

**PENAPISAN BAKTERI KITINOLITIK DARI LIMBAH UDANG
YANG MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
BEBERAPA JAMUR PATOGEN**

TESIS

OLEH

**NIKMAH RIDHA BATUBARA
117030039/BIO**



**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
MEDAN
2013**

**PENAPISAN BAKTERI KITINOLITIK DARI LIMBAH UDANG
YANG MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
BEBERAPA JAMUR PATOGEN**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Magister Sains dalam Program Studi Magister Biologi pada
Program Pascasarjana Fakultas MIPA
Universitas Sumatera Utara

OLEH

**NIKMAH RIDHA BATUBARA
117030039/BIO**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
MEDAN
2013**

PENGESAHAN

Judul : Penapisan Bakteri Kitinolitik Dari Limbah
Udang Yang Menghambat Pertumbuhan
Beberapa Jamur Patogen
Nama : Nikmah Ridha Batubara
Nomor Induk Mahasiswa : 117030039
Program Studi : Magister (S2) Biologi
Fakultas : Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
(FMIPA) Universitas Sumatera Utara

Mengetahui
Komisi Pembimbing

Pembimbing 1

Pembimbing 2

Prof. Dr. Dwi Suryanto, M.Sc
NIP. 19640409 199403 1 003

Prof. Dr. Erman Munir, M.Sc
NIP. 19651101 199103 1 002

Ketua Program Studi

Dekan

Prof. Dr. Syafruddin Ilyas, M.Biomed
NIP. 19660209 199203 1 003

Dr. Sutarman, M. Sc
NIP. 19631026 199103 1 001

PERNYATAAN ORISINALITAS

PENAPISAN BAKTERI KITINOLITIK DARI LIMBAH UDANG YANG MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BEBERAPA JAMUR PATOGEN

TESIS

Dengan ini saya nyatakan bahwa saya mengakui semua karya tesis ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali kutipan dan ringkasan yang tiap satunya telah dijelaskan sumbernya dengan benar.

Medan, 26 Agustus 2013

Nikmah Ridha Batubara
NIM. 117030039

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Sumatera Utara, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nikmah Ridha Batubara
NIM : 117030039
Program Studi : Magister Biologi
Jenis Karya Ilmiah : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif (*Non-Exclusive Royalty Free Right*) atas Tesis saya yang berjudul:

PENAPISAN BAKTERI KITINOLITIK DARI LIMBAH UDANG YANG MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BEBERAPA JAMUR PATOGEN

beserta perangkat yang ada (*jika diperlukan*) dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini, Universitas Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media, memformat, mengelola dalam bentuk *data-base*, merawat dan mempublikasikan Tesis saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis dan sebagai pemegang dan atau sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya.

Medan, 26 Agustus 2013

Nikmah Ridha Batubara
NIM. 117030039

Telah diuji pada

Tanggal : 26 Agustus 2013

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : **Prof. Dr. Dwi Suryanto, M. Sc.**
Anggota : **1. Prof. Dr. Erman Munir, M. Sc.**
: **2. Dr. It Jamilah, M. Sc**
: **3. Dr. Ir. Yunasfi, M. Si**

RIWAYAT HIDUP

DATA PRIBADI

Nama lengkap berikut gelar : Nikmah Ridha Batubara, S.Si
Tempat dan Tanggal lahir : P. Siantar, 05 Juni 1986
Alamat Rumah : Jalan Rajamin Purba S.H. No 111, Pematang
Siantar, 21111
HP : +6285270972267
e-mail : nikmah_ridha56@yahoo.com
Instansi Tempat Bekerja : -

DATA PENDIDIKAN

SD	: SD Negeri 124402 P. Siantar	Tamat	: 1998
SMP	: Ma'had Al-Zaytun, Indramayu, Jawa Barat	Tamat	: 2003
SMA	: Ma'had Al-Zaytun, Indramayu, Jawa Barat	Tamat	: 2006
Strata-1	: Program Studi Biologi Universitas Sumatera Utara	Tamat	: 2011
Strata-2	: Pasca Sarjana Biologi Universitas Sumatera Utara	Tamat	: 2013

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin. Segala puji bagi Allah SWT yang telah mencurahkan rahmat dan ridho-Nya serta salawat beriring salam kepada Nabi Besar Muhammad SAW. Rasa syukur penulis sampaikan kepada Allah SWT karena atas karuniaNya penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis yang berjudul "**Penapisan Bakteri Kitinolitik dari Limbah Udang yang Menghambat Pertumbuhan Beberapa Jamur Patogen**".

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih Rektor Universitas Sumatera Utara, **Prof. Dr. dr. Syahril Pasaribu, DTM&H, M.Sc (CTM), Sp. A(K)** atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, **Dr. Sutarman, M.Sc.** Ketua Program Pascasarjana Magister Biologi **Prof. Dr. Syafruddin Ilyas, M. Biomed.** Sekretaris Program Studi **Dr. Suci Rahayu, M.Si** dan seluruh Staf Pengajar dan pegawai pada Program Studi Magister Biologi Program Pascasarjana Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak **Prof. Dwi Suryanto, M.Sc** dan Bapak **Prof. Dr. Erman Munir, M.Sc** selaku dosen pembimbing, Ibu **Dr. It Jamilah, M. Sc** dan Bapak **Dr. Ir. Yunasfi, M. Si** selaku penguji yang telah banyak memberikan bimbingan, perhatian dan saran kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis ini.

Ucapan terima kasih kepada Sekertaris Jenderal Pendidikan Tinggi (Sekjen DIKTI) yang telah memberikan beasiswa S2 kepada penulis melalui program Beasiswa Unggulan 2011. Terima kasih juga disampaikan kepada Kepala Laboratorium dan Staf Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sumatera Utara (USU), Direktur Balai Teknis Kesehatan Lingkungan Penanggulangan Penyakit Menular (BTKL-PPM) Kelas I Medan serta teknisi Laboratorium Biologi, Kimia dan Parasitologi pada instansi tersebut.

Terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada kedua orang tua yang sangat penulis cintai Ayahanda **Alm. H. Mukhtar Batubara** dan Ibunda **Hj. Dahlia MD**, Kakanda **Fadhilah Batubara, S.Pd**, Aida Fitri Batubara, **Amd., Miftah Rizki Batubara, S.Pd**, Adinda Mahzura Batubara dan Mas **Indra Setiawan, S.P**, serta seluruh keluarga besar, sahabat-sahabat terbaik dan rekan-rekan penulis yang telah memberikan segala cinta dan kasih sayang, dukungan dan motivasi, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik. Dan untuk berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, penulis mengucapkan terima kasih. Semoga Allah SWT memberikan balasan atas segala pengorbanan dan budi baik yang telah diberikan.

Pada akhirnya, penulis berharap tesis ini akan bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di Indonesia.

Nikmah Ridha Batubara

PENAPISAN BAKTERI KITINOLITIK DARI LIMBAH UDANG YANG MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BEBERAPA JAMUR PATOGEN

Abstrak

Penggunaan mikroorganisme sebagai agen biokontrol telah banyak digunakan mengingat perannya dalam mengurangi pencemaran tanah akibat penggunaan senyawa kimia. Diantara mikroorganisme yang digunakan adalah bakteri kitinolitik sebagai agen biokontrol untuk mengatasi patogen baik pada tanaman maupun hewan. Pada kajian ini bakteri kitinolitik diisolasi dari limbah udang yang berasal dari pabrik pengolahan udang dan tanah tempat pembuangan limbah udang. Dari 55 isolat bakteri yang diperoleh, didapatkan 10 isolat bakteri kitinolitik potensial dengan indeks kitinolitik mencapai 2,8. Uji antagonis isolat bakteri potensial terhadap beberapa jamur patogen secara *in vitro* menunjukkan bahwa isolat bakteri NR09 memiliki persentase penghambatan yang tertinggi terhadap *Rigidoporus microsporus*, *Sclerotium rolfii* dan *Fusarium oxysporum* dengan persentase penghambatan masing-masing 63,6%, 64,6% dan 75,6%. Penghambatan tertinggi terhadap *Curvularia* sp., *Saprolegnia* sp dan *C. albicans* oleh isolat bakteri NR02 dengan persentase penghambatan masing-masing 68,9%, 54,2% dan 52,3%. Pengamatan mikroskopis hifa abnormal pada jamur patogen menunjukkan adanya hifa yang menggulung, lisis dan membengkok. Ekstrak-free cell isolat bakteri NR09 mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen dengan persentase penghambatan antara 28% - 65,5%.

Kata Kunci : Biokontrol, kitinase, kitinolitik, limbah udang

SCREENING OF CHITINOLYTIC BACTERIA FROM WASTE SHRIMP INHIBIT THE GROWTH OF FUNGAL PATHOGEN

Abstract

The use of microorganisms as biocontrol agents have been known to reduce soil pollution due to the use of chemical compounds. Among the microorganisms chitinolytic bacteria have been utilized as biocontrol agents to inhibit both fungal pathogens on plants and animals. In this study, chitinolytic bacteria isolated from shrimp waste from shrimp processing plant and shrimp waste disposal. Among Fiftyfive bacteria isolated, ten bacteria were found have chitinolytic activity in chitin medium with chitinolytic index up to 2.8. Ten isolates bacteria were tested for in vitro antagonism against several fungal pathogens. Two of ten isolates i.e NR09 and NR02 were selected as the best isolates. For further study, NR09 showed potential to inhibit *Rigidoporus microsporus*, *Sclerotium rolfsii* and *Fusarium oxysporum* by 63.6%, 64.6% and 75,6% respectively. While NR02 showed potential to inhibit *Curvularia* sp., *Saprolegnia* sp. and *C. albicans* by 68.9%, 54.2% and 52.3% respectively. Microscopic observation antifungal effect on fungal pathogen revealed swollen, lytic and twisted hyphae. The free cell-extract of isolate NR09 was capable to inhibit the growth of fungal pathogen in 28% - 65.5%.

Keywords : *Biocontrol, chitinase, chitinolytic, shrimp waste*

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Manfaat	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Limbah Udang	4
2.2 Kitin	5
2.3 Enzim Kitinase dan Pemanfaatannya	7
2.4 Mikroorganisme Penghasil Kitinase	8
2.5 Dinding Sel Jamur	9
2.6 Mekanisme Kerja Agen Biokontrol terhadap Patogen	12
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	15
3.2 Alat dan Bahan	15
3.3 Isolasi Bakteri	16
3.4 Pengukuran Indeks Kitinolitik	16
3.5 Uji Kualitatif Enzim Glukanase	16
3.6 Uji Aktivitas Enzim Protease Kualitatif	17
3.7 Uji Antagonis Isolat terhadap Jamur Patogen	17
3.8 Pengamatan Hifa Abnormal Jamur Patogen	18
3.9 Produksi Enzim Kitinase	18
3.10 Uji Ekstrak Kasar Enzim Kitinase terhadap Beberapa Jamur Patogen	18
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Isolasi dan Seleksi Bakteri Kitinolitik	19
4.2 Uji Aktivitas Enzim Kualitatif	21
4.2.1 Enzim Kitinase	21
4.2.2 Enzim Glukanase	23
4.2.3 Enzim Protease	25
4.3 Uji Antagonis Bakteri Kitinolitik dengan Jamur Patogen	26
4.4 Pengamatan Mikroskopis Hifa Abnormal Jamur Patogen	32
4.5 Penghambatan Pertumbuhan Jamur Patogen dengan	

Ekstrak Enzim Kasar Kitinase	33
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 2.1	Persentase kandungan kitin dalam cangkang crustacea	6
Tabel 2.5	Komponen penyusun dinding sel jamur	11
Tabel 4.1.1	Karakterisasi dan morfologi bakteri kitinolitik	17
Tabel 4.2.1	Indeks kitinolitik 10 isolat bakteri potensial pada MGMK	20
Tabel 4.2.2	Diameter zona bening 10 isolat bakteri potensial pada media CMC dan media oat	21
Tabel 4.2.3	Indeks proteolitik 10 isolat bakteri potensial pada media susu skim	23

DAFTAR GAMBAR

	Halaman	
Gambar 2.2	Struktur kimia kitin	6
Gambar 2.5	Komponen dinding dan membran sel jamur	10
Gambar 2.6.1	Aktivitas mikoparasit oleh <i>T. virens</i> terhadap <i>R. solani</i>	13
Gambar 2.6.2	Mekanisme penghambatan <i>C. gudauskasii</i> oleh <i>B. subtilis</i>	14
Gambar 3.5	Metode pengukuran zona hambat koloni bakteri kitinolitik terhadap pertumbuhan jamur patogen. (A) koloni jamur patogen; (B) zona hambat bakteri kitinolitik; (C) titik tengah jamur diletakkan; (D) bakteri kitinolitik; (x) diameter jamur yang terhambat pertumbuhannya; (y) diameter koloni jamur normal	17
Gambar 4.1	Pewarnaan gram bakteri kitinolitik, NR02 (a), NR09 (b) dan NR04 (c) dengan perbesaran 100x	20
Gambar 4.2.1	Pembentukan zona bening di sekitar koloni bakteri kitinolitik setelah inkubasi selama 7 hari pada MGMK dengan suhu 28 ^o c	21
Gambar 4.2.2	Uji aktivitas enzim glukonase kualitatif pada (a) media <i>carboxymethyl cellulose</i> (CMC) dan (b) media oat	25
Gambar 4.2.3	Uji kualitatif enzim protease bakteri potensial pada media susu skim selama 5 hari pada suhu 28 ^o C	25
Gambar 4.3.1	Persentase penghambatan jamur tertinggi oleh 10 isolat bakteri asal limbah udang selama 7 hari pengamatan	28
Gambar 4.3.2.	Uji antagonis bakteri NR09 dengan jamur (a) <i>R. microsporus</i> (b) <i>S. rolfisii</i> (c) <i>F. oxysporum</i> dan jamur kontrol (d) <i>R. microsporus</i> (e) <i>S. rolfisii</i> (f) <i>F. oxysporum</i> pada media MGMK + Yeast (suhu 28 ^o C selama 7 hari)	30
Gambar 4.4	Pengamatan mikroskopik hifa abnormal <i>Curvularia</i> sp. (a) hifa normal, (b) penipisan dinding hifa, dan <i>Rigidoporus microsporus</i> (c) hifa normal, (d) pelisisan hifa	32
Gambar 4.5.1	Uji daya hambat ekstrak kasar enzim kitinase NR09 terhadap (a) <i>Saprolegnia</i> sp., (b) <i>S. rolfisii</i> , (c) <i>R. microsporus</i> , (d) <i>Curvularia</i> sp., (e) <i>F. oxysporum</i> pada hari ke-3	34
Gambar 4.5.2	Persentase penghambatan jamur oleh ekstrak kasar enzim kitinase isolat NR02 dan NR09	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Kurva Pertumbuhan Jamur Patogen	45
Lampiran 2. Jamur Patogen	46