

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum Fungi

Fungi atau jamur filamen adalah golongan organisme yang tubuh vegetatifnya (struktur somatisnya) tidak mempunyai klorofil, dan biasanya berupa benang-benang halus bercabang disebut hifa. Beberapa jamur mempunyai dinding yang tersusun dari kitin, selulosa atau kedua-duanya. Banyak jamur mempunyai dinding penyekat (septa) dalam hifanya yang membagi masing-masing hifa menjadi banyak sel dengan nukleus masing-masing. Susunan seperti ini disebut hifa bersepta. Ada pula beberapa kelas fungi yang tidak bersepta, yang terlihat sebagai satu sel panjang yang mengandung banyak nukleus. Hifa seperti ini disebut hifa senosit. Sementara jamur tumbuh, hifa saling membelit untuk membentuk massa benang, massa ini disebut miselium yang cukup besar untuk dilihat dengan mata telanjang (Volk & Wheeler, 1993).

Jamur filamen adalah organisme heterotropik yang memerlukan senyawa organik untuk nutrisinya. Jenis ini akan tumbuh baik dalam lingkungan yang mengandung banyak gula dan kondisi asam yang tidak menguntungkan bagi bakteri. Bila jamur hidup dari benda organik mati yang terlarut, maka disebut dengan saprofit (Tjitrosoepomo, 1998).

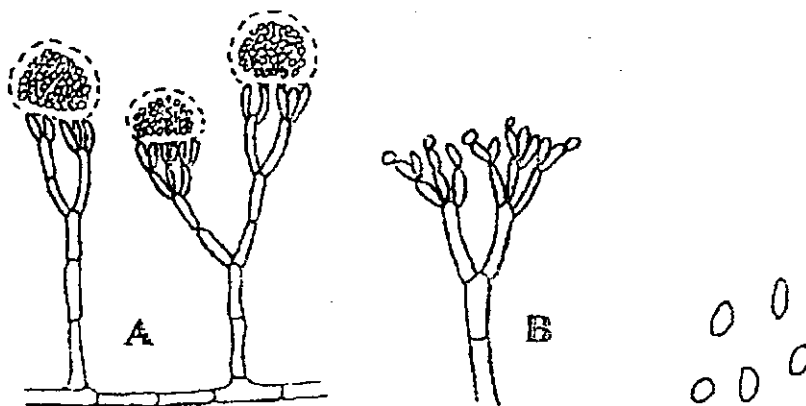
2.2. Jamur *Gliocladium sp.*

Gliocladium sp. merupakan jamur tanah yang hidupnya bersifat saprofit. Organ reproduksi seksual dari *Gliocladium sp.* belum diketahui sedangkan organ reproduksi aseksual adalah konidiofora (spora) berbentuk hifa tegak lurus dan bentuk posisi atasnya seperti *Penicillium sp.* membentuk dahan sebagai fialida (Gambar 1 dan Gambar 2). Konidia *Gliocladium sp.* Berwarna bening, terdiri dari satu sel dan terbungkus oleh getah atau lendir yang tidak dapat dibedakan. Warna koloni yang dihasilkan bervariasi seperti putih, merah muda, abu-abu kehitaman yang dihasilkan oleh fialida dalam jumlah yang banyak (Barnet, 1958).

Menurut Doctorfungus (2005), klasifikasi taksonomi dari *Gliocladium sp.* adalah:

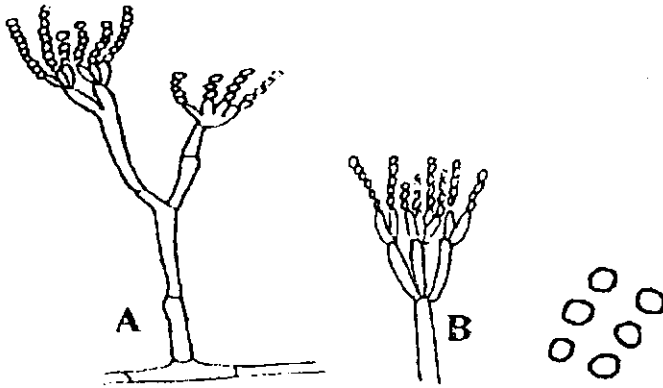
Kingdom : Fungi
Divisio : Ascomycota
Klas : Sordariomycetes
Ordo : Hypocreales
Familia : Hypocreaceae
Genus : *Gliocladium*
Spesies : *Gliocladium sp*

Morfologi *Gliocladium sp.* adalah koloni tipis dan kelihatan gundul. Kemudian muncul bintik-bintik hijau spora (Collins, 1976). *Gliocladium sp.* mempunyai konidiofora bersepta, bagian atas bercabang membentuk sikat yang kompleks seperti *Penicillium*. Pada bagian puncak konidiofora terdiri dari berturut-turut cabang primer, cabang sekunder dan fialida (lihat gambar 1). Ada beberapa yang tidak mempunyai cabang sekunder. Konidia timbul dari cabang primer, berwarna terang, berukuran kecil dan tersusun dalam bentuk rantai, dengan konidianya membentuk suatu kumpulan massa yang dibungkus getah atau lendir (Gilman, 1959).



Gambar 1. *Gliocladium spp.* A. Konidiofora dengan kodia di puncaknya
B. Konidiofora dan konidia (Sumber : Barnett, 1958)

Perbedaan utama *Gliocladium sp.* dengan *Penicillium* adalah konidiofora *Penicillium* tidak bercabang pada bagian puncak, konidia bulat dan tidak dibungkus oleh getah atau lendir seperti *Gliocladium sp.* (Gilman, 1959; Barnert, 1958)

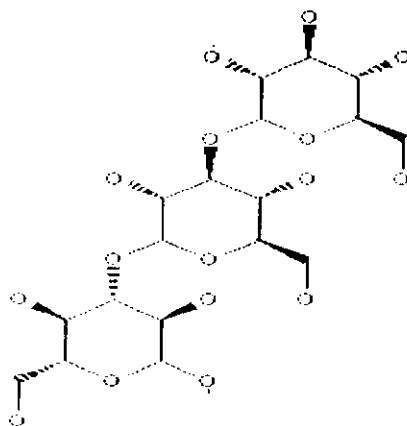


Gambar 2. *Penicillium spp.* A. Konidiofora B. Kepala konidia dan konidia
(Sumber : Alexander, 1977)

Gliocladium sp. dan kerabat dekatnya *Trichoderma sp.* diketahui mempunyai kemampuan untuk membunuh beberapa spesies jamur lain dengan menggunakan enzim litik misalnya kitinase (Nugroho, 2000). Namun kitinase bukanlah satu-satunya penghambat fungi oleh *Gliocladium sp.* Mekanisme lain yang dilakukan oleh *Gliocladium sp.* adalah produksi senyawa anti fungi (Devi dkk, 1998) dan senyawa antibakteri (Zulfikri dkk., 2003).

2.3. Laminarin

Laminarin atau sinonimnya adalah laminaran, memiliki ikatan β -glukan yang merupakan struktur pembangun dinding sel hampir semua mikroorganisme dan tanaman tingkat tinggi, khususnya dinding sel fungi (Chesters dan Bull, 1963). Laminarin adalah polimer dari polisakarida yang terdapat pada beberapa fungi patogen tanaman dalam bentuk ikatan β -glukan. Ikatan pada polimer laminarin adalah β -1,3 glukan dan kadang-kadang terdapat juga rantai cabang β -1,6 glukan (Nobe dkk., 2003; Chesters & Bull., 1963).



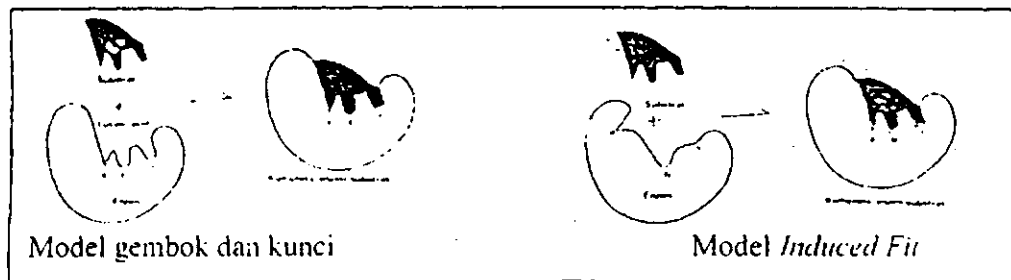
Gambar 3. Struktur senyawa laminarin

2.4. Laminarinase

Laminarinase adalah enzim yang memiliki aktivitas β -1,3:1,6-glukanase (Nobe dkk., 2003). Laminarinase merupakan enzim yang mampu mendegradasi dinding sel fungi patogen tanaman, yang dinding selnya mengandung rantai β -glukan. Laminarinase menghidrolisis ikatan glikosidik dari rantai β -glukan pada dinding sel dan mempunyai dua mekanisme reaksi hidrolisis yaitu ekso β -1,3 glukanase dan endo β -1,3 glukanase. Ekso β -1,3 glukanase menghidrolisis substrat dengan memotong rangkaian glukosa dari ujung non reduksi. Sedangkan endo β -1,3 glukanase memotong ikatan β secara acak di sepanjang rantai polisakarida dan melepaskan oligosakarida yang lebih pendek. Dalam mendegradasi dinding sel fungi yang sering dilakukan adalah kerja enzim ekso dan endo β -1,3 glukanase (Vazquez-Garciduenas dkk., 1998).

2.5. Enzim

Enzim merupakan biokatalis untuk proses biokimia yang terjadi di dalam sel maupun di luar sel. Suatu enzim bekerja secara spesifik dan selektif terhadap suatu substrat (Lehninger. 1997 : Poedjiadi. 1994). Kespesifikan dan keselektifan inilah ciri suatu enzim. Sangat berbeda dengan katalis lain (bukan enzim) yang dapat bekerja terhadap berbagai macam reaksi atau substrat (Poedjiadi. 1994).



Gambar 4. Lokasi aktif enzim (Winarno. 1995)

Tidak seluruh permukaan enzim aktif. Bagian yang aktif relatif kecil. Bagian aktif enzim adalah bagian enzim yang dapat mengikat substrat dan gugus prostetik jika ada. Substrat yang terikat pada enzim ternyata harus mempunyai bentuk yang sangat tepat dengan bagian aktif enzim. Emil Fischer mengajukan hipotesis kunci dan gembok. Tetapi ternyata lokasi aktif enzim mempunyai konfigurasi yang tidak kaku. Lokasi aktif enzim mempunyai bentuk yang persis dengan substrat tersebut terikat pada bagian aktif enzim, cara ini disebut *Induced Fit Model* (Winarno, 1995).

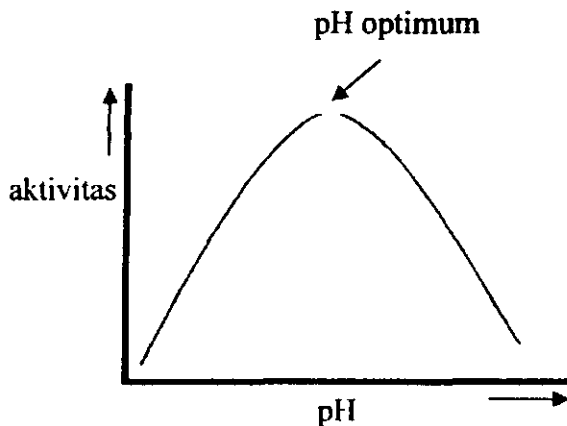
- **Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim**

Enzim adalah golongan protein, sehingga mempunyai sifat yang mirip dengan protein. Beberapa enzim tidak stabil dan mudah terdenaturasi sehingga aktivitasnya hilang. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain:

1. Pengaruh pH

Reaksi enzim sangat dipengaruhi oleh perubahan pH. Perubahan akan berlangsung terhadap gugus-gugus asam amino dan karboksilat pada protein, sehingga akan mempengaruhi pusat aktif dari enzim. pH berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Denaturasi enzim akan terjadi pada pH yang sangat tinggi atau rendah (Page, 1997).

Enzim memiliki pH optimum yang khas, yaitu pH yang mengakibatkan aktivitas maksimal yang tergantung pada sumber enzimnya. Bila aktivitas enzim diukur pada beberapa pH, hasil yang diukur dapat digambarkan sebagai berikut :

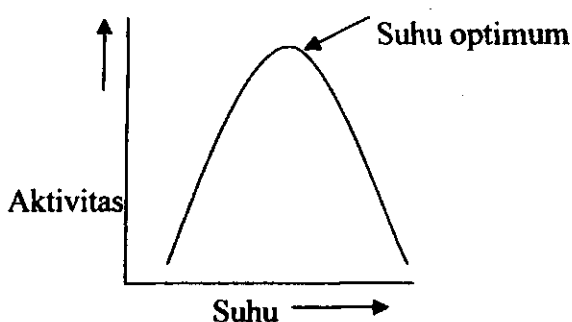


Gambar 5. Pengaruh pH pada aktivitas enzim (Girindra, 1990)

Enzim menunjukkan aktivitas maksimum antara pH 4,5 sampai pH 8 dan disekitar pH optimum tersebut enzim mempunyai stabilitas yang tinggi.

2. Pengaruh suhu

Suhu merupakan faktor yang sangat berperan dalam suatu reaksi kimia, demikian juga dengan reaksi enzimatik. Reaksi yang dikatalis oleh enzim juga peka terhadap suhu, dalam batas-batas tertentu kecepatan reaksi yang dikatalis oleh enzim akan naik bila suhu naik. Bila kecepatan reaksi yang dikatalis enzim diukur pada beberapa suhu, hasilnya dapat digambarkan sebagai berikut :



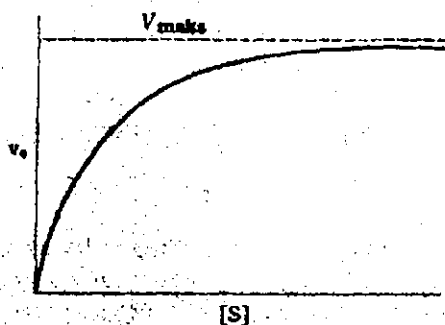
Gambar 6. Pengaruh suhu pada aktivitas enzim (Poedjiadi. 1994)

Terlihat pada gambar diatas bahwa kecepatan reaksi meningkat dengan kenaikan suhu sampai mencapai suhu optimum. Apabila suhu dinaikkan lagi di atas suhu optimum kecepatan reaksi akan turun secara tajam. Hal ini disebabkan karena denaturasi protein oleh pemanasan. Enzim mempunyai suhu tertentu

dimana aktivitasnya paling tinggi disebut suhu optimum. Sebagian besar enzim mempunyai suhu optimum antara 25°C - 27°C dan keaktifannya meningkat sampai 45°C karena pada suhu ini denaturasi mulai terjadi (Poedjiadi, 1994; Winarmo 1995).

3. Konsentrasi Enzim

Kecepatan reaksi tergantung pada konsentrasi enzimnya. Pada konsentrasi substrat yang rendah, kecepatan reaksi pun amat rendah, kecepatan ini meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat. Pada akhirnya, akan tercapai titik batas, dan setelah titik ini dilampau, kecepatan reaksi hanya akan meningkat sedemikian kecil dengan bertambahnya konsentrasi substrat. Kecepatan akan mendekati, tetapi tidak akan pernah mencapai garis maksimum.



Keterangan:

V_0 = Kecepatan awal

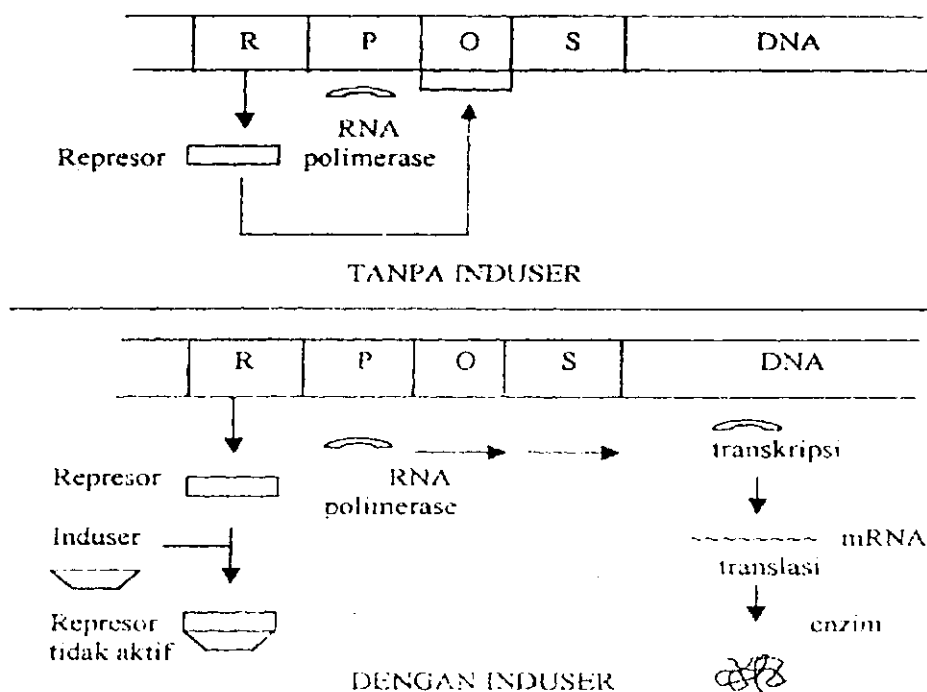
[S] = Konsentrasi substrat

V_{Maks} = Kecepatan maksimum

Gambar 7. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan awal reaksi enzim (Michaelis-Menten)

2.6. Mekanisme Induksi Sintesis Protein

Sintesis enzim diatur secara teoritik pada transkripsi maupun translasi. Sebagian besar dari gen yang menjadikan struktur rantai-rantai polipeptida diatur, artinya transkripsi gen struktur mempengaruhi pengaturan. Tergantung dari kondisi lingkungan dan situasi metabolisme sel (Shclegel, 1994). Mekanisme pengaturan sintesis protein atau enzim tertentu telah dikembangkan oleh Jacob dan Monod dari hasil penelitiannya mengenai bakteri *E. coli* yang diformulasikan dalam sebuah model yang disebut operon. Mekanisme pengaturan sintesis protein tersebut diterangkan secara skematik pada gambar 8.



Gambar 8. Sistem operon menurut Jacob dan Monod

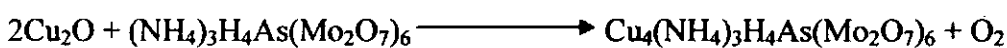
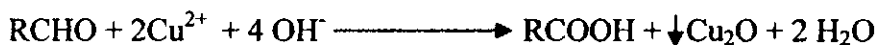
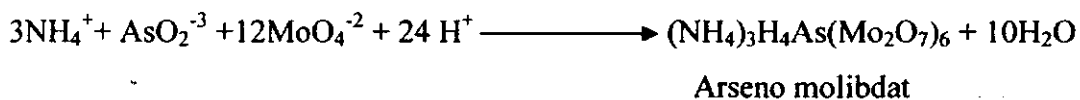
Menurut Jacob dan Monod (1961) induksi sintesis protein dipengaruhi oleh empat gen yaitu gen regulator (R) gen yang mengkode sintesis protein represor, gen operator (O) gen yang mengontrol fungsi gen struktur (S), gen struktur (S) gen yang akan ditranskripsi menjadi mRNA, gen promotor (P) gen yang merupakan tempat pengikatan RNA polimerase, yaitu enzim yang mengkatalisis proses transkripsi DNA ke RNA. Gen-gen tersebut merupakan sebuah operon dan protein-protein yang ditentukan oleh gen-gen sebuah operon pada umumnya adalah enzim. Jika protein represor mengikat gen operator (O) maka RNA polimerase tidak dapat berikatan dengan gen promotor (P) dan akibatnya gen struktur (S) tidak dapat ditranskripsi menjadi RNA sehingga protein enzim tidak disintesis. Dengan adanya induser yang mampu mendeaktivasi protein represor maka RNA polimerase dapat berikatan dengan promotor sehingga transkripsi dapat berlangsung (Watson dkk., 1992; Shclegel, 1994).

2.7. Penentuan Konsentrasi Gula Pereduksi Metode Nelson-Somogyi

Dalam alkali semua monosakarida dan beberapa disakarida dapat bertindak sebagai senyawa-senyawa pereduksi dan dengan mudah teroksidasi oleh beberapa reagen misalnya tembaga (Cu^{+2}). Salah satu metode yang umum digunakan adalah reduksi ion cupri (Cu^{+2}) menjadi cupro (Cu^{+}) dalam larutan alkali membentuk $\text{Cu}(\text{OH})_2$ yang dengan pemanasan akan diubah menjadi endapan merah bata (Cu_2O). Untuk mencegah pengendapan reagen Cu^{+2} dalam larutan alkali digunakan adalah sitrat atau tartarat.

Dalam metode Nelson-Somogyi, hasil reduksi ion cupri oleh glukosa atau gula pereduksi lainnya dalam suasana basa dengan arsenomolibdat memberikan warna biru. Absorpsi larutan ini diukur pada panjang gelombang 500 nm (Green III dkk, 1989).

Reaksi yang terjadi :



Larutan Biru

2.8. Penentuan Konsentrasi Protein Metode Lowrey

Dalam metode ini menggunakan reagen yang dapat mendeteksi gugus fenol yang dikenal sebagai reagen Folin-Ciocalteu dan dikembangkan oleh Lowrey untuk menentukan kadar protein. Penentuan kadar protein secara Lowrey berdasarkan atas pengukuran serapan cahaya oleh ikatan kompleks yang berwarna biru. Warna yang timbul disebabkan oleh hasil reaksi biuret yaitu koordinasi ikatan peptida dengan tembaga dalam lingkungan alkali dan reduksi dari reagen Folin-Ciocalteu (fosfomolibdat-fosfotungstat, fosfowolframat) oleh residu tirosin dan triptofan yang ada dalam protein menjadi wolfram bim molibdenum biru (Boyer, 1993).

Metode ini lebih sensitif dibanding dengan metode biuret yang memiliki rentang sensitif 1-20 mg protein. Dengan metode Lowrey dapat dideteksi protein serendah 5 µg. Metode ini dapat terganggu oleh adanya ammonium sulfat (konsentrasi besar dari 0,15%) dan merkaptans. Kurva standar disiapkan dengan menggunakan larutan protein serum *albumin bovine* (Boyer, 1993).

