

BAB II

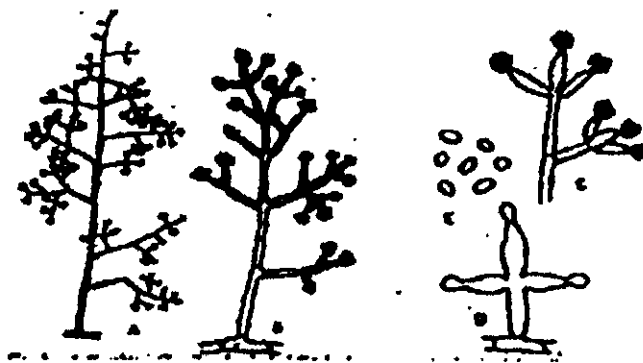
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Umum Tentang Jamur *Trichoderma*

Jamur adalah golongan organisme yang tubuh vegetatifnya (struktur somatisnya) berupa talus dan tidak mempunyai klorofil. Jamur tersusun dari benang-benang sel panjang yang disebut hifa dan dihubungkan bersama dari ujung ke ujung. Banyak jamur mempunyai dinding penyekat (septa) dalam hifanya yang membagi masing-masing hifa menjadi banyak sel dengan nukleus masing-masing. Susunan seperti ini disebut sebagai hifa bersepta. Ada juga jamur yang tidak mempunyai septa jadi kelihatan seperti satu sel panjang yang mengandung banyak inti. Hifa seperti ini disebut hifa senosit.

Jamur memerlukan kelembaban yang tinggi, persediaan bahan organik dan persediaan oksigen untuk pertumbuhan. Jamur dapat hidup dari bahan organik yang mati dan mengalami pembusukan. Jamur tumbuh baik dalam lingkungan yang mengandung banyak gula dan dengan kondisi asam yang tidak menguntungkan bagi bakteri. Mekanisme reproduksi jamur disebut pembentukan spora. Spora dapat bersifat seksual atau aseksual (Volk dan Wheeler, 1998).

Trichoderma termasuk jenis jamur tanah (soil fungi) sehingga sangat mudah ditemukan di berbagai jenis tanah, di permukaan akar berbagai macam tumbuhan, hutan, padang rumput, rawa bahkan di tanah yang miskin akan nutrisi (Eveleigh, 1985., Papavizas, 1985).



Gambar 1. Karakteristik mikroskopis *Trichoderma sp* A dan B adalah konidiofora dewasa, C dan D (Fialid), dan E adalah konidia (Sumber: Barnett, 1958)

Klasifikasi taksonomi dari *Trichoderma spp.* menurut CABI Bioscience (2004) dan Harman (2006) adalah:

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Deuteromycota
Class	: Deuteromycetes
Ordo	: Moniliales
Family	: Moniliaceae
Genus	: <i>Trichoderma</i>
Spesies	: <i>Trichoderma sp</i>

Trichoderma sp ini adalah jamur non patogenik terhadap tanaman maupun hewan dan dapat digunakan sebagai biokontrol sehingga potensial untuk dikembangkan dalam bidang pertanian maupun perkebunan. Jamur *Trichoderma sp* menghasilkan enzim ekstraselular sehingga memungkinkan baginya untuk bersaing dengan fungi lain dalam memanfaatkan residu tanaman sebagai bahan nutrisi serta dapat menghambat pertumbuhan jamur fitopatogenik seperti spesies *Fusarium*, *Pythium* dan *Rhizoctonia* (Waluyo, 2004). Enzim-enzim selulase, xilanase, kitinase dan protease memainkan peranan dasar dalam kedua proses ini. Sifat antagonistik jamur ini secara signifikan dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang berbeda, terutama pH dan potensial air.

Jamur ini termasuk jamur filamen yang berwarna biru terang, berbentuk bola-bola konidia yang melekat satu sama lain, miselium bersepta, dan pertumbuhannya cepat (Barnett, 1958., Wahyudi, 1997). Pada umumnya jamur ini fialosporanya beraroma khas bau kelapa. Beberapa spesies dari *Trichoderma sp* dapat menghasilkan kristal atau pigmen tertentu yang dapat mengotori medium, sehingga akan mempengaruhi warna medium tempat jamur tumbuh (Pathak dan Ghose, 1973).

Jamur *Trichoderma* memiliki banyak konidiofora dengan konidia yang jelas. Kadang-kadang konidioforanya sedikit dan koloninya dapat tersebar rata. Pada spesies ini, hifa yang muncul pertama kali berwarna putih kemudian lama kelamaan muncul warna hijau akibat pembentukan spora. Koloni dewasa pada *T. asperellum* berwarna hijau tua atau hijau kebiru-biruan. Selain itu beberapa koloni yang dihasilkan berwarna kekuning-kuningan tetapi karakter ini tidak terus-menerus dapat

dipercaya pada satu kali pengamatan dalam isolasi spesies ini. Pada kondisi normal *T. asperellum* memiliki bentuk dan penyusunan fialida cukup tetap dan sama pada sistem percabangan konidiofora (Rifai, 1969). Jamur *T. asperellum* dapat menghasilkan beberapa enzim, diantaranya selulase dan kitinase.

2.2. Pertumbuhan jamur

Jamur filamen atau kapang tumbuh melalui pembentukan miselia. Pertumbuhan dimulai dari ujung miselium (pertumbuhan apikal) dengan membentuk septa diantara sel-sel. Miselium bisa berbentuk panjang dan menyebar, pendek dan bercabang-cabang atau campuran dari keduanya. Pada suatu permukaan, fungi tumbuh membentuk suatu lapisan tebal dengan miselia yang bertumpang tindih. Sedangkan pada media cair, miselia akan tersebar atau membentuk pellet dengan diameter 0,1 – 10 mm. Lapisan (mats) dan pellet miselia sangat penting untuk pertumbuhan kapang karena ini akan mempengaruhi lingkungan fisikokimia individual sel-sel tersebut. Pemantauan pertumbuhan kapang dilakukan dengan menghitung peningkatan jumlah massa sel bukan dengan perhitungan jumlah sel karena sel-sel kapang sangat sulit dipisahkan (Sa'id, 1987)

2.3. Enzim

Enzim merupakan unit fungsional dari metabolisme sel. Enzim adalah protein yang mempunyai aktifitas katalitik dan merupakan biokatalisator dalam reaksi-reaksi kimia yang bekerja secara selektif dan spesifik baik yang terjadi didalam sel maupun diluar sel (Lehninger, 1997). Enzim memiliki pH optimum yang khas, yaitu pH yang menyebabkan aktivitas maksimal.

Enzim dapat dihasilkan oleh sel hewan, tumbuh-tumbuhan, maupun sel mikroorganisme. Berdasarkan tempat kerjanya, enzim dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu enzim intraseluler dan enzim ekstraseluler. Enzim ekstraseluler hasilnya dikeluarkan dari sel sehingga ditemukan dalam media pertumbuhan sedangkan enzim intraseluler dihasilkan didalam sel. Proses katalitik enzim dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dalam bentuk induksi dan represi (inhibisi). Mekanisme pengaturan aktifitas gen atau represi gen dalam memproduksi protein atau enzim tertentu, telah dikembangkan oleh Jacob dan Monod (1961).

Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor (Poedjiadi, 1994) yaitu :

1. Konsentrasi enzim

Kecepatan reaksi enzimatik tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim.

2. Konsentrasi substrat

Pada konsentrasi enzim yang tetap, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi substrat. Pada batas tertentu, kecepatan reaksi tidak akan bertambah dengan bertambahnya konsentrasi substrat, atau penambahannya sangat kecil.

3. Suhu

Reaksi menggunakan enzim juga dipengaruhi oleh suhu. Reaksi berjalan lambat pada suhu rendah, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi reaksi berlangsung lebih cepat. Kenaikan suhu juga dapat mengurangi kecepatan reaksi enzim. Hal ini karena enzim umumnya merupakan suatu protein, sehingga kenaikan suhu juga dapat menyebabkan denaturasi enzim. Struktur tiga dimensi (kuartener, tersier dan sekunder) bagian aktif enzim menjadi terganggu dan konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang.

4. pH

Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif atau bermuatan ganda (zwitter ion). Struktur enzim dipengaruhi oleh pH lingkungannya, sama seperti protein, sehingga pada pH rendah atau pH tinggi juga dapat menyebabkan enzim terdenaturasi sehingga menurunkan aktifitas enzim itu sendiri.

2.4. Enzim selulase

Selulase dapat menghidrolisis selulosa alam yang tidak larut menjadi selulosa yang larut (amorf, monomer glukosa). Selulase dari berbagai spesies jamur mempunyai bobot molekul yang berbeda-beda. Berat molekul *Thricoderma viride* (Onazuka SS) adalah 12.000, sedangkan *Thricoderma asperellum* TNJ63 setelah diteliti mempunyai berat molekul 30.161 (Devi dkk., 2000)

Selulase yang merupakan enzim kompleks paling sedikit terdiri dari tiga komponen enzim berbeda yang menghidrolisis selulosa yaitu endoglukonase

(1,4 β -D glukon glukonohidrolase) yang menghidrolisis selulosa amorf (non kristal) seperti CMC, enzim eksoglukonase (1,4 β -D glukon selobiohidrolase dan 1,4 β -D glukon glukohidrolase) yang menghidrolisis selulosa kristalin menjadi selulosa amorf dan enzim β -glukosidase (β -D glukosida glukohidrolase) yang menghidrolisis selobiosa sehingga menghasilkan glukosa (Philipidis, 1994).

2.5. Selulosa

Selulosa, senyawa organik yang banyak terdapat di alam, merupakan senyawa karbohidrat jenis polisakarida dengan berat molekul besar dan komponen utama dalam dinding sel tanaman. Selulosa tersusun dari monomer-monomer glukosa yang diikat oleh ikatan glikosidik membentuk rantai polimer linier yang berstruktur seragam. Selulosa dapat diubah menjadi glukosa setelah mengalami hidrolisis sempurna. Hidrolisis dapat dilakukan dengan asam atau selulase.

Selulosa bersifat liat dan tahan air. Pada rantai selulosa antar gugus hidroksil dapat terbentuk ikatan hidrogen. Ikatan antar rantai selulosa ini cukup kuat dan menyebabkan terjadinya struktur kristal dalam selulosa, selain itu terdapat pula bagian yang kurang teratur yang disebut amorf. Selulosa yang mempunyai struktur kristal sukar dihidrolisis sedangkan yang amorf mudah (Eric, 1976; Lehninger, 1997).

Selulosa dihidrolisis oleh selobiohidrolase dan endoglukanase menjadi selobiosa dan glukosa. Selobiosa dihidrolisis menjadi glukosa oleh selobiose. Aktifitas yang sinergis dari ketiga enzim ini membantu merusak struktur selulosa dengan cara melemahkan ikatan-ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan penguraian sempurna selulosa menjadi glukosa (Cole dan King, 1984; Pathak dan Ghose, 1973).

2.6. Enzim Kitinase

Kitinase dapat mendegradasi kitin. Enzim ini dapat berupa endokitinase dan eksokitinase. Endokitinase mendegradasi kitin secara acak sedangkan eksokitinase mendegradasi dari bahagian ujung molekul kitin (Tronsmo dan Harman, 1993). *T. asperellum* TNJ63 adalah salah satu galur *Trichoderma sp* yang berasal dari tanah perkebunan jeruk di Riau dengan produksi kitinase tertinggi. Galur ini menghasilkan

endokitinase dan eksokitinase yaitu kitobiosidase dan N-asetil-β-D-glukosaminidase. Kedua enzim ini membantu jamur dalam mekanisme mikoparasitisme sehingga sangat potensial sebagai mikroba biokontrol dari fungi patogen tanaman yang dinding selnya mengandung kitin dan juga dapat dikembangkan sebagai enzim pengolah limbah kulit udang dan kepiting (Nugroho dkk., 2003).

2.7. Potensial Air

Potensial air adalah energi bebas air dalam suatu sistem tertutup (larutan), relatif terhadap energi bebas keadaan standard air murni dalam sistem terbuka. Selain itu, potensial air bisa juga didefinisikan sebagai ukuran energi potensial (per satuan massa atau volum) air pada suatu titik didalam sistem yang relatif terhadap energi potensial air murni (Salisbury dan Ross, 1992). Energi potensial air murni selalu nol dan energi potensial air dalam sistem hampir selalu negatif (Papendick dan Campbell, 2005). Air selalu bergerak dari suatu potensial air yang tinggi ke tempat potensial air yang rendah (Lab bench Activity, 2005).

Potensial air dipengaruhi oleh dua faktor yaitu tekanan dan jumlah zat terlarut. Potensial air dari air murni dalam suatu tempat terbuka adalah nol, karena tidak ada zat terlarut dan tekanan dalam tempat adalah nol. Penambahan zat terlarut dapat menurunkan potensial air. Ketika suatu larutan ditutupi oleh dinding sel yang kaku (rigid) potensial airnya akan meningkat. Perpindahan air kedalam sel akan meningkatkan tekanan dalam sel terutama dinding sel (LabBench Activity, 2005).

Osmolalitas larutan adalah jumlah seluruh potensial osmotik yang disebabkan oleh zat terlarut dalam suatu larutan. Potensial osmotik dapat dibaca langsung pada alat osmometer sebagai fungsi konsentrasi molal yang diperoleh berdasarkan persamaan 1.

$$\Psi_s = -CiRT \dots\dots\dots (1)$$

- Keterangan: Ψ_s = Potensial Osmotik
 C = Konsentrasi larutan/molalitas larutan (mol zat terlarut/kg H₂O)
 i = Tetapan ionisasi zat terlarut/koeffisien osmotik
 R = Konstanta gas (0.00831 kg Mpa mol.⁻¹ K⁻¹)
 T = Temperatur (K)

Koefisien osmotik untuk molekul yang tidak terionisasi dalam larutan seperti glukosa dan manitol adalah 1 (satu). Sebagai contoh, di bawah ini perhitungan potensial osmotik untuk 1,0 molal larutan glukosa pada suhu 30°C adalah.

$$\Psi_s = -\left(1.0 \frac{\text{mol}}{\text{kg}}\right)(1.0)\left(0.00831 \frac{\text{kg.Mpa}}{\text{molK}}\right)(303 \text{K})$$

$$\Psi_s = -2.52 \text{Mpa}$$

Sedangkan untuk larutan yang sama, potensial osmotik pada suhu 0°C adalah.

$$\Psi_s = -\left(1.0 \frac{\text{mol}}{\text{kg}}\right)(1.0)\left(0.00831 \frac{\text{kg.Mpa}}{\text{molK}}\right)(273 \text{K})$$

$$\Psi_s = -2.27 \text{Mpa}$$

Berdasarkan perhitungan di atas, ternyata nilai potensial osmotik suatu larutan pada suhu 30°C lebih rendah dibandingkan pada suhu 0°C dengan konsentrasi yang sama, sehingga air akan berdifusi dari larutan yang dingin kearah larutan yang panas. Potensial air diberi simbol Ψ_s , dan mempunyai hubungan dengan tekanan udara dan tekanan osmosis yang digambarkan oleh persamaan 2.

$$\Psi = p - \pi \dots\dots\dots (2)$$

- Keterangan: Ψ = potensial air (Mpa)
 p = tekanan udara dalam sistem
 π = tekanan osmosis

Pada tekanan atmosfer $P = 0$, sehingga persamaan (2) menjadi :

$$\Psi = -\pi \dots\dots\dots (3)$$

Tekanan osmosis (π) 1 mol suatu gas ideal dengan volume 1 L pada suhu 0°C adalah -2,27 Mpa. Nilai ini sama dengan nilai negatif potensial osmotik 1 molal larutan yang tidak terionisasi pada suhu 0°C. Sehingga diperoleh hubungan antara tekanan osmosis (π) dengan potensial osmotik larutan seperti pada persamaan 4.

$$\pi = -\Psi_s \dots\dots\dots (4)$$

Gabungan persamaan 3 dan 4, menghasilkan persamaan 5.

$$\Psi = -\Psi_s \dots\dots\dots (5)$$

Potensial air dapat ditentukan dengan mengukur osmolalitas larutan dengan menggunakan osmometer berdasarkan prinsip penurunan titik beku dibandingkan pelarut murni. Pada larutan ideal, potensial osmotik dari satu molal larutan yang tidak terionisasi pada 0°C adalah -2,27 Mpa. Ternyata dengan osmometer dapat dihitung bahwa penurunan titik beku untuk larutan non ideal seperti pada sel adalah sebesar -1,86°C. Oleh karena itu potensial osmotik (osmolalitas) suatu larutan encer dapat dihitung berdasarkan persamaan 6.

$$\frac{\Psi_s}{\Delta_f} = \frac{-2.27 \text{ Mpa}}{-1.86^\circ \text{ C}} \dots\dots\dots (6)$$

atau

$$\Psi_s = (1.22 \text{ Mpa}/^\circ \text{ C})\Delta_f \dots\dots\dots (7)$$

Keterangan: Δ_f = Penurunan titik beku pada penambahan zat terlarut dalam larutan encer (Salisbury dan Ross, 1992).

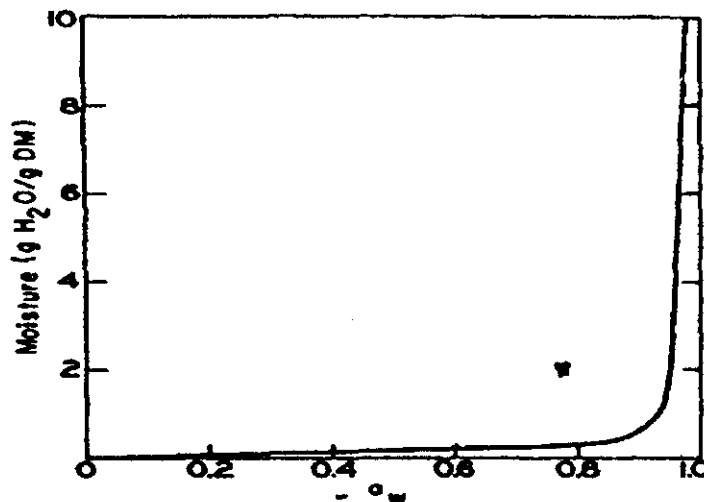
Hubungan antara aktivitas air dengan potensial air ditunjukkan oleh Kredics dkk. (2000) dengan persamaan 8.

$$\text{potensial air} = \left(\frac{RT \ln a_w}{V_w} \right) \dots\dots\dots (8)$$

- Keterangan: $R = 8.31 \times 10^{-5} \text{ m}^3\text{bar/mol K}$
 $T =$ suhu (K)
 $a_w =$ aktivitas air
 $V_w =$ volume molal air $18 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{mol}$

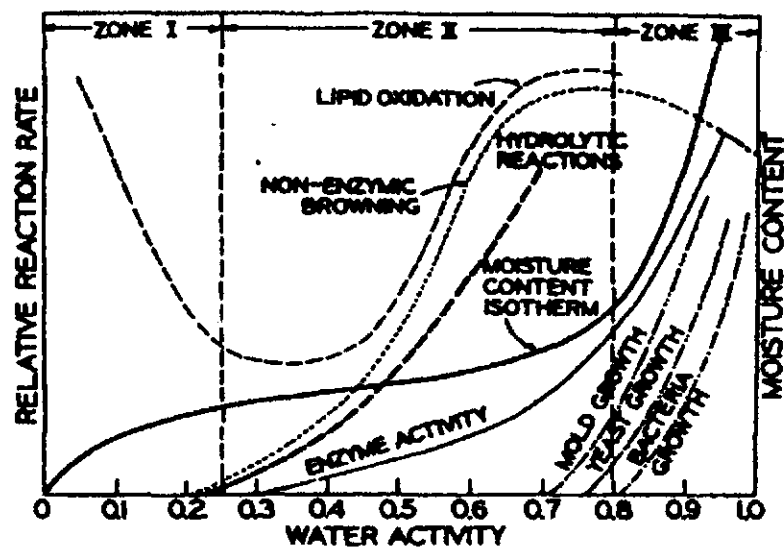
2.8. Aktivitas air (a_w)

Air berperan sebagai sebagai pembawa nutrien, produk buangan, reaktan, medium reaksi, dan penentu reaktivitas protein. Tekanan parsial air dalam suatu larutan relatif terhadap tekanan uap air murni pada suhu yang sama didefinisikan sebagai aktivitas air. Menurut Labuza, daerah karakteristik a_w digambarkan dalam bentuk kurva sebagai berikut.



Gambar 2. Grafik kadar air sebagai fungsi aktivitas air pada suhu 20°C
(Sumber: Fenema, 1976).

Hubungan besarnya a_w dan kadar air dalam mikroorganisme pada suhu 20°C digambarkan seperti pada gambar 2. Secara umum bentuk khas kurva kadar air yang sigmoid menunjukkan pada rentang a_w yang cukup besar yaitu 0,2 sampai dengan 0,8 mengalami perubahan kadar air yang cukup kecil (dibawah 0,25%). Pada nilai a_w diatas 0,9 mengalami perubahan kadar air yang cukup besar (Fenema, 1976).



Gambar 3. Grafik kecepatan reaksi sebagai fungsi aktivitas air
(Sumber: Fenema, 1976).

Daerah I mempunyai nilai a_w dibawah 0,25, sedangkan daerah II mempunyai nilai a_w antara 0,25 sampai 0,8 dan daerah III mempunyai nilai a_w diatas 0,8. Ditinjau dari segi keterikatan air, maka air pada daerah I terdapat dalam bentuk satu lapis, dengan molekul air terikat sangat erat. Hanya reaksi autooksidasi yang terjadi pada daerah ini. Di daerah I tersebut air sulit sekali diuapkan. Di daerah II air terikat kurang erat dan merupakan lapisan-lapisan. Air yang terdapat dalam daerah ini berperan sebagai pelarut, oleh karena itu aktivitas enzim dan pencoklatan non enzimatis dapat terjadi. Beberapa jenis organisme mampu hidup dalam daerah II seperti kapang pada nilai a_w 0,7 dan khamir pada nilai a_w 0,75. Daerah III disebut juga daerah kondensasi kapiler. Di daerah ini banyak organisme tumbuh dengan baik seperti kapang, khamir, bakteri. Pada keadaan ini air terdapat dalam keadaan bebas sehingga membantu proses pertumbuhan (Fenema, 1976).

Aktivitas air murni mempunyai nilai a_w 1,0. Hukum Raoult menyatakan bahwa zat terlarut mampu menurunkan tekanan uap air dan aktivitas air (Fenema, 1976). Penambahan zat terlarut (misalnya natrium klorida) dalam media telah banyak direkomendasikan oleh peneliti untuk mengatur nilai aktivitas air karena mudah dan akurat. Metoda lain yang sering digunakan untuk penentuan aktivitas air adalah gravimetri dan higrometri (Kredics, 1984).