



AGROPROSS

National Conference
Proceedings of Agriculture

Proceedings:

Transformasi Pertanian Digital dalam Mendukung Ketahanan Pangan dan Masa Depan yang Berkelanjutan

Tempat : Politeknik Negeri Jember

Tanggal : 19 Oktober 2022

Publisher :

Agropross, National Conference Proceedings of Agriculture

DOI : [10.25047/agropross.2022.309](https://doi.org/10.25047/agropross.2022.309)

Uji Beberapa Jamur Antagonis Terhadap *Colletotrichum gloeosporioides* Penyebab Penyakit Busuk Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris*) Secara In Vitro

Author(s): Unun Triasih^{(1)*}, Abdul Latief Abadi⁽¹⁾, Anton Muhibbudin⁽¹⁾, Sri Widyaningsih⁽¹⁾

⁽¹⁾Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang

⁽²⁾Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika Badan Litbang Pertanian Kementerian Pertanian

* Corresponding author: ununtriasih82@yahoo.com

ABSTRACT

Colletotrichum Gloeosporioides is one of the pathogenic fungi that causes fruit rot disease in apple plants. The control that has been widely used so far is chemical fungicides which cause negative effects, it is necessary to use an alternative control using antagonistic fungi that is safe and environmentally friendly. This study aims to determine the inhibition of several antagonistic fungi against the growth of the pathogen *C. gloeosporioides*. The method used was a completely randomized design (CRD) with 4 types of antagonist fungi, 1 control and 5 replications. Antagonism test using dual culture method between antagonistic fungi *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viridae*, *Trichoderma koningii*, and *Gliocladium sp.* with *C. gloeosporioides*. The test results showed that the antagonist fungus that had the highest percentage of inhibition against *C. gloeosporioides* was *T. harzianum* at 87.8% and had a high inhibitory power category with a crude extract chitinase enzyme activity value of 4.30 U/mL and *Gliocladium sp.* has the lowest percentage of inhibition 64.3%. Based on these results, it can be concluded that *T. harzianum* has a high potential to control fruit rot disease in apples because it contains the chitinase enzyme which can degrade the cell wall of the pathogenic *C. gloeosporioides*.

Keywords:

pummelo;
mutation;
diversity

Kata Kunci: ABSTRAK

Busuk buah
Apel; enzim
kitinase; jamur
antagonis;
mekanisme
antagonis

Colletotrichum Gloeosporioides merupakan salah satu jamur patogen yang menyebabkan penyakit busuk buah pada tanaman apel. Pengendalian yang selama ini banyak digunakan adalah fungisida kimia yang menyebabkan efek negatif maka perlu alternatif pengendalian menggunakan jamur antagonis yang aman dan ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat beberapa jamur antagonis terhadap pertumbuhan patogen *C.gloeosporioides*. Metode yang digunakan adalah Rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 jenis jamur antagonis, 1 kontrol dan diulang sebanyak 5 ulangan. Uji antagonis menggunakan metode dual culture antara jamur antagonis *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viridae*, *Trichoderma koningii*, dan *Gliocladium sp.* dengan *C.gloeosporioides*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa jamur antagonis yang mempunyai persentase daya hambat tertinggi terhadap *C.gloeosporioides* adalah *T.harzianum* sebesar 87,8 % mempunyai kategori daya hambat tinggi dengan nilai aktivitas enzim kitinase ekstrak kasar sebesar 4,30 U/mL dan *Gliocladium sp.* mempunyai persentase daya hambat terendah 64,3%. Berdasarkan hasil tersebut maka dapat disimpulkan bahwa *T.harzianum* mempunyai potensi yang tinggi untuk mengendalikan penyakit busuk buah pada Apel karena mempunyai kandungan enzim kitinase yang bisa mendegradasi dinding sel patogen *C.gloeosporioides*.



PENDAHULUAN

Apel Manalagi yang dikenal dengan Apel Malang atau Apel Batu merupakan buah yang mempunyai nilai ekonomi tinggi. Namun dalam budidayanya buah apel varietas Manalagi ini rentan terhadap patogen busuk buah yang disebabkan oleh *Colletotrichum gloeosporioides* dibandingkan dengan varietas lainnya. Selain *Penicillium*, *Botrytis* dan *Monilinia*, jamur dari genus *Alternaria*, *Colletotrichum* dan *Fusarium* dikenal sebagai patogen terpenting buah apel (Grahovac et al., 2011). Di daerah Pujon Kabupaten Malang Provinsi Jawa Timur patogen ini menyerang buah mulai dari buah yang masih kecil sampai buah yang siap panen. Pengendalian yang selama ini dilakukan adalah menggunakan pestisida kimiawi yang mempunyai efek buruk baik bagi lingkungan, manusia dan tanaman itu sendiri. Masalah resistensi patogen terhadap banyak fungisida, kurangnya fungisida pengganti dan efek fungisida pada kesehatan manusia dan lingkungan telah mendorong penggunaan fungisida yang terbatas dan kebutuhan untuk menemukan metode alternatif yang efektif, ekonomis dan ramah lingkungan untuk mengendalikan penyakit. Salah satu alternatif pengendalian yang bisa digunakan adalah pengendalian hayati menggunakan jamur antagonis.

Jamur antagonis mempunyai kemampuan dalam menghambat perkembangan patogen dengan berbagai mekanisme, antara lain melalui kompetisi ruang dan nutrisi, antibiosis dengan menghasilkan antibiotik tertentu berupa senyawa kimia yang mudah menguap (volatile) dan tidak menguap (non volatile) (Ajith & Lakshmidhevi, 2010; Vinale et al., 2014) atau lytic enzyme (kitinase, protease, dan glukonase), parasitisme dengan melilit hifa patogen, dan induksi ketahanan tanaman (Agrios, 2005; Pal & Gardener, 2006). Pengendalian biologi menggunakan jamur antagonis diharapkan lebih efektif

dalam mengendalikan busuk buah Apel karena memiliki beberapa kelebihan antara lain Keuntungan pengendalian hayati menurut (Jumar, 2000) adalah bersifat aman karena tidak menyebabkan pencemaran terhadap lingkungan, maupun keracunan terhadap manusia dan hewan, tidak menimbulkan resistensi terhadap hama, musuh alami bekerja selektif terhadap mangsa atau inangnya; dan lebih murah dan dapat bersifat permanen dalam jangka panjang.

Jamur dan bakteri yang dapat dimanfaatkan sebagai agensia hayati diantaranya adalah *P. fluorescens*, *B. subtilis*, *T. yunnanense*, *T. harzianum*, dan *Gliocladium* sp. (Abiodun et al., 2017; Cawoy et al., 2009; Juariyah et al., 2019; Yu et al., 2007) *Trichoderma* spp. adalah jamur saprofit tanah yang secara alami dapat dimanfaatkan sebagai agens hayati, karena memiliki sifat antagonisme terhadap patogen berupa kompetisi ruang dan nutrisi, mikoparasit dan antibiosis. Selain itu jamur *Trichoderma* spp. juga memiliki beberapa kelebihan seperti mudah diisolasi, daya adaptasi luas, mudah ditemukan pada areal pertanaman, dapat tumbuh dengan cepat pada berbagai substrat, memiliki kisaran mikroparasitisme yang luas dan tidak bersifat patogen pada tanaman.

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa isolat *Trichoderma* 9 pada media PDA memiliki potensi terbaik dalam menghambat pertumbuhan *Colletotrichum* sp. sebesar 77,69% (Gusnawaty, 2014). Semakin cepat pertumbuhan koloni jamur maka semakin banyak zat antibiotik yang dihasilkan untuk mendegradasi dinding sel jamur patogen sehingga nilai persentase antagonis lebih tinggi (Hidayat, 2016). Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas empat mikroorganisme jamur antagonis *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viridae*, *Trichoderma koningii* dan *Gliocladium* sebagai antagonis potensial

terhadap patogen penyebab busuk buah apel *Colletotrichum gloeosporioides*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Juni 2021 di Laboratorium Mikologi Balai penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan Petridish, Laminar Air flow (LAF), autoklaf, timbangan analitik. Bahan yang digunakan adalah media Potato Dextrose Agar (PDA), aquades, alkohol, isolat jamur antagonis *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viridae*, *Trichoderma koningii*, dan *Gliocladium sp.* dan isolat patogen *C.gloeosporioides*.

Penyiapan isolat jamur antagonis

Isolat jamur antagonis yang digunakan adalah *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viridae*, *Trichoderma koningii*, dan *Gliocladium sp* merupakan isolat koleksi Laboratorium Mikologi Balitjestro. Masing-masing isolat ditumbuhkan pada medium PDA dan diinkubasi selama 7 hari kemudian digunakan dalam penelitian ini.

Penyiapan isolat patogen busuk buah apel

Jamur patogen yang diuji adalah *C.gloeosporioides* koleksi diambil dari gejala busuk buah pada apel kemudian di bersihkan dahulu dicuci menggunakan air mengalir, kemudian dipotong kecil- kecil 1 cm x 1 cm. Potongan diiris antara bagian yang sakit dengan bagian yang sehat, kemudian disterilisasi menggunakan alkohol 96% dan aquades dan disiolasi di media PDA. Jamur yang tumbuh kemudian dimurnikan dipindah ke media baru kemudian diidentifikasi secara makroskopis, mikroskopis menggunakan

buku identifikasi Burnett dan Hunter (1998).

Uji daya hambat antara jamur antagonis dengan patogen penyebab busuk buah apel

Uji antagonis menggunakan Rancangan acak Lengkap (RAL) dengan 4 jenis jamur antagonis dan patogen *C.gloeosporioides*, 1 kontrol dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Uji antagonis dilakukan menggunakan metode biakan ganda atau dual culture yaitu dengan mengambil masing-masing cendawan biakan murni *C.gloeosporioides* dengan jamur antagonis uji menggunakan cork borer kemudian diinokulasi pada cawan petri yang berisi media PDA secara berhadapan dengan jarak 3 cm. Jamur patogen juga diinokulasi tanpa jamur antagonis yang digunakan sebagai kontrol. Biakan diinokulasi selama 7 hari dan dilakukan pengamatan pertumbuhan jamur patogen dan jamur antagonis dengan mengukur diameter pertumbuhannya. Persentase penghambatan pertumbuhan (percentage growth inhibition-PGI) ditentukan menggunakan rumus Semma dan Devaki (2012):

$$P = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%$$

Keterangan:

P : Persen penghambatan

R1 : jari-jari koloni *Colletotrichum gloeosporioides* pada kontrol

R2 : jari-jari koloni *Colletotrichum gloeosporioides* pada perlakuan

Aktivitas enzim kitinase jamur antagonis

Koloidal media kitin pH 7 dibuat dengan komposisi MgSO₄ 0,15 g, (NH₄)SO₄ 1,5 g, KH₂PO₄ 1 g, asam sitrat 0,5 g, agar 7 g, kitin koloid 5% 40 media produksi dengan pH 7 mengandung PDB 2,4 g, (NH₄)SO₄ 1,5 g, KH₂PO₄ 1 g, ekstrak ragi 1 g, pepton 1 g, MgSO₄.7H₂O

0,15 g, dan NaCl 1 g, kitin koloid 5% 50 mL, disterilkan oleh autoklaf. Total 1500 L cairan jamur antagonis Kultur diinokulasi ke dalam 30 mL produksi kitinase media. kemudian diinkubasi pada suhu 28°– 32°C. Ekstraksi enzim dilakukan dengan sentrifugasi pada 10.000 rpm pada 4°C selama 15 menit (Wirawan & Herdyastuti, 2013). Inkubasi dilakukan menggunakan shaker selama 4 hari di suhu ruang dengan kecepatan 120 rpm kemudian diukur aktivitas enzim kitinasenya. Supernatan yang dihasilkan adalah ekstrak dari enzim kasar kitinase.

Ekstrak enzim supernatan atau kasar 2 mL ditambah 2 mL substrat (b/v) koloid kitin 1% dan buffer fosfat pH 7 dalam tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Sentrifugasi larutan dilakukan selama 15 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Hasilnya supernatan 2 mL ditambah 1 mL dari reagen DNS dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit Campuran didinginkan dan diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang 540 nm dengan N-asetil glukosamin sebagai larutan standar (Nafisah dkk., 2017). Konsentrasi enzim kasar ekstrak ditentukan menggunakan persamaan di larutan kurva standar (Halim et al, 2018).

Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil uji dianalisis menggunakan uji F ANOVA (One Way Anova) apabila hasil menunjukkan berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut Duncan's Multiple Range Test menggunakan program SPSS pada tingkat kepercayaan 95 % ($\alpha=0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran aktivitas ekstrak kasar enzim kitinase jamur antagonis

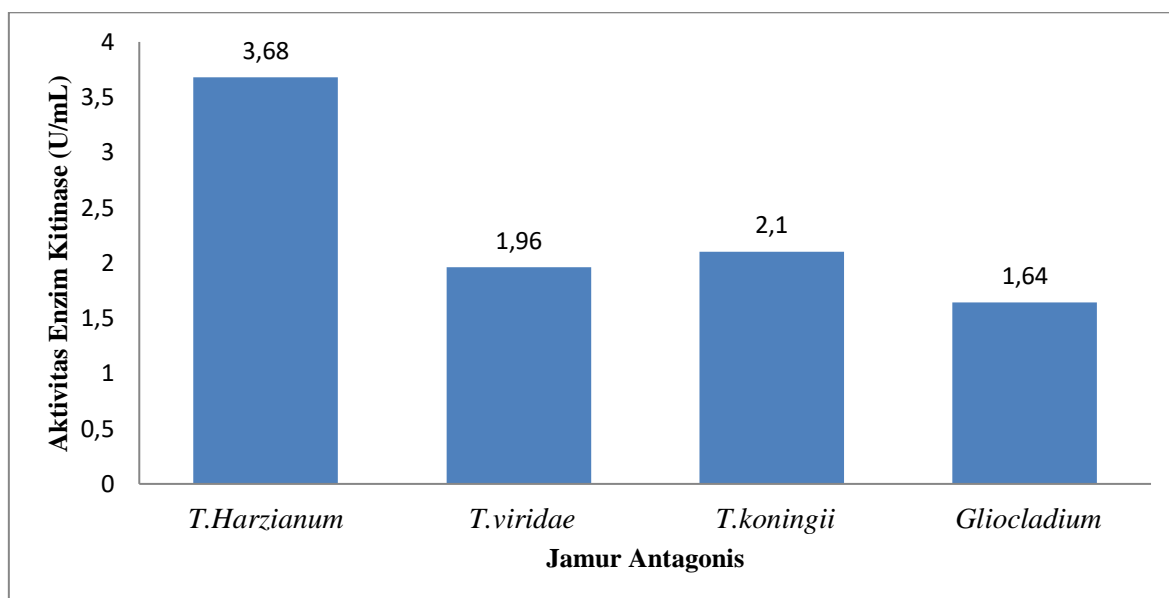
Kitinase merupakan enzim yang mengkatalis degradasi kitin suatu polimer linier tersusun dari monomer β -1,4-N-

asetil-D-glukosamin (NAG). Pengukuran aktivitas enzim kitinase dilaksanakan untuk mengetahui kemampuan enzim kitinase yang dikeluarkan oleh jamur antagonis dalam menurunkan patogen kitin. Berdasarkan hasil pengujian, aktivitas enzim kitinase dinyatakan dalam unit/mL masing-masing jamur antagonis mempunyai kandungan enzim yang berbeda-beda. Isolat *T.harzianum* mempunyai kandungan enzim kitinase tertinggi sebesar 3,68 U/mL dan *Gliocladium* sp. kandungan enzim kitinase terendah yaitu 1,64% (gambar 1). *Trichoderma* sp. W34 A4 asal Raja Ampat -3 diketahui memiliki aktivitas kitinase tertinggi (14.3×10 U/ml) pada media yang mengandung koloidal kitin 1% (Nunuk W dan M.Ilyas, 2012).

Produksi enzim kitinase dari mikroorganisme termasuk jamur antagonis lebih baik dibandingkan dari sumber yang lain karena kemudahannya dalam berkembang biak dalam waktu yang relative singkat. Produksi enzim kitinase dilakukan dengan menumbuhkan isolate pada media yang mengandung kitin sebagai substrat dan diinkubasi pada waktu, pH dan suhu tertentu. Aktivitas enzim kitinase masing-masing jamur antagonis dipengaruhi oleh komposisi media, pH, suhu. Faktor waktu, pH dan suhu inkubasi perlu dikontrol untuk mendapatkan produksi enzim yang maksimal (Kamil et al,2007). Genus *Trichoderma* diketahui mampu memproduksi kompleks enzim multikitinolitik. *Trichoderma viride* TNJ 63 berhasil diisolasi dari tanah perkebunan jeruk dan coklat di daerah Riau dan hasil deteksi menunjukkan adanya tiga tipe kitinase. Endokitinase berhasil dipisahkan dari N-asetil- β - glukosaminidase dan 1,4- β -kitobiosidase melalui dialisis dan gel filtrasi setelah dipekatkan dengan polietilen glikol dan mempunyai pH dan suhu optimum berturut-turut 5,5 dan 30°C (Nugroho, 2003).. Usukizysme adalah

enzim komersial dari *T.viride* yang telah dimurnikan dengan DEAE Sepharose CL-6B, Q-Sepharose PF dan kromatografi kolom Sephacryl S-100 HR dengan suhu dan pH optimum 50- 55 °C dan 3,5 serta mempunyai stabilitas pH pada kisaran 3,5

- 6,0 pada suhu 45°C (Omunashaba et al,2001). Enzim kitinase mempunyai peran penting dalam kontrol biologi berbagai endawan patogen dengan mendegradasi senyawa kitin yang ada pada dinding sel cendawan (El-Katatny et al. 2001).



Gambar 1. Aktivitas enzim kitinase jamur antagonis

Uji daya hambat antara jamur antagonis dengan patogen *C.gloeosporiodes*

Hasil pengujian daya hambat menunjukkan bahwa masing-masing isolat mempunyai daya hambat yang bervariasi dan secara statistik ada yang berbeda nyata dengan persentase penghambatan berkisar antara 34,47%-79,86% (tabel 1). Persentase penghambatan terbesar terdapat pada isolate *Trichoderma harzianum* dengan persentase penghambatan sebesar 79,86% dan persentase penghambatan terendah pada isolate *Gliocladium sp.* sebesar 34,47%. Hasil penelitian Febrilia et al (2013) menyatakan bahwa jamur antagonis *T.harzianum* dan *T.koningii* lebih kuat dalam menghambat

pertumbuhan *C.gloeosporiodes* sekitar 83% dibandingkan kemampuan bakteri antagonis. Perbedaan kemampuan penghambatan jamur antagonis dapat disebabkan oleh perbedaan jenis, strain jamur antagonis, serta jenis patogen. Metabolit sekunder yang dihasilkan jamur *Trichoderma* dalam menghambat pertumbuhan patogen juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lainnya seperti jenis dan konsentrasi senyawa antibiotik yang dihasilkan, jenis dan strain jamur, kehadiran jamur lain, laju keseimbangan biosintesis, serta biotransformasi (Degenkolb et al., 2008; Vinale et al., 2009).

Tabel 1. Hasil uji daya hambat 4 isolat jamur antagonis terhadap patogen *C.gloeosporiodes*

Jamur antagonis	Persentase daya hamba (%)
<i>T.harzianum</i>	79,86 b

<i>T.viridae</i>	53,62 ab
<i>T.koningii</i>	57,48 ab
<i>Gliocladium sp.</i>	34,47 a

Berdasarkan hasil pengamatan pertumbuhan masing-masing isolat yang diperoleh terdapat perbedaan kemampuan dalam menekan pertumbuhan *C.gloeosporiodes* dari buah Apel. Hal ini disebabkan oleh perbedaan masing-masing spesies *Trichoderma* dan Genus *Gliocladium sp.* mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menekan pertumbuhan patogen tanaman dan perbedaan kandungan enzim masing-masing isolate jamur antagonis. Pada pengujian ini *T.harzianum* mempunyai kandungan enzim kitinase paling tinggi sebesar 3,68% sehingga bisa menghambat pertumbuhan patogen *C.gloeosporiodes* paling tinggi dibandingkan dengan jamur antagonis lainnya. Aktivitas kitinase yang tinggi selama mekanisme antagonisme efektif menghambat pertumbuhan jamur. Gohel et al. (2006) menyatakan selain adanya kitin dalam media uji, besarnya zona hambat juga dipengaruhi oleh jumlah kandungan kitin yang terdapat pada dinding sel jamur. Mikroorganisme dengan kemampuan mendegradasi kitin berperan dalam mengatasi serangan jamur patogen tanaman dengan memanfaatkan kitin sebagai sumber karbon (Kamil et al, 2007). Semakin tinggi aktivitas enzim kitinase maka semakin tinggi kemampuannya menghambat pertumbuhan patogen. Hal ini sesuai dengan pernyataan Insani dan Heryastuti (2016) bahwa Semakin tinggi aktivitas enzim berarti semakin tinggi produksinya dari N asetil glukosamin, sehingga kemampuan enzim mendegradasi substrat lebih optimal.

Mekanisme antagonis antara *T.harzianum* dengan *C.gloeosporiodes* adalah mikroparasitisme. Hal ini ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan jamur *T.harzianum* lebih cepat memenuhi cawan petri sehingga menyebabkan

diameter pertumbuhan patogen lebih kecil. Pada pengujian ini *T.harzianum* mempunyai kandungan enzim kitinase. Terbentuknya zona hambat karena didukung oleh ketersediaan kitin dalam media uji sehingga menstimulasi jamur antagonis untuk mensekresikan kitinase dan mendegradasi dinding sel patogen. Senyawa yang dihasilkan oleh *Trichoderma* memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan jamur patogen (Muhibbudin dkk., 2021). isolat yang dipilih dalam uji antagonis memiliki perbedaan jumlah enzim kitinase. Aktivitas parasitisme dari jamur antagonis marga *Trichoderma* menghasilkan senyawa kimia yang bersifat toksik dan enzim yang mampu mendegradasi sel patogen (Benítez, Rincón, Limón, & Codón, 2004)

Faktor utama dalam lisis dinding sel patogen di mikoparasitisme Prosesnya adalah adanya berbagai enzim ekstraseluler, salah satunya adalah enzim kitinase (Verma et al., 2007). Kitin di dinding sel jamur melindungi terhadap penuaan hifa, autolisis dan serangan mikoparasitisme. Faktor yang mempengaruhi enzim kitinase adalah kemampuannya untuk mengakses substrat (Poria et al., 2021). Kedua urutan polisakarida terbesar setelah selulosa adalah kitin, yang keduanya memiliki biopolimer. Komponen kitin 1,4 terkait dengan N asetil glukosamin. Kitin adalah melimpah di eksoskeleton Ecdysozoa dan jamur dinding sel yang membuat dinding sel jamur stabil. Kitin pada jamur merupakan komponen membran dan sel dinding hifa, konidiofor, konidia, spora (Elsoud & El Kady, 2019).

KESIMPULAN

Jamur antagonis koleksi dari Laboratorium Mikologi Balitjestro menghasilkan isolate yang berpotensi sebagai agen penegndali patogen *Colletotrichum gloeosporiodes*. Seleksi dengan uji antagonis menghasilkan kemampuan antagonis mikroparasitisme. Isolat jamur *T.harzianum* mempunyai kemampuan tertinggi dalam menghambat pertumbuhan patogen *C.gloeosporiodes* dan mempunyai kemampuan mendegradasi kitin patogen dengan nilai aktivitas ekstrak enzim kasar kitinase 3,68 unit/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Balitjestro yang telah memberikan perijinan untuk menggunakan fasilitas laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Abiodun, J., Osaretin, B. I., Elizabeth, T. A., Benson, O. A., & Ajibola, P. A. (2017). Effectiveness of *Pseudomonas* species in the management of tomato early blight pathogen *Alternaria solani*. *African Journal of Microbiology Research*, 11(23), 972–976. <https://doi.org/10.5897/ajmr2017.8564>
- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. Fifth Edition. USA: Elsevier Academic Press.
- Ajith, P.S., & Lakshmidevi, N. (2010). Effect of volatile and nonvolatile compounds from *Trichoderma* spp. against *Colletotrichum capsici* incitant of anthracnose on bell peppers. *Nature and Science*, 8(9), 265–269.
- Barnett, H.L., Hunter, Barry B. (1998). *Illustrated general of imperfect fungi*. APS Press
- Benítez, T., Rincón, A.M., Limón, M.C., & Codón, A.C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int Microbiol*, 7(4), 249–60.
- Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., & Ongena, M. (2009). *Bacillus* -based biological control of plant diseases. *Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management*. 520p
- Degenkolb, T., von Dohren, H., Nielsen, K.F., Samuels, G.J., Bruckner, H. (2008). Recent advances and future prospects in peptaibiotics, hydrophobin, and mycotoxin research, and their importance for chemotaxonomy of *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Chem. Biodiversity*, 5, 671–680.
- Elsoud MMA & El Kady EM. (2019). Current trends in fungal biosynthesis of chitin and chitosan. *Bull.Natl. Res. Cent.* 43: 59. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0105-y>
- Febrilia, N.A., Sri S., Dwi W., Risma, G.S., Qurrotun, A. (2013). Penghambatan pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporiodes* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescenc*. *Pelita Perkebunan*. 29(1), 44-52
- Gohel, V., Singh, A., Vimal, M., Ashwini, P., Chhatpar, H.S. (2006). Bioprospecting and Antifungal Potential of Chitinolytic Microorganisms. *African Journal of Biotechnology*, 5, 54-72.
- Grahovac, M., Indić, D., Tanović, B., Lazić, S. Vuković, J., Hrutić, S., Gvozdenac. (2011). Integrated management of causal agents of postharvest fruit rot of apple. *Pesticides and Phytomedicine*, 26(4), 289-299
- Gusnawaty, H., Muhammad, T., Danherman. (2014). Efektifitas *Trichoderma Indigenus Sulawesi Tenggara* Sebagai Biofungisida

- Terhadap *Colletotrichum* sp. Secara *Invitro*. *Jurnal Agroteknos*, 4(1), 38-43
- Halim, Y., Hardoko., & Christy A. (2018). Optimum conditions for N-acetyl glucosamine production from *Penaeus monodon* shrimp shells by solid state fermentation using *Trichoderma virens*. *AJMBES*. 20(4), 1081–1088.
- Hidayat, T. N. (2016). Uji Antagonis *Trichoderma* sp. T 4 Terhadap Jamur yang diisolasi dari Daun Bergejala Bercak Pada Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis* Jacq.), 4, 8–13.
- Insani, K.V., & Herdyastuti, N. (2016). Pengaruh konsentrasi enzim optimum pada pembentukan N-Asetilglukoamin. *UNESA Journal of Chemistry*.
- Juariyah, S., Tondok, E. T., & Sinaga, M. S. (2019). *Trichoderma* dan *Gliocladium* untuk Mengendalikan Penyakit Busuk Akar *Fusarium* pada Bibit Kelapa Sawit. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 14(6), 196. <https://doi.org/10.14692/jfi.14.6.196>
- Kamil, Z., Rizk, M., Saleh, M., Moustafa, S., (2007). Isolation and Identification of Rhizosphere Soil Chitinolytic Bacteria and their Potential in Antifungal Biocontrol. *Global Journal of Molecular Sciences*, 2(2), 57-66.
- El-Katatny, Gudelj, M., Robra, K.H., Elnaghy, M. H., Gübitz, G.M. (2001). Characterization of chitinase and an endo-beta-1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of phytopatogen *Sclerotium rolfsii*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 56, 137-143
- Muhibbudin, A., Setiyowati E.M., & Sektiono, A.W. (2021). Mechanism antagonism of *Trichoderma viride* againsts several types of pathogens and productions of secondary metabolites. *Agrosaintifika. Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 4(1), 243–252.
- Nafisah, H., Pujiyanto, S., & Raharjo, B. (2017). Isolasi dan uji aktivitas kitinase isolat bakteri dari kawasan Geotermal Dieng Bioma: Berkala Ilmiah Biologi, 19(1), 22–29. <https://doi.org/10.14710/bioma.19.1.22-29>
- Nugroho, T. T., C. Ginting., M. A., Wahyuningsih, A., Dahliaty, S.D., & Sukmarisa, Y. (2003). Isolasi dan Karakterisasi Sebagian Kitinase *Trichoderma viride* TNJ63. *Jurnal Natur Indonesia*, 5(2), 101-106.
- Nunuk, W., & Muhammad, I. (2012). Aktivitas dan Karakter Kitinase Isolat *Trichoderma* sp. W34 A4 Asal Kepulauan Raja Ampat Papua Barat. *Biosfera*, 29(1), 1-7.
- Omumashaba, C.A., Yoshida, N. & Ogawa, K. (2001). Purification and Characterization of a Chitinase from *Trichoderma viridae*. *J.Gen. Appl. Microbial*, 47, 53-61.
- Pal, K. K., & Gardener, B. McSpadden. (2006). Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*, 1-25. doi: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- Poria, V., Rana, A., Kumari, A., Grewal, J., Pranaw, K., & Singh, S. (2021). Current perspectives on chitinolytic enzymes and their agro-industrial applications. *Biology*, 10(12), 1319. <https://doi.org/10.3390/biology10121319>
- Seema, M., Devaki, N.S. (2012). In vitro evaluation of biological control agent against *Rhizoctonia solani*. *Journal of Agricultural Technology*, 8(1), 233-240.
- Verma, M., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y., & Valéro, J.R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Journal Biochem.Eng*, 37(1), 1–20.

<https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.05.012>

- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Woo, S. L., Nigro, M., Marra, R., .Lorito, M. (2014). Trichoderma secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *The Open Mycology J.*, 8(Suppl-1, M5), 127–139.
- Wirawan, A., & Herdyastuti, N. (2013). Penentuan waktu inkubasi pada pembentukan senyawa N-Asetilglukosamin yang didegradasi secara enzimatis dari kitin. *UNESA Journal of Chemistry*. 2(3), 11–13.
- Yu, Z. F., Qiao, M., Zhang, Y., & Zhang, K. Q. (2007). Two new species of *Trichoderma* from Yunnan, China. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 92(1), 101–108.