

## Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Kapang Kitinolitik yang Diisolasi dari Tanah Pembuangan Limbah Udang dan Rizosfer Solanaceae

### Selection and Identification of Chitinolytic Fungi Isolated from Shrimp Waste Soil and Solanaceae Rhizosphere

Nur Khikmah<sup>1\*</sup>, Sebastian Margino<sup>2</sup>, dan Rina Sri Kasiamdari<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Akademi Analisis Kesehatan Manggala, Yogyakarta

<sup>2</sup>Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

<sup>3</sup>Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Email: khikmahnr@gmail.com \*Penulis untuk korespondensi

#### Abstract

Chitinolytic fungi have been reported to be capable of degradation of chitin by secreting chitinase enzymes. The aim of the research was to obtain indigenous chitinolytic fungi that can produce high chitinase enzymes. The isolation of fungi was done using a spread plate method on colloidal chitin agar. Qualitative selection was based on chitinolytic index by comparing clear zone diameter with colony diameter. Quantitative selection based on specific activity of chitinase was measured on substrates reduction of colloidal chitin by spectrophotometric method. The results were found 70 isolates of chitinolytic fungi. Eighteen among 70 isolates had chitinolytic index  $\geq 2,00$ . Based on quantitative selection, it showed that 10 isolates had higher chitinase specific activity than *Trichoderma viride* FNCC 6128 as reference isolate (210.14 U/mg). KUP2 isolate had the highest chitinase specific activity 744.20 U/mg. KUP2 isolate was identified as *Trichoderma* sp.

**Keywords:** chitinolytic fungi, chitinase activity, biological control

#### Abstrak

Kapang kitinolitik mampu mendegradasi kitin dengan mensekresikan enzim kitinase. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan kapang kitinolitik *indigenous* yang unggul dalam menghasilkan enzim kitinase. Isolasi kapang dilakukan dengan metode *spread plate* pada *colloidal chitin agar*. Seleksi kualitatif isolat berdasarkan indeks kitinolitik yang diperoleh dengan membagi diameter zona jernih di sekeliling koloni dengan diameter koloni. Seleksi kuantitatif berdasarkan aktivitas spesifik kitinase yang diukur berdasarkan pengurangan substrat koloidal kitin menggunakan metode spektrofotometer. Hasil isolasi memperoleh 70 (tujuh puluh) isolat kapang kitinolitik. Delapan belas isolat dari 70 isolat kapang kitinolitik mempunyai indeks kitinolitik  $\geq 2,00$ . Berdasarkan seleksi kuantitatif diperoleh 10 (sepuluh) isolat yang mempunyai aktivitas enzim kitinase lebih tinggi daripada aktivitas enzim kitinase *Trichoderma viride* FNCC 6128 (210,14 U/mg) yang digunakan sebagai isolat acuan. Isolat KUP2 mempunyai aktivitas spesifik kitinase tertinggi 744,20 U/mg. Isolat KUP2 teridentifikasi sebagai *Trichoderma* sp.

**Kata kunci:** kapang kitinolitik, aktivitas kitinase, pengendalian hayati

Diterima: 24 Agustus 2015, disetujui: 01 September 2015

## Pendahuluan

Kapang kitinolitik merupakan kapang yang mampu menghasilkan enzim kitinase. Kitinase termasuk kelompok enzim hidrolase yang dapat mendegradasi kitin secara langsung menjadi produk bermolekul kecil secara intra

maupun ekstraseluler secara acak dari dalam (endokitinase) atau dari ujung nonreduksi molekul kitin. Hasil degradasi kitin berupa oligosakarida kitin, yaitu diasetilkitobiosa dan N-asetilglukosamin (Bielka dkk., 1984).

Beberapa kapang yang telah dilaporkan mempunyai kemampuan menghasilkan enzim kitinase antara lain *Trichoderma harzianum*

(Harman dkk., 1993, Wijaya, 2002), *T. reesei* (Harjono dan Widyastuti, 2001), *T. atroviride* PTCC5220 (Harigi dkk., 2007), *Verticillium lecanii* (Liu dkk., 2003), *Scleroderma columnare* (Wijaya, 2002), *Penicillium aculeatum* NRRL 2129 (Binod dkk., 2005), *Trichothecium roseum* (Li dkk., 2004), *Talaromyces flavus* (Duo-Chuan dkk., 2005).

Enzim kitinase saat ini banyak digunakan sebagai senyawa pengendalian hayati atau biokontrol karena dapat mendegradasi kitin menjadi produk yang ramah lingkungan dan dapat digunakan dalam bidang kesehatan, pangan, dan industri (Herdyastuti dkk., 2009). Kitinase dalam bidang pertanian dimanfaatkan sebagai senyawa anticendawan, nematosida dan biopestisida. Aktivitas kitinase bersama dengan endo- $\beta$ -1,3-glukanase *T. harzianum* telah terbukti dapat mengendalikan *Sclerotium rolfsii* yang merupakan kapang fitopatogenik pada tanaman kacang tanah (El-Katatny dkk., 2000). Endokitinase (CHI43) dan protease *Verticillium chlamydosporium* dan *V. suchlasporium* dapat merusak kulit telur nematoda sista putih, *Globodera pallida*. Kulit telur nematoda tersebut memiliki lapisan kitin dan vitelin (protein), sehingga telur dapat pecah atau menetas prematur oleh enzim kitinase dan protease (Tikhonov dkk., 2002). Kitinase juga dapat berperan dalam bidang kesehatan, yaitu *Metharrizium anisopliae* mematikan larva nyamuk *Aedes aegyptii* instar 2 (Yasmin dan Fitri, 2010). Kitinase juga sebagai senyawa biokonversi limbah kitin menjadi protein sel tunggal atau senyawa turunannya (Rattanakit dkk., 2002).

Keberadaan kapang kitinolitik di tanah dapat diperoleh dengan cara menyemai dalam medium yang mengandung kitin. Kemampuan kapang dalam mendegradasi kitin dapat dideteksi dengan adanya zona jernih di sekitar koloni kapang. Strategi skrining atau seleksi sangat membantu kapang penghasil enzim kitinase. Aktivitas kitinase yang dihasilkan oleh kapang merupakan parameter yang digunakan dalam seleksi kapang kitinolitik, yang dapat ditentukan secara kualitatif maupun kuantitatif (El-Tarabily dkk., 2004).

Penelitian ini bertujuan mendapatkan isolat kapang kitinolitik *indigenous* yang unggul dalam menghasilkan enzim kitinase. Hasil yang

diperoleh digunakan sebagai dasar pemilihan isolat yang akan digunakan sebagai organisme pengendalian hayati.

## Metode Penelitian

### Isolasi Kapang Kitinolitik

Isolasi kapang berasal dari tanah pembuangan limbah udang, limbah kulit kepiting dan rizosfer Solanaceae. Tanah limbah udang diambil dari Sidoarjo, Kebumen, Makasar, Bantul dan Cilacap. Tanah rizosfer Solanaceae diambil dari rizosfer tanaman cabai di Magelang, tanaman tomat di Yogyakarta dan tanaman kentang di Malang dan Wobosobo. Isolasi kapang kitinolitik dilakukan menggunakan metode *spread plate* pada *Colloidal Chitin Agar* (CCA), kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C. Komposisi CCA adalah 0,7 g  $K_2HPO_4$ , 0,3 g  $KH_2PO_4$ , 0,5 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,01 g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,001 g  $ZnSO_4$ , 0,001 g  $MnCl_2$ , 0,2% (b/v) koloidal kitin, 20 g agar dan 1000 mL akuades (Hsu dan Lockwood, 1975).

Koloidal kitin dipreparasi menurut metode Vessey dan Pegg (1973). Koloni yang tumbuh dan membentuk zona jernih di sekitar koloni merupakan isolat kapang kitinolitik. Isolat kitinolitik yang digunakan sebagai acuan dalam penelitian ini adalah *T. viride* FNCC 6128 yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta.

### Seleksi Isolat

Isolat kapang kitinolitik diseleksi berdasarkan aktivitas enzim kitinase secara kualitatif dan kuantitatif (El-Tarabily dkk., 2004). Seleksi isolat secara kualitatif dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat kapang pada CCA. Aktivitas enzim secara kualitatif ditentukan berdasarkan nilai indeks kitinolitik, yang diperoleh dengan membagi diameter zona jernih di sekeliling koloni dengan diameter koloni. Pengamatan dilakukan setelah isolat diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C. Isolat kapang dipilih secara kualitatif, kemudian diseleksi secara kuantitatif berdasarkan aktivitas spesifik enzim (aktivitas enzim per mg protein).

### Produksi Enzim

Isolat terpilih dari hasil seleksi kualitatif diinokulasikan ke dalam 20 mL medium produksi enzim (0,7 g  $K_2HPO_4$ , 0,3 g  $KH_2PO_4$ , 0,5 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,01 g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,001 g  $ZnSO_4$ , 0,001 g  $MnCl_2$ , 0,2% (b/v) koloidal kitin dan 5% (v/v) spora) dengan pH 5,5 dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C dikocok dengan *shaker* pada kecepatan 150 *rotary per minute* (rpm). Enzim dipanen dengan cara mensentrifus medium produksi dengan kecepatan 3000 rpm, suhu 4°C selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh merupakan enzim kitinase kasar dan digunakan untuk pengukuran aktivitas enzim dan kadar protein total (Singh dkk., 1999).

### Pengukuran Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim diukur menggunakan metode turbidimetri (Harman dkk., 1993), yaitu berdasarkan pengurangan kekeruhan koloidal kitin pada serapan panjang gelombang 510 nm dibandingkan dengan kontrol (larutan koloidal kitin tanpa enzim).

### Penentuan Kadar Protein Total

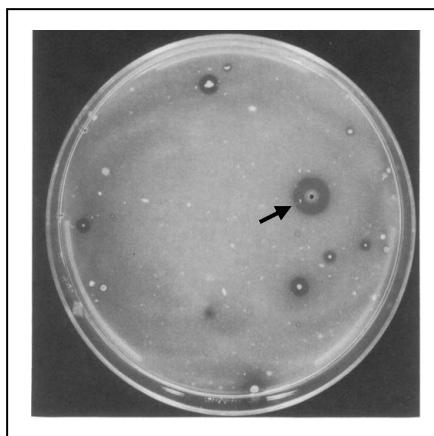
Kandungan protein total diukur menurut metode Bradford (1976) menggunakan bovin serum albumin sebagai standar.

### Identifikasi Kapang Kitinolitik

Isolat kapang terpilih diidentifikasi berdasarkan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis mengacu pada *Introduction to Food- and Airborne Fungi* (Samson dkk., 2004), *Compendium of Soil Fungi* (Domsch dkk., 1980), dan *Introductory Mycology* (Alexopoulos dkk., 1996).

### Hasil dan Pembahasan

Isolasi kapang penghasil kitinase menghasilkan 70 isolat (Data tidak ditunjukkan). Isolat-isolat tersebut mempunyai aktivitas kitinase yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih di sekeliling koloninya pada *colloidal chitin agar* (Gambar 1). Kitinase yang dihasilkan oleh isolat kapang dapat menguraikan kitin yang terdapat pada medium agar, sehingga medium yang berada di sekeliling koloni menjadi jernih. Park dkk., (2000), menyatakan bahwa adanya zona jernih di sekitar koloni setelah waktu inkubasi tertentu, membuktikan bahwa mikroba tersebut mampu menghasilkan kitinase. Menurut Wijaya (2002), kitinase merupakan metabolit yang tidak berwarna, sehingga untuk mengetahui produksi kitinase dari kapang dapat dilihat dari warna medium menjadi lebih transparan.



**Gambar 1.** Pertumbuhan kapang penghasil kitinase pada *colloidal chitin agar*. Zona jernih ditunjukkan dengan tanda panah.

*Colloidal chitin agar* merupakan medium selektif untuk mengisolasi mikroba kitinolitik dengan kitin sebagai satu-satunya sumber karbon dan nitrogen untuk pertumbuhannya (Hsu dan Lockwood, 1975). Penggunaan koloidal kitin sebagai substrat sangat efektif untuk menentukan aktivitas kitinase. *Trichoderma reesei* menunjukkan aktivitas spesifik endokitinase yang tinggi terhadap koloidal kitin dibandingkan dengan 1% *crab shell kitin* (Harjono dan Widayastuti, 2001), demikian juga aktivitas kitinase *Aspergillus* sp. S1-13 (Rattanakit dkk., 2002). Penggunaan 0,2% koloidal kitin menghasilkan aktivitas kitinase yang optimum pada *Streptomyces* Rkt5 (Yurnaliza dkk., 2008). Hal ini dikarenakan koloidal kitin merupakan kitin yang sudah dihidrolisis dengan asam pekat yang menyebabkan komponen lemak dan protein dikeluarkan dari kitin, sehingga memudahkan hidrolisis oleh enzim kitinase yang dihasilkan oleh kapang kitinolitik (Suraini dkk., 2008).

Tujuh puluh isolat hasil isolasi kemudian diseleksi secara kualitatif dan hasilnya diperoleh 18 isolat dengan indeks kitinolitik  $\geq 2,00$  (Tabel 1). Isolat yang berasal dari tanah pembuangan limbah udang dan limbah kulit udang mempunyai indeks kitinolitik lebih tinggi dibandingkan dengan isolat yang berasal dari rizosfer Solanaceae. Isolat LKK1 yang diisolasi dari limbah cangkang kepiting mempunyai indeks kitinolitik tertinggi yaitu 2,87.

Asal isolat memengaruhi aktivitas enzim kitinase. Isolat yang berasal dari tanah pembuangan limbah udang dan limbah kulit udang telah terbiasa tumbuh pada substrat yang mengandung kitin dibandingkan dengan isolat yang berasal dari rizosfer Solanaceae. Akibatnya kemampuan isolat dalam menghidrolisis kitin yang terdapat dalam medium *colloidal chitin agar* berbeda, sehingga menghasilkan aktivitas kitinase yang berbeda. Perbedaan aktivitas kitinase tersebut terlihat dari adanya perbedaan indeks kitinolitik pada masing-masing isolat. Hasil penelitian Wahyudi dan Suwahyono (2003), isolat *Beauveria bassiana* BbW<sub>1-1</sub> yang diisolasi dari lalat *Liriomyza* sp. mempunyai aktivitas kitinase yang lebih tinggi dibandingkan dengan *B. bassiana* Bb10<sup>B</sup> yang diisolasi dari tanah. Isolat *Beauveria bassiana* BbW<sub>1-1</sub> telah terbiasa tumbuh pada lalat yang mengandung kitin pada eksoskeletonnya

dibandingkan dengan *B. bassiana* Bb10<sup>B</sup> yang diisolasi dari tanah. Akibatnya pertumbuhan kedua isolat pada medium yang komposisi dan konsentrasi substratnya sama menjadi berbeda.

Delapan belas isolat hasil seleksi kualitatif selanjutnya diseleksi secara kuantitatif dengan menumbuhkannya pada medium kitin cair. Hasil seleksi kuantitatif terhadap 18 isolat menghasilkan 10 isolat yang mempunyai aktivitas spesifik kitinase  $\geq 200$  U/mg (Tabel 2).

Hasil seleksi kuantitatif menunjukkan bahwa isolat yang mempunyai indeks kitinolitik tinggi ( $\geq 2$ ) tidak selalu menghasilkan aktivitas spesifik kitinase yang tinggi ( $\geq 400$  U/mg). Isolat LKK1 dengan indeks kitinolitik tertinggi 2,87 mempunyai aktivitas spesifik kitinase 265,96 U/mg. Isolat KUP2 dengan indeks kitinolitik 2,60 menunjukkan aktivitas spesifik tertinggi yaitu 744,20 U/mg. Nilai aktivitas spesifik *crude enzim* isolat KUP2 tersebut lebih besar dibandingkan dengan *Streptomyces* IK yang mempunyai aktivitas spesifik 175,57 U/mg (Nugroho, 2006), *Streptomyces* Rkt5 (Yurnaliza dkk., 2008), *Bacillus* sp. D2 338,70 U/mg (Margino dkk., 2012) dan *T. viride* FNCC 6128 (210,14 U/mg) yang digunakan sebagai isolat acuan dalam penelitian ini. Tetapi lebih kecil apabila dibandingkan dengan aktivitas spesifik dari *Aspergillus* sp. LCUK2 sebesar 4395,72 U/mg (Situmorang dkk., 2008).

Faktor yang diduga menjadi penyebab perbedaan aktivitas enzim pada seleksi kualitatif dan kuantitatif adalah adanya perbedaan penggunaan medium. Medium yang digunakan untuk seleksi kualitatif adalah medium kitin agar, sedangkan pada seleksi kuantitatif digunakan medium kitin cair dengan pengocokan atau agitasi. Adanya pengocokan pada medium menyebabkan kontak isolat dengan substrat akan lebih homogen, fermentasi tidak hanya terjadi di permukaan medium saja tetapi akan terjadi di seluruh bagian medium, sehingga akan mempercepat perombakan substrat kitin oleh isolat kapang. Yamasaki dkk. (1992) dan Wasli dkk., (2006) melaporkan pengocokan atau agitasi mempunyai peranan penting dalam fermentasi oleh kapang untuk percampuran substrat, dapat memengaruhi suplai oksigen dan transfer panas. Hal tersebut akan memengaruhi peningkatan kecepatan kitinase mendegradasi substrat. Hasil penelitian El-

Katany dkk., (2000) menunjukkan bahwa penggunaan pengocokan pada produksi kitinase *T. harzianum* dalam medium kitin cair berpengaruh pada aktivitas kitinase. Pada pengocokan 150 rpm *T. harzianum* mampu menghasilkan aktivitas kitinase tiga kali lebih besar (100%) daripada tanpa penggunaan pengocokan (38,6%). Demikian juga pada penelitian Rattanakit dkk., (2002) aktivitas kitinase *Aspergillus* sp. S1-13 lebih tinggi di medium cair (4,2 U/g) daripada di medium padat (0,52 U/g).

Aktivitas kitinase terlihat dari pengukuran aktivitas selama mendegradasi substrat. Aktivitas kitinase merupakan ukuran jumlah produk yang dihasilkan dari suatu pemecahan

substrat kitin. Tingkat kemurnian suatu enzim ditunjukkan oleh nilai aktivitas spesifiknya (Haliza dan Suhartono, 2012). Pada penelitian ini satu unit aktivitas kitinase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk mereduksi suspensi kitin sebesar 5% (Chernin dkk., 1995). Aktivitas kitinase merupakan salah satu faktor yang menentukan kemampuan isolat kapang kitinolitik dalam mendegradasi substrat kitin. Berdasarkan aktivitas spesifik yang tertinggi 744,20 U/mg, maka isolat KUP2 mempunyai tingkat degradasi kitin dan kemurnian enzim yang lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Dengan demikian isolat KUP2 berpotensi sebagai organisme pengendali hayati.

**Tabel 1.** Indeks kitinolitik isolat kapang kitinolitik.

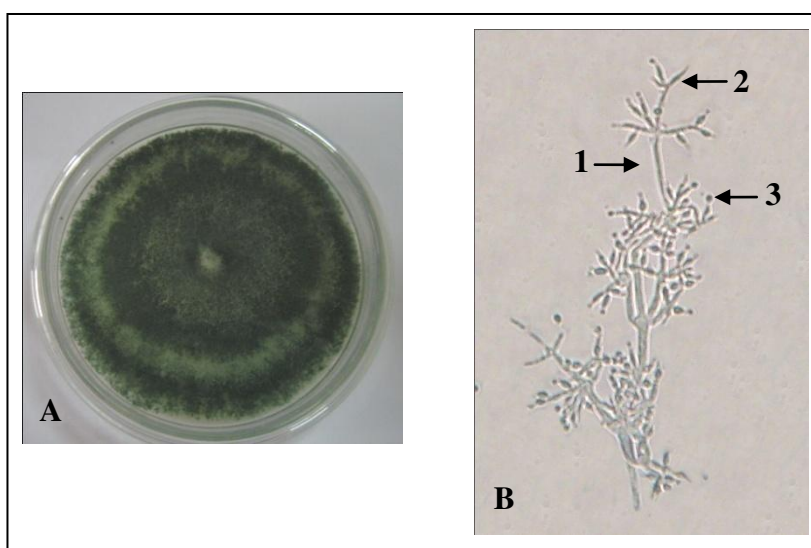
	Asal Isolat	No	Kode Isolat	Indeks Kitinolitik
1.	Tanah limbah udang Sidoarjo	1	KUP2	2,60
		2	KUP5	2,40
2.	Tanah limbah udang Kebumen	3	PIK6	2,50
		4	PIT2	2,40
3.	Tanah limbah udang Makasar	5	PIT3	2,17
		6	PIT4	2,00
		7	PID1	2,13
4.	Tanah limbah udang Bantul	8	PID2	2,46
		9	PIC2	2,41
5.	Tanah limbah udang Cilacap	10	LKK1	2,87
		11	LKK2	2,09
7.	Tanah rizosfer cabai Magelang	12	RTM3	2,08
8.	Tanah rizosfer tomat Yogyakarta	13	RTW1	2,00
9.	Tanah rizosfer kentang Malang	14	RJM2	2,10
		15	RJM5	2,21
		16	RJM6	2,11
10.	Tanah rizosfer kentang Wonosobo	17	RLF1	2,21
		18	RLF3	2,11

**Tabel 2.** Aktivitas spesifik kitinase isolat kapang kitinolitik.

No	Kode Isolat	Kadar protein (mg/mL)	Aktivitas enzim (U/mL)	Aktivitas spesifik (U/mg)
1	KUP2	0,0446	33,1915	744,20
2	KUP5	0,0606	29,5745	488,03
3	PIK6	0,1084	28,9362	266,94
4	PIT2	0,0414	27,7660	670,68
5	PIT4	0,0606	26,9149	444,14
6	PID2	0,0510	28,1915	552,77
7	LKK1	0,1020	27,1277	265,96
8	RTM3	0,0829	32,4468	391,40
9	RTW1	0,0637	28,2979	444,24
10	RJM5	0,1148	26,2766	228,89
11	<i>T. viride</i> FNCC 6128	0,0893	18,7660	210,14

Isolat KUP2 mempunyai karakteristik koloni bertekstur granular, berwarna hijau kebiruan, warna medium dan sebalik koloni (*reverse side*) tidak berwarna (Gambar 2A). Karakteristik morfologi mikroskopisnya adalah hifa bersekat, hialin, konidiofor bercabang seperti piramida dan terdapat fialid pada ujung konidiofor. Fialid berjumlah 2–3 berbentuk seperti botol dengan bagian ujung mengecil. Konidium terdapat pada ujung fialid, berwarna hijau, berbentuk *subglobose* dan berdinding

halus (Gambar 2B). Berdasarkan hasil karakterisasi tersebut dibandingkan dengan isolat acuan *T. viride* FNCC 6128 dan mengacu pada *Introduction to Food- and Airborne Fungi* (Samson dkk., 2004), *Compendium of Soil Fungi* (Domsch dkk., 1980) dan *Introductory Mycology* (Alexopoulos dkk., 1996), maka isolat KUP2 teridentifikasi sebagai *Trichoderma* sp. dengan ciri khas fialid berjumlah 2–3 yang terdapat pada ujung konidiofor.



**Gambar 2.** Koloni isolat KUP2 pada medium *Potato Dextrosa Agar* (PDA) dengan waktu inkubasi 7 hari (A) dan morfologi mikroskopis (B) dengan perbesaran : 40 x 10.  
Keterangan : 1. konidiofor, 2. fialid dan 3. Konidium.

## Simpulan dan Saran

### Simpulan

Isolat kapang kitinolitik yang dapat diisolasi sebanyak tujuh puluh. Isolat KUP2 mempunyai aktivitas spesifik kitinase tertinggi 744,20 U/mg, lebih tinggi daripada *Trichoderma viride* FNCC 6128 (210,14 U/mg) yang digunakan sebagai isolat acuan. Dengan demikian isolat KUP2 dapat direkomendasikan sebagai organisme pengendalian hayati. Isolat KUP2 teridentifikasi sebagai *Trichoderma* sp.

### Saran

Perlu dilakukan optimalisasi produksi enzim kitinase dari *Trichoderma* sp. KUP2.

## Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada tim penelitian kitinase dan protease Program Studi Pascasarjana Bioteknologi dan Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah membantu dalam penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. dan Blackwell, M. 1996. *Introductory Mycology*. John Wiley and Sons Inc, New York. Halaman 243.
- Bielka, H., Dixon, H.B.F., Karlson, P., Liebeeg C., Sharon, N., Van Lenten, F.J., Velix, S.F., Vliegenhart, J.F.G. dan Webb, E.C. 1984. *Enzymes Nomenclature*. Academic Press Inc, New York. Halaman 646.

- Binod, P., Pusztahelyi, T., Nagy, V., Sandhya, C., Szakacs, G., Pocs, I. dan Pandey, A. 2005. Production and Purification of Extracellular Chitinases from *Penicillium aculeatum* NRRL 2129 Under Solid-state Fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*, 36: 880–887.
- Bradford, M.M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principles of Protein Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Chernin, L., Ismailov, Z., Haran, S. dan Chet, I. 1995. Chitinolytic *Enterobacter agglomerans* Antagonistic to Fungal Plant Pathogens. *Applied Environmental Microbiology*, 61 (5): 1720–1726.
- Domsch, K.H., Gams, W. dan Anderson, T.H. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Volume 1. Academic Press, London. Pp. 794-809.
- Duo-Chuan, L.I., Chen, S. dan Jing, L.U. 2005. Purification and Partial Characterization of Two Chitinases from the Mycoparasitic Fungus *Talaromyces flavus*. *Mycopathologia*, 159: 223–229.
- El-Katatny, M.H., Somitsch, W., Robra, K.H., El-Katatny, M.S. dan Gubitz, G.M. 2000. Production of Chitinase and  $\beta$ -1,3-Glucanase by *Trichoderma harzianum* for Control of the Phytopathogenic Fungus *Sclerotium rolfsii*. *Food Technology Biotechnology*, 38 (3): 173–180.
- El-Tarabily, K.A., Al-Kaabi, M.M., Al-Neyadi, S.S., Al-Saadi, N.A., Al-Tayyari, W.A. dan Al-Zahmi, F.A. 2004. Chitinase Producing Microorganisms with the Potential for the Biological Control of Red Palm Weevil. *The Sixth Annual U.A.E. University Research Conference*, United Arab Emirates University: STD-10-STD-19.
- Haliza, W. dan Suhartono, M.T. 2012. Karakterisasi Kitinase dari Mikroba. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*, 8 (1): 1–14.
- Harigi, M.J., Zamani, M.R. dan Motallebi, M. 2007. Evaluation of Antifungal Activity of Purified Chitinase 42 from *Trichoderma atroviride* PTCC5220. *Biotechnology*, 6 (1): 28–33.
- Harman, G.E., Hayes, C.K., Lorito, M., Broadway, R.M., Di Pietro, A., Peterbauer, C. dan Tronsmo, A. 1993. Chitinolytic Enzymes of *Trichoderma harzianum* : Purification of Chitobiosidase and Endochitinase. *Phytopathology*, 83 (3): 31–318.
- Harjono dan Widyastuti, S.M. 2001. Optimasi Produksi Endokitinase dari Jamur Mikoparasit *Trichoderma reesei*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 7 (1): 55–58.
- Herdyastuti, N., Raharjo, T.J., Mudasir dan Matsjeh, S. 2009. Chitinase and Chitinolytic Microorganism : Isolation, Characterization and Potential. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9 (1): 37–47.
- Hsu, S.C. dan Lockwood, J.L. 1975. Powered Chitin Agar as a Selective Medium Enumeration of Actinomycetes in Water and Soil. *Applied Microbiology*, 29 (3): 422–426.
- Li, D., Zhang, S., Liu, K. dan Lu, J. 2004. Purification and Partial Characterization of a Chitinase from the Mycoparasitic Fungus *Trichothecium roseum*. *Journal of General Applied Microbiology*, 50: 35–39.
- Liu, B., Kao, P., Tzeng, Y. dan Feng, K. 2003. Production of Chitinase from *Verticillium lecani* F091 using Submerged Fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*, 33: 410–415.
- Margino, S., Behar, C. dan Asmara, W. 2012. Isolation and Purification of Chitinase *Bacillus* sp. D2 Isolated from Potato Rhizosfer. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 17 (1): 69–78.
- Nugroho, A.J. 2006. Isolasi, Seleksi Aktinomisites Khitinolitik dan karakterisasi Enzim Khitinase. *Tesis*. Program Studi Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Park, S.H., Lee, J. dan Lee, H.K. 2000. Purification and Characterization of Chitinase from a Marine Bacteria, *Vibrio* sp. 98CJ11027. *Journal of Microbiology*, 38 (4): 224–229.
- Rattanakit, N., Plikomol, A., Yano, S., Wakayama, M. dan Tachiki, T. 2002. Utilization of Shrimp Shellfish Waste as A Substrate for Solid State Cultivation of *Aspergillus* sp. S1-13: Evaluation of A Culture Based on Chitinase Formation Which Is Necessary for Chitin Assimilation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 93 (6): 550–556.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S. dan Frisvad, J.C. 2004. *Introduction to Food- and Air Borne Fungi*. Seventh Edition. Centraalbureau Voor Schimmelcultures, The Netherlands. Pp. 260-263.
- Singh, P.P., Shin, Y.C., Park, C.S. dan Chung, Y.R. 1999. Biological Control of *Fusarium* Wilt of Cucumber by Chitinolytic Bacteria. *Phytopathology*, 89 (1): 92–99.
- Situmorang, R.U., Mulyadi, Prana, T.K., Bambang, R.T.P. dan Margino, S. 2008. Jamur Kitinolitik Sebagai Agensia Pengendali Hayati Nematoda Sista Kuning (*Globodera rostochiensis*). *Abstrak*. Di dalam: *Seminar Nasional dan Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*. Pp 203, Abstrak No.P-14. Purwokerto: 22–23 Agustus 2008. Purwokerto: Perhimpunan Mikrobiologi Cabang Purwokerto.

### Seleksi dan Identifikasi Kapang Kitinolitik

- Suraini, A.A., Sin, T.L., Alitheen, N., Shahab, N. dan Kamarudin, K. 2008. Microbial Degradation of Chitin Materials by *Trichoderma virens* UKM1. *Journal of Biology Science*, 8 (1): 52–59.
- Tikhonov, V.E., Lopez-Lorca, L.V., Salinas, J. dan Jansson, H. 2002. Purification and Characterization of Chitinases from the Nematophagus Fungi *Verticillium chlamydosporium* and *V. suchlasporium*. *Fungal Genetics and Biology*, 35: 67–78.
- Vessey, J.C. dan Pegg, G.F. 1973. Autolysis and Chitinase Production in Cultures of *Verticillium albo-atrum*. *Transactions of the British Mycological Society*, 60 (1): 133–134.
- Wahyudi, P. dan Suwahyono, U. 2003. Kajian Potensi Enzim Kitinase kapang Entomopatogen *Beauveria bassiana*. *Laporan Penelitian*. Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Bioindustri, Jakarta.
- Wasli, A.S., Madihah, M.S. dan Rosli, M.I. 2006. Production and Characterization of Crude Chitinase from *Trichoderma virens*. *Petroleum and Natural Resources Process*, 625–630.
- Wijaya, S.K.S. 2002. Isolasi Kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzianum*. *Jurnal Ilmu Dasar*, 3 (1): 30–35.
- Yamasaki, Y., Ohta, Y., Marita, K., Nakagawa, T., Kawamukai, M. dan Matsuda, H. 1992. Isolation, Identification and Effect of Oxygen Supply on Cultivation of Chitin and Chitosan Degradating Bacterium. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 56 (8): 1325–1326
- Yasmin, Y. dan Fitri, L. 2010. The Effect of *Metharrizium anisopliae* Fungi on Mortality of *Aedes aegyptii* Larvae. *Jurnal Natural*, 10 (1): 31–35.
- Yurnaliza, Margino, S. dan Sembiring, L. 2008. Kondisi Optimum untuk Produksi Kitinase dari *Streptomyces Rkt5* dan Karakterisasi pH dan Suhu Enzim. *Biota*, 13 (3): 169–174.