

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Penyakit Busuk Batang Padi

Penyakit busuk batang padi (blas leher) disebabkan oleh cendawan *Pyricularia grisea* Sacc (sinonim dengan *Pyricularia oryzae* Carava) (Rosman *et al.*, 1990), termasuk dalam kelompok *Ascomycetes* dan bersifat heterotalik (Zeigler, 1998).

Penyakit busuk batang padi yang disebabkan oleh cendawan *Pyricularia grisea* merupakan salah satu masalah dalam produksi padi diseluruh dunia dengan kehilangan hasil berkisar 50% (Koga, 2001). Di Indonesia penyakit busuk batang padi dapat mencapai luas 1.285 juta hektar (Ha) atau sekitar 12% dari total luas areal pertanaman padi di Indonesia (Fathurrahman *et al.*, 2010). Cendawan ini dapat menjadi patogen pada beberapa tanaman penting lainnya, seperti gandum, sorghum dan serealia lainnya (Kahmann dan Basse 1997).

Penyakit busuk batang pada tanaman padi bersifat kosmofolit, artinya menyerang tanaman padi diseluruh dunia. Penyakit tanaman ini pun muncul karena adanya kultivatur yang peka terhadap patogen, dan peka terhadap pengaruh lingkungan praktek budidaya dapat menyebabkan timbulnya penyakit, seperti halnya pemupukan dengan dosis yang tinggi kondisi yang mendukung dapat mempengaruhi perkembangan penyakit tersebut (Sudarmo, 1997).

Pyricularia grisea mempunyai konidiofor panjang bersekat-sekat, jarang bercabang, tunggal, berwarna putih, membentuk konidium pada ujungnya. Konidium bulat telur dengan ujung runcing, jika masak bersekat 2, dengan ukuran $0-22 \times 10-12 \mu\text{m}$. Konidia berbentuk seperti buah alpukat dan bersel tiga, konidia ini dibentuk pada ujung suatu tangkai dan pada umumnya dilepas pada malam hari saat ada embun atau angin. Jamur ini berkembang biak bila jarak tanam rapat, kelembaban tinggi dan tanaman dipupuk nitrogen secara berlebihan. Penyebaran konidia jamur ini dapat terjadi melalui benih dan angin, sisa tanaman dilapangan dan inang lain terutama jenis padi-padian yang terinfeksi dapat menjadi sumber penularan bagi pertanaman padi berikutnya (Harahap, 1989).

Jika tanaman telah ditulari dengan spora-spora jamur maka pada daun tampak bintik-bintik kecil. Warna bintik-bintik tersebut ungu kekuning-kuningan, kemudian lama-lama menjadi membesar dan terdapat titik kecil berwarna putih ditengahnya. Jumlah titik ungu kekuningan banyak atau sedikit tergantung tingkat serangan jamur dan ketahanan varietas padi yang ditanam (Siregar, 1981).

Gejala pada daun yang sering disebut sebagai blas daun (leaf blas), berbentuk bercak-bercak jorong dengan ujung runcing. Pusat bercak berwarna kelabu atau keputih-putihan dan biasanya mempunyai tepi coklat atau coklat kemerahan. Bentuk dan warna bercak bervariasi tergantung dari keadaan lingkungan, umur bercak dan derajat ketahanan jenis padi. Pada daun yang tua bercak agak kecil dan lebih bulat, sehingga mirip bercak *Drechslera oryzae* (Semangun, 1993).

Gejala tipe akut berbentuk bulat, bercak hijau tua dengan bagian ujung runcing, akhirnya berkembang menjadi berbentuk gelendong/kumparan pada bagian tengah

kelihatan adanya koloni penyebab penyakit tumbuh pada kondisi yang sesuai yang menyebabkan tanaman rentan (Luh, 1991).

Tangkai malai dapat membusuk dan patah, sehingga penyakit ini disebut busuk leher. Bila infeksi ini terjadi sebelum masa pengisian bulir, maka dapat terjadi kehampaan pada bulir. Batangpun dapat terinfeksi akibat penularan dari pelepah daun, sehingga batang membusuk dan mudah rebah (Harahap, 1989).

Proses infeksi pada saat daun dalam keadaan basah dan pada kondisi lingkungan yang mendukung, perkecambahan akan terjadi setelah 3 jam. Jika konidia melewati masa kering selama 24 jam maka perkecambahan akan tertunda. Setelah terjadi infeksi hifa akan menembusi melalui epidermis. Kolonisasi tergantung dari salah satu faktor genetik, umur tanaman inang, nutrisi dan faktor lingkungan seperti suhu dan tanah (Anonim, 2005).

Sporulasi terjadi ketika kelembaban diatas 90% dibawah kondisi optimum konidiofor dibentuk selama 4 - 6 jam. 1 konidium dibentuk 40 menit. Sejumlah spora dihasilkan oleh beberapa luka yang telah ditemukan pada hari yang ke-enam berupa luka. Sporulasi maksimum terjadi pada 7 - 12 hari setelah inokulasi, sporulasi berlanjut sampai 60 hari (Anonim, 1991).

Beratnya serangan *Pyricularia grisea* sangat dipengaruhi oleh faktor luar. Seperti kelebihan pupuk N menambah kerentanan tanaman, demikian pula halnya dengan kekurangan air. Diduga bahwa kedua faktor tersebut menyebabkan berkurangnya kadar silisium tanaman karena penyakit dibantu oleh kekurangan air, pada umumnya padi tanah kering (Gogo) mendapat serangan yang lebih berat dari pada sawah (Semangun, 1993).

Secara tidak langsung angin berpengaruh terhadap kelembapan udara dan terjadinya embun. Sedangkan pengaruh langsungnya adalah terhadap penyebaran spora akibat gesekan oleh tiupan angin. Pelepasan dan pemencaran konidia *Pyricularia grisea* sangat dipengaruhi oleh kecepatan angin. Menurut beberapa penelitian didapatkan bahwa pada kecepatan 3 - 5 m/s. konidia akan terlepas dari konidiofor bahkan dalam keadaan tertentu dapat terjadi pada kecepatan 1 meter per detik (Anonim, 2007).

Pada tanah dengan derajat keasaman berkisar antara pH 5,6 - 6,5 pertanaman padi senantiasa bebas dari serangan jamur *Pyricularia grisea* dan juga tanah yang sudah lama tidak ditanami tanaman padi, tetapi penanaman kembali padi pada lahan tanah yang terserang penyakit blas maka akan terdapat serangan jamur *Pyricularia grisea* yang lebih berat lagi (Siregar, 1981).

B. *Trichoderma koningii*

Trichoderma koningii merupakan salah satu jamur antagonis yang telah banyak diuji coba dalam mengendalikan penyakit tanaman (Lilik dkk., 2010).

Trichoderma koningii merupakan jamur antagonis yang mampu menghambat perkembangan patogen melalui proses, mikroparasitisme, antibiosis dan kompetisi, selain itu, *Trichoderma koningii* juga dapat menghasilkan toksin, enzim, serta mampu menghambat atau mendegradasi enzim yang sangat penting bagi jamur patogen tanaman (Harman *et al.*, 2004). Penggunaan cendawan antagonis sebagai pengendalian patogen pengganti pestisida merupakan salah satu alternatif yang dianggap aman dan dapat memberikan hasil yang cukup memuaskan, dimana memiliki harapan yang baik untuk dikembangkan karena pengaruh negatif terhadap lingkungan tidak ada (Darmono, 1994).

Potensi jamur *Trichoderma koningii* sebagai jamur antagonis yang bersifat preventif terhadap serangan penyakit tanaman telah menjadikan jamur tersebut semakin luas digunakan oleh petani dalam usaha pengendalian organisme pengganggu tanaman (OPT). Disamping karakternya sebagai antagonis diketahui pula bahwa *Trichoderma koningii* juga berfungsi sebagai decomposer dalam pembuatan pupuk organik. Aplikasi jamur *Trichoderma koningii* Pada pembibitan tanaman guna mengantisipasi serangan OPT sedini mungkin membuktikan bahwa tingkat kesadaran petani akan arti penting perlindungan preventif perlahan telah tumbuh.

Menurut tinjauan umum *Trichoderma koningii* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Amastigomycota
Sub kelas : Deutromycetes
Ordo : Monoliales
Famili : Monoleaceae
Genus : *Trichoderma*
Spesies : *koningii*

Trichoderma koningii memiliki konidiofor bercabang cabang teratur, tidak membentuk berkas, konidium jorong, bersel satu, dalam kelompok kelompok kecil terminal, kelompok konidium berwarna hijau biru (Semangun, 1996).

Koloni *Trichoderma koningii* pada media agar pada awalnya terlihat berwarna putih selanjutnya miselium akan berubah menjadi kehijau-hijauan lalu terlihat sebagian besar berwarna hijau ada ditengah koloni dikelilingi miselium yang masih berwarna putih dan pada akhirnya seluruh medium akan berwarna hijau (Nurhayati, 2001).

Mikroorganisme antagonis adalah mikroorganisme yang mempunyai pengaruh yang merugikan terhadap mikroorganisme lain yang tumbuh dan berasosiasi dengannya. Antagonis meliputi (a) kompetisi nutrisi atau sesuatu yang lain dalam jumlah terbatas tetapi tidak diperlukan oleh OPT, (b) antibiosis sebagai hasil dari pelepasan antibiotika atau senyawa kimia yang lain oleh mikroorganisme dan berbahaya bagi OPT, dan (c) predasi, hiperparasitisme, dan mikroparasitisme atau

bentuk yang lain dari eksploitasi langsung terhadap OPT oleh mikroorganisme yang lain (Gultom, 2008).

Sifat antagonis cendawan *Trichoderma koningii* telah diteliti sejak lama. Inokulasi *Trichoderma koningii* ke dalam tanah dapat menekan serangan penyakit layu yang menyerang di persemaian, hal ini disebabkan oleh adanya pengaruh toksin yang dihasilkan cendawan ini. Selain itu *Trichoderma koningii* mempunyai kemampuan berkompetisi dengan patogen tanah terutama dalam mendapatkan Nitrogen dan Karbon (Djarmiko dkk., 1997). Selain itu, cendawan *Trichoderma koningii* mempunyai kemampuan untuk menghasilkan enzim hidrolitik β -1,3 glukukanase, kitinase dan selulase. Enzim-enzim inilah yang secara aktif merusak sel-sel jamur yang sebagian besar tersusun dari β -1,3 glukukan (linamirin) dan kitin sehingga dengan mudah jamur *Trichoderma koningii* dapat melakukan penetrasi ke dalam hifa jamur inangnya (Talanca dkk., 1998).

Trichoderma koningii adalah jenis cendawan yang tersebar luas di tanah, dan mempunyai sifat mikoparasitik. Mikoparasitik adalah kemampuan untuk menjadi parasit cendawan lain. Sifat inilah yang dimanfaatkan sebagai biokontrol terhadap jenis-jenis cendawan fitopatogen (Wahyudi, 2002 dalam Tindaon, 2008).

Talanca, dkk., (1998) dengan mengutip beberapa penulis lain memberikan penjelasan bahwa kemampuan antagonis *Trichoderma koningii* berhubungan dengan mekanisme-mekanisme berikut :

- a. *Trichoderma koningii* mengeluarkan toksin yang menyebabkan terlambatnya pertumbuhan bahkan mematikan inangnya.
- b. *Trichoderma koningii* menghasilkan enzim hidrolitik β -1,3 glukukanase, kitinase dan selulase.

C. Enzim

Enzim adalah katalis yang dapat meningkatkan laju reaksi kimia tanpa ikut mengalami perubahan dalam prosesnya. Tanpa kehadiran suatu enzim, reaksi sukar berjalan terus, oleh karena dengan adanya enzim laju dapat ditingkatkan hingga 10^7 kali. Reaksi katalis enzim biasanya berlangsung pada kondisi yang ramah (suhu dibawah 100°C , tekanan atmosfer dan pH netral) (Hames *et al.*, 1997). Enzim adalah katalisator sejati yang meningkatkan dengan nyata kecepatan reaksi kimia spesifik dimana tanpa enzim akan berlangsung sangat lambat. Enzim merupakan golongan protein yang paling banyak terdapat dalam sel hidup, dan mempunyai fungsi penting sebagai katalisator reaksi biokimia yang secara kolektif membentuk metabolisme perantara (*intermediary metabolism*) dari sel (Wirahadikusumah, 1997). Fungsi terpenting dari enzim adalah kemampuannya menurunkan energi aktivasi suatu reaksi kimia.

Enzim, seperti protein lain mempunyai berat molekul yang berkisar antara $12.000 > 1$ juta. Oleh karena itu, enzim berukuran sangat besar dibandingkan dengan substrat atau gugus fungsional targetnya. Kemampuan enzim dalam mendegradasi substrat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain konsentrasi

enzim, konsentrasi substrat, pH, dan temperatur. Aktivitas enzim tergantung dari kemampuan enzim tersebut mendegradasi substrat (Page, 1997).

D. Enzim Amilase

Amilase merupakan enzim yang paling penting, pada bidang bioteknologi enzim ini diperjual belikan sebanyak 25% dari total enzim yang lainnya. Amilase didapatkan dari berbagai macam sumber, seperti tanaman, hewan dan mikroorganisme. Amilase yang berasal dari mikroorganisme banyak digunakan dalam industri, hal ini dikarenakan mikroorganisme periode pertumbuhannya pendek. Amilase pertama kali yang diproduksi adalah amilase yang berasal dari fungi pada tahun 1894. Amilase mempunyai kemampuan untuk memecah molekul-molekul pati dan glikogen. Molekul pati yang merupakan polimer dari α -D glikopiranosida akan dipecah oleh enzim pada ikatan α -1,4 dan α -1,6 glikosida (Kusuma, 2011).

Menurut Poedjiadi (2006) dan Winarno (1986) amilase dapat dikelompokkan menjadi 4 golongan enzim yaitu α -amilase, β -amilase, γ -amilase dan glukamilase

1. α -amilase

Enzim α -amilase menghidrolisis dapat ikatan α -1,4 glikosidik amilosa dan glikogen. Enzim ini menghidrolisis pati secara acak dari tengah atau dari bagian dalam molekul, sehingga α -amilase dikatakan bersifat endoamilase. Berat molekul α -amilase sekitar 50.000.

Aktivitas α -amilase terjadi melalui 2 tahap yaitu : 1) Degradasi terjadi sangat cepat dan diikuti dengan penurunan viskositas dengan cepat juga, 2) Degradasi relatif sangat lambat dalam pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir. Aktivitas α -amilase dapat diukur dari hasil degradasi pati larut dengan substrat jenuh. Hilangnya substrat dapat diukur dari pengurangan derajat iodium yang dapat bereaksi dengan pati membentuk warna ungu. Kereaktifan α -amilase dapat diukur berdasarkan viskositas dan jumlah pereduksi yang terbentuk.

2. β -amilase

Enzim β -amilase dapat menghidrolisis ikatan β -1,4 glukon maltohidrolase.

Enzim β -amilase aktif pada pH 5 - 6 dan bersifat eksoamilase, yaitu β -amilase hanya dapat menghidrolisis unit-unit gula dari ujung molekul pati.

3. γ -amilase

Enzim γ -amilase terdapat dalam hati yang dapat menghidrolisis ikatan 1 - 4 dan 1 - 6 pada glikogen dan menghasilkan glukosa.

4. Glukoamilase

Glukoamilase menghidrolisis pati dari luar dengan mengeluarkan unit-unit glukosa dari ujung non-pereduksi pati yang menghasilkan glukosa. Enzim ini menghidrolisis ikatan α -1,3 dan α -1,4 glikosidik.

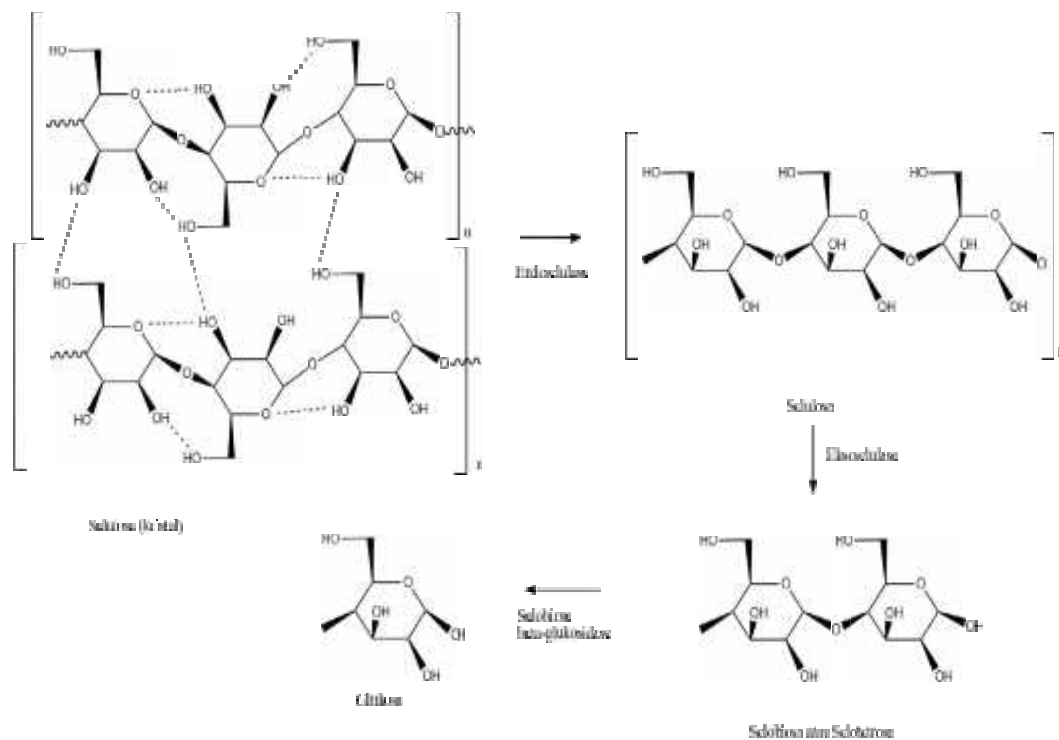
E. Selulosa

Selulosa merupakan senyawa organik yang paling melimpah di bumi, diperkirakan sekitar 10^{11} ton selulosa dibiosintesis per tahun (Fessenden, 1992). Selulosa merupakan polisakarida yang terdiri atas satuan-satuan glukosa yang terikat dengan ikatan β -1,4 glikosidik. Molekul selulosa merupakan mikrofibril dari glukosa yang terikat satu dengan lainnya membentuk rantai polimer yang sangat panjang (Fan *et al.*, 1982). Selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dengan menggunakan asam atau enzim. Hidrolisis menggunakan asam biasanya dilakukan pada temperatur tinggi. Proses ini relatif mahal karena kebutuhan energi yang cukup tinggi. Baru pada tahun 1980-an, mulai dikembangkan hidrolisis selulosa dengan menggunakan enzim selulase (Gokhan, 2002). Selulosa diproduksi oleh fungi, bakteri, tumbuhan, dan ruminansia. Produksi komersial selulase pada umumnya menggunakan jamur atau bakteri yang telah diisolasi. Meskipun banyak mikroorganisme yang dapat mendegradasi selulosa, hanya beberapa mikroorganisme yang memproduksi selulase dalam jumlah yang signifikan yang mampu menghidrolisa kristal selulosa secara *in vitro* (Ikram, 2005). Mikroorganisme pendegradasi selulosa antara lain jamur (aerobik) dan bakteri (anaerobik). Jamur adalah mikroorganisme utama yang dapat memproduksi enzim selulase, meskipun beberapa bakteri dan *actinomyces* juga dapat menghasilkan aktivitas selulase. Berbagai jenis jamur aerobik seperti *Trichoderma reesei*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma koningii*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Neurospora crassa* dan *Phanerochaete chrysosporium*

mampu mendegradasi selulosa dengan memproduksi enzim selulase (Damerco, 2003).

F. Enzim Selulase

Enzim yang dapat menghidrolisis ikatan β (1,4) pada selulosa adalah selulase. Selulase adalah enzim terinduksi yang disintesis oleh mikroorganisme selama ditumbuhkan dalam medium selulosa (Lee, 2001). Selulase termasuk sistem multienzim yang terdiri dari tiga komponen. Untuk menghidrolisis selulosa yang tidak larut atau selulosa kristal diperlukan kerja sinergistik dari ketiga komponen enzim tersebut. Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase dapat dilihat dalam Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme hidrolisis selulosa oleh enzim selulase (Abdullah, 2011).

Adapun ketiga komponen enzim tersebut yaitu:

1. Ekso- β -(1,4)-glukanase dikenal sebagai faktor C1. Faktor ini diperlukan untuk menghidrolisis selulosa dalam bentuk kristal.
2. Endo- β -(1,4)-glukanase dikenal sebagai faktor Cx. Faktor ini diperlukan untuk menghidrolisis ikatan β -(1,4)-glukosida (selulosa amorf).
3. β -(1,4)-glukosidase menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa (Reese, 1976).

Aktivitas selulase disebabkan oleh enzim non hidrolitik C1, hidrolisis selulosa yang telah diaktifkan dilakukan oleh enzim Cx. Menurut hipotesa ini, mikroba yang tumbuh pada selulosa kristal membentuk C1, sedangkan mikroba yang hanya dapat menguraikan selulosa yang telah dilonggarkan oleh asam fosfat atau selulosa tersubstitusi akan kekurangan enzim C1, tetapi banyak menghasilkan enzim Cx (Muchtadi *et al.*, 1992).

G. Enzim Protease

Enzim protease merupakan biokatalisator untuk reaksi pemecahan molekul protein menjadi oligopeptida dan asam amino. Enzim ini akan mengkatalisis reaksi hidrolisis, yaitu reaksi yang melibatkan unsur air pada ikatan spesifik substrat. Karena itu, enzim ini termasuk dalam kelas utama enzim golongan hidrolase. Berdasarkan cara kerjanya, enzim protease dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu, endopeptidase dan eksopeptidase. Endopeptidase adalah enzim yang mengkatalisis pemecahan ikatan peptida pada bagian dalam rantai polipeptida. Eksopeptidase adalah enzim yang mengkatalisis pemecahan ikatan peptida pada ujung rantai polipeptida (Winarno, 1986).

Protease adalah enzim yang sangat kompleks, mempunyai sifat fisikokimia dan sifat katalitik yang sangat bervariasi. Protease dapat dihasilkan secara ekstraseluler dan intraseluler dan mempunyai peranan penting dalam metabolisme sel dan keteraturan proses dalam sel (Ward, 1983).

H. Enzim Lipase

Enzim lipase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis rantai panjang trigliserida. Enzim lipase termasuk dalam enzim induktif yang sangat dipengaruhi oleh adanya konsentrasi minyak atau lemak didalam substrat (Bornscheuer, 1995).

Salah satu karakteristik utama dari lipase, yaitu enzim ini dapat bekerja pada lapisan antar muka karena adanya perbedaan kepolaran antara lipase dengan substrat yang dikatalisnya. Lipase cenderung bersifat polar, sedangkan substratnya berupa senyawa non polar, sehingga lipase bekerja pada bagian antar muka antara fasa yang larut dalam air dan fasa minyak dari substratnya (Seniwati *et al.*, 2010). Aktivasi pada lapisan antar muka dari lipase ini akan meningkat ketika substrat yang tersedia berada dalam bentuk emulsinya. Sebagai akibat dari karakteristik ini, maka kinetika dari lipase tidak mengikuti aturan klasik model Michaelis-Menten. Substrat dan produk yang dihasilkan dari katalitik lipase ini terkadang bersifat tidak dapat larut dengan baik dalam media air. Hal ini membuat enzim dapat dengan mudah dipisahkan dari substrat dan produknya.

Pada umumnya enzim bersifat tidak stabil dalam pelarut organik dan dapat terdenaturasi atau hilang aktifitas katalitiknya. Akan tetapi lipase dapat stabil dan tetap aktif dalam suatu pelarut organik tanpa adanya penambahan senyawa penstabil. Jenis substrat dari lipase juga terkadang tidak dapat larut atau bersifat sedikit larut dalam media air. Karena itu, dalam fenomena seperti ini digunakan suatu pelarut organik atau larutan organik-air sebagai media reaksi. Karena lipase tetap memiliki kemampuan katalitiknya dalam suatu pelarut organik, membuat lipase banyak diaplikasikan dalam bidang bioteknologi (Jaeger *et al.*, 1994).