

## Identifikasi dan Seleksi Fungi Endofit Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Penghasil Enzim Selulase

## Identification and Selection of Endophytic Fungi from Betel Leaf (*Piper betle* L.) as Cellulase Enzyme Producer

Dhia Salsabila Hakim<sup>1</sup>, Rina Sri Kasiamdari<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknika Selatan, Sinduadi, Mlati, Sleman, Yogyakarta, Indonesia 55281

\*Corresponding Author: rkasiamdari@ugm.ac.id

**Abstrak:** Fungi endofit menjadi perhatian di industri bioetanol karena peranannya dalam sekresi metabolit sekunder berupa enzim selulolitik yang diketahui lebih besar daripada bakteri. Sekresi enzim metabolik pada fungi endofit tergantung pada inang yang ditempatinya. Tanaman herbal dikenal sebagai tempat hidup berbagai fungi endofit. Sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan salah satu tanaman herbal yang dikenal memiliki kandungan metabolit tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi fungi endofit pada daun *P. betle* yang telah diisolasi oleh Syaifudin (2018), melakukan uji selulolitik fungi hasil identifikasi serta mengetahui fungi endofit yang memiliki aktivitas selulolitik terbesar. Uji selulolitik dilakukan dengan dua tahap yaitu seleksi dengan *Congo Red* serta aktivitas selulolitik dihitung dengan kadar gula reduksi. Hasil penelitian berhasil mengidentifikasi tiga spesies fungi dari *P. betle* hasil isolasi Syaifudin (2018) yaitu *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* dan *Colletotrichum coccodes*. Ketiga sampel yang diujikan positif menghasilkan enzim selulase yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Fungi endofit penghasil enzim selulase terbesar adalah spesies *F. oxysporum* dengan angka 0,033 U/ml. Direkomendasikan untuk dilakukan penelitian terhadap bagian tanaman lain pada *P. betle*.

**Kata kunci:** Daun Sirih Hijau, Enzim Selulase, Fungi Endofit, Metabolit Sekunder, Tanaman Herbal

**Abstract:** Endophytic fungi were known in bioethanol industries due to their role in secreting secondary metabolites in the form of cellulolytic enzymes, which were known to be superior to bacteria. The secretion of metabolic enzymes depended on the host they invaded. Herbal plants were recognized as habitats for various endophytic fungi. Betel (*Piper betle* L.) was one such herbal plant known for its high metabolite content. The aim of this study was to identify endophytic fungi living on betel leaf isolated by Syaifudin (2018), conduct cellulolytic tests on the identified fungi, and determine which fungi exhibited the highest cellulolytic activity. The study successfully identified three species of endophytic fungi from betel leaf isolated by Syaifudin (2018) which were *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, and *Colletotrichum coccodes*. All three samples showed positive results, producing cellulase enzymes characterized by the presence of a clear zone around the colonies. *F. oxysporum* was identified as the highest producer of cellulase enzymes, with a concentration of 0,033 U/ml. It is recommended that research be conducted on other plant parts of *P. betle*.

**Keywords:** Betel Leaf, Cellulase Enzyme, Endophytic Fungi, Herbal Plants, Secondary Metabolites

Dikumpulkan: 27 Juni 2023 Direvisi: 20 September 2023 Diterima: 21 November 2023 Dipublikasi: 28 Desember 2023

### Pendahuluan

Fungi endofit dapat hidup di berbagai bagian tubuh tanaman misalnya akar, batang, daun, biji dan buah. Fungi endofit hidup intraseluler di dalam jaringan tanaman sehat yang menginduksi inang untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Uma & Saranya,

2018). Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh fungi endofit ini digunakan sebagai mekanisme resistensi dan pemecah karbohidrat dari tumbuhan inang sebagai sumber energi. Beberapa metabolit sekunder berupa enzim yang terdapat pada fungi endofit yaitu pectinase, selulase, lipase, laccase, xilanase, 4-glucanase,

phosphatase dan proteinase. Enzim hidrolitik ini dapat mendegradasi polisakarida (xilanase dan selulase) dan lignin (ligninase dan peroksidase) (Patil *et al.*, 2015).

Enzim hidrolitik seperti selulase biasanya ditemukan pada jenis fungi tanah dan mengkolonisasi tanaman. Selulase yang dapat menghidrolisis selulosa adalah multi enzim yang terdiri dari endo- $\beta$ -1,4-glucanases, exo- $\beta$ -1,4-glucanases dan  $\beta$ -glucosidases. Ketiga komponen ini bekerja secara sinergis menghidrolisis selulosa menjadi gula. Keberadaan enzim tersebut pada fungi endofit dapat menjadi alternatif untuk berbagai aplikasi industri (Shubha & Srinivas, 2017; Toghueo *et al.*, 2019). Fungi banyak digunakan pada produksi enzim karena memiliki harga yang rendah dengan produktivitas tinggi, tingkat produksi yang cepat dan kemungkinan modifikasi enzim yang mudah. Selulase biasa digunakan dalam produksi tekstil, kertas dan tisu, laundry dan detergent, pertanian, pengobatan dan industri makanan (Jayasekara & Ratnayake, 2019; Sari *et al.*, 2017).

Fungi yang dapat memproduksi enzim selulase adalah jenis *Filamentous Fungi* (fungi berfilamen) seperti *Aspergillus*, *Biosporus*, *Colletotricum*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Neurospora*, *Trichoderma*, *Penicillium* dan *Rhodotorula* (Syamsia *et al.*, 2019). Sebagian besar fungi selulolitik adalah anggota kelompok Ascomycota dan Basidiomycota dimana spesies *Trichoderma reesei* dan *Penicillium funiculosum* merupakan penghasil selulase yang banyak digunakan di industri secara komersial karena besarnya kapasitas enzim yang bisa dihasilkan. Deteksi dari keberadaan enzim ini menggunakan media yang diperkaya *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) yang ditandai dengan terbentuknya zona bening atau kekuningan disekitar koloni fungi (Gao *et al.*, 2018).

Tanaman herbal dikenal sebagai tempat hidup yang banyak disukai oleh fungi endofit. Salah satu tanaman herbal yang banyak terdapat di Indonesia adalah sirih hijau (*Piper betle* L.). *P. betle* merupakan anggota Piperaceae (Shah *et al.*, 2016). Beberapa fungi endofit yang ditemukan pada sirih hijau adalah *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Corynespora*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Drechslera*, *Fusarium*,

*Glomerella*, *Humicola*, *Lasiodiplodia*, *Pseudozyma*, *Rhodosporium*, *Rhodotorula* dan *Sporidiobolus* (Syaifudin, 2018; Thirumalai *et al.*, 2020).

Penelitian sebelumnya pada *Piper betle* telah berhasil diisolasi 28 isolat fungi endofit, akan tetapi belum diketahui fungi endofit yang dapat menghasilkan metabolit sekunder berupa enzim selulase didalamnya (Syaifudin, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui fungi endofit daun sirih hijau hasil isolasi yang dapat menghasilkan enzim selulase.

## Bahan dan Metode

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2020 – November 2020. Koleksi sampel fungi endofit sirih hijau diperoleh dari penelitian Syaifudin (2018). Pembuatan kultur, identifikasi serta pengujian fungi endofit dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan dan Laboratorium Bersama (FALITMA) Fakultas Biologi UGM.

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel fungi endofit dari sirih hijau (*Piper betle* L.), media *Potato Dextrose Agar* (PDA) 39 g/L, media *Cellulose Agar* (selulosa, NaNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, KCl, yeast extract, casein hydrolysat dan agar) media *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) (MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, KNO<sub>3</sub>, CMC, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, FeSO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, yeast extract, agar dan glukosa) *Congo Red* 0,1%, NaCl 1 M, ml DNS (3,5-Dinitro salicylic acid) alkohol 70% dan aquades.

### Metode Penelitian

#### Identifikasi Fungi Endofit Daun Sirih Hijau

Fungi endofit yang diperoleh dari penelitian Syaifudin (2018) dibiakkan menjadi kultur stok dengan cara menginokulasikan sedikit hifa dengan ose atau pinset dari setiap koloni endofit yang berbeda ke media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Morfologi fungi endofit kemudian diidentifikasi dibawah mikroskop cahaya meliputi warna koloni, struktur hifa, sporangiofor dan konidiana dengan

menggunakan buku petunjuk Watanabe (2002) dan jurnal pendukung lainnya.

### Seleksi Fungi Endofit Penghasil Selulase

Isolat fungi endofit diuji kemampuan selulolitik berdasarkan modifikasi metode *Congo Red* oleh Teather dan Wood (1982). Seleksi dilakukan dengan pengujian zona jernih (halo) menggunakan media CMC. Isolat fungi kemudian diinokulasikan dibagian tengah media dengan masa inkubasi selama 4 hari. Setelah inkubasi selesai, media ditambahkan *Congo red* 0,1% dan didiamkan selama 20 menit pada suhu ruang. Media direndam dengan NaCl 1 M selama 1 malam. Zona jernih yang terbentuk disekitar koloni isolat fungi menunjukkan produksi enzim selulase (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017).

Kemampuan produksi enzim selulase diestimasi dengan menghitung rasio diameter zona jernih dan koloninya

$$\text{Indeks Selulolitik} = \frac{\text{diameter zona bening}}{\text{diameter koloni}}$$

### Produksi Enzim Selulase Ekstrak Kasar

Isolat ditumbuhkan kembali dengan media cair CMC 1% dengan komposisi  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,02 gr,  $\text{KNO}_3$  0,075 gr, CMC 1 gr,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,05 gr,  $\text{FeSO}_4$  0,002 gr,  $\text{CaCl}_2$  0,004 gr, *yeast extract* 0,2 gr dan glukosa 0,1 gr. Isolat kemudian diubah menjadi ekstrak kasar dengan cara mengambil sebanyak 5 ml kultur kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 20 menit. Semua isolat dipanen secara berkala mulai hari pertama sampai hari ke sembilan. Enzim ekstrak kasar yang diambil adalah bagian supernatan untuk diukur aktivitas enzimnya (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017).

### Uji Aktivitas Enzim Selulase

Aktivitas enzim selulase diuji dengan mengukur kadar gula reduksi. Larutan sampel diperoleh dari 1 ml enzim ekstrak kasar ditambah dengan larutan CMC 1% dan diinkubasi pada suhu ruang selama 60 menit. Sampel ditambahkan 2 ml DNS dan dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 10 menit dan didinginkan. Setelah dingin, dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017).

Aktivitas enzim kemudian dianalisis dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas selulase } \left(\frac{\text{U}}{\text{ml}}\right) = \frac{\text{X sampel} \times \text{FP} \times 10^3}{t \times \text{BM glukosa}}$$

Keterangan:

FP (faktor pengenceran): 1000

t (waktu inkubasi) : 60 menit

BM glukosa : 180,18 mg/ml

### Hasil dan Pembahasan

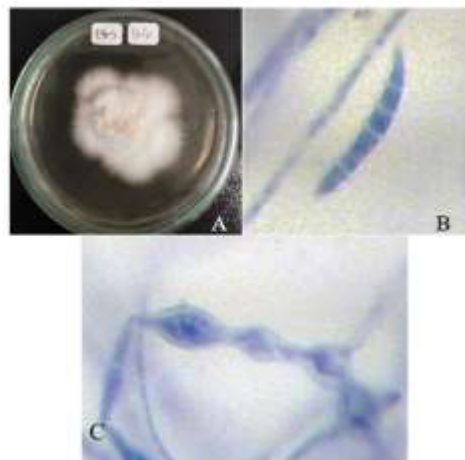
#### Hasil

##### Identifikasi Fungi Endofit

Dari 28 sampel fungi endofit asal daun sirih hijau yang di buat kultur, hanya tiga sampel yaitu isolat ES9, ES15 dan ES18 (Tabel 1) yang dapat dibuat stok kultur dan berhasil diidentifikasi sebagai *Fusarium graminearum* (Gambar 1), *Fusarium oxysporum* (Gambar 2) dan *Colletotrichum coccodes* (Gambar 3). Sebagian besar sampel tidak dapat tumbuh pada media atau sudah terkontaminasi bakteri. Ketidakmampuan sampel untuk tumbuh dapat disebabkan karena kultur sudah tersimpan lama sehingga hifa dan konidia saat subkultur sulit untuk tumbuh kembali, atau terjadinya kontaminasi sampel saat penyimpanan.

Tabel 1. Hasil identifikasi fungi endofit daun sirih hijau (*Piper betle* L.)

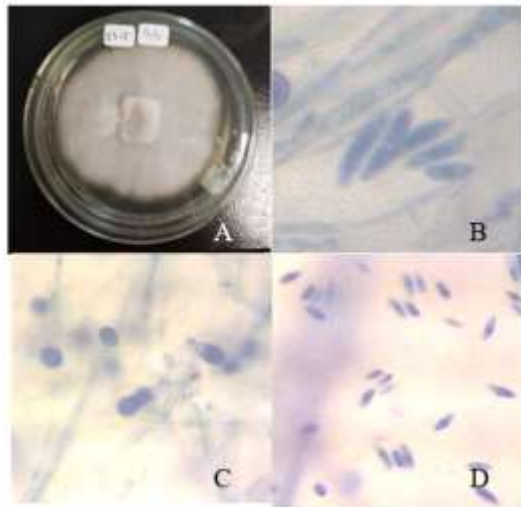
No	Kode Sample	Spesies
1.	ES9	<i>Fusarium graminearum</i>
2.	ES15	<i>Fusarium oxysporum</i>
3.	ES18	<i>Colletotrichum coccodes</i>



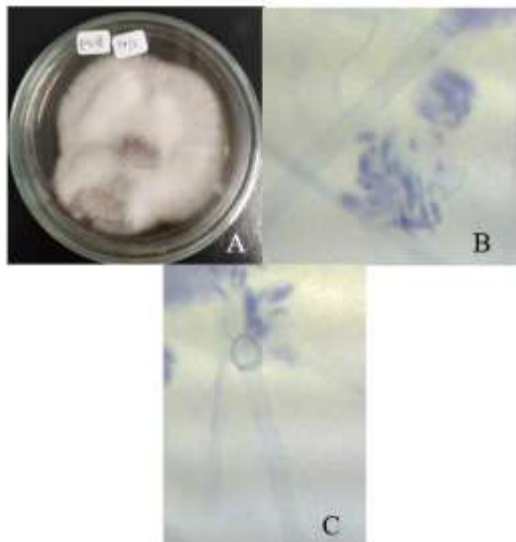
Gambar 1. *Fusarium graminearum*; A. Koloni pada media PDA, B. Makrokonidia (perbesaran 40x), C. Klamidospora (perbesaran 40x)

### Seleksi Fungi Endofit Penghasil Selulase

Fungi endofit hasil identifikasi kemudian diuji dengan media CMC yang ditambah dengan pewarna *Congo Red*.



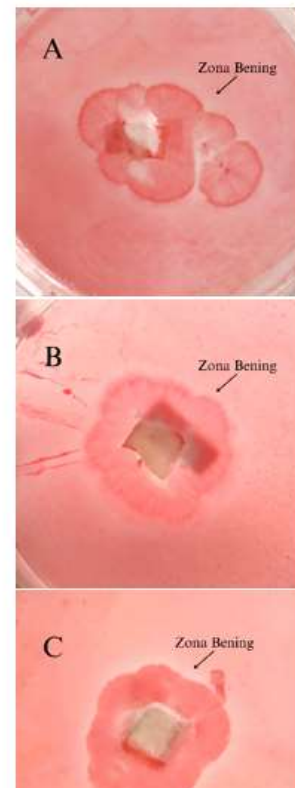
Gambar 2. *Fusarium oxysporum*; A. Koloni pada media PDA, B. Makrokonidia (perbesaran 40x), C. Klamidospora (perbesaran 40x), D. Mikrokonidia (perbesaran 40x)



Gambar 3. *Colletotrichum coccodes*; A. Koloni pada media PDA, B. Mikrokonidia (perbesaran 40x), C. Appressoria (perbesaran 40x)

Dari hasil pengujian *Congo red* diketahui bahwa ketiga isolat dapat menghasilkan enzim selulase yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni (Gambar 4). Indeks selulolitik tertinggi dimiliki oleh *Fusarium oxysporum* sebesar 1,17 cm diikuti oleh *Colletotrichum coccodes* sebesar 1,07 cm dan *Fusarium graminearum* sebesar

1,06 cm (Tabel 2).



Gambar 4. Hasil uji *Congo Red* dalam media CMC menunjukkan terdapat zona bening; A. *Fusarium graminearum*, B. *Fusarium oxysporum*, C. *Colletotrichum coccodes*

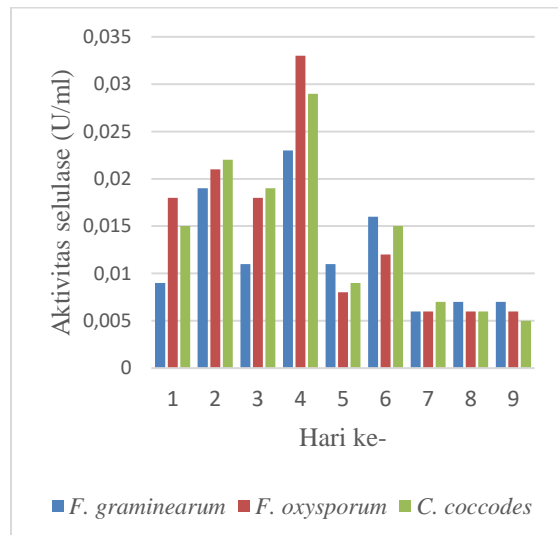
Tabel 2. Indeks selulolitik fungi endofit daun sirih hijau (*Piper betle* L.)

Spesies	Diameter zona bening (cm)	Diameter koloni (cm)	Indeks selulolitik (cm)
<i>Fusarium graminearum</i>	5,4	5,1	1,06
<i>Fusarium oxysporum</i>	3,4	2,9	1,17
<i>Colletotrichum coccodes</i>	3,1	2,9	1,07

### Uji Aktivitas Selulolitik dengan Metode Kuantitatif

Aktivitas selulolitik ketiga sampel diujikan dengan prinsip gula pereduksi dan penambahan DNS digunakan sebagai marker. Dari Gambar 5, didapat bahwa *Fusarium oxysporum* memiliki aktivitas tertinggi yaitu 0,033 U/ml pada hari ke-4 yang menunjukkan aktivitas selulase paling tinggi untuk tiap sampel

yang diuji. *Fusarium graminearum* memiliki aktivitas selulase yang relatif lebih rendah dibanding sampel lain dari hari kesatu sampai hari kesembilan dengan aktivitas tertinggi pada hari keempat sebesar 0,023 U/ml.



Gambar 5. Grafik uji aktivitas selulase per hari secara kuantitatif

## Pembahasan

### Identifikasi Fungi Endofit

Pengamatan morfologi sampel dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik setelah 7 hari. Hasil pengamatan ketiga sampel dapat dijelaskan sebagai berikut:

Warna koloni pada isolat ES9 (Gambar 1) pada media PDA terlihat putih dengan bentuk yang *irregular*. Makrokonidia berbentuk *lunar*/kapal dengan ujung melengkung, mikrokonidia tidak terlihat, terdapat klamidospora berantai empat globula. Ciri-ciri tersebut sesuai dengan identifikasi pembanding yaitu dalam Watanabe (2002) dan Infantino *et al.* (2023) adalah *Fusarium graminearum*.

*Fusarium graminearum* merupakan fungi yang dikenal dalam menginfeksi tanaman sereal (*cereal crops*) termasuk gandum, jagung, padi dan jelai. Jenis penyakit yang terkenal yaitu *Fusarium Head Blight* (Ponte *et al.*, 2022). *Fusarium graminearum* juga ditemukan bersifat endofit pada beberapa jenis rerumputan seperti *Panicum virgatum*, *Hordeum jubatum*, *Elymus virginicus*, *E. villosus* dan *E. canadensis* (Lofgren *et al.*, 2017).

Pada isolat ES15 (Gambar 2), terlihat

warna koloni kemerahan dengan bentuk circular makrokonidia berbentuk lunar, berseptata 2-3. Mikrokonidia oval tidak berseptata. Klamidospora terlihat tunggal maupun sepasang. Koloni pada PDA berwarna keunguan. Karakter morfologi sesuai dengan Watanabe (2002) dan Infantino *et al.* (2023) tentang morfologi dari *Fusarium oxysporum*.

Spesies *Fusarium oxysporum* merupakan spesies kompleks yang secara genetik dan fenotipik memiliki jangkauan ekosistem yang luas. Namun, kebanyakan penelitian fokus pada strain patogen yang menyerang tanaman penting dalam agrikultur dan hortikultur (Kang *et al.* 2014). *Fusarium oxysporum* juga dilaporkan merupakan fungi endofit pada tanaman kina (*Cinchona calisaya*), *Ginkgo biloba*, *Chromolaena odorata* dan *Rhizophora annamalayana* (Toghueo, 2019).

Isolat ES18 dalam media PDA (Gambar 3) menunjukkan koloni berwarna putih dengan konidia oval berkelompok. Terdapat appressoria di ujung hifa. Appressoria merupakan alat atau struktur yang secara khusus terbentuk untuk menginfeksi inang (Webster & Weber, 2007).

Struktur morfologi tersebut sesuai dengan karakteristik *Colletotrichum coccodes* (Watanabe, 2002). Spesies *Colletotrichum coccodes* dikenal luas sebagai penyebab dari penyakit *Black Dot* pada tanaman kentang. *Colletotrichum coccodes* dapat menyerang bagian tanaman berupa umbi, akar, batang hingga daun (Lees & Hilton, 2003). *Colletotrichum coccodes* ditemukan bersifat endofit pada tumbuhan *Houttuynia cordata* (Talukdar *et al.*, 2021).

### Seleksi Fungi Endofit Penghasil Selulase

Seleksi fungi endofit penghasil selulase dilakukan dengan pengujian zona jernih (halo) menggunakan media CMC dengan pewarnaan *Congo Red* 0,1%.

Medium CMC digunakan untuk identifikasi aktivitas hidrolisis selulosa menjadi glukosa melalui endoglukanase atau sering disebut juga CMCcase. Menurut Chao *et al.* (2006), pemberian pewarna *Congo Red* pada pengujian degradasi selulosa berfungsi sebagai pendeteksi zona reduksi dari selulosa yang terdapat pada media pertumbuhan.

Hasil pengujian didapatkan ketiga sampel positif memiliki zona bening (halo) yang terlihat



disekitar koloni (Gambar 4). Dalam penelitian lainnya disebutkan bahwa *Fusarium graminearum* (Davilla *et al.*, 2022, Kikot *et al.*, 2010) dan *Fusarium oxysporum* (Onofre, 2013), diketahui dapat menghasilkan enzim selulase, sedangkan *Colletotrichum coccodes* belum pernah dilaporkan menghasilkan enzim selulase.

Klasifikasi indeks selulolitik (IS) dibagi menjadi tiga golongan yaitu apabila nilai IS <1 tergolong rendah, apabila  $1 > IS < 2$  tergolong sedang sedangkan  $IS > 2$  tergolong tinggi (Sutari, 2020). Ketiga sampel yang diuji tergolong kedalam kelompok sedang karena memiliki indeks selulolitik lebih dari satu dan kurang dari dua. Ketiga sampel positif zona bening kemudian diujikan secara kuantitatif dengan spektrofotometer untuk melihat besar aktivitas selulolitik.

### Uji Aktivitas Selulolitik dengan Metode Kuantitatif

Aktivitas selulolitik diuji dengan prinsip gula pereduksi. Ciri gula reduksi adalah ketersediaan gugus aldehid dan keton pada monosakarida yang mampu mereduksi senyawa pengoksidasi. DNS (3,5-Dinitro salicylic acid) digunakan dalam campuran yang akan bereaksi dengan gugus aldehid membentuk 3-amino-5-dinitrosalisilat berwarna jingga kemerahan. Warna tersebut dibaca secara kuantitatif menggunakan kolorimetrik yaitu spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017).

Gambar 5 menunjukkan bahwa aktivitas selulase paling tinggi untuk tiap sampel berada pada hari ke-4. Sampel *Fusarium oxysporum* memiliki aktivitas selulase paling tinggi yaitu 0,033 U/ml pada hari ke-4. Hasil ini sesuai dengan uji kualitatif dimana *Fusarium oxysporum* memiliki aktivitas selulase tertinggi dibandingkan dengan sampel lainnya. Diketahui *Fusarium oxysporum* dapat memproduksi bioetanol dengan degradasi selulase. Dalam penelitian Dutta *et al.* (2018) *Fusarium oxysporum* dilaporkan dapat menghasilkan CMCase hingga 0,445 IU/ml.

Pada penelitian Onofre (2013), *Fusarium oxysporum* memiliki aktivitas selulolitik hingga  $55.21 \pm 10.54$  IU/g pada fermentasi hari ke-55 dan suhu 28°C. Angka ini menunjukkan perbedaan yang cukup signifikan dengan hasil percobaan. Kemungkinan tanah

yang diisolasi mengandung banyak serasah sehingga kandungan selulosa lebih banyak. Hal ini berkaitan dengan kemampuan fungi merombak selulase pada substrat. Fungi perombak selulase (lignoselulase secara keseluruhan) dapat mendekomposisi dan mengasimilasi polimer organik yang susah terurai karena cara hidupnya yang adaptif (Andlar *et al.*, 2018).

*Fusarium graminearum* diketahui dapat menghasilkan enzim selulase hingga 0,243 U/ml pada penelitian Davilla *et al.* (2022). Pada penelitian *Fusarium graminearum* yang diisolasi dari wilayah kaya akan gandum dapat menghasilkan aktivitas selulolitik hingga 320-330 mU/mL pada hari ketujuh hingga kesembilan (Kikot *et al.*, 2010). Isolat ES9 digunakan juga pada penelitian Syaifudin & Kasiamdari (2022) yang menunjukkan *Fusarium graminearum* mampu menghambat patogen penyebab layu Fusarium pada cabai dengan mekanisme kompetisi sebesar 65,1% pada metode *dual culture* secara *in vitro*. *Colletotrichum coccodes* memiliki aktivitas tertinggi pada hari keempat sebesar 0,029 U/ml. Spesies ini belum pernah ditemukan menghasilkan enzim selulase pada penelitian lainnya.

Aktivitas selulase secara kuantitatif menunjukkan bahwa ketiga sampel mengalami kenaikan jumlah aktivitas enzim dari hari pertama hingga keempat, namun mengalami penurunan setelah hari kelima. Penurunan aktivitas selulase setelah hari keempat kemungkinan disebabkan oleh ketidakmampuan fungi memproduksi salah satu dari ketiga enzim yang digunakan dalam hidrolisis glukosa yaitu: endo- $\beta$ -1,4-glucanases, exo- $\beta$ -1,4-glucanases dan  $\beta$ -glucosidases. Ketiga komponen ini bekerja secara sinergis menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Enzim endo- $\beta$ -1,4-glucanases berperan memotong rantai selulosa secara random kemudian enzim exo- $\beta$ -1,4-glucanases menyerang rantai yang terbuka tersebut menghasilkan selo-oligosakarida. Rantai selo-oligosakarida dipecah kembali oleh exo- $\beta$ -1,4-glucanases menghasilkan selobiosa. Terakhir, selobiosa akan dihidrolisis oleh  $\beta$ -glucosidases menghasilkan glukosa (Jayasekara & Ratnayake, 2019; Murtiyaningsih & Hazmi, 2017).

## Kesimpulan

Fungi endofit hasil isolasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) berhasil diidentifikasi sebagai *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum* dan *Colletotrichum coccodes*. Ketiga jenis fungi tersebut dapat menghasilkan enzim selulase dengan aktivitas selulase tertinggi adalah *Fusarium oxysporum* sebesar 0,033 U/ml.

## Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala dan Staf Laboratorium Sistematika Tumbuhan dan FALITMA Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada atas fasilitas yang disediakan, serta saudara Andang Syaifudin yang telah menyediakan isolat fungi endofit. Artikel ini merupakan bagian dari skripsi DSH di bawah bimbingan RSK.

## Referensi

- Andlar, M., Rozic T., Mardetko, N., Kracher, D., Ludwig, R. and Santek, B., 2018. Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. *Engineering in Life Sciences*. 0:1-11.
- Chao, Z., Yanbin L., Lei, Z., Qin, Z. & Shiqing, W., 2006. Study on transition mechanism of congo--red in cellulase--producing fungi medium Wei Sheng wu xue Tong bao. *Microbiology*.33(6):12-16.
- Dutta, S.d., Trafder, M., Islam R. & Datta, B., 2018. Characterization of cellulolytic enzymes of *Fusarium* soil Isolates. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 14:279-285. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.03.011>
- Davilla, J.C., Perez, J.V., Castillo, D.S & Diez, N., 2022. *Fusarium graminearum* as a producer of xylanases with low cellulases when grown on wheat bran. *Biotechnology Reports*. 35(e00738):1-7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00738>.
- Gao, F., Hao, Z., Sun, X., Qin, L., Zhao, T., Liu, W., Luo, H., Yao, B. & Su, X., 2018. A versatile system for fast screening and isolation of *Trichoderma reesei* cellulase hyperproducers based on DsRed and fluorescence-assisted cell sorting. *Biotechnology for Biofuels*. 11(261):1-13. doi: <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1264-z>.
- Infantino, A., Grottoli, A., Bergamasc, V., Oufensou, S., Burgess, L.W. & Balmas, V., 2023. FusaHelp: a web site program for the morphological identification of *Fusarium* species. *Journal of Plant Pathology*.105:429-436.
- Infantino, A., Grottoli, A., Bergamasc, V., Oufensou, S., Burgess, L.W. & Balmas, V., 2023. FusaHelp. *Ewa-Belt Project*. <https://www.fusahelp.com/>
- Jayasekara, S. and Ratnayake, R., 2019. Microbial Cellulase: An overview and application. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.84531. <https://www.intechopen.com/chapters/66517> (Accessed on June 26, 2023).
- Kang, S., Demers, J. & Rep, M., 2014. *Genomics of Plant-Associated Fungi and Oomycetes: Dicot Pathogens*. Springer-Verlag:Berlin. 99-119. DOI: 10.1007/978-3-662-44056-8-5.
- Kikot, G.E., Hours, R.A. & Alconada, T.M., 2010. Extracellular Enzymes of *Fusarium graminearum* Isolates. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 4(53):779-783.
- Lees, A.K and Hilton, A.J., 2003. Black dot (*Colletotrichum coccodes*): an increasingly important disease of potato. *Plant Pathology*. 52:3-12.
- Lofgren, L.A, LeBlanc, N.R., Certano, A.M., Nachtigall, J., LaBine, K.M., Riddle, J., Broz, K., Bethan, B., Kafer, C.W. & Kistler, H.C., 2017. *Fusarium graminearum*: pathogen or endophyte of North American grasses?. *New Phytologist*. 217(3):1203-1212.

- Murtiyaningsih, H. and Hazmi, M., 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Agritop*. 15(2):293-308.
- Onofre, S.B., Mattiello, S.P., Silva, G.C Groth, D. & Malagi, I., 2013. Production of Cellulases by the Endophytic Fungus *Fusarium oxysporum*. *Journal of Microbiology Research*. 3(4):131-134.
- Patil, P.G., Pagare, J., Patil, S.N. & Sidhu, A.K., 2015. Extracellular enzymatic activities of endophytic fungi isolated from various medicinal plants. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. 4(3):1035-1042.
- Ponte, E.M.D., Moreira, G.M., Ward, T.J., O'Donnell, K., Nicolli, C.P., Mchado, F.J., Duffeck, M.R., Alves, K.S., Tessmann, D.J., Waalwijk, C., Zhang, T.i.H., Chulze, S.N., Stenglein, S.A., Pan, D., 2022. *Fusarium graminearum* Species Complex: A Bibliographic Analysis and Web-Accessible Database for Global Mapping of Species and Trichothecene Toxin Chemotypes. *Phytopathology* 112:741-751.
- Sari, S.L.A, Ningsih, R.S., and Wibowo, N.F.A., 2017. Isolation and screening of cellulolytic fungi from *Salacca zalacca* leaf litter. *Biodiversitas*. 18(3):1282-1288.
- Shah, S.K., Garg, G., Jhade, D. and Patel, N., 2016. *Piper betle*: Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Value in Health Management. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 38(2):181-189.
- Shubha, J. and Srinivas, C., 2017. Diversity and extracellular enzymes of endophytic fungi associated with *Cymbidium aloifolium* L. . *African Journal of Biotechnology*. 16(48):2248-2258.
- Sutari, N.W.S., 2020. Isolasi dan Identifikasi Morfologi Jamur Selulolitik dari Limbah Rumah Tangga di Desa Sanur Kauh, Bali. *Agrovigor: Jurnal Agroteknologi*. 13(2):100-105.
- Syaifudin, A., 2018. Fungi endofit daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai agen biokontrol penyakit layu fusarium pada cabai (*Capsicum annuum* L.). Master Thesis, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia.
- Syaifudin, A., and Kasiamdari, R.S. 2022. The inhibition of *Fusarium* wilt in Chilli by endophytic fungi isolated from Green Betel (*Piper betle* L.) leaf. *Journal of Natural Sciences and Mathematics Research*. 8(2): 84-93.
- Syamsia, S., Idhan, A., Hakim, I., Patappari & Noerfitriyani, 2019. Screening Endophytic Fungi from Local Rice for Lignocellulolytic Enzyme Production. *1<sup>st</sup> International Conference on Science and Technology. ICOST*. doi:10.4108/eai.2-5-2019.2284633.
- Talukdar, R., Padhi, S., Rai, A.K., Evidente, A., Jha, D.K., Cimmino, A. & Tayung, K., 2021. Isolation and Characterization of an Endophytic Fungus *Colletotrichum coccodes* Producing Tyrosol From *Houttuynia cordata* Thunb. Using ITS2 RNA Secondary Structure and Molecular Docking Study. *Frontiers Open Access*. doi:<https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.650247>. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2021.650247/full> (Accessed on June 26, 2023).
- Teather, R.M & Wood, P.J., 1982. Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology*. 43(4):777-780. doi: 10.1128/aem.43.4.777-780.1982.
- Thirumalai, E., Venkatachalam, A. & Suryanarayanan, T.S., 2020. Fungal endophytes of betel leaves: the need to study mycotoxin-producing endophytes in leafy vegetables. *Sydowia*. 73:83-88.



Toghueo, R.M.K., 2019. Bioprospecting endophytic fungi from *Fusarium* genus as sources of bioactive metabolites. *Mycology*. 11(1):1-21.

Uma, M.N. dan Saranya, P. 2018. Isolation and identification and phytochemical screening of endophytes from medicinal plants. *International Journal of Biology Research*. 3(1):16-24.

Watanabe, T., 2002. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi*. CRC Press:Florida.

Webster, J. and R.W.S. Weber. 2007. *Introduction to Fungi*. Cambridge University Press, New York.