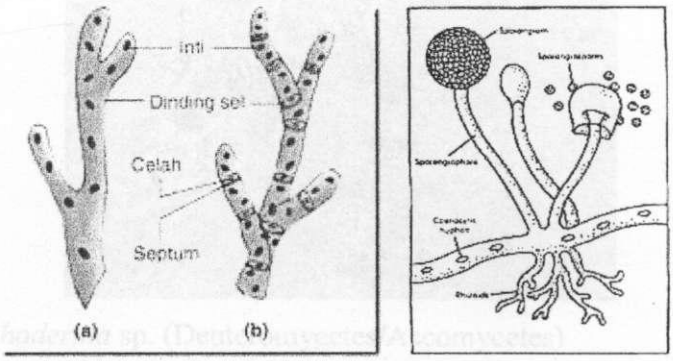
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan umum jamur *Trichoderma*

Jamur merupakan fungi bersel banyak, yang dapat digolongkan ke dalam dua golongan besar, yaitu ragi (khamir) dan jamur (kapang). Kedua organism ini tersebar secara luas di alam, baik yang bersifat saprofit maupun parasit bagi tumbuh-tumbuhan, hewan, dan manusia (Volk dan Wheeler, 1993). Jamur atau fungi adalah organism heterotrofik, mereka memerlukan senyawa organik untuk nutrisinya (Pelczar dan Chan, 1986). Jamur tersusun dari benang-benang sel panjang yang disebut hifa. Banyak jamur mempunyai dinding penyekat (septa) dalam hifanya, sehingga hifa mempunyai banyak sel dan disebut hifa bersepta. Dalam beberapa kelas jamur, benang-benang itu tidak mempunyai septa sehingga kelihatan sebagai satu sel panjang yang mengandung banyak nucleus. Hifa semacam ini disebut hifa senosit (Volk dan Wheeler, 1998).



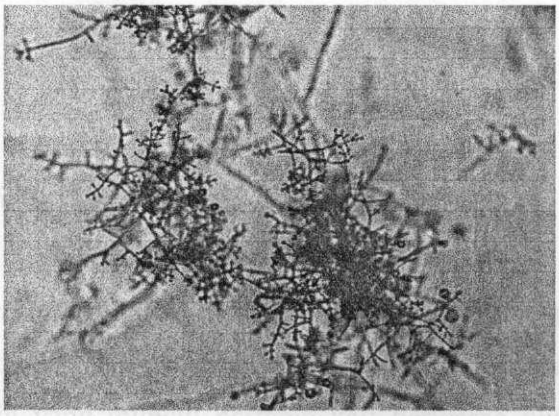
Gambar 1. Hifa jamur

Trichoderma sp. merupakan jamur tanah sehingga sangat mudah ditemukan pada berbagai macam tanah, permukaan akar tumbuhan, lahan pertanian, bahkan tanah yang miskin nutrisi. *Trichoderma* sp. termasuk jamur filament berwarna hijau terang, dengan konidia berbentuk bola yang melekat satu sama lainnya, miselium bersepta, dan pertumbuhannya cepat (Analismawati, 2008). Jamur ini non patogenik

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

terhadap tanaman maupun hewan dan dapat digunakan sebagai biokontrol karena bersifat mikoparasitik sehingga potensial untuk dikembangkan dalam bidang pertanian/perkebunan. Jamur *Trichoderma* sp. menghasilkan enzim ekstraseluler seperti selulase, xilanase, kitinase, dan protease yang memaninkan peranan dasar dalam proses pemanfaatan residu tanaman sebagai bahan nutrisi serta menghambat pertumbuhan jamur fitopatogenik.

Sejumlah mikroba telah dilaporkan dalam berbagai penelitian efektif sebagai agen pengendalian hayati hama dan penyakit tumbuhan, diantaranya adalah dari genus-genus *Agrobacterium, Ampelomyces, Arthrobotys, Ascocoryne, Bacils, Bdellovibrio, Chaetomium, Cladosporium, Coniothyrium, Dactylella, Endothia, Erwinia, Fusarium, Gliocladium, Hansfordia, Laetisaria, Myrothecium, Nematophthora, Peniophora, Phialophora, Pseudomonas, Pythium, Scytalidium, Sporidesminium, Sphaerellopsiss, Trichoderma,* dan *Verticillium.*



Gambar 2. *Trichoderma* sp. (Deuteromycetes/Ascomycetes)

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

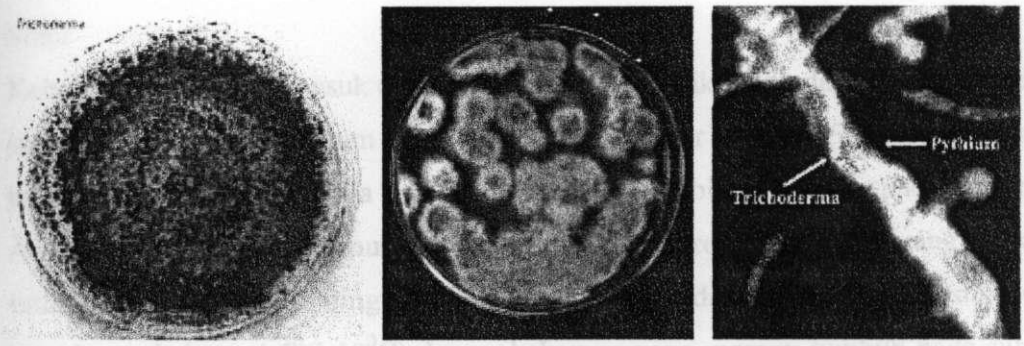
Taksonomi dari *Trichoderma* sp. (Harman, 2006) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Fungi
Division	: Deutromycota
Klas	: Deutromycetes
Ordo	: Moniliales
Family	: Moniliacea
Genus	: *Trichoderma*
Spesies	: *Trichoderma* spp.

Gambar 3. Karakteristik mikroskopik *Trichoderma* sp.

Jamur *T.asperellum* T.N.C52 memiliki banyak konidiospora dengan konidia yang jelas. Kadang-kadang konodioforanya 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.

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/



Gambar 4. *Trichoderma spp.*

2.2. Isolasi jamur

Teknik goresan tidak efektif untuk jamur benang dan juga tidak dianjurkan. Isolasi tergantung pada pengambilan sejumlah kecil sampel hifa atau spora, dianggap murni oleh mata, lensa pembesar, atau stereomikroskop, dan letakkan sampel pada media agar sebagai inokulum titik. Kemurnian dinampak oleh keseragaman koloni yang terbentuk setelah inkubasi. Penampakan kultur campuran tergantung pada laju pertumbuhan jamur yang ada. Jika laju beragam, kultur campuran sering menunjukkan adanya gumpalan pada titik inokulum. Untuk jamur yang memiliki kecepatan pertumbuhan yang sama, campuran sering diindikasi oleh koloni dengan sector pertumbuhan. Sector akan menunjukkan perbedaan miselia, spora, ataupun warna (Hidayat, 2006).

2.3. Karakteristik fisiologi jamur

Karakteristik fisiologi jamur adalah sebagai berikut :

- Kandungan Air

  Pada umumnya jamur benang lebih tahan terhadap kekeringan disbanding khamir atau bakteri. Namun demikian, batasan (pendekatan) kandungan air total pada makanan yang baik untuk pertumbuhan jamur dapar diestimasikan dan dikatakan bahwa kandungan air di bawah 14%-15% pada biji-bijian atau makanan kering dapat mencegah atau memperlambat pertumbuhan jamur.

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

- Suhu

  Kebanyakan jamur termasuk dalam kelompok mesofilik, yaitu dapat tumbuh pada suhu normal. Suhu optimum untuk kebanyakan jamur sekitar 250-300C, namun beberapa tumbuh baik pada suhu 350-370C atau lebih, misalnya pada spesies Aspergillus. Sejumlah jamur termasuk dalam psikrotrofik, yaitu yang dapat tumbuh baik pada suhu dingin, dan beberapa masih dapat tumbuh pada suhu di bawah pembekuan (-5^{0}C-10^{0}C). hanya beberapa yang mampu tumbuh pada suhu tinggi (termofilik).

- Kebutuhan Oksigen dan Derajat Keasaman

  Jamur benang biasanya bersifat aerob, yang membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Kebanyakan jamur dapat tumbuh pada interval pH yang luas (pH 2.0-8.5), walaupun pada umumnya jamur lebih suka pada kondisi asam.

- Kebutuhan Makanan (nutrisi)

  Jamur pada umumnya mampu menggunakan bermacam-macam makanan, dari yang sederhana sampai yang kompleks. Kebanyakan jamur memiliki bermacam-macam enzim hidrolitik, yaitu amylase, pektinasi, proteinase, dan lipase.

- Senyawa penghambat

  Beberapa jamur memproduksi komponen penghambat bagi mikroba lain, contohnya *Penicillium chrysogenum* dengan produksi penisilinnya, *Aspergillus clavatus*, klavasin. Beberapa komponen kimia bersifat mikostatik, menghambat pertumbuhan jamur (misalnya asam sorbet, propionate, asetat) atau bersifat fungisida yang mematikan jamur.

Pertumbuhan awal jamur benang adalah lambat dibandingkan dengan bakteri atau khamir, oleh karena itu ketika kondisi lingkungannya menguntungkan bagi pertumbuhan seluruh mikrobia, jamur biasanya kalah dalam berkompetisi. Namun demikian setelah pertumbuhan berlangsung, kemungkinan jamur dapat tumbuh dengan cepat (Hidayat dkk, 2006). Waktu optimum produksi enzim digunakan sebagai waktu panen enzim untuk mendegradasi substrat dan pengaruh pH pada isolate diuji pada hari aktivitas tertinggi jamur.

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Penyiapan medium

Meskipun persyaratan nutrient mikroorganisme amat beragam, namun sebagai makhluk hidup mereka mempunyai kebutuhan dasar yang sama, yaitu :

1. Air (H_2O)
2. Karbon (C)
3. Energy
4. Mineral
5. Factor tumbuh

Factor tumbuh adalah komponen selular essensial yang tidak dapat disintesis sendiri oleh suatu organism dari sumber dasar karbon dan nitrogennya. Komponen sel yang dimaksud dapat berupa asam-asam amino atau vitamin (Hadioetomo, 1990).

2.4. Enzim

Enzim adalah golongan protein yang paling banyak terdapat dalam sel hidup dan mempunyai fungsi penting sebagai katalisator reaksi biokimia yang secara kolektif membentuk metabolism-perantara (intermediary metabolism) dari sel (Wirahadikusumah, 1977). Penelitian terhadap enzim sejak beberapa tahun yang lalu, telah menghasilkan pengertian yang lebih jelas tentang perana enzim dalam biologi sel, yaitu control sintesis enzim dan protein lainnya secara genetika, sifat pengatur sendiri system enzim, dan peranan enzim dalam berbagai proses pertumbuhan dan diferensiasi atau pembelahan sel.

Klasifikasi enzim secara internasional meliputi nama golongan, nomor kode, dan macam reaksi yang dikatalisisnya dan tiap golongan utama terbagi lagi menjadi kelompok-kelompok enzim berdasarkan gugus substrat yang diserangnya :

- Oksido-reduktase: berperan dalam reaksi oksidasi-reduksi
- Transferase : berperan dalam reaksi pemindahan gugus tertentu.
- Hidrolase : berperan dalam reaksi hidrolisis.
- Liase : mengkatalisis reaksi adisi atau pemecahan ikatan rangkap dua

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

- Isomerase : mengkatalisis reaksi isomerase.
- Ligase : mengkatalisis reaksi pembentukan ikatan dengan bantuan pemecahan ikatan dalam ATP (Wirahadikusuma, 1977).

Sejak tahun 1926, pengetahuan tentang enzim atau enzimologi berkembangn dengan cepat. Dari hasil penelitian para ahli biokimia bahwa banyak enzim mempunyai gugus bukan protein, jadi termasuk golongan protein majemuk. Enzim semacam ini (haloenzim) terdiri atas protein (apoenzim) dan suatu gugus bukan protein. Sebagai contoh enzim katalase terdiri atas protein dan ferriprotorfirin. Gugus bukan protein dinamakan kofaktor. Kofaktor yang terikat kuat pada protein disebut gugus prostetik dan yang tidak terikat kuat dan mudah dipisahkan secara dialysis disebut koenzim (Poedjiadi, 1994).

Enzim mempunyai pengaruh untuk memungkinkan molekul berinteraksi lebih sering dan lebih mudah terjadi, sehingga energy aktivasi untuk reaksi itu dapat diturunkan. Oleh sebab itu, enzim dapat memungkinkan terjadinya reaksi-reaksi biokoimia pada laju yang masuk akal, pada kondisi intraseluler, dan disebut mengkatalis reaksi tersebut. Enzim tidak "dihabiskan" pada waktu mengkatalis reaksi, melainkan enzim ini bebas untuk berinteraksi dengan substrat baru dan mengkatalis reaksi yang diulang (Goodenough, 1988). Ada dua pendekatan utama yang banyak membantu terhadap pengembangan genetika, yang pertama adalah isolasi enzim-enzim selular dan meneliti sifat-sifat yang dapat mempengaruhi struktur dan fungsi gen (Pai, C.A, 1992).

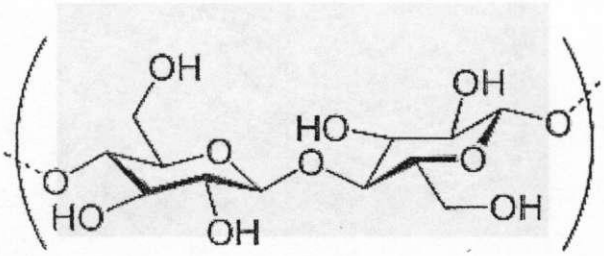
2.5. Selulosa

Selulosa merupakan senyawa organik yang banyak terdapat di alam, yang merupakan seryawa karbohidrat jenin polisakarida dengan berat molekul besar dan komponen utama dalam dinding sel tanaman. Selulosa adalah polimer yang berlimpah di biosper dengan taksiran rata-rata sintesisnya yaitu 10^{10} ton pertahun (Narasimha *et al*, 2006). Selulosa merupakan glukosa-glukosa yang diikat oleh ikatan yang dinamakan dengan ikatan glikosidik beta 1-4. Selulosa bersifat liat dan tahan air. Selulosa tersusun dari monomer-monomer glukosa yang diikat oleh ikatan

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

glikosidik membentuk rantai polimer linear yang berstruktur seragam. Selulosa dapat diubah menjadi glukosa setelah mengalami hidrolisis sempurna. Hidrolisis dapat dilakukan dengan asam atau selulase.

Pada rantai selulosa antar gugus hidroksil dapat berbentuk ikatan hydrogen. Ikatan antar rantai selulosa ini cukup kuat dan menyebabkan terjadinya struktur kristal dalam selulosa, selain itu terdapat juga bagian yang kurang teratur yang disebut amorf. Selulosa yang mempunyai struktur Kristal sukar dihidrolisis, sedangkan yang amorf mudah (Lehninger, 1998). Selulosa tidak larut dalam air, tidak berasa, dan merupakan gula yang tidak mereduksi. Pada hidrolisis sempurna menghasilkan D (+) glukosa (Melisa, 2010).



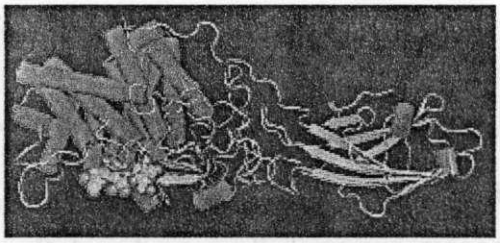
Gambar 5. Struktur Selulosa

Hidrolisis selulosa terdiri dari dua tahap, yaitu degradasi selulosa menjadi selobiosa oleh endo-β-1,4 glukanase dan ekso-β-1,4 glukanase dilanjutkan dengan pemecahan selobiosa oleh β-1,4 glukosidase. Kebanyakan system selulase yang dihasilkan oleh jamur selulotik, jumlah β-glukosidasenya kurang dari yang dibutuhkan untuk hidrolisis selulosa menjadi glukosa secara efisien, sehingga produk utama hidrolisisnya bukan glukosa melainkan selobiosa, yang merupakan inhibitor kuat terhadap endo-β-1,4 glukanase dan ekso-β-1,4 glikanase mendegradasi selulosa (Anwar dkk, 2009).

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

2.6. Enzim Selulase

Selulase adalah nama bagi semua enzim yang memutuskan ikatan glikosidik beta-1,4 di dalam selulosa, sedodekstrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya. Selulase merupakan enzim ekstraseluler yang terdiri atas kompleks endo-β-1,4-glukonase (CMCase, C_x selulase endoselulase, atau *carboxymethyl cellulose*), kompleks ekso-β-1,4-glukonase (aviselase, selobiohidrolase, C_1 selulase), dan β-1,4-glukosidase atau selobiase (Meryandini dkk, 2009). Selulosa tidak dimiliki oleh manusia, oleh karena itu manusia tidak dapat menguraikan selulosa. Reaksi yang ditimbulkan selulase saat mengurai selulosa adalah hidrolisis, maka selulase diklasifikasikan ke dalam jenis enzim hidralase.



Gambar 6. Selulase

Selulase (merupakan system multienzim kompleks) berperan secara kolektif untuk menghidrolisis selulosa dari sisa agrikultur (pertanian) untuk menghasilkan unit glukosa yang simple. Selulase disintesis oleh jamur selulolitik seperti *Chaetomium sp., Fusarium sp., Myrothecium sp., dan Trichoderma sp.* spesies lainnya termasuk *Penicillium sp.* dan *Aspergillus sp* (Milala dkk, 2005).

Ikatan glikosidik adalah ikatan kovalen yang terbentuk antara dua monosakarida melalui reaksi dehidrasi atau penghilangan gugus air. Ikatan antar glukosa ini dinamakan glikosidik beta-1,4 karena konfigurasi glukosa dalam selulosa semuanya berbentuk beta, yakni ketika glikosa membentuk cincin, gugus hidroksil yang terikat dengan karbon nomor 1 akan terkunci di bagian atas sumbu cincin. Dan angka -1,4 diperoleh dari atom karbon yang menghubungkan antar unit glukosa monosakarida terletak pada atom karbon nomor 1 dan nomor 4.

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Trichoderma merupakan fungi selulolitik sejati karena mengandung tiga komponen enzim, yaitu selobiohidrolase (CBH), endoglukanase, dan β-glukosidase yang secara sinergis memecah selulosa di alam. *Trichoderma* juga dikenal sebagai agen pengendali hayati beberapa penyakit pada tanaman pangan. Selain itu *Trichoderma* mampu menghasilkan hormone tumbuh sehingga dapat memacu pertumbuhan tanaman. Penggunaan karboksimetil selulosa (CMC) pada media enzim selulase dapat menghasilkan gula pereduksi secara optimal pada pH 7. Temperatur optimal untuk 1,4-α glukosidase adalah antara 45^0C – 60^0C, meskipun demikian selobiase dapat bekerja pada suhu 45^0C. penghentian aktivitas kompleks multienzim selulase dapat dilakukan dengan kombinasi pH dan temperature, yaitu dengan memanaskan system enzimatis selama 5 menit hingga 10 menit pada temperatur antara 90^0C – 100^0C (Supiandi, 1999).

2.7. Penentuan Gula Pereduksi dengan Metode Nelson-Somogyi

Reaksi dari gugus karbonil merupakan dasar dari banyak metode untuk mendeteksi karbohidrat. Dalam larutan 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 ion Cupro (Cu^{+}) dalam larutan alkali akan membentuk $Cu(OH)_2$ yang denga pemanasan akan diubah menjadi endapan merah bata (Cu_2O).

Metode Nelson-Somogyi digunakan untuk penentuan kadar zat-zat pereduksi dalam larutan. Dalam metode ini, hasil reduksi ion Cupri oleh glukosa atau gula pereduksi lainnya dalam suasana basa dengan arsenomolibdat memberikan warna biru yang kekuatannya sesuai dengan konsentrasi glukosa. Absorbansi larutan ini diukur pada panjang gelombang 500 nm, karena pada panjang gelombang tersebut diperoleh kurva hubungan yang linier antara absorban dengan konsentrasi glukosa pada rentang 100 sampai 2000 μg/mL. panjang gelombang 500 nm bukan panjang gelombang maksimum untuk keseluruhan larutan akhir reaksi Nelson-Somogyi, tetapi merupakan panjang gelombang maksimim dari kompleks

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

$Cu(NH_4)3H_4As(Mo_2O_7)_6$ yang merupakan ukuran Cu_2O yang terbentuk. Cu_2O yang terbentuk adalah sebanding dengan jumlah gula pereduksi pada reaksi Nelson-Somogyi (Green III dkk, 1989).

Reaksi yang terjadi :

$$3NH_4^+ + AsO_4^{-3} + 12MoO_4^{-2} + 24H^+ \longrightarrow (NH_4)3H_4As(M0_2O_7)_6 + 10H_2O$$

Arsenomolibdat

$$RCHO + 2Cu^{+2} + 4OH^- \longrightarrow RCOOH + \downarrow Cu_2O + 2H_2O$$

$$2Cu_2O + (NH_4)_3H_4As(Mo_2O_{7)6} \longrightarrow Cu_4(NH_4)_3H_4As(Mo_2O_7)_6 + O2$$

Larutan biru

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/