



Uji Antagonis Enzim Kitinase Actinobacteria Dalam Menghambat Ganoderma Boninense

Celsi Vionada Seprianti¹, Thesia Oktapia², Dhiny Amatullah³ Ashif Irvan Yusuf⁴

^{1,2,3,4} Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi, Jambi.

Abstrak

Received: 24 November 2023
Revised : 01 Desember 2023
Accepted: 08 Desember 2023

Pada perkebunan kelapa sawit, tentu ada kendala yang akan mengakibatkan produktivitas sawit menjadi kurang maksimal dan menurun. Penyakit busuk pangkal batang (BPB) yang dibawa oleh *Ganoderma boninense* menjadi salah satu hambatan yang dialami oleh perkebunan kelapa sawit. Di media Potato Dextrose Agar (PDA) dilaksanakan uji antagonis secara *in vitro* dengan pendekatan dual culture. Sampel enzim kitinase ditempatkan ke dalam sumur sejumlah 20 µl dalam media PDA dengan diameter cawan petri 9 cm, dengan jarak minimal 3 cm dari tempat jamur patogen berukuran 0,5 cm. Selama 10 hari di suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) dilakukan inkubasi. Hasil uji antagonis enzim hasil pemekatan dan EEK yang dilakukan terhadap *Ganoderma boninense* mampu menghambat pertumbuhan *Ganoderma boninense*.

Keywords: *Ganoderma boninense*, Kelapa Sawit, Kitinase

(*) Corresponding :

celsivionadav5s@gmail.com

How to Cite: Seprianti, C. V., Oktapia, T., Amatullah, D., & Yusuf, A. I. (2023). Uji Antagonis Enzim Kitinase Actinobacteria Dalam Menghambat *Ganoderma Boninense*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10426817>

PENDAHULUAN

Pada perkebunan kelapa sawit, tentu ada kendala yang akan mengakibatkan produktivitas sawit menjadi kurang maksimal dan menurun. Penyakit BPB yang dibawa oleh *Ganoderma boninense* menjadi salah satu hambatan yang dialami oleh perkebunan kelapa sawit. Pohon kelapa sawit lebih mudah diserang oleh *G. boninense* selama fase produksi dan pembibitan. Tumbuhnya tubuh buah jamur merupakan gejala yang ditimbulkan oleh jamur *G. boninense*. Selain itu, dibedakan dengan adanya busuk di pangkal batang, yang mengakibatkan busuk kering di jaringan dalam (Alviodynasyari *et al.*, 2015).

Pencabutan batang sawit dan penggunaan zat kimia sering digunakan untuk mengendalikan jamur *G. boninense*, meskipun hal ini dapat merusak lingkungannya. Mikroorganisme dapat digunakan untuk pengendalian jamur *G. boninense* yang ramah lingkungan. *Actinobacteria* menjadi salah satu mikroorganisme yang bisa dipergunakan atas mengendalikan jamur *G. boninense* penyebab penyakit BPB. Bakteri gram positif aerob dikenal sebagai *actinobacteria*. Bakteri ini menyerupai fungi dalam penampilannya yang mirip miselium. Salah satu kelompok mikroorganisme tanah yang paling banyak terdapat di berbagai jenis tanah adalah populasi *Actinobacteria*. Bakteri yang dikenal sebagai *actinobacteria* mampu menghasilkan barang-barang bioteknologi termasuk enzim industri dan antibiotik. Enzim kitinase adalah salah satu enzim yang mampu diproduksi oleh bakteri *Actinobacteria* (Queendy dan Roza, 2019).

Kitin, senyawa polimerik N-asetilglukosamin dimana menghasilkan ikatan linier β -1,4, didegradasi oleh kitinase glikosil hidrolase. Dengan

membudidayakan pada media dimana mengandung koloidal kitin, bakteri serta jamur dari beragam sumber, seperti air atau tanah, dapat menghasilkan kitinase. Dengan mengukur zona bening di sekeliling koloni yang tumbuh di media agar yang mengandung kitin, aktivitas kitinase dapat dinilai secara kualitatif (Herdyastuti *et al.*, 2009).

Actinobacteria sering tumbuh subur pada kelembapan 90%, menjadikan tanah gambut salah satu habitat pilihan *actinobacteria*, di Kabupaten Tanjung Jabung Timur, Provinsi Jambi ialah tempat di mana dapat menemukan tanah gambut ini. Secara umum, gambut ombrogen yang terbentuk akibat curah hujan merupakan jenis gambut yang terdapat di Indonesia. Dalam hal pengisian nutrisi dan dekomposisi bahan organik, *actinobacteria* di lahan gambut memainkan peran penting. Enzim hidrolitik selulase, kitinase, dan xilanase diproduksi oleh *actinobacteria*, yang sangat mendegradasi bahan organik (Astuty, 2017).

Actinobacteria dari tanah gambut digunakan dalam penelitian ini untuk memproduksi enzim kitinase yang dapat mencegah pertumbuhan jamur *G.boninense*, dimana merupakan penyebab penyakit BPB. *Actinobacteria* dari sedimen dan tanah gambut memiliki indeks kitinolitik yang tinggi, yang mencapai hingga 50% isolat, dan cenderung memiliki nilai antagonis dalam kategori sedang, menurut Saragih (2019). Hal ini disebabkan ketersediaan kitin yang lebih tinggi di tanah gambut.

METODE

Alat yang dipergunakan pada penelitian ini yakni erlenmeyer, *hot plate*, cawan petri, *sentifuge*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kertas pH, *Laminar Air Flow*, bunsen, jarum ose, vortex, shaker, spatula, inkubator, pipet tetes, *refrigerator*, neraca analitik, *object glass*, *autoclave*, jangka sorong, mikroskop binokuler.

Sedangkan bahan yang dipakai pada penelitian ini ialah Sumber Isolat *Actinobacteria*, bahan yang dipergunakan pada penelitian ini ialah Alkohol 70%, spirtus, Aquades, PotatoDextrose Agar (PDA), Starch Nitrat Agar (SNA), media kitin agar (bubuk kitin, air dingin, HCl, NaOH, K₂HPO₄, MgSO₄.7H₂O, yeast extract, pepton, bacto tripton, NaCl, (NH₄)₂SO₄, agar, aquades), kertas saring, plastik wrap dan alumunium foil.

Adapun metode pada penelitian ini yaitu:

Isolasi dan Pertumbuhan *Actinobacteria*

Disiapkan media kitin agar dengan komposisi bubuk kitin, K₂HPO₄, MgSO₄.7H₂O, *yeast extract*, pepton, bacto tripton, NaCl, (NH₄)₂SO₄, agar, aquades lalu dipanaskan dengan *hot plate* sampai mendidih lalu disterilisasi menggunakan *autoclave*. Setelah diinkubasi media dituang kedalam cawan petri dan ditunggu hingga mengeras, setelah mengeras diisolasikan isolat *Actinobacteria* ke media kitin agar dan diinkubasi selama 3-7 hari.

Produksi Ekstrak Kasar Enzim Kitinase *Actinobacteria*

Sejumlah 1-2 lup bakteri diinokulasi pada 100 mL media cair kitin diinkubasi di suhu ruang ($\pm 27^{\circ}\text{C}$) selama 48 jam. Larutan tersebut meliputi koloidal kitin 0,3%, yeast extract 0,1%, K₂HPO₄ 0,1%, MgSO₄7H₂O 0.01% serta NaCl 0,1%. Selama 15 menit, kultur disentrifugasi pada 8000 rpm menggunakan *Eppendorf MiniSpin* dengan rotor jenis F-45-12-11. Enzim kitinase dari isolat terpilih merupakan ekstrak kasar yang ditemukan pada supernatan yang dihasilkan. Amonium sulfat

sekitar 20-70% digunakan untuk mengendapkan kitinase. Dimana 1 ml buffer fosfat 0,1 M pH 7,0, endapan yang terbentuk dilarutkan. (Nurmalinda et al., 2020).

Uji Antagonis Enzim Kitinase *Actinobacteria* Terhadap *Ganoderma boninense*

Di media PDA dilaksanakan uji antagonis secara *in vitro* mempergunakan metode *dual culture*. Sampel enzim kitinase dimasukkan pada sumur sejumlah 20 µl dalam media PDA dimana diameter cawan petri 9 cm, dengan jarak minimal 3 cm dari tempat jamur patogen dengan ukuran 0,5 cm. Selama 10 hari di suhu ruang ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) dilakukan inkubasi.

Data analisis

Secara deskriptif kuantitatif aktivitas kitinase *Actinobacteria* serta persentase daya hambat *Actinobacteria* terhadap jamur patogen tanaman dianalisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil dari hutan gambut Tanjung Jabung Timur pada 3 titik yang berjarak sekitar 5 m pada kedalaman 20-30 cm. Hasil isolasi dari sampel tanah didapatkan 1 jenis *Actinobacteria* yang berasal dari sampel tanah pada titik 1 dengan kode isolat GM. Pengambilan sampel dilakukan pada kedalaman 20-30 cm karena pada lapisan tersebut banyak mengandung unsur hara dan diduga banyak terdapat mikroba aerob seperti *Actinobacteria* (Pratiwi et al., 2018).

Isolasi Sampel Tanah

Pengisolasian sampel tanah dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat, lalu diinkubasi selama 5 hari dan didapatkan koloni *Actinobacteria*. Pengisolasian *Actinobacteria* dilakukan pada media kitin karena media ini merupakan media khusus untuk melihat pertumbuhan mikroba yang dapat mendegradasi kitin. Setelah diisolasi dan diinkubasi selama 5 hari didapatkan 1 jenis isolat yang dapat tumbuh pada media kitin, yaitu isolat GM.

Identifikasi *Actinobacteria*

Setelah melakukan isolasi dan didapatkan isolat yang diduga *Actinobacteria* selanjutnya dilakukan identifikasi secara makroskopik dan mikroskopis untuk memastikan bahwa isolat yang didapatkan adalah *Actinobacteria*. Hasil pengamatan makroskopis isolat GM yaitu bentuk koloni tidak beraturan (*irregular*), warna koloni putih kecoklatan, ukuran koloni sedang (*moderate*), permukaan koloni menonjol (*raised*), dan tepi/pinggiran koloni rata. Hasil identifikasi secara makroskopis sesuai dengan pendapat Nurkanto, (2007), yang menyatakan bahwa koloni isolat *Actinobacteria* sering memiliki bentuk bulat, dengan elevasi timbul/menonjol serta cembung, tepian rata dan tidak rata serta permukaan yang licin dan kasar atau keriput. Kumpulan hifa dengan banyak spora membentuk permukaan tepung.

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram, isolat *Actinobacteria* termasuk gram positif karena memiliki warna ungu. Hasil ini sejalan dengan pendapat Kurnianto et al., (2020), yaitu *Actinobacteria* yakni bakteri Gram-positif dimana bersifat aerob, mempunyai karakteristik koloni yang khas meliputi serbuk, bertepung serta kasar. Dari hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis diduga *Actinobacteria* yang didapatkan termasuk kedalam genus *Streptomyces* karena termasuk kedalam bakteri gram positif memiliki koloni berwarna kecoklatan dengan tekstur

bertepung. Temuan ini sejalan dengan pendapat Setyawati *et al.*, (2021), dimana mengemukakan bahwasanya genus *Streptomyces* ini merupakan bakteri gram positif yang mempunyai sejumlah besar warna hifa coklat muda sampai tua serta mempunyai tekstur bertepung.

Produksi Ekstrak Kasar Enzim Kitinase Aktinobakteria

Setelah didapatkan kurva pertumbuhan *Actinobacteria*, dilakukan produksi Enzim Ekstrak Kasar (EEK) yang akan dilakukan sesuai dengan waktu pada kurva pertumbuhan yang paling tinggi, yaitu dilakukan pada jam ke-48. Setelah 48 jam bakteri berada pada fase log dimana pertumbuhan bakteri meningkat dan aktif melakukan metabolisme. Adapun total bakteri yang dihasilkan pada jam ke-48 sebanyak 1,954 CFu/mL.

Produksi EEK dilakukan inkubasi isolat dengan menggunakan media kitin cair. Produksi EEK dilakukan dengan menggunakan *shaker* untuk agitasi atau pengocokan. Pengocokan di medium mengakibatkan kontak isolat dengan substrat hendak lebih homogen, sehingga bakteri tidak hanya menumpuk pada bagian bawah media saja dan mampu mempercepat perombakan substrat kitin oleh *Actinobacteria*. Adanya pengocokan atau agitasi dapat mempengaruhi suplai oksigen serta transfer panas, temuan tersebut dapat mempengaruhi kenaikan kecepatan kitinase mendegradasi substrat (Khikmah *et al.*, 2016).

Setelah dipanen pada jam ke-48 sesuai kurva pertumbuhan, proses selanjutnya adalah pemekatan EEK dengan menggunakan ammonium sulfat dengan konsentrasi 70%. Pemekatan enzim dilakukan dengan menggunakan ammonium sulfat karena ammonium sulfat memiliki tingkat kelarutan yang tinggi sehingga mudah berinteraksi dengan molekul air (Selvia *et al.*, 2013).

Uji Antagonis Enzim Kitinase Aktinobakteria Terhadap *Ganoderma boninense*

Enzim hasil pemekatan dan EEK yang telah dihasilkan oleh *Actinobacteria* dilakukan uji antagonis terhadap jamur *G.boninense*. Hasil uji antagonis enzim hasil pemekatan didapatkan persentase daya hambat enzim sebesar 59,5% (tinggi), sedangkan hasil uji antagonis dari EEK persentase daya hambatnya sebesar 45,5% (sedang). Hal ini sesuai dengan hasil aktivitas enzim, dimana aktivitas enzim hasil pemekatan lebih tinggi dibandingkan dengan nilai aktivitas EEK.

Hasil uji antagonis enzim hasil pemekatan dan EEK yang dilakukan terhadap *Ganoderma boninense* dipastikan mampu menghambat pertumbuhan *G.boninense*. Hal ini diperlihatkan dengan terciptanya zona bening di sekitar enzim hasil pemekatan serta EEK yang tidak dapat ditumbuhi oleh *G.boninense* dan merusak hifa *G.boninense* jika diamati secara mikroskopis. Proporsi strain bakteri dan enzim yang dihambat sesuai dengan luas zona hambat antara bakteri dan *G. boninense*. Dipercayai bahwa hidrolisis kitin yang dihasilkan oleh bakteri pada dinding sel *G. boninense* menyebabkan terbentuknya zona hambat yang mengelilingi koloni bakteri. Akibatnya, hifa *G. boninense* gagal menyebar di dekat koloni bakteri dan menunjukkan tanda-tanda kerusakan dan abnormalitas (Wibowo *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Hasil uji antagonis enzim hasil pemekatan dan EEK yang dilakukan terhadap *G.boninense* dipastikan mampu menghambat pertumbuhan *G.boninense*. Hal ini diperlihatkan dengan terciptanya zona bening di sekitar enzim hasil pemekatan serta EEK yang tidak dapat ditumbuhi oleh *G.boninense* dan merusak

hifa *G.boninense* jika diamati secara mikroskopis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak yang sudah berkontribusi terhadap penelitian sehingga jurnal ini dapat diselesaikan. Kecuali itu, penulis juga mengucapkan terimakasih pada pihak yang sudah memberi kontribusi dana sehingga penelitian ini dapat selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Alviodinasyari, R., A. Martina, dan W. Lestari. (2015). Pengendalian *Ganoderma boninense* Oleh *Trichoderma* Sp. Sbj8 Pada Kecambah dan Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq.) Di Tanah Gambut. *JOM FMIPA*. 2(1): 99-107.
- Astuty. E. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Aktinomiset Indigenus Asal Tanah Gambut. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 8(16): 7-15.
- Herdyastuti, N., T. J. Raharjo, Mudasir, dan S. Matsjeh. (2009). Kitinase dan Mikroorganisme Kitinolitik: Isolasi, Karakterisasi dan Manfaatnya. *Indo Jurnal Chemical*. 9 (1): 37- 47.
- Khikmah, N., S. Margino dan R. S. Kasiamdari. (2016). Isolasi, Seleksi dan Identifikasi Kapang Kitinolitik yang diisolasi dari Tanah Pembuangan Limbah Udang dan Rizosfer *Solanaceae*. *Biota*. 1(1) : 1-8.
- Kurnianto, M.A., H.D. Kusumaningrum, dan H.N. Lioe. (2020). Penapisan *Actinobacteria* Akuatik Penghasil Antibakteri Dari Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) dan Belanak (*Mugil cephalus*) Dengan Metode *Double-Layer Diffusion*. *Jurnal Kelautan dan Perikanan*. 15(1):1-11.
- Nurkanto, A. (2007). Identifikasi Aktinomisetes Tanah Hutan Pasca Kebakaran Bukit Bangkirai Kalimantan Timur dan Potensinya Sebagai Pendegradasi Selulosa dan Pelarut Fosfat. *Jurnal Biodiversitas*. 8 (4): 314-319.
- Nurmalinda, A., N. R. Mubarak dan L. Sudirman. (2020). Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Kitinase Penghambat Pertumbuhan Cendawan Patogen Tanaman. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 25(1) : 35-42.
- Pratiwi, R. S., T. E. Susanto, Y. A. K. Wardani dan A. Sutrisno. (2015). Enzim Kitinase dan Aplikasi Di Bidang Industri: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustry*. 3(3):878-887.
- Queendy. V, dan R. M. Roza. (2019). Aktivitas Antifungi Isolat Aktinomisetes Arboretum Universitas Riau Terhadap Jamur *Fusarium Oxysporum* F. Sp *Lycopersici* dan *Ganoderma Boninense*. *Al-Kauniah: Journal of Biology*. 12(1): 73-88.
- Saragih, H.S. (2019). Potensi Kitinolitik *Actinobacteria* Asal Tanah Gambut Sebagai Penghambat Pertumbuhan Jamur *Colletotrichum Gleosporiodes*. Skripsi, Universitas Jambi, Jambi.
- Selvia, R.I., Wuryanti, dan Sriatun. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Kitinase dari Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik Berasal dari Kupu-Kupu (Lepidoptera). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*. 16(3): 97-101.
- Setyawati, T.R., R. Kurniatuhadi, dan A.H Yanti. (2021). Karakter Morfologi Koloni *Streptomyces* spp. yang Diisolasi Dari Substrat Habitat Cacing

Nipah (*Namalycastisrhodochorde*) Pada Medium Berbeda. Bidang Ilmu Pengetahuan Alam Seminar Nasional Penerapan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.

Wibowo, R. H., Sipriyadi, N. R. Mubarik, dan I. Rusmana. (2020). Soil Chitinolytic Bacteria from Jambi Province to Produce Antifungal Of Plant Pathogens. *Jurnal Mangifera Edu.* 5(1): 26-37.