelitian ini,

isolat yang termasuk kelompok ini berhasil diisolasi dari bagian ranting dan kulit batang pada pohon kode 83 dan 98, sengan provenan Kepulauan Solomon. Jamur dari genus *Colletotrichum* juga diketahui sebagai jamur yang bersifat patogen yang menyerang banyak tanaman. Jamur ini dikenal sebagai jamur yang menyebabkan banyak kasus penyakit antraknosa, seperti pada tanaman jarak pagar di perkebunan Cirata, Kabupaten Bandung (Dwi L. *et al.*, 2010) dan cabai besar di Bali (Sudirga, 2016). Isolat kode W18 teridentifikasi sebagai dari genus *Nemania*. Isolat ini memiliki tekstur miselium seperti kapas halus (*silky and cottony*) dan berwarna putih, memiliki hifa yang tak bersepta dan konidia yang berwar hialin. Pada penelitian ini, *Nemania* ditemukan pada bagian kulit batang pada pohon sengan kode 83. Belum terlalu banyak hasil penelitian yang dilaporkan mengenai isolasi atau peran anggota genus ini dari suatu tanaman. *Nemania* pernah dilaporkan berhasil diisolasi dari daun jarum *Pinus radiata* di Australia (Prihatini, 2015), dari tanaman tradisional China *Cephalotaxus hainensis*.

Isolat kode W17 teridentifikasi sebagai genus *Xylaria*. Karakteristik koloni isolat ini sekilas nampak seperti genus *Nemania*, dengan tekstur kapas halus (*silky and cottony*) serta berwarna putih. Pada pengamatan mikroskopik terlihat hifa tak bersepta, dan ditemukan konidiospor berwarna hialin. Karakteristik tersebut serupa dengan hasil penilitan Rodrigues *et al.* (1993), yaitu koloni *Xylaria* memiliki warna koloni putih, dengan tekstur halus seperti kapas, konidiospor pendek, dengan warna hialin. Dalam penelitian ini, kapang ini diisolasi dari bagian kulit batang pohon sengan provenan Kepulauan Solomon, kode pohon 83. Genus *Xylaria* merupakan anggota dari famili *Xylariaceae*. Anggota genus ini, bukan hanya ditemukan sebagai jamur endofit, jamur ini juga memiliki peran penting dalam proses pengembalian hara tanah, yaitu sebagai dekomposer (Achmad *et al.*, 2013: 1). Anggota genus ini juga diketahui memiliki kemampuan sebagai agen

hayati, karena memiliki sifat antagonis terhadap beberapa jenis organisme patogen pada tanaman. Seperti yang dilakukan oleh Arnold *et al* (2003) yang menggunakan *Xylaria* untuk melawan *Phytophthora* yang menjadi penyebab busuk daun pada tanaman kakao.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Kapang endofit yang berhasil diisolasi dari bagian tanaman daun, tangkai daun, ranting dan kulit batang pohon sengan provenan Kepulauan Solomon adalah sebanyak 26 isolat.

Berdasarkan hasil analisis menggunakan penanda molekuler ITS, sebanyak 4 isolat (isolat W4, W15, W22, dan W23) teridentifikasi sebagai genus *Lasiodiplodia*, 4 isolat (isolat W1, W5, W9, dan W12) teridentifikasi sebagai famili *Didymellaceae*. 10 isolat (isolat W3, W6, W7, W8, W10, W11, W14, W20, W21, dan W28) teridentifikasi sebagai genus *Phomopsis*. 5 isolat (isolat W16, W19, W25, W26, dan W27) teridentifikasi sebagai genus *Colletotrichum*. 1 isolat (isolat W18) teridentifikasi sebagai genus *Nemania*. 1 isolat yang terakhir (W17) teridentifikasi sebagai genus *Xylaria*.

2. Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut guna mengetahui peran isolat kapang endofit pada tanaman sengan, sekaligus menggali potensi isolat kapang endofit sebagai agen biologis untuk melawan organisme yang bersifat patogen pada tanaman.

Diperlukannya penelitian lebih lanjut dengan menggunakan sekuen rDNA lain, agar kegiatan identifikasi isolat jamur endofit dapat mencapai tingkat spesies.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Ellis Nina H., Eti Artiningsih. 2013. Pengaruh pH, Penggoyangan Media dan Penambahan Serbuk Gergaji Terhadap Pertumbuhan Jamur *Xylaria* sp. Bogor: Fakultas Kehutanan IPB.
- Altschul, S.F, Gish W., Miller W., Myers Eugene W., & Lipman David J. 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *Journal Mol. Biol* (1990) 215, 403-410.
- Bayman P. 2007. *Fungal endophytes*. Verlag Berlin Heidelberg: Springer.
- Buchan, R and Newell. 2002. Analysis of Internal Transcribed Spacer (ITS) Region of rRNA Genes in Fungal Communities in Southeastern U.S. Salt Marsh. *Micro Ecol* 43:329-340.
- Cicu. 2006. Penyakit Akar Gada (*Plasmodiophora brassicae* WOR.) pada Kubis- Kubisan dan Upaya Pengendaliannya. Makassar : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan.
- Conrad L., Schoch *et al.* 2006. A Multigene Phylogeny of The Dothideomycetes Using Four Nuclear Loci. *Journal Mycologia*. The mycological Society of America.
- Dickman, M.W. 1993. *The Fungi*. New York: Academic Press.
- Doungsa-ard *et al.* 2015. *Uromycladium Falcatarium* Sp. Nov., The Cause of Gall Rust on *Paraserianthes Falcataria* In South-East Asia. *Jurnal of Australian Plant Pathology*. Australia
- Drazenka Jurkovic, Karolina Vramdecic, Jasenka Cosic, L. Riccioni, T. Duvnjak. 2007. Morphological Identification of *Diaporthe/ Phomopsis* Sp. Isolated From *Xanthium italicum*. Origin Scientific Paper. University Of Osijek.
- Edy Batara. 2005. Penyakit Tanaman Pinus. Sumatera Utara: Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Gandjar, Indrawati *et al.* 2006. Pengenalan Kapang Tropik Umum. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia. Hal: 37-59.
- Gardes, M., Bruns, T.D. 1993. *ITS Primer with Enhanced Specificity for Basidiomycetes Application to The Identification of Mycorrhizae and Rusts*. Molecular ecology. 2:113-118.
- Gomes E.A *et al.* 2002. Polymorphism in The Internal Transcribed Spacer (ITS) of The Ribosomal DNA of 26 Isolates of Ectomycorrhizal Fungi. *Genet Mol Biol* 25(4), 477-483.
- Hall, B. G. 2001. *Phylogenetic Trees Made Easy: A How to Manual for Molecular Biologist*. Sunderland: Sinaeur Associates.
- Irmawan, Deni E.. 2007. Kelimpahan dan Keragaman Cendawan Endofit pada Beberapa Varietas Padi di Kuningan, Tasikmalaya dan Subang, Jawa Barat. *Skripsi*. Bogor : Fakultas Pertanian IPB.
- Istiana Prihatini. 2015. *Sordariomycetes*, Kelompok Jamur yang Paling Banyak Terisolasi dari Daun Jarum *Pinus radiata* Di Australia. Yogyakarta: BBBPTH.
- K. F. Rodrigues, A. Leuchtman and O.Petrini. 1993. *Endophytic Species of Xylaria: Cultural and Isozymic Studies*. USA: Cornell University.
- Kirk PM, Cannon PF, David JC, Stalpers JA. 2001. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 8th ed. Surrey, UK: CABI Bioscience.
- Sang Ketut Sudirga. 2016. Isolasi dan Identifikasi Jamur *Colletotrichum* Spp. Isolat Pcs Penyebab Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai Besar (*Capsicum Annuum* L.) Di Bali. *Jurnal Metamorfosa*. Bali: Fakultas MIPA Universitas Udayana.
- Setiadi Dedi, Liliaana Baskorowati, Mudji Susanto. 2014. Pertumbuhan Sengon Solomon dan Responnya Terhadap Penyakit Karat Tumor di Bondowoso, Jawa Timur. Yogyakarta : BBBPTH.
- Soerianegara, I. dan Lemmens, R.H.M.J. 1993. *Plantresources of South-East Asia* 5(1): Timber trees: major commercial timbers. Wageningen, Belanda: Pudoc Scientific Publishers.
- Svetlana T. Zivkovic *et al.* Characteristics of *Phomopsis* Sp. Isolates of Plum Trees Origin. Serbia: Institute for Plant Protection and Environment, Teodora Dražera.

- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In: PCR Protocols: a guide to methods and applications*. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, New York, USA: 315–322.
- Wiryadiputra, Soekadar. 2007. Epidemi Penyakit Tumor pada Sengon di Jawa Timur, Indonesia. *Jurnal Ilmu Kehutanan* Volume 1. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Zhang, Ning *et al.* 2006. An Overview of the Systematics of the Sordariomycetes Based on a Four-gene Phylogeny. *America: The Mycological Soci*

