

IV. HASIL

4.1. Hasil

4.1.1. Pengamatan Pertumbuhan Jamur

Hasil pengamatan pertumbuhan *T. asperellum* TNC52 dan *T. asperellum* TNJ63 dari proses inokulasi ke media agar miring ditumbuhi spora pada hari kedua. Spora ini kemudian membentuk konidiofora dewasa pada hari kelima. Masing-masing jamur tumbuh dengan koloni yang berbeda. Jamur *T. asperellum* TNC52 koloninya berwarna hijau muda, sedangkan jamur *T. asperellum* TNJ63 koloninya berwarna hijau tua. Setelah lima hari, kedua jamur ini diinokulasikan pada medium cair produksi kitinase.

4.1.2. Produksi Kitinase *Trichoderma asperellum* TNC52 dan TNJ63

Pada penelitian ini digunakan kultur *T. asperellum* TNC52 dan TNJ63 koleksi Laboratorium Biokimia FMIPA, Universitas Riau. *T. asperellum* TNC52 dan TNJ63 yang telah diremajakan selama 5 (lima) hari di agar miring, kemudian dikulturkan di media produksi kitinase selama 7 (tujuh) hari berdasarkan percobaan pendahuluan. Ekstrak kasar kitinase pada media produksi yang dihasilkan dipanen dan kemudian disterilisasi dengan *mikrosterilesyringe*, selanjutnya dipekatkan dengan mikroultrafiltrasi, sehingga pada penelitian ini dilakukan 2 (dua) kali pemisahan sehingga enzim yang didapatkan relatif murni. Ekstrak media kitinase diuji aktivitas antijamur dan antagonistik terhadap jamur patogen tanaman *Ganoderma boninense*, *Rhizoctonia solani*, dan *Fusarium sp.* Ekstrak kasar dan hasil mikroultrafiltrasi diuji kadar proteinnya dengan metoda Lowry dan aktivitas kitinase dengan substrat kitin koloidal.

4.1.3. Uji Aktivitas Kitinase dan Kadar Protein Media Produksi *Trichoderma asperellum* TNC52 dan TNJ63

Aktivitas ekstrak kasar kitinase ditentukan sebagai jumlah gula pereduksi yang dilepaskan oleh kerja enzim per satuan waktu. Kadar gula pereduksi ditentukan dengan metode Nelson-Somogyi (Green III dkk., 1989) Analisa dilakukan dengan konsentrasi kitin 1% yang diinkubasi selama 1 jam pada suhu

40°C dan pH 5,5. Semua percobaan direplikasi sebanyak 3x pengulangan. Aktivitas kitinase *T. Asperellum* TNC 52 dan TNJ63 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas kitinase *T. asperellum* TNC52 pada setiap tahapan pemurnian

No.	Perlakuan	Ulangan	Aktivitas Enzim (Unit/ml)
1.	Pemurnian mikropore (tahap I)	1	0.0074
		2	0.0050
		3	0.0050
		Rataan	0.0058 ± 0.0014
2.	Pemurnian ultrafiltrasi (tahap II)	1	0.0209
		2	0.0199
		3	0.0311
		Rataan	0.0239 ± 0.00619

Tabel 3. Aktivitas kitinase *T. asperellum* TNJ63 pada setiap tahapan pemurnian

No.	Perlakuan	Ulangan	Aktivitas Enzim (Unit/ml)
1.	Pemurnian mikropore (tahap I)	1	0.0103
		2	0.0216
		3	0.0086
		Rataan	0.0135 ± 0.0071
2.	Pemurnian ultrafiltrasi (tahap II)	1	0.0311
		2	0.0335
		3	0.0323
		Rataan	0.0323 ± 0.0012

Dari Tabel 2 dan Tabel 3 terlihat bahwa aktivitas kitinase *T. Asperellum* TNJ63 memiliki aktivitas yang lebih besar dari *T. Asperellum* TNC52 pada kedua tahap pemurnian, yaitu setelah pemurnian Tahap I dengan mikropore dan Tahap II dengan ultrafiltrasi. Aktivitas kitinase untuk kedua jamur mengalami peningkatan setelah pemurnian dan pemekatan Tahap II sebesar kurang lebih 0,018 unit/ml

Kadar protein dan aktivitas spesifik enzim hasil pemurnian mikropore dan ultrafiltrasi dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5. Terlihat bahwa kadar protein antara kedua jamur *T. asperellum* TNC52 dan TNJ 63 tidak jauh berbeda pada setiap tahapnya. Aktivitas spesifik kedua jamur menunjukkan nilai yang berbeda dimana kitinase dari *T. asperellum* TNJ63 menunjukkan 3 kali lebih besar pada tahap pemurnian mikropore dan 0,01 poin lebih tinggi pada tahap pemurnian ultrafiltrasi dari *T. asperellum* TNC52.

Tabel 4. Kadar protein dan aktivitas spesifik kitinase *Trichoderma asperellum* TNC52

Tahap Pemurnian	Protein			Enzim				
	Volume fraksi (ml)	Kons. (mg/ml)	Jumlah (mg)	Kons. (U/ml)	Aktivitas Spesifik (U/mg protein)	Jumlah (unit)	Yield (%)	Faktor Pemurnian (Fold)
Crude Ekstrak	25	-	-	-	-	-	-	-
Setelah melalui mikropor	16.25	$\frac{1000}{0.3633} \times 250$ = 1.4532	16.25×1.4532 = 23.6145	$\frac{1000}{250} \times 0.0058$ = 0.0232	0.0232×16.25 = 0.377	$\frac{0.377}{23.6145} = 0.0159$	100	1
Setelah ultrafiltrasi	0.4875	$\frac{1000}{0.1924} \times 30$ = 6.4133	0.4875×6.4133 = 3.1265	$\frac{1000}{60} \times 0.0239$ = 0.3983	0.3983×0.4875 = 0.1942	$\frac{0.1942}{3.1265} = 0.0621$	51.5119	3.9056

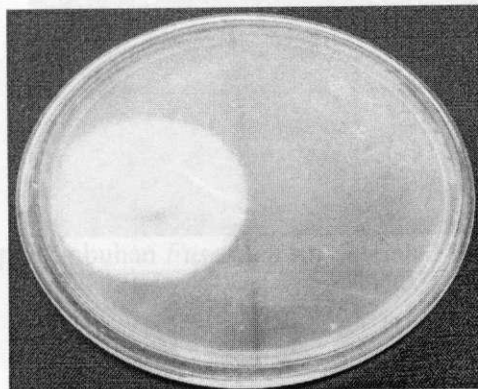
Tabel 5. Kadar protein dan aktivitas spesifik kitinase *Trichoderma asperellum* TNJ63

Tahap Pemurnian	Protein			Enzim				
	Volume fraksi (ml)	Kons. (mg/ml)	Jumlah (mg)	Kons. (U/ml)	Aktivitas Spesifik (U/mg protein)	Jumlah (unit)	Yield (%)	Faktor Pemurnian (Fold)
Crude Ekstrak	25	-	-	-	-	-	-	-
Setelah melalui mikropor	18	$\frac{1000}{0.2816} \times 250$ = 1.1264	1.1264×18 = 20.2752	$\frac{1000}{250} \times 0.0135$ = 0.054	0.054×18 = 0.972	$\frac{0.972}{20.2752} = 0.0479$	100	1
Setelah ultrafiltrasi	0.54	$\frac{1000}{0.2242} \times 30$ = 7.4733	7.4733×0.54 = 4.0356	$\frac{1000}{60} \times 0.0323$ = 0.5383	0.5383×0.54 = 0.2907	$\frac{0.2907}{4.0356} = 0.0720$	29.907	1.5031

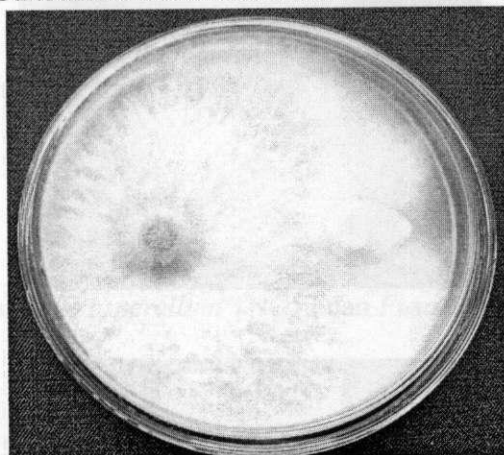
4.1.4. Uji Antagonistik

Untuk ketiga jamur patogen yang diujikan, terlihat bahwa pertumbuhan jamur patogen mengecil karena dihambat oleh *T. asperellum* TNC52 dan TNJ63 setelah 5 (lima) hari inkubasi.

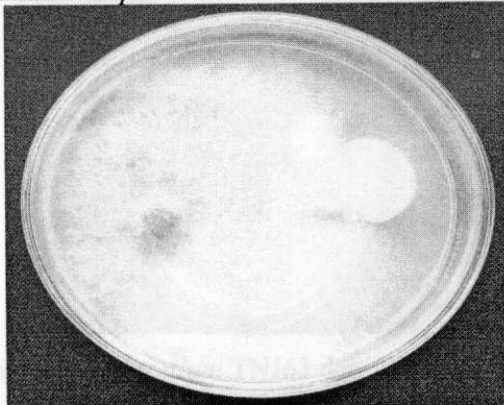
4.1.4.1. Pertumbuhan Jamur *Trichoderma asperellum* TNC52 dan *Ganoderma boninense* pada 5 hari.



Gambar 4. Kontrol *Ganoderma boninense* 5 hari



Gambar 5. Pertumbuhan *T. asperellum* TNC52 dan *G. boninense* pada 5 hari



Gambar 6. Pertumbuhan *T. asperellum* TNJ63 dan *G. boninense* pada 5 hari

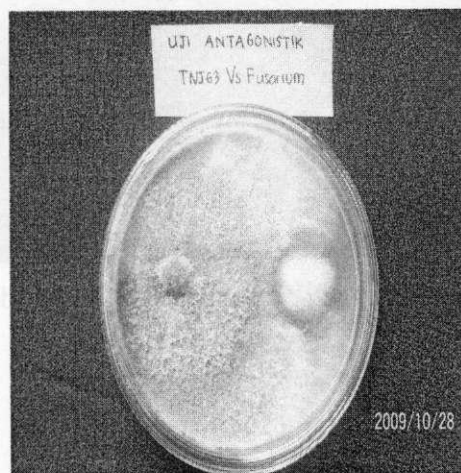
4.1.4.2. Pertumbuhan Jamur *Trichoderma asperellum* TNC52 dan *Fusarium* pada beberapa hari.



Gambar 7. Kontrol pertumbuhan *Fusarium* sp. Setelah 2 hari

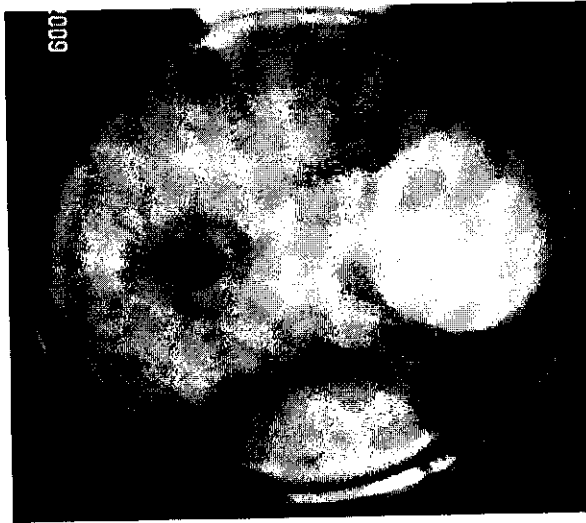


Gambar 8. Pertumbuhan *T. asperellum* TNC52 dan *Fusarium* sp. Setelah 5 hari



Gambar 9. Pertumbuhan *T. asperellum* TNJ63 dan *Fusarium* sp. Setelah 5 hari

4.1.4.2. Pertumbuhan Jamur *Trichoderma asperellum* TNC52 dan *Rhizoctonia solani* pada beberapa hari.



Gambar 10. Pertumbuhan *T. asperellum* TNC52 dan *Rhizoctonia solani* setelah 3 hari



Gambar 11. Pertumbuhan *T. asperellum* TNJ63 dan *Rhizoctonia solani* setelah 5 hari

4.1.5. Uji Antijamur

Hingga akhir 2009, para mahasiswa masih sedang melakukan uji antijamur, karena diperlukan produksi kitinase kembali dalam jumlah yang lebih banyak sehingga cukup untuk uji antijamur. Uji antijamur dilakukan pada enzim setelah pemurnian mikropore (tahap I) dan setelah pemurnian ultrafiltrasi (tahap II) pada beberapa konsentrasi dan 3 kali ulangan.