

SKRIPSI
ISOLASI DAN AKTIVITAS ANTAGONISME BAKTERI KITINOLITIK
ASAL *Ipomea pes caprae* TERHADAP CENDAWAN *Lasiodiplodia*
pseudotheobromae

Oleh:

ANDI KHUSNUL FATIMA BAHAR
(G111 16 504)



Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Baharuddin, Dipl. Ing. Agr.

Dr. Ir. A. Nasruddin M. Sc

PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
DEPARTEMEN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020



**ISOLASI DAN AKTIVITAS ANTAGONISME BAKTERI KITINOLITIK
ASAL *Ipomea pes caprae* TERHADAP CENDAWAN *Lasiodiplodia
pseudotheobromae***

OLEH :

ANDI KHUSNUL FATIMA BAHAR

(G111 16 504)

Skripsi

Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan

Sebagai Salah Satu Syarat

Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Pertanian

Pada

Fakultas Pertanian

Universitas Hasanuddin

DEPARTEMEN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020



HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : ISOLASI DAN AKTIVITAS ANTAGONISME BAKTERI
KITINOLITIK ASAL *Ipomea pes caprae* TERHADAP
CENDAWAN *Lasiodiplodia pseudotheobromae*

Nama Mahasiswa : Andi Khusnul Fatima Bahar

Nomor Pokok : G111 16 504

Menyetujui,



Prof. Dr. Ir. Baharuddin, Dipl. Ing. Agr.
Pembimbing I



Dr. Ir. A. Nasruddin M. Sc
Pembimbing II

Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan
Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Lark Kuswinanti, M. Sc.
Ketua Departemen



engesehan: Oktober 2020

PERNYATAAN KEASLIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa, Skripsi berjudul "Isolasi dan Aktivitas Antagonisme Bakteri Kitinolitik Asal *Ipomea pes caprae* terhadap Cendawan *Lasiodiplodia pseudotheobromae*" benar adalah karya saya dengan arahan tim pembimbing, belum pernah diajukan atau tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Saya menyatakan bahwa, semua sumber informasi yang digunakan telah disebutkan di dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Makassar, 07 Oktober 2020



ABSTRAK

ANDI KHUSNUL FATIMA BAHAR (G111 16 504) “Isolasi dan Aktivitas Antagonisme Bakteri Kitinolitik Asal *Ipomea pes caprae* terhadap Cendawan *Lasiodiplodia pseudotheobromae*”. Dibimbing oleh Baharuddin dan A. Nasruddin.

Kitin merupakan komponen utama penyusun dinding sel cendawan. Pertumbuhan cendawan dapat dihambat oleh bakteri kitinolitik karena dapat menghasilkan enzim kitinase yang berperan dalam mendegradasi dinding sel. Tujuan dalam penelitian ini adalah menguji aktivitas kitinolitik bakteri yang telah diisolasi dari pasir dan akar *Ipomea pes caprae* serta kemampuan filtrat ekstraseluler bakteri kitinolitik dalam menghambat pertumbuhan cendawan *L. pseudotheobromae*. Sampel bakteri diambil dari perakaran *I. pes caprae* yang berlokasi di Tanjung Bayang, Makassar. Metode penelitian dilakukan dengan mengisolasi sebanyak 5 g akar *I. pes caprae* kemudian dibuat seri pengenceran hingga 10^{-6} , karakterisasi morfologi dan fisiologinya secara sederhana, menghitung Indeks kitinolitik bakteri dengan metode difusi cakram, antagonisme dengan metode *dual culture*, serta uji daya hambat filtrat bakteri dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Hasil menunjukkan terdapat empat isolat yang berhasil diisolasi dari perakaran *I. pes caprae* yaitu bakteri dengan kode isolat IPaR1, IPaR4, IPpA2, dan IPpA3 yang masing-masing memiliki karakter morfologi berwarna putih kekuningan dan putih keabuan, bentuk koloni bulat dan tidak beraturan, tepi koloni halus dan berombak serta elevasi umbonatur dan cembung. Hasil karakterisasi secara fisiologi menunjukkan semua isolat memiliki reaksi positif pada uji katalase, sedangkan reaksi gram menunjukkan satu isolat gram positif dan tiga isolat gram negatif. Masing-masing isolat memiliki aktivitas kitinolitik dengan indeks 0.10, 0.09, 0.70, dan 0.11. Adapun persentase penghambatan filtrat bakteri tertinggi terdapat pada kode isolat IPpA2 yaitu sebesar 0.63, 0.60, 0.62, dan 0.58 pada tiap pengamatan.

Kata Kunci: Bakteri Kitinolitik, *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, enzim kitinase.



ABSTRACT

ANDI KHUSNUL FATIMA BAHAR (G111 16 504) "Isolation and Antagonism Activity of Chitinolytic Bacteria from *Ipomea pes caprae* against the *Lasiodiplodia pseudotheobromae*". Supervised by Baharuddin and A. Nasruddin.

Chitin is the primary element of fungal cell walls. Thus, chitinolytic bacteria producing chitinase enzymes can inhibit the growth of fungi. The purpose of this study was to examine the chitinolytic activity of bacteria isolated from sand and roots of *Ipomea pes caprae* and its ability to inhibit the growth of *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. Bacterial samples were isolated from the roots of *I. pes caprae* cultivated in Tanjung Bayang, Makassar. The research method was carried out by isolating bacteria from five g of *I. pes caprae* roots then made a series of dilutions up to 10^{-6} . The isolates were separated by using their morphological and physiological characteristics. Bacterial chitinolytic index was determined using the disc diffusion method, the antagonism was assessed using the dual culture method and the bacterial filtrate inhibition test. The results showed that there were four isolates obtained from the roots of *I. pes caprae*, namely IPaR1, IPaR4, IPpA2, and IPpA3. Each isolate had yellowish white and grayish white colors; morphological characters: round and irregular colony shapes, colony edges smooth and choppy as well as umbonature and convex elevations. The physiological test results indicated that all isolates had a positive response in the catalase test, one of the isolates reacted positively to Gram test and the other one is reacted negatively to the test. Each isolate had chitinolytic activity with indices of 0.10, 0.09, 0.70, and 0.11. The highest percentage of bacterial filtrate inhibition was found in the IPpA2 isolate code, namely 0.63, 0.60, 0.62, and 0.58 for each observation.

Keywords: Chitinolytic Bacteria, *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, chitinase enzyme.



KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamualaikum warohmatullahi wabarokatuh

Segala puji dan syukur penulis haturkan kehadiran Allah SWT atas berkah, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **Isolasi dan Aktivitas Antagonisme Bakteri Kitinolitik Asal *Ipomea pes caprae* terhadap Cendawan *Lasiodiplodia pseudotheobromae*** sebagai syarat untuk menyelesaikan studi di Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. Tak lupa pula shalawat dan salam penulis kirimkan kepada Baginda Nabi Muhammad SAW yang kita nanti-nantikan syafa'atnya di akhirat kelak.

Terselesaikannya skripsi ini tidak terlepas dari bantuan moril maupun materil serta kerja sama dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus serta penghargaan tak terhingga kepada:

1. Ayahanda tercinta Baharuddin dan Ibunda tersayang Andi Tenrioja Tantri, serta Saudara dan Saudariku Andi Ibnu Hajar, Andi Yasril Ananta Baharuddin dan Andi Erna Aulia Bahar yang telah memberikan doa, dukungan, cinta dan kasih sayang yang tidak ternilai harganya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik-baiknya.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Baharuddin. Dipl. Ing. Agr dan Dr. Ir. A. Nasruddin M. Sc selaku pembimbing yang dengan sabar dan ikhlas meluangkan waktu, tenaga dan pikiran demi membimbing penulis sejak awal penelitian hingga selesainya

si ini.



3. Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti. M. Sc., Dr. Sri Nur Aminah Ngatimin, S.P., M.Si., dan Muhammad Junaid, S.P., M.P., Ph.D. selaku tim penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun sehingga penulis dapat menyempurnakan skripsi ini.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Ade Rosmana, M. Sc selaku dosen pembimbing akademik, terima kasih atas arahan dan motivasi yang telah diberikan.
5. Bapak Asman S.P., M.Si selaku dosen pembimbing saat mengikuti berbagai lomba karya tulis dan PKM, terima kasih atas sumbangsiah waktunya untuk kami berproses selama menjadi mahasiswa yang berprestatif.
6. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Agroteknologi terkhusus Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan atas ilmu dan didikannya selama penulis menempuh pendidikan.
7. Ibu Dr. Ir. Novaty Eny Dungga, M.P., terima kasih atas segala motivasi, pengalaman, kesempatan dan amanah yang telah diberikan kepada saya agar menjadi pribadi yang lebih baik dan menjadi sosok perempuan yang tangguh dan berintelektual.
8. Saudara-saudari para penghuni lab penyakit, Andi Alfian Darmawan, Ummul Khalifah, Reski Febriani, Vietgar Membalik, Rohani Islami, Dini Aminarti, dan Islah Noviarni, sahabat yang telah membantu dan menemani dalam suka duka selama menjalankan penelitian di tempat bersejarah “Laboratorium Penyakit Tumbuhan” Fakultas Pertanian, Unhas.
9. Saudara-saudari ku Ummi terangkanlah, Upss Squad, dan Mapres 2019

ka antara lain : Vietgar Membalik, Nur Isnain Mustakim, Arisya Yunira
 , Anselia, Ika Ratih Yuli Purnama, dan Muh. Yusril Hardiansyah yang



telah mendampingi dan terus men-support penulis untuk terus bersemangat menjalankan tugas akhir.

10. Keluarga besar UKM KPI Unhas terkhusus untuk Pengurus Inti 2019 yakni Vietgar Membalik, Mohd. Riswan Bin Jamal, Andi Ashabul Kahfi, Muh. Amri Arfah, Isna Lestari, Dwi Nining Lestari, Ishmah Roshidah, dan Putri Indrasari yang telah menjadi tempat belajar bagi penulis dan keluarga yang senantiasa memberi masukan dan dukungan untuk menyelesaikan tugas sebagai mahasiswa.

Semoga Allah SWT selalu memberikan limpahan rahmat-Nya dan membalas semua kebaikan pihak yang telah membantu penulis. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Wassalamualaikum warohmatullahi wabarokatuh

Makassar, Januari 2020

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR ISIDAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Hipotesis Penelitian.....	3
1.5 Ruang Lingkup Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Ipomea pes-caprae</i>	5
2.2 Kitin dan Bakteri Kitinolitik.....	7
2.3 Cendawan <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>	10
2.3.1 Klasifikasi Ilmiah <i>L. pseudotheobromae</i>	10
2.3.2 Morfologi <i>L. pseudotheobromae</i>	11
BAB III. METODE PENELITIAN.....	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Tahapan Penelitian	14
3.2.1 Pengumpulan Bahan dan Alat	14
3.2.2 Preparasi Kolodial Kitin	14
3.2.3 Pembuatan Media.....	15
3.2.4 Isolasi dan Seleksi Bakteri Kitinolitik	15
3.2.5 Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi	16
3.2.6 Uji Aktivitas Kitinolitik.....	17
Subkultur Isolat Cendawan <i>L. pseudotheobromae</i>	18
Interaksi Bakteri Kitinolitik dan Cendawan <i>L. pseudotheobromae</i>	18
Uji Aktivitas Antifungi Filtrat Bakteri Kitinolitik	20



BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
4.1 Hasil.....	22
1.1.1 Seleksi Bakteri Kitinolitik.....	22
1.1.2 Karakterisasi Bakteri Kitinolitik.....	22
1.1.3 Aktivitas Bakteri Kitinolitik.....	24
1.1.4 Subkultur Cendawan <i>L. pseudotheobromae</i>	25
1.1.5 Antagonisme Bakteri terhadap <i>L. pseudotheobromae</i> dengan Metode <i>Dual Culture</i> 26	26
1.1.6 Biomassa Miselium.....	28
1.1.7 Aktivitas Daya Hambat Filtrat Bakteri Kitinolitik.....	29
4.2 Pembahasan.....	33
BAB V. PENUTUP	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	45



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tumbuhan <i>I. pes-caprae</i> (Margaret S. Devall, 1992)	5
Gambar 2. Morfologi tumbuhan <i>I. pes-caprae</i> (Sitanggang, 2007).....	6
Gambar 3. Morfologi isolat Lasiodiplodia Pseudotheobromae (a), konidia isolat CERC2312 (b), dan konidia isolat CER2313 (c) (Li, 2016).....	11
Gambar 4. Lasiodiplodia Pseudotheobromae (MFLUCC 18-1120, MFLUCC 18-0950) (de Silva et al., 2019).....	12
Gambar 5. Lasiodiplodia Pseudotheobromae (MFLUCC 18-0951) (de Silva et al., 2019)	12
Gambar 6. Karakterisasi dari koloni bakteri berdasarkan morfologi (Mazzucchi, 1977; Klement et al., 1990 <i>dalam</i> Schaad, Jones, & Chun, 2001)	16
Gambar 7. Tata letak cendawan patogen dan bakteri rizosfer dalam pengujian penghambatan melalui mekanisme antibiosis.....	19
Gambar 8. Isolasi bakteri kitinolitik selama 72 jam	22
Gambar 9. Koloni tunggal bakteri kitinolitik yang ditumbuhkan pada media NA23	
Gambar 10. Aktivitas isolat bakteri kitinolitik tanda panah kiri kanan menunjukkan zona bening aktivitas enzim kitinase yang dihasilkan bakteri	24
Gambar 11. Perbandingan indeks bakteri	25
Gambar 12. Bentuk makroskopis <i>L. pseudotheobromae</i> ; a) hifa bersekat, b) spora	25
Gambar 13. Antagonisme bakteri terhadap cendawan <i>L. pseudotheobromae</i> pada media PDA; a) Kontrol, b) IPaR1, c) IPaR4, d) IPpA2, e) IPpA3	26
Gambar 14. Antagonisme bakteri terhadap cendawan <i>L. pseudotheobromae</i> pada media NA; a) Kontrol, b) IPaR1, c) IPaR4, d) IPpA2, e) IPpA3.....	27
Gambar 15. Rerata perkembangan diameter koloni cendawan selama 48 jam	30
Gambar 16. Uji daya hambat filtrat bakteri dengan konsentrasi, a) kontrol, b) 5%, dan c) 5%	32
Gambar 17. Dampak peracunan media filtrat bakteri pada hifa cendawan <i>L. pseudotheobromae</i>	32



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakterisasi morfologi bakteri kitinolitik	23
Tabel 2. Karakterisasi fisiologi bakteri kitinolitik	23
Tabel 3. Indeks kitinolitik bakteri setelah 12 hari inkubasi	24
Tabel 4. Persentase antagonisme bakteri kitinolitik terhadap cendawan <i>L. pseuditheobromae</i> pada media PDA	26
Tabel 5. Persentase antagonisme bakteri kitinolitik terhadap cendawan <i>L. pseuditheobromae</i> pada media NA	27
Tabel 6. Persentase biomassa cendawan.....	28
Tabel 7. Pengamatan diameter koloni cendawan.....	29
Tabel 8. Persentase daya hambat filtrat bakteri selama 48 jam masa inkubasi	30



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan koloidal kitin.....	45
Lampiran 2. Pembuatan media CCA dan CCB.....	46
Lampiran 3. Pembuatan media NA dan NB	46
Lampiran 4. Pembuatan media PDA.....	47
Lampiran 5. Aktivitas kitinolitik bakteri pada CCA medium.....	47
Lampiran 6. Pengamatan antagonisme bakteri dengan metode <i>dual culture</i>	48
Lampiran 7. Biomassa cendawan.....	55
Lampiran 8. Pengamatan uji daya hambat filtrat bakteri kitinolitik	57
Lampiran 9. Uji gram dan uji katalase	61
Lampiran 10. Pengamatan secara mikroskopis hifa cendawan setelah uji daya filtrat bakteri.....	62
Lampiran 11. Indeks aktivitas bakteri kitinolitik.....	64
Lampiran 12. Analisis data antagonisme bakteri kitinolitik terhadap cendawan <i>L. pseudotheobromae</i> pada media Nutrient Agar (NA)	65
Lampiran 13. Analisis data biomassa cendawan	66
Lampiran 14. Analisis data antagonisme bakteri kitinolitik terhadap cendawan <i>L. pseudotheobromae</i> pada media PDA	68
Lampiran 15. Persentase daya hambat filtrat bakteri terhadap <i>L. pseudotheobromae</i> menggunakan (pengamatan 12 jam).....	68
Lampiran 16. Diameter daya hambat filtrat bakteri (pengamatan 12 jam).....	70
Lampiran 17. Persentase daya hambat filtrat bakteri (pengamatan 24 jam).....	71



Lampiran 18. Diameter daya hambat filtrat bakteri (pengamatan 24 jam)..... 72

Lampiran 19. Persentase daya hambat filtrat bakteri (pengamatan 36 jam)..... 74

Lampiran 20. Diameter daya hambat filtrat bakteri (pengamatan 36 jam)..... 75

Lampiran 21. Persentase daya hambat filtrat bakteri (pengamatan 48 jam)..... 77

Lampiran 22. Diameter daya hambat filtrat bakteri (pengamatan 48 jam)..... 78



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keberadaan cendawan patogen dalam bidang pertanian turut menjadi perhatian terutama dalam meningkatkan hasil produksi pertanian. Beberapa spesies cendawan dari family Botryosphaeriaceae terdistribusi luas disejumlah besar inang tanaman, dimana cendawan tersebut dapat ditemukan sebagai sprofit, parasit dan endofit (Chaithra et al., 2020; Netto et al., 2014). Cendawan yang bersifat parasit dapat menimbulkan kerugian karena dapat menurunkan kualitas produksi hasil secara ekonomi. Salah satu jenis cendawan Botryosphaeriaceae yang diinformasikan dapat menginfeksi pertanaman adalah *Lasiodiplodia Pseudotheobromae* penyebab penyakit batang anggur (Dissanayake et al., 2015), penyakit busuk buah *Dimocarpus longan* (Pipattanapuckdee, Boonyakait, Tiyayon, Seehanam, & Ruangwong, 2019), dan juga terdapat pada pertanaman kakao (Rosmana, Taufik, Asman, Jayanti, & Hakkar, 2019). Spesies *Lasiodiplodia* yang bersifat patogen menyebabkan hawar, kanker batang, busuk buah, *dieback*, penyakit batang anggur dan gummosis (de Silva, Phillips, Liu, Lumyong, & Hyde, 2019).

Beberapa langkah pengendalian yang dilakukan oleh petani adalah dengan menggunakan fungisida sintetis. Namun, hal tersebut tidak direkomendasikan karena berpengaruh negatif terhadap perkembangan mikroorganisme tanah yang bersifat antagonis dan bermanfaat bagi tumbuhan (Soenartiningih, 2016). Selain itu, penggunaan pestisida sintetis yang berlebihan juga dapat mempengaruhi

ngan ekosistem dan dalam jangka panjang akan menimbulkan resistensi, si, matinya musuh alami, bahkan dapat menyebabkan pencemaran



lingkungan dan terganggunya kesehatan manusia (Membalik, Bahar, Andriani, Hasbi, & Ferdy, 2020).

Kitin merupakan komponen utama penyusun dinding sel cendawan (Someya, Numata, Nakajima, Hasebe, & Akutsu, 2004). Bakteri kitinolitik dikabarkan dapat menghasilkan enzim kitinase yang dapat menghambat pertumbuhan cendawan. Beberapa jenis rizobakteri seperti *Bacillus subtilis* yang tidak hanya dapat berperan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman juga dapat melindungi tanaman dari infeksi *Fusarium oxysporum* (Hariprasad, Divakara, & Niranjana, 2011). Sebagian besar aktivitas kitinolitik terdapat pada beberapa spesies seperti *Streptomyces*, *Serratia*, *Vibrio* and *Bacillus* (Gadelhak, El-Tarabily, & Al-Kaabi, 2005).

Salah satu potensi terbesar kawasan pesisir adalah kehadiran tumbuhan *Ipomea pes-caprae* yang memiliki distribusi geografis yang relatif luas di daerah-daerah pantai tropis. Spesies tumbuhan ini sering dijumpai di sekitar garis pantai, terutama pada lidah pasir, serta memiliki peranan penting dalam ekosistem pantai (Margaret S. Devall, 1992). *I. pes-caprae* dapat tumbuh di atas pasir atau daerah pesisir pantai dan dengan sinar matahari yang cukup mengindikasikan bahwa walau dalam kondisi minim hara, *I. pes-caprae* tetap dapat tumbuh subur. Hal tersebut tentu juga dapat dipengaruhi oleh hadirnya mikroorganisme di daerah rizosfer tumbuhan. Pasir atau pesisir pantai sebagai tempat tumbuh *I. pes-caprae* diduga dapat menghadirkan bakteri kitinolitik yang dapat mendegradasi kitin.

Kitin yang tersebar luas di alam dan penyusun utama pada cangkang *crustacea*

sepiting dan udang, kerangka luar serangga, dan dinding sel dari berbagai cendawan (Bhattacharya & Nagpure, 2007).



Banyak peneliti melaporkan bahwa bakteri kitinolitik mampu menghambat pertumbuhan cendawan patogen. Namun demikian masih belum banyak laporan mengenai potensi bakteri kitinolitik dari perakaran *I.pes-caprae* terhadap *L. pseudotheobromae*. Berdasarkan latar belakang di atas, perlu dilakukan analisis lebih lanjut mengenai potensi bakteri kitinolitik yang diisolasi dari daerah perakaran dalam menghambat pertumbuhan cendawan *L. pseudotheobromae*.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini ditujukan untuk :

1. Menguji aktivitas kitinolitik bakteri yang telah diisolasi dari pasir dan akar *Ipomea pes caprae*.
2. Menguji kemampuan filtrat ekstraseluler bakteri kitinolitik terhadap cendawan patogen.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antifungi dari bakteri kitinolitik terhadap *L. pseudotheobromae*. Pengetahuan tersebut akan menjadi dasar awal untuk menghasilkan produk antifungi sebagai pengendali biologi terhadap tanaman produksi perkebunan yang umumnya terserang oleh patogen *L. pseudotheobromae*. Hasil dari penelitian ini juga dapat menjadi langkah untuk mengetahui kemampuan bakteri kitinolitik sebagai bakteri antagonis.

1.4 Hipotesis Penelitian

Terdapat bakteri kitinolitik pada tumbuhan *I. pes-caprae* dan memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan cendawan *L. pseudotheobromae*.



1.5 Ruang Lingkup Penelitian

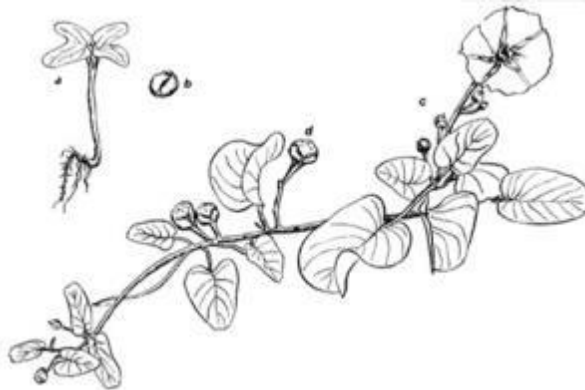
Ruang lingkup penelitian ini meliputi isolasi dan pemilihan kandidat bakteri kitinolitik, aktivitas antifungi *L. pseudotheobromae*, dan aktivitas penghambatan ekstraseluler filtrat bakteri kitinolitik.



BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Ipomea pes-caprae*

Ipomea pes-caprae merupakan vegetasi yang mendominasi formasi *I pes-caprae* yang berada pada daerah pasang tertinggi dan pada semua pantai terbuka di daerah tropika.



Gambar 1. Tumbuhan *I. pes-caprae* (Margaret S. Devall, 1992)

I. pes-caprae merupakan tumbuhan herba tahunan dengan akar yang tebal dan tumbuh pada ruas batang. Panjang batang 5-30 m dan menjalar, berbentuk bulat, basah dan berwarna hijau kecoklatan. Vegetasi ini memiliki daun tunggal, tebal, licin dan mengkilat. Bunga berwarna merah muda-ungu dan agak gelap di bagian pangkal bunga. Buah berbentuk kapsul bundar hingga agak datar dengan empat biji berwarna hitam dan berambut rapat. Ukuran buah 12-17 mm, sedangkan biji 6-11 mm. Jenis ini tumbuh mulai dari permukaan laut hingga 600 m, biasanya di pantai berpasir, tetapi juga tepat pada garis pantai (Burhan, 2014).

I. pes-caprae memiliki distribusi geografis yang relatif luas di daerah-daerah pantai tropis. Spesies tumbuhan ini sering dijumpai tumbuh di sekitar garis

utama pada lidah pasir, serta memiliki peranan penting dalam ekosistem seperti pelindung alamiah garis pantai terhadap erosi (Margaret S. Devall,



1992). Vegetasi ini mampu hidup pada kondisi lingkungan yang keras dan tidak stabil, seperti lidah pasir, karena spesies ini memiliki toleransi besar terhadap air laut yang mempengaruhi pertumbuhan awalnya (Hakim, 2012).

Tumbuhan yang berada di lahan marginal akan dapat tumbuh dengan baik apabila ada keikutsertaan mikroba, utamanya mikrobia yang membentuk koloni di akar yang sering disebut sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobakteri*) yang hidup di sekitar perakaran tanaman. Mikrobia tersebut hidupnya secara berkoloni menyelimuti akar tanaman dan berfungsi untuk memacu pertumbuhan tanaman, memperbaiki fisiologi akar, mengurangi penyakit dan sekaligus menyediakan unsur hara seperti P, Fe, S dan Cu sehingga tersedia bagi tanaman (Bustaman, 2006).



Gambar 2. Morfologi tumbuhan *I. pes-caprae* (Sitanggang, 2007)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Aiman, Sriwijaya, & Asmara, n.d.), mikroba yang mampu menghasilkan fosfat tersedia sebagian besar berasal dari katang-katang (*I. pes-caprae*). Hal itu terlihat dari luasnya diameter zona

dari beberapa isolat mikroba katang-katang, seperti K2N, K8N, K9N, K5P, K6P, dan isolat mikroba lainnya. Selain itu, bobot kering akar, bobot bintil akar total, jumlah bintil akar efektif maupun bobot bintil akar



tanaman kacang tunggak sebagai objek penelitian pada rhizosfer katang-katang menunjukkan hasil paling tinggi dan diikuti pemberian mikroba rhizosfer lainnya dan yang paling rendah adalah yang tanpa pemberian mikroba rhizosfer. Dalam hal ini mikroba yang berperan sebagai PGPR antara lain *Bacillus*, *Pseudomonas*, serta Mikoriza. Fungsi mikroba tersebut adalah memperluas jangkauan kemampuan tanaman untuk menyerap hara maupun air apabila lahannya kurang baik dan akan lebih maksimal apabila lahannya marginal.

Pada daerah rhizosfer tumbuhan terdapat peran mikroorganisme yang menguntungkan bagi tanaman karena mikroorganisme seperti bakteri rhizosfer dapat menghasilkan fitohormon berupa *Indole Acetic Acid* (IAA) dan Gibberellin Acid (Sahur, Ala, Patanjengi, & Syam, 2017). *Indole acetic acid* adalah fitohormon yang berperan dalam inisiasi perakaran, pembelahan and pembesaran sel (Glickman et al., 1995 *dalam* Sahur et al., 2017).

2.2 Kitin dan Bakteri Kitinolitik

Kitin adalah suatu polisakarida, polimer linier yang tersusun dari β -1,4-N-asetil-glukosamin. Biomassa kitin sangat melimpah di alam, terbesar kedua setelah selulosa. Distribusi kitin banyak ditemukan pada kulit *crustacea* (kepiting, udang dan lobster), ubur-ubur, komponen struktural eksoskeleton insekta, dinding sel fungi (22-40%), alga, nematode, kulit binatang dan tumbuhan (Saima, Kuddus, Roohi, & Ahmad, 2013). Beberapa bakteri dan fungi yang mempunyai aktivitas kitinolitik mampu mendegradasi kitin (Yurnaliza, Margino, & Sembiring, 2012).

Dinding sel bakteri tersusun atas peptidoglikan yakni polisakarida yang

dengan protein. Dengan adanya dinding sel ini, tubuh bakteri memiliki yang tetap. Fungsi dinding sel adalah untuk melindungi sel. Berdasarkan



struktur protein dan polisakarida yang terkandung di dalam dinding sel, bakteri dapat dibedakan menjadi bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif mempunyai peptidoglikan di luar membran plasma. Pada bakteri gram negatif, peptidoglikan terletak diantara membran plasma dan membran luar dan jumlahnya lebih sedikit. Sitoplasma adalah cairan yang berada di dalam sel dimana sitoplasma tersusun atas koloid yang mengandung berbagai molekul organik seperti karbohidrat, lemak, protein, mineral, ribosom, DNA dan enzim-enzim. Sitoplasma merupakan tempat berlangsungnya reaksi-reaksi metabolisme (Eifendy, 2017).

Fokus pada bakteri daripada semua organisme lain yang terlibat dalam degradasi kitin diperlukan karena degradasi kitin bakteri terjadi di semua ekosistem dan karena metabolisme dan pertumbuhannya memiliki peran penting dalam sebagian besar siklus biogeokimia skala ekosistem (Beier & Bertilsson, 2013). Enzim penghancur dinding sel atau *cell wall-degrading enzymes* (CWDEs) memainkan peran penting dalam aktivitas biokontrol antagonis yang kompeten. Dinding sel jamur pada dasarnya tersusun atas kitin dan glukukan. CWDEs termasuk kitinase dan glukukanase telah dilaporkan terlibat dalam biokontrol fitopatogen fungi (Anees et al., 2019; Das et al., 2010). Ikatan glikosidik β -1-4 dalam kitin bertanggung jawab atas integritas dinding sel dan ditargetkan oleh kitinase, enzim pendegradasi kitin. Degradasi kitin adalah mekanisme kontrol biologis penting untuk fitopatogen jamur (Kishore, Pande, & Podile, 2005). Strain *P. elgii* SMA-SDCH02 terbukti menghasilkan enzim kitinolitik yang luas sebagai agen

antijamur aktif (Anees et al., 2019; Das et al., 2010).



Bakteri kitinolitik adalah bakteri yang mampu mendegradasi senyawa kitin dimana bakteri kitinolitik tergolong jenis bakteri rizosfer yang diisolasi dari perakaran tanaman di tanah Ultisol (Khaeruni & Rahman, 2012). Aktivitas kitinolitik ditandai dengan adanya pembentukan zona bening ketika ditumbuhkan pada medium yang mengandung kitin. Semua isolat yang digunakan menghasilkan zona bening di sekitar lubang suspensi dengan diameter yang bervariasi dari 2.2 cm sampai 4.6 cm.

Beberapa jenis bakteri tanah seperti: *Streptomyces*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* dan *Vibrio* dilaporkan memiliki aktivitas kitinolitik, yakni mampu menguraikan kitin. Kemampuan ini menyebabkan kelompok bakteri tersebut berpotensi besar untuk dimanfaatkan, misalnya: sebagai penghasil enzim kitinase yang berguna dalam industri pangan, kosmetik, farmasi, dan lain-lain. Bakteri kitinolitik berpotensi sebagai pengendali hayati beberapa jenis fungi patogen (Pujiyanto, Kusdiyantini, & Hadi, 2008).

Bakteri kitinolitik merupakan kelompok bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase untuk menguraikan zat kitin. Beberapa bakteri yang telah diketahui mampu menghasilkan enzim kitinase adalah *Bacillus papandayan*, *Bacillus thuringiensis*, *Vibrio harveyi*, dan *Aeromonas* sp. Upaya untuk mengisolasi bakteri kitinolitik dari berbagai sumber telah banyak dilakukan di Indonesia. Isolat bakteri kitinolitik dapat diperoleh dari sumber air panas, tanah dan lumpur serta dari sumber perairan lain seperti sungai dan laut (Pujiyanto et al., 2008).

Suspensi koloidal kitin digunakan dalam media agar nutrien untuk isolasi

Koloidal kitin adalah kitin yang dilarutkan dalam asam klorida pekat media selektif untuk mendapatkan Actinomycetes dari air dan tanah.



Mikroorganisme kitinolitik dapat diseleksi keberadaannya dengan mendegradasi media agar kitin yang dapat dideteksi dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri (Herdyastuti, Raharjo, Mudasir, & Matsjeh, 2010).

2.3 Cendawan *Lasiodiplodia pseudotheobromae*

Spesies *Lasiodiplodia* dapat ditemui di daerah tropis dan subtropis dan terdapat pada berbagai jenis inang monokotil, dikotil dan gymnospermae. Berdasarkan hasil penelitian dari (Slippers & Wingfield, 2007), spesies *Lasiodiplodia* termasuk cendawan endofit yang terdapat pada jaringan tanaman tanpa menampilkan gejala. Sedangkan, penelitian dari (Dissanayake et al., 2015) menginformasikan bahwa spesies *Lasiodiplodia* dapat menyebabkan penyakit pada berbagai tanaman inang dan ditemukan pada jaringan tanaman yang mati.

2.3.1 Klasifikasi Ilmiah *L. pseudotheobromae*

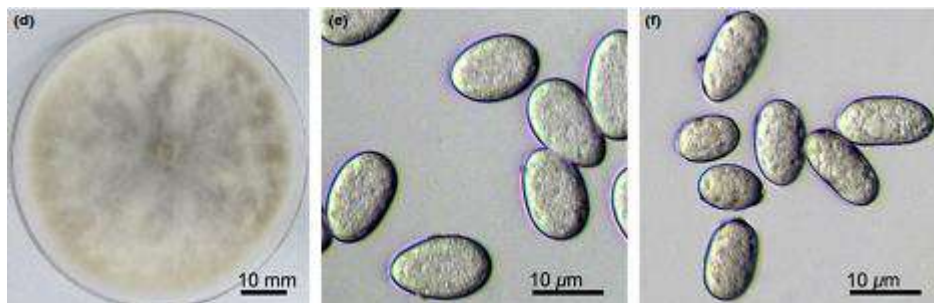
Lasiodiplodia memiliki banyak spesies yang menyebar di seluruh dunia dengan tanaman inang yang berbeda-beda, salah satunya yaitu *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. Berdasarkan informasi dari (Philips, Aves, & Crous, 2008), klasifikasi ilmiah *L. pseudotheobromae* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Ascomycota
Kelas	: Dothideomycetes
Ordo	: Botryosphaeraiales
Famili	: Botryosphaeriaceae
Genus	: <i>Lasiodiplodia</i>
es	: <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>



2.3.2 Morfologi *L. pseudotheobromae*

Koloni miselium dari *Lasiodiplodia* pada media MEA (*Malt Extract Agar*) tumbuh secara tidak merata dengan laju pertumbuhan yang cepat. Aerial miselium dari cendawan tersebut dapat tumbuh mencapai permukaan penutup cawan petri. Pada suhu 25°C, miselium akan berwarna putih pada awal pertumbuhan, berubah menjadi abu-abu setelah beberapa hari, dan selanjutnya berubah warna menjadi *grey-olive* kehitaman seiring pertambahan usia pertumbuhan cendawan. Berdasarkan hasil pengamatan dari (S. F. Chen, Li, Liu, Li, & Liu, 2016), konidia *Lasiodiplodia* lebih pendek dibandingkan dengan spesimen *Botryosphaeria*. Ukuran konidia dari cendawan *Lasiodiplodia* pada spesies yang sama dapat bervariasi. Menurut (Rosmana et al., 2019) terdapat beragam jenis *Fusarium* dan *Lasiodiplodia* pada pertanaman kakao, dan sebagian diantaranya adalah patogen dan non patogen.



Gambar 3. Morfologi isolat *Lasiodiplodia Pseudotheobromae* (a), konidia isolat CERC2312 (b), dan konidia isolat CERC2313 (c) (Li, 2016)

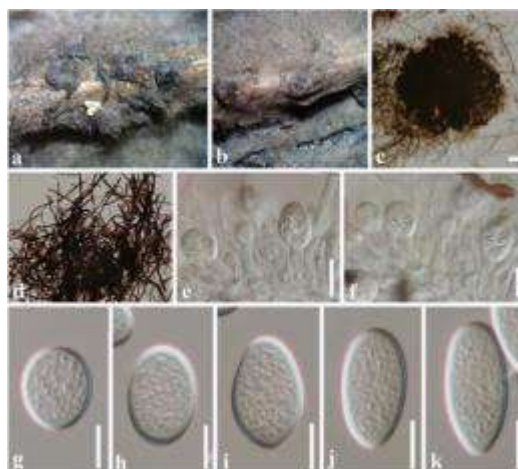
Beberapa spesies *Lasiodiplodia* yang diisolasi dari tanaman anggur di Brazil mampu tumbuh pada suhu antara 29,9 dan 31,2 derajat celsius. Tapi di sisi lain, berdasarkan penelitian dari (Netto et al., 2014) menunjukkan bahwa hanya isolat *Lasiodiplodia pseudotheobromae* yang mampu tumbuh pada suhu 10 derajat





Gambar 4. *Lasiodiplodia Pseudotheobromae* (MFLUCC 18-1120, MFLUCC 18-0950) (de Silva et al., 2019)

Gambar di atas merupakan penampakan *L. pseudotheobromae* secara mikroskopis dari tanaman spesies *Magnolia*. Gambar a dan b merupakan konidiomata pada ranting tanaman spesies *Magnolia*, gambar c dan d merupakan tampilan vertikal Conidiomata, gambar e merupakan Peridium, gambar f merupakan Paraphyses, gambar g merupakan sel konidiogen, gambar h-j merupakan Konidia Hyaline, gambar k merupakan Conidia coklat pada permukaan inang., gambar l dan m merupakan Konidia coklat. Skala bar yang digunakan untuk melihat penampakan mikroskopis tersebut adalah sebagai berikut: c, d = 50 μm , e, f = 20 μm , g = 5 μm , h – m = 10 μm (de Silva et al., 2019).



Gambar 5. *Lasiodiplodia Pseudotheobromae* (MFLUCC 18-0951) (de Silva et al., 2019)



Gambar di atas merupakan penampakan mikroskopis *L. pseudotheobromae* yang diperoleh dari batang bambu. Gambar a dan b merupakan konidiomata pada batang bambu di media PDA, gambar c merupakan lokasi konidiomata, gambar d merupakan miselium, gambar e dan f merupakan sel conideogeous, dan gambar g-k merupakan konidia. Skala bar yang digunakan untuk melihat penampakan mikroskopis cendawan tersebut adalah sebagai berikut: c = 50 μm , e, f = 10 μm , g – k = 10 μm (de Silva et al., 2019).

