

AKTIVITAS ANTIFUNGI ENZIM GLUKANASE DARI *Streptomyces* spp. TERHADAP FUNGI FITOPATOGEN, *Fusarium oxysporum*

DINDA RISTA ANIS MUFIDA



**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Aktivitas Antifungi Enzim Glukanase dari *Streptomyces* spp. terhadap Fungi Fitopatogen, *Fusarium oxysporum*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2024

Dinda Rista Anis Mufida
G3501231040



RINGKASAN

DINDA RISTA ANIS MUFIDA. Aktivitas Antifungi Enzim Glukanase dari *Streptomyces* spp. terhadap Fungi Fitopatogen, *Fusarium oxysporum*. Dibimbing oleh ARIS TRI WAHYUDI, IVAN PERMANA PUTRA dan ABDJAD ASIH NAWANGSIH.

Pengendalian penyakit tanaman akibat serangan patogen masih menjadi tantangan bagi para ahli fitopatologi untuk pertanian berkelanjutan. Fungi fitopatogen seperti *Fusarium oxysporum* dapat menyebabkan sindrom layu *Fusarium* di lebih dari 120 tanaman inang yang berbeda, termasuk tanaman penting secara global. Fungi patogen tanaman secara umum dapat dikendalikan menggunakan fungisida sintetik. Penggunaan bahan kimia secara berlebihan dapat menyebabkan akumulasi residu beracun yang menimbulkan bahaya terhadap lingkungan karena sifatnya yang tidak dapat diurai secara hayati. Oleh karena itu, diperlukan alternatif biokontrol fungi fitopatogen, salah satunya dengan memanfaatkan kelompok aktinomiset rizosfer. Aktinomiset memiliki kemampuan menghasilkan enzim β -1,3-glukanase. Enzim β -1,3-glukanase mampu menghidrolisis ikatan β -1,3-glikosidik dalam glukan. β -glukan merupakan salah satu komponen penyusun dinding sel fungi fitopatogen seperti *F. oxysporum*. Maka dari itu, tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis aktivitas enzim β -1,3-glukanase yang dihasilkan oleh aktinomiset asal rizosfer serta mengetahui potensinya sebagai antifungi terhadap fungi fitopatogen *F. oxysporum*.

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa metode, dimulai dengan identifikasi isolat aktinomiset berdasarkan gen 16S rRNA terhadap 4 isolat aktinomiset. Selanjutnya 4 isolat *Streptomyces* yang telah diidentifikasi digunakan sebagai isolat uji untuk pengukuran aktivitas enzim glukanase secara kualitatif dan kuantitatif. Selain itu, pada 4 isolat terpilih, dilakukan pula deteksi dan analisis *modelling protein* gen penyandi enzim endo- β -1,3-glukanase (*bglS gene*). Selanjutnya, pengujian aktivitas antifungi isolat *Streptomyces* terhadap *F. oxysporum* dilakukan dengan dua metode, yakni *dual culture method* melibatkan sel *Streptomyces* secara langsung dan *food poisoning method* menggunakan filtrat kultur isolat *Streptomyces* sp. yang ditambahkan ke media PDA. Kerusakan pada miselia *F. oxysporum* hasil penghambatan diamati menggunakan mikroskop cahaya dan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Enzim glukanase yang dihasilkan oleh *Streptomyces* sp. selanjutnya dimurnikan secara parsial dengan aseton serta dilakukan pengukuran aktivitas kuantitatifnya serta efek penghambatannya terhadap *F. oxysporum*.

Streptomyces tendae ARJ 22, *Streptomyces tendae* ARJ 42, *Streptomyces* sp. ARJ 44, dan *Streptomyces* sp. ARJ 81 dievaluasi secara kuantitatif untuk aktivitas β -1,3-glukanase. Enzim β -1,3-glukanase yang dihasilkan oleh keempat isolat *Streptomyces* tersebut menunjukkan waktu optimal yang berbeda-beda. Aktivitas glukanase mengalami peningkatan pada hari ke-4 dan mengalami penurunan pada



hari ke-10. Isolat *Streptomyces* spp. menunjukkan nilai aktivitas spesifik enzim glukukanase berkisar antara 10,38-24,08 U/mg protein. Kehadiran gen *bglS* yang menyandikan endo- β -1,3-glukanase dari *glycoside hydrolase family* 16 pada keempat isolat mendukung produksi glukukanase. Model protein struktural tiga dimensi telah berhasil dikonstruksi berdasarkan urutan asam amino gen *bglS*. Model ini menunjukkan kemiripan yang tinggi dengan model protein endo- β -1,3-glukanase dari *Nocardiothrips* sp. F96. Uji *in vitro* menunjukkan bahwa semua isolat menghambat pertumbuhan hifa *F. oxysporum*. Uji penghambatan langsung dengan menggunakan metode *dual culture* menunjukkan penghambatan rata-rata sebesar 26,18%, sedangkan metode *food poison* dengan filtrat kultur menunjukkan penghambatan sebesar 29,38%. Enzim dari *Streptomyces* sp. ARJ 44 dimurnikan menggunakan aseton, menghasilkan aktivitas spesifik 46,34 U/mg dan peningkatan kemurnian hingga 1,92 kali. Enzim yang telah dimurnikan menghambat pertumbuhan miselia *F. oxysporum* sebesar 35,80%. Penghambatan ini dikonfirmasi dengan mengamati kerusakan hifa dengan teramatinya lubang serta kerutan pada hifa *F. oxysporum* menggunakan *scanning electron microscope* (SEM). Penelitian ini menyimpulkan bahwa keempat isolat *Streptomyces* sp. penghasil enzim β -1,3-glukanase memiliki potensi sebagai agen biokontrol terhadap fungi fitopatogen *Fusarium oxysporum*.

Kata kunci: β -1,3-glukanase, biokontrol, gen *bglS*, kloning, *Streptomyces*

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



SUMMARY

DINDA RISTA ANIS MUFIDA. Antifungal Activity of the glucanase Enzyme Produced by *Streptomyces* sp. Against the Phytopathogenic Fungus, *Fusarium oxysporum*. Supervised by ARIS TRI WAHYUDI, IVAN PERMANA PUTRA dan ABDJAD ASIH NAWANGSIH

Controlling plant diseases due to pathogen attack is still a challenge for plant pathologists for sustainable agriculture. Phytopathogenic fungi such as *Fusarium oxysporum* can cause *Fusarium* wilt syndrome in more than 120 different host plants, including globally important crops. Plant pathogenic fungi can generally be controlled using synthetic fungicides. Excessive use of chemicals can lead to the accumulation of toxic residues, posing hazards to the environment due to their non-biodegradable nature. Therefore, there is a pressing need for alternative biocontrol methods to manage pathogenic fungi, particularly by utilizing rhizosphere actinomycetes. Actinomycetes possess the capability to produce the enzyme β -1,3-glucanase, which hydrolyzes the β -1,3-glycosidic bond in glucans. β -glucan is one of the components of the cell wall of phytopathogenic fungi, including *F. oxysporum*. The aim of this study was to analyze the activity of β -1,3-glucanase produced by actinomycetes isolated from the maize rhizosphere and to evaluate its potential as an antifungal agent against the phytopathogenic fungus *F. oxysporum*.

This research was conducted using several methods, starting with the identification of actinomycetes isolates through 16S rRNA gene sequencing. A total of four *Streptomyces* isolates were selected as test isolates for both qualitative and quantitative measurements of glucanase enzyme activity. Additionally, these four isolates were utilized to detect and analyze the modeling protein of the gene encoding the glucanase enzyme (*bglS* gene). The antifungal activity of *Streptomyces* isolates against *F. oxysporum* was evaluated using two methods: the dual culture method, involving direct application of *Streptomyces* cells, and the food poisoning method, where culture filtrates of *Streptomyces* isolates were incorporated into PDA media. The resultant damage to *F. oxysporum* mycelia due to inhibition was observed using both light microscopy and scanning electron microscope (SEM). The glucanase enzyme produced by *Streptomyces* sp. was then partially purified using acetone, followed by quantitative activity measurements and an assessment of its inhibitory effects on *F. oxysporum*.

Streptomyces tendae ARJ 22, *Streptomyces tendae* ARJ 42, *Streptomyces* sp. ARJ 44, and *Streptomyces* sp. ARJ 81 were quantitatively evaluated for β -1,3-glucanase activity. The β -1,3-glucanase enzymes produced by these four *Streptomyces* isolates exhibited varying optimal production times, with glucanase activity peaking on day 4 and declining by day 10. The activity values of the isolates ranged from 10.38 to 24.08 U/mg. The presence of the *bglS* gene, which encodes endo- β -1,3-glucanase from glycoside hydrolase family 16, supports the production of glucanase. A three-dimensional structural model of the amino acid sequence was



constructed, demonstrating high similarity and quality parameters akin to endo- β -1,3-glucanase from *Nocardiosis* sp. F96. *In vitro* assays indicated that all isolates inhibited the hyphal growth of *Fusarium oxysporum*. Direct inhibition assays using the dual-culture method showed an average inhibition of 26.18%, while the filtrate culture method demonstrated a 29.38% inhibition. The enzyme produced by *Streptomyces* sp. ARJ 44 was partially purified using acetone, resulting in a specific activity of 46.34 U/mg and a purity increase of up to 1.92-fold. The purified enzyme inhibited the growth of *F. oxysporum* mycelia by 35.80%. This inhibition was confirmed through observations of damage to *F. oxysporum* hyphae using scanning electron microscope (SEM). The study concludes that the four *Streptomyces* strains, which produce β -1,3-glucanase enzymes, hold potential as biocontrol agents against the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum*

Keywords: β -1,3-glucanase, *bglS* gene, biocontrol, cloning, *Streptomyces*

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

**AKTIVITAS ANTIFUNGI ENZIM GLUKANASE DARI
Streptomyces spp. TERHADAP FUNGI FITOPATOGEN,
*Fusarium oxysporum***

DINDA RISTA ANIS MUFIDA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Mikrobiologi

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Penguji pada Ujian Tesis:

1. Prof. Dr. Rida Oktorida Khastini, M. Si



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



Judul Tesis : Aktivitas Antifungi Enzim Glukanase dari *Streptomyces* spp.
sebagai Antifungi Fitopatogen, *Fusarium oxysporum*
Nama : Dinda Rista Anis Mufida
NIM : G3501231040

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Prof. Dr. Aris Tri Wahyudi, M.Si

Pembimbing 2:

Dr. Ivan Permana Putra, M.Si

Pembimbing 3:

Dr. Ir. Abdjad Asih Nawangsih, M.Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Prof Dr Anja Meryandini, M.S

NIP 196203271987032001

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan

Alam:

Dr. Berry Juliandi, S.Si, M.Si

NIP 197807232007011001

Tanggal Ujian:
28 Oktober 2024

Tanggal Lulus:
13 November 2024

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan November 2023 sampai bulan Juli 2024 ini ialah eksplorasi aktivitas antifungi oleh enzim pendegradasi dinding sel yang dihasilkan oleh *Streptomyces* spp., dengan judul “Aktivitas Antifungi Enzim Glukanase dari *Streptomyces* spp. sebagai Antifungi Fitopatogen, *Fusarium oxysporum*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Prof. Dr. Aris Tri Wahyudi, M.Si, Dr. Ivan Permana Putra, M.Si dan Dr. Ir. Abdjad Asih Nawangsih, M.Si yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada moderator seminar, dan penguji luar komisi pembimbing. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Ibu Heni, Bapak Aldian, Ibu May, Bapak Septian dan yang lainnya selaku staf Laboratorium yang telah memberikan izin penggunaan Laboratorium sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar. Tak lupa penulis ucapkan terima kasih untuk Kak Widya Esti Purwaningtyas, Demma Zilba Budiman, Bapak Muhammad Asril Nasution serta ibu dan kakak-kakak lainnya di ATW-team yang telah banyak memberikan masukan, saran dan dukungan selama berlangsungnya pengumpulan data pada penelitian ini.

Penghargaan terbesar penulis sampaikan kepada kedua orang tua Bapak Riswanto dan Ibu Nur Zetlin Juwita serta Abang Muhamad Wawan Popy Rista, Riki Rista Jaya Purnama, Dian Jakariato Rista serta adik Muhamad Rofiq Rista Al-Hazza yang tiada hentinya memberikan doa, motivasi dan kasih sayangnya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah ini dengan baik. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada rekan satu bimbingan Dova Kelvin Mesrian yang sangat suportif selama berjalannya penelitian ini. Rasa terima kasih disampaikan pula kepada teman-teman Sinergi-Mikro tahun 2022 Adilah Adawiah, Naurah Fikriani Zawawi, Theresia Avelina dan Nail Izzatul serta kakak-kakak Mikro22 yang selalu mendukung dan menemani perjalanan penulis selama menumpuh Pendidikan di Program Studi Mikrobiologi, Departemen Biologi, IPB.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2024

Dinda Rista Anis Mufida



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	4
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Aktinomiset Rizosfer	5
2.2 β -Glukan sebagai substrat Enzim β -1,3-Glukanase	6
2.3 Enzim β -1,3-Glukanase asal Aktinomiset sebagai Biokontrol Fungi Fitopagen	8
2.4 <i>Fusarium oxysporum</i> dan Penyakit Layu <i>Fusarium</i>	10
METODE	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.2 Alur Penelitian	13
3.3 Alat dan Bahan	14
3.4 Prosedur Kerja	14
HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Hasil	21
4.1.1 Karakter Morfologi dan Identitas Isolat Aktinomiset	21
4.1.2 Aktivitas Glukanolitik Isolat <i>Streptomyces</i> spp.	23
4.1.3 Aktivitas Enzim β -1,3-Glukanase	24
4.1.4 TA-Cloning Gen Endo Enzim β -1,3-Glukanase	24
4.1.5 Analisis Fenetik dan Prediksi Struktur Tiga Dimensi Gen <i>bglS</i>	27
4.1.6 Patogenesitas <i>F. oxysporum</i> terhadap Tanaman Kedelai	31
4.1.7 Aktivitas Antagonistik Sel dan Filtrat Kultur <i>Streptomyces</i> terhadap pertumbuhan Miselia Fungi <i>F. oxysporum</i>	31
4.1.8 Purifikasi Enzim β -1,3-Glukanase dengan Aseton	34
4.1.1 Pengamatan perubahan morfologi hifa <i>F. oxysporum</i>	35
4.2 Pembahasan	38
SIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Simpulan	44
5.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	53
RWYAT HIDUP	61

DAFTAR TABEL

1	Struktur dari β -glukan berdasarkan sumbernya	7
2	Analisis homologi gen 16S rRNA isolat <i>Streptomyces</i>	22
3	Nilai indeks glukanolitik isolat <i>Streptomyces</i> spp.	23
4	Analisis homologi gen <i>bglS</i> parsial dari isolat <i>Streptomyces</i>	27
5	Penghambatan pertumbuhan miselia <i>F. oxysporum</i>	32
6	Pemurnian enzim glukanasase <i>Streptomyces</i> sp. ARJ 44 dengan aseton 70%	34

DAFTAR GAMBAR

1	Mekanisme antagonis aktinomiset terhadap fungi fitopatogen	6
2	Situs pemotongan enzim endo- β -1,3-glukanase dan ekso- β -1,3-glukanase pada substrat β -glukan fungi	9
3	Mekanisme hidrolisis dinding sel fungi	10
4	Siklus penyakit akibat infeksi <i>F. oxysporum</i> .	11
5	Alur penelitian	13
6	Skema metode uji antifungi <i>dual culture</i>	18
7	Skema penumbuhan <i>F. oxysporum</i> pada permukaan kaca penutup steril	20
8	Morfologi isolat <i>Streptomyces</i> pada media ISP4 yang diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang	21
9	Pohon filogenetik 4 isolat aktinomiset berdasarkan gen 16S rRNA yang dikonstruksi dengan metode <i>Neighbor-Joining</i> , <i>bootstrap</i> 1000x.	22
10	Zona bening yang terbentuk disekitar koloni isolat <i>S. tendae</i> ARJ 22, <i>S. tendae</i> ARJ 42, <i>Streptomyces</i> sp. ARJ 44, <i>Streptomyces</i> sp. ARJ 81	23
11	Hubungan aktivitas spesifik enzim β -1,3-glukanase dengan waktu inkubasi	24
12	Visualisasi amplikon gen <i>bglS</i> pada gel agarosa 1%	25
13	Hasil seleksi biru-putih pada <i>E. coli</i> DH5 α transforman yang membawa gen <i>bglS</i>	25
14	Visualisasi amplikon koloni putih menggunakan primer SP6-T7	26
15	Visualisasi hasil digesti plasmid rekombinan menggunakan enzim restriksi <i>EcoRI</i> pada gel agarosa 1% (b/v)	26
16	Pensejajaran asam amino <i>bglS</i> parsial dengan referensi	28
17	Prediksi susunan domain sekuens lengkap asam amino <i>bglS</i> <i>Streptomyces</i> sp. S27 dan sekuens parsial asam amino <i>bglS</i> 4 isolat <i>Streptomyces</i> spp	29
18	Pohon fenetik berdasarkan sekuens asam amino <i>bglS</i> parsial	30
19	Prediksi struktur tiga dimensi protein endo- β -1,3-glukanase dari <i>S. tendae</i> ARJ 22 dan superimposisi model protein endo- β -1,3-glukanase <i>S. tendae</i> ARJ 22 dengan endo- β -1,3-glukanase <i>Nocardiosis</i> sp. F96	30

Perbandingan pertumbuhan kecambah kedelai yang tidak diinokulasikan dengan *F. oxysporum* dan kecambah kedelai yang diinokulasikan dengan *F. oxysporum* yang diinkubasi selama tujuh hari 31

21 Penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* oleh sel *Streptomyces*. Metode *dual culture* serta metode *food poison* 33

22 Morfologi miselia dan rantai spora *Streptomyces* sp. ARJ 44 merupakan isolat yang digunakan dalam pemurnian glukonase dan penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* oleh enzim β -1,3-glukanase yang dimurnikan dan kontrol *F. oxysporum* tanpa penambahan enzim 35

23 Pengamatan mikroskopis perubahan morfologi hifa *F. oxysporum* oleh antagonis sel langsung (*dual culture*) *Streptomyces* sp. ARJ 44 dan enzim β -1,3-Glukanase hasil purifikasi 36

24 Morfologi hifa hasil pengamatan melalui SEM pada perbesaran 5000x 37

DAFTAR LAMPIRAN

1	Komposisi media <i>International Streptomyces Project 4</i> (ISP4)	54
2	Komposisi media Luria Bertani (LB)	54
3	Komposisi media Uji Kualitatif Glukanase	54
4	Media tumbuh kecambah kedelai	55
5	Peta genetik plasmid <i>pGMT-Easy</i>	55
6	Komposisi reagen <i>Dinitrosalicylic Acid</i> (DNS)	56
7	Komposisi reagen Bradford 5x	56
8	Prosedur pengukuran kuantitatif aktivitas enzim β -1,3-glukanase	56
9	Kurva standar glukosa	57
10	Prosedur pengukuran konsentrasi protein	57
11	Kurva standar protein (BSA)	58
12	Data aktivitas unit dan kadar protein enzim β -1,3-glukanase	58
13	Hasil sekuensing gen 16S rRNA	58
14	Urutan asam amino gen <i>bglS</i>	60