

Uji Aktivitas Enzim Kitinase *Trichoderma virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 Endofit Lokal Riau sebagai Agens Hayati terhadap *Ganoderma* sp. Pat. Penyebab Busuk Batang Atas (*Upper Stem Rot*) Kelapa Sawit

Chitinase Activity Test of *Trichoderma virens* LBKURCC71 and LBKURCC85 Local Endophytic of Riau as Biological Agents against *Ganoderma* sp. Pat. Causes of *Upper Stem Rot* in Palm Oil

Agil Juansyah¹, Fifi Puspita², Titania T. Nugroho³

¹ Mahasiswa Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Pekanbaru, 28293

² Dosen Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Pekanbaru, 28293

³ Dosen Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, 28293

Email korespondensi: agil.joeansyah@gmail.com

ABSTRAK

Busuk batang atas (BBA) merupakan salah satu penyakit yang menjadi permasalahan dalam budidaya kelapa sawit dan mengganggu pertumbuhan serta menurunkan produksi tandan buah segar. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas kitinase produksi jamur *Trichoderma virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit dan potensinya sebagai agens pengendalian hayati terhadap *Ganoderma* sp. secara kualitatif. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Riau dan Laboratorium Riset Enzim, Fermentasi dan Biomolekuler Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau dan dilaksanakan pada bulan April hingga Mei 2019. Penelitian dilakukan secara observasi dan terdiri dari uji aktivitas enzim kitinase pada jamur *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit secara kualitatif menggunakan metode Zona Bening, dan uji hiperparasit *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 terhadap *Ganoderma* sp. Data dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk gambar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji kualitatif pada media PDA dan kitin membuktikan bahwa *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 dapat menghasilkan kitinase. Tipe hiperparasitik masing-masing isolat jamur *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit terhadap *Ganoderma* sp. adalah pelilitan lisis dinding sel patogen oleh kerja kitinase.

Kata kunci: *Trichoderma virens*, *Ganoderma*, Kitinase, Hiperparasit, Jamur Endofit

ABSTRACT

Upper stem rot (UPR) is one of the diseases that are a problem in oil palm cultivation and disrupt growth and reduce the production of fresh fruit bunches. This research was conducted to determine the chitinase activity production of *Trichoderma virens* LBKURCC71 and LBKURCC85 endophytic and their potential as biological control agents against *Ganoderma* sp. qualitatively. The research was conducted at the Laboratory of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Universitas Riau and Laboratory of Enzymes, Fermentation and Biomolecular Research, Faculty of Mathematics & Natural Sciences, Universitas Riau and conducted from April to May 2019. The research was carried out observation and consisted of test of chitinase enzyme activity on fungi *T.virens* endophytic LBKURCC71 and LBKURCC71 qualitatively using the Clear Zone method, and the hyperparasitic test *T. virens* LBKURCC71 and LBKURCC85 against *Ganoderma* sp. The data were analyzed descriptively and presented in form of figures. The results showed that qualitative tests on PDA and chitin media proved that *T. virens* LBKURCC71 and LBKURCC85 could produce chitinase. Hyperparasitic type of each fungal isolate *T. virens* LBKURCC71 and LBKURCC85 endophytic against *Ganoderma* sp. is the twist and continued lysis in cell wall by chitinase activities.

Keywords : *Trichoderma virens*, *Ganoderma*, chitinase, hyperparasitic, endophytic fungi

PENDAHULUAN

Busuk batang atas (BBA) merupakan salah satu penyakit yang menjadi permasalahan dalam budidaya kelapa sawit. Penyakit ini dapat mengganggu pertumbuhan dan menurunkan produksi tanaman di lapangan. Gejala dini penyakit BBA sukar dideteksi karena perkembangan penyakit sangat lambat. Gejala dapat dilihat apabila sudah gejala lanjut atau sudah membentuk tubuh buah. Penyakit ini telah menyebabkan kematian kelapa sawit di beberapa perkebunan Indonesia salah satunya yakni di Riau.

Menurut data Dinas Perkebunan Provinsi Riau (2014) *Ganoderma boninense* telah menyerang perkebunan kelapa sawit warga seluas 533,8 ha dan yang terluas adalah Kampar yaitu 211 ha serta luas areal

tanaman Tua atau Rusak (TTR) mencapai 36,551 ha dari total luas areal populasi tanaman kelapa sawit 2,424,545 ha. Penularan busuk batang biasanya terjadi di rizhosfer, akan tetapi penelitian Susanto *et al.* (2013) membuktikan bahwa setelah didiagnosis secara molekuler penyebab penyakit dengan gejala BBA kelapa sawit adalah *Ganoderma boninense*. BBA mencapai lebih dari 35% di kebun Tanjung Selamat dengan kejadian penyakit tertinggi sebesar 63%. Hal ini menunjukkan bahwa penyakit BBA disebarkan melalui basidiospora melalui udara (Flood *et al.*, 2002).

Pengendalian penyakit BBA masih perlu dikaji secara mendalam, hal ini dikarenakan pengelolaan busuk batang atas kelapa sawit masih sangat minim kajiannya. Jika dilakukan secara kultur teknis, varietas tahan, dan secara kimia

kurang efisien dilakukan, mengingat penyebaran basidiospora *Ganoderma* sp. melalui angin dan serangga. *Ganoderma* sp. juga mempunyai kemampuan mempertahankan diri dari kondisi yang ekstrim dalam bentuk struktur istirahat, dan juga bersifat endofit karena berada dalam jaringan tanaman. Upaya dalam mengatasi permasalahan tersebut diperlukan suatu pengendalian terhadap penyakit BBA secara hayati yang berasal dari jaringan tanaman yang dilakukan oleh mikroorganisme endofit yaitu *Trichoderma virens* endofit. Menurut Vinale *et al.* (2008) bahwa mekanisme antagonis yang dilakukan *T. virens* adalah berupa kompetisi hidup, parasitisme, antibiosis dan lisis. *Trichoderma* sp. memiliki kemampuan mengeluarkan enzim hidrolitik seperti kitinase, protease dan β -glukanase jika dalam medium tumbuh diberikan kitin, glukukan atau laminarin.

Kitinase adalah enzim yang dapat mendegradasi kitin dan banyak dimanfaatkan sebagai agens pengendalian hayati terutama bagi tanaman yang terinfeksi jamur yang dinding selnya mengandung kitin (Hamid *et al.*, 2013). Mekanisme enzim kitinase sebagai antijamur terkait dengan adanya kitin pada komponen dinding sel pada tanaman. Kitinase dapat menghidrolisis kitin pada dinding sel jamur, sehingga jamur akan mati (Dewi, 2008). Penggunaan kitinase telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Yurnaliza *et al.* (2011) menggunakan kitinase *Streptomyces* RKt5 bersifat antijamur dan mampu melisiskan dinding sel dari potongan miselium jamur *Fusarium oxysporum*.

Berdasarkan uraian diatas, kajian pengendalian busuk batang atas secara hayati menggunakan *T. virens*

endofit lokal Riau masih belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penulis telah melakukan penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Enzim Kitinase *Trichoderma virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 Endofit Lokal Riau sebagai Agens Hayati terhadap *Ganoderma* sp. Pat. Penyebab Busuk Batang Atas (*Upper Stem Rot*) Kelapa Sawit”

METODOLOGI

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Riau dan Laboratorium Riset Enzim, Fermentasi dan Biomolekuler Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau, Kampus Bina Widya km 12,5 Kelurahan Simpang Baru, Kecamatan Tampan, Pekanbaru, Riau. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga Mei 2019.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *T. virens* endofit dan *Ganoderma* sp Pat. Akuades, kentang, glukosa, agar batang, *chitin shirmp shell*, Kolodial Kitin, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , NH_4Cl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, agar, Congo red 0,1%, NaCl 2%, dan bahan-bahan kimia lainnya yang digunakan sesuai prosedur kerja di Laboratorium.

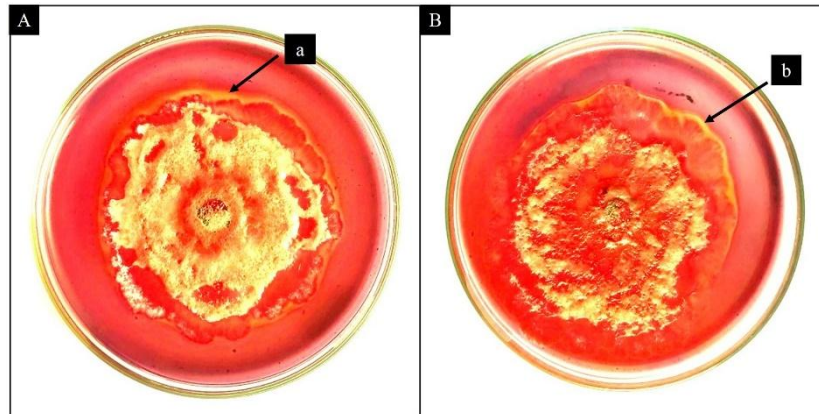
Alat yang digunakan dalam penelitian adalah, Autoklaf, Erlenmeyer, magnetik stirer, jarum ose, cawan petri, neraca analitik, botol semprot, laminar air flow cabinet, lemari pendingin, berbagai peralatan standar lainnya yang sesuai dengan prosedur kerja di laboratorium. Data aktivitas enzim kitinase secara kualitatif dan aktivitas hiperparasitisme dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Enzim Kitinase Secara Kualitatif

Hasil pengamatan secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat jamur *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit dalam

menunjukkan adanya enzim kitinase dengan metode Zona Bening ketika dibiakkan dalam medium yang mengandung koloid kitin 0.3%.



Gambar 1. Zona bening isolat fungi *Trichoderma virens* endofit (A) LBKURCC71 (B) LBKURCC85, (a dan b = Zona Bening yang terbentuk) (Dokumentasi pribadi)

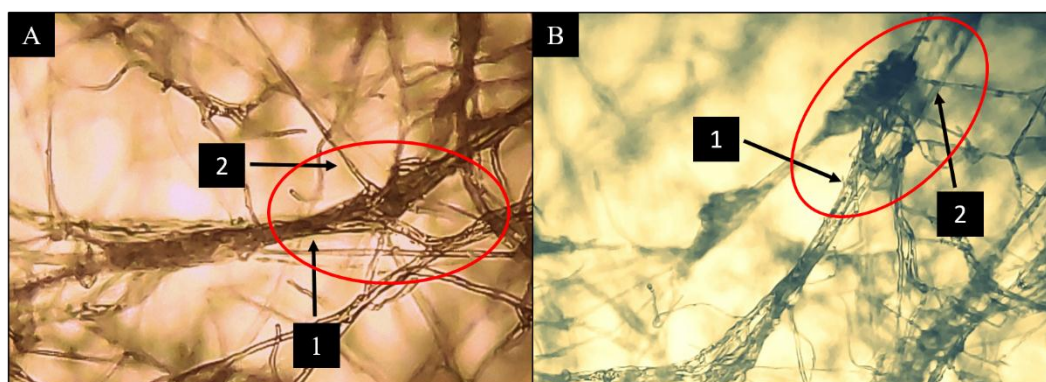
Pada Gambar 1 dapat diketahui bahwa jamur *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit menghasilkan enzim kitinase, hal ini dibuktikan dengan adanya zona bening yang terbentuk disekitar isolat *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit. Kitin yang terkandung di dalam media didegradasi oleh jamur *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit dan divisualisasikan dengan penambahan *Congo red* 0,1%.

Penambahan pelarut *Congo red* 0,1% berfungsi sebagai pewarna medium, sehingga zona bening terlihat jelas. *Congo red* 0,1% akan bergabung dengan ikatan glikosida yang berada di dalam media yang mengandung koloid kitin 0,3%, selanjutnya kitinase yang dihasilkan akan memutus ikatan glikosida tersebut sehingga terbentuk zona bening di sekitar koloni fungi (Yoon

et al., 2007). Bagian media agar kitin yang terhidrolisis oleh enzim kitinase tidak akan terwarnai oleh *Congo red*, karena pada zona ini mengandung N-asetil-D-glukosamin yang tidak memiliki ikatan β -1,4 sehingga larutan *Congo red* tidak berikatan (Downie et al., 1994). Pembilasan dengan akuades dan NaCl digunakan untuk melunturkan *Congo red* terutama di daerah sekitar koloni yang mengandung gula reduksi sehingga terlihat zona bening (Sumardi, 2004).

Tipe Hiperparasitik *Trichoderma virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit terhadap *Ganoderma* sp Pat.

Tipe hiperparasitik jamur *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit terhadap jamur *Ganoderma* sp. Pat. memiliki interaksi yang sama berdasarkan uji hiperparasitisme. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Interaksi hiperparasitik jamur *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit terhadap jamur *Ganoderma* sp Pat. a) Isolat *Trichoderma virens* LBKURCC71 endofit, b) Isolat *T. virens* LBKURCC85 endofit, (1 = hifa jamur *Ganoderma* sp Pat., 2 = hifa jamur *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit)

Isolat *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit pada Gambar 2 memiliki interaksi berupa pelilitan hifa jamur *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit terhadap *Ganoderma* sp Pat. yang diamati pada hari ke-5. Pelilitan merupakan salah satu tahap interaksi hifa jamur antagonis dengan hifa patogen. Menurut Berlian *et al.* (2013) hifa *Trichoderma* spp. tumbuh memanjang, kemudian membelit dan mempenetrasi hifa jamur inang sehingga hifa inang mengalami vakoulasi, lisis dan akhirnya hancur. Hifa *Ganoderma* sp. Pat. dan *Trichoderma virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit memiliki ukuran yang berbeda. Ukuran hifa *Ganoderma* sp. Pat. lebih besar dibandingkan dengan *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit. Hal ini didukung pendapat Alexander (2015) dan Kubicek dan Harman (1998) bahwa ukuran diameter hifa *G. boninense* sebesar 10 μm dan *Trichoderma* spp. 2 - 10 μm .

Hasil penelitian Sudarma dan Suprpta (2011) menyatakan bahwa jamur *T. harzianum* mampu

menghasilkan enzim kitinase, β -1,3-glukanase, β -1,4-glukanase dan lipase yang dapat memecah senyawa kitin, glukon dan lipid dari dinding sel jamur patogen. Menurut Harjono dan Widyastuti (2001), *Trichoderma* spp. melakukan penetrasi ke dalam dinding sel inang dengan bantuan enzim pendegradasi dinding sel yaitu kitinase, glukonase, dan protease, selanjutnya menggunakan isi hifa inang sebagai sumber makanan.

KESIMPULAN

1. Uji kualitatif pada media PDA dan kitin membuktikan bahwa *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 dapat menghasilkan kitinase.
2. Tipe hiperparasitik masing-masing isolat jamur *T. virens* LBKURCC71 dan LBKURCC85 endofit terhadap *Ganoderma* sp. Pat. adalah pelilitan.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui adanya aktivitas enzim glukonase yang berguna dalam pengendalian hayati.

DAFTAR PUSTAKA

- Dinas Perkebunan Provinsi Riau. 2014. Tanaman Perkebunan Riau 12.384,85 Hektar Diserang Hama. Antara Riau.com. Diakses Pada Tanggal 9 Maret 2015.
- Alexander, A. Jedol Dayou and Khim-Phin Chong. 2015. Morphological changes of *Ganoderma boninense* mycelia after challenged by *Trichoderma* and *Bacillus*. *Conference Paper*. DOI: 10.1063/1.4919213
- Berlian, I. B. Setyawan dan H. Hadi. 2013 Mekanisme antagonis *Trichoderma* sp. terhadap beberapa patogen tular tanah. *Jurnal Warta Perkaretan* 32(2). 74-82
- Dewi, Iche Marina. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Kitinase Termofilik Kasar Dari Sumber Air Panas Tinggi Raja, Simalungun Sumatera Utara. Tesis (Tidak dipublikasikan). Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Downie B, Hilhorst HWM, Bewley JD. 1994. A New Assay for Quantifying Endo- β -D-mannanase Activiying using congo red dye. *Phytochemistry* 36: 829-835.
- Flood J, Hasan Y, Foster H. 2002. *Ganoderma* diseases of oil palm—an interpretation from *Bah Lias Research Station. Planter*. 78:689–710.
- Hamid R, Khan MA, Ahmad M, Ahmad MM, Abdin M Z, Musarrat J, Javed S. 2013. Chitinases: an update. *J Pharm Bioallied Sci*. DOI: 10.4103/0975-7406.106559
- Harjono & Widyastuti, S.M. 2001. Antifungal activity of purified endochitinase produces by biocontrol agent *Trichoderma reesei* against *Ganoderma philippii*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4(10): 1232-1234.
- Harman, G. E. & C. P. Kubicek. (1998). *Trichoderma and Gliocladium*, Vol. 2. Enzymes, Biological Control and Commercial Applications. Taylor and Francis, London, UK
- Sudarma, I. M. dan Suprpta D. N. 2011. Potensi jamur antagonis yang berasal dari habitat tanaman pisang dengan dan tanpa gejala layu fusarium untuk mengendalikan *Fusarium oxysporum* .sp. Cubense secara *in vitro*. *The Excellence Research Universitas Udayana*, 161-166.
- Sumardi. 2004. Isolasi, Karakterisasi, dan Produksi β -mannanase Ekstraseluler dari *Geobacillus stearothermophilus* 1-07 [disertasi]. Bogor: Prog Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Susanto A, A.E. Prasetyo, S. Wening. 2013. Laju infeksi *Ganoderma* pada empat Kelas tekstur tanah. *J Fitopatologi Indonesia*. 9(2):39-46. DOI: <http://dx.doi.org/10.14692/jfi.9.2.39>.

- Vinale F, K Sivasithamparam, EL Ghisalberti, R Marra, SL Woo, dan M Lorito, 2008. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. Review Article. *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 1-10.
- Yoon, J. H., Park, . E., Suh, D. Y., Hong, S. B., Ko, S. J., & Kim, S. H. (2007). Comparison of dyes for easy detection of extracellular cellulases in fungi. *Mycobiology*, 35(1), 21-24.
- Yurnaliza, S. Margino, L. Sembiring. 2011. Kemampuan kitinase *Streptomyces* RKt5 sebagai antijamur terhadap patogen *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Natur Indonesia* 14(1), 42-46