

## SCREENING AND MORPHOLOGICAL OBSERVATIONS OF ENDOPHYTIC MOLD ORIGIN OF PENNYWORT (*Centella asiatica* (L.) Urban) AS EXTRACELLULAR ENZYME PRODUCER

Muhamad Aditya Hidayah\*, Retno Aliyatul Fikroh

Pendidikan Kimia, Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan, UIN Sunan Kalijaga  
Jl. Laksada Adisucipto, Depok-Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta 55281, Indonesia

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 05 Mar 2021,  
Revised 21 Mei 2021,  
Accepted 07 Jun 2021  
Available online 30 July 2021

#### Keywords:

- ✓ *Centella asiatica* (L.) Urban
- ✓ extracellular enzymes
- ✓ endophytic typite
- ✓ isolates

#### \*corresponding author:

[20104060025@student.uin-suka.ac.id](mailto:20104060025@student.uin-suka.ac.id)

Phone: +6281357944476

#### Doi:

<https://doi.org/10.31938/jsn.v11i2.304>

### ABSTRACT

*Pennywort is a biological plant that is included in the medicinal plant species. The analysis was carried out to obtain information and to find out that endophytic molds from pennywort (*Centella asiatica* (L.) Urban) can produce extracellular enzymes (amylase, cellulase, pectinase, protease, glucanase, and laccase). Based on the analysis that has been carried out, several conclusions are obtained, endophytic fungi from pennywort with isolate codes MB 20, MM 1, MM 6, MM 8, and MM 16 capable of producing extracellular amylase enzymes, endophytic fungi from pennywort with isolate codes MM 1, MM 12, MM 16, MM 18, MM 19, MM 20 and MM 21 were able to produce extracellular cellulase enzymes, endophytic fungi from pennywort with isolate codes MB 1, MB 3, MB 4, MB 6, MM 1, MM 9, MM 11, MM 13, MM 14, MM16, MM 19, MM 20 and MM 21 were able to produce extracellular glucanase enzymes, endophytic mold isolates from pennywort were proven to be unable to produce extracellular enzymes laccase, pectinase, and protease, and endophytic molds from pennywort with isolate codes MB 1, MB 20, MM 14 and the MM 16 is capable of producing siderophores.*

### ABSTRAK

#### Skrining pengamatan morfologi kapang endofit asal tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) sebagai penghasil enzim ekstraseluler

Tanaman pegagan merupakan tanaman hayati yang termasuk dalam jenis tanaman obat. Analisis dilakukan untuk mendapatkan informasi dan mengetahui bahwa kapang endofit asal tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dapat menghasilkan enzim ekstraseluler (Amilase, selulase, pektinase, protease, glukase, dan lakase). Berdasarkan analisis yang telah dilakukan di peroleh beberapa kesimpulan, diantaranya. yaitu kapang endofit asal tanaman pegagan dengan kode isolat MB 20, MM 1, MM 6, MM 8 dan MM 16 mampu menghasilkan enzim amilase ekstraseluler, kapang endofit asal tanaman pegagan dengan kode isolat MM 1, MM 12, MM 16, MM 18, MM 19, MM 20 dan MM 21 mampu menghasilkan enzim selulase ekstraseluler, kapang endofit asal tanaman pegagan dengan kode isolat MB 1, MB 3, MB 4, MB 6, MM 1, MM 9, MM 11, MM 13, MM 14, MM16, MM 19, MM 20 dan MM 21 mampu menghasilkan enzim glukase ekstraseluler, isolat kapang endofit asal tanaman pegagan terbukti tidak mampu menghasilkan enzim ekstraseluler lakase, pektinase dan protease, dan kapang endofit asal tanaman pegagan dengan kode isolat MB 1, MB 20, MM 14 dan MM 16 mampu menghasilkan siderofor.

**Kata Kunci :** *Centella asiatica* (L.) Urban, enzim ekstraseluler, kapang endofit, isolat

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan hayati flora dan fauna yang tinggi. Disamping itu, Indonesia juga memiliki kekayaan mikroba yang tidak kasat mata, salah satunya adalah kapang endofit. Kapang endofit

adalah mikroorganisme yang hidup bersimbiosis dalam jaringan tumbuhan. Seluruh atau sebagian siklus hidupnya berlangsung didalam jaringan tumbuhan dan mampu membentuk koloni didalam jaringan tumbuhan tanpa merugikan tumbuhan inangnya (Murdiyah, 2017). Kapang endofit terdapat pada hampir semua jaringan



tumbuhan seperti daun, batang, akar dan biji (Latifasari *et al.*, 2019). Kapang endofit berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman, karena pada kapang endofit terdapat enzim. Manfaat enzim untuk organisme adalah sebagai biokatalisator, yang berfungsi untuk mempercepat berlangsungnya reaksi biologis tanpa terkonsumsi atau berubah dan tidak ikut bereaksi (Pelczar, 2019).

Beberapa peneliti telah berhasil melakukan penapisan enzim ekstraseluler dari kapang endofit, yaitu enzim amilase, selulase, glukonase, pektinase (Choi *et al.*, 2005), lakase (Rana *et al.*, 2019), protease (Sunitha *et al.*, 2013), dan asparaginase (Theantana *et al.*, 2009). Penelitian Devi *et al.* (2012) menunjukkan bahwa kapang *Penicillium* sp. mampu menghasilkan enzim selulase dari tanaman pegagan. Beberapa jenis kapang endofit telah berhasil diisolasi dari tanaman pegagan aksesori Bengkulu dan Malaysia oleh Gupta dan Chaturvedi (2017). Jenis-jenis kapang endofit yang berhasil diperoleh adalah *Acremonium* sp., *Acrocalymma aquatica*, *Acrocalymma vagum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Ceratobasidium* sp., *Ceratobasidium* sp., *Chaetomium globosum*, *Colletotrichum coccodes*, *Colletotrichum destructivum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum siamense*, *Colletotrichum* sp., *Earliella scabrosa*, *Eutypella scoparia*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium* sp., *Fusarium striatum*, *Helotiales* sp., *Penicillium capsulatum*, *Perenniporia* sp., *Perenniporia* sp., *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Phoma multirostrata*, *Phomopsis asparagi*, *Phyllosticta capitalensis*, *Talaromyces pinophilus*, dan *Trichaptum* sp.

Tanaman pegagan merupakan tanaman hayati yang termasuk dalam jenis tanaman obat. Tanaman ini banyak ditemukan di Indonesia, dan sering digunakan sebagai ramuan dalam tanaman obat (Bermawie *et al.*, 2008). Muhlisah (2007) dan Mainawati *et al.* (2017) menjelaskan bahwa pegagan adalah tumbuhan merambat dengan rimpang yang pendek. Batangnya panjang dan berwarna coklat. Daun pegagan berbentuk tunggal dan berbentuk seperti ginjal dan tumbuh di lingkungan yang sedikit lembab. Tanaman dari Asia ini biasanya ditemukan tumbuh di alam liar di padang rumput, persawahan bahkan di pekarangan.

Tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) merupakan salah satu inang kapang endofit yang telah lama digunakan di dunia

kesehatan. Morfologi tumbuhan pegagan memiliki keunikan tersendiri di setiap daerah. Perbedaan faktor lingkungan, klasifikasi dan latar belakang genetik tanaman sangat erat kaitannya dengan struktur komunitas dan sebaran kapang endofit tanaman inang (Jia *et al.*, 2016). Oleh karena itu, dilakukan penelitian tentang potensi kapang endofit aksesori Malaysia (MM) dan Bengkulu (MB) untuk menghasilkan enzim ekstraseluler. Enzim ekstraseluler yang dihasilkan diharapkan dapat menjadi sumber enzim ekstraseluler baru yang berasal dari kapang endofit tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban).

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam skrining kapang endofit asal tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) urban) sebagai penghasil enzim ekstraseluler antara lain :  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\alpha$ -naftol, agar, akuabides, akuades, alkohol 70%, aluminium foil, ammonium sulfat, asam Casamino, Bacto agar,  $\text{CaCl}_2$ , Carboxy Methyl Cellulos (CMC), Chloramphenicol, Chrome Azurol Sulfonate (CAS), congo red, etanol teknis,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , gelatin, glukosa, HCl, hexadecyl trimethyl ammonium bromide, iodine, isolat kapang Endofit pegagan, kapang endofit tanaman pegagan dengan kode isolat : MB1; MB3; MB4; MB5; MB6; MB8; MB11; MB12; MB15; MB17; MB18; MB19; MB20; MB21; MM1; MM2; MM6; MM7; MM8; MM9; MM11; MM12; MM13; MM14; MM15; MM16; MM17; MM19; MM20; MM21; MM22; dan MM23 (MB untuk Aksesori Bengkulu dan MM untu Aksesori Malaysia), KCl, kentang, kertas,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , KI, korek kayu, label kertas, *lacto cotton blue*, media PDA (Potato Dextrose Agar),  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , Minimal Media 9 (MM 9), NaCl,  $\text{NaHPO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$ , NaOH,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , pektin, pepton, PIPES, sedotan plastik, *soluble starch*, *subtract* glukon, *tissue*, tusuk gigi steril, dan *yeast extract*.

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, *beaker glass* 500 mL, botol semprot, bunsen, cawan petri, labu Erlenmeyer 1000 mL, jarum ose, *laminar air flow*, *magnetic stirrer*, *microwave*, mikroskop, milipore, object glass, oven, *parafilm*, pinset, pipet mikro, *spatula*, timbangan analitik, dan tip pipet 1 mL.

## Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menghasilkan data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif meliputi hasil dari masing-masing pengujian yang mengandalkan pengamatan visual dari keberadaan zona bening dan pengamatan bentuk dengan menggunakan mikroskop. Data Kuantitatif yang dihasilkan adalah diameter zona bening untuk menunjukkan indeks aktivitas enzim ekstraseluler.

## Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas berbahan gelas seperti cawan petri dicuci menggunakan detergen, kemudian alat-alat yang sudah kering dibungkus menggunakan kertas dan dimasukkan bersamaan dengan tusuk gigi dan sedotan yang telah dipotong pendek kedalam autoklaf. Lalu, sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Namun, jarum ose dan pinset disterilisasi dengan cara dipijarkan pada nyala api bunsen, sedangkan ruang inokulasi (*Laminar Air Flow*) disterilisasi menggunakan larutan alkohol 70% dan sinar UV.

## Peremajaan Kapang Endofit Tanaman Pegagan pada Media Potato Dextrose Agar (PDA)

Media PDA dituangkan ke dalam cawan petri, kemudian bagian tengah media di *cork borer* menggunakan sedotan steril. Selanjutnya, isolat kapang endofit tanaman pegagan yang telah di *cork borer* di pindahkan menggunakan tusuk gigi steril ke dalam media PDA yang sudah di *cork borer* bagian tengahnya, lalu inkubasi pada suhu ruang.

## Pembuatan Media Pengujian Kapang Endofit Asal Tanaman Pegagan Sebagai Penghasil Enzim Ekstraseluler

### Pembuatan Media Selektif Glucose Yeast Peptone (GYP)

*Glucose* sebanyak 0,5 gram, *yeast extract* 0,025 gram, *peptone* 0,25 gram dan *soluble starch* sebanyak 0,5 gram, ditimbang kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 500 mL ke dalam *beaker glass* 1000 mL sambil dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* hingga semua bahan larut. pH larutan diatur menjadi 6, kemudian larutan di pindahkan ke dalam labu Erlenmeyer 1000 mL dan bacto agar ditambahkan sebanyak 10 gram, ditutup dengan aluminium foil. Medium GYP disterilkan

menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah steril, medium GYP dituangkan ke dalam cawan petri steril dan ditunggu hingga memadat.

### Pembuatan Media Selektif Glukan

$\text{NaHPO}_4$  sebanyak 0,325 gram,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,75 gram,  $\text{NaCl}$  1,25 gram,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0,25 gram,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,06 gram,  $\text{CaCl}_2$  0,025 gram, *peptone* 0,625 gram, *yeast extract* 0,25 gram, bacto agar 10 gram, dan *subtract* glukan sebanyak 5 gram ditimbang, kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 500 mL ke dalam erlenmyer 1000 mL, larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* hingga semua bahan larut kemudian ditutup dengan aluminium foil. Selanjutnya, media glukan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Medium glukan yang telah steril dituangkan ke dalam cawan petri steril dan ditunggu hingga memadat.

### Pembuatan Media Selektif Lakase

*Glucose* sebanyak 0,5 gram, *yeast extract* 0,025 gram, *peptone* 0,25 gram dan  $\alpha$ -naftol 0,025 gram ditimbang, kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 500 mL ke dalam *beaker glass* 1000 mL sambil dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer*. pH larutan diatur menjadi 6, lalu larutan dipindahkan ke dalam labu Erlenmeyer 1000 mL dan bacto agar ditambahkan sebanyak 10 gram, lalu ditutup dengan aluminium foil. Disterilkan medium lakase menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah steril, medium lakase dituangkan ke dalam cawan petri steril dan ditunggu hingga memadat.

### Pembuatan Media Selektif Pektin

Pektin sebanyak 2,5 gram ditimbang dan dilarutkan dengan akuades 100 mL pada suhu 60°C sambil dipanaskan diatas *hotplate*. Kemudian, larutan pektin dimasukkan ke dalam *beaker glass* 500 mL dan akuades ditambahkan sebanyak 400 mL. *Yeast extract* sebanyak 0,5 gram ditimbang dan ditambahkan sambil dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* hingga semua bahan larut. pH larutan diatur menjadi 5, kemudian larutan dipindahkan ke dalam labu Erlenmeyer 1000 mL dan bacto agar ditambahkan sebanyak 10 gram, lalu ditutup dengan aluminium foil. Medium pektin disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah

steril, medium pektin dituangkan ke dalam cawan petri steril dan ditunggu hingga memadat.

#### **Pembuatan Media Selektif Protease**

Gelatin sebanyak 2 gram ditimbang dan dilarutkan dengan akuades 100 mL pada suhu 60°C sambil dipanaskan diatas *hotplate*. Kemudian, larutan gelatin dimasukkan ke dalam *beaker glass* 500 mL dan akuades ditambahkan sebanyak 400 mL. *Yeast extract* 0,05 gram dan pepton 0,25 gram ditimbang dan ditambahkan sambil dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer*. pH larutan diatur menjadi 6, kemudian larutan dipindahkan ke dalam labu Erlenmeyer 1000 mL dan bacto agar ditambahkan sebanyak 10 gram, lalu ditutup dengan aluminium foil. Medium protease disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah steril, medium protease dituangkan ke dalam cawan petri steril dan ditunggu hingga memadat.

#### **Pembuatan Media Selektif Carboxy Methyl Cellulose (CMC)**

Carboxyl Methyl Cellulose (CMC ) sebanyak 5 gram ditimbang dan dilarutkan dengan akuades 200 mL pada suhu 60°C sambil dipanaskan diatas *hotplate*. Kemudian, larutan CMC dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 mL dan akuades ditambahkan sebanyak 300 mL. *Yeast extract* sebanyak 0,25 gram, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 gram, NaNO<sub>3</sub> 1 gram, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5 gram, MgSO<sub>4</sub> 0,25 gram, KCl 0,25 gram, dan bacto agar sebanyak 10 gram ditambahkan sambil dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* hingga semua bahan larut dan ditutup dengan aluminium foil. Kemudian, medium selulase disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah steril, medium selulase dituangkan ke dalam cawan petri steril dan ditunggu hingga memadat.

#### **Pengujian Kapang Endofit Asal Tanaman Pegagan Sebagai Penghasil Enzim Ekstraseluler**

##### **Pengujian Amilase Ekstraseluler**

Sebanyak 5 isolat kapang endofit tanaman pegagan yang telah diremajakan disiapkan untuk pengujian. Bagian tengah media GYP di *cork borer* menggunakan sedotan (sedotan diambil menggunakan pinset yang telah dipijarkan sebelumnya pada nyala api bunsen). Isolat kapang endofit yang telah disiapkan di *cork borer* untuk dipindahkan ke dalam media GYP

yang sudah di *cork borer* bagian tengahnya menggunakan tusuk gigi steril. Tepi cawan dipijarkan pada nyala api bunsen dan tutup menggunakan parafilm. Diinkubasi selama 5 hari, setelah 5 hari diberikan larutan iodine 1% dalam kalium iodida 2% sebanyak 2 mL dan inkubasi selama 48 jam untuk menyempurnakan pembentukan zona bening. Indeks aktivitas amilase ditentukan dengan cara mengukur diameter zona bening dan diameter koloni.

##### **Pengujian Glukanase Ekstraseluler**

Sebanyak 19 isolat kapang endofit tanaman pegagan yang telah diremajakan disiapkan untuk pengujian. Bagian tengah media glukosa di *cork borer* menggunakan sedotan (sedotan diambil menggunakan pinset yang telah dipijarkan sebelumnya pada nyala api bunsen). Isolat kapang endofit yang telah disiapkan di *cork borer* untuk dipindahkan ke dalam media glukosa yang sudah di *cork borer* bagian tengahnya menggunakan tusuk gigi steril. Tepi cawan dipijarkan pada nyala api bunsen dan tutup menggunakan parafilm. Diinkubasi selama 6 hari, setelah 6 hari diberikan larutan congo red 0,3% sebanyak 2 mL lalu dibilas dengan larutan NaCl 0,1% dan inkubasi selama 48 jam untuk menyempurnakan pembentukan zona bening. Indeks aktivitas glukukanase ditentukan dengan cara mengukur diameter zona bening dan diameter koloni.

##### **Pengujian Lakase Ekstraseluler**

Sebanyak 12 isolat kapang endofit tanaman pegagan yang telah diremajakan disiapkan untuk pengujian. Bagian tengah media lakase di *cork borer* menggunakan sedotan (sedotan diambil menggunakan pinset yang telah dipijarkan sebelumnya pada nyala api bunsen). Isolat kapang endofit yang telah disiapkan di *cork borer* untuk dipindahkan ke dalam media lakase yang sudah di *cork borer* bagian tengahnya menggunakan tusuk gigi steril. Tepi cawan dipijarkan pada nyala api bunsen dan tutup menggunakan parafilm. Diinkubasi selama 5 hari, setelah 5 hari diberikan larutan naphthol 0,005% sebanyak 2 mL dan inkubasi selama 48 jam untuk menyempurnakan pembentukan zona bening. Indeks aktivitas lakase ditentukan dengan cara mengukur diameter zona bening dan diameter koloni.

##### **Pengujian Pektinase Ekstraseluler**

Sebanyak 13 isolat kapang endofit tanaman pegagan yang telah diremajakan disiapkan untuk

pengujian. Bagian tengah media pektinase di *cork borer* menggunakan sedotan (sedotan diambil menggunakan pinset yang telah dipijarkan sebelumnya pada nyala api bunsen). Isolat kapang endofit yang telah disiapkan di *cork borer* untuk dipindahkan ke dalam media pektinase yang sudah di *cork borer* bagian tengahnya menggunakan tusuk gigi steril. Tepi cawan dipijarkan pada nyala api bunsen dan tutup menggunakan parafilm. Diinkubasi selama 5 hari, setelah 5 hari diberikan larutan hexadecyl trimetil ammonium bromida 1% sebanyak 2 mL dan inkubasi selama 24 jam untuk menyempurnakan pembentukan zona bening. Indeks aktivitas pektinase ditentukan dengan cara mengukur diameter zona bening dan diameter koloni.

#### **Pengujian Protease Ekstraseluler**

Sebanyak 9 isolat kapang endofit tanaman pegagan yang telah diremajakan disiapkan untuk pengujian. Bagian tengah media protease di *cork borer* menggunakan sedotan (sedotan diambil menggunakan pinset yang telah dipijarkan sebelumnya pada nyala api bunsen). Isolat kapang endofit yang telah disiapkan di *cork borer* untuk dipindahkan ke dalam media protease yang sudah di *cork borer* bagian tengahnya menggunakan tusuk gigi steril. Tepi cawan dipijarkan pada nyala api bunsen dan tutup menggunakan parafilm. Diinkubasi selama 5 hari, setelah 5 hari diberikan ammonium sulfat jenuh sebanyak 2 mL dan inkubasi selama 24 jam untuk menyempurnakan pembentukan zona bening. Indeks aktivitas protease ditentukan dengan cara mengukur diameter zona bening dan diameter koloni.

#### **Pengujian Selulase Ekstraseluler**

Sebanyak 10 isolat kapang endofit tanaman pegagan yang telah diremajakan disiapkan untuk pengujian. Bagian tengah media selulase di *cork borer* menggunakan sedotan (sedotan diambil menggunakan pinset yang telah dipijarkan sebelumnya pada nyala api bunsen). Isolat kapang endofit yang telah disiapkan di *cork borer* untuk dipindahkan ke dalam media selulase yang sudah di *cork borer* bagian tengahnya menggunakan tusuk gigi steril. Tepi cawan dipijarkan pada nyala api bunsen dan tutup menggunakan parafilm. Diinkubasi selama 5 hari, setelah 5 hari diberikan pewarna Congo Red 0,3% sebanyak 2 mL kemudian dibilas dengan larutan NaCl 0,1% dan inkubasi selama 24 jam untuk menyempurnakan pembentukan

zona bening. Indeks aktivitas selulase ditentukan dengan cara mengukur diameter zona bening dan diameter koloni.

#### **Deteksi Siderofor yang Dihasilkan oleh Kapang Endofit Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)**

##### ***Pembuatan Media Chrome Azurol Sulfonate (CAS)***

##### ***Pewarna Biru***

Pembuatan larutan A dibuat dengan cara Chrome Azurol Sulfonate (CAS) sebanyak 0,06 gram dilarutkan ke dalam 50 mL akuades, larutan B dibuat dengan cara  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  sebanyak 0,0027 gram dilarutkan ke dalam 10 mL HCl 10 M, dan untuk larutan C dibuat dengan cara Hexadecyl trimethyl ammonium bromide sebanyak 0,073 gram dilarutkan ke dalam 40 mL akuades. Larutan A (50 mL), larutan B (9 mL), dan larutan C (40 mL) dicampurkan untuk membuat pewarna biru. Larutan pewarna disterilkan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

##### ***Larutan campuran***

Larutan campuran terdiri dari stok larutan garam Minimal Media 9 (MM 9), stok glukosa 20%, stok NaOH, dan larutan asam casamino. Pembuatan stok larutan garam Minimal Media 9 (MM 9) dilakukan dengan cara  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sebanyak 15 gram, NaCl 25 gram, dan  $\text{NH}_4\text{Cl}$  50 gram dilarutkan dalam 500 mL akuades. Pembuatan stok larutan glukosa 20% dilakukan dengan cara glukosa sebanyak 20 gram dilarutkan dalam 100 mL akuades. Stok larutan NaOH dibuat dengan cara NaOH sebanyak 25 gram dilarutkan dalam 150 mL akuades, (pH 12). Larutan asam casamino dibuat dengan cara asam casamino sebanyak 3 gram dilarutkan dalam 27 mL  $\text{H}_2\text{O}$ , kemudian di sterilisasi menggunakan filter milipore.

##### ***Persiapan Agar CAS***

Larutan MM9 sebanyak 100 mL dilarutkan ke dalam 750 mL akuades, piperazine-N, N'-bis(2-ethanesulfonic acid) PIPES ditambahkan sebanyak 32,24 gram. Kemudian, pH diatur menjadi pH 6,8. Selanjutnya, bacto agar sebanyak 15 gram ditambahkan dan disterilisasi dengan autoklaf lalu didinginkan hingga suhu 50 °C. Setelah steril, larutan asam casamino steril sebanyak 27 mL, larutan glukosa 20% 10 mL,

dan pewarna biru 100 mL ditambahkan dan kemudian tuang ke cawan petri yang sudah steril.

### **Pengujian Siderofor**

Isolat kapang endofit pegagan yang akan di uji dan telah diremajakan disiapkan untuk pengujian, sterilisasi *Laminar Air Flow*(LAF) dengan alkohol 70%, alat bahan yang akan digunakan dimasukkan kedalam LAF. Kemudian, media CAS di *cork borer* pada bagian tengah menggunakan sedotan. Setelah itu, hasil *cork borer* isolat dipindahkan menggunakan tusuk gigi steril ke dalam media CAS yang sudah di *cork borer* bagian tengahnya. Tepi cawan dipijarkan pada nyala api bunsen dan ditutup tepi cawan menggunakan parafilm. Inkubasi dilakukan selama 5 hari dan dilakukan pengamatan terhadap zona bening. Indeks aktivitas siderofor ditentukan dengan cara mengukur diameter zona bening dan diameter koloni.

### **Pengamatan Mikroskopis Kapang Endofit Tanaman Pegagan**

Isolat kapang endofit tanaman pegagan serta alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan untuk pengujian, sebelum pengamatan *object glass* dibersihkan menggunakan alkohol 70% kemudian diseka/lap dengan tisu. Kemudian, setetes *Lacto cotton blue* diteteskan diatas *object glass* menggunakan pipet, sedikit isolat diambil menggunakan tusuk gigi kemudian diratakan di permukaan *object glass* bersamaan dengan larutan *Lacto cotton blue*. Selanjutnya, *object glass* ditetesi etanol teknis, kemudian ditutup dengan *cover glass*. *Object glass* difiksasi dengan nyala api bunsen dan amati menggunakan mikroskop.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

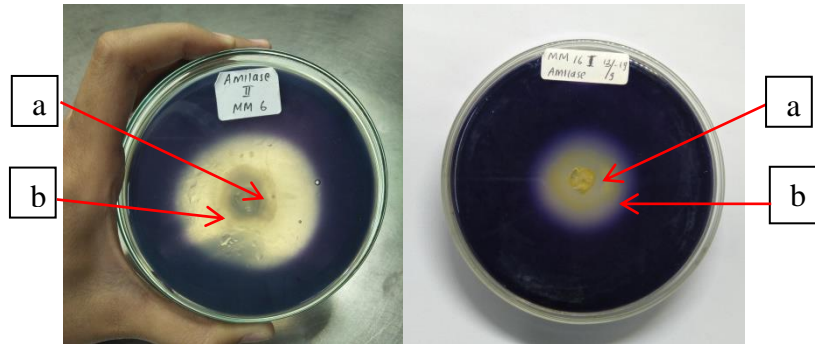
### **Uji Kapang Endofit Penghasil Enzim Amilase secara Kualitatif**

Uji aktivitas amilolitik kapang endofit secara kualitatif menggunakan media agar

selektif, dengan cara inokulasi. Uji aktivitas amilolitik dapat diketahui ada atau tidaknya berdasarkan adanya zona bening disekitar isolat pada media agar selektif setelah penambahan iodine. Kemampuan kapang endofit dalam menghasilkan zona bening menunjukkan bahwa kapang endofit dapat menghasilkan enzim amilase. Iodin yang bereaksi dengan pati akan menghasilkan senyawa kompleks berwarna ungu. Zona bening yang terdapat disekitar koloni mengindikasikan bahwa pati pada media agar selektif telah terhidrolisis oleh isolat. Pati yang terhidrolisis terbentuk menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu glukosa. Sedangkan media yang masih berwarna ungu kehitaman menunjukkan pati pada media tersebut belum terhidrolisis.

Uji aktivitas amilase kapang endofit menunjukkan kelima isolat dapat memperlihatkan zona bening ketika dilakukan penambahan larutan iodine, karena pada zona tersebut pati sudah terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti disakarida atau monosakarida sehingga zona bening tidak ikut terwarnai oleh larutan iodine. Bakteri termofilik memanfaatkan pati sebagai sumber karbon untuk menghasilkan energi, dan hasil perombakan pati tersebut dikarenakan adanya aktivitas enzim ekstraseluler amilase. Isolat yang mempunyai aktifitas amilolitik tersebut yaitu isolat *Ceratobasidium cornigerum* MB 20, *Ceratobasidium* sp. MM 1, *Trametes* sp. MM 6, *Phialemonium dimorphosporum* MM8, dan *Talaromyces pinophilus* MM 16. Hal ini membuktikan bahwa kapang endofit tersebut dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yang bersifat termostabil.

Perbedaan zona bening yang terbentuk dari masing-masing isolat disebabkan kemampuan masing-masing isolat untuk menghidrolisis pati berbeda-beda. Angka indeks masing-masing isolat kapang endofit pada uji aktivitas amilase terlihat pada Tabel 1 dan pembentukan zona bening oleh kapang endofit penghasil enzim amilase dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil positif uji aktivitas enzim amilolitik secara kualitatif isolat kapang endofit asal tanaman pegagan. ket : (a) Isolat (b) Zona bening

Tabel 1. Diameter zona bening kapang endofit penghasil enzim amilase

Isolat	Hasil (+/-)		Diameter zona bening (cm)		Diameter koloni (cm)		Indeks
	I	II	I	II	I	II	
<i>Ceratobasidium cornigerum</i> MB 20	+	+	6,35	6,00	5,20	5,80	1,12
<i>Ceratobasidium</i> sp. MM 1	+	+	3,30	3,35	3,00	3,00	1,11
<i>Trametes</i> sp. MM 6	+	+	4,40	5,20	3,40	2,60	1,60
<i>Phialemonium dimorphosporum</i> MM 8	+	+	2,50	3,00	2,00	2,25	1,29
<i>Talaromyces pinophilus</i> MM 16	+	+	3,45	3,00	2,40	2,50	1,32

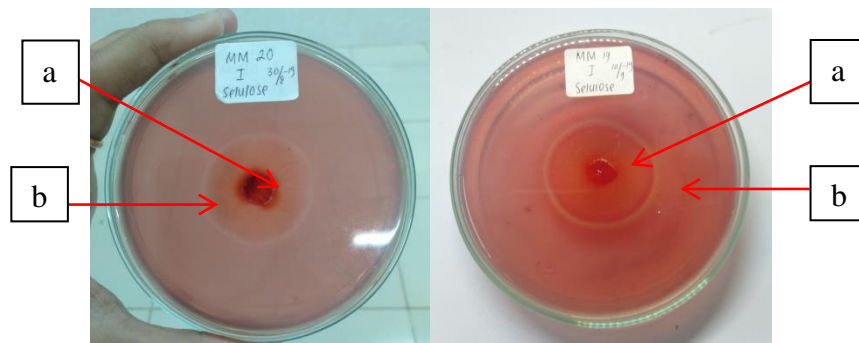
Dilihat dari Tabel 1 berdasarkan tingginya angka indeks dari masing-masing isolat yang diamati, maka yang memiliki angka indeks tertinggi yaitu isolat *Trametes* sp.MM6, sedangkan isolat yang memiliki angka indeks terendah yaitu isolat *Ceratobasidium* sp. MM 1.

**Uji Kapang Endofit Penghasil Enzim Selulase secara Kualitatif**

Kemampuan isolat kapang endofit dalam menghasilkan enzim selulase dapat ditinjau dari pengujian aktivitas selulolitik secara kualitatif. Analisis kualitatif aktivitas selulolitik mikroba dapat dilakukan dengan mengukur zona bening

yang terbentuk disekitar koloni pada media selektif.

Metode kualitatif dalam melakukan uji aktivitas selulolitik kapang endofit menggunakan media padat Carboxil Methil Cellulosa (CMC) dengan cara inokulasi. CMC digunakan sebagai media karena berperan substrat terbaik penginduksi sintesis enzim selulase ekstraseluler kapang endofit (Rahayu *et al.*, 2014). Adanya aktivitas selulolitik ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada media CMC setelah penambahan pewarna *congo red* (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil positif uji aktivitas enzim selulase secara kualitatif pada isolat kapang endofit asal tanaman pegagan. ket : (a)Isolat (b)Zona bening

Tabel 2. Diameter zona bening kapang endofit penghasil enzim selulase

Isolat	Hasil (+/-)		Diameter zona bening (cm)		Diameter koloni (cm)		Indeks
	I	II	I	II	I	II	
<i>Ceratobasidium</i> sp MM 1	+	+	3,75	3,70	3,35	3,30	1,12
<i>Phialemonium dimorphosporum</i> MM 8	-	-	0	0	0	0	0
<i>Phanerochaete stereoides</i> MM 12	+	+	3,45	3,25	3,10	3,10	1,08
<i>Penicillium capsulatum</i> MM 15	-	-	0	0	0	0	0
<i>Talaromyces pinophilus</i> MM 16	+	+	3,80	3,75	3,50	3,45	1,09
<i>Colletotrichum tabaci</i> MM 18	+	+	6,50	6,30	6,40	6,15	1,02
<i>Chaetomium globosum</i> MM 19	+	+	3,15	3,30	2,70	2,80	1,17
<i>Fusarium striatum</i> MM 20	+	+	3,20	3,15	3,00	3,00	1,06
<i>Perenniporia corticola</i> MM 21	+	+	6,20	6,30	6,00	6,20	1,02
<i>Colletotrichum tabaci</i> MM 23	+	+	4,40	5,00	3,25	3,60	1,37

Keterangan : Indeks = diameter zona bening / diameter koloni

*Congo red* akan bereaksi dengan  $\beta$ -1,4-glikosidik dalam media CMC. Setelah dilakukan pencucian menggunakan NaCl 0,1% zona bening yang terbentuk dapat dilihat dengan jelas, hal ini disebabkan karena *congo red* merupakan garam natrium dari benzenediazo-bis-1-naphthylamine-4 asam sulfonat ( $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$ ) yang akan tercuci dan larut oleh garam natrium lain karena adanya ion sejenis, seperti NaCl sehingga zona bening yang terbentuk akan terlihat jelas. Diameter zona bening kapang endofit penghasil enzim selulase dari masing-masing isolat dapat dilihat pada Tabel 2.

Uji aktivitas selulolitik kapang endofit dilakukan secara kualitatif dengan media selektif CMC yang diuji terhadap sepuluh isolat kapang, dari hasil pengujian diketahui bahwa terdapat delapan isolat yang mempunyai aktivitas selulolitik berdasarkan adanya zona bening disekitar koloni. Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa setiap isolat memiliki indeks diameter zona bening yang berbeda-beda. Berdasarkan pengujian, indeks diameter zona bening tertinggi yaitu isolat *Colletotrichum tabaci* MM 23 sedangkan isolat yang memiliki indeks diameter zona bening terendah yaitu isolat *Colletotrichum*

*tabaci* MM18 dan *Perenniporia corticola* MM 21. Terbentuknya zona bening mengindikasikan bahwa selulosa yang terdapat didalam media CMC dihidrolisis oleh enzim selulase menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu selobiosa, kemudian akan kembali disederhanakan menjadi dua molekul glukosa.

#### Uji Kapang Endofit Penghasil Enzim Glukanase secara Kualitatif

Berdasarkan hasil pengujian glukanolitik pada media glukon menunjukkan adanya aktivitas enzim glukanase yang ditandai dengan adanya visualisasi berupa zona bening disekitar koloni kapang uji setelah diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu ruang (Gambar 3). Zona bening yang terbentuk setelah digenangi pewarna *congo red* disebabkan karena adanya hidrolisis substrat glukon yang terdapat di dalam medium selektif oleh glukanase yang terdapat pada kapang. Penambahan *congo red* dalam media akan membunuh bakteri yang hidup pada media tersebut karena *congo red* bersifat karsinogenik, sehingga hanya akan tersisa visualisasi zona bening yang menandakan bahwa substrat glukon pada media selektif tersebut telah dikonsumsi oleh kapang endofit.



Gambar 3. Hasil positif uji aktivitas enzim glukanase secara kualitatif pada isolat kapang endofit asal tanaman pegagan. ket : (a) Isolat (b) Zona bening

Tabel 3. Diameter zona bening kapang endofit penghasil enzim glukanas

Isolat	Hasil (+/-)		Diameter zona bening (cm)		Diameter koloni (cm)		Indeks
	I	II	I	II	I	II	
<i>Aspergillus austroafricanus</i> MB 1	+	+	5,20	5,25	4,05	4,00	1,30
<i>Fusarium oxysporum</i> MB 3	+	+	5,85	6,15	4,00	4,05	1,49
<i>Acrocalymma vagum</i> MB 4	+	+	4,50	4,20	2,55	2,60	1,69
<i>Acrocalymma vagum</i> MB 6	+	+	5,30	5,55	3,90	4,00	1,37
<i>Ceratobasidium</i> sp. MM 1	+	+	3,50	2,85	3,20	2,50	1,11
<i>Phyllosticta capitalensis</i> MM 7	-	-	0	0	0	0	0
<i>Phialemonium dimorphosporum</i> MM 8	-	-	0	0	0	0	0
<i>Collectotrichum siamense</i> MM 9	+	+	3,55	3,50	2,90	2,30	1,36
<i>Phomopsis asparagi</i> MM 11	+	+	7,55	7,50	6,55	6,55	1,15
<i>Phanerochaete stereoides</i> MM 12	-	-	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus oryzae</i> MM 13	+	+	8,30	4,00	4,25	3,20	1,65
<i>Colletotrichum gigasporum</i> MM 14	+	+	6,75	6,60	4,25	4,35	1,49
<i>Talaromyces pinophilus</i> MM 16	+	+	2,75	2,70	2,50	2,45	1,10
<i>Fusarium solani</i> MM 17	-	-	0	0	0	0	0
<i>Chaetomium globosum</i> MM 19	+	+	3,25	3,30	3,00	3,10	1,07
<i>Fusarium stiatum</i> MM 20	+	+	4,75	5,00	3,45	3,25	1,46
<i>Perenniporia corticola</i> MM 21	+	+	6,35	6,00	4,65	4,55	1,34
<i>Fusarium falciforme</i> MM 22	-	-	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum tabaci</i> MM 23	-	-	0	0	0	0	0

Keterangan : Indeks = diameter zona bening / diameter koloni

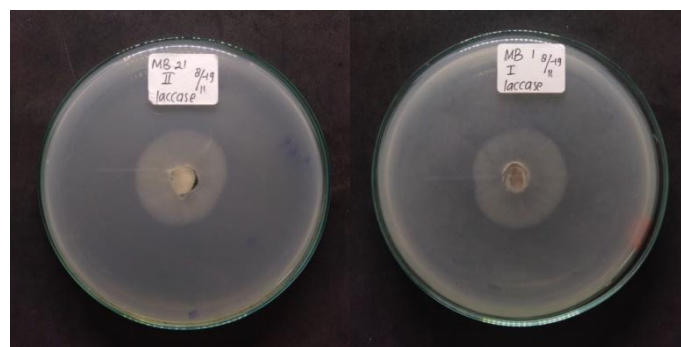
Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa sebanyak 13 isolat yang diuji menunjukkan adanya aktivitas glukanolitik, sedangkan 6 isolat lainnya tidak menunjukkan tidak adanya aktivitas glukanolitik. Setiap isolat memiliki indeks diameter zona bening yang berbeda-beda. Berdasarkan tingginya angka indeks dari masing-masing isolat yang diamati maka yang memiliki angka indeks tertinggi yaitu isolat *Acrocalymma vagum* MB 4 sedangkan isolat yang memiliki angka indeks terendah yaitu isolat *Chaetomium globosum* MM 19.

**Uji Kapang Endofit Penghasil Enzim Lakase secara Kualitatif**

Hasil pengamatan uji kualitatif menunjukkan tidak adanya aktivitas enzim lakase pada 12 isolat yang diuji. Hal ini terbukti karena tidak terbentuknya aktivitas enzim

lakkase berupa visualisasi zona bening disekitar koloni setelah diberi larutan 1-Napthol (Gambar 4).

Sangat sedikit kapang endofit pegagan sebagai penghasil enzim lakase. Hal ini didukung dengan hasil penelitian Sunitha *et al.* (2013), yang menjelaskan bahwa kapang endofit pegagan sedikit sekali yang dapat menghasilkan enzim lakase ekstraseluler. Maria *et al.* (2005) juga menyatakan bahwa kapang endofit yang berhasil diisolasi tidak satupun yang dapat menghasilkan enzim lakase. Kondisi dimana kapang endofit pegagan tidak menghasilkan enzim lakase kemungkinan disebabkan oleh sifat dari kapang endofitnya, sehingga tidak banyak atau bahkan tidak ada yang menghasilkan enzim lakase. Aktivitas enzim lakase pada tanaman dapat menyebabkan kerusakan pada inang tanaman kapang endofit tersebut.



Gambar 4. Hasil negatif uji aktivitas enzim lakase secara kualitatif pada isolat kapang endofit asal tanaman pegagan.

Tabel 4. Diameter zona bening kapang endofit penghasil enzim lakase

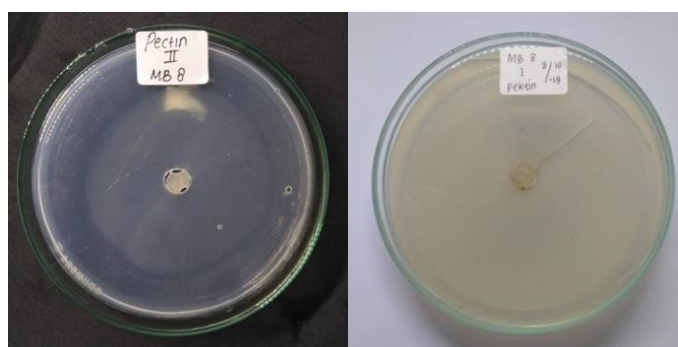
Isolat	Hasil (+/-)		Diameter zona bening (cm)		Diameter koloni (cm)		Indeks
	I	II	I	II	I	II	
<i>Aspergillus austroafricanus</i> MB 1	-	-	0	0	0	0	0
<i>Perenniporia tephropora</i> MB 5	-	-	0	0	0	0	0
<i>Fusarium falciforme</i> MB 8	-	-	0	0	0	0	0
<i>Trichaptum</i> sp. MB 11	-	-	0	0	0	0	0
<i>Fusarium keratoplasticum</i> MB 12	-	-	0	0	0	0	0
<i>Fusarium keratoplasticum</i> MB 15	-	-	0	0	0	0	0
<i>Fusarium oxysporum</i> MB 17	-	-	0	0	0	0	0
<i>Collectricum tabaci</i> MB 18	-	-	0	0	0	0	0
<i>Mycochaetophora gentiane</i> MB 19	-	-	0	0	0	0	0
<i>Mycochaetophora gentianae</i> MB 21	-	-	0	0	0	0	0
<i>Ceratobasidium</i> sp. MM 1	-	-	0	0	0	0	0
<i>Phanerochaete stereoides</i> MM 12	-	-	0	0	0	0	0

Keterangan : Indeks = diameter zona bening / diameter koloni

### Uji Kapang Endofit Penghasil Enzim Pektinase secara Kualitatif

Pengamatan aktivitas pektinolitik dilakukan dengan menumbuhkan isolat kapang pada media selektif yang mengandung substrat pektin. Penggunaan substrat bertujuan agar dapat menginduksi jamur kapang untuk menghasilkan enzim pektinase. Namun, Berdasarkan hasil

pengamatan uji kualitatif menunjukkan tidak adanya aktivitas enzim *pektinase* pada 13 isolat yang diuji pada media selektif. Hal ini terbukti karena tidak terbentuknya visualisasi berupa zona bening disekitar koloni setelah diberi penambahan larutan *hexadecyl trimetil ammonium bromida* (Gambar 5).

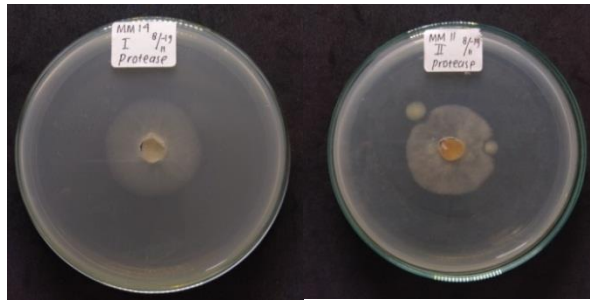


Gambar 5. Hasil negatif uji aktivitas enzim pektinase secara kualitatif pada isolat kapang endofit asal tanaman pegagan

Tabel 5. Diameter zona bening kapang endofit penghasil enzim pektinase

Isolat	Hasil (+/-)		Diameter zona bening (cm)		Diameter koloni (cm)		Indeks
	I	II	I	II	I	II	
<i>Fusarium falciforme</i> MB 8	-	-	0	0	0	0	0
<i>Ceratobasidium</i> sp. MM 1	-	-	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum karstii</i> MM 2	-	-	0	0	0	0	0
<i>Phialemonium dimorphosporum</i> MM 8	-	-	0	0	0	0	0
<i>Collectotrichum siamense</i> MM 9	-	-	0	0	0	0	0
<i>Phanerochaete stereoides</i> MM 12	-	-	0	0	0	0	0
<i>Collectotrichum gigasporum</i> MM 14	-	-	0	0	0	0	0
<i>Penicillium capsulatum</i> MM 15	-	-	0	0	0	0	0
<i>Talaromyces pinophilus</i> MM 16	-	-	0	0	0	0	0
<i>Chaetomium globosum</i> MM 19	-	-	0	0	0	0	0
<i>Fusarium striatum</i> MM 20	-	-	0	0	0	0	0
<i>Perenniporia corticola</i> MM 21	-	-	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum tabaci</i> MM 23	-	-	0	0	0	0	0

Keterangan : Indeks = diameter zona bening / diameter koloni



Gambar 6. Hasil negatif uji aktivitas enzim protease secara kualitatif pada isolate kapang endofit asal tanaman pegagan.

Tabel 6. Diameter zona bening kapang endofit penghasil enzim protease

Isolat	Hasil (+/-)		Diameter zona bening (cm)		Diameter koloni (cm)		Indeks
	I	II	I	II	I	II	
<i>Ceratobasidium</i> sp. MM 1	-	-	0	0	0	0	0
<i>Phialemonium dimorphosporum</i> MM 8	-	-	0	0	0	0	0
<i>Peroneutypa scoparia</i> MM 10	-	-	0	0	0	0	0
<i>Phomopsis asparagi</i> MM 11	-	-	0	0	0	0	0
<i>Phanerochaete stereoides</i> MM 12	-	-	0	0	0	0	0
<i>Aspergillusoryzae</i> MM 13	-	-	0	0	0	0	0
<i>Colletotrichum gigasporum</i> MM 14	-	-	0	0	0	0	0
<i>Fusarium solani</i> MM 17	-	-	0	0	0	0	0
<i>Chaetomium globosum</i> MM 19	-	-	0	0	0	0	0

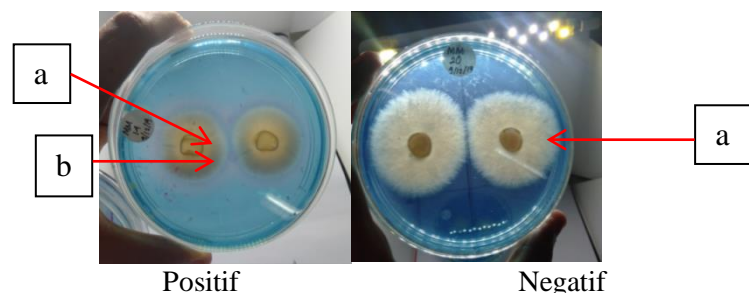
Keterangan : Indeks = diameter zona bening / diameter koloni

### Uji Kapang Endofit Penghasil Enzim Protease secara Kualitatif

Uji aktivitas proteolitik dilakukan pada 9 isolat kapang endofit dengan menggunakan media selektif. Uji positif ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar koloni kapang pada media selektif. Namun pada uji kali ini tidak ditemukan adanya aktivitas proteolitik dari ke sembilan isolat kapang. Terbukti karena tidak adanya visualisasi berupa zona bening disekitar koloni setelah diberi penambahan larutan ammonium sulfat jenuh (Gambar 6), hal ini dikarenakan tidak terdapat enzim ekstraseluler protease pada isolat kapang yang di uji, sehingga substrat protein yang terkandung dalam media selektif tidak dapat terhidrolisis dan membentuk zona bening.

### Deteksi Siderofor yang Dihasilkan oleh Kapang Endofit Tanaman Pegagan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa empat dari sembilan isolat kapang endofit yang telah diuji mampu menghasilkan siderofor berdasarkan pengujian secara kualitatif. Pada isolat *Aspergillus austroafricanus* MB 1 dan *Talaromyces pinophilus* MM 16 dihasilkan zona oranye dengan ukuran zona lebih kecil dibandingkan zona dari *Ceratobasidium cornigerum* MB 20 dan *Colletotrichum gigasporum* MM 14 yang menghasilkan zona oranye lebih besar. Ukuran zona oranye yang terbentuk menunjukkan kuat atau lemahnya kapang endofit pegagan sebagai penghasil siderofor.



Gambar 7. Hasil deteksi Siderofor yang dihasilkan oleh kapang endofit tanaman pegagan. ket : (a) Isolat (b) zona bening oranye

Tabel 7. Deteksi Siderofor yang Dihasilkan oleh kapang endofit tanaman pegagan

Isolat	Deteksi Siderofor	Warna Zona
<i>Aspergillus austroafricanus</i> MB 1	+	Oranye
<i>Fusarium oxysporum</i> MB 3	-	-
<i>Ceratobasidium cornigerum</i> MB 20	++	Oranye
<i>Collectotrichum siamense</i> MM 9	-	-
<i>Phomopsis asparagi</i> MM 11	-	-
<i>Colletotrichum gigasporum</i> MM 14	++	Oranye
<i>Talaromyces pinophilus</i> MM 16	+	Oranye
<i>Fusarium stiatum</i> MM 20	-	-

+: menghasilkan siderofor sedang, ++: menghasilkan siderofor kuat

Kemampuan mikroba menghasilkan siderofor merupakan komponen penting dalam PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), karena siderofor mampu bereaksi dengan besi ( $Fe^{3+}$ ) dan mengikatnya menjadi ikatan besi-siderofor yang bermanfaat bagi tanaman karena besi merupakan elemen penting dalam perkembangan infeksi. Tanaman akan diuntungkan dengan adanya siderofor yang dihasilkan oleh mikroorganisme karena dapat menghambat pertumbuhan patogen, dengan mekanisme  $Fe^{3+}$  akan diikat oleh siderofor sehingga terjadi kekurangan  $Fe^{3+}$  yang dibutuhkan oleh patogen sehingga patogen kurang mampu menginfeksi dan menghambat perkembangan penyakit (Sharma & Johri, 2003)

### Pengamatan Mikroskopis

Beberapa jenis kapang endofit yang telah terbukti positif sebagai penghasil enzim ekstraseluler kemudian dilanjutkan dengan pengamatan mikroskopis. Beberapa jenis kapang tersebut adalah *Aspergillus austroafricanus* MB 1, *Fusarium oxysporum* MB 3, *Acrotobasidium cornigerum* MB 4, MB 6, *Ceratobasidium* sp. MM 1, *Phialemonium dimorphosporum* MM 8, *Collectotrichum siamense* MM 9, *Phomopsis asparagi* MM 11, *Colletotrichum gigasporum* MM 14, *Talaromyces pinophilus* MM 16, *Chaetomium globosum* MM 19, *Fusarium striatum* MM 20, *Colletotrichum tabaci* MM 23. Pengamatan mikroskopis dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 40x dan 100x. Kaca objek dan kaca penutup terlebih dahulu dibersihkan dengan alkohol 70%. Isolat diambil dan diurai menggunakan tusuk gigi steril dengan media *lacto cotton blue* dan diberi setetes ethanol. Setelah itu kaca penutup diletakkan di atas permukaan gelas objek kemudian difiksasi terlebih dahulu sebelum diamati menggunakan mikroskop. Dokumentasi hasil pengamatan mikroskopis dapat dilihat pada Lampiran.

### KESIMPULAN

Berdasarkan analisis yang telah dilakukan di peroleh kesimpulan, yaitu : (1) Kapang endofit asal tanaman pegagan dengan kode isolat MB 20, MM 1, MM 6, MM 8 dan MM 16 mampu menghasilkan enzim amilase ekstraseluler. (2) Kapang endofit asal tanaman pegagan dengan kode isolat MM 1, MM 12, MM 16, MM 18, MM 19, MM 20 dan MM 21 mampu menghasilkan enzim selulase ekstraseluler. (3) Kapang endofit asal tanaman pegagan dengan kode isolat MB 1, MB 3, MB 4, MB 6, MM 1, MM 9, MM 11, MM 13, MM 14, MM16, MM 19, MM 20 dan MM 21 mampu menghasilkan enzim glukonase ekstraseluler. (4) Isolat kapang endofit asal tanaman pegagan terbukti tidak mampu menghasilkan enzim ekstraseluler lakase, pektinase dan protease. (4) Kapang endofit asal tanaman pegagan dengan kode isolat MB 1, MB 20, MM 14 dan MM 16 mampu menghasilkan siderofor.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis sampaikan kepada Ibu Retno Aliyatul Fikroh, M. Sc yang telah mendukung penulis, dan kepada kedua orang tua saya yang selalu mendoakan yang terbaik bagi penulis.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bermawie, N., Purwiyanti, S., & Mardiana, M. (2008). *Keragaan sifat morfologi, hasil dan mutu plasma nutfah pegagan (Centella asiatica (L.) Urban)*. Bul. Littro. Vol. XIX No. 1, 2008, 1 -17
- Choi, Y., Hodgkiss, I., & Hyde, K. (2005). *Enzyme production by endophytes of*

- Brucea javanica*. *J Agric Technol*, 1, 55–66.
- Devi, N. N., Prabakaran, J. J., & Wahab, F. (2012). Phytochemical analysis and enzyme analysis of endophytic fungi from *Centella asiatica*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), S1280–S1284.
- Jia, M., Chen, L., Xin, H.-L., Zheng, C.-J., Rahman, K., Han, T., & Qin, L.-P. (2016). A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: A systematic review. *Frontiers in microbiology*, 7, 906.
- Latifasari, N., Naufalin, R., & Wicaksono, R. (2019). Edible coating application of kecombrang leaves to reduce gourami sausage damage. 250(1), 012055.
- Mainawati, D., Brahmana, E. M., & Mubarrak, J. (2017). *Uji Kandungan Metabolit Sekunder Tumbuhan Obat Yang terdapat Di Kecamatan Rambah Samo Kabupaten Rokan Hulu. Media Neliti*, 1-6.
- Maria, G., Sridhar, K., & Raviraja, N. (2005). Antimicrobial and enzyme activity of mangrove endophytic fungi of southwest coast of India. *Journal of Agricultural technology*, 1(1), 67–80.
- Muhlisah, F. (2007). *Tanaman obat keluarga toga*. Penebar Swadaya : Jakarta
- Murdiyah, S. (2017). *Fungi Endofit Pada Berbagai Tanaman Berkhasiat Obat Di Kawasan Hutan Evergreen Taman Nasional Baluran Dan Potensi Pengembangan Sebagai Petunjuk Parktikum Mata Kuliah Mikologi*. 3(1), 1–10.
- Pelczar, M. J. (2019). *Dasar-dasar mikrobiologi*. Universitas Indonesia : Jakarta. Pustaka Poltekkes Padang Collection.
- Rahayu, A. G., Haryani, Y., & Puspita, F. (2014). Uji aktivitas selulolitik dari tiga isolat bakteri *Bacillus* sp. Galur lokal Riau. *JOM FMIPA*. 1(2), 319–327.
- Rana, K. L., Kour, D., Sheikh, I., Yadav, N., Yadav, A. N., Kumar, V., Singh, B. P., Dhaliwal, H. S., & Saxena, A. K. (2019). Biodiversity of endophytic fungi from diverse niches and their biotechnological applications. *Advances in endophytic fungal research*, 105–144.
- Shubhpriya Gupta and Preeti Chaturvedi. (2017). Foliar Endophytic Diversity of *Centella asiatica* (L.) Urban in Relation to Different Seasons and Leaf Age. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 6(6), 468-477.
- Sunitha, V., Nirmala Devi, D., & Srinivas, C. (2013). Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World Journal of Agricultural Sciences*, 9(1), 1–9.
- Theantana, T., Hyde, K. D., & Lumyong, S. (2009). Asparaginase production by endophytic fungi from Thai medicinal plants: Cytotoxicity properties. *International Journal of Integrative Biology*, 7(1), 1–8.