

**POTENSI CENDAWAN RHIZOSFER PENGHASIL ENZIM
KITINASE SEBAGAI PENGENDALI CENDAWAN *Lasiodiplodia
theobromae* SECARA *in vitro* PADA TANAMAN JABON
MERAH (*Neolamarckia macrophylla*)**

*THE POTENTIAL OF CHITINASE ENZYME-PRODUCING
RHIZOSPHERE FUNGI AS BIOCONTROL AGENTS OF
Lasiodiplodia theobromae FUNGI THROUGH IN VITRO ON
JABON MERAH (*Neolamarckia macrophylla*)*

Sri Wahyuni Jufri

M012191035



**SEKOLAH PASCASARJANA
MAGISTER ILMU KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

**POTENSI CENDAWAN RHIZOSFER PENGHASIL ENZIM
KITINASE SEBAGAI PENGENDALI CENDAWAN *Lasiodiplodia
theobromae* SECARA *in vitro* PADA TANAMAN JABON
MERAH (*Neolamarckia macrophylla*)**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Kehutanan

Disusun dan diajukan oleh

Sri Wahyuni Jufri

Kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

TESIS

POTENSI CENDAWAN RHIZOSFER PENGHASIL ENZIM KITINASE
SEBAGAI PENGENDALI CENDAWAN *Lasiodiplodia theobromae*
SECARA *in vitro* PADA TANAMAN JABON MERAH (*Neolamarckia*
macrophylla)

Disusun dan diajukan oleh

SRI WAHYUNI JUERI

Nomor Pokok M012191035

UNIVERSITAS HASANUDDIN

Telah dipertahankan di depan panitia ujian tesis

Pada tanggal 11 Februari 2022

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisai Penasihat,

Dr. Siti Halimah Larekeng, SP., MP.
Ketua

Dr. Ir. Astuti, S.Hut., M.Si., IPU
Sekretaris

Ketua Program Studi Ilmu Kehutanan

Prof. Dr. Ir. Muhammad Dassir M.Si

Dekan Fakultas Kehutanan

Dr. A. Mustafid M. S.Hut., M.P

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sri Wahyuni Jufri

Nomor Mahasiswa : M012191035

Program Studi : Ilmu Kehutanan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 11 Februari 2022

Yang menyatakan



Sri Wahyuni Jufri

ABSTRAK

SRI WAHYUNI JUFRI. *Potensi Cendawan Rhizosfer Penghasil Enzim Kitinase sebagai Pengendali Cendawan Lasiodiplodia theobromae secara In Vitro pada Tanaman Jabon Merah (Neolamarckia macrophylla)*. (dibimbing oleh Siti Halimah Larekeng dan Astuti).

Lasiodiplodia theobromae merupakan cendawan patogen yang menimbulkan penyakit pada tanaman jabon merah (*Neolamarckia macrophylla*) yang menyebabkan menurunnya produktivitas tanaman jabon merah. Serangan cendawan patogen dapat dikendalikan dengan memanfaatkan cendawan penghasil kitinase yang mampu melisis dinding sel cendawan yang tersusun dari senyawa kitin sehingga terjadi penghambatan pertumbuhan cendawan patogen.

Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh karakteristik dan kemampuan daya hambat cendawan penghasil enzim kitinase sebagai pengendali hayati terhadap cendawan patogen *L. theobromae*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: isolasi cendawan rhizosfer kitinolitik dan cendawan patogen *L. theobromae*, karakterisasi cendawan rhizosfer kitinolitik dan cendawan patogen *L. theobromae*, identifikasi molekuler, kemampuan daya hambat cendawan kitinolitik dan cendawan patogen pada metode *dual culture* dan peracunan media antagonis.

Isolat cendawan JCS 1 dan JCS 5 adalah cendawan penghasil kitinase tertinggi yang diperoleh dari rhizosfer dibawah tegakan tanaman jabon merah di Kabupaten Sidrap, Sulawesi Selatan dan isolat cendawan JCM 2 adalah cendawan patogen target yaitu *L. theobromae* diperoleh dari bibit tanaman sakit di BPTH Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. Karakterisasi morfologi dan identifikasi molekuler menunjukkan bahwa isolat JCS 1, JCS 5 dan JCM 2 memiliki kesamaan >99% dengan *P. citrinum*, *P. camponotum* dan *L. theobromae*. Persentasi daya hambat terbaik dihasilkan oleh *P. citrinum*. Pada metode *dual culture* diperoleh daya penghambatan *P. citrinum* sebesar 56% dan *P. camponotum* sebesar 16% oleh terhadap *L. theobromae*; sedangkan pada metode peracunan media antagonis menunjukkan hasil *P. citrinum* konsentrasi 0,5% pada media PDA dan PDB.

Kata kunci : Jabon merah (*Neolamarckia macrophylla*), Cendawan kitinolitik, *L. theobromae*

ABSTRACT

SRI WAHYUNI JUFRI. The Potential of Chitinase Enzyme-Producing Rhizosphere Fungi as Biocontrol Agents of *Lasiodiplodia theobromae* Fungi through in Vitro on Jabon Merah (*Neolamarckia macrophylla*). (Supervised by Siti Halimah Larekeng and Astuti).

Lasiodiplodia theobromae is a pathogenic fungus that causes disease by infecting wounds or necrotic tissue on jabon merah (*Neolamarckia macrophylla*), eventually decreasing the productivity of jabon merah. The biocontrol agent of chitinase Enzyme producing fungal controls this fungal infection. Chitinase is an enzyme capable of degrading the fungi cell walls composed of chitin compounds and inhibits the growth of pathogenic fungi.

The research aimed to determine chitinase-producing fungi' characteristics and inhibitory capability as biological control of *L. theobromae*. Several methods were carried out on the research: chitinase rhizosphere fungi and the pathogenic fungus *L. theobromae* isolations, chitinolytic fungi, and pathogenic fungi characterization, molecular identification, the inhibitory capability of chitinolytic fungi and pathogenic fungi in dual culture method and poisoning medium by chitinolytic filtrate method.

Isolates JCS 1 and JCS 5 were the highest chitinase-producing fungi obtained from the rhizosphere under the jabon merah stands in Sidrap, South Sulawesi. JCM 2 isolate was the target pathogenic fungi (*L. theobromae*) obtained from the sick plant at BPTH Maros, South Sulawesi. Morphological characterization and molecular identification showed that JCS 1, JCS 5, and JCM 2 isolates had >99% similarity to *P. citrinum*, *P. camponotum*, and *L. theobromae*. The best percentage of inhibitory was produced by *P. citrinum*. In the dual culture method, the inhibitory of *P. citrinum* and *P. camponotum* were 56% and 16%, respectively, to the growth of *L. theobromae*. The poisoning medium by chitinolytic filtrate method showed 0.5% of *P. citrinum* concentration on PDA and PDB media.

Key words: Jabon merah (*Neolamarckia macrophylla*), Chitinolytic fungi, *L. theobromae*.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, penulis panjatkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, yang telah memberikan kekuatan serta kelancaran kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan penulisan tesis ini. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister pada Program Studi Ilmu Kehutanan, Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak akan sangat sulit untuk menyelesaikan dalam penyusunan tesis. Oleh karenanya, pada kesempatan ini secara khusus dan penuh kerendahan hati penulis menghaturkan banyak terima kasih kepada Dr. Siti Halimah Larekeng, SP., MP. dan Dr. Ir. Astuti., S.Hut., Msi., IPU selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing serta memberi arahan dalam penyusunan tesis ini.

Salam hormat dan kasih saya kepada kedua orangtua tercinta, ayahanda Drs. Jufri dan ibunda Nurdaliah yang selalu memberikan motivasi, dukungan, doa, serta cinta kasih. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan limpahan berkah dan hidayah-Nya kepada beliau. Dengan segala kerendahan hati penulis juga mengucapkan rasa terima kasih khususnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Muh. Restu, MP., Bapak Mukrimin, S.Hut., MP., Ph.D dan Dr. Ir. Siti Nuraeni, MP selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran, bantuan serta koreksi dalam penyusunan tesis beserta seluruh dosen dan staff Fakultas Kehutanan.

2. Dewi Sartika, S.Si., M.Si dan Indriyani Astuti B.K. S.Hut., yang telah memberikan motivasi dan dukungan serta koreksi dalam penyusunan tesis.
3. Nur Faesha S.Hut, Ikraeni Safitri, S.Hut., M.Hut dan Iswanto, S.Hut., M.Si., serta teman teman dari Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon lainnya yang telah ikut berpartisipasi dalam penelitian ini.
4. Syarif Hidayatullah, Iswahyudi M dan Leprina Sambolangi selaku orang-orang yang paling berkesan dalam beberapa tahun terakhir ini.

Dengan keterbatasan ilmu dan pengetahuan, penulis menyadari bahwa penyusunan tesis ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis berharap semoga hasil penelitian yang tertuang dalam Tesis ini dapat memberikan manfaat bagi para pembacanya.

Makassar, 11 Februari 2022



Sri Wahyuni Jufri

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK.....	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Jabon Merah (<i>Neolamarckia macrophylla</i>)	6
1. Morfologi	6
2. Manfaat	7
B. Rhizosfer.....	8
C. Penyakit Tanaman	9
1. Mekanisme Infeksi Patogen	10
2. Mekanisme Pertahanan Inang Terhadap Penyakit	10

3. Cendawan <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	12
D. Upaya Pengendalian Cendawan <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	13
1. Cendawan Rhizosfer Kitinolitik	14
2. Aplikasi Enzim Kitinase	16
E. Kerangka Pikir.....	16
F. Identifikasi Mikroba.....	18
III. METODOLOGI PENELITIAN.....	19
A. Waktu dan Tempat Penelitian	19
B. Alat dan Bahan	19
C. Skema Penelitian.....	20
D. Prosedur Penelitian.....	22
1. Isolasi dan Karakteristik Makroskopis Cendawan Rhizosfer dan cendawan patogen	22
2. Uji Enzism Kitinase.....	24
3. Identifikasi Cendawan Target	25
4. Uji Antagonis Cendawan Kitinolitik terhadap Cendawan Patogen <i>Lasiodiplodia theobromae</i> secara <i>in vitro</i>	27
E. Analisi Data.....	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
A. Deskripsi Lingkungan Cendawan Rhizosfer	31
B. Isolasi dan Karakteristik Makroskopis Cendawan Rhizosfer dan cendawan patogen.....	34

C. Uji Enzism Kitinase.....	40
D. Karakterisasi Cendawan Target	41
1. Identifikasi Morfologi.....	41
2. Identifikasi Molekuler	46
E. Kemampuan Daya Hambat Cendawan Kitinolitik terhadap Cendawan Patogen <i>Lasiodiplodia theobromae</i> secara <i>in vitro</i>	51
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
A. Kesimpulan	60
B. Saran	60
DAFTAR PUSTAKA.....	61
LAMPIRAN	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
1.	Kerangka Pikir.....	18
2.	Skema Penelitian	21
3.	Tegakan Jabon Merah di Wilayah Kab. Sidrap, Kec. Pitu Riase.	34
4.	Gejala Penyakit yang disebabkan oleh <i>Lasiodiplodia</i> <i>theobromae</i> pada Bibit Jabon Merah.....	38
5.	Zona Bening Cendawan Kitinolitik	40
6.	Morfologi Koloni JCS 1	43
7.	Morfologi Koloni JCS 5.....	43
8.	Morfologi Koloni JCM 2	45
9.	Visualisasi PCR Produk	47
10.	Analisis Filogenetik Isolat Cendawan Kitinolitik	50
11.	Persentasi penghambatan Cendawan Antagonis terhadap Cendawan Patogen Metode <i>Dual Culture</i>	52
12.	Persentasi penghambatan Cendawan Antagonis terhadap Cendawan Patogen Metode Peracunan Media	54
13.	Rata-rata Persentase Penghambatan pada media PDA dan PDB	55

DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1.	Enzim Kitinase Tergolong dalam Bentuk Enzim Hydrolase	15
2.	Karakter Titik Pengambilan Sampel Tanah	33
3.	Ciri-ciri Makroskopis Isolat Cendawan Rhizosfer	35
4.	Ciri-ciri Makroskopis Isolat Cendawan Patogen	39
5.	Hasil Kuantifikasi DNA Genom Cendawan Target.....	46
6.	Hasil Identifikasi Molekuler Cendawan Target.....	48

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Patogen merupakan agen biologis yang menyebabkan penyakit pada inangnya. Menurut konsep segitiga penyakit, penyakit dapat muncul jika ada interaksi antara tanaman rentan dengan patogen pada lingkungan yang mendukung pertumbuhan patogen (Sopialena, 2017). Patogen dapat menyebabkan berbagai macam gejala penyakit seperti hawar daun, bercak daun, mati pucuk bahkan kematian tanaman (Yanti dan Khumaida, 2015). Gejala hawar daun disebabkan oleh jamur *Fusarium* sp., sedangkan gejala mati pucuk disebabkan oleh *Lasioidiplodia theobromae* (Herliyana *et al.*, 2012). Menurut Arshintia (2013) kejadian penyakit mati pucuk pada bibit jabon putih umur 3, 4, dan 5 bulan masing-masing sebesar 100%, sedangkan keparahan penyakit mati pucuk berturut-turut adalah 61,42%, dan 54,00%. Penyakit mati pucuk mudah menyerang bibit tanaman jabon merah karena kondisi bibit yang masih sukulen bersifat rentan terhadap gangguan patogen. Serangan patogen ini dapat menurunkan kualitas tanaman sehingga menjadi masalah penting yang perlu diatasi dengan cepat.

Pengendalian terhadap serangan *L. theobromae* pada tanaman jabon penting dilakukan untuk menekan kerugian produksi bibit maupun penurunan produktivitas pohon. Pengendalian yang sering dilakukan yaitu menggunakan fungisida sintetik berbahan aktif bahan kimia yang dapat memberikan dampak

terhadap lingkungan serta menimbulkan residu (Sugipriatini, 2009). Penggunaan fungisida sintetik juga dapat memunculkan strain patogen baru yang toleran terhadap fungisida (Noveriza dan Miftakhurohmah, 2010). Hal itu mendorong dilakukannya upaya yang lebih aman untuk lingkungan melalui pemanfaatan mikroorganisme antagonis.

Mikroorganisme antagonis memiliki potensi sebagai pengendali patogen dengan cara menekan inokulum, mencegah terjadinya kolonisasi dan peningkatan produksi antibiotik (Sinaga, 2003). Mikroorganisme antagonis yang menguntungkan sangat melimpah jumlahnya di sekitar perakaran atau daerah rhizosfer. Lapisan rhizosfer mengandung cendawan yang memiliki potensi sebagai agen pengendali hayati (Tistama dan Nograho, 2007) mengemukakan bahwa pada lapisan rhizosfer di perkebunan karet mengandung cendawan sebagai fungisida yang berpotensi dalam peningkatan produktivitas karet. Hal ini dapat digunakan sebagai acuan untuk menyeleksi cendawan rhizosfer yang dapat berperan sebagai fungisida alami pengendali penyakit pada jaban merah.

Karakteristik umum yang dimiliki mikroba sebagai pengendali cendawan ditandai dengan sekresi enzim ekstraselular pengurai dinding sel cendawan seperti kitinase dan glukukanase. Hidrolisis kitin menyebabkan sel cendawan rusak (Nurdin *et al.*, 2016) dan dapat mengganggu metabolisme cendawan. Oleh sebab itu, salah satu cara untuk mendapatkan bakteri yang berpotensi dalam mengendalikan pertumbuhan cendawan ialah dengan mengidentifikasi dan menyeleksi mikroba yang mampu menghasilkan enzim kitinase.

Kitinase adalah enzim yang dapat mendegradasi kitin dan banyak dimanfaatkan sebagai agen biokontrol terutama bagi tanaman yang terserang infeksi mikroba (Hamid *et al.*, 2013). Kitin adalah polimer yang umum ditemukan pada dinding sel jamur kelas Basidiomycetes, Ascomycetes dan beberapa jenis Deuteromycetes (Yurnaliza *et al.*, 2012). Dua dekade terakhir kitin merupakan komponen utama dinding sel jamur dapat didegradasi enzim kitinase menghasilkan produk yang ramah lingkungan dibandingkan penggunaan zat kimia sebagai anti jamur. Keberadaan kitin di alam sangat melimpah dan dengan cepat terdegradasi karena adanya beberapa mikroba yang mempunyai enzim kitinase yang mampu mendegradasi kitin (Herdyastuti *et al.*, 2009)

Pengetahuan terkait mikroba penghasil enzim kitinase dalam pengendalian cendawan patogen pada tanaman telah diketahui seperti *Bacillus* spp. (Nurdin *et al.*, 2016). Namun, penelitian tentang potensi cendawan rhizosfer penghasil enzim kitinase sebagai pengendali cendawan patogen khusus *L. theobromae* pada jabon merah belum dilakukan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan serangkaian kegiatan identifikasi cendawan melalui pendekatan molekuler penghasil enzim kitinase pada jabon merah sebagai acuan dalam pengendalian penyakit yang disebabkan oleh cendawan patogen *L. theobromae* pada tanaman jabon merah.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana hasil isolasi cendawan rhizosfer dan cendawan patogen ?
2. Bagaimana karakterisasi cendawan rhizosfer yang berpotensi menghasilkan enzim kitinase ?
3. Bagaimana kemampuan daya hambat cendawan potensial terhadap cendawan *L. theobromae* dengan *in vitro* ?

C. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengisolasi dan mengkarakterisasi secara makroskopis cendawan rhizosfer dan cendawan patogen pada tanaman jabon merah
2. Mengidentifikasi jenis cendawan yang potensial menghasilkan enzim kitinase dan cendawan *L. theobromae* secara molekuler
3. Mengetahui kemampuan daya hambat cendawan potensial terhadap cendawan *L. theobromae* dengan *in vitro*.

D. Kegunaan

Kegunaan penelitian ini antara lain :

1. Memberikan informasi mengenai jenis cendawan rhizosfer tanaman jabon merah yang mempunyai potensi sebagai cendawan kitinolitik.

2. Memberikan informasi sebagai rujukan mengenai cendawan kitinolitik bersifat antagonis sebagai upaya pengendali hayati terhadap cendawan *L. theobromae* penyebab penyakit pada bibit tanaman jabon merah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Jabon Merah (*Neolamarckia macrophylla*)

Jabon merah lebih dikenal dengan nama lokal samama (Maluku), karumama (Sulawesi Utara), orawa (Sulawesi Tenggara), samama merah (Papua), kahumama merah (Banggai), sugi manai (Makassar) (BPTH Sulawesi, 2011). Pada umumnya jenis pionir, jabon merah termasuk jenis tanaman intoleran. Tanaman ini tidak tahan naungan dan membutuhkan pencahayaan penuh dalam periode hidupnya.

Sifat jabon merah yang cepat tumbuh dan mudah dibudidayakan menjadikan spesies ini sering dilirik dalam proses rehabilitasi hutan dan lahan, dengan dikombinasikan dalam sistem agroforestry. Tanaman ini juga relatif mudah beradaptasi pada kondisi tempat tumbuh yang kurang baik (*marginal*) untuk pertumbuhan tanaman dan secara spesifik tidak memiliki syarat tumbuh tertentu (BPTH Sulawesi, 2011).

1. Morfologi

Jabon merah memiliki tinggi pohon yang mencapai 40-45 dengan tinggi bebas cabang 30 m dan diameter setinggi dada (dbh=100-160 cm). Batang jabon merah secara fisik relatif lurus, mulus, silindris, batang bundar dan tegak lurus mencapai 70-80% dengan lingkaran batang mencapai lebih dari 150 cm atau diameter lebih dari 50 cm dan kadang-kadang berbanir kecil dengan tinggi banir 50-150 cm dari pangkal batang. Percabangan relatif mendatar dengan sudut

kurang lebih 90°C terhadap batang dan membentuk tajuk seperti payung. Kulit batang berwarna coklat kemerahan, kulit timpanan berwarna merah jambu sampai dengan merah marun. Kayu berwarna putih kemerahan menyerupai kayu meranti merah dan tidak mempunyai kayu teras (Halawane *et al.*, 2015).

Daun jabon merah secara fisik sekilas tampak mirip seperti daun jati *Tectona grandis* namun lebih tipis dan lebih lunak. Daun berbulu halus dengan posisi duduk daun bersilangan berhadapan. Helai daun berbentuk oval atau elips dan berwarna hijau kemerahan. Daun jabon merah memiliki ukuran panjang 15-50 cm x lebar 8-25 cm, dengan panjang tangkai 2,6-6 cm. Tangkai relatif pendek, dengan tulang daun berwarna kemerahan atau merah dengan daun pelindung cukup besar berwarna hijau-merah.

2. Manfaat

Pemanfaatan jabon sebagai kayu pertukangan tidak diragukan lagi. Kayu jabon dapat digunakan untuk bahan baku kayu lapis, konstruksi ringan, lantai, pulp dan kertas, langit-langit, kotak, peti, mainan, ukiran, korek api, sumpit dan pensil. Kayu jabon juga dapat dipakai untuk bahan pembuatan sampan dan perkakas rumah sederhana jika dikeringkan dengan benar. Kayu jabon termasuk dalam kayu kelas kuat II-III dan tergolong kayu kelas awet IV serta termasuk kelas sedang dalam hal menyerap bahan pengawet. Kayu ini dapat dimanfaatkan untuk bahan baku plywood, furnitur, kayu lapis, aksesoris rumah, dan lain lain (Halawane *et al.*, 2015).

Pemanfaatan non kayu jabon yaitu ekstrak dari daun jabon dapat berfungsi sebagai obat kumur. Daun segarnya dapat digunakan sebagai pakan

ternak atau kadang-kadang digunakan sebagai piring dan serbet. Masyarakat Halmahera Tengah, telah memanfaatkan daun sebagai obat penambah stamina. Secara alami, jabon dapat memproduksi atau menghasilkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder pada daun jabon merah diantaranya kuinon dan steroid yang berpotensi sebagai obat antioksidan (Alfyandi & Alwedi, 2021).

B. Rhizosfer

Rhizosfer adalah selapis tanah yang menyelimuti permukaan akar tanaman yang masih dipengaruhi oleh aktivitas akar permukaan berperan sebagai pertahanan luar bagi tanaman terhadap serangan patogen akar. Populasi mikroorganisme di rhizosfer biasanya lebih banyak dan beragam dibandingkan pada tanah bukan rhizosfer. Beberapa mikroorganisme rhizosfer berperan penting dalam siklus hara dan proses pembentukan tanah, pertumbuhan tanaman dan mempengaruhi aktivitas mikroorganisme. Rhizosfer digunakan untuk menunjukkan bagian tanah yang dipengaruhi oleh perakaran tanaman yang dicirikan oleh lebih banyaknya kegiatan mikrobiologis di bandingkan kegiatan di dalam tanah yang jauh dari perakaran tanah. Laju kegiatan metabolik mikroorganisme rhizosfer berbeda dengan laju kegiatan metabolik mikroorganisme dalam tanah non-rhizosfer (Rao, 2010).

Secara teori luasnya daerah rhizosfer sangat dipengaruhi oleh seberapa luasnya daerah yang masih tercakup oleh pengaruh aktivitas perakaran tanaman beserta dengan mikroorganisme yang berasosiasi dengannya. Daerah rhizosfer merupakan lingkungan yang kegiatan metaboliknya selalu lebih aktif, berubah dengan cepat dan lebih kompetitif dibandingkan dengan

bagian tanah yang ada di sekelilingnya (Sylvia *et al.*, 2005). Daerah perakaran relatif kaya akan nutrisi atau unsur hara. Rhizosfer merupakan habitat yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme. Efek rhizosfer menunjukkan pengaruh keseluruhan perakaran tanaman terhadap mikroorganisme tanah yang terkandung banyak jumlah bakteri dan cendawan. Keuntungan yang diperoleh dari mikroba rhizosfer (Subba Rao, 1994), yaitu :

1. Mikroba dapat melarutkan dan menyediakan mineral seperti N, P, Fe, dan unsur lain.
2. Mikroba dapat menghasilkan vitamin, asam amino, auxin dan giberelin yang dapat menstimulir pertumbuhan tanaman.
3. Mikroba yang patogenik dengan menghasilkan antibiotik.

C. Penyakit Tanaman

Patogen adalah organisme hidup yang mayoritas bersifat mikro dan mampu menimbulkan penyakit pada tumbuhan. Mikroorganisme tersebut antara lain cendawan, bakteri, virus, nematoda mikoplasma, spiroplasma, dan riketsia. Pengaruh komponen patogen dalam timbulnya penyakit sangat tergantung pada kehadiran patogen, jumlah populasi patogen, kemampuan patogen untuk menimbulkan penyakit yaitu berupa kemampuan menginfeksi (virulensi) dan kemampuan menyerang tanaman inang (agresifitas) (Sopialena, 2017).

1. Mekanisme Infeksi Patogen

Proses infeksi cendawan patogen ke dalam tumbuhan diawali dengan penetrasi ke dalam sel tumbuhan dengan bantuan enzim yang dapat

menembus dinding sel tumbuhan. Di samping itu, cendawan juga dapat melakukan penetrasi dengan cara membentuk apresorium yang akan menempel pada dinding sel inang. Pada saat penetrasi, cendawan akan berwarna gelap karena mengandung melanin (Agrios, 2005; Mendgen *et al.*, 1996; Huang, 2001).

Selain senyawa melanin, cendawan patogen dapat menghasilkan beberapa zat kimia antara lain enzim patogenik, zat pengatur tumbuh dan senyawa toksik. Enzim patogenik yang dihasilkan antara lain: selulase, pektinase, ligninase dan protease akan melisiskan komponen penyusun dinding dan membran sel tumbuhan serta memecah substansi yang terdapat didalam protoplasma (Agrios, 2005).

2. Mekanisme Pertahanan Inang Terhadap Penyakit

Tumbuhan merupakan organisme yang berperan penting dalam bagi organisme lainnya karena tumbuhan merupakan sumber bahan makanan bagi manusia dan hewan di sekitarnya. Manusia dan organisme lainnya membutuhkan tumbuhan sebagai sumber energi untuk keberlangsungan hidupnya sehingga keberadaan tumbuhan perlu dijaga dan diperhatikan. Namun, tumbuhan sangat mudah diserang oleh berbagai jenis patogen antara lain virus, bakteri, protozoa, cacing dan bakteri sehingga penting untuk menjaga kesehatan tumbuhan (Sopialena, 2017).

Tumbuhan yang sehat dapat melaksanakan peran-peran fisiologisnya sesuai dengan potensi genetik yang diwariskan dari induknya. Salah satu potensi genetik yang dimiliki oleh tumbuhan adalah daya tahan atau resistensi

tanaman yang memungkinkan tanaman sembuh dari serangan hama (Sopialena, 2017). Ketika patogen telah melakukan penetrasi ke dalam jaringan, maka pertahanan diri tumbuhan akan diaktifkan. Mekanisme resistensi tumbuhan diawali dengan pengenalan gen patogen. Antigen yang terdapat pada patogen dapat menginduksi inang untuk menghasilkan ketahanan yang disebut gen R (Resistensi).

Jaringan tumbuhan inang yang telah terinfeksi akan menghambat penyebaran patogen ke jaringan lain dengan cara membentuk lapisan absisi atau pertahanan biokimia seperti polifenol oksidase, protein PR (*Pathogenesis-Related*) dan fitoaleksin. Protein PR dapat terakumulasi pada jaringan yang telah terinfeksi maupun belum terinfeksi patogen. Salah satu jenis kelompok protein PR pada tumbuhan yang terserang cendawan patogen adalah enzim kitinase yang berfungsi melisiskan kitin pada dinding sel cendawan. Polifenol oksidase dapat mengubah senyawa fenol pada sel tumbuhan menjadi senyawa quinon yang beracun dan dapat mematikan patogen. Senyawa ini terakumulasi lebih banyak pada tumbuhan yang terinfeksi dibandingkan tumbuhan sehat. Fitoaleksin merupakan senyawa penghambat pertumbuhan dan perkembangan patogen. Kombinasi antara polifenol oksidase, kitinase dan fitoaleksin membentuk sifat resistensi tumbuhan terhadap cendawan patogen (Agrios, 2005).

3. Cendawan *Lasiodiplodia theobromae*

L. theobromae (Sinonim: *Botryodiplodia theobromae*) adalah cendawan patogen penting secara ekonomi pada berbagai komoditas tanaman

perkebunan, hortikultura, dan pangan di wilayah tropis maupun subtropis. Patogen ini bersifat oportunistik dalam menimbulkan penyakit dengan memanfaatkan luka atau jaringan nekrotik terutama pada organ tanaman yang berdaging atau berkayu, seperti busuk buah, hawar daun, busuk ujung batang, gumosis, kanker batang dan mati ujung (Barkai-Golan, 2001). Suhu optimal pertumbuhan cendawan yaitu 30°C (Zhang, 2014). Faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat infeksi *L. theobromae* seperti kayu mati, suhu tinggi, curah hujan dan penggunaan fungisida.

Menurut Anggraeni (2011), fungi *L. theobromae* dilaporkan menjadi patogen pada beberapa tanaman kehutanan di Indonesia. Berdasarkan uji postulat Koch yang dilakukan oleh (Aisah *et al.*, 2015) cendawan yang diduga sebagai penyebab primer dari gejala penyakit mati pucuk pada bibit jabon adalah *L. theobromae* (Herliyana *et al.*, 2012) juga melaporkan bahwa cendawan *L. theobromae* adalah penyebab penyakit yang sering ditemukan di pembibitan tanaman jabon merah. Patogen primer penyakit mati pucuk pada bibit jabon adalah fungi *L. theobromae* dengan tingkat kejadian penyakit mati pucuk pada bibit jabon di Bogor mencapai 15%. Gejala awal yang muncul pada bibit berupa nekrotik pada batang yang bergerak secara vertikal menuju daun kemudian pucuk, mengakibatkan batang membusuk, daun menguning dan pucuk mati (Aisah, 2014). *L. theobromae* tergolong kelompok cendawan anamorfik dan menjadi patogen penyakit tanaman berkayu khususnya di daerah tropis (Ellis *et al.*, 2007).

D. Upaya Pengendalian Cendawan *Lasiodiplodia theobromae*

Pestisida kimiawi digunakan oleh sebagian besar penggiat persemaian untuk mengendalikan serangan patogen pada tanaman budidaya sehingga hasil pertanian meningkat dan stabilitas ketersediaan produksi dan kualitasnya tetap terjaga, namun peningkatan penggunaan pestisida kimiawi secara eksponensial menghasilkan strain patogen yang toleran pestisida dan akumulasi residu di atas ambang batas (Noveriza dan Miftakhurohmah, 2010). Dampak negatif akibat penggunaan fungisida sintetik mendorong dilakukannya upaya lain yang lebih aman untuk lingkungan.

Pengendalian hayati dalam arti luas: mencakup manipulasi genetik, antibiotik dan obat-obatan, tanaman yang resisten, binatang/hewan yang resisten terhadap patogen, parasit dan predator (Sopialena, 2018). Pengendalian hayati meliputi: (1) pergiliran tanaman dan beberapa sistem pengelolaan tanah, pemupukan yang dapat mempengaruhi mikroba tanah, (2) penggunaan bahan kimia untuk merubah mikroflora, dan (3) menambahkan mikroba antagonis pada patogen. Tujuan pengendalian hayati adalah untuk mengurangi laju perkembangan penyakit melalui penurunan daya hidup patogen pada tanaman. Pengendalian terhadap patogen yang aman serta tidak mencemari lingkungan yaitu dengan pengendalian biologi yang memanfaatkan agen hayati (mikroorganisme dan biopestisida yang berasal dari ekstrak tumbuhan).

1. Cendawan Rhizosfer Kitinolitik

Kitinase merupakan enzim hidrolitik yang dapat menghidrolisis kitin pada ikatan β -1,4-glikosidiknya dengan menghasilkan derivat-derivat kitin seperti oligomer kitin. Beberapa penelitian telah mencoba menghidrolisis kitin dengan enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus* sp, *Bacillus* sp, *Clostridium* sp, *Serratia* sp, *Aeromonas* sp, dan *Trichoderma* sp. (Purkan *et al.*, 2016). Terdapat tiga jenis enzim kitinase yang dibedakan berdasarkan cara kerjanya dalam mendegradasi kitin yaitu eksokitinase, endokitinase dan N-asetil-Endokitinase. Endokitinase memotong polimer kitin hanya dari ujung non reduksi. Endokitinase memotong polimer kitin secara acak dan menghasilkan dimer, trimer, tetramer dan oligomer gula. N-asetil-glukosaminidase yang memutuskan diasetilkitobiosa dan menghasilkan N-asetil-glukosamin (Pratiwi *et al.*, 2014).

Mikroorganisme rhizosfer merupakan salah satu kelompok mikroba yang telah dilaporkan dapat menginduksi ketahanan suatu tanaman terhadap berbagai penyakit termasuk penyakit yang terbawa dari tanah atau tempat tumbuh tanaman tersebut (Purwantisari dan Hastuti, 2009). Beberapa isolat cendawan yang memiliki daya hambat tinggi merupakan isolat antagonis yang pertumbuhan koloninya lebih cepat dibandingkan koloni patogen yang dapat menutupi dan menekan perkembangan koloni patogen. Cook dan Baker (1983) menjelaskan bahwa salah satu syarat suatu organisme disebut sebagai agen hayati adalah apabila mempunyai kemampuan antagonisme atau kemampuan menghambat perkembangan dan pertumbuhan organisme lainnya. Agrios (2005) menambahkan bahwa mekanisme biokontrol adalah melemahkan atau

membunuh patogen tanaman dengan perlawanan yaitu memparasit patogen secara langsung, memproduksi antibiotik (toksin) dan memproduksi enzim untuk melawan komponen sel patogen. Selain itu, semua isolat antagonis memiliki mekanisme kompetisi yaitu kemampuan bersaing dan bertahan pada ruang dan nutrisi sehingga pertumbuhan mikroba patogen terhambat.

Kitinase dikelompokkan menjadi tiga familiy glikosil hydrolase. Kitinase yang dihasilkan oleh organisme prokariotik dan eukariotik dan enzim kitinase yang ditemukan pada gram positif, *Streptomyces* dan tanaman tingkat tinggi (Pratiwi *et al.*, 2014). Secara umum enzim kitinase tergolong dalam bentuk enzim hydrolase sesuai dengan penjelasan pada Tabel 1.

Tabel 1. Enzim kitinase tergolong dalam bentuk enzim hydrolase

Sumber: Bolly (2010)

Kelas Enzim	Nama Enzim	Reaksi	Struktur	Mekanisme Reaksi
Hydrolase	Kitinase	Mendegradasi kitin menjadi oligosakarida	Struktur dari 3 domain terminal, α/β -barrel domain dan $\alpha+\beta$ -fold (insertion domain)	Mekanisme reaksi katalisis kitin memiliki dua jenis yaitu <i>Double-displacement retaining mechanism</i> dan <i>Single-displacement Inverting Mechanism</i>
Residu Katalik	Inhibisi/ Stimulus	Isolasi/ Purifikasi	Aplikasi	Keterangan
Residu katalik pada family 18 yaitu Glu315 dan Asp391. Sedangkan pada kitinase dari family 19 yaitu Glu89 dan Glu67	Kitinase diinhibisi secara kompetitif oleh senyawa xanthine (<i>cafein</i>)	Dapat diisolasi dari berbagai sumber seperti jamur, tanaman, serangga, virus dan bakteri	Digunakan sebagai antifugal, bahkan produk degradasi kitinase telah diteliti memiliki potensi sebagai antikanker	Merupakan enzim kompleks yang tergolong menjadi tiga yaitu: Endokitinase, Eksokitinase dan β -(1,4)N-asetilglukominidase

2. Aplikasi Enzim Kitinase

Enzim kitinase dimanfaatkan sebagai agen biokontrol hama tanaman dan untuk pengolahan limbah industri yang mengandung kitin. Di bidang pertanian, kitinase berfungsi sebagai agen biokontrol terhadap hama serangga dan fungsi patogen yang memiliki komponen kitin pada dinding sel. Sebagai agen *Haemonchus controtus* dengan cara mendegradasi dan melisiskan dinding kulit larva cacing. Setelah larva mati maka mikroba kitinolitik akan berkembangbiak mengambil nutrisinya. Senyawa-senyawa hasil degradasi kitinase pada kitin membentuk senyawa turunan kitin sebagai karboksimetil kitin, hidroksetil kitin dan etil kitin yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang (Pratiwi *et al.*, 2014).

E. Identifikasi Cendawan

Identifikasi dan determinasi suatu biakan murni suatu koloni hasil isolasi perlu ditentukan morfologi sel individual dan morfologi koloni. Identifikasi dimulai dengan identifikasi konvensional mengamati morfologi individual secara makroskopik, mikroskopik dan identifikasi secara molekuler untuk mendapatkan hasil yang akurat.

1. Identifikasi secara Morfologi

Pengamatan dilakukan dengan atau melalui makroskopis meliputi pertumbuhan, bentuk, ukuran, warna, dan tekstur. Mikroskopis, meliputi penciri hifa dan percabangan, pembentukan konidium atau spora. Setelah melihat

dibawah mikroskop, selanjutnya mengacu pada karakteristik standar dan umum (Watanabe, 2002). Kemudian dicocokkan pada literatur NCBI (National Center for Biotechnology Information) atau dengan kunci determinasi buku identifikasi jamur yaitu *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Barnett and Hunter, 1972).

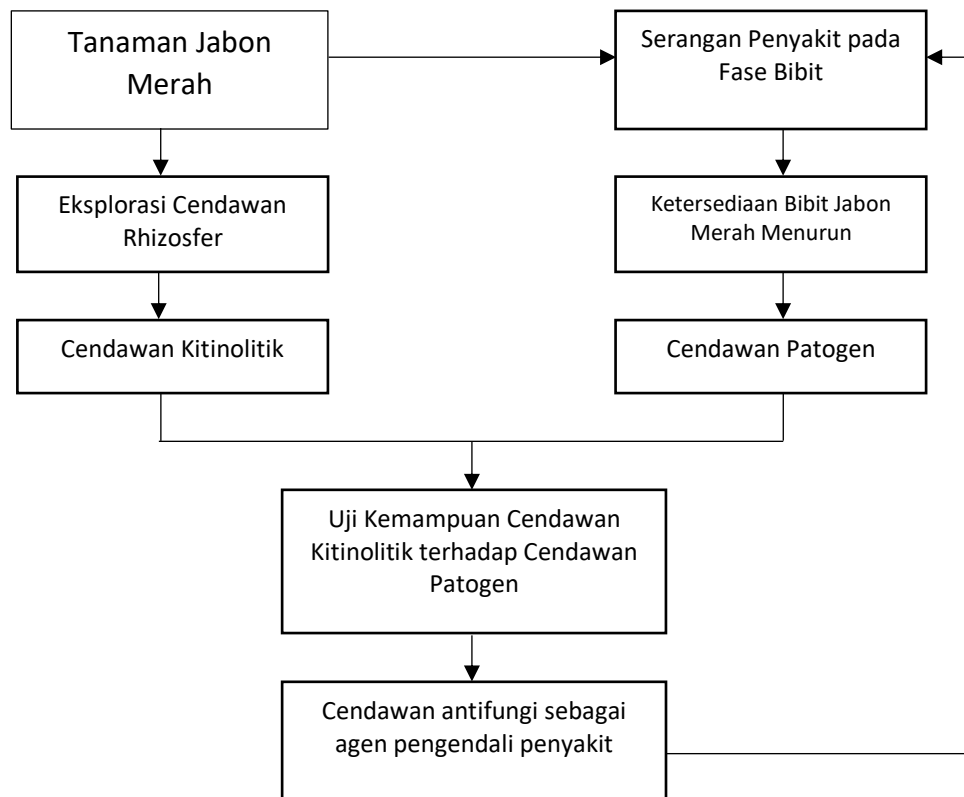
2. Identifikasi secara Molekuler

Penanda molekuler merupakan suatu fragmen DNA yang berada pada suatu lokasi tertentu pada genom yang memiliki kaitan dengan suatu karakter. Identifikasi secara molekuler dilakukan dengan menggunakan teknik PCR (Polymerase Chain Reacton) yang merupakan teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara in vitro (Mulsanti, 2011).

Produk PCR yang merupakan hasil dari proses PCR dapat dilanjutkan dengan melakukan proses sekuensing DNA. Sekuensing DNA dapat dimanfaatkan untuk menentukan identitas maupun fungsi dari gen atau fragmen DNA lainnya dengan cara membandingkan sekuensnya dengan sekuens DNA lain yang sudah diketahui (Glick, et al., 2010). Sekuensing DNA bertujuan untuk menentukan urutan basa nitrogen (adenin, guanin, sitosin, dan timin) suatu sampel DNA (Tasma, 2015).

F. Kerangka Pikir

Kerangka pikir dalam penelitian ini menjelaskan variabel yang diamati dan diukur melalui serangkaian kegiatan yang dilakukan. Kerangka konsep ini bertujuan untuk mendapatkan hasil penelitian yang didukung oleh teori-teori, maka dibuatlah kerangka pikir sebagai berikut:



Gambar 1. Kerangka Pikir