

AKTIVITAS ENZIM KITINASE DAN GLUKANASE AGENS BIOKONTROL TERHADAP *Ganoderma boninense*

Agus Susanto, Sudharto Ps dan Daisy Tambajong

ABSTRAK

Salah satu mekanisme penting dalam antagonisme agens biokontrol *Trichoderma* spp. terhadap jamur patogen adalah hiperparasitisme yang diikuti dengan sekresi enzim kitinase dan glukukanase, karena dinding sel jamur patogen mengandung kitin dan glukukan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas enzim kitinase dan glukukanase masing-masing agens biokontrol yang telah dikoleksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat agens biokontrol menghasilkan enzim kitinase dan glukukanase. Agens biokontrol yang mempunyai aktivitas enzim kitinase tertinggi yaitu *G. viride* isolat no. 9 dengan aktivitas $0.1156 \mu\text{mol/ml.jam}$ sedangkan yang mempunyai aktivitas enzim glukukanase tertinggi yaitu isolat *T. viride* no. 18 dengan aktivitas $1.0886 \mu\text{mol/ml.jam}$.

Kata kunci: *Trichoderma* spp., enzim kitinase, glukukanase, hiperparasitisme

ABSTRACT

One of the crucial antagonistic mechanisms of *Trichoderma* spp against pathogenic fungi is hyperparasitism and then followed by releasing chitinase and glucanase enzymes that degrade cell wall of pathogenic fungi. The aim of this study is to measure enzyme activity of each collected biocontrol agent. Result of the research indicated that all biocontrol agents produced chitinase and glucanase enzymes. The highest chitinase enzyme activity is *Gliocladium viride* isolate no.9 by producing enzyme of $0.1156 \mu\text{m ml hr}$, meanwhile the highest glucanase enzyme activity is belong to *Trichoderma viride* isolate no. 18 by producing enzyme of $1.0886 \mu\text{m ml hr}$.

Key words: *Trichoderma* spp., chitinase enzyme, glucanase enzyme, hyperparasitism

PENDAHULUAN

Trichoderma spp. dan *Gliocladium* spp. adalah spesies cendawan yang tersebar luas di seluruh dunia (5), hampir pada semua jenis tanah dan selain pada habitat alaminya. Kedua cendawan ini banyak ditemukan di daerah yang banyak bahan organik. Turner (17) menyata-

kan bahwa *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp., dan *Gliocladium* spp. bersifat antagonistik terhadap *Ganoderma* dan berpeluang sebagai agens biokontrol. *Trichoderma* spp. dan *Gliocladium* spp. telah banyak dilaporkan keberhasilannya dalam menekan beberapa penyakit tumbuhan, khususnya penyakit tular tanah. *Trichoderma* spp. telah digunakan

sebagai agens biokontrol pada penyakit layu tomat, melon, kapas yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum*. Selain itu juga digunakan untuk mengendalikan patogen *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Sclerotium rolfsii*, *Verticillium dahliae*, *Alternaria*, dan *Armillaria mellea*. Agens biokontrol *Gliocladium* sp. telah digunakan sebagai agens biokontrol untuk menekan patogen *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, dan *Sclerotium rolfsii*. Untuk patogen *G. boninense*, *Trichoderma* spp, dan *Gliocladium* spp. sangat berpeluang sebagai agens biokontrol (1,9,15).

Untuk menentukan strategi yang tepat di lapangan selain didukung oleh pemilihan agens biokontrol yang tepat juga perlu diketahui mekanisme detail agens biokontrol tersebut. Mekanisme umum yang terjadi pada *T. harzianum*, *G. viride*, dan *T. viride* adalah kompetisi. Selain kompetisi *T. harzianum*, *G. viride*, dan *T. viride* juga melakukan antibiosis dan mikoparasitik terhadap miselium *G. boninense*. Hifa ketiga cendawan agens biokontrol ini akan melilit hifa *G. boninense* yang selanjutnya untuk mendegradasi dinding sel *G. boninense*, agens biokontrol mengeluarkan enzim kitinase. Kitin dan glukukan merupakan komponen utama dinding sel hampir semua jenis cendawan. Kandungan kitin pada cendawan bervariasi dari 4 – 9 % berat kering. Spesies-spesies *Boletales*, *Agaricales*, dan *Russulales* mempunyai kandungan kitin yang tinggi pada tubuh buahnya yaitu 8-9 % dari berat kering totalnya, sedangkan *G. lucidum* mempunyai kandungan kitin 2,4 % dari total berat keringnya (16).

Oleh sebab itu, untuk mendukung keberhasilan penggunaan *Trichoderma* sebagai agens biokontrol perlu dilakukan studi yang lebih akurat mengenai mekanisme antagonisme khususnya aktivitas enzim kitinase dan glukukanase dari agens biokontrol.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan mulai bulan April 2001 sampai dengan bulan September 2001 di Laboratorium Biokimia dan Rekayasa Protein Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan Bogor.

Optimasi produksi enzim kitinase dan glukukanase

Isolat yang digunakan untuk uji optimasi kitinase dan glukukanase adalah isolat *T. harzianum* nomor 2. Cendawan ini ditumbuhkan pada cawan petri yang mengandung medium PDA. Setelah berumur 4 hari, lempengan medium dengan isolat dipotong bulat berdiameter 0,5 mm dengan bor gabus dan dipindahkan pada medium optimasi. Medium yang digunakan untuk optimasi enzim ini adalah sebagai berikut:

1. *Potato Dextrose* (PD); 400 g kentang, 20 g dekstroza, dan 1000 ml air destilata
2. PD + 1 % kitin
3. *Malt Extract* (ME) 1 %; 10 g malt ekstrak dalam 1000 ml air destilata
4. ME + 1 % kitin
5. *Medium Richard* (R) ; 10 g KNO_3 , 5 g KH_2PO_4 , 2,5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 2 mg $FeCl_3$, 1 % PVPP, 150 ml V8

juice, dan 1000 ml air destilata. pH akhir adalah 6,0.

6. R + 1 % kitin
7. R + 3 % kitin
8. R + 5 % kitin

Volume masing-masing medium adalah 250 ml. Pemanenan ekstrak dilakukan pada hari ke-2, 4, 6 dan 8. Ekstrak kasar diambil dengan syringe steril sebanyak 2 ml dan disimpan pada -20°C sebelum digunakan pada uji aktivitas kitinase dan glukukanase.

Semua sampel dilakukan pengujian aktivitas enzim kitinase dan glukukanase sebagai berikut:

Uji aktivitas kitinase

Sampel sebanyak 400 μl ditambah dengan 234 μl kitin kemudian ditambah bufer enzim natrium asetat 50 mM pH 4,5 sehingga mencapai volume 1,5 ml. Sampel dibuat dalam bentuk *duplo*, yang satu diinkubasi selama 0 jam dan yang lain diinkubasikan selama 2 jam pada suhu 37°C . N -asetil glukosamin yang terbentuk oleh aktivitas enzim kitinase diukur dengan menambahkan 0,2 ml 0,2 M $\text{K}_2\text{B}_4\text{O}_7$ dan dipanaskan di dalam air mendidih selama 3 menit kemudian didinginkan dan ditambahkan 2 ml p-DABD 3,3 % lalu divorteks dan didiamkan selama 15 menit hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda konstan. Kemudian sampel dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 544 nm.

Uji aktivitas glukukanase

Sampel sebanyak 100 μl dimasukkan dalam tabung eppendorf ukuran 1,5 ml kemudian ditambahkan 375 μl laminarin 2 mg/ml. Selanjutnya di-

tambahkan bufer enzim kalium asetat 50 mM pH 5 sampai volume total menjadi 1,5 ml. Setiap sampel dibuat dalam bentuk *duplo*, yang satu diinkubasikan pada 0 jam dan yang lain dalam waktu 2 jam pada suhu 37°C . Setelah selesai diinkubasi, sampel diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 1 ml akuades, kemudian ditambahkan larutan DNS (1 g DNS, 0,2 g fenol, 0,05 g Na_2SO_4 dilarutkan dalam NaOH 2 %) kemudian divorteks. Selanjutnya dipanaskan pada air mendidih selama 15 menit dan didinginkan selama 20 menit. Absorbansi sampel dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 575 nm.

Pembuatan kurva standar untuk enzim kitinase, glukukanase dan penentuan total protein dengan metode Lowry telah dilakukan di Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor. Dengan demikian tinggal menggunakan standar yang sudah ada.

Perhitungan aktivitas enzim

Aktivitas enzim kitinase dan glukukanase dihitung dengan formula:

Aktivitas enzim =

$$\frac{\text{Abs} \times (\text{Standar N-asetilglukosamin}) \times \text{FP}}{A \times t \times \text{Abs standar}}$$

- △ Abs = selisih absorbansi antara inkubasi 0 dan 2 jam
- FP = faktor pengenceran
- A = volume sampel
- t = waktu inkubasi (detik)

Aktivitas enzim kitinase dan glukukanase agens biokontrol

Masing-masing 26 isolat cendawan agens biokontrol ditumbuhkan pada

medium PD. Ekstrak kasar enzim dipanen dengan syringe steril sebanyak 5 ml pada hari kedua dan sampel disimpan pada suhu -20°C . Selanjutnya semua isolat (26 isolat) diuji aktivitas enzim kitinase dan glukukanase dengan metode yang telah disebutkan pada bagian optimasi enzim.

Karakterisasi enzim kitinase dan glukukanase agens biokontrol

Untuk karakterisasi dipilih tiga spesies agens biokontrol yang ada yaitu *Trichoderma harzianum* (isolat nomor 6), *Gliocladium viride* (isolat nomor 9), dan *Trichoderma viride* (isolat nomor 23). Karakterisasi meliputi aktivitas enzim kitinase dan glukukanase setelah dimurnikan dengan amonium sulfat dan dialisa. Ekstrak kasar yang diperoleh selanjutnya ditambah amonium sulfat sebanyak 80%-nya. Penambahan amonium sulfat dilakukan secara perlahan-lahan dan diaduk sampai merata dan selanjutnya disimpan pada suhu -4°C selama 2 jam. Filtrat enzim dipisahkan dengan sentrifugasi 5000 rpm selama 10 menit dan selanjutnya disimpan dalam bufer kalium asetat pH 4,5. Hasil yang diperoleh dari pengendapan amonium sulfat selanjutnya dimasukkan dalam membran dialisa dan dimasukkan dalam bufer enzim selama semalam pada suhu 4°C . Ekstrak kasar enzim, hasil pengendapan amonium sulfat, dan hasil dialisa selanjutnya diuji aktivitas kitinase dan glukukanase. Disamping itu juga diukur total protein masing-masing dengan metode Lowry. Untuk pengukuran total protein diperlukan pereaksi A (Na_2CO_3 6 % dalam 0,2 M NaOH),

pereaksi B (1,5 % CuSO_4 dalam 3 % sodium sitrat), pereaksi C = pereaksi A : pereaksi B = 50:1, dan pereaksi D = pereaksi Folin Ciocalteus : aquades = 3:1. Sampel sebanyak 30 μl dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan bufer ekstrak sehingga volume akhir 1,6 ml. Pereaksi C dimasukkan ke tiap tabung reaksi sebanyak 600 μl serta divorteks dan didiamkan selama 10 menit. Sebanyak 200 μl pereaksi D dimasukkan dan didiamkan selama 30 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 750 nm dan konsentrasi protein ditentukan berdasarkan kurva standar. Sampel ekstrak kasar, pemurnian dengan amonium sulfat, dan pemurnian dengan dialisa diukur aktivitas enzim kitinase dan glukukanase dengan metode yang telah disebutkan pada optimasi enzim kitinase dan glukukanase.

HASIL DAN PEMBAHASAN

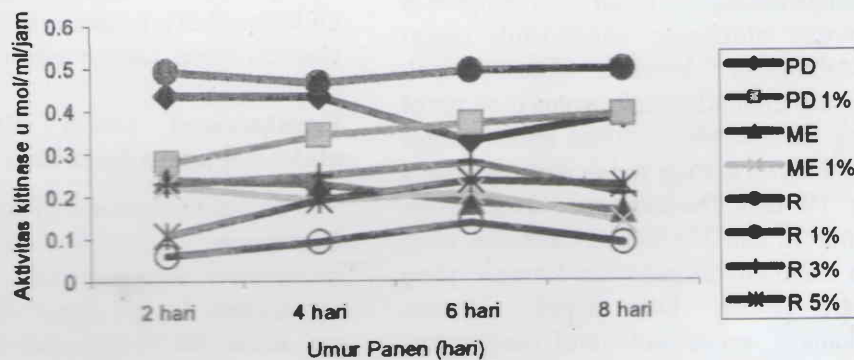
Optimasi produksi enzim kitinase dan glukukanase

Produksi optimum kitinase dan glukukanase sangat berbeda berdasarkan medium kultur yang digunakan maupun waktu produksi. Kitinase sangat baik diproduksi pada medium Richard (R) 1% kitin, yang dibuktikan dengan paling tingginya aktivitas kitinase baik pada hari ke-2, ke-4, ke-6 maupun ke-8 dibandingkan ketujuh perlakuan yang lain. Produksi optimum sudah terjadi pada hari kedua, sedangkan pada hari-hari berikutnya mempunyai nilai aktivitas yang hampir sama dengan hari kedua. Produksi kitinase yang tinggi juga terjadi pada medium PD. Seperti pada

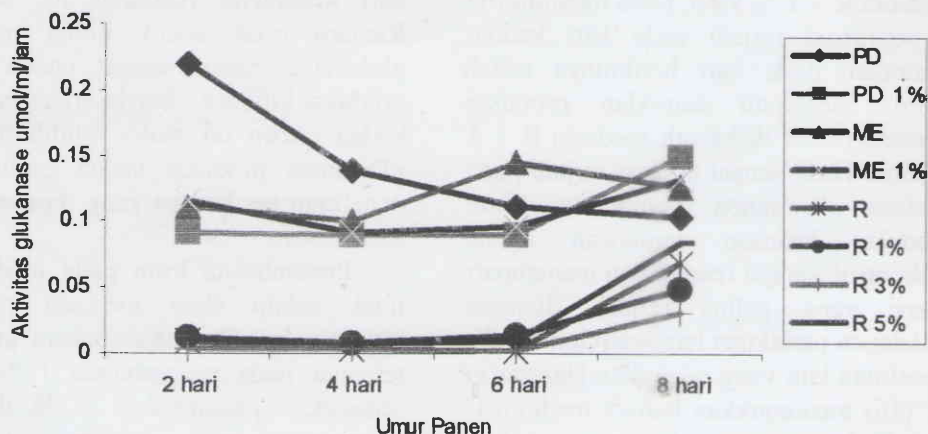
medium R + 1 % kitin, pada medium PD ini optimasi terjadi pada hari kedua, kemudian pada hari berikutnya sudah turun. Meskipun demikian produksi kitinase masih di bawah medium R + 1 % kitin. Hasil sangat kontras terjadi pada medium R tanpa pemberian kitin, produksi kitinase cendawan agens biokontrol sangat rendah dan menempati posisi yang paling rendah diantara kedelapan perlakuan lainnya (Gambar 1). Penelitian lain yang dilakukan Harman *et al.* (16) menunjukkan bahwa medium R + 1 % kitin juga medium yang paling optimum untuk produksi kitinase dengan waktu optimum pada hari keempat. Sedangkan untuk produksi glukanase sangat berbeda dengan hasil di atas, produksi tertinggi terjadi pada medium PD. Waktu yang optimum untuk produksi glukanase pada medium ini juga terjadi pada hari kedua. Pada hari-hari berikutnya produksi sudah sangat turun. Data yang sangat menarik adalah produksi glukanase pada semua medium Richard, semua menunjukkan nilai yang sangat rendah dan baru naik sedikit pada

hari kedelapan (Gambar 2). Medium Richard tidak cocok untuk produksi glukanase, tetapi sangat cocok untuk produksi kitinase. Berdasarkan produksi kedua enzim ini maka dipilih medium PD untuk produksi kedua enzim pada penelitian berikutnya yang dipanen pada hari kedua.

Penambahan kitin pada medium R tidak selalu akan memacu produksi kitinase. Ini dibuktikan bahwa produksi tercapai pada penambahan 1 % kitin, sedangkan penambahan 3 % dan 5% memberikan nilai aktivitas yang lebih rendah daripada yang 1 %. Ekspresi enzim kitinase bersifat inducibel. Produksi kitinase akan tinggi bila medium tumbuh mengandung kitin sebagai satu-satunya sumber karbon. Induksi tidak terjadi apabila *Trichoderma* ditumbuhkan pada medium yang mengandung glukosa dan beberapa gula sederhana lainnya (11). Mekanisme represi katabolik karbon bertanggung-jawab terhadap inducibel ekspresi endokitinase.



Gambar 1. Optimasi enzim kitinase terjadi pada medium R + 1 % kitin pada hari kedua



Gambar 2. Optimasi enzim glukukanase terjadi pada medium Potato Dextrose pada hari kedua

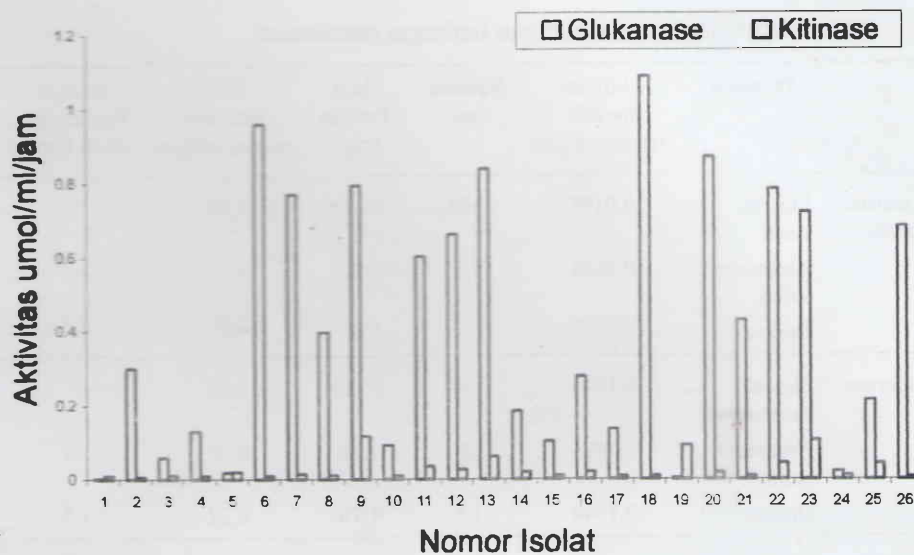
Aktivitas enzim kitinase dan glukukanase agens biokontrol

Dari ke-26 isolat cendawan agens biokontrol yang diperoleh menunjukkan aktivitas kitinase dan glukukanase yang berbeda. Isolat yang mempunyai aktivitas kitinase tinggi belum tentu mempunyai aktivitas glukukanase yang tinggi pula. Tetapi secara umum pada masing-masing isolat mempunyai aktivitas glukukanase yang lebih tinggi dibandingkan kitinase. Dari aspek aktivitas enzim kitinase, agens biokontrol yang mempunyai aktivitas relatif tinggi adalah *Gliocladium viride* isolat nomor 9 dan 19 dan *Trichoderma viride* isolat nomor 13 dan 23. Sedangkan isolat yang lain mempunyai aktivitas kitinase yang relatif rendah. Dari aspek aktivitas glukukanase, agens biokontrol yang mempunyai aktivitas tinggi yaitu *Trichoderma harzianum* isolat nomor 6, 7, 11, 20, 22 ;

Gliocladium viride isolat nomor 9; dan *Trichoderma viride* isolat nomor 12, 13, 18, 23, dan 26 (Gambar 3). Disamping nilai aktivitas ada peubah lain yang sangat penting yaitu nilai absorbansi pada inkubasi 0 jam. Pada beberapa isolat menunjukkan nilai yang sangat tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa enzim glukukanase sudah diproduksi dan bekerja pada medium kultur. Enzim glukukanase bekerja secara konstitutif yaitu ekspresi tanpa adanya inducibel.

Karakterisasi enzim kitinase dan glukukanase agens biokontrol

Enzim kitinase dan glukukanase dari *T. harzianum*, *G. viride*, dan *T. viride* mempunyai aktivitas yang naik setelah dimurnikan dengan pengendapan amonium sulfat 80 % dan dialisa. Aktivitas kitinase dari *T. harzianum* naik dari 0,0198 μ mol/ml/jam menjadi 0,0864 μ



Gambar 3. Aktivitas enzim kitinase dan glukukanase 26 isolat cendawan agens biokontrol

mol/ml/jam (pengendapan amonium sulfat) dan 0,0896 μ mol/ml/jam (dialisa), sedangkan aktivitas glukukanase naik dari 0,9594 μ mol/ml/jam menjadi 1,0982 μ mol/ml/jam (pengendapan amonium sulfat) dan 1,0988 μ mol/ml/jam (dialisa). Aktivitas kitinase *G. viride* juga naik dari 0,1156 μ mol/ml/jam menjadi 0,1673 μ mol/ml/jam (pengendapan amonium sulfat) dan 0,1896 μ mol/ml/jam, sedangkan aktivitas glukukanasanya naik dari 0,7944 μ mol/ml/jam menjadi 0,9682 μ mol/ml/jam (pengendapan amonium sulfat) dan 0,9836 μ mol/ml/jam (dialisa). Demikian juga untuk *T. viride* aktivitas kitinase naik dari 0,1044 μ mol/ml/jam menjadi 0,1486 μ mol/ml/jam (pengendapan amonium sulfat) dan 0,1548 μ mol/ml/jam (dialisa), sedangkan aktivitas glukukanase naik dari 0,7230 μ mol/ml/jam

menjadi 0,9236 μ mol/ml/jam (pengendapan amonium sulfat) dan 0,9834 μ mol/ml/jam (dialisa).

Harman *et al.* (11) membagi enzim kitinase dari *Trichoderma* menjadi 3 jenis yaitu endokitinase (EC 3.2.1.14), kitin 1,4- β -D-glukanosidase (kitobiosidase) dan -N-asetilheksoaminidase (EC 3.2.1.52). Endokitinase memotong kitin dan oligomer kitin secara acak serta melepaskan campuran produk akhir berberat molekul rendah dengan ukuran yang bermacam-macam.

Diasetilkitobiosa merupakan produk akhir yang paling dominan dari hasil potongan endokitinase. Kitobiosidase merupakan nama baru yang diusulkan Harman *et al.* (11) yang mempunyai aktivitas ekso. Enzim ini memotong kitin dan kitooligomer secara progresif dari ujung non-tereduksi dan hanya melepas-

Tabel 1. Aktivitas enzim kitinase dengan berbagai pemurnian

Isolat	Prosedur	Aktivitas spesifik mmol/ml/jam	Volume (ml)	Total Protein (mg)	Total aktivitas mmol/ml/jam	Derajat Kemurnian (Kali lipat)	Hasil (%)
<i>Trichoderma harzianum</i>	Ekstrak kasar	0,0198	138	56,28	1,11	1	100
	Amonium sulfat	0,0864	1,5	0,79	0,07	4,4	6,3
	Dialisa	0,0896	1	0,35	0,03	4,5	2,7
<i>Trichoderma viride</i>	Ekstrak kasar	0,1044	138	55,10	5,75	1	100
	Amonium sulfat	0,1486	2	1,78	0,26	1,4	4,5
	Dialisa	0,1548	1,5	1,76	0,27	1,5	4,7
<i>Gliocladium viride</i>	Ekstrak kasar	0,1156	138	78,44	9,07	1	100
	Amonium sulfat	0,1673	1,5	1,73	0,29	1,4	3,2
	Dialisa	0,1896	1	1,63	0,31	1,6	3,4

Tabel 2. Aktivitas enzim glukanasase dengan berbagai pemurnian

Isolat	Prosedur	Aktivitas spesifik mmol/ml/jam	Volume (ml)	Total Protein (mg)	Total aktivitas mmol/ml/jam	Derajat Kemurnian (Kali lipat)	Hasil (%)
<i>Trichoderma harzianum</i>	Ekstrak kasar	0,9594	138	56,28	54	1	100
	Amonium sulfat	1,0982	1,5	0,69	0,76	1,1	1,41
	Dialisa	1,0988	1	0,35	0,38	1,1	0,70
<i>Trichoderma viride</i>	Ekstrak kasar	0,7230	138	55,10	39,84	1	100
	Amonium sulfat	0,9236	2	1,78	1,64	1,3	4,1
	Dialisa	0,9834	1,5	1,76	1,73	1,4	4,3
<i>Gliocladium viride</i>	Ekstrak kasar	0,7944	138	78,44	62,31	1	100
	Amonium sulfat	0,9682	1,5	1,73	1,67	1,2	2,7
	Dialisa	0,9836	1	1,63	1,60	1,2	2,6

kan diasetilkitobiosa sebagai produk akhir. Sedangkan D-N-asetilheksoaminidase (EC 3.2.1.52) memotong kitin dan kitooligomer secara progresif dari ujung non-tereduksi dan hanya melepaskan monomer N-asetilglukosamin sebagai produk akhir. Apabila dibandingkan dengan jenis enzim kitinase lain, endokitinase mempunyai aktivitas dan antifungal yang paling tinggi, apalagi kalau dibandingkan enzim kitinase dari tanaman, bakteri, atau cendawan lain (13).

Gliocladium virens dilaporkan juga menghasilkan enzim endokitinase, 1,4-D-chitobiosidase, dan N-Asetil-D-glukosamidase. Endokitinase yang diperoleh telah dikarakterisasi dengan berat molekul 41 kDa dengan titik isoelektrik 7,8, serta bersama gliotoksin dapat menghambat *B. cinerea* secara sinergistik (4). Peran enzim kitinase dalam mekanisme antagonisme ditunjukkan dengan terekspresinya enzim kitinase pada berbagai taraf. Elad *et al.* (6) menemukan bahwa isolat *Trichoderma* memproduksi glukonase dan kitinase jika ditumbuhkan pada miselium hidup dari *Sclerotium rolfii* di tanah. Selain dihasilkan di media *dual culture*, enzim kitinase CHIT 42 terekspresi selama mikoparasitik *T. harzianum* terhadap *R. Solani* (2).

Peran enzim kitinase ini dalam mekanisme antagonisme adalah pada mikoparasitik. Interaksi mikoparasitik dengan cepat menginduksi ekspresi kitinase beberapa jam setelah kontak antar miselium *Trichoderma* dan cendawan patogen (2,7). Kitinase yang dihasilkan selama proses mikoparasitik *T. harzianum* terhadap *Sclerotium rolfii* sangat berbeda. Produksi enzim kitinase

dari *Trichoderma harzianum* dipengaruhi jenis kitin yang ada pada patogen yang dihadapinya. Pertama kali yang diproduksi adalah N-Acetyl-D-glukosamidase dengan berat molekul 102 kDa jika pada kedua cendawan di atas baru dilakukan *dual culture*. Setelah 12 jam terjadi kontak antar miselium, terjadi ekspresi yang sangat kuat dari N-Asetil-D-glukosamidase dengan berat molekul 73 kDa. Hasil ini sangat berbeda jika *T. harzianum* dihadapkan dengan *R. solani*, pada 12 jam setelah kontak antar miselium, enzim kitinase yang terekspresi adalah CHIT102 dengan berat molekul 102 kDa dan diikuti ekspresi kitinase yang lain meskipun dalam jumlah yang sangat kecil yaitu enzim kitinase dengan berat molekul 52, 42, dan 33 kDa (10). Enzim kitinase juga bekerja sebelum kontak dengan miselium patogen sasaran. Peristiwa ini terjadi pada *T. harzianum* yang dihadapkan pada *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (3). Demikian juga pada peristiwa rusaknya hifa *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* tidak hanya terjadi pada hifa yang langsung kontak dengan *T. harzianum*. Miselium cendawan patogen yang diotoklaf akan menginduksi kitinase (CHIT 42) dan tidak terjadi pada *Trichoderma* yang mempunyai mikoparasitik rendah (8). *T. harzianum* yang mempunyai sifat antagonistik tinggi adalah yang mempunyai aktivitas endokitinase yang tinggi pula (11). Endokitinase dari *Trichoderma* mampu menghambat berbagai cendawan yang dinding selnya mengandung kitin (4). Enzim kitinase yang diproduksi *T. harzianum* mampu menghambat perkecambahan spora, pertumbuhan hifa

Botrytis cinerea, *F. solani*, *Ustilago avenae*, dan *Uncinula necator* (13). Dalam aplikasinya enzim kitinase dari *T. harzianum* kompatibel dan sinergistik dengan kitinase dari *Enterobacter cloacae*, tetapi tidak kompatibel dengan *Pseudomonas* spp. dalam menghambat *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, dan *Uncinula necator* (13).

KESIMPULAN

Produksi optimum enzim kitinase terjadi pada hari kedua dengan medium Richard Modifikasi + 1 % kitin sedangkan produksi optimum untuk enzim kitinase terjadi pada hari kedua dengan medium Potato Dextrose.

Agens biokontrol yang mempunyai aktivitas enzim kitinase tertinggi yaitu *G. viride* isolat no. 9 dengan aktivitas 0,1156 mmol/ml/jam sedangkan yang mempunyai aktivitas enzim glukukanase tertinggi yaitu isolat *T. viride* no. 18 dengan aktivitas 1,0886 mmol/ml/jam.

DAFTAR PUSTAKA

1. ABADI, A. L. 1987. Biologi *Ganoderma boninense* Pat pada kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) dan pengaruh beberapa mikroba tanah antagonistik terhadap pertumbuhannya. Disertasi. PPS IPB. Bogor. 147 p.
2. CARSOLO, C., A. GUTIERREZ, B. JIMENEZ, M. VAN MONTAGU and A. HERRERA-ESTRELLA. 1994. Characterization of ech-42, a *Trichoderma harzianum* endochitinase gene ex-pressed during mycoparasitism. Proc Natl Acad Sci USA 91: 10903-10907.
3. CHERIF, M. and N. BENHAMOU. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Phyto-pathol. 80: 1406-1414.
4. DI PIETRO A., M. LORITO, C. K. HAYES, R. M. BROAD-WAY and G E. HARMAN. 1993. Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation, characterization, and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. Phytopathology 83: 308-313.
5. DOMSCH, K. H., W. GAMS and T. H. ANDERSON. 1993. Compendium of soil fungi. IHW-Verlag. 860p.
6. ELAD, Y., I. CHET and Y. HENIS. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum* Can J Microbiol 28: 719-725.
7. ELAD, Y., I. CHET, P. BOYLE and Y. HENIS. 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. Phytopathology 73: 85-88.
8. GARCIA, I., J. M. LORA, J. DE LA -CRUZ, T. BENITEZ, A. LIABELL and J.A. PINTORTORO. 1994. Cloning and characterization of a chitinase (CHIT 42) cDNA from the mycoparasitic fungus *Trichoderma harzi-anum*. Curr Gent 27: 83-89.
9. HADIWIYONO, M. S. SINAGA, B. TIAHJONO dan I. ANAS. 1997. Evaluasi kemangkusan *Trichoderma viride*, *Gliocladium fimbriatum*, dan *Pseudomonas* kelompok fluoresen sebagai agens pengendali hayati *Gano-derma boninense*. Pat pada balok kayu kelapa sawit. Buletin Hama & Penyakit Tumbuhan 9(2): 26-31.
10. HARAN, S., H. SCHICKLER, A. OPPENHEIM and I. CHET. 1996. Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. Phytopathol. 86: 980-985.
11. HARMAN, G E., C. K. HAYES, M. LORITO, R. M. BROADWAY, A. DI PIETRO, C. PETERBAUER and A. TRONSMO. 1993. Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of chitobiosidase and endochitinase. Phytopathol. 83: 313-318.
12. LORITO, M., A. DI PIETRO, C. K. HAYES, S. L. WOO and G E. HARMAN. 1993.

Aktivitas enzim kitinase dan glukonase agens biokontrol terhadap *Ganoderma boninense*

- Antifungal, synergistic interaction between chitinolytic enzymes from *Trichoderma harzianum* and *Enterobacter cloacae*.** *Phytopathol.* 83: 721-728.
13. LORITO M. 1998. Chitinolytic enzymes and their genes. In Harman, G.E. & C.P. Kubicek. (eds.) *Trichoderma and Gliocladium Volume 2: Enzymes, biological control and commercial applications.* Taylor & Francis Ltd. UK. 393p.
14. PURBA R. Y., A. SIPAYUNG dan R. A. LUBIS. 1996. Pengaruh penambahan cendawan antagonis *Trichoderma harzianum* terhadap perkembangan inokulum *Ganoderma* di tanah. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit* 4(2): 69-75.
15. PURBA R. Y., A. SIPAYUNG and C. UTOMO. 1994. Anta-gonistic soil fungi on *Ganoderma boninense* Pat and the possibility of their application in oil palm estate. *Bulletin PPKS.* Vol 2, Januari-Maret 1994.
16. RAJARATHNAM S, M.N.J. SHASHIREKHA and Z. BANO. 1998. Biodegradative and biosynthetic capacities of mushrooms: present and future strategies. *Crit Rev in Biotechnol* 18: 91-236.
17. TURNER, P. D. 1981. *Oil palm diseases and disorders.* Oxford. Oxford University Press. 280 p.