

TEKNIK ISOLASI FOLIAR ENDOFIT DARI TANAMAN KEHUTANAN

Oleh : Safinah Surya Hakim, S. Hut

Fungi merupakan kelompok makhluk hidup yang bersifat heterotrof yang artinya tidak memproduksi makanannya sendiri tetapi mengambil senyawa dari luar tubuhnya serta bergantung pada organisme lain. Berdasarkan ukurannya terdapat dua fungi yakni fungi makroskopis, yang bisa dilihat dengan mata telanjang; dan fungi mikroskopis, yang hanya bisa dilihat dengan bantuan alat seperti halnya mikroskop.

Fungi dapat ditemui di berbagai tempat yakni di tanah, kayu yang lapuk, pada makanan, sudut ruangan atau juga di dalam jaringan tanaman. Pada tanaman jenis fungi yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan kerusakan dikenal dengan nama fungi endofit. Fungi endofit bisa ditemukan pada berbagai jaringan tanaman antara lain daun, batang, akar, dan tunas.

Fungi endofit sangat menarik untuk dipelajari karena memiliki potensi positif untuk mendukung pertumbuhan tanaman. Beberapa contoh manfaat yang sudah berhasil diungkapkan oleh banyak penelitian, fungi endofit memiliki manfaat diantaranya menghasilkan senyawa metabolit yang potensial dalam meningkatkan kekebalan tanaman terhadap penyakit dan juga meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Fungi endofit dapat dipelajari dengan beberapa metode yakni (a) pengamatan mikroskopis, (b) sterilisasi permukaan dan isolasi (c) Molekular (d) pengujian biokimia. Dari keempat metode tersebut, sterilisasi permukaan merupakan metode yang paling terjangkau dari segi biaya dan sederhana karena tidak memerlukan alat dan bahan yang khusus.

Sterilisasi permukaan merupakan tahap yang penting dalam mengisolasi fungi endofit dari jaringan tanaman yang sehat. Beberapa cairan yang sering dipakai untuk sterilisasi permukaan adalah alkohol, hydrogen peroksida (H_2O_2), Sodium Hyperchloride ($NaOCl$) yang juga dikenal sebagai pemutih. Larutan-larutan ini berfungsi untuk menghilangkan patogen atau organisme lain yang ada di permukaan jaringan tanaman. Dalam melakukan sterilisasi permukaan, jumlah kadar dan lama perendaman tidak sama pada jenis pohon yang satu dengan yang lain. Kadar larutan yang terlalu tinggi serta waktu perendaman yang terlalu lama bisa menyebabkan rusaknya jaringan tanaman serta hilangnya organisme target. Oleh karena itu, perlu pengujian kadar larutan yang digunakan serta lama perendaman.

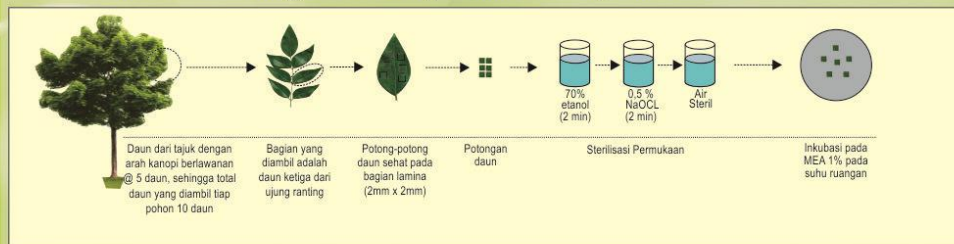
Fungi endofit asal daun dikenal juga dengan istilah foliar endofit. Foliar endofit sangat beraneka ragam di hutan tropis.



Untuk mengisolasi foliar endofit, tahapan yang dilakukan adalah sebagai berikut :

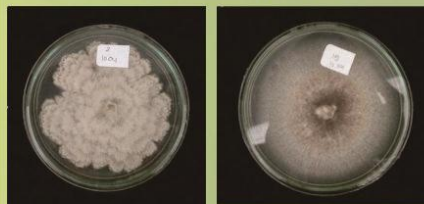
1. Ambil daun yang sehat dari pohon yang telah ditentukan
2. Cuci daun dengan air mengalir
3. Potong daun menjadi potongan-potongan kecil dengan ukuran kira-kira 2 mm x 2 mm
4. Setelah dipotong, daun yang sudah dipotong tersebut masukkan pada petridish yang bersih dan dibawa ke Laminar Air flow
5. Sterilisasi permukaan daun dengan merendamnya pada larutan : (a) 70% ethanol (2 menit); (b) 0.525 % NaOCl; (c) Air steril untuk membilas. Saat proses perendaman, gunakan gelas piala kecil dan saat akan memindahkan segmen daun dari satu larutan ke larutan lain gunakan kertas saring.
6. Setelah proses sterilisasi permukaan selesai, keringkan segmen daun di atas kertas saring
7. Letakkan segmen daun yang telah disterilasi ke dalam petridish yang berisi media Malt Extract Agar 1%.
8. Inkubasi dan amati. Jika ada fungi muncul dari tepi segmen daun, pindahkan ke petridish lain hingga diperoleh kultur murni.

Metode isolasi fungi endofit ini, diilustrasikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Ilustrasi isolasi foliar endofit

Contoh kultur murni yang sudah didapat dapat dilihat pada gambar 2. Kultur murni fungi yang telah didapat selanjutnya dapat digunakan untuk pembelajaran lebih lanjut antara lain identifikasi, pengujian *in vitro* maupun *in vivo*.



Gambar 2. Kultur murni foliar endofit pohon *Shorea Selanica* asal arboretum BPK Banjarbaru

Sumber Bacaan :

- Arnold AE; Maynar Z; Gilbert GS. 2001. Fungal endophytes in dicotyledonous neotropical trees : patterns of abundance and diversity. *Mycol* 105 (12): 1502-1507.
- Bayman P. 2007. Fungal endophytes. Kubicek CP dan Druzhinina IS, editor. *Environmental and Microbial Relationship 2nd Edition*. Verlag Berlin Heidelberg : Springer.