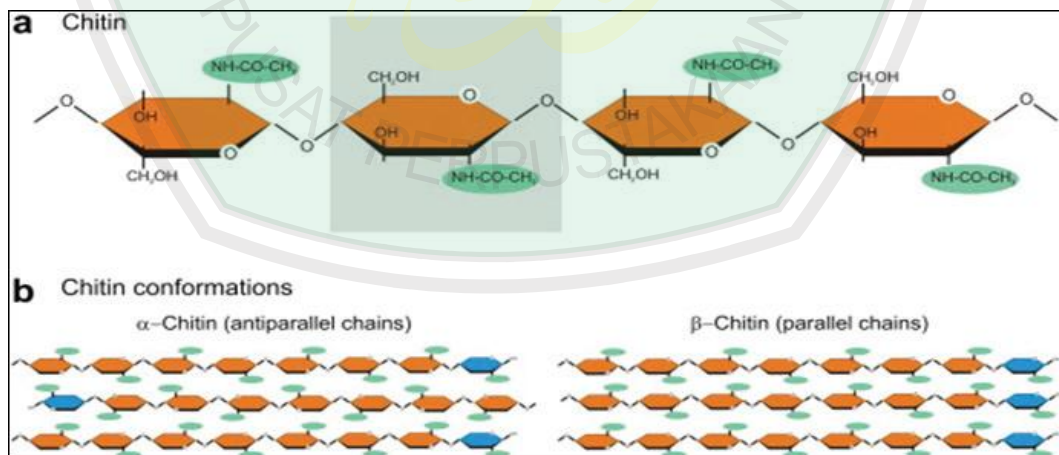


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Senyawa Kitin

Kitin merupakan polisakarida, polimer yang tersusun atas monomernya  $\beta$ -1,4-N-asetil-glukosamin. Senyawa ini sangat melimpah di alam dan menempati urutan kedua setelah selulosa. Distribusi kitin sangat luas karena merupakan komponen struktural dari kulit crustaceae (kepiting, udang dan lobster), ubur-ubur, eksoskeleton insekta, dinding sel fungi, alga, nematoda, binatang ataupun tumbuhan (Herdyastuti, 2009; Ferniah, 2003). Kitin yang terdapat pada dinding sel jamur jumlahnya berbeda untuk setiap jenis. Umumnya sekitar 2-60% berat kering miselium (Yurnaliza, 2011).



Gambar 2.1. Struktur kimia dari kitin. Kotak abu-abu menunjukkan satu subunit N-asetilglukosamin dari rantai kitin. (b) Dua jenis utama dari kitin dicirikan oleh penataan rantai antiparalel ( $\alpha$ -kitin) atau paralel ( $\beta$ -kitin) (Verena, 2008 dalam Haliza, 2012).

Kitin berbentuk padat, tidak berwarna, tidak larut dalam air, asam encer, alkohol, dan semua pelarut organik lainnya, namun kitin dapat larut dalam fluoroalkohol dan asam mineral pekat. Koloidal kitin adalah senyawa yang banyak digunakan sebagai substrat dalam medium fermentasi. Senyawa ini diperoleh dengan cara menghidrolisis secara parsial kitin dengan larutan asam klorida (Yurnaliza, 2002).

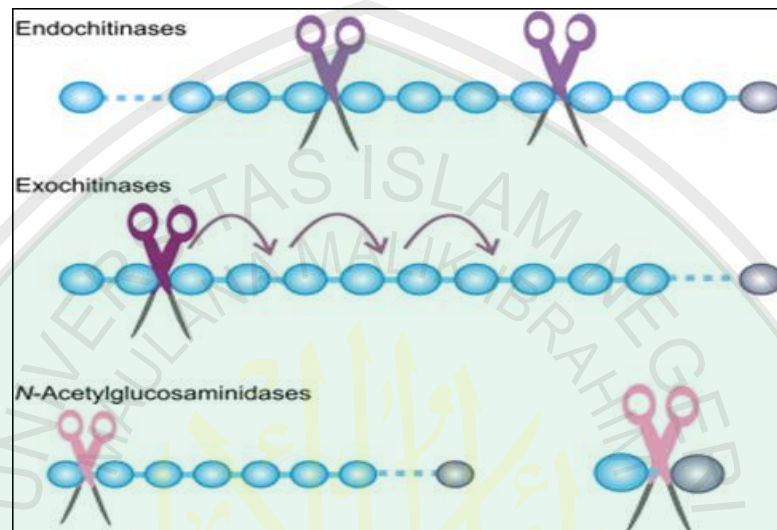
Kemelimpahan kitin di alam akan mudah didegradasi oleh mikroorganisme seperti bakteri dan jamur yang dapat menghasilkan kitinase. Terdapat dua jalur dalam proses degradasi kitin. Pertama, degradasi oleh kitinolitik yang menghidrolisis ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida. Kedua, polimer mengalami deasetilasi pertama dan kemudian dihidrolisis oleh kitosanase (Gooday, 1990 dalam Herdyastuti, 2009).

## 2.2 Enzim Kitinase

Enzim kitinase merupakan enzim yang dapat mendegradasi senyawa kitin menjadi monomernya yaitu N-asetilglukosamin. Enzim ini dihasilkan oleh bakteri, fungi, tanaman, dan hewan (Toharisman, 2007). Berdasarkan cara kerjanya, enzim ini dibedakan menjadi tiga (Herdyastuti, 2009):

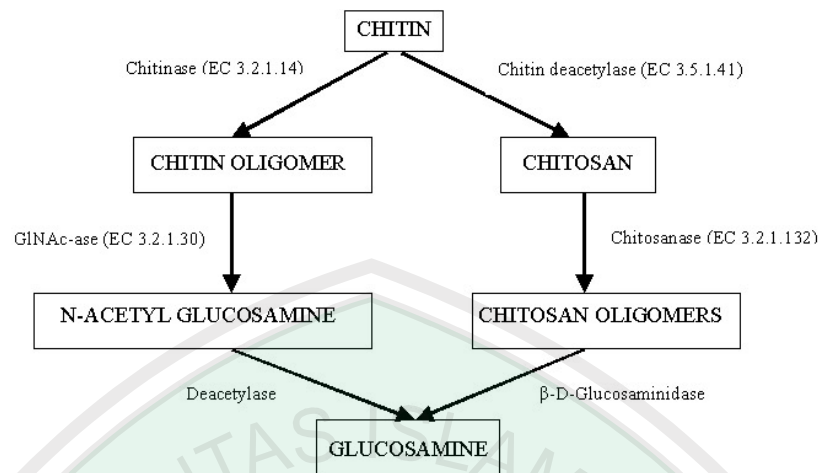
1. Eksokitinase atau ketobiosidase : enzim yang mengkatalis pembebasan N-asetil-glukosamin atau unit dimer kitobiosa ( $\beta$ -1,4-N-asetil-glukosamin).
2. Endokitinase (EC.3.2.1.14) : enzim yang mendegradasi kitin secara acak dari dalam dan menghasilkan oligomer pendek N-asetil-glukosamin.

3. N-asetil-glukosaminidase (EC.3.2.1.30) : enzim yang bekerja pada proses pemutusan deasetilkitobiosa menjadi N-asetil-glukosamin.



Gambar 2.2. Skema pemutusan kitin oleh enzim kitinase (Verena, 2008 dalam Haliza, 2012).

Menurut Toharisman (2007), selain oleh kitinase, kitin juga dapat didegradasi oleh kitin deasetilase dan kitosanase (Gambar 2.3). Kitin deasetilase (EC 3.5.1.41) menghilangkan gugus asetil dari kitin menghasilkan kitosan. Kemudian kitosan akan dipotong-potong menjadi kitosan oligomer kitosan oleh enzim kitosanase. Oligomer kitosan yang telah terpotong tersebut kemudian dipotong-potong lagi oleh  $\beta$ -D-glukosaminidase menghasilkan monomer glukosamin.



Gambar 2.3. Jalur degradasi kitin secara enzimatik (Goody, 1994 dalam Toharisman, 2007).

Enzim kitinase dapat digunakan sebagai agen biokontrol terhadap berbagai patogen tanaman maupun serangga. Kitinase dapat bekerja dalam memecah dinding sel jamur dan serangga patogen sehingga tanaman dapat terhindar dari patogen (Patil ddk., 2000 dalam Situmorang, 2003). Selain itu juga dapat digunakan untuk mengendalikan nyamuk, produksi oligosakarida, dan produksi protein sel tunggal (*single cell protein*) (Soeka, 2009). Menurut (Herdyastuti, 2009), kitinase juga dapat digunakan dalam penanganan limbah, terutama limbah yang banyak mengandung kitin seperti pada pabrik pembekuan udang. Apabila dibiarkan, limbah tersebut akan menyebabkan pencemaran lingkungan.

### 2.3 Senyawa N-asetilglukosamin

N-asetilglukosamin (GlcNAc) merupakan senyawa hasil hidrolisis kitin oleh kitinase. Senyawa ini berbentuk kristal, berwarna putih, bersifat larut air dan memiliki rasa yang manis (Widhyastuti, 2010). Menurut Yurnaliza (2002), N-

asetilglukosamin dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber nitrogen dan karbon. Senyawa GlcNAc dapat dihasilkan melalui hidrolisis asam (HCl) dari kitin. Produksi GlcNAc dari kitin harus melewati dua tahap, pertama yaitu kitin dipecah secara perlahan oleh endokitinase menjadi oligosakarida, kedua yaitu oligosakarida dipecah secara cepat oleh eksokitinase menjadi GlcNAc (Sashiwa, 2002 dalam Wulandari, 2006).

#### 2.4 Sumber Bakteri Kitinolitik

Bakteri merupakan mikroorganisme yang berukuran sangat kecil. Bentuk bakteri hanya dapat dilihat menggunakan mikroskop. Ukurannya yang sangat mikroskopis ini telah dijelaskan oleh Allah Swt. dalam firman-Nya surat Al-Baqarah ayat 26 sebagai berikut:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ  
الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا  
وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴿٢٦﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.*” (QS. Al-Baqarah: 26)

Surat Al-Baqarah ayat 26 menjelaskan tentang perumpamaan yang dibuat oleh Allah. Perumpamaan tersebut berupa nyamuk atau yang lebih rendah daripada nyamuk. Sesungguhnya orang yang beriman akan percaya tentang

kebenaran perumpamaan itu. Kata الحق (kebenaran) pada ayat di atas menunjukkan bahwa perumpamaan yang dibuat Allah adalah benar-benar jelas. Nyamuk atau yang lebih rendah daripada nyamuk adalah salah satu contoh perumpamaan yang sangat jelas. Orang-orang yang beriman akan mengimani perumpamaan itu, baik yang kecil maupun yang besar. Mereka mengetahui bahwa apapun yang diciptakan Allah adalah benar dan memiliki manfaat. Sebaliknya, orang-orang kafir tidak percaya dan menganggap remeh bahwa nyamuk itu hanya diaanggap sebagai pengganggu saja.

Orang-orang yang berilmu akan mengetahui bahwa perumpamaan Allah yang lebih rendah dari nyamuk adalah mikroorganisme. Dalam ilmu biologi, mikroorganisme telah berkembang pesat hingga terdapat ilmu khusus yang mempelajari tentang mikroorganisme, yaitu mikrobiologi. Bakteri dan jamur merupakan salah satu kajian yang dipelajari dalam ilmu mikrobiologi. Pengetahuan yang telah dipelajari dalam kajian mikrobiologi, tentunya akan membawa para ilmuwan untuk lebih beriman kepada Sang Pencipta, Allah Swt.

Oleh karena itu, bagi orang yang beriman dan berilmu akan beranggapan bahwa mikroorganisme tidak selalu merupakan patogen bagi kehidupan. Dalam hal ini adalah bakteri kitinolitik yang dapat dimanfaatkan sebagai penghambat bagi kehidupan patogen (jamur *F.oxysporum*). Bakteri kitinolitik yang merupakan perumpamaan yang jelas dan berbagai penelitian membuktikan bahwa bakteri kitinolitik dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen.

Bakteri kitinolitik merupakan mikroba yang dapat menghasilkan enzim kitinase dan dapat menguraikan kitin menjadi monomer  $\beta$ -1,4-N-asetil-

glukosamin (Fernih, 2011). Bakteri kitinolitik dapat diperoleh dari berbagai sumber, seperti rizosphere, phyllosphere, tanah ataupun dari lingkungan air (laut, danau, kolam, limbah udang). Selain ditemukan di lingkungan mesofil, bakteri ini juga dapat ditemukan di lingkungan termofilik seperti sumber air panas ataupun geotermal (Herdyastuti, 2009).

Enzim kitinase dapat diisolasi dari bakteri dengan cara menumbuhkan mikroba tersebut dalam media yang mengandung kitin, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu (Herdyastuti, 2009). Menurut Susi (2002) dalam Muharni (2011), kitinase merupakan metabolit yang tidak berwarna, untuk mengetahui aktivitas kitinase dari bakteri tersebut dapat dilihat perubahan warna pada medium menjadi transparan. Berbagai bakteri seperti *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp. (Ayu, 2011), *Bacillus apiarius* (Muharni dan Widjajanti, 2011), *Serratia marcescens* (Wijayanti, 2003), *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Klebsiella ozaenae* (Fitichah, 2011) telah dilaporkan memiliki aktivitas kitinolitik. Menurut (Fitichah, 2011), bakteri *B.mycoides*, *P.pseudomallei* dan *K.ozaeanae* memiliki aktivitas kitinase yang berbeda-beda. Perbedaan aktivitas tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain pH, suhu, konsentrasi substrat dan adanya aktifator dan inhibitor.

#### **2.4.1 Bakteri *Pseudomonas pseudomallei***

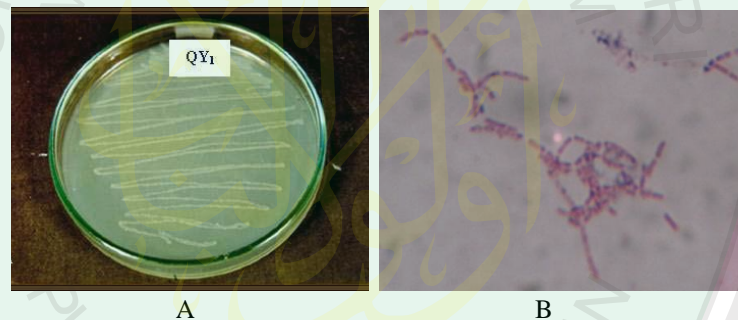
*Pseudomonas* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, berukuran 0,5-0,8  $\mu\text{m}$ , berespirasi secara aerob, bergerak dengan flagella polar, dapat tumbuh optimal pada suhu 27<sup>0</sup>C (Ashdown, 1979; Irianto, 2005 dalam



Arief, 2010), membentuk koloni yang beragam dari mukoid, halus sampai kasar dan berkerut serta berwarna krem samapi oranye. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit melioidosis, yaitu suatu penyakit radang kelenjar (Brooks, 2005).

*Pseudomonas pseudomallei* diklasifikasikan sebagai berikut (Salle, 1991 dalam Arief, 2010):

Kingdom : Monera  
 Devisi : Schizophyta  
 Kelas : Schizomycetes  
 Ordo : Pseudomonadales  
 Famili : Pseudomonadaceae  
 Genus : *Pseudomonas*  
 Spesies : *Pseudomonas pseudomallei*



Gambar 2.4. A. *P.pseudomallei* pada media padat (Das, 2005), B. Morfologi *P.pseudomallei* (Susilowati, 2011)

Menurut Faticah (2011), bakteri ini telah diuji potensinya dalam menghasilkan enzim kitinase, yaitu dengan cara menumbuhkannya pada media kitin agar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki indeks kitinase sebesar 1,16 mm.

#### 2.4.2 Bakteri *Klebseilla ozaenae*

*K.ozaenae* merupakan bakteri gram negatif, berkapsul, berbentuk batang lurus, berdiameter 0,3-1,0  $\mu\text{m}$  dan panjang 0,6-6,0  $\mu\text{m}$ . Sel-selnya ada yang hidup



sendiri-sendiri, berpasangan atau berkelompok membentuk rantai pendek. Bakteri ini non-motil, anaerob fakultatif, memiliki dua tipe metabolisme yaitu respirasi dan fermentasi serta tumbuh optimum pada suhu 37<sup>0</sup>C (Hendricks and John, 1994).

Berdasarkan nama binominal, *K.ozaenae* diklasifikasikan sebagai berikut (Schroeter, 1886 dan Trevisan 1887 dalam Ayuningtyas, 2010):

Kingdom : Bacteria  
Devisi : Proteobacteria  
Kelas : Gamma Proteobacteria  
Ordo : Enterobacteriales  
Famili : Enterobacteriaceae  
Genus : *Klebsiella*  
Spesies : *Klebsiella ozaenae*

Bakteri ini tumbuh baik pada media yang mengandung banyak karbohidrat, seperti Bromthymol Blue Lactose Agar yang akan memberikan kondisi lingkungan baik bagi pembentukan kapsul (Brisse, 2006). Menurut Dwidjoseputro (1994), karbohidrat merupakan komponen yang terdapat pada lendir yang menyelubungi dinding sel bakteri, apabila lapisan lendir tersebut cukup tebal maka disebut kapsul. Kapsul ini berguna bagi manusia untuk mengidentifikasi bakteri tersebut.

*K.ozaenae* telah diuji potensinya dalam menghasilkan enzim kitinase, yaitu dengan cara ditumbuhkan pada media kitin agar. Bakteri ini dapat membentuk zona bening di sekitar koloni bakteri yang menunjukkan bahwa bakteri ini dapat menghidrolisis kitin yang ada pada media. Indeks kitinase yang dihasilkan sebesar 1,20 mm (Faticah, 2011).

## 2.5 Penyakit Layu Fusarium (*Fusarium oxysporum*)

Klasifikasi jamur *Fusarium oxysporum* yang menyebabkan penyakit layu

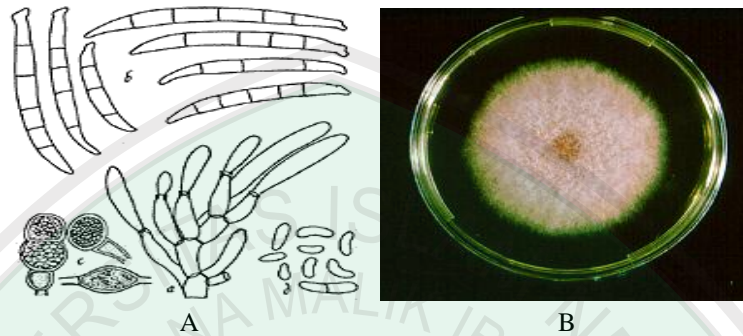
Fusarium pada tanaman (Agrios, 1996 dalam Djaenuddin, 2011):

Kingdom	: Fungi
Devisi	: Mycota
Subdevisi	: Deuteromycotina
Class	: Hypomycetes
Ordo	: Hyphales (Moniliales)
Family	: Tuberculariaceae
Genus	: Fusarium
Spesies	: <i>F. Oxysporum</i>

*F.oxysporum* membentuk tiga macam spora baik di dalam tanah maupun pada biakan murni, yaitu mikrokonidium, makrokonidium dan klamidospora. Mikrokonidium banyak dihasilkan pada semua kondisi, bersel satu atau dua, hialin, berbentuk jorong atau agak memanjang, berukuran 5-12 x 2,2-3,5 µm, tidak bersekat atau kadang-kadang bersekat satu dan berbentuk bulat telur atau lurus. Makrokonidium berbentuk lurus atau bengkok seperti sabit, bertangkai kecil, umumnya bersel empat, hialin, berukuran 27-46 x 3-4,5 µm. Klamidospora berukuran 7-11 µm, bersel satu atau dua, berdinding tebal dan berfungsi untuk mempertahankan kelangsungan hidup patogen. Spora ini dihasilkan oleh makrokonidium yang telah tua ketika lingkungan dalam keadaan tidak sesuai dengan patogen (Sastrahidayat, 2003).

*Fusarium oxysporum* jika ditumbuhkan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*), Djaenuddin (2011) menjelaskan bahwa mula-mula miselium jamur ini berwarna putih, kemudian setelah tua berubah menjadi krem atau kuning pucat dan dalam kondisi tertentu akan berubah menjadi merah muda agak ungu.

Miselium bersekat dan membentuk percabangan. Beberapa isolat akan membentuk pigmen biru atau merah di dalam medium.



Gambar 2.5. Jamur *F. oxysporum*  
 A. Gambar mikroskopis (a. Konidiofor, b. Makrokonidia, c. Klamidospora, d. Mikrokonidia),  
 B. Gambar pada media PDA

Jamur *F.oxysporum* tumbuh baik di dalam tanah dengan kisaran pH 4,5-6,0. Pada media biakan murni dengan kisaran pH 3,6-8,4. pH optimum pensporaan sekitar 5,0. Oleh karena itu pensporaan bisa terjadi 5-20 kali lipat pada tanah dengan pH kurang dari 7,0 dibandingkan dengan pH lebih dari 7,0. Pensporaan terjadi secara melimpah pada semua jenis tanah, tetapi tidak akan terjadi pada pH kurang dari 3,6 atau lebih dari 3,8. Suhu optimum untuk persporaan adalah 20-25<sup>0</sup>C sedangkan untuk pertumbuhan adalah 20<sup>0</sup>C dan 30<sup>0</sup>C, maksimum pada 37 ± 5<sup>0</sup>C (Djaenuddin, 2011).

*F.oxysporum* dapat menginfeksi dan menyebabkan penyakit pada berbagai jenis tanaman sehingga memiliki beberapa bentuk khusus yang dikenal sebagai *formae specialis* (f.sp). Menurut Semangun (2007), jenis patogen ini meliputi *Fusarium oxysporum* f.sp *capsici* (pada cabai), *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (layu pada tomat), *Fusarium oxysporum* f.sp *melonis* (layu pada

melon), *Fusarium oxysporum* f.sp *niveum* (layu pada semangka), *Fusarium oxysporum* f.sp *passiflorae* (layu pada markisa), *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* (layu pada pisang), *Fusarium oxysporum* f.sp *vasinfectum* (layu pada kapas), dan *Fusarium oxysporum* f.sp *cattleyae* (layu pada anggrek).

### 2.5.1 Morfologi Jamur *Fusarium oxysporum*

Fungi atau jamur memiliki hifa, yaitu suatu struktur fungus berbentuk tabung yang menyerupai seuntai benang panjang yang dibentuk dari pertumbuhan spora atau konidia. Kumpulan hifa yang bercabang-cabang membentuk suatu jala berwarna putih disebut miselium. Hifa berisi protoplasma yang dikelilingi dinding kuat. Pada umumnya hifa memiliki diameter berkisar 3-30  $\mu\text{m}$ , namun bertambah antara 100-150  $\mu\text{m}$  pada hifa yang tua. Dinding sel pada hifa yang tua memiliki komponen tambahan berupa melanin yang berfungsi melindungi sitoplasma dari radiasi sinar ultraviolet atau dapat juga terhadap enzim-enzim lisis dari organisme lain (Gandjar dkk., 2006).

Pembentukan miselium terjadi karena adanya titik-titik sentuh cabang-cabang hifa yang disebut dengan anastomosis. Anastomosis merupakan proses terjadinya lisis dinding sel pada titik sentuh cabang-cabang hifa sehingga protoplasma akan mengalir ke semua hifa. Akibat anastomosis, miselium terbentuk semakin banyak dan membentuk suatu koloni. Anastomosis memiliki dua fungsi yaitu, 1) memperluas hifa menjadi suatu jala yang disebut miselium yang memungkinkan untuk menyerap nutrisi dari substrat dengan seefisien mungkin dan untuk memfasilitasi pembentukan tubuh buah yang besar, 2) untuk

mempersatukan hifa yang terpisah, tetapi secara genetis identik, menjadi suatu koloni yang berasal dari hifa tunggal untuk menyingkirkan persaingan antara genotip-genotip yang identik yang tidak diperlukan (Carlile & Watkinson, 1994 dalam Gandjar dkk., 2006).

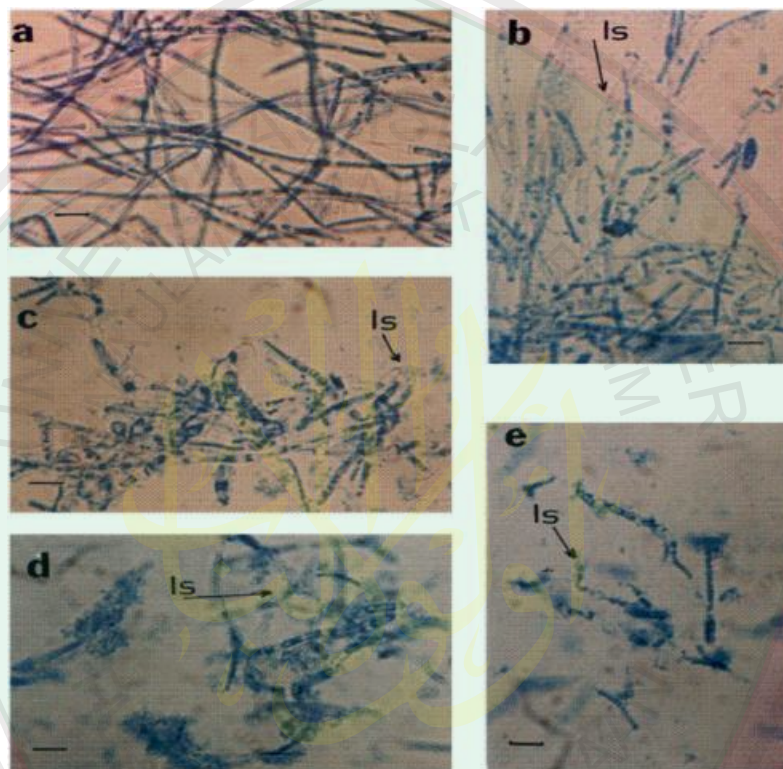
Menurut Pelczar dan Chan (2008), morfologi hifa dibagi menjadi tiga, yaitu:

1. Aseptat atau senosit, merupakan hifa yang tidak memiliki dinding sekat atau septum.
2. Septat dengan sel-sel uninukleat, merupakan hifa yang memiliki sekat. Sekat ini membagi hifa menjadi ruang-ruang yang berisi satu inti sel. Pada setiap sekat terdapat pori yang berfungsi untuk perpindahan inti sel dan sitoplasma dari satu ruang ke ruang yang lain.
3. Septat dengan sel-sel multinukleat, yaitu suatu sekat yang membagi hifa menjadi sel-sel dengan lebih dari satu inti sel di dalam setiap ruang.

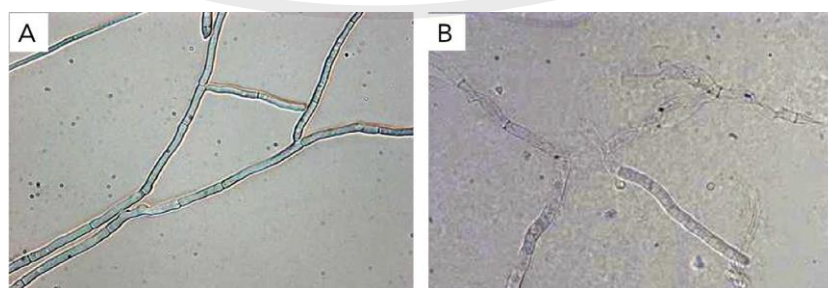
Morfologi jamur *F.oxysporum* memiliki perbedaan ketika dalam keadaan normal dan abnormal (Gambar 2.6 dan 2.7). Salah satu faktor penyebab abnormalitas miselium dikarenakan terpapar enzim kitinase dari bakteri maupun jamur kitinolitik yang dapat mendegradasi kitin pada dinding sel jamur.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Yurnaliza (2011), miselium normal jamur yang tidak terpapar bakteri kitinolitik adalah berbentuk utuh serta panjang-panjang. Namun setelah terpapar bakteri kitinolitik, terjadi perubahan bentuk miselium yang awal mulanya panjang-panjang menjadi terpotong lebih pendek (setelah 1 jam inkubasi). Bentuk miselium yang telah

terpapar bakteri selama 2 jam inkubasi, miselium menjadi lebih pendek lagi dibandingkan dengan miselium yang telah diinkubasi selama 1 jam. Begitu seterusnya sampai waktu inkubasi selama 6 jam. Semakin lama waktu inkubasi, maka ukuran miselium jamur semakin pendek, hancur, dan lisis.



Gambar 2.6. a) Hifa normal, b) miselium menjadi lebih pendek (setelah inkubasi 1 jam), c) setelah inkubasi 2 jam, d) setelah inkubasi 4 jam, e) setelah inkubasi 6 jam, ls = miselium lisis (Yurnaliza, 2011).



Gambar 2.7. Morfologi hifa *F.oxysporum*. a) *F.oxysporum* + buffer. b) *F.oxysporum* + enzim kitinase kasar (Vilusamy, 2011)



Vilusamy (2011) menjelaskan bahwa hifa jamur *F.oxysporum* yang telah dipapar kitinase kasar dari *Pseudomonas* sp. menjadi abnormal (lisis) dibandingkan dengan kontrol (Gambar 2.7). Abnormalitas miselium jamur *F.oxysporum* lain juga diungkapkan oleh Wijayanti (2003), bahwa pada daerah zona hambat bentuk miselium dapat berubah menjadi membengkok dan keriput akibat pemberian bakteri kitinolitik.

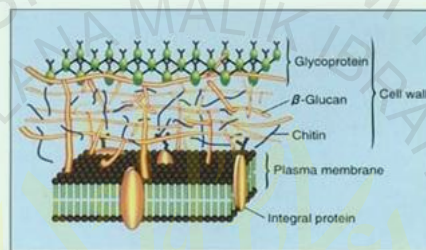
### **2.5.2 Anatomi Jamur *Fusarium oxysporum***

Struktur anatomi jamur pada umumnya tersusun atas dinding sel, membran hifa, mitokondria, ribosom, aparatus golgi, badan mikro, dan vesikel. Dinding sel berfungsi memberikan bentuk kepada sel dan melindungi sel dari lingkungan luar. Dinding sel jamur terdiri atas kitin yang merupakan komponen penting di dalamnya. Kitin merupakan suatu polisakarida, polimer linier dari N-asetil-glukosamin yang subunit-subunitnya dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ -(1,4)-glukosida. Ikatan tersebut menghasilkan molekul-molekul berupa pita-pita panjang yang bila ada dalam kondisi paralel, memungkinkan terbentuknya mikrofibril. Mikrofibril membentuk suatu jaringan di bagian paling dalam dari dinding hifa yang terbenam dalam matriks. Komponen utama dari matriks tersebut adalah polisakarida yang larut dalam air, yaitu glukukan dan glikoprotein. Komponen matriks dan kitin tersebut berfungsi memberikan kekokohan yang sangat kuat pada dinding sel hifa (Gandjar dkk., 2006).

Komponen-komponen tersebut merupakan komponen primer dari dinding sel hifa yang akan selalu ditemukan pada bagian ujung hifa, sedangkan



pada bagian hifa yang lain mengalami penebalan karena terbentuk dinding sekunder di bagian luar dari dinding primer yang akan merupakan dinding hifa dewasa (Gandjar dkk., 2006). Menurut Alexopoulos et al (1996) dalam Gandjar dkk. (2006) dinding sel jamur sangat kokoh dan resisten terhadap serangan enzim, hal ini sangat menguntungkan bagi jamur karena hifa-hifa dapat menembus tanah dan berbagai substrat.



Schematic structure of fungus cell wall  
(Supervised by Prof. Dr. H. Yamaguchi, School of Med., Teikyo Univ.)

Group	Example	Chitin	Cellulose	Glucans	Protein	Lipid
Oomycota	<i>Phytophthora</i>	0	25	65	4	2
Chytridiomycota	<i>Allomyces</i>	58	0	16	10	?
Zygomycota	<i>Mucor</i>	9*	0	44	6	8
Ascomycota	<i>Saccharomyces</i>	1	0	60	13	8
	<i>Fusarium</i>	39	0	29	7	6
Basidiomycota	<i>Schizophyllum</i>	5	0	81	2	?
	<i>Coprinus</i>	33	0	50	10	?

\*Mainly chitosan.

Gambar 2.8. Struktur dinding sel jamur (Maulana, 2013)

Selain dinding sel, jamur memiliki organel lain seperti membran sel, mitokondria, ribosom, aparatus golgi, badan mikro, dan vesikel. Membran sel terdapat di bagian bawah dinding sel yang berfungsi untuk melindungi isi sel. Membran sel jamur diduga memiliki komponen kimia yang terdiri dari senyawa-senyawa sterol, protein, serta senyawa-senyawa fosfolipid. Mitokondria yang berada di dalam sitoplasma berfungsi dalam menghasilkan energi. Ribosom terdapat bebas di sitoplasma, namun ada juga yang terdapat di permukaan

retikulum endoplasma atau pada permukaan nukleus. Organel ini berfungsi dalam sintesis polipeptida (Gandjar dkk., 2006).

Ruiz-Herrera (1992) dalam Gandjar (2006) menyatakan bahwa aparatus golgi berperan dalam memproses dan menyekresi glikoprotein yang akan menjadi bagian dari dinding sel, menyekresi bahan-bahan ekstraseluler, dan menghasilkan vesikel yang berperan dalam pertumbuhan dinding sel. Badan mikro terdiri dari peroksisom, glioksisom, hidrogenosom, dan lisosom. Di dalam sel juga terdapat vesikel, yaitu struktur mirip kantung. Beberapa vesikel mengandung enzim-enzim yang berfungsi melunakkan dinding sel yang sudah ada agar dapat meluas atau bertambah. Vesikel lain berfungsi untuk mengikat zat warna dan fungisida yang beracun bagi sel. Disamping vesikel-vesikel tersebut juga terdapat vesikel lain yang sangat kecil, yaitu kitosom (chitosomes) yang mengandung enzim kitin-sintetase dan berperan dalam membentuk fibril kitin (Moore-Landecker, 1996 dalam Gandjar dkk., 2006).

## **2.6 Mekanisme Kerja Antijamur**

Menurut Pelczar dan Chan (2008), mekanisme kerja antijamur dibagi menjadi lima, yaitu diuraikan sebagai berikut:

### **1. Merusak Dinding Sel**

Dinding sel merupakan suatu lapisan luar yang berfungsi memberi bentuk pada sel dan melindungi isi sel dari lingkungan luar. Pembentukan dinding sel melibatkan reaksi enzimatik. Banyak reaksi enzimatik dapat dihalangi oleh zat antimikroba. Misalnya kitinase dapat menghidrolisis kitin penyusun dinding sel

jamur. Kerusakan pada dinding sel dapat mengakibatkan perubahan-perubahan yang menyebabkan kematian sel.

## **2. Mengubah Permeabilitas Membran Sel**

Membran sel berperan penting dalam permeabilitas selektif, transpor nutrisi ke dalam sel, dan dalam pelepasan hasil-hasil metabolisme ke luar sel. Peran penting itu tidak bisa digantikan dengan organel lain di dalam sel. Oleh karena itu apabila membran sel mengalami kerusakan, maka fungsi dalam permeabilitas membran juga mengalami kerusakan. Kerusakan ini menyebabkan sel menjadi terhambat dan mati. Menurut Trifena (2007), salah satu zat antijamur yang dapat mengganggu permeabilitas membran sel adalah kitinase yang termasuk ke dalam kelompok polien. Kelompok ini akan berikatan dengan membran sel jamur dan mengakibatkan perbedaan tekanan osmotik di luar dan di dalam sel. Pada akhirnya akan terjadi kebocoran sel dan menyebabkan ion-ion di dalam sel keluar, sehingga sel jamur menjadi mati.

## **3. Kerusakan Sitoplasma**

Sitoplasma sel terdiri dari 80% air, asam nukleat, protein, karbohidrat, lipid, dan berbagai senyawa lain. Kehidupan sel tergantung pada terpeliharanya komponen-komponen tersebut agar tetap berada di dalam sel dan melakukan fungsinya. Sel dapat mengalami koagulasi dan denaturasi akibat adanya zat kimia dengan konsentrasi yang tinggi.

## **4. Menghambat Kerja Enzim**

Proses metabolisme berbagai organisme membutuhkan suatu enzim yang berfungsi untuk mempercepat reaksi. Contohnya adalah senyawa inhibitor sintesis

glukan. Kelompok senyawa ini bekerja dalam menghambat sintesis dinding sel jamur dengan cara menginhibisi kerja enzim 1,3-beta glucan synthase. Apabila enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel tersebut dihambat, maka pertumbuhan jamur dapat terhambat pula (Trifena, 2007).

## **5. Menghambat Sintesis Asam Nukleat dan Protein**

Asam nukleat dan protein sangat berperan penting dalam sel. Adanya senyawa-senyawa antijamur dapat menyebabkan sintesis protein menjadi terganggu. Gangguan tersebut dapat mengakibatkan sel kekurangan protein, sehingga pertumbuhan menjadi terhambat. Salah satu senyawa yang dapat mengganggu proses sintesis protein adalah flucytosine. Senyawa ini akan menghambat sintesis protein pada jamur dengan cara mengganti urasil dengan 5-florouracil dalam RNA.

### **2.7 Metode Pengukuran Kadar N-asetilglukosamin**

Beberapa metode yang digunakan untuk menentukan kadar N-asetilglukosamin yaitu (Herdyastuti dkk. (2009) dan Haliza (2012):

#### **1. Penentuan Secara Kolorimetri**

Penentuan secara kolorimetri didasarkan pada pelepasan produk hasil degradasi substrat kitin berupa N-asetilglukosamin (GlcNAc) permenit ke dalam supernatan setelah direaksikan dengan reagen tertentu dan diukur absorbansinya pada gpanjang gelombang tertentu. Metode yang umum digunakan adalah metode Reissig, yaitu produk direaksikan dengan reagen tertentu seperti p-dimetilamino-benzaldehid atau reagen asam dinitrosalisilat (DNS) menghasilkan serapan pada

panjang gelombang 540 nm. Untuk menentukan konsentrasi produk digunakan N-asetilglukosamin sebagai standar. Selain menggunakan reagen tersebut, dapat juga menggunakan substrat lain yaitu kitin azure yang direaksikan dengan pewarna Remazol Brilliant Violet 5R dan serapan yang dihasilkan dapat diukur pada panjang gelombang 420 nm.

## **2. Spektrometer Assay**

Pengukuran kadar N-asetilglukosamin dengan metode ini ditentukan dengan menggunakan senyawa kromogen seperti 4-Nitrofenil- $\beta$ -D-N-N'-diasetilketobiosa dan 4-Nitrofenil- $\beta$ -D-N-N'-N''-triasetilkitrotiosa yang disimpan dalam larutan stok dimetil sulfoksida (DMSO) dan ditentukan serapannya pada panjang gelombang 410 nm.

## **3. Pembentukan Flouresens**

Metode ini digunakan untuk menentukan perbedaan aktivitas degradasi kitin dengan menggunakan substrat 4-metilumbeliferil-N-asetil- $\beta$ -D-glukosaminida, 4-metilumbeliferil-N-asetil- $\beta$ -D-N-N'-diasetil kitobiosida, 4-metilumbeliferil-N-asetil- $\beta$ -D-N-N'-N''-triasetil kitotriosida dan 4-metilumbeliferil-N-asetil- $\beta$ -D-N-N'-N''-N'''-tetraasetil kitotetraosida dalam larutan DMSO menurut metode McCreath dan Gooday. Pembentukan flouresens diakibatkan oleh pelepasan 4-metil umbeliferil yang tereksitasi pada panjang gelombang 390 nm dan diemisikan pada panjang gelombang 485 nm.

## **4. Zymogram dengan Menggunakan Etilen Glikol**

Metode ini didasarkan pada degradasi substrat etilen glikol pada media padat yang mengandung glikol kitin oleh aktivitas kitinase yang ditunjukkan oleh

zona bening di sekitar bakteri. Metode yang dikembangkan oleh Trudel dan Asselin (1989) juga dapat digunakan pada metode zymogram, yaitu suatu teknik yang melibatkan 2 tahapan, pemisahan dengan elektroforesis kemudian diikuti dengan deteksi penentuan aktivitas kitinase.

## **5. Metode Staining pada Plate Agar Kitin dan Elektroforesis Gel Poliakrilamid**

Metode ini dikembangkan dengan cara screening hiperkitinase yang diproduksi bakteri dengan menggunakan Calcofluor white M2R dalam plate yang mengandung kitin swollen. Kitin yang telah berikatan dengan Calcofluor white M2R akan terdeteksi di bawah sinar ultra violet karena ikatan tersebut akan mengeluarkan cahaya fluorokrom. Kemudian metode ini dikembangkan lebih lanjut oleh Gohel dengan cara memisahkan kitinase pada gel poliakrilamid dan ditransfer pada cawan petri yang mengandung agar kitin.

## **2.8 Metode Uji Antijamur Terhadap Jamur Patogen**

### **1. Metode Ganda**

Pengujian antijamur dengan metode ganda dilakukan dengan cara miselium isolat jamur patogen dan miselium isolat agen antijamur dipotong dengan ukuran 5x5 mm kemudian diletakkan dalam cawan petri berdiameter 90 mm yang berisi media PDA. Jarak antara kedua isolat tersebut adalah 30 mm. Pengamatan luas miselium jamur antagonis dilakukan mulai hari ke-0 sampai hari ke-7 (Winarsih dan Syafrudin, 2001 dalam Mukarlina et al, 2010).

Perhitungan meliputi jari-jari koloni jamur patogen yang berhadapan dan yang berlawanan dengan koloni jamur antagonis sehingga dapat diperoleh persentase hambatan. Persentase hambatan dihitung secara manual dengan rumus:

$$I = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%$$

Keterangan:

- I : Persentase Hambatan (%)
- R1 : Jari-jari koloni jamur patogen ke arah yang berlawanan dengan koloni jamur antagonis (cm)
- R2 : Jari-jari koloni patogen ke arah yang berhadapan dengan koloni jamur antagonis (cm)

## 2. Metode Difusi Agar

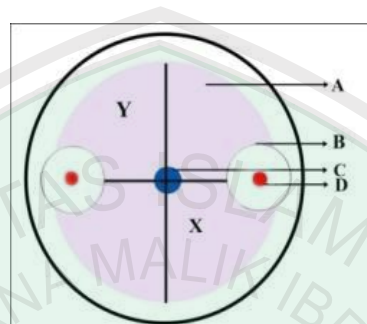
Pengujian antijamur dengan metode difusi agar dilakukan dengan menggunakan paper disc. Prosedur yang dilakukan yaitu dengan cara biakan jamur patogen yang telah tumbuh dalam media PDA selama 1x24 jam, dimasukkan paper disc yang telah diberi senyawa antijamur, kemudian diinkubasi selama 2-3 hari. Zona hambat diamati setiap hari dengan mengukur zona hambat pada biakan jamur tersebut (Natsir dkk., 2008).

## 3. Metode Difusi Cakram

Pengujian dilakukan dengan cara biakan jamur yang telah diremajakan pada media PDA diambil satu ose untuk ditumbuhkan di tengah cawan petri yang telah berisi media PDA. Pada tepi kanan dan kiri cawan petri dengan jarak 3,5 cm diletakkan kertas cakram yang telah direndam ekstrak kasar enzim kitinase selama



30 menit. Kontrol digunakan kertas cakram yang telah direndam aquades steril. Selanjutnya diinkubasi selama 7 hari pada suhu 28-30<sup>0</sup>C (Suryanto dkk., 2011 dalam Malinda, 2011; Yurnaliza, 2011; Diniyah, 2010).



Gambar 2.9. Metode pengukuran zona hambat enzim kitinase terhadap jamur *F.oxysporum*. (A) Koloni jamur *F.oxysporum*; (B) Zona hambat enzim kitinase terhadap jamur *F.oxysporum*; (C) Titik tengah jamur *F.oxysporum* diinokulasikan; (D) Kertas cakram yang telah direndam dengan enzim kitinase; (X) Diameter koloni jamur *F.oxysporum* yang terhambat pertumbuhannya; (Y) Diameter koloni jamur *F.oxysporum* yang normal.

Hambatan yang terjadi pada jamur *F.oxysporum* diamati mulai hari ke-2 samapi ke-7 setelah inokulasi. Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan penggaris dengan cara mengukur batas akhir pertumbuhan jamur patogen pada sumbu X dan batas akhir pertumbuhan jamur patogen pada sumbu Y. Hasil pengukuran dihitung menggunakan rumus (Suryanto dkk., 2011 dalam Malinda,

$$2011) \text{ Zona hambat} = \frac{Y-X}{2}$$

## 2.9 Pencegahan Penyakit pada Tanaman dalam Pandangan Islam

Musibah tentang datangnya suatu penyakit dan pencegahannya telah terjadi di negara Israel, yaitu datangnya serangan belalang secara tiba-tiba dan sangat mengejutkan warga Israel. Belalang-belalang tersebut datang dengan

jumlah yang tidak sedikit, sekitar ratusan bahkan ribuan ekor belalang. Ribuan ekor belalang tersebut menyerang tanaman serta pohon-pohon hingga rusak. Petani melaporkan bahwa 30-40% tanaman kentang telah mati akibat serangan belalang-belalang tersebut. Namun warga dapat mengatasi serangan tersebut dengan berbagai cara, diantaranya adalah dengan menggunakan helikopter dan menyemprotkan pestisida hingga akhirnya belalang-belalang tersebut mati. Peristiwa tersebut sesungguhnya telah diungkapkan dalam Alqur'an surat Al-a'raf ayat 133 sebagai berikut:

فَأَرْسَلْنَا عَلَيْهِمُ الطُّوفَانَ وَالْجَرَادَ وَالْقُمَّلَ وَالضَّفَادِعَ وَالْدَّمَ ؕ آيَاتٍ مُّفَصَّلَاتٍ فَاسْتَكْبَرُوا  
وَكَانُوا قَوْمًا مُّجْرِمِينَ ﴿١٣٣﴾

Artinya: “ Maka Kami kirimkan kepada mereka taufan, belalang, kutu, katak dan darah sebagai bukti yang jelas, tetapi mereka tetap menyombongkan diri dan mereka adalah kaum yang berdosa.” (QS. Al-a'raf: 133)

Shihab (2002) menjelaskan, ayat tersebut mengungkapkan tentang berbagai musibah yang diturunkan oleh Allah kepada manusia. Antara lain yaitu angin topan yang dapat merobohkan rumah-rumah, belalang yang dapat merusak tanaman dan pohon-pohon, hama dan kuman yang dapat menyebabkan kematian pada tanaman dan ternak, katak yang dapat mengganggu kehidupan warga di Mesir, dan malapetaka darah yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Namun musibah tersebut dapat diatasi oleh warga, contohnya dalam kisah di atas tentang belalang yang menimpa warga Israel dapat di atasi dengan cara penyemprotan menggunakan pestisida.

*Fusarium oxysporum* merupakan jamur yang menyebabkan penyakit layu *Fusarium* pada tumbuhan. Kerugian besar dapat dialami oleh para petani apabila

tanaman terserang jamur tersebut. Dalam ayat tersebut dijelaskan dan ditafsirkan oleh Shihab (2002) bahwa salah satu bencana yang dapat menimpa tumbuhan adalah adanya hama dan kuman. Kuman dalam konteks tersebut dapat diartikan suatu mikroorganisme, dapat berupa jamur ataupun bakteri. Dalam penelitian ini, konteks kuman tersebut adalah jamur *F.oxysporum* yang dapat menyebabkan tanaman mati. Jamur tersebut dapat dikendalikan dengan enzim kitinase, karena komponen utama dinding sel jamur adalah kitin. Sehingga dengan pemberian enzim kitinase pada tanaman, diharapkan pertumbuhan jamur *F.oxysporum* dapat terhambat dan dapat mengurangi tingkat penyakit pada tanaman hortikultura, khususnya yang ada di Indonesia.

Usaha dalam mengobati suatu penyakit tidak hanya dilakukan terhadap penyakit yang menimpa manusia. Namun juga yang menimpa tumbuhan maupun hewan. Dalam hal ini, penggunaan enzim kitinase diberikan dalam usaha untuk mencegah dan mengobati penyakit layu Fusarium pada tumbuhan yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum*. Usaha dalam mencari obat untuk menyembuhkan suatu penyakit telah dianjurkan oleh Nabi Saw., Rosulullah bersabda:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: Allah tidak menurunkan suatu penyakit melainkan pasti menurunkan obatnya. (HR. al-Bukhari)

Hadits tersebut menjelaskan bahwa setiap penyakit yang diturunkan oleh Allah, baik pada manusia, hewan, maupun tumbuhan, tidaklah mungkin penyakit tersebut tidak ada obatnya. Apabila Allah telah menurunkan suatu penyakit, pasti

Allah juga menurunkan obatnya. Hadits yang sama juga disabdakan oleh Rasulullah Saw. sebagai berikut:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: *Setiap penyakit pasti ada obatnya. Bila suatu obat itu tepat untuk penyakit, maka penyakit itu akan sembuh dengan izin Allah azza wa jalla.* (HR. Muslim)

Allah Swt. berfirman dalam Alqur'an surat Yunus ayat 107, bahwa hanya Allah yang dapat menyembuhkan suatu penyakit. Namun manusia harus tetap berusaha dalam mengatasi penyakit tersebut. Dalam hal ini, peneliti mencoba mengatasi penyakit layu *Fusarium* akibat jamur *Fusarium oxysporum* tersebut dengan menggunakan enzim kitinase yang diisolasi dari bakteri *Pseudomonas pseudomallei* dan *Klebsiella ozaenae*.

وَإِنْ يَمَسُّكَ اللَّهُ بِضُرٍّ فَلَا كَاشِفَ لَهُ إِلَّا هُوَ وَإِنْ يُرِدْكَ بِخَيْرٍ فَلَا رَادَّ لِفَضْلِهِ ۗ يُصِيبُ بِهِ مَن يَشَاءُ مَن عِبَادِهِ ۗ وَهُوَ الْعَفُورُ الرَّحِيمُ ﴿١٠٧﴾

Artinya: *“Jika Allah menimpakan sesuatu kemudharatan kepadamu, Maka tidak ada yang dapat menghilangkannya kecuali Dia. dan jika Allah menghendaki kebaikan bagi kamu, Maka tak ada yang dapat menolak kurniaNya. Dia memberikan kebaikan itu kepada siapa yang dikehendaki-Nya di antara hamba-hamba-Nya dan Dia-lah yang Maha Pengampun lagi Maha Penyayang.”* (QS. Yunus: 107)