

**SELEKSI ENZIM PROTEASE JAMUR ENDOFIT DAUN MANGROVE *Avicennia marina*
DI PANTAI NOELBAKI
(SELECTION OF ENZYME PROTEASE OF MANGROVE LEAF ENDOPHITE FUNGUS
Avicennia marina AT NOELBAKI BEACH)**

Ocsryn L. Ludji Lobo¹, Anggreini D.N. Rupidara², Mellissa E.S. Ledo²

^{1,2} Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Kristen Artha Wacana, Kupang, Indonesia.

Email Correspondence : ocsrynludji@gmail.com

Abstrak

Jamur endofit dapat diartikan sebagai mikroba yang hidup berkoloni dalam jaringan internal makhluk hidup seperti pada daun tanpa menyebabkan efek yang merugikan secara langsung pada organisme tersebut. Jamur endofit mampu menghasilkan enzim ekstraseluler, salah satunya enzim protease. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jamur endofit penghasil enzim protease yang hidup pada daun mangrove *Avicennia marina* di Pantai Neolbaki. Metode yang digunakan adalah eksperimental dengan dua perlakuan yaitu daun tua dan daun muda mangrove *A. marina*. Data karakterisasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis dianalisis secara kualitatif sedangkan data uji aktifitas protease dari jamur endofit dengan metode *plug agar* berupa hasil perhitungan zona bening secara kuantitatif dan dideskripsikan dalam bentuk gambar dan tabel. Berdasarkan data penelitian ditemukan bahwa dari daun tua dan daun muda mangrove *A. marina* yang ada di pantai Noelbaki menghasilkan 12 total isolat hasil isolasi. Dari total 12 isolat diperoleh 5 isolat jamur endofit penghasil enzim protease ekstraseluler yang terbagi atas 3 isolat dari daun tua dan 2 isolat dari daun muda. Pembentukan zona aktifitas proteolitik tertinggi pada daun tua *A. marina* dalam uji enzim protease ekstraseluler terdapat pada kode isolat DT Am 05 OLL dengan diameter zona proteolitik sebesar 2,1 mm. sedangkan untuk daun muda *A. marina* aktivitas tertinggi terdapat pada kode isolat DM Am 02 OLL dengan diameter zona bening sebesar 1,9 mm.

Kata Kunci : *Avicennia marina*, Enzim protease ekstraseluler, Jamur endofit.

ABSTRACT

Endophytic fungi can be defined as microbes that live in colonies in the internal tissues of living things such as leaves without causing direct adverse effects on these organisms. Endophytic fungi are able to produce enzymes, one of which is the protease enzymes. This study aims to identify Endophytic fungi that produce protease enzymes that live on mangrove leaves of Avicennia marina in Noelbaki Beach. The research used an experimental method with two treatments, namely old and young leaves of the A. marina mangrove. The macroscopic and microscopic morphological characterization data were analyzed qualitatively, while the protease activity test data of endophytic fungi using the plug agar and the clear zone were analyzed quantitatively, then described in the form of figures and tables. The founding of the research of the old and young leaves of A. marina from the Noelbaki beach had been isolated a total of 12 isolates of endophytic fungi. Of the 12 isolates, 5 isolates were shown to produce extracellular protease enzymes, consisting of 3 old leaves isolates and 2 young leaves isolates. In the extracellular protease enzyme test, the proteolytic activity zone was confirm as a clear zone was found to be the highest in the old leaves of A. marina found in the isolate code DT-Am-05-OLL with a proteolytic zone diameter of 2.1 mm. As for young leaves of A. marina, the highest activity was found in the DM-Am-02-OLL isolate code with a clear zone diameter of 1.9 mm.

Key Words : *Avicennia marina*, endophytic fungi, extracellular protease enzymes

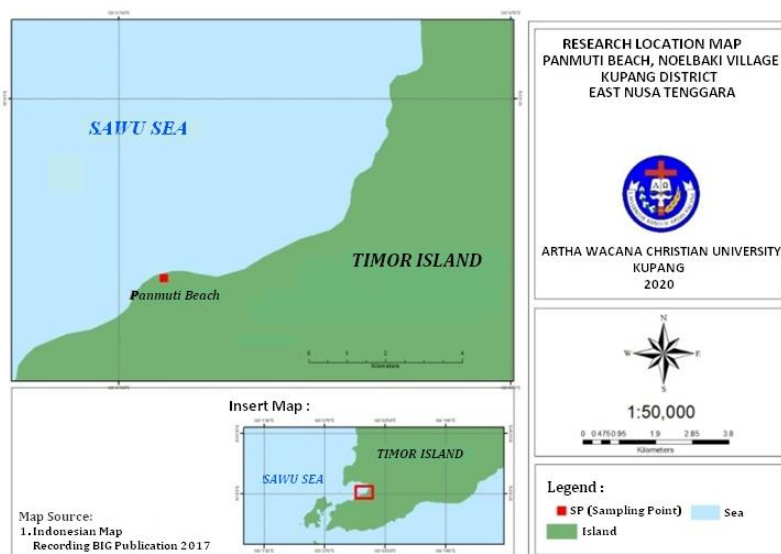
Indonesia merupakan salah satu negara yang terdiri atas banyak pulau. Kebanyakan pulau di Indonesia memiliki potensi ekosistem mangrove dan hutan pantai yang tersebar pada lebih dari 17.000 pulau dengan memiliki garis pantai sepanjang 80.000 km (Litbang, 2014). Nusa Tenggara Timur (NTT) merupakan salah satu dari jajaran pulau-pulau yang memiliki potensi ekosistem mangrove. Data dokumen final rencana zonasi wilayah pesisir dan pulau-pulau kecil Provinsi Nusa Tenggara Timur, menjelaskan bahwa NTT memiliki ekosistem mangrove yang sangat potensial yaitu seluas 17.546.52 Ha. Ekosistem mangrove tersebar di beberapa pesisir pantai termasuk pantai Noelbaki. Pantai ini memiliki luas 10.2 Ha dengan ekosistem mangrove yang melimpah dan masih asri. Terdapat beberapa Jenis mangrove yang ditemukan di pantai ini, salah satunya adalah jenis *Avicennia marina* (Abo dkk., 2015).

Avicennia marina merupakan tumbuhan belukar atau pohon yang tumbuh tegak dan menyebar dengan ketinggian pohon mencapai 30 meter. Mangrove *A. marina* biasanya hidup pada daerah pasang surut air laut yang memiliki substrat berlumpur. *A. marina* juga memiliki potensi ekonomi dimana bagian-bagian mangrove jenis ini juga dimanfaatkan untuk berbagai keperluan seperti pada daun mangrove juga menghasilkan jamur endofit (Kasi dkk., 2015). Jamur endofit adalah jamur yang hidup dalam jaringan tumbuhan seperti pada daun dan mampu membentuk koloni dalam jaringan tersebut tanpa membawa dampak negatif bagi inangnya (Kasi dkk., 2015). Jamur mampu menghasilkan toksin, antibiotik, serta enzim (Sinaga, 2009). Enzim merupakan suatu kelompok protein, sehingga kemungkinan besar bahan organik sekunder (metabolit sekunder) dihasilkan oleh bahan organik primer seperti protein (Nuryanti dan Pursitasari, 2014). Enzim merupakan molekul protein kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan bekerja sebagai katalisator dalam berbagai proses kimia di dalam tubuh. Berdasarkan letak dan fungsinya, enzim dibagi menjadi dua yaitu enzim intraseluler dan ekstraseluler. Salah satu enzim ekstraseluler yang sering digunakan adalah enzim protease (Fatimah dan Wardani, 2014). Enzim Protease adalah enzim yang memutuskan ikatan peptida pada protein (Murray dkk., 2003). Enzim Protease memiliki manfaat dan berpotensi untuk diaplikasikan dalam dunia industri antara lain industri detergen, industri makanan, industri farmasi, susu, kulit dan pengempukan daging (Ramadhani dkk., 2015).

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai dengan Oktober 2020. Pengambilan sampel dilakukan di area Pantai Noelbaki, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur (NTT).



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian

Tahap sterilisasi, pembuatan media, isolasi, purifikasi dan seleksi jamur selanjutnya dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pendidikan Biologi, Universitas Kristen Artha Wacana

Kupang. Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel yaitu gunting, plastik *ziplock*, *coolbox*, kamera dan alat tulis, oven, *autoclave*, jarum ose, bunsen, timbangan analitik, *erlenmeyer*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *petridish*, beker gelas, *scalpel* atau pisau steril, inkubator, penggaris, *blue tip* dan alat pelindung diri berupa jas, masker dan *gloves*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangrove *A. marina* sebagai sampel penelitian, PDA (*Potato Dextrose Agar*), *skim milk* (1%), *chloramphenicol*, air laut steril, aquades, alkohol 70%.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan dua perlakuan yaitu daun muda dan daun tua *A. marina* dan tiga ulangan. Isolasi dan identifikasi dilakukan dengan melihat morfologi jamur baik secara makroskopis dan mikroskopis.

Prosedur Penelitian

a. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun mangrove *Avicennia marina* dilakukan di Pantai Noelbaki. Sampel daun *A. marina* diambil dengan cara dipetik langsung dari pohonnya menggunakan gunting. Sampel daun yang digunakan adalah daun muda serta daun tua. Penentuan daun muda dan daun tua dilihat dari letak duduk daun. Daun muda terletak pada daun ke tiga dari ujung cabang batang sedangkan daun tua terletak pada pangkal cabang batang (Fadilah dkk., 2019). Masing-masing sampel daun mangrove dimasukan secara terpisah ke dalam kantong sampel (plastik *ziplock*), disimpan di dalam cool box dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Pendidikan Biologi, UKAW untuk dianalisis.

b. Sterilisasi dan Pembuatan Media

Semua peralatan yang akan digunakan akan disterilkan terlebih dahulu. Peralatan yang terbuat dari gelas, disterilkan dalam oven pada suhu 160°C - 170°C selama 1 jam. Sedangkan alat – alat yang tidak tahan pada pemanasan dengan suhu tinggi, disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara pemanasan langsung menggunakan bunsen hingga memijar.

Media PDA dan air laut steril digunakan sebagai media isolasi jamur. Pembuatan media diawali dengan menimbang media PDA sebanyak 39 gram dan dilarutkan dalam 1000 mL air laut steril di dalam labu Erlenmeyer kemudian dipanaskan dan diaduk menggunakan *Hot plate* dan *stirrer* sampai homogen. Media yang sudah homogen disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Selanjutnya pada media ditambahkan *Chloramphenicol* sebagai antibakteri, kemudian larutan PDA dituangkan ke dalam cawan petri dengan ketebalan ± 5 ml dengan kondisi tertutup, dan diamankan sampai membeku. Antibakteri digunakan 1 kapsul untuk 1L media. Sebelum digunakan, media disimpan selama 24 jam dalam suhu kamar.

c. Isolasi Jamur Endofit

Sampel daun *A. marina* dicuci terlebih dahulu menggunakan air bersih yang mengalir. Sampel daun selanjutnya dikeringkan dengan tisu steril kemudian daun dibilas lagi dengan aquades steril selama ± 1 menit. Setelah kering, daun dipotong berbentuk persegi dengan ukuran ±1x1 menggunakan pisau steril kemudian ditanam pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dengan proses pertumbuhan jamur selama ± 24 - 48 jam. Setelah potongan daun ditanam, maka dilakukan pengamatan setiap hari sampai jamur sudah tumbuh.

d. Purifikasi (Pemurnian Jamur)

Setelah jamur tumbuh dilakukan purifikasi (pemurnian jamur). Pemurnian jamur bertujuan untuk memisahkan koloni dengan mengamati perbedaan morfologi koloni. Pemurnian jamur dilakukan dengan cara miselium jamur yang sudah tumbuh diambil dengan menggunakan jarum ose yang steril kemudian bagian dari jamur tersebut dipindahkan kembali ke media PDA steril. Hal yang sama juga dilakukan pada miselium jamur yang memiliki morfologi makroskopis koloni yang berbeda sampai dihasilkan biakan murni (Nuramalia, 2016).

e. Seleksi Jamur Proteolitik

Uji aktivitas protease menggunakan metode *Plug Agar*. Uji ini menggunakan media PDA yang diperkaya dengan *skim milk* (1%). Setiap isolat murni jamur dipotong menggunakan pangkal *Blue*

tip dan ditotolkan pada media PDA yang diperkaya dengan skim milk, kemudian diinkubasi selama 24 - 48 jam pada suhu 37°C. Adanya aktivitas enzim protease ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni jamur setelah diinkubasi (Queendy dan Roza, 2019). Besarnya kemampuan jamur dalam menghasilkan protease dapat ditandai dengan indeks proteolitik. Indeks proteolitik yaitu perbandingan antara diameter zona bening dengan diameter koloni untuk memperoleh isolat potensial (Kabense, 2019). Indeks Proteolitik dirumuskan sebagai berikut.

$$IP = \frac{\text{Diameter Zona bening}}{\text{Diameter koloni}}$$

IP adalah Indeks proteolitik, dimana hasil pengukuran Indeks proteolitik yang tergolong dalam kategori rendah adalah kurang dari 2,1 mm, kategori sedang berkisar antara 2,1 – 3,1 mm sedangkan yang termasuk dalam kategori tinggi adalah lebih dari 3,1 mm (Hastuti, 2017)

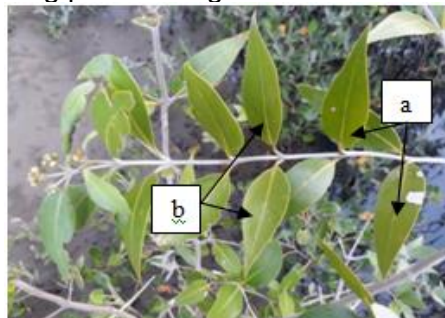
Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif kualitatif dan deskriptif kuantitatif. Deskriptif kualitatif meliputi karakteristik makroskopis berupa bentuk serta warna koloni jamur. Deskriptif kuantitatif meliputi uji aktifitas protease dari masing-masing jamur yang berhasil diisolasi dari daun *Avicennia marina*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi dan Purifikasi Jamur Dari Daun Mangrove *Avicennia marina* di Pantai Noelbaki.

Sampel daun *Avicennia marina* yang digunakan berasal dari mangrove di Pantai Noelbaki, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang tahun 2020. Sampel daun mangrove *A. marina* di ambil dengan menggunakan gunting pada 1 tangkai.



Gambar 2. Foto duduk daun mangrove *A. marina* pada tangkai. (a) Letak daun tua; (b) Letak daun muda.

Daun mangrove *A. marina* yang diperoleh dicuci menggunakan air mengalir dengan tujuan untuk membersihkan permukaan daun dari kotoran. Daun dipotong per segi dengan ukuran 1 x 1 cm kemudian diletakkan di permukaan media PDA yang diperkaya dengan *Chloramphenicol* sebagai antibakteri. Penggunaan *Chloramphenicol* pada media PDA bertujuan untuk mencegah kontaminasi media oleh bakteri. Daun dibiarkan selama 3 hari sehingga terdapat pertumbuhan jamur pada media tersebut. Setelah 3 hari, jamur tumbuh dengan ciri-ciri terlihat seperti benang (hifa) di atas daun. Purifikasi dilakukan dengan dikarakterisasi berdasarkan ciri morfologi yaitu warna, permukaan koloni, tepi dan karakteristik mikroskopik seperti hifa dan spora yang dibentuk sesuai dengan buku petunjuk *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Barnett dan Hunter, 2006). Kemudian diambil potongan koloni jamur sebesar 1 x 1 cm untuk dimurnikan sampai dengan mendapatkan isolat tunggal yaitu 1 koloni jamur dalam 1 media pertumbuhan. Purifikasi dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan koloni jamur endofit berdasarkan karakter morfologinya agar didapatkan isolat tunggal jamur. Data isolat jamur endofit dapat dilihat pada tabel 1

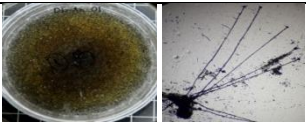
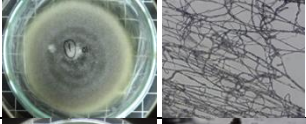
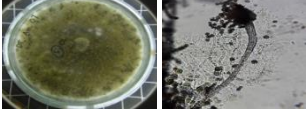
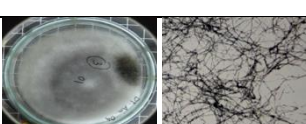
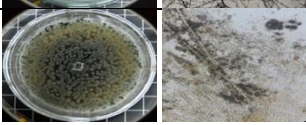
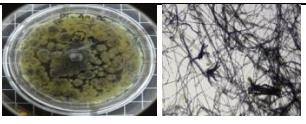
Tabel 1. Karakteristik morfologi isolat jamur endofit

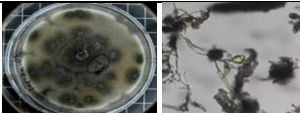
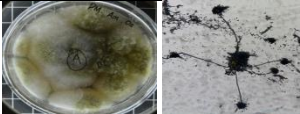
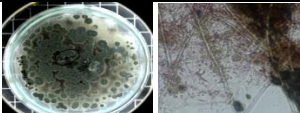
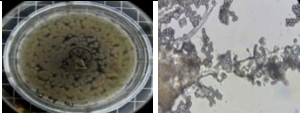
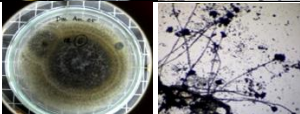
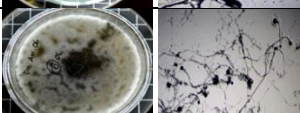
Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Secara Makroskopis		
	Warna	Permukaan Koloni	Tepi
DT-Am-01-OLL	Hitam	Halus dan rata	Rata

DT-Am-02-OLL	Putih keabuan	Halus dan rata	Rata
DT-Am-03-OLL	Putih Kehijauan	Kasar dan tidak rata	Tidak rata
DT-Am-04-OLL	Putih	Halus dan tidak rata	Rata
DT-Am-05-OLL	Hijau Tua	Kasar dan tidak rata	Tidak rata
DT-Am-06-OLL	Hijau tua pada bagian tengah dan hijau muda pada bagian tepi	Kasar dan tidak rata	Tidak rata
DM-Am-01-OLL	Putih dengan warna hijau pada bagian tengah	Halus dan rata	Rata
DM-Am-02-OLL	Putih kehijauan	Kasar dan tidak rata	Rata
DM-Am-03-OLL	Hijau Tua	Kasar dan tidak rata	Rata
DM-Am-04-OLL	Coklat Muda	Kasar dan tidak rata	Tidak rata
DM-Am-05-OLL	Hitam pada bagian tengah dengan warna putih pada bagian tepi	Halus dan rata	Rata
DM-Am-06-OLL	Putih kecoklatan	Kasar dan tidak rata	Tidak rata

Data tabel menunjukkan karakterisasi isolat jamur endofit secara makroskopis pada daun tua dan daun muda mangrove *A. marina*. Berdasarkan warna, permukaan koloni, dan tepi diperoleh total 12 isolat murni jamur endofit. Pada daun tua *A. marina* (DT-Am) diperoleh 6 isolat jamur dengan kode isolat DT-Am-01-OLL, DT-Am-02-OLL, DT-Am-03-OLL, DT-Am-04-OLL, DT-Am-05-OLL dan DT-Am-06-OLL. Sedangkan pada daun muda *A. marina* (DM-Am) diperoleh 6 isolat jamur endofit dengan kode isolat DM-Am-01-OLL, DM-Am-02-OLL, DM-Am-03-OLL, DM-Am-04-OLL, DM-Am-05-OLL dan DM-Am-06-OLL. Sedangkan untuk karakteristik secara mikroskopis dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 2. Karakteristik jamur endofit dari daun mangrove *Avicennia marina* secara makroskopis dan mikroskopis.

Kode Isolat	Gambar Isolat Secara makroskopis dan mikroskopis	Karakteristik Morfologi Secara Mikroskopis
DT-Am-01-OLL		Ada rhizoid, sporangiophor tidak bercabang, memperlihatkan konidiofordan sporangium serta spora kecil dan bulat.
DT-Am-02-OLL		memiliki sporangium, hifa halus bercabang dan stolon yang halus dan bercabang
DT-Am-03-OLL		konidia panjang, adanya kolumella, sporangium dan spora bulat, sporangiophor tidak bercabang, serta hifa berseptat kecil dan bercabang
DT-Am-04-OLL		memiliki hifa halus dan bercabang, memiliki stolon lebih besar
DT-Am-05-OLL		hifa berseptat, sporangiophor tidak bercabang, sporangium bulat, konidia bulat serta adanya bagian stolon.
DT-Am-06-OLL		sporangiophor pendek dengan memperlihatkan bagian konidiofor, konidia bulat memanjang, hifa berseptat dan halus, serta terlihat adanya stolon

DM-Am-01-OLL		hifa tidak bersekat, sporangium kuning, konidia bulat, terdapat stolon
DM-Am-02-OLL		memiliki rhizoid, sporangiophor tidak bercabang, konidiofor, sporangium berbentuk bulat, konidia berbentuk bulat kuning dan tersusun memanjang
DM-Am-03-OLL		memiliki stolon, sporangiophor tidak bercabang, sporangium bulat, konidia kuning dan bulat
DM-Am-04-OLL		konidia bulat kuning, konidiofor bercabang, dengan memperlihatkan fialid
DM-Am-05-OLL		ada rhizoid, sporangiophor tidak bercabang, serta sporangium dan konidia bulat kecil
DM-Am-06-OLL		hifa halus berwarna sporangiophor tidak bercabang dan sporangium bulat

Isolat DT-Am-01-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna hitam, permukaan koloni halus dan rata serta tepi koloni rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga termasuk ke dalam genus *Aspergillus* sp karena memperlihatkan ciri-ciri memiliki rhizoid, sporangiophor yang tidak bercabang, memperlihatkan bagian konidiofor, serta sporangium dan spora yang berbentuk bulat dengan ukuran yang kecil (Wahyuni, 2017). Isolat DT-Am-02-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna putih keabuan, permukaan koloni halus dan rata serta tepi koloni yang rata dan membentuk cincin. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga termasuk ke dalam genus *Fusarium* sp, karena ciri-cirinya memiliki sporangium, hifa halus yang bercabang, serta bagian stolon yang halus dan bercabang (Sholihah dkk., 2019). Isolat DT-Am-03-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna putih kehijauan, permukaan koloni kasar dan tidak rata, serta tepi koloni yang tidak rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga termasuk ke dalam genus *Aspergillus* sp, karena ciri-ciri yang diperlihatkan memiliki konidia yang panjang dengan adanya kolumella, sporangium dan spora yang berbentuk bulat, sporangiophor yang tidak bercabang, memperlihatkan bagian konidiofor, walaupun spesies ini termasuk genus *Aspergillus* namun berbeda dengan DT-Am-01-OLL karena adanya hifa bersepta kecil dan bercabang (Wahyuni, 2017). Isolat DT-Am-04-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna putih, permukaan halus dan bergelombang membentuk zonasi serta tepi koloni rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga termasuk ke dalam genus *Fusarium* sp, dengan ciri-ciri memiliki hifa yang halus dan bercabang serta memiliki stolon dengan ukuran yang lebih besar (Sholihah dkk., 2018). Isolat DT-Am-05-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna hijau tua, permukaan koloni yang kasar dan tidak rata, serta tepi koloni yang tidak rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga termasuk ke dalam genus *Aspergillus* sp, ciri-ciri yang dipunyai yaitu memiliki hifa bersepta, sporangiophor yang tidak bercabang, memperlihatkan bagian konidiofor, sporangium berbentuk bulat, konidia berbentuk bulat serta bagian stolon yang menghubungkan satu sporangiophor dengan sporangiophor yang lain. Ciri stolon yang membedakan isolat ini dengan isolat DT-Am-01-OLL dan DT-Am-03-OLL (Wahyuni, 2017). Isolat DT-Am-06-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna hijau tua pada bagian tengah dan hijau muda pada bagian tepinya, permukaan koloni kasar dan tidak rata, serta tepi koloni tidak rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga merupakan genus *Penicillium* sp, adapun ciri-cirinya memiliki sporangiophor yang pendek dengan memperlihatkan bagian konidiofor, konidia berbentuk bulat yang tersusun memanjang, hifa yang bersepta dan halus, serta terlihat adanya stolon (Ristiari dkk., 2018).

Isolat DM-Am-01-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna putih dengan bagian tengah berwarna hijau, permukaan koloni halus dan rata, serta tepi koloni yang rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga termasuk ke dalam genus *Mucor* sp, karena ciri-ciri yang diperlihatkan memiliki hifa yang tidak bersekat dengan sporangium berwarna kuning, konidia berbentuk bulat, terdapat stolon serta menunjukkan adanya vesikel (Sanjaya dkk., 2019). Isolat DM-Am-02-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna putih kehijauan, permukaan koloni kasar dan tidak rata serta tepi koloni yang rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga merupakan genus *Aspergillus* sp, karena ciri-cirinya yaitu memiliki rhizoid, sporangiophor yang tidak bercabang, memperlihatkan bagian konidiofor, serta sporangium berbentuk bulat, konidia berbentuk bulat dan berwarna kuning dan tersusun memanjang. Spesies ini mirip dengan DT-Am-03-OLL namun berbeda pada konidia yang berwarna kuning dan tersusun memanjang (Wahyuni, 2017). Isolat DM-Am-03-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna hijau tua, permukaan koloni kasar dan tidak rata, tepi koloni rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga termasuk ke dalam genus *Aspergillus* sp, yang memperlihatkan ciri-ciri memiliki stolon, sporangiophor yang tidak bercabang, memperlihatkan bagian konidiofor, sporangium berbentuk bulat, konidia berwarna kuning dan berbentuk bulat, perbedaan utama dengan genus *Aspergillus* lainnya adalah konidianya berwarna kuning dan berbentuk bulat (Wahyuni, 2017). Isolat DM-Am-04-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna coklat muda, permukaan koloni kasar dan tidak rata, serta tepi yang rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga merupakan genus *Trichoderma* sp, karena memperlihatkan ciri-ciri memiliki konidia bulat dan berwarna kuning, konidiofor bercabang, dengan memperlihatkan fialid pada bagian percabangannya (Purwantisari dan Hastuti, 2009). Isolat DM-Am-05-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna hitam dan putih, permukaan koloni yang halus dan rata, serta tepi koloni rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga termasuk ke dalam genus *Aspergillus* sp, ciri-ciri yang dimiliki yaitu adanya rhizoid, sporangiophor yang tidak bercabang, memperlihatkan bagian konidiofor, sporangium serta bentuk konidia yang bulat dengan ukuran kecil yang mencirikan perbedaan dengan genus serupa pada isolat daun *A.marina* muda lainnya (Wahyuni, 2017). Isolat DM-Am-06-OLL mempunyai ciri-ciri miselium berwarna putih dengan bagian tengah berwarna coklat, permukaan koloni yang kasar dan tidak rata, serta tepi koloni yang tidak rata. Pada pengamatan secara mikroskopis, isolat ini diduga termasuk ke dalam genus *Aspergillus* sp, yang memperlihatkan ciri-ciri memiliki sporangiophor yang tidak bercabang dengan memperlihatkan bagian konidiofor. Memiliki Sporangium berbentuk bulat. Perbedaan spesifik isolat ini adalah hifanya yang halus berwarna putih dan stolon sebagai penghubung bagi setiap sporangiophor (Wahyuni, 2017).

B. Uji Aktifitas Protease

Dari 12 isolat jamur endofit yang telah diperoleh dan diidentifikasi dari daun mangrove *A. marina*, kemudian dilakukan pengujian lanjut terhadap kemampuannya menghasilkan enzim protease ekstraseluler menggunakan media PDA yang diperkaya dengan Skim milk 1%. Jamur endofit yang menghasilkan enzim protease ekstraseluler ditandai dengan pembentukan zona bening pada sekitar koloni jamur endofit. Semakin besar zona bening yang dihasilkan maka semakin tinggi enzim protease yang dihasilkan (Hastuti, 2017). Berikut data isolat jamur endofit yang menghasilkan enzim protease ekstraseluler yang disajikan pada tabel 3.

Tabel 4.2 Pengujian Jamur endofit penghasil enzim protease ekstraseluler

Nomor	Kode Sampling	Reaksi protease	Diameter zona bening (mm)
1	DT Am 01 OLL	-	-
2	DT Am 02 OLL	+	1,6
3	DT Am 03 OLL	-	-
4	DT Am 04 OLL	++	2
5	DT Am 05 OLL	++	2,1
6	DT Am 06 OLL	-	-
7	DM Am 01 OLL	-	-
8	DM Am 02 OLL	+	1,9
9	DM Am 03 OLL	+	1,6
10	DM Am 04 OLL	-	-

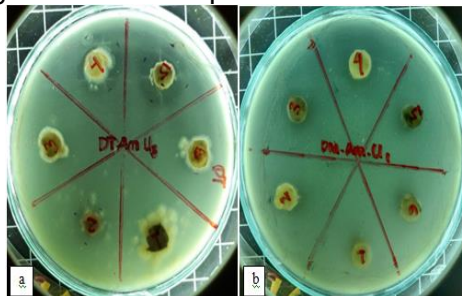
11	DM Am 05 OLL	-	-
12	DM Am 06 OLL	-	-

Keterangan :

+++ = Positif tinggi (3,1 mm) ++ = Positif sedang (2,1 – 3,1 mm)

+ = Positif rendah (2,1 mm) - = Negatif

Berdasarkan tabel 4.2 seleksi jamur endofit yang diperoleh dari daun tua (DT) *A. marina* terdapat 3 isolat yang menghasilkan enzim protease ekstraseluler yaitu isolat DT-Am-02-OLL, DT-Am-04-OLL dan DT-Am-05-OLL dengan masing-masing diameter zona bening adalah 1,6 mm (positif rendah), 2 mm (positif sedang), dan 2,1 mm (positif sedang). Sedangkan untuk daun muda (DM) terdapat 2 isolat dengan kode DM-AM-02-OLL dan DM-AM-03-OLL dengan masing-masing diameter zona bening adalah 1,9 mm dan 1,6 mm yang memiliki reaksi protease positif rendah.. sehingga total isolat yang menghasilkan enzim protease ekstraseluler sebanyak 5 isolat.



Gambar 3. Hasil uji enzim protease ekstraseluler. (a) Pada daun tua (DT), (b) Pada daun muda (DM).

Pembentukan zona aktivitas proteolitik tertinggi pada daun tua *A. marina* dalam pengujian enzim protease ekstraseluler terdapat pada kode isolat DT Am 05 OLL dengan diameter zona proteolitik sebesar 2,1 mm. sedangkan untuk daun muda *A. marina* aktivitas tertinggi terdapat pada kode isolat DM Am 02 OLL dengan diameter zona bening sebesar 1,9 mm sesuai dengan pengukuran Indeks proteolitik yang tergolong dalam kategori rendah adalah kurang dari 2,1 mm, kategori sedang berkisar antara 2,1 – 3,1 mm sedangkan yang termasuk dalam kategori tinggi adalah lebih dari 3,1 mm (Hastuti, 2017).

Isolat jamur endofit yang positif ditandai dengan adanya zona bening disekitar isolat pada media *skim milk*. Media *skim milk* memiliki kandungan protein yang akan dipecah oleh mikroorganisme proteolitik menjadi senyawa nitrogen terlarut sehingga pada koloni dikelilingi area bening (Harun dkk., 2018). Hasil perombakan polimer protein ditunjukkan dengan adanya zona bening yang menandakan adanya aktifitas enzim protease yang mengkatalis pemecahan ikatan peptida dalam peptida, polipeptida dan protein dalam media melalui reaksi hidrolisis menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana seperti peptide rantai pendek dan asam amino (Naiola dan Widhyastuti, 2002). Protein yang terdapat pada media *skim milk* bertindak sebagai inducer bagi enzim protease. Zona bening yang dihasilkan merupakan hasil hidrolisis substrat protein yang terkandung dalam media *skim milk* oleh enzim protease yang dihasilkan oleh isolat jamur (Yuniati dkk., 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi jamur endofit pada daun mangrove *Avicennia marina*, diperoleh total isolat jamur endofit sebanyak 12 isolat yang terbagi atas 6 isolat pada daun tua dan 6 isolat lagi pada daun muda. Setelah dilakukan pengujian aktivitas protease pada media *skim milk* diperoleh total 5 isolat jamur endofit yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim protease ekstraseluler yaitu isolat dengan kode DT-Am-02-OLL, DT-Am-04-OLL, DT-Am-05-OLL, DM-Am-02-OLL dan DM-Am-03-OLL. Tiga isolat jamur endofit dari daun tua *A. marina* memiliki aktifitas protease dengan diameter zona bening tertinggi terdapat pada kode isolat DT-Am-05-OLL sebesar 2,1 mm. 2 isolat jamur endofit pada daun muda *A. marina* memiliki aktifitas protease dengan diameter zona bening tertinggi terdapat pada kode isolat DT-Am-02-OLL sebesar 1,9 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Abo, M., Banilodu, L., dan Eduk, E.J., 2015. Struktur Vertikal Komunitas Mangrove di Pantai Noelbaki, Kupang Tengah, Kupang [Skripsi]. Universitas Katolik Widya Mandira Kupang. Kupang.
- Barnett, H.L., and Hunter, B.B., 2006. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition (4th). The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota.
- Fadilah, W.A.N., Soenardjo, N., Setyati, W.A., 2019. Tingkat Herbivori Daun Mangrove *Rhizophora stylosa* dan *Avicennia marina* di Pesisir Pasar Banggi Jawa Tengah. *Buletin Oseanografi Marina* 8(2): 81-86.
- Fatimah, A.N., dan Wardani, A.K., 2014. Ekstraksi dan Karakterisasi Enzim Protease Dari Daun Kelor (*Moringa oliefera* Lamk.). *Jurnal Teknologi Pertanian* 15(3): 191-200.
- Harun, A., Muchlissin, S.I., Mukaromah, A.H., Darmawati, S., dan Ethica, S.N., 2018. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease *Staphilococcus hominis* Pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 120 Jam. *Seminar Nasional Edusaintek* 23-30.
- Hastuti, U.S., Nugraheni, F.S.A., Asna, P.M.A., 2017. Identifikasi dan Penentuan Indeks Hidrolisis Protein Pada Bakteri Proteolitik dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan. *Proceeding Biology Education* 14(1): 265-270.
- Kabense, R. 2019. Penapisan Bakteri Proteolitik yang Bersimbiosis Dengan Alga *Gracillaria* sp. *Jurnal Ilmiah Platax* 7(2): 413-418.
- Kasi, Y.A., Posangi, J., Wowor, P.M., dan Bara, R., 2015. Uji Efek Anti Bakteri Jamur Endofit Daun Mangrove *Avicennia marina* Terhadap Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *Jurnal e-Biomedik* 3(1).
- Litbang. 2014. Pengelolaan Hutan Mangrove dan Ekosistem Pantai. Kementrian Kehutanan Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., and Rodwell, V.W., 2003. Biokimia Harper. Edisi 25. Jakarta ECG.
- Naiola, E., dan Widhyastuti, N., 2002. Isolasi, Seleksi dan Optimasi Produksi Protease Dari Beberapa Isolat Bakteri. *Berita Biologi* 6(3): 467-473.
- Nuramalia. 2006. Isolasi dan Identifikasi Mikrofungi Endofit pada Serasah dan Daun Mangrove (*Rhizopora* sp.) di Perairan Sei Ladi Kota Tanjungpinang [Skripsi]. FIKP Universitas Maritim Raja Ali Haji. Tanjung pinang.
- Nuryanti, E.S. dan Pursitasari, I.D., 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Di Ekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol. *Jurnal Akad Kimia* 3(3): 165-172.
- Purwantisari, S., dan Hastuti, R.B., 2009. Isolasi dan Identifikasi Jamur Indigenous Rhizofer Tanaman Kentang dari Lahan Pertanian Kentang Organik di Desa Pakis, Magelang. *BIOMA* 11(2): 45-53.
- Queendy, V., dan Roza, R.M., 2019. Aktivitas Antifungi Isolat Aktinomisetes Arboretum Universitas Riau Terhadap Jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* Dan *Ganoderma boninense*. *Jurnal Biologi* 12(1): 73-88.
- Ramadhani, P., Rukmi, I., Pujiyanto, S., 2015. Produksi Enzim Protease Dari *A. niger* PAM18A Dengan Variasi pH dan Waktu Inkubasi. *Jurnal Biologi* 4(2): 25-34.

Indigenous Biologi

Jurnal pendidikan dan Sains Biologi

5(2) 2022

- Ristiari, N.P.N., Julyasih, K.S.M., dan Suryanti, I.A.P., 2018. Isolasi Dan Identifikasi Jamur Mikroskopis Pada Rizofeora Tanaman Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) Di Kecamatan Kintamani, Bali. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha* 6(1): 10-19.
- Sanjaya, Y., Nurhaeni, H., dan Halima., M., 2010. Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Jamur Entomopatogen dari Larva Spodoptera litura (Fabricus). *Bionatura Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati dan Fisik* 12(3): 136-141.
- Sinaga, M.H., 2009. Pengaruh Bio Va-Mikoriza dan Pemberian Arang Terhadap Jamur *Fusarium oxysporum* pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum*) di Lapangan [Skripsi]. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Sholihah, R.I., Sritamin, M., dan Wijaya, I.N., 2019. Identifikasi Jamur *Fusarium solani* Yang Berasosiasi Dengan Penyakit Busuk Batang Pada Tanaman Buah Naga (*Hylocereus* sp.) Di Kecamatan Bangorejo, Kabupaten Banyuwangi. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika* 8(1): 91-102.
- Wahyuni, S.H. 2017. Identifikasi Jamur Endofit Asal Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Dalam Menghambat *Xanthomonas albilineans* L. Penyebab Penyakit Vaskular Bakteri. *Jurnal Agrotek Lestari* 4(2): 1-11.
- Yuniati, R., Nugroho, T.T., dan Puspita F., 2015. Uji Aktivitas Enzim Protease Dari Isolat *Bacillus* sp. Galur lokal Riau. *JOM FMIPA* 1(2): 116-122.