

Pemanfaatan Ekstrak Enzim Jamur *Humicola* sp. Sebagai Biotermitisida

Utilization of Humicola sp. Enzyme Extract as Biotermiticide

Ikhsan Guswenrivo, Titik Kartika, Didi Tarmadi dan Sulaeman Yusuf

Abstract

Fungal spore can be used for biotermiticide, since it has high pathogen properties and environmentally safe. However, the utilization of enzyme extract of fungi can be developed as an alternative way to minimize the impact caused by the spore when they are used as biotermiticide. This research was done to observe the ability of enzyme extract from *Humicola* sp. The fungus was inoculated in sorghum substrate and grown in it by adding either colloidal chitin or without colloidal chitin to the media as variation of the medium composition. Extraction was done after 3, 5, and 7 days of incubation time. Extract was done by using cold sterilized water (4°C). Then the extract kept it at low temperature (4°C). Bioassay of extract enzyme was done by spraying and baiting method. Result of the bioassay showed, *Humicola* sp enzyme extract was grown from medium adding with colloidal chitin and incubation for 7 days give highest mortality of termite increase to 100% after 14th day observation.

Key words: biotermiticide, pathogen, entomopathogen fungi, enzyme extract.

Pendahuluan

Sebagai salah satu negara dengan biodiversitas sangat besar karena keragaman lingkungan, Indonesia menyediakan banyak sumber isolat mikroba yang memiliki nilai ekonomi penting. Pencarian isolat-isolat yang dapat digunakan dalam industri seperti isolat yang mampu menghasilkan enzim-enzim komersial perlu diupayakan. Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan untuk mengeksplorasi kapasitas metabolisme adalah dengan cara mempelajari gen yang menyandi enzim yang terlibat dalam proses-proses kimiawi khusus (Dawes and Sutherland 1992).

Banyak organisme seperti bakteri, jamur, tumbuhan tingkat tinggi, dan hewan menghasilkan kitinase yang mengkonversi kitin menjadi monomer atau oligomernya. Organisme ini biasanya memiliki beragam gen kitinase yang ekspresinya diinduksi oleh ekstraseluler kitin atau derivatnya. Bakteri memanfaatkan kitinase untuk asimilasi kitin sebagai sumber karbon dan nitrogen. Pada tumbuhan, enzim ini digunakan sebagai pertahanan melawan serangan organisme patogen yang mengandung kitin. Jamur dan serangga menggunakan enzim ini untuk morfogenesis dinding sel dan pembangun ekoskeleton. Mengingat jumlah kitin yang melimpah di alam sebagai komponen penyusun dari berbagai organisme, kitin diproduksi secara komersial secara terus menerus (Domsch *et al.* 1980). Dengan demikian kitin merupakan substrat yang selalu tersedia sehingga sebagian mikroba tanah dan air merupakan pendegradasi kitin yang baik.

Dalam pertumbuhannya, rayap akan mengalami pengelupasan kulit tubuh yang sebagian besar komponen kulitnya terdiri dari komponen kitin. Proses pengelupasan kulit ini akan terus dilakukan oleh rayap sampai tahap dimana permukaan tubuh rayap ini akan

keras (pembentukan kulit terbentuk secara sempurna). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya (Kartika *et al.* 2006), ekstrak kasar jamur atau ekstrak metabolit sekunder menyebabkan mortalitas rayap yang cukup tinggi dibandingkan formula tepung jamur. Metabolisme jamur untuk memanfaatkan substrat atau media tumbuh tergantung pada kemampuan jamur mencerna zat tersebut yang dipengaruhi produksi enzim. Penyerapan nutrisi dipengaruhi oleh aktivitas enzim jamur. Pada dasarnya sintesis enzim tertentu diinduksi akibat ketersediaan nutrisi tertentu di media tumbuhnya walaupun jamur tersebut tidak mempunyai kemampuan mencerna zat tersebut (Moore-Landecker 1996). Berdasarkan landasan inilah dilakukan penambahan kitin (bahan penyusun kulit rayap) pada media tumbuh jamur untuk menginduksi sintesis enzim kitinase yang diduga berperan dalam proses infeksi rayap. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilihat patogenitas ekstrak kasar enzim (ekstrak metabolit sekunder) jamur *Humicola* sp. sehingga dapat dijadikan salah satu alternatif formula biotermitisida serta melihat pengaruh induksi kitin terhadap produksi ekstrak kasar enzim dan tingkat patogenitasnya terhadap rayap tanah *Coptotermes* sp..

Bahan dan Metode

Bahan

Jamur yang digunakan pada penelitian ini adalah jamur *Humicola* sp. yang sudah diperoleh melalui isolasi dan purifikasi pada penelitian sebelumnya. Sebagai media tumbuh jamur banyak digunakan bahan-bahan siap pakai seperti media *Potato Dextro Agar* (PDA), media cair (campuran dari beberapa jenis bahan kimia serta substrat lainnya) dan Sorgum (media fermentasi).

Untuk proses pengerjaan digunakan peralatan yang mendukung proses kegiatan mikrobiologi.

Metode

Revirulensi *Humicola* sp. Proses revirulensi jamur *Humicola* sp. dalam penelitian ini dilakukan dengan beberapa metode revirulensi yaitu dengan menumbuhkan jamur *Humicola* pada tiga jenis media dengan komposisi sebagai berikut:

- Media I : Rayap mati + PDA
- Media II: Ekstrak rayap + buffer pospat + agar murni
- Media III: Rayap mati yang disterilisasi

Media I disiapkan dengan menambahkan rayap yang telah disterilisasi ke dalam media PDA. Media II disiapkan dengan mencampurkan rayap yang telah digerus dengan campuran buffer pospat dan agar murni. Sedangkan media III disiapkan dengan menempatkan rayap yang telah disterilisasi di atas kertas saring lembab di dalam cawan petri. Ketiga jenis media yang digunakan tersebut masing-masing diinokulasi dengan jamur *Humicola* sp. dan diinkubasi pada suhu ruang. Jamur *Humicola* sp. tersebut diharapkan dapat memanfaatkan rayap sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan jamur sehingga terjadi metabolisme menghasilkan senyawa atau enzim-enzim tertentu yang berperan dalam degradasi bahan penyusun tubuh rayap. Proses metabolisme ini diharapkan dapat mengembalikan kemampuan virulensi atau patogen jamur terhadap rayap sebagai inangnya. Setelah diinkubasi, jamur yang tumbuh dipindahkan ke tabung reaksi untuk selanjutnya digunakan sebagai sumber isolat. Selanjutnya, jamur yang diperoleh dari tiga metode revirulensi tersebut diujikan ke rayap tanah *Coptotermes* sp. untuk mengetahui kemampuan patogenitasnya setelah proses revirulensi.

Produksi Metabolit Sekunder. Jamur *Humicola* sp. hasil selekti revirulensi ditumbuhkan pada media agar miring PDA, kemudian diinkubasi pada kondisi ruang selama 7 hari. Setelah 7 hari massa inkubasi, jamur ini diinokulasikan ke dalam media cair. Di dalam media cair ini jamur di inkubasi selama 5 hari sambil di *shaker* dengan kecepatan 100 rpm. Pada akhir masa inkubasi, jamur *Humicola* sp. diinokulasikan ke dalam media fermentasi (Sorgum). Media fermentasi dibuat dengan 2 jenis perlakuan, yaitu dengan penambahan kitin dan tanpa penambahan kitin. Jamur ini kemudian diinkubasi pada kondisi ruang selama 3, 5, dan 7 hari.

Ekstrak Metabolit Sekunder. Ekstraksi dilakukan dengan menambahkan air steril dingin ke dalam media Sorgum yang dikolonisasi oleh jamur. Ada dua jenis media yang digunakan, yaitu media padat Sorgum dengan dan tanpa penambahan kitin. Hal ini berguna untuk melihat pengaruh kitin, yang merupakan salah satu komponen penyusun tubuh rayap, terhadap kemampuan

infeksi jamur *Humicola* sp. Selanjutnya media tersebut didiamkan selama ± 2 jam pada temperatur 4°C supaya terjadi proses ekstraksi. Setelah didiamkan ± 2 jam, dilakukan penyaringan untuk memisahkan padatan dan larutan. Penyaringan dilakukan dengan menggunakan kain kasa dan kertas saring, selanjutnya diperoleh ekstrak kasar metabolit sekunder. Ekstrak kasar metabolit sekunder ini kemudian diumpankan kepada rayap tanah *Coptotermes* sp.

Bioassay

Metode Kontak (*Spraying*). Sebanyak 50 ekor rayap pekerja *Coptotermes* sp. (untuk satu unit percobaan) disemprot dengan ekstrak enzim kasar sampai membasahi seluruh permukaan tubuh rayap. Selanjutnya, rayap yang telah disemprot dengan ekstrak enzim kasar tersebut dipindahkan ke dalam cawan petri berdiameter 5 cm yang telah diberi kertas saring basah sebagai bahan makanan rayap. Lalu cawan petri tersebut disimpan di tempat gelap pada suhu ruang dengan kelembaban $\pm 95\%$ selama 14 hari pengamatan. Pengamatan mortalitas rayap dilakukan dalam interval waktu 2 hari sekali dengan pengulangan 3~5 kali.

Metode Pengumpanan (*Baiting*). Metode ini dilakukan dengan cara memberi makan rayap dengan umpan yang telah diberi perlakuan. Dalam penelitian ini, umpan makan yang digunakan adalah *paper disc* yang telah ditambah dengan ekstrak enzim kasar jamur. Selanjutnya *paper disc* tersebut diumpankan ke rayap. Sebanyak 50 ekor rayap pekerja diumpankan dengan *paper disc* diameter 5 mm (untuk satu unit percobaan) dalam cawan petri berdiameter 5 cm. Selanjutnya unit percobaan ini disimpan di tempat gelap pada suhu ruang dan kelembaban $\pm 95\%$ selama 14 hari pengamatan. Pengamatan mortalitas rayap dilakukan dalam interval waktu 2 hari sekali dengan pengulangan 3~5 kali.

Hasil dan Pembahasan

Jamur yang ditumbuhkan pada media artifisial, dalam artian bukan di tempat hidup alaminya, cenderung mengalami perubahan karakter secara perlahan, antara lain adalah kemampuan infeksi atau patogenitasnya terhadap inang. Dengan demikian untuk mengatasi permasalahan ini, perlu dilakukan revirulensi jamur. Pengamatan jamur *Humicola* sp. hasil revirulensi tidak berdasarkan produksi konidianya tetapi langsung diujikan terhadap rayap tanah *Coptotermes* sp. Hal ini bertujuan untuk melihat kemampuan jamur infeksi setelah melalui proses revirulensi. Revirulensi jamur berarti upaya mengembalikan virulensi atau patogenitas jamur yang berkorelasi dengan kemampuan infeksi jamur terhadap inang. Biasanya revirulensi jamur dilakukan dengan mengembalikan jamur ke habitat asli, namun dalam penelitian ini jamur *Humicola* sp. tidak

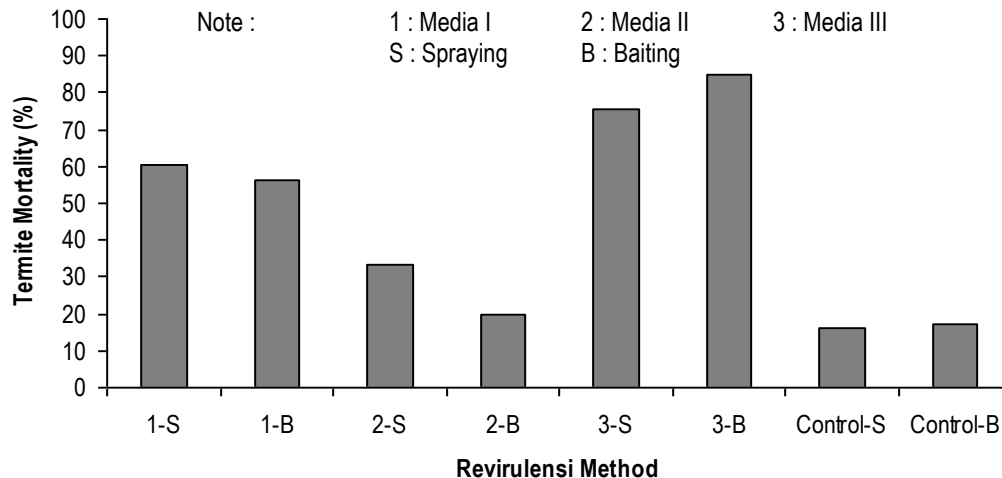


Figure 1. Bioassay of *Humicola* sp. to *Coptotermes* sp. after 14th day observation.

dikembalikan ke habitat asli tetapi ke dalam media tumbuhnya ditambahkan bahan rayap sehingga dapat memicu produksi enzim atau metabolit sekunder tertentu yang berperan dalam mekanisme infeksi. Hasil pengamatan mortalitas rayap ditunjukkan pada Gambar 1.

Hasil pengujian jamur yang telah direvirulensi dengan 3 metode menunjukkan hasil mortalitas rayap yang bervariasi (Gambar 1). Mortalitas rayap paling tinggi ditunjukkan oleh metode revirulensi 3, yaitu revirulensi dengan rayap yang telah disterilisasi di atas kertas saring lembab di dalam cawan petri. Selanjutnya diikuti oleh metode revirulensi 1 dan 2. Perbedaan yang menyebabkan tingginya mortalitas rayap metode 3 dibandingkan 2 metode lainnya adalah pada metode 3 kemungkinan jamur hanya memanfaatkan rayap sebagai satu-satunya sumber karbon dan nutrisi lainnya. Dalam siklus hidupnya, jamur berinteraksi langsung dengan nutrisi. Molekul-molekul kecil seperti gula sederhana dan asam amino terlarut dapat diabsorpsi langsung oleh hifa, sedangkan polimer yang tidak larut, seperti selulosa, pati, dan protein, harus melewati tahap digesti sebelum dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi jamur (Moore-Landecker 1996). Sebelum molekul besar diabsorpsi jamur, enzim ekstraseluler diproduksi oleh jamur sebagai tahapan awal dalam sistem pencernaan. Enzim ekstraseluler ini berperan untuk mengontrol reaksi hidrolisis yang bekerja memecah molekul besar menjadi molekul kecil.

Kemampuan jamur untuk memanfaatkan molekul besar pada dasarnya tergantung pada jenis enzim yang diproduksi jamur tersebut. Karakter jamur memiliki sejumlah besar enzim, namun umumnya enzim-enzim tersebut bersifat tidak aktif hingga jamur melakukan kontak langsung dengan substrat yang dapat merangsang kerja enzim tersebut (Moore-Landecker 1996). Dalam penelitian ini, metode revirulensi 3

memungkinkan jamur *Humicola* sp. memanfaatkan rayap sebagai substrat tumbuhnya. Dalam siklus hidupnya, jamur dapat tumbuh pada suatu substrat apabila enzim yang sesuai dengan komponen penyusun substrat dihasilkan oleh jamur tersebut. Dengan demikian, apabila jamur *Humicola* sp. dapat tumbuh pada substrat rayap maka diasumsikan jamur tersebut menghasilkan enzim yang berperan dalam proses degradasi rayap. Oleh karena itu, pemanfaatan rayap sebagai satu-satunya sumber nutrisi diharapkan dapat menstimulasi produksi enzim ekstraseluler, seperti kitinase dan protease, dengan jumlah yang lebih besar dibanding substrat yang heterogen. Dengan demikian, mengembalikan jamur pada bahan alami, seperti rayap, dapat memunculkan kembali sifat-sifat alami jamur sehingga dapat mendegradasi rayap sebagai sumber nutrisinya.

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan tanaman dan mikroba, dalam hal ini adalah mikroba, seperti antibiotik dan lain sebagainya yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme (Lawrence 1995). Metabolit sekunder biasanya terbentuk setelah metabolisme primer atau fase pertumbuhan selesai.

Senyawa yang dihasilkan biasanya memiliki fungsi khusus yang tidak berhubungan dengan pertumbuhan organisme, misalnya vitamin sebagai koenzim dan hormon yang terlibat dalam reproduksi seksual jamur. Ekstraksi metabolit sekunder jamur dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metabolit sekunder jamur *Humicola* sp. terhadap rayap tanah *Coptotermes* sp. Hasil pengujian ekstrak metabolit kasar jamur *Humicola* sp. terhadap rayap tanah dapat dilihat di Gambar 2.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa mortalitas rayap relatif lebih tinggi dengan aplikasi metode *spraying* (Gambar 2). Lamanya waktu inkubasi jamur ternyata mempengaruhi tingkat mortalitas rayap. Pada kedua metode aplikasi pengujian tersebut di atas, waktu

inkubasi 7 hari dapat menyebabkan mortalitas yang relatif lebih tinggi dibandingkan dua waktu inkubasi lain (3 dan 5 hari) walaupun dengan perbedaannya tidak jauh berbeda terutama pada metode *baiting*. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh pengaruh produksi metabolit sekunder yang berperan dalam proses infeksi inang. Produksi metabolit sekunder jamur akan terakumulasi pada kondisi waktu tertentu. Seperti halnya pada pertumbuhan jamur, metabolit sekunder diproduksi jamur terus menerus sampai titik maksimum kemudian akan mengalami penurunan hingga ke titik nol. Oleh karena itu perlu diketahui waktu yang tepat untuk produksi metabolit sekunder optimum sehingga dapat diterapkan strategi pemanenan yang tepat.

Gambar 3 di atas merupakan hasil pengujian ekstrak kasar metabolit sekunder jamur *Humicola* sp.

tanpa penambahan kitin. Hasil pengujian menunjukkan bahwa kedua metode aplikasi (*spraying* dan *baiting*) tidak menunjukkan perbedaan yang cukup berarti. Pengaruh waktu inkubasi tidak terlalu berpengaruh terhadap tingkat mortalitas rayap. Berbeda halnya dengan ekstrak metabolit sekunder yang diperoleh dari ekstraksi media dengan penambahan kitin. Selain itu pengaruh kedua macam hasil ekstraksi (dengan dan tanpa penambahan kitin) juga berbeda. Ekstraksi metabolit sekunder dari media dengan penambahan kitin menyebabkan kematian rayap yang lebih tinggi dibandingkan ekstraksi dari media tanpa penambahan kitin. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan kitin memberi pengaruh terhadap pertumbuhan jamur dan metabolisme sekunder. Metabolisme jamur untuk memanfaatkan substrat atau

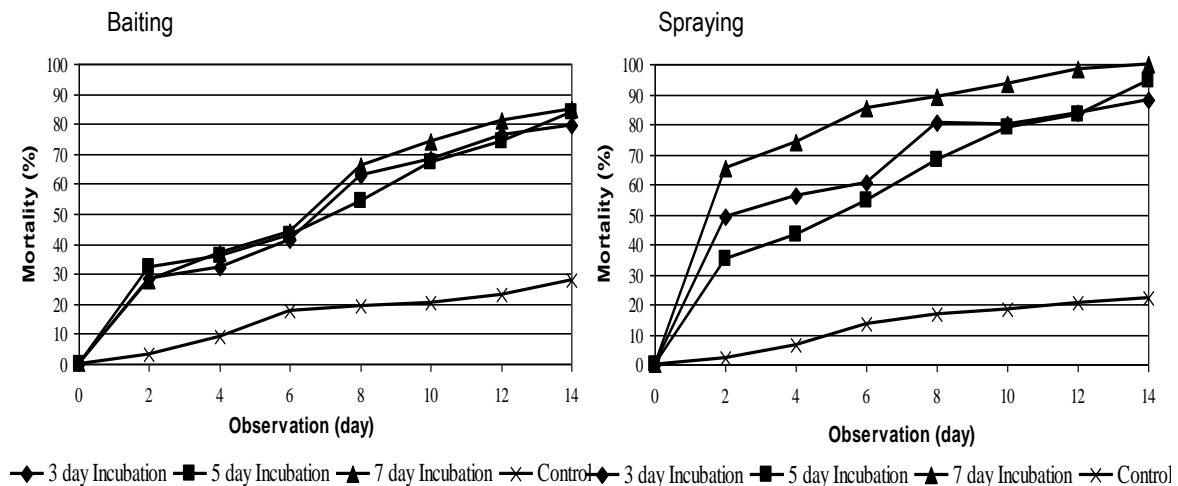


Figure 2. Bioassay of secondary metabolite extract *Humicola* sp. adding with colloidal chitin to medium.

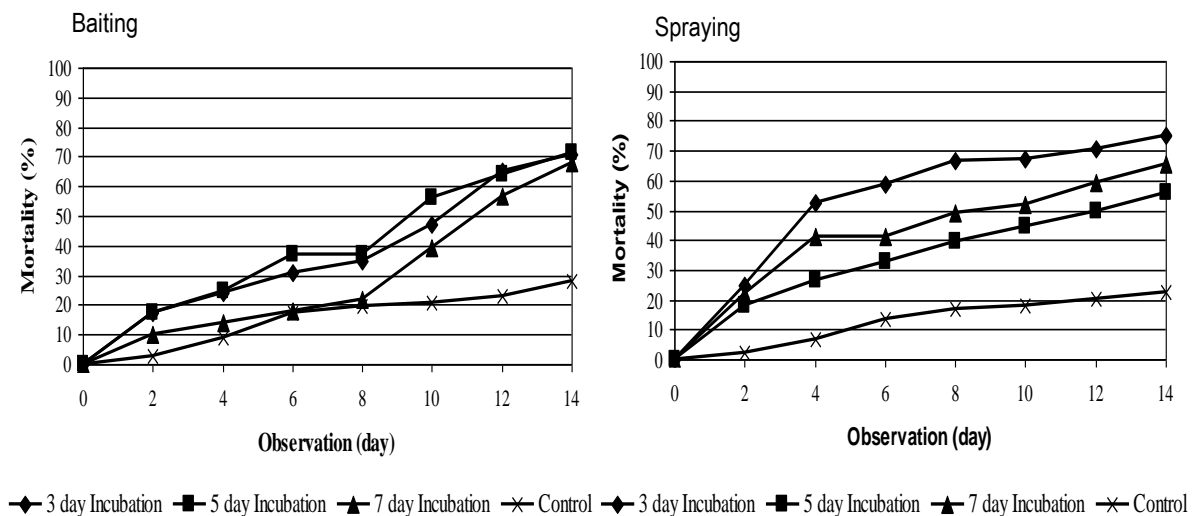


Figure 3. Bioassay of secondary metabolite extract *Humicola* sp. without adding colloidal chitin to medium.

media tumbuh tergantung pada kemampuan jamur mencerna zat tersebut yang dipengaruhi produksi enzim. Penyerapan nutrisi dipengaruhi oleh aktivitas enzim jamur. Pada dasarnya sintesis enzim tertentu diinduksi akibat ketersediaan nutrisi tertentu di media tumbuhnya walaupun jamur tersebut tidak mempunyai kemampuan mencerna zat tersebut (Moore-Landecker 1996). Berdasarkan landasan inilah dilakukan penambahan kitin (bahan penyusun kulit rayap) pada media tumbuh jamur untuk menginduksi sintesis enzim kitinase yang diduga berperan dalam proses infeksi rayap. Ternyata hasil penelitian ini menunjukkan hasil yang sesuai dengan hipotesis, yaitu penambahan kitin pada media tumbuh jamur akan menginduksi sintesis enzim pendegradasi kitin sehingga dapat menyebabkan mortalitas rayap yang lebih besar dibanding media tanpa penambahan kitin. Dengan demikian jamur yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan kitin akan beradaptasi dengan kondisi tersebut sehingga pada saat diujikan terhadap rayap, jamur diduga akan mensintesis enzim lebih awal dalam jumlah yang cukup untuk menginfeksi inangnya.

Kesimpulan

Metode revirulensi 3 (rayap mati disterilisasi) memungkinkan jamur *Humicola* sp. dapat memunculkan kembali sifat-sifat alami jamur sehingga dapat mendegradasi rayap sebagai sumber nutrisinya. Penambahan kitin pada media tumbuh jamur akan menginduksi sintesis enzim pendegradasi kitin sehingga dapat menyebabkan mortalitas rayap yang lebih besar. Ekstrak metabolit jamur *Humicola* yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan kitin dan inkubasi selama 7 hari, mampu memberikan mortalitas rayap mencapai 100% pada pengamatan hari ke-14.

Daftar Pustaka

- Dawes, I.W.; I.W. Sutherland. 1992. Microbial Physiology. Second Edition. London: Blackwell Scientific Publication.
- Domsch, K.H.; W. Gams; T.H. Anderson. 1980. Compendium of Soil Fungi. Volume 1. London: Academic Press.
- Kartika, T.; S. Yusuf; E. Sukara; I. Guswenrivo; A.H. Prianto; D. Tarmadi. 2006. Pengembangan Formula Bahan Infeksi Cendawan Sebagai Alternatif Biokontrol Rayap Tanah *Coptotermes* sp. Prosiding Masyarakat Peneliti Kayu Indonesia IX. Banjarbaru, 13-15 Agustus 2006.
- Lawrence, E. 1995. Henderson's Dictionary of Biological Terms. 11st Edition. England: Longman Scientific & Technical.
- Moore-Landecker, E. 1996. Fundamentals of the Fungi. New Jersey, USA: Prentice-Hall, Inc.

Makalah masuk (*received*) : 29 Nopember 2007
Diterima (*accepted*) : 23 Januari 2008
Revisi terakhir (*final revision*) : 14 Maret 2008

Ikhsan Guswenrivo, Titik Kartika, Didi Tarmadi,
dan Sulaeman Yusuf
UPT Balai Litbang Biomaterial
(*Research and Development Unit for Biomaterials*)
Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
(*Indonesian Institute of Sciences*)
Jl. Raya Bogor Km.46, Cibinong, Bogor 16911.
Tel : 62-21-87914511
Fax : 62-21-87914510
E-mail : ikhsan_gr@yahoo.com