

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Peremajaan Bakteri *Pseudomonas pseudomallei* dan *Klebsiella ozaenae* Serta Jamur *Fusarium oxysporum*

Bakteri yang digunakan untuk produksi enzim dalam penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas pseudomallei* dan *Klebsiella ozaenae* yang berasal dari lemari pendingin, sehingga harus diremajakan terlebih dahulu sebelum digunakan dalam produksi enzim. Charlena dkk. (2009) menjelaskan bahwa peremajaan bakteri dilakukan untuk mendapatkan bakteri yang aktif, karena suatu bakteri yang sebelumnya berada di dalam lemari pendingin berada dalam kondisi inaktif. Kondisi bakteri yang inaktif menjadi kurang optimal ketika digunakan dalam produksi enzim. Jamur yang digunakan dalam pengujian adalah jamur *Fusarium oxysporum*, yaitu jamur patogen yang dapat merusak tanaman. Sama halnya dengan bakteri, jamur perlu diremajakan terlebih dahulu sebelum digunakan untuk pengujian. Hal ini juga dilakukan untuk mendapatkan biakan jamur dalam kondisi yang aktif. Mas'ud (2013) menambahkan bahwa tujuan dilakukannya peremajaan baik pada bakteri maupun jamur adalah untuk mendapatkan biakan yang baru dan muda, sehingga dapat berkembangbiak dengan baik dan dapat digunakan sesuai dengan fungsinya.

Media yang digunakan dalam peremajaan bakteri adalah media NA (*Nutrient Agar*), dimana media ini mengandung nutrisi yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri. Menurut Pelczar dan Chan (2008), semua organisme

termasuk bakteri membutuhkan nutrisi untuk memenuhi kehidupan yang diperlukan dalam pertumbuhan organisme tersebut. Adapun komponen-komponen nutrisi yang ada pada media NA adalah ekstrak daging sapi, pepton, dan agar. Ekstrak daging sapi merupakan salah satu komponen yang mengandung karbohidrat, nitrogen, vitamin, dan garam. Sedangkan pepton merupakan sumber utama nitrogen. Sebagai bahan pematat, dalam media NA digunakan agar, namun agar disini tidak merupakan sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri (Pelczar dan Chan, 2008).

Media yang digunakan untuk peremajaan jamur adalah media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Media tersebut mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur yaitu potato (kentang), dextrose, dan agar. Menurut artikel preparasi media (Acumedia) tahun 2011, PDA merupakan media yang cocok digunakan untuk pertumbuhan ragi dan jamur. Media ini mengandung kentang yang dapat mempercepat proses sporulasi dan pigmentasi bagi jamur. Disamping itu juga mengandung antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga diharapkan tidak terjadi kontaminasi oleh bakteri dan hanya jamur serta ragi saja yang dapat tumbuh di dalamnya.

Peremajaan bakteri serta jamur dilakukan di dalam Laminar Air Flow (LAF) secara aseptis di dekat api bunsen dengan cara sebelum mengambil biakan, ose harus dipanaskan dahulu di atas api bunsen. Hal ini bertujuan untuk mematikan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan (Waluyo, 2011). Setelah itu diambil 1 ose biakan bakteri kemudian digoreskan dalam media NA miring. Sedangkan untuk jamur, 1 ose dari biakan murni digoreskan pada PDA miring.

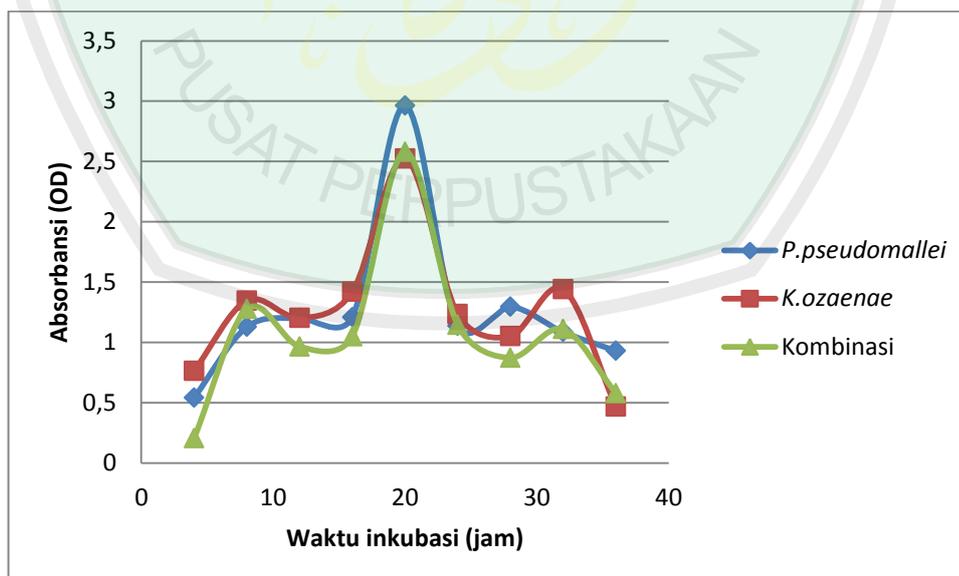
Bakteri selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Sedangkan jamur diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang.

Lama waktu inkubasi bakteri berbeda dengan jamur. Waktu inkubasi bakteri yang digunakan dalam peremajaan umumnya adalah 24 jam (Pelczar dan Chan, 2008), sedangkan pada jamur umumnya 5 sampai 7 hari (Wijayanti, 2003). Dwidjoseputro (1994) menambahkan, inkubasi bakteri dilakukan selama 24 jam karena pada waktu tersebut bakteri dimungkinkan telah berada pada fase logaritmik atau eksponensial, pada fase tersebut bakteri melakukan pembelahan secara konstan dan jumlah sel meningkat. Waktu 24 jam merupakan waktu panen, dimana waktu tersebut telah berada pada fase logaritmik atau eksponensial yang jumlah selnya terbanyak yaitu mencapai 10 sampai 15 milyar sel bakteri per mililiter (Pelczar dan Chan, 2008).

4.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Kurva pertumbuhan bakteri dalam penelitian ini dibuat untuk mengetahui masa fase logaritmik atau eksponensial dari bakteri *P.pseudomallei*, *K.ozaenae*, maupun kombinasi kedua bakteri tersebut. Pada fase tersebut bakteri dapat membelah dengan cepat menjadi dua kali lipat pada waktu inkubasi tertentu, sehingga jumlah sel juga akan semakin banyak. Menurut Pelczar dan Chan (2008), jumlah sel pada fase logaritmik merupakan jumlah sel yang terbanyak dari fase-fase lainnya. Dengan mengetahui fase logaritmik bakteri, maka akan mudah untuk menentukan waktu panen enzim kitinase, dan diharapkan apabila jumlah sel bakteri banyak, maka enzim yang dihasilkan juga semakin banyak pula.

Mula-mula dibuat larutan inokulum terlebih dahulu. Larutan inokulum ini dibuat dengan tujuan untuk memperpendek fase adaptasi (Saropah, 2012; Syam, 2008). Tujuan lain dari larutan inokulum adalah untuk mendapatkan biakan bakteri yang cepat tumbuh dan berkembangbiak. Larutan inokulum ini dibuat dengan cara mengambil biakan bakteri sebanyak 1 ose kemudian diinokulasikan ke dalam 200 ml media cair kitin. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37⁰C dalam shaker pada kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Sebanyak 25 ml larutan inokulum ditambahkan ke dalam 250 ml media yang sama, kemudian diinkubasi pada suhu, kecepatan, dan waktu yang sama pula. Setiap 4 jam sekali diambil sebanyak 1 ml larutan tersebut untuk diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 660 nm. Kurva pertumbuhan bakteri didapatkan dengan cara membuat plot antara waktu inkubasi dan absorbansinya.



Gambar 4.1. Kurva pertumbuhan bakteri

Bakteri *P.pseudomallei*, *K.ozaenae*, maupun kombinasi keduanya memiliki fase pertumbuhan yang berbeda-beda. Fase adaptasi bakteri *P.pseudomallei* terjadi mulai jam ke-0 sampai jam ke-8. Pada fase ini absorbansi bakteri masih belum meningkat tajam (data absorbansi pada lampiran 3), karena bakteri masih dalam tahap penyesuaian diri dengan lingkungan pada media. Kemudian dilanjutkan dengan fase logaritmik atau eksponensial pada jam ke-8 sampai jam ke-20. Pada fase ini bakteri mengalami pembelahan secara cepat dan jumlah sel menjadi dua kali lipat. Hal ini dapat dilihat pada kurva pertumbuhan bakteri *P.pseudomallei* (Gambar 4.1) bahwa pada jam ke-20 jumlah sel bakteri meningkat tajam. Menurut Pelczar dan Chan (2008), lama fase ini kurang lebih selama 24 jam.

Setelah mengalami fase logaritmik atau eksponensial, bakteri akan mengalami fase stasioner atau fase statis. Waluyo (2011) mengungkapkan, pada fase ini nutrisi sudah berkurang sehingga pertumbuhan bakteri menjadi tidak stabil. Fase statis pada bakteri *P.pseudomallei* terlihat pada jam ke-20 sampai jam ke-28. Berdasarkan kurva, jumlah sel pada fase ini terlihat tidak stabil. Pada jam ke-20 sampai ke-24 jumlah sel menurun, namun mengalami kenaikan lagi pada jam ke-24 sampai jam ke-28. Hal ini sesuai dengan pernyataan Waluyo (2011), pertumbuhan sel bakteri pada fase statis tidak stabil karena jumlah sel yang masih hidup lebih banyak daripada jumlah sel bakteri yang mati.

Fase akhir dari pertumbuhan bakteri adalah fase kematian, yaitu fase dimana jumlah sel bakteri mengalami penurunan. Pada bakteri *P.pseudomallei*, fase kematian terjadi mulai jam ke-28 ditunjukkan dengan menurunnya plot kurva

antara hasil absorbansi dengan lama waktu inkubasi. Menurut Pelczar dan Chan (2008), fase kematian bakteri dicirikan dengan kematian sel lebih cepat daripada pertumbuhan sel, laju kematian menjadi lebih cepat, dan semua sel akan mati dalam waktu tertentu sesuai dengan spesiesnya. Waluyo (2011) menambahkan bahwa jumlah sel yang mati semakin lama akan semakin banyak. Kematian sel bakteri pada fase ini disebabkan karena nutrisi dalam media dan energi yang dibutuhkan sudah habis.

Pertumbuhan bakteri *K.ozanae* memiliki pola yang hampir sama dengan pertumbuhan bakteri *P.pseudomallei*. Hanya berbeda pada fase kematiannya saja. Begitu pula pada bakteri kombinasi. Fase adaptasi bakteri *K.ozanae* dan bakteri kombinasi dimulai pada jam ke-0 sampai jam ke-8. Disusul dengan fase logaritmik atau eksponensial yaitu terjadi mulai jam ke-8 sampai jam ke-20. Kemudian fase statis atau stasioner terjadi pada jam ke-20 sampai jam ke-32, dan fase kematian terjadi mulai jam ke-32. Fase kematian ketiga bakteri ini terjadi pada waktu yang berbeda. Bakteri *P.pseudomallei* mengalami fase kematian lebih awal, yaitu mulai jam ke-28 jika dibandingkan dengan bakteri *K.ozanae* dan bakteri kombinasi keduanya, yaitu mulai jam ke-32.

Berdasarkan kurva pertumbuhan bakteri yang telah diketahui, dapat dilihat bahwa ketiga bakteri berada dalam fase logaritmik atau eksponensial pada jam ke-20. Waktu tersebut selanjutnya akan digunakan untuk produksi enzim kitinase oleh bakteri *P.pseudomallei*, *K.ozanae*, dan kombinasi kedua bakteri tersebut.

4.3 Produksi Enzim Kitinase Kasar dari *P.pseudomallei* dan *K.ozzaenae*

Produksi enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei*, *K.ozzaenae*, dan kombinasi kedua bakteri tersebut dilakukan dengan cara mengambil 1 ose biakan bakteri dari media NA miring yang sudah diremajakan. Kemudian diinokulasikan ke dalam media kitin cair untuk digunakan sebagai larutan inokulum. Seperti halnya dalam pembuatan kurva pertumbuhan bakteri, pembuatan larutan inokulum ini bertujuan mendapatkan biakan yang aktif dan memiliki jumlah sel yang banyak (Waluyo, 2008). Larutan inokulum tersebut diinkubasi pada suhu 37°C dalam shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Setelah 24 jam inkubasi, larutan tersebut diambil sebanyak 25 ml dan ditambahkan ke dalam 250 ml media yang sama, dan diinkubasi pada suhu dan kecepatan rpm yang sama, namun waktu inkubasi yang berbeda, yaitu 20 jam. Waktu inkubasi ini ditentukan berdasarkan waktu dimana bakteri telah berada pada fase logaritmik atau eksponensial. Pada fase tersebut jumlah sel meningkat menjadi dua kali lipat (Pelczar dan Chan, 2008), sehingga diharapkan pada saat jumlah sel meningkat, maka enzim kitinase yang dihasilkan juga semakin banyak.

Enzim kitinase dipanen pada jam ke-20 yaitu dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan enzim dengan sel bakteri. Suhu rendah yang digunakan bertujuan agar enzim tidak rusak (Koolman, 2000 dalam Muthmainah, 2011). Prinsip dari sentrifugasi adalah untuk memisahkan enzim berdasarkan berat molekul. Hasil sentrifugasi dengan berat molekul rendah akan berada di atas, sedangkan yang berat akan berada di bawah (Koolman, 2000 dalam Muthmainah, 2011). Supernatan yang didapatkan

merupakan enzim kitinase kasar yang siap digunakan dalam pengujian selanjutnya.

4.4 Kemampuan Enzim Kitinase Kasar dalam Menghambat Pertumbuhan

F.oxysporum

Pengukuran zona hambat enzim kitinase kasar dari bakteri *Pseudomonas pseudomallei*, *Klebsiella ozaenae*, dan kombinasi kedua bakteri tersebut terhadap pertumbuhan jamur *F.oxysporum* dilakukan pada hari ke-2, ke-4, dan ke-6 setelah inokulasi jamur dan enzim ke dalam media PDA dalam cawan petri. Berdasarkan hasil pengamatan, ketiga jenis enzim tersebut memiliki daya hambat yang berbeda-beda. Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) Oneway untuk mengetahui ada dan tidaknya pengaruh dari masing-masing perlakuan.

Tabel 4.1 Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Oneway Pengaruh Enzim Kitinase Terhadap Pertumbuhan *F.oxysporum* Hari ke-2

| SK | db | JK | KT | F _{hitung} | F _{tabel 5%} |
|-----------|----|--------|-------|---------------------|-----------------------|
| Perlakuan | 3 | 6,115 | 2,038 | 1,324 | 3,03 |
| Galat | 20 | 30,795 | 1,540 | | |
| Total | 23 | 36,906 | | | |

Tabel 4.2 Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Oneway Pengaruh Enzim Kitinase Terhadap Pertumbuhan *F.oxysporum* Hari ke-4

| SK | db | JK | KT | F _{hitung} | F _{tabel 5%} |
|-----------|----|---------|--------|---------------------|-----------------------|
| Perlakuan | 3 | 82,250 | 27,417 | 3,352 | 3,03 |
| Galat | 20 | 163,583 | 8,179 | | |
| Total | 23 | 245,833 | | | |

Tabel 4.3 Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Oneway Pengaruh Enzim Kitinase Terhadap Pertumbuhan *F.oxysporum* Hari ke-6

| SK | db | JK | KT | F _{hitung} | F _{tabel 5%} |
|-----------|----|----------|---------|---------------------|-----------------------|
| Perlakuan | 3 | 606,365 | 202,122 | 6,443 | 3,03 |
| Galat | 20 | 627,375 | 31,369 | | |
| Total | 23 | 1233,740 | | | |

Berdasarkan hasil analisis ANOVA pada hari ke-2 setelah inokulasi menunjukkan bahwa $F_{hitung} < F_{tabel 5\%}$ (Tabel 4.1), hal ini berarti perlakuan pemberian enzim kitinase kasar yang diisolasi dari bakteri *Klebsiella ozaena*, *Pseudomonas pseudomallei*, maupun kombinasi keduanya belum memberikan pengaruh bagi pertumbuhan jamur *F.oxysporum*. Tidak adanya pengaruh tersebut diakibatkan karena jamur *F.oxysporum* yang berada di tengah-tengah cawan belum berinteraksi dengan enzim kitinase yang berada di tepi cawan petri. Adanya pengaruh nyata pemberian enzim kitinase terhadap pertumbuhan jamur *F.oxysporum* baru terlihat dari hasil analisis hari ke-4 dan ke-6 setelah inokulasi, yaitu $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$ (Tabel 4.2 dan 4.3). Pengaruh tersebut dikarenakan jamur *F.oxysporum* telah berinteraksi dengan enzim kitinase. Uji lanjut kemudian dilakukan menggunakan Duncan dengan taraf 5% karena pemberian enzim kitinase memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan jamur *F.oxysporum*. Berikut merupakan data hasil perhitungan zona hambat yang diperoleh:

Tabel 4.4 Pengaruh enzim kitinase terhadap pertumbuhan *F.oxysporum*

| Perlakuan (Enzim dari-) | Zona hambat (mm) hari ke- | | |
|---|---------------------------|---------|---------|
| | 2 | 4 | 6 |
| Kontrol | 0,08 a | -0,8 a | -1,17 a |
| <i>Klebsiella ozaenae</i> (Ko) | -0,5 a | 1,83 ab | 4,08 ab |
| <i>Pseudomonas pseudomallei</i> + <i>Klebsiella ozaenae</i> (Km) | 0,91 a | 3,41 b | 9,17 bc |
| <i>Pseudomonas pseudomallei</i> (Pp) | 0,25 a | 3,91 b | 12 c |

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan Duncan 5%.

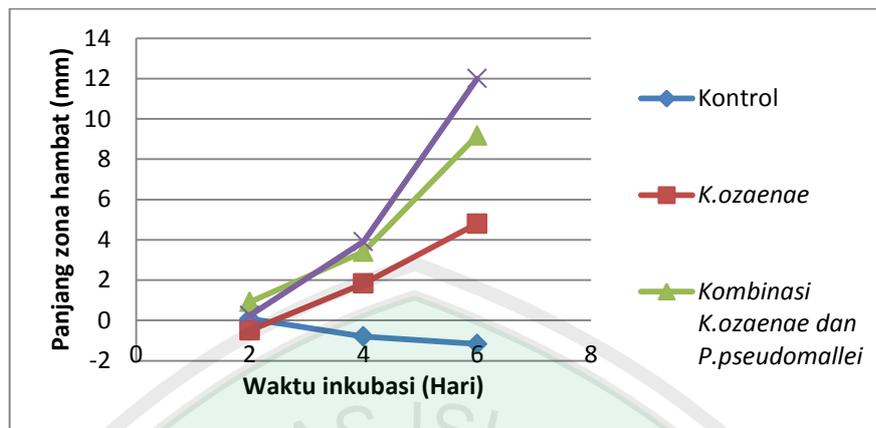
Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan, pada pengamatan hari ke-4 menunjukkan bahwa perlakuan pemberian enzim kitinase yang diisolasi dari bakteri *K.ozanae* tidak berbeda nyata dengan perlakuan pemberian enzim dari *P.pseudomallei* dan kombinasi, serta tidak berbeda nyata pula dengan perlakuan kontrol yang hanya direndam aquades steril. Namun perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei* dan kombinasi kedua bakteri berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei* dan kombinasi sama-sama memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan jamur *F.oxysporum* jika dibandingkan dengan kontrol.

Pengamatan hari ke-6 menunjukkan hasil bahwa perlakuan pemberian enzim kitinase kasar dari *P.pseudomallei*, *K.ozanae*, dan kombinasi memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan jamur *F.oxysporum*. Hal ini dapat diketahui berdasarkan uji Duncan 5% yaitu perlakuan pemberian enzim kitinase dari *K.ozanae* memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dan perlakuan enzim kitinase dari bakteri kombinasi. Namun perlakuan enzim kitinase dari *K.ozanae* memberikan pengaruh yang berbeda nyata dengan

perlakuan enzim dari bakteri kombinasi maupun dengan perlakuan enzim dari bakteri *P.pseudomallei*. Perlakuan enzim dari bakteri *P.pseudomallei* dapat dilihat bahwa perlakuan ini memberikan pengaruh yang paling nyata jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol.

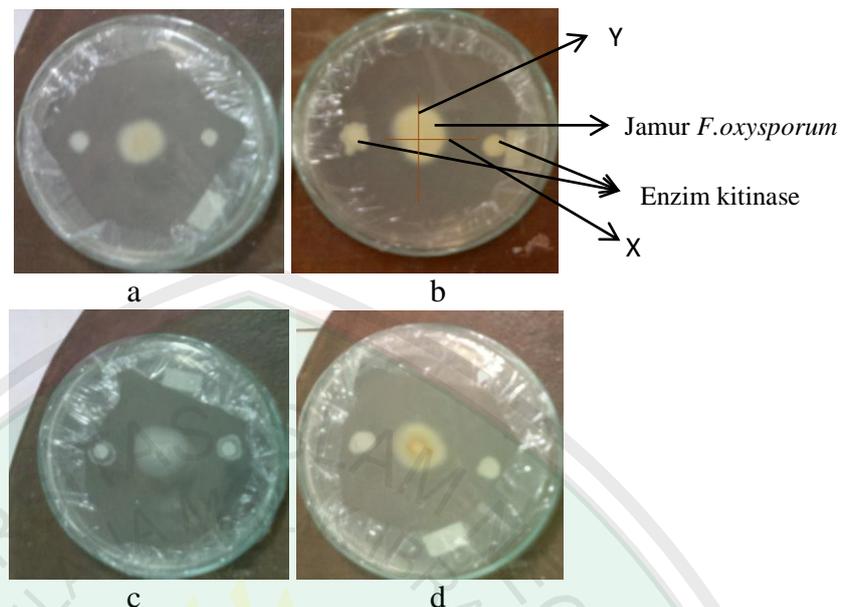
Berdasarkan uji Duncan 5% dapat disimpulkan bahwa perlakuan enzim baik dari bakteri *P.pseudomallei*, *K.ozzae*, dan kombinasi keduanya, sama-sama memberikan pengaruh bagi pertumbuhan jamur *F.oxysporum*, namun perlakuan yang memberikan pengaruh paling nyata adalah perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei*.

Panjang zona hambat yang terlihat pada masing-masing perlakuan memiliki nilai yang berbeda-beda (Gambar 4.6). Pengamatan pada hari ke-2, nilai zona hambat yang dihasilkan oleh semua perlakuan adalah kurang dari 1 mm. Perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri *K.ozzae*, bakteri kombinasi, dan bakteri *K.ozzae* memiliki zona hambat berturut-turut adalah -0,5 mm, 0,91 mm, dan 0,25 mm. Kecilnya zona hambat ini dikarenakan jamur *F.oxysporum* belum berinteraksi dengan enzim kitinase yang diberikan, karena belum berinteraksi, maka kitin pada dinding sel jamur belum didegradasi oleh enzim, sehingga pertumbuhan jamur masih normal dan belum terhambat oleh enzim (Gambar 4.7). Oleh karena itu pada hari ke-2 ini belum memberikan pengaruh bagi pertumbuhan jamur *F.oxysporum*. Sedangkan zona hambat yang sudah terlihat yaitu lebih dari 1 mm terdapat pada pengamatan hari ke-4 dan ke-6.



Gambar 4.2. Grafik panjang zona hambat terhadap waktu inkubasi

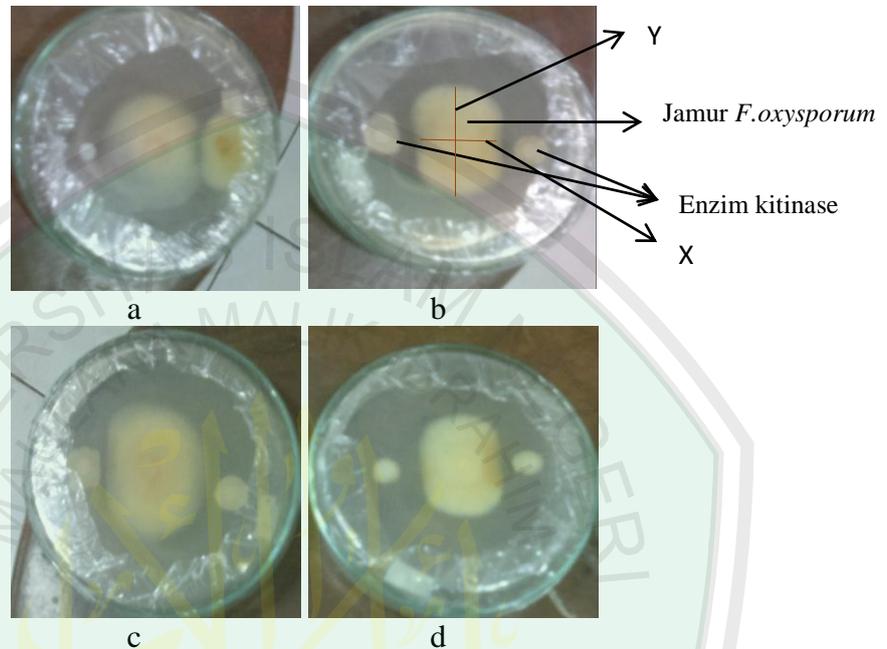
Pengamatan pada hari ke-4, zona hambat terbesar didapatkan pada perlakuan jamur yang diberi enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei* yaitu sebesar 3,91 mm. Diikuti oleh perlakuan enzim kitinase dari bakteri kombinasi *P.pseudomallei* dan *K.ozaenae* yaitu sebesar 3,41 mm, serta zona hambat terkecil terlihat pada perlakuan enzim kitinase dari bakteri *K.ozaenae* yaitu 1,83 mm (Gambar 4.8). Pengamatan pada hari ke-6 menunjukkan bahwa zona hambat yang dihasilkan oleh masing-masing perlakuan semakin meningkat. Secara berurutan, nilai zona hambat yang dihasilkan pada perlakuan enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei*, kombinasi *P.pseudomallei* dan *K.ozaenae*, serta *K.ozaenae* berturut-turut adalah 12 mm; 9,17 mm; dan 4,08 mm (Gambar 4.9). Peningkatan zona hambat tersebut menunjukkan bahwa semakin lama jamur *F.oxysporum* berinteraksi dengan kitinase, maka semakin panjang zona hambat yang dihasilkan.



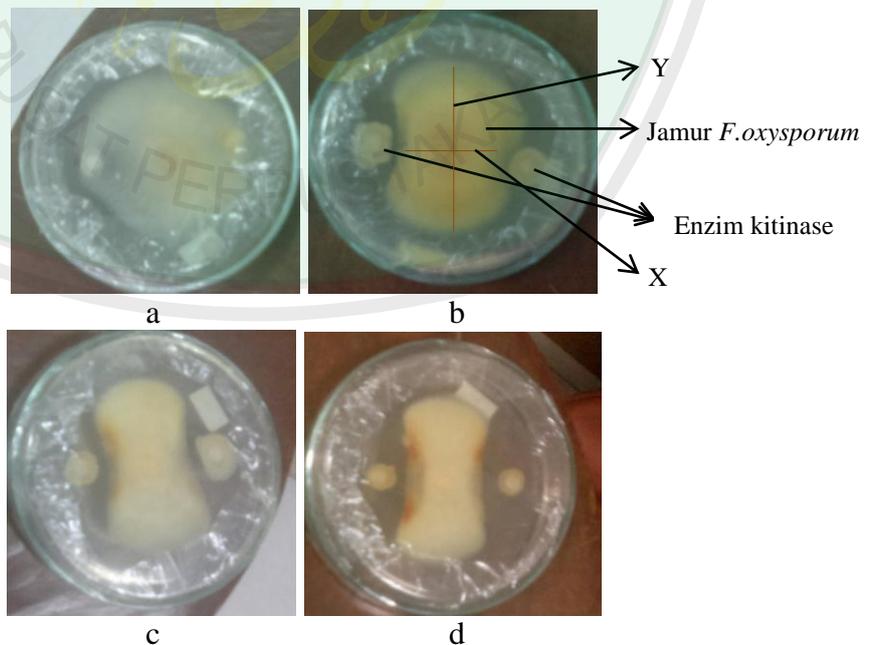
Gambar 4.3. Zona hambat hari ke-2. a Kontrol; b. Enzim dari bakteri kombinasi *K.ozzaenae* dan *P.pseudomallei*; c. Enzim dari bakteri *K.ozzaenae*; d. Enzim dari bakteri *P.pseudomallei*

Besarnya nilai zona hambat dihitung dengan menggunakan rumus $\frac{Y-X}{2}$, dimana Y merupakan panjang diameter jamur *F.oxysporum* yang normal, dan X adalah panjang diameter jamur *F.oxysporum* yang terhambat oleh enzim kitinase. Nilai zona hambat pada perlakuan kontrol pada hari ke-2, ke-4, dan ke-6 berturut-turut adalah 0,08 mm; -0,8 mm; dan -1,17 mm. Semakin lama waktu inkubasi, maka nilai zona hambat yang dihasilkan semakin kecil. Dalam hal ini ditunjukkan dengan adanya nilai minus (-) pada nilai zona hambat. Tanda minus menunjukkan bahwa nilai Y yang dihasilkan lebih kecil daripada nilai X, sehingga nilai akhir yang didapatkan adalah minus (-). Nilai akhir yang minus (-) berarti bahwa perlakuan yang diberikan tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan jamur *F.oxysporum*. Berdasarkan data nilai zona hambat yang diperoleh, maka dapat diketahui bahwa enzim kitinase yang optimal dalam menghambat pertumbuhan jamur *F.oxysporum* enzim kitinase yang diisolasi dari

bakteri *P.pseudomallei* yaitu yang memiliki nilai zona hambat terbesar (Gambar 4.2).



Gambar 4.4. Zona hambat hari ke-4. a Kontrol; b. Enzim dari bakteri kombinasi *K.ozaenae* dan *P.pseudomallei*; c. Enzim dari bakteri *K.ozaenae*; d. Enzim dari bakteri *P.pseudomallei*



Gambar 4.5. Zona hambat hari ke-6. a Kontrol; b. Enzim dari bakteri kombinasi *K.ozaenae* dan *P.pseudomallei*; c. Enzim dari bakteri *K.ozaenae*; d. Enzim dari *P.pseudomallei*

Berdasarkan gambar 4.5, 4.6, dan 4.7, pada daerah yang terpapar enzim kitinase, miselium tidak dapat terus tumbuh seperti halnya pada daerah yang tidak diberi perlakuan enzim kitinase. Hal ini menunjukkan bahwa pada daerah yang diberi perlakuan enzim kitinase, miselium tidak dapat tumbuh normal dan tidak dapat melakukan lisis dinding sel (anastomosis). Menurut Gandjar dkk. (2006), miselium merupakan salah satu komponen penyusun jamur. Miselium terbentuk dari kumpulan hifa yang menyerupai benang halus dan berwarna putih. Pembentukan miselium terjadi karena adanya peristiwa yang disebut anastomosis. Anastomosis merupakan terjadinya lisis dinding sel pada titik sentuh cabang-cabang hifa sehingga protoplasma akan mengalir ke semua hifa. Akibatnya, miselium jamur akan semakin banyak dan membentuk koloni.

Adanya hambatan pada daerah yang diberi perlakuan enzim kitinase juga menunjukkan bahwa kitinase merupakan antijamur yang dapat menghambat proses pertumbuhan jamur. Hambatan tersebut menyebabkan miselium tidak dapat memanfaatkan nutrisi yang ada pada media dengan sebaik-baiknya. Akibatnya miselium pada daerah zona hambat menjadi kekurangan nutrisi. Campbell (2002) menjelaskan, miselium dapat tumbuh dengan cepat karena miselium dapat menyerap nutrisi-nutrisi yang ada pada media tempat miselium tumbuh. Cepatnya pertumbuhan tersebut juga diakibatkan karena hifa-hifa dapat mengalirkan nutrisi yang didapatkan melalui aliran sitoplasmik menuju ujung hifa yang menjulur.

Trifena (2007) juga menjelaskan bahwa enzim kitinase merupakan salah satu senyawa yang dapat mengganggu proses metabolisme. Metabolisme

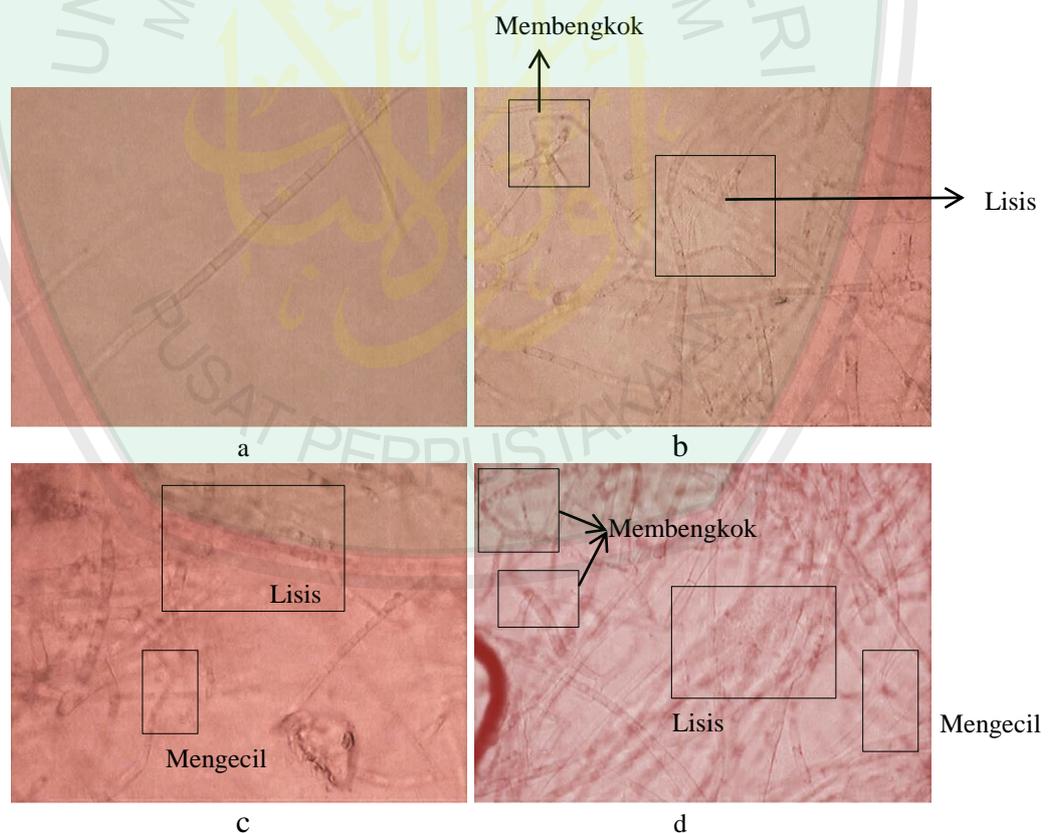
merupakan semua proses yang terjadi di dalam tubuh, dilakukan oleh sel, dan dapat menghasilkan energi. Energi yang diperoleh dari proses metabolisme selanjutnya akan digunakan dalam pembentukan komponen-komponen di dalam sel, misalnya dinding sel (Pelczar dan Chan, 2008). Proses metabolisme yang terganggu oleh pemberian enzim kitinase, akibatnya sel tidak dapat menghasilkan energi yang digunakan untuk membangun dinding sel. Akhirnya komponen dinding sel, salah satunya yaitu kitin juga tidak terbentuk, sel menjadi mati, dan pertumbuhan jamur menjadi terhambat.

Terhambatnya pertumbuhan yang terjadi pada jamur *F.oxysporum* ini menunjukkan bahwa kitinase yang diberikan telah mengganggu proses metabolisme di dalam sel jamur. Mekanisme yang dilakukan oleh enzim kitinase ini adalah enzim kitinase dapat berikatan dengan membran sel jamur yang dapat menyebabkan kebocoran sitoplasma. Kebocoran tersebut dapat mengganggu proses transportasi zat-zat yang diperlukan dalam proses metabolisme. Terjadinya gangguan pada proses transportasi zat akan menyebabkan proses metabolisme terhambat. Akibat proses metabolisme terhambat, maka pertumbuhan jamur juga terhambat (Trifena, 2007; Ferniah, 2003). Adanya pengaruh yang diberikan oleh enzim kitinase dalam menghambat proses pertumbuhan jamur *F.oxysporum*, maka kemudian dilakukan pengamatan lebih lanjut tentang morfologi miselium jamur untuk mengetahui akibat yang terjadi pada miselium jamur karena pemberian enzim kitinase kasar.

4.5 Kemampuan Enzim Kitinase Kasar dalam Mempengaruhi Morfologi

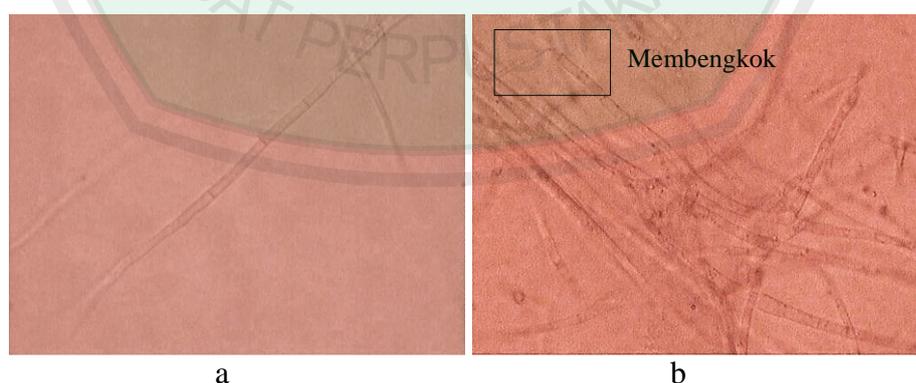
F.oxysporum

Morfologi miselium jamur *F.oxysporum* diamati untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada miselium akibat diberi perlakuan pemberian enzim kitinase. Pengamatan dilakukan dengan cara mencampur suspensi miselium dengan enzim kitinase kasar sebanyak 1:1, kemudian diinkubasi selama 2, 4, dan 6 jam pada suhu 37⁰C. Inkubasi dilakukan agar substrat miselium jamur dapat berikatan dengan enzim, sehingga dapat mempengaruhi morfologi miseliumnya. Kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x.

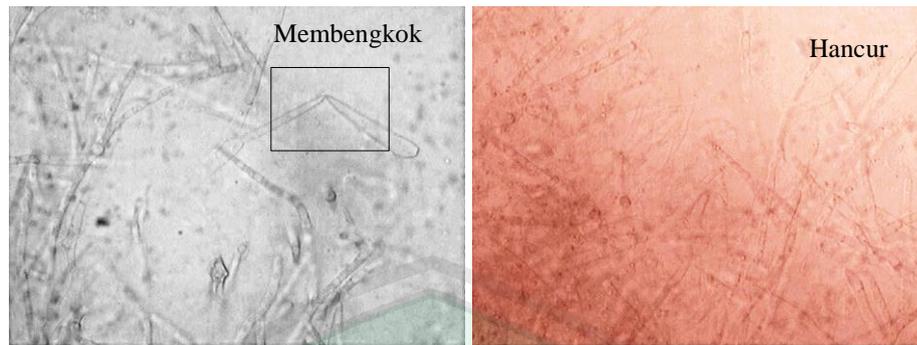


Gambar 4.6. Morfologi miselium *F.oxysporum* dengan perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei*. a) Kontrol. b) Inkubasi 2 jam, hifa membengkok dan lisis. c) Inkubasi 4 jam, hifa mengecil, lisis. d) Inkubasi 6 jam, membengkok, lisis, mengecil. (Perbesaran 400x)

Gambar 4.6 merupakan gambar hasil pengamatan morfologi miselium jamur *F.oxysporum* yang diberi perlakuan dengan enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei*. Berdasarkan gambar tersebut dapat dilihat perbedaan morfologi antara miselium jamur yang normal (kontrol) dan yang mengalami kerusakan. Gambar 4.6a merupakan miselium jamur normal yaitu tanpa pemberian enzim kitinase. Miselium normal terlihat lurus dan tidak ada kerusakan. Morfologi miselium normal sangat jauh berbeda jika dibandingkan dengan gambar 4.6b, 4.6c, dan 4.6d yang merupakan hifa abnormal setelah diberi enzim dan diinkubasi selama 2, 4, dan 6 jam. Abnormalitas yang dapat dilihat meliputi hifa mengecil, membengkok, dan lisis. Begitu pula dengan morfologi miselium jamur yang diberi enzim kitinase dari bakteri *K.ozanae* dan bakteri kombinasi (Gambar 4.7 dan 4.8). Namun abnormalitas miselium yang diberi enzim kitinase dari ketiga bakteri, secara morfologi tidak jauh berbeda dari masing-masing perlakuan pemberian enzim kitinase tersebut.



Gambar 4.7. Morfologi miselium *F.oxysporum* dengan perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri *K.ozanae*. a) Kontrol. b) Inkubasi 2 jam, hifa membengkok.



c

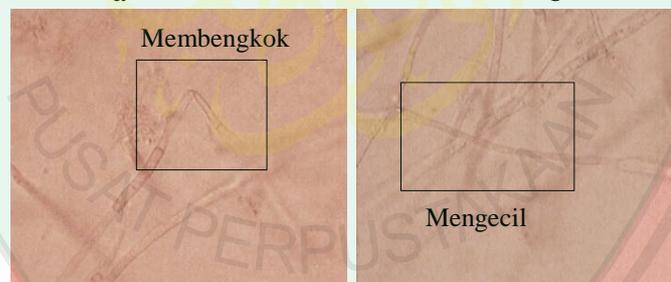
d

Lanjutan gambar 4.7. c) Inkubasi 4 jam, hifa membengkok. d) Inkubasi 6 jam, hifa hancur. (Perbesaran 400x)



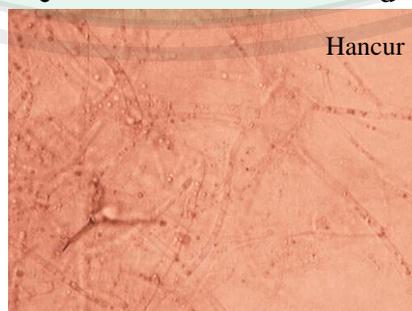
a

b



c

d



e

Gambar 4.8. Morfologi miselium *F.oxysporum* dengan perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri kombinasi (*P.pseudomallei* + *K.ozzaenae*). a) Kontrol. b) Inkubasi 2 jam, hifa membengkok dan lisis. c) Inkubasi 4 jam, hifa membengkok. d). Inkubasi 4 jam, hifa mengecil. e) Inkubasi 6 jam, hifa hancur. (Perbesaran 400x)

Jamur memiliki struktur fungus berbentuk seperti benang halus yang disebut hifa. Kumpulan dari hifa disebut miselium. Hifa diselubungi oleh dinding sel kuat yang berfungsi memberi bentuk pada sel dan melindungi isi sel dari lingkungan luar. Dinding sel jamur terdiri dari kitin yang merupakan komponen penting di dalamnya (Gandjar dkk., 2006). Hasil pengamatan terhadap morfologi miselium jamur *F.oxysporum* yang diberi perlakuan enzim kitinase mengalami kerusakan atau berubah menjadi abnormal. Abnormalitas yang terlihat diantaranya adalah hifa menjadi mengecil, membengkok, lisis, bahkan hancur. Hasil ini juga membuktikan bahwa pada jamur yang proses pertumbuhannya terhambat, maka proses metabolisme yang terjadi di dalam sel juga terhambat.

Abnormalitas yang terjadi diakibatkan karena enzim kitinase dapat mengganggu proses terbentuknya dinding sel, dimana komponen utama dinding sel jamur adalah kitin. Apabila suatu kitin dipapar dengan enzim kitinase, maka kitin dapat terdegradasi. Sebagaimana diungkapkan oleh Toharisman (2007) bahwa kitinase berfungsi mendegradasi kitin menjadi monomernya. Akibat dari terpaparnya kitin oleh enzim kitinase, maka komponen kitin yang dibutuhkan untuk pembentukan dinding sel menjadi rusak. Rusaknya kitin juga menyebabkan rusaknya dinding sel. Dinding sel yang rusak tidak akan dapat berfungsi sebagaimana mestinya.

Dinding sel berfungsi untuk memberi bentuk pada sel dan juga melindungi bagian dalam sel dari lingkungan luar (Gandjar dkk., 2006). Apabila dinding sel mengalami kerusakan, maka fungsi tersebut akan hilang. Akibatnya isi sel atau sitoplasma dapat keluar menuju luar sel. Oleh karena itu pada penelitian

ini ditemukan hifa menjadi membengkok, mengecil, lisis dan bahkan menjadi hancur. Hasil penelitian yang sama diungkapkan oleh Yurnaliza (2011), bahwa enzim kitinase dari *Streptomyces* RKt5 terbukti dapat menjadikan abnormal hifa *F.oxysporum*, seperti lisis dan hifa menjadi lebih pendek daripada hifa normal. Begitu pula Velusamy (2011) menyatakan bahwa hasil penelitiannya menunjukkan abnormalitas pada hifa *F.oxysporum* akibat pemberian enzim kitinase dari *Pseudomonas* sp., yaitu hifa menjadi lisis.

Mekanisme lain yang dilakukan oleh enzim kitinase terhadap morfologi miselium jamur *F.oxysporum* adalah dengan mengganggu permeabilitas membran sel. Menurut Pelczar dan Chan (2008), membran sel berfungsi untuk mengatur keluar masuknya zat-zat yang diperlukan sel untuk melangsungkan proses metabolisme. Suatu zat yang dapat mengganggu proses transpor zat-zat tersebut salah satunya adalah enzim kitinase, yaitu salah satu kelompok senyawa antijamur yang disebut polien. Kelompok ini akan berikatan dengan membran sel jamur dan mengakibatkan perbedaan tekanan osmotik antara 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 (Trifena, 2007).

4.6 Kemampuan Enzim Kitinase Kasar dalam Menghidrolisis Kitin

***F.oxysporum* menjadi N-asetilglukosamin (NAG)**

Hasil pengukuran kadar N-asetilglukosamin dianalisis menggunakan ANOVA Oneway. Berdasarkan uji ANOVA, pemberian enzim kitinase dari bakteri *Pseudomonas pseudomallei*, *Klebsiella ozaenae*, dan kombinasi keduanya

memberikan pengaruh terhadap kadar N-asetilglukosamin *F.oxysporum*. Hal ini dapat diketahui berdasarkan jumlah F hitung > daripada F tabel 5%.

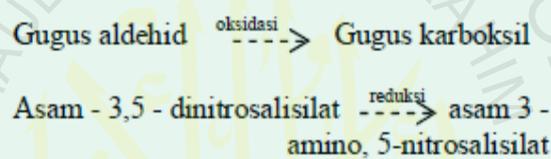
Tabel 4.5 Hasil Analisis Variansi (ANOVA) Oneway Pengaruh Enzim Kitinase Terhadap kadar N-asetilglukosamin (NAG) *F.oxysporum*

| SK | db | JK | KT | F _{hitung} | F _{tabel 5%} |
|-----------|----|------------|-----------|---------------------|-----------------------|
| Perlakuan | 3 | 76148,567 | 25382,856 | 3,043 | 3,03 |
| Galat | 20 | 166812,956 | 8340,648 | | |
| Total | 23 | 242961,522 | | | |

Pengukuran kadar N-asetilglukosamin dilakukan untuk mengetahui potensi enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei*, *K.ozanae*, dan kombinasi kedua bakteri tersebut dalam menghidrolisis kitin jamur *F.oxysporum* menjadi monomernya yaitu N-asetilglukosamin. Tujuan pengujian kadar dilakukan pada jamur *F.oxysporum*, oleh karena itu tahap awal yang dilakukan adalah membuat substrat yang berasal dari miselium jamur. Caranya dengan menumbuhkan jamur pada media PDB, kemudian dipanen dan disentrifugasi untuk mendapatkan pelet yang akan dijadikan substrat. Pelet hasil sentrifugasi adalah miselium jamur yang kemudian disuspensikan dengan bufer pospat pH 7, karena pada umumnya bakteri kitinolitik salah satunya adalah genus *Pseudomonas* memiliki pH optimum 7 (Noviendri, 2008).

Metode Miller (1959) digunakan dalam penelitian ini, yaitu menggunakan reagen DNS modifikasi untuk mendeteksi adanya N-asetilglukosamin yang terhidrolisis akibat terjadinya ikatan antara enzim kitinase dengan substrat kitin dari miselium jamur *F.oxysporum*. Menurut Rahmansyah (2003), reagen DNS modifikasi lebih efektif dalam mengikat gula reduksi hasil

hidrolisis. Adanya gula reduksi yang terdeteksi menandakan terjadinya aktivitas enzim dalam reaksi tersebut. Modifikasi yang digunakan dalam metode ini adalah dengan penambahan sulfite (Na_2SO_3) dan fenol. Pembuatan reagen DNS dapat dilihat pada lampiran 2. Manggadani (2012) menjelaskan, prinsip dari metode ini yaitu melibatkan reaksi reduksi dan oksidasi antara asam 3,5 dinitrosalisilat dan gula reduksi hasil hidrolisis enzimatis yaitu N-asetilglukosamin. Asam 3,5 dinitrosalisilat akan direduksi oleh N-asetilglukosamin menjadi 3-amino-5-nitrosalisilat.



Gambar 4.9. Mekanisme reaksi asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS) (Syam, 2008)

Tahap selanjutnya dalam pengujian yaitu mencampur substrat miselium dengan enzim kitinase kasar dari masing-masing perlakuan bakteri. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit untuk mempercepat proses reaksi antara substrat dan enzim. Setelah itu, larutan tersebut diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan dengan 2 ml reagen DNS. Kemudian ditambahkan 1 ml larutan K-Na-tartrat 4% setelah terbentuk kompleks warna antara DNS dan gula reduksi hasil hidrolisis. Dilanjutkan dengan pemanasan dalam air mendidih selama 15 menit agar proses pengikatan N-asetilglukosamin oleh DNS dapat berjalan dengan cepat. Setelah itu diencerkan dengan aquades, lalu larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang optimum yaitu, 540 nm (Rahmansyah,

2003). Data pengukuran kadar N-asetilglukosamin yang didapatkan adalah sebagai berikut:

Tabel 4.6 Pengaruh enzim kitinase terhadap kadar N-asetilglukosamin (NAG) *F.oxysporum*

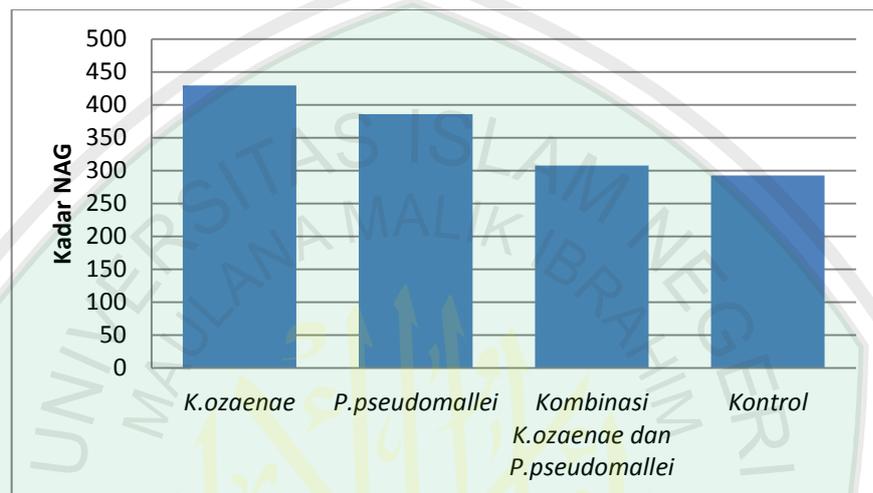
| Perlakuan Enzim dari Bakteri: | Kadar NAG ($\mu\text{g/ml}$) |
|--|--------------------------------|
| Kontrol | 292,44 a |
| <i>Pseudomonas pseudomallei</i> + <i>Klebsiella ozaenae</i> (Km) | 307,44 a |
| <i>Pseudomonas pseudomallei</i> (Pp) | 385,78 ab |
| <i>Klebsiella ozaenae</i> (Ko) | 429,67 b |

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan Duncan 5%.

Berdasarkan tabel di atas, dapat diketahui bahwa perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri *K.ozaenae* berbeda nyata dengan kontrol dan perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri kombinasi. Namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei*. Perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei* dan kombinasi kedua bakteri, sama-sama tidak berbeda nyata dengan kontrol.

Adanya N-asetilglukosamin yang terdeteksi dalam media setelah penambahan reagen DNS atau asam 3,5 dinitrosalisilat, membuktikan bahwa dalam media tersebut terjadi reaksi enzimatik, yaitu substrat kitin yang ada dalam miselium jamur telah berikatan dengan enzim kitinase dari masing-masing perlakuan bakteri. Hasil reaksi tersebut menghasilkan suatu produk yang disebut N-asetilglukosamin, yaitu suatu monomer dari kitin. Menurut Toharisman (2007), mekanisme degradasi atau hidrolisis kitin secara enzimatik dimulai dari perubahan kitin menjadi kitin oligomer dengan bantuan enzim kitinase. Kemudian dengan

bantuan enzim GINAc-ase, kitin oligomer diubah menjadi N-asetilglukosamin. N-asetilglukosamin masih bisa diubah lagi menjadi monomer yang lebih pendek yaitu glukosamin dengan bantuan enzim deasetilase.



Gambar 4.10. Diagram kadar NAG hasil hidrolisis enzim kitinase dari berbagai bakteri

Berdasarkan diagram di atas dapat diketahui bahwa enzim kitinase dari *K.ozaenae* memiliki kemampuan paling tinggi dalam menghidrolisis kitin *F.oxysporum* menjadi N-asetilglukosamin, kemudian diikuti oleh perlakuan pemberian enzim kitinase dari *P.pseudomallei*, kombinasi, dan terakhir adalah kontrol. Kadar N-asetilglukosamin yang dihasilkan berturut-turut adalah 429,67 µg/ml; 385,78 µg/ml; 307,44 µg/ml; dan 292,44 µg/ml. Hasil pengukuran kadar N-asetilglukosamin ini tidak sesuai dengan hasil pengukuran zona hambat yang dilakukan sebelumnya (Tabel 4.4). Hasil pengukuran zona hambat yang telah dilakukan, enzim kitinase kasar yang memiliki kemampuan optimal dalam menghambat pertumbuhan jamur *F.oxysporum* adalah enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei*, sedangkan enzim kitinase dari bakteri *K.ozaenae* memiliki zona

hambat lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan yang diberi enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei*. Data kadar N-asetilglukosamin yang didapatkan seharusnya sesuai dengan data yang didapatkan pada pengukuran zona hambat, yaitu perlakuan pemberian enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei* memiliki kemampuan paling optimum dalam menghambat perumbuhan maupun menghidrolisis kitin jamur *F.oxysporum*.

Faktor-faktor yang menyebabkan ketidaksesuaian data yang diperoleh tersebut adalah dimungkinkan karena enzim kitinase yang digunakan untuk pengujian ini belum dilakukan karakterisasi terhadap enzim, sehingga kemampuannya dalam menghidrolisis kitin menjadi N-asetilglukosamin menjadi kurang optimal. Karakterisasi yang dapat mempengaruhi kerja enzim antara lain adalah pH, suhu, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, aktivator dan inhibitor yang merupakan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim, sehingga setelah diketahui karakteristik enzim kitinase dari berbagai bakteri ini, enzim kitinase akan semakin optimal dalam mempengaruhi pertumbuhan dan kadar N-asetilglukosamin jamur *F.oxysporum*.

Ketidaksesuaian data yang diperoleh juga dimungkinkan karena pada penelitian ini hanya dilakukan sampai pengukuran kadar N-asetilglukosamin saja, tidak dilakukan sampai pada pengukuran aktivitas kitinasenya, sehingga enzim yang bekerja dalam menghidrolisis kitin pada dinding sel jamur *F.oxysporum* tidak diketahui jumlahnya. Menurut Pelczar dan Chan (2008), enzim kitinase yang memiliki kemampuan terbesar dalam menghidrolisis kitin adalah yang kadar N-asetilglukosaminnya yang tinggi, maka enzim tersebut memiliki aktivitas kitinase

yang tinggi pula. Begitu pula sebaliknya, kadar N-setilglukosamin yang rendah, menunjukkan bahwa enzim kitinase memiliki aktivitas kitinase yang rendah.

Faktor lingkungan juga dapat mempengaruhi kerja enzim kitinase dalam menghidrolisis kitin menjadi N-asetilglukosamin. Oleh karena itu, enzim yang didapatkan setelah sentrifugasi harus segera digunakan dalam pengujian (Rahmansyah, 2003). Karena apabila dibiarkan pada suhu ruang dalam waktu yang sebentar saja, enzim dapat menjadi tidak aktif (Pelczar dan Chan, 2008). Miller (1959) dalam Rahmansyah (2003) menjelaskan bahwa apabila masa inkubasi enzim terlalu lama, maka oksigen terlarut akan merubah gula pereduksi menjadi senyawa asam. Akibatnya gula pereduksi tidak dapat terdeteksi oleh reagen DNS dan hasil hidrolisis enzim tidak dapat terukur dengan jelas.

Penyebab lain dimungkinkan juga karena substrat yang tidak terhidrolisis ikut terambil ketika pengambilan larutan. Akibatnya konsentrasi substrat menjadi tidak optimal atau terlalu banyak. Konsentrasi substrat yang berlebih dan melebihi konsentrasi optimum, justru akan mengakibatkan enzim menjadi jenuh dengan substrat dan tidak akan menaikkan ektivitas enzim. Menurut Soeka (2010), aktivitas enzim kitinase pada awalnya akan naik seiring dengan kenaikan konsentrasi substrat sampai mencapai titik optimum. Namun setelah mencapai titik optimum, aktivitas enzim kitinase tidak akan bertambah naik walaupun konsentrasi substrat semakin tinggi. Pernyataan tersebut menunjukkan bahwa apabila terjadi penambahan substrat melebihi konsentrasi optimum, maka enzim akan jenuh dengan substrat dan akhirnya tidak akan menaikkan aktivitas enzim,

dan juga tidak akan mempengaruhi atau menaikkan kadar N-asetilglukosamin yang merupakan produk akhir dari hidrolisis kitin.

4.7 Kajian Penelitian Perspektif Islam

Segala sesuatu yang telah diciptakan oleh Allah Swt. tidak ada yang tidak bermanfaat bagi kehidupan. Sekalipun sesuatu yang bermanfaat itu berasal dari sesuatu yang berbahaya bagi kehidupan. Bakteri *P.pseudomallei* sesungguhnya merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia, yaitu melioidosis, suatu penyakit radang kelenjar (Brooks, 2005). Begitu pula dengan bakteri *K.ozanae*, bakteri ini merupakan bakteri patogen pada manusia dan dapat menyebabkan infeksi pada saluran usus dan nosofaring (Brise, 2006). Namun kedua bakteri tersebut memiliki manfaat dalam menghasilkan enzim kitinase yang dapat digunakan dalam menghidrolisis kitin jamur *F.oxysporum*.

Allah Swt. berfirman dalam Alqur'an surat Ali'Imron ayat 190-191 sebagai berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: "Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka." (QS. Ali'Imraan: 190-191)

Ayat 190-191 QS. Ali'Imraan tersebut menjelaskan bahwa Allah Swt. menciptakan langit dan bumi, siang dan malam, bertujuan agar manusia dapat berfikir tentang kekuasaan Allah. Bahwa segala sesuatu yang diciptakan-Nya tidak ada yang sia-sia. Ayat tersebut juga mengingatkan manusia agar selalu bersyukur kepada Allah atas segala ciptaan-Nya, baik di waktu berdiri, duduk, maupun berbaring. Enzim kitinase yang digunakan dalam penelitian ini sesungguhnya telah diungkapkan oleh Allah pada ayat tersebut di atas. Dimana enzim ini merupakan ciptaan-Nya yang tidak sia-sia dan dapat dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan jamur patogen, sekalipun enzim kitinase tersebut berasal dari bakteri yang berbahaya.

Konsep penciptaan Allah Swt. yang tidak sia-sia juga dijelaskan dalam Alqur'an surat Ash-Shaad ayat 27:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَطْلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۖ فَوَيْلٌ لِّلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ

Artinya: “ Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah, yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir. Maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.” (QS. Ash-Shaad: 27)

Hasil penelitian membuktikan kebenaran ayat Allah Swt. tentang penciptaan-Nya yang tidak sia-sia. Enzim kitinase yang diisolasi dari bakteri *P.pseudomallei*, *K.ozanae*, serta kombinasi keduanya, dapat dimanfaatkan untuk mencegah dan mengatasi penyakit tanaman. Enzim kitinase tersebut terbukti dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen *F.oxysporum* penyebab penyakit layu pada tanaman. Enzim kitinase yang paling berpengaruh dalam proses

menghambat pertumbuhan jamur adalah yang diisolasi dari bakteri *P.pseudomallei* memiliki zona hambat terbesar yaitu 12 mm. Enzim kitinase dari bakteri *K.ozzaenae* dan dari keduanya juga memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan jamur, namun tidak sebaik enzim kitinase dari bakteri *P.pseudomallei*.

Selain berpengaruh pada pertumbuhan jamur, enzim tersebut juga terbukti dapat mempengaruhi morfologi miselium jamur *F.oxysporum*. Hal tersebut dapat dilihat setelah diamati di bawah mikroskop yaitu morfologi miselium jamur yang dipapar enzim kitinase dapat berubah menjadi abnormal seperti membengkok, mengecil, lisis, dan hancur. Berdasarkan uraian tersebut, dapat diketahui bahwa sesuatu yang kecil dan yang tidak tampak seperti halnya bakteri dan enzim dapat dimanfaatkan dalam mengendalikan jamur patogen pada tanaman, yaitu *F.oxysporum*. Oleh karena itu, pengetahuan-pengetahuan yang telah didapatkan hendaknya dijadikan sarana untuk selalu bersyukur dan mengingat tentang nikmat dan ciptaan Allah Swt. yang diberikan kepada makhluk-Nya.