IPB University
Bogor Indonesia
@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.
IPB University
Perpustakaan IPB University

EKSPLORASI DAN KAJIAN BAKTERI KITINOLITIK SEBAGAI AGENS HAYATI SERTA PERAN KITINASE DALAM MENEKAN *Ganoderma boninense*

ADI NUGRAHA

PROGRAM STUDI FITOPATOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025

@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

IPB University
Bogor Indonesia

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul **"Eksplorasi dan Kajian Bakteri Kitinolitik sebagai Agens Hayati serta Peran Kitinase Dalam Menekan *Ganoderma boninense*"** adalah karya saya dengan arahan komisi 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 2025

Adi Nugraha
A3502222023

@Hak cipta milik IPB University
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.
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

IPB University
Bogor Indonesia
@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.
IPB University
Perpustakaan IPB University

RINGKASAN

ADI NUGRAHA. Eksplorasi dan Kajian Bakteri Kitinolitik sebagai Agens Hayati serta Peran Kitinase dalam Menekan *Ganoderma boninense*. Dibimbing oleh GIYANTO, KIKIN HAMZAH MUTAQIN, dan TRI ASMIRA DAMAYANTI.

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) merupakan komoditas tanaman perkebunan utama Indonesia saat ini. Luas areal lahan kelapa sawit terus bertambah setiap tahunnya, namun peningkatan produksi dan produktivitasnya belum optimum. Produksi kelapa sawit mengalami fluktuasi dalam rentang tujuh tahun terakhir. Salah satu faktor penyebab fluktuasi ini adalah gangguan kesehatan tanaman, termasuk faktor cekaman abiotik maupun biotik. Cendawan *Ganoderma boninense* penyebab penyakit busuk pangkal batang (BPB) menjadi faktor cekaman biotik paling serius pada kelapa sawit saat ini. Berbagai pendekatan pengendalian telah dilakukan, seperti penggunaan tanaman tahan, metode fisik/mekanik, kultur teknis, kimiawi dan pengendalian hayati, namun belum diperoleh hasil pengendalian yang benar-benar memuaskan. Pengendalian hayati memiliki potensi dan prospek yang perlu terus dikembangkan untuk membangun system pengendalian yang efektif, berkelanjutan dan ramah lingkungan. *G. boninense* sebagai pathogen dari kelompok cendawan sejati diketahui memiliki struktur utama dinding selnya berupa kitin dan glukan. Sementara itu, jenis agens hayati dari kelompok bakteri kitinolitik diharapkan memiliki kemampuan aktivitas antagonisme yang kuat terhadap cendawan patogen melalui mekanisme lisis senyawa kitin dari dinding sel patogen. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan isolat bakteri kitinolitik yang mampu mendegradasi kitin dan mampu berperan sebagai agens hayati bagi cendawan *G. boninense*, serta mengonfirmasi peran kitinase dalam menekan *G. boninense*.

Eksplorasi bakteri kitinolitik dilakukan dalam beberapa tahap yang meliputi: Pengambilan sampel sumber isolasi bakteri kitinolitik, yaitu tanah dari lahan Perkebunan Kelapa Sawit Cikabayan IPB, cairan proteolase tumbuhan kantong semar, usus hewan cicak, feses burung walet, benih padi, tanah asal persawahan di Kabupaten Brebes dan Nganjuk; isolasi bakteri dari berbagai sampel; skrining bakteri pada medium koloidal kitin agar; konfirmasi molekuler gen *chi*A dari bakteri kitinolitik terpilih; serta pengukuran indeks kitinolitik bakteri penghasil enzim kitinase.

Seleksi bakteri kitinolitik sebagai agens hayati *G. boninense* dilakukan dalam beberapa tahap yang meliputi: Penyediaan isolat *G. boninense,* uji potensi bakteri kitinolitik dalam menghambat pertumbuhan *G. boninense* secara *in vitro,* uji keamanan hayati, karakterisasi bakteri kitinolitik (uji pelarutan fosfat, fiksasi nitrogen, dan produksi IAA), seleksi bakteri kitinolitik potensial menggunakan *analytical hierarchy process* (AHP), identifikasi bakteri kitinolitik secara molekuler, uji fitotoksisitas, dan uji efikasi bakteri kitinolitik dalam menghambat penyakit busuk pangkal batang secara *in vivo.*

Konfirmasi peran kitinase dari bakteri kitinolitik dilakukan melalui metode mutasi gen kitinase menggunakan teknik UV mutagenesis serta kloning dan ekspresi gen kitinase. Tahap teknik UV mutagenesis mencakup tahap pemaparan bakteri kitinolitik dengan sinar UV, seleksi mutan potensial berdasarkan *survival*

IPB University
Bogor Indonesia

rate 1%, seleksi mutan pada medium koloidal kitin, dan uji kemampuan mutan terhadap pertumbuhan *G. boninense*. Tahap kloning dan ekspresi gen kitinase terdiri atas isolasi DNA total, sintesis dan optimalisasi primer, amplifikasi DNA kitinase, ligasi gen kitinase pada plasmid pTZ57R, transformasi plasmid pada sel kompeten *E. coli* DH5α, seleksi dan uji transforman dalam menghambat *G. boninense*.

Seleksi dari total 750 isolat bakteri diperoleh 31 isolat (4,31%) yang memiliki kemampuan mendegradasi kitin. Sampel benih padi ciherang memebrikan kontribusi terbanyak jumlah isolate bakteri kitinolitik yaitu sebesar 20%. Gen kitinase berhasil dideteksi dari 29 isolat tersebut menggunakan PCR dengan *degenerate primer*. Nilai indeks kitinolitik berkisar antara 0,33 hingga 7,48. Isolat yang memeiliki indeks kitinolitik terendah dan tertitnggi berturut-turut adalah isolat Br11 dan Cb2.

Kemampuan penghambatan dari 31 isolat bakteri kitinolitik terhadap senyawa bioaktif *G. boninense* berkisar antara 7,31%- 80,60%, sedangkan penghambatan senyawa volatil berkisar antara 6,76%-77,69%. Uji keamanan hayati berhasil memisahkan 10 isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai patogen, terdiri atas 6 isolat berpotensi sebagai patogen tanaman, 5 isolat berpotensi sebagai patogen hewan mamalia, dan 1 isolat berpotensi sebgai patogen untuk memiliki keduanya. Karakterisasi kemampuan bakteri kitinolitik dilakukan terhadap 21 isolat. Sebanyak 7 isolat mampu memproduksi hormon IAA, 18 isolat mampu memfiksasi nitrogen, dan 12 isolat menunjukkan adanya aktivitas pelarutan fosfat. Seleksi bakteri kitinolitik unggul menggunakan AHP dengan kriteria penghambatan terhadap *G. boninense*, keamanan hayati, dan karakter bakteri didapatkan 5 isolat teratas yaitu Cb6, Cb7, Cb21, Uc14, dan Br14. Identifikasi kelima isolat bakteri tersebut secara molekuler berdasarkan gen 16S berturut-turut identik dengan spesies bakteri *Chromobacterium vaccinii, Serratia marcescens, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas aeruginosa,* dan *Lysinibacillus fusiformis.*

Isolat bakteri *C. vaccinii, S. marcescens, P. fluorescens, P. aeruginosa,* dan *L. fusiformis* bersifat non-fitotoksik bagi bibit kelapa sawit. Kelima isolat bakteri diaplikasikan sebagai perlakuan preventif pada tanaman bibit kelapa sawit sebelum diinokulasi *G. boninense.* Kejadian penyakit mulai muncul pada 9 minggu setelah inokulasi (MSI) untuk perlakuan *C. vaccinii* (Cb6), *S. marcescens* (Cb7) dan kontrol. Gejala nekrotik akar terlihat di semua perlakuan pada minggu ke-12. Perlakuan *P. aeruginosa* (Uc14) dan fungisida memberikan kejadian penyakit paling rendah dan tidak berbeda nyata antar keduanya. Keparahan penyakit juga muncul pada 9 MSI dan terus meningkat hingga 12 MSI. Semua isolat bakteri mampu menekan keparahan penyakit. *P. fluorosens* dan *P. aeruginosa* mampu menekan keparahan penyakit hingga tingkat paling rendah seefektif dengan perlakuan fungisida.

Kelima isolat bakteri juga diaplikasikan sebagai perlakuan kuratif pada bibit kelapa sawit yang telah diinokulasi *G. boninense* terlehi dahulu. Kejadian penyakit mulai terlihat pada 9 MSI pada perlakuan *C. vaccinii* (Cb6) dan kontrol. Perlakuan *P. fluoroscens* (Cb21), *P. aeruginosa* (Uc14), dan *L. fusiformis* (Br14) menghasilkan tingkat kejadian penyakit yang lebih rendah daripada kontrol. Keparahan penyakit secara nyata terjadi pada tanaman hasil perlakuan *C. vaccinii* (Cb6) dan kontrol pada 9 MSI. Perlakuan isolat *C. vaccinii* (Cb6), dan *P.*

@Hak cipta milik IPB University
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.
Perpustakaan IPB University

IPB University
Bogor Indonesia

fluoroscens (Cb21) mampu menekan keparahan penyakit yang setara secara statistik dengan perlakuan fungisida.

Nilai AUDPC perlakuan preventif memiliki rentang 0,70 hingga 7,68. Nilai terendah adalah aplikasi *P. aeruginosa* dan lebih rendah dibanding aplikasi fungisida. Pada perlakuan kuratif aplikasi fungisida merupakan aplikasi yang memiliki nilai AUDPC terendah sedangkan perlakuan bakteri memiliki rentang AUDPC 1,21 hingga 2,58 unit. Semakin rendah nilai AUDPC maka semakin kuat pengaruh penekanan perlakuan terhadap patogen. Efikasi aplikasi bakteri kitinolitik pada perlakuan preventif Cb6, Cb7, Cb21, Uc14, Br14, dan fungisida secara berurutan adalah 64%, 64%, 54%, 88%, 80%, dan 86%. Sedangkan pada perlakuan kuratif sebesar 43%, 19%, 62%,49%, 39%, dan 93%.

Konfirmasi peran kitinase dalam menekan pertumbuhan G. boninense dilakukam pada bakteri kitinolitik dengan mutasi gen kitinase menggunakan metode UV mutagenesis diperoleh 16 bakteri mutan kitinase yaitu Ks10Chi-1,-2, -3, -4, -5, -6, -10, -11, -12, -13, -14, -15, -16, -17, -19, dan -20. Kemampuan 13 mutan dalam menekan pertumbuhan *G. boninense* memiliki rentang 15 hingga 38%, relatif berkurang dibandingkan *wild-type* yang memiliki penekanan 63%. Sedangkan 3 mutan lainnya telah kehilangan kemampuannya dalam menekan *G. boninense* (Ks10Chi- 1, 5, 6).

Kloning gen kitinase dihasilkan primer C_PseudomonasF (5`-TCA GCG CAG CGG CCG CCA G-3`) dan C_PseudomonasR (5`-ATG ATC AGG ATC GAC TTT TC-3`) yang digunakan untuk amplifikasi gen kitinase dan menghasilkan amplikon ukuran ±1000 bp. Amplikon telah disikuensing dan menunjukkan hasil sebagai gen kitinase *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 dengan *query cover* 37% dan homologi 91,86%. Amplikon telah diligasi pada vektor PTZ57R dan ditransformasi pada bakteri *E. coli* DH5α. Efisiensi transformasi vektor pTZ57R:*chi*AUc14 mencapai 8,08% *Insert* pada plasmid telah dipastikan gen kitinase setelah diverifikasi melalui PCR dengan primer kitinase dan primer pengapit pada plasmid.

Kata kunci**:** kitin, kloning, mutan, preventif, UV mutagenesis

@Hak cipta milik IPB University
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.
Perpustakaan IPB University

IPB University
Bogor Indonesia

SUMMARY

ADI NUGRAHA. Exploration and Study of Chitinolytic Bacteria as Biological Control Agents and the Role of Chitinase in Suppressing *Ganoderma boninense*. Supervised by GIYANTO, KIKIN HAMZAH MUTAQIN, and TRI ASMIRA DAMAYANTI.

Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) is currently Indonesia's largest plantation commodity. The total plantation area continues to expand every year; however, the increase in planting area, production, and productivity is not directly proportional. Palm oil production has fluctuated over the past seven years. One factor contributing to this fluctuation is *Ganoderma boninense*, a pathogenic fungus causing basal stem rot (BSR) disease. Various control efforts have been made, such as the use of fungicides, resistant plants, and cultural techniques. *G. boninense* is known to have a main cell wall structure composed of chitin and glucan. Chitinolytic bacteria have strong antagonistic activity against pathogenic fungi through lysis mechanisms. The aim of this research was to obtain bacterial isolates capable of degrading chitin (chitinolytic bacteria) and functioning as biological control agents against *G. boninense*, as well as to confirm the role of chitinase in suppressing *G. boninense*.

The exploration of chitinolytic bacteria involved several stages, including: sampling from soil in the Cikabayan IPB Oil Palm Plantation, proteolytic fluid from pitcher plants, gecko intestines, swallow droppings, rice seeds, and paddy field soil from Brebes and Nganjuk districts; total bacterial isolation; screening bacteria on colloidal chitin agar medium and molecular confirmation of the bacterial *chiA* gene; and measurement of the chitinolytic index of chitinase-producing bacteria.

The selection of chitinolytic bacteria as biological control agents against *G. boninense* consisted of several stages: preparation of *G. boninense* isolates, testing the potential of chitinolytic bacteria to inhibit *G. boninense* growth *in vitro*, biosafety testing, characterization of chitinolytic bacteria (phosphate solubilization, nitrogen fixation, and IAA production tests), selection of potential chitinolytic bacteria using the Analytical Hierarchy Process (AHP), molecular identification, phytotoxicity tests, and efficacy tests of chitinolytic bacteria in suppressing basal stem rot *in vivo*.

The role of chitinase in chitinolytic bacteria was confirmed through chitinase gene mutation using UV mutagenesis as well as chitinase gene cloning and expression. The UV mutagenesis steps included: exposing chitinolytic bacteria to UV light, selecting potential mutants based on a 1% survival rate, selecting mutants on colloidal chitin medium, and testing mutants' ability to suppress *G. boninense* growth. The cloning and expression stages involved total DNA isolation, primer synthesis and optimization, chitinase gene amplification, ligation of the chitinase gene into the pTZ57R plasmid, transformation of the plasmid into *E. coli* DH5α competent cells, selection, and testing of transformants for *G. boninense* inhibition.

A total of 750 bacterial isolates were obtained, of which 31 showed the ability to degrade chitin. The percentage of chitinolytic bacteria among all samples was 4.31%, indicating the relative scarcity of chitinolytic bacteria in nature as represented by the sampled sources. The Ciherang rice seed sample yielded the highest proportion of chitinolytic bacteria at 20%. Twenty-nine isolates were detected to carry the chitinase gene based on degenerate chitinase primers. The chitinolytic index ranged

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 University
IPB University
Perpustakaan IPB University

IPB University
Bogor Indonesia
@Hak cipta milik IPB University
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.
Perpustakaan IPB University

from 0.33 to 7.48, with isolate Br11 having the lowest index and isolate Cb2 the highest.

Tests on the 31 chitinolytic bacterial isolates showed that bioactive compounds inhibited *G. boninense* growth in a range of 7.31% to 80.60%, while volatile compounds showed inhibition ranging from 6.76% to 77.69%. The biosafety tests eliminated 10 bacteria: 6 isolates were potential plant pathogens, 5 were potential mammalian pathogens, and 1 overlapped both categories. The capabilities of the remaining 21 isolates were characterized: 7 isolates could produce IAA hormone, 18 could fix nitrogen, and 12 showed phosphate solubilization activity. Selection of the top chitinolytic bacteria using AHP based on inhibition of *G. boninense*, biosafety, and bacterial traits yielded five top isolates: Cb6, Cb7, Cb21, Uc14, and Br14. Molecular identification (16S rRNA) showed that these isolates were identical to *Chromobacterium vaccinii*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Lysinibacillus fusiformis*.

The isolates *C. vaccinii*, *S. marcescens*, *P. fluorescens*, *P. aeruginosa*, and *L. fusiformis* were not phytotoxic to oil palm seedlings. Disease incidence in the preventive treatment began to appear in week 9 for the *C. vaccinii* (Cb6), *S. marcescens* (Cb7), and control treatments. Root necrosis was observed in all treatments by week 12, but the *P. aeruginosa* (Uc14) treatment had the lowest disease incidence, not significantly different from the fungicide treatment. Disease severity was observed in week 9 after inoculation and continued to increase through week 12. All applications suppressed the severity of *G. boninense* infection, with *P. fluorescens* and *P. aeruginosa* showing the lowest severity, comparable to fungicide treatment.

For the curative treatment, disease incidence began to appear in week 9 following application of chitinolytic bacteria, specifically in the *C. vaccinii* (Cb6) and control treatments. The *P. fluorescens* (Cb21), *P. aeruginosa* (Uc14), and *L. fusiformis* (Br14) isolates had lower disease incidence than the control. Disease severity was observed only in the *C. vaccinii* (Cb6) and control treatments during week 9 after inoculation. By week 12, the *C. vaccinii* (Cb6) and *P. fluorescens* (Cb21) treatments were able to suppress *G. boninense* infection severity, with results statistically similar to fungicide treatment.

The AUDPC values for preventive treatments ranged from 0.70 to 7.68, with *P. aeruginosa* showing the lowest value, even lower than the fungicide treatment. In the curative treatment, the fungicide had the lowest AUDPC value, while bacterial treatments ranged from 1.21 to 2.58 units. The lower the AUDPC value, the stronger the suppression effect against the pathogen. The efficacy of chitinolytic bacteria in the preventive treatment for Cb6, Cb7, Cb21, Uc14, Br14, and the fungicide were 64%, 64%, 54%, 88%, 80%, and 86%, respectively. For the curative treatment, the efficacies were 43%, 19%, 62%, 49%, 39%, and 93%, respectively.

Confirmation of the role of chitinase in suppressing *G. boninense* growth was conducted using chitinase gene mutation via UV mutagenesis, resulting in 16 chitinase mutant bacteria: Ks10Chi-1, -2, -3, -4, -5, -6, -10, -11, -12, -13, -14, -15, -16, -17, -19, and -20. The ability of 13 mutants to suppress *G. boninense* ranged from 15% to 38%, which was relatively lower than the wild type's suppression of 63%. Meanwhile, 3 mutants (Ks10Chi-1, -5, -6) completely lost their ability to suppress *G. boninense*.

The chitinase gene cloning produced primers C_PseudomonasF (5-TCA GCG CAG CGG CCG CCA G-3) and C_PseudomonasR (5-ATG ATC AGG ATC GAC TTT TC-3) which were used to amplify the chitinase gene, yielding an amplicon of approximately 1000 bp. Sequencing confirmed the amplicon as the *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 chitinase gene, with a query cover of 37% and 91.86% homology. The amplicon was ligated into the pTZ57R vector and transformed into *E. coli* DH5α. The transformation efficiency of the pTZ57R:chiAUc14 vector reached 8.08%. The plasmid insert was confirmed as the chitinase gene through PCR verification using chitinase-specific and plasmid-flanking primers.

Keywords: chitin, cloning, mutants, preventive, UV mutagenesis

IPB University
Bogor Indonesia
@Hak cipta milik IPB University
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.
Perpustakaan 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.
@Hak cipta milik IPB University
IPB University
Perpustakaan IPB University

© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2025
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.

@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

IPB University
Bogor Indonesia
@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.
IPB University
Perpustakaan IPB University

EKSPLORASI DAN KAJIAN BAKTERI KITINOLITIK SEBAGAI AGENS HAYATI SERTA PERAN KITINASE DALAM MENEKAN *Ganoderma boninense*

ADI NUGRAHA

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

PROGRAM STUDI FITOPATOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025

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.
@Hak cipta milik IPB University
IPB University
Perpustakaan IPB University

Tim Penguji pada Ujian Tesis:
Dr. Efi Toding Tondok, S.P, M.Sc.Agr.

IPB University
Bogor Indonesia

Judul Tesis : Eksplorasi dan Kajian Bakteri Kitinolitik sebagai Agens Hayati serta Peran Kitinase dalam Menekan *Ganoderma boninense*
Nama : Adi Nugraha
NIM : A3502222023

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

Ketua Komisi Pembimbing:
Dr. Ir. Giyanto, M.Si.

Anggota Komisi Pembimbing:
Dr. Ir. Kikin Hamzah Mutaqin, M.Si.

Prof. Dr. Ir. Tri Asmira Damayanti, M.Agr.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Dr. Ir. Giyanto, M.Si.
NIP. 196707091993031002

Dekan Fakultas Pertanian:
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr.
NIP. 196902121992031003

Tanggal Ujian: 2 Juni 2025

Tanggal Lulus: 25 AUG 2025

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.

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

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.
@Hak cipta milik IPB University
IPB University
Perpustakaan IPB University

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala karuniaNya serta shalawat dan salam senantiasa terlimpahkan kepada Nabi Muhammad SAW sehingga tugas akhir yang berjudul "Eksplorasi Dan Kajian Bakteri Kitinolitik Sebagai Agens Hayati Serta Peran Kitinase Dalam Menekan *Ganoderma boninense*" dapat diselesaikan. Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister sains pada Program Studi Fitopatologi Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Giyanto, M.Si sebagai pembimbing yang telah banyak memberi nasihat, arahan, ilmu-ilmu baik ilmu akademik maupun ilmu kehidupan.Terimakasih kepada Dr. Ir. Kikin Hamzah Mutaqin M.Si sebagai pembimbing yang senantiasa memberikan pandangan-pandangan baru terhadap segala hal. Prof. Dr. Ir Tri Asmira Damayanti M.Agr yang memberikan ruang diskusi nyaman bagi kami mahasiswa bimbingannya. Dr. Efi Toding Tondok, M.Sc.Agr yang telah menguji saya serta memberikan masukan-masukan yang membangun baik secara akademik maupun kehidupan

Penulis juga mengucapkan terima kasih tak terhingga kepada kedua orang tua, Bapak Sumarsono Adi Prasetya dan Ibu Kusnul Khotimah yang senantiasa memberikan segalanya, Adik Kusuma Mahardika yang selalu menjadi penyemangat penulis, Bulek Sum yang selalu mendukung setiap langkah, dan Mbahkung Is yang membentuk cita-cita berkuliah di IPB. Saudari Tiara Edelwinna yang menemani dan menjadi teman diskusi selama penulisan ini.

Terimakasih juga disampaikan pada teman-teman Fitopatologi 2022 umumnya dan secara khusus teman-teman Fitopatologi 2022 Genap a.k.a quorum senshing (Kak Dessy, Mas Andra, Kak Halida, dan Dinda), group yang sangat kompak itu. Teman-teman Lab Bakteri 3 tahun terakhir baik sarjana dari angkatan 56 (Farhan, Nina, Intan, Risma, Fey, Anja, Tika, Nisa), angkatan 57 (Fira, Nilam, Dewi, Naim, Sonia, Nisa), angkatan 58 (Indiv, Nisa, Dewi, Sonia, Regi, Geyzha), Bang Randy maupun teman-teman pascasarjana Bu Astri, Bu Chepy, Bu Lisa, Kak Dila, Kak Atut, Kak Desy, Tiara, Nahrisa, Kak Halida, Fauzan, Calvin, Bu Adel, Mas Sholihin, Mbak Shakila, Pak Malik. Semoga semoga senantiasa sehat dan sukses selalu.

Penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala kekurangan dalam penyusunan tesis ini. Semoga karya ilmiah ini berkah dan bermanfaat.

Bogor, Agustus 2025

Adi Nugraha
A3502222023

@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

IPB University
Bogor Indonesia
@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.
IPB University
Perpustakaan IPB University

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI xix
DAFTAR GAMBAR xxi
DAFTAR TABEL xxi
DAFTAR LAMPIRAN xxiii
I PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Perumusan Masalah 2
1.3 Tujuan 3
1.4 Manfaat 3
1.5 Alur Penelitian 3
II TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Kelapa Sawit: Arti Penting, Taksonomi, Teknik Budi Daya, dan Tantangan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) 4
2.2 Penyakit Busuk Pangkal Batang yang Disebabkan *Ganoderma boninense* 6
2.3 Pengendalian *Ganoderma boninense* 7
2.4 Kitin dan Enzim Kitinase 8
2.5 Analisis Peran Gen: Inaktivasi dan Overekspresi Gen Kitinase Bakteri 8
III EKSPLORASI BAKTERI KITINOLITIK
3.1 Abstrak 10
3.2 *Abstract* 10
3.3 Pendahuluan 11
3.4 Bahan dan Metode 12
3.5 Hasil dan Pembahasan 15
3.6 Simpulan 17
3.7 Saran
IV BAKTERI KITINOLITIK SEBAGAI AGENS HAYATI PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG YANG DISEBABKAN OLEH *Ganoderma boninense*
4.1 Abstrak 18
4.2 *Abstract* 18
4.3 Pendahuluan 19
4.4 Bahan dan Metode 20
4.5 Hasil dan Pembahasan 26
4.6 Simpulan 43
4.7 Saran 44
V KONFIRMASI PERAN KITINASE DALAM MENEKAN PERTUMBUH-AN *Ganoderma boninense*
5.1 Abstrak 45
5.2 *Abstract* 45
5.3 Pendahuluan 46
5.4 Bahan dan Metode 47
5.5 Hasil dan Pembahasan 49

5.6 Simpulan 54
5.7 Saran 54
V PEMBAHASAN UMUM 55
VI SIMPULAN DAN SARAN UMUM 56
6.1 Simpulan 56
6.2 Saran 57
DAFTAR PUSTAKA 58
LAMPIRAN 64

IPB University
Bogor Indonesia
@Hak cipta milik IPB University
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.
Perpustakaan IPB University

DAFTAR TABEL

3.1	Jenis sampel, total isolat bakteri, dan jumlah isolat bakteri kitinolitik dan persentase bakteri kitinolitik	16
3.2	Keberadaan gen *chi*A dan nilai indeks kitinolitik bakteri	18
4.1	Kriteria dan pembobotan seleksi bakteri kitinolitik berdasarkan AHP	24
4.2	Karakteristik biakan isolat *Ganoderma boninense* pada medium PDA	27
4.3	Uji keamanan hayati dan karakterisasi bakteri sebagai agens hayati	34
4.4	Homologi sikuen lima isolat bakteri kitinolitik	36
4.5	Pengaruh aplikasi bakteri kitinolitik terhadap tinggi tanaman dan panjang akar	37
4.6	Kesimpulan uji fitotoksisitas bakteri kitinolitik terhadap kelapa sawit fase *pre-nursery*	39
4.6	Pengaruh aplikasi bakteri kitinolitik sebelum inokulasi *Ganoderma boninense* terhadap pertumbuhan panjang akar, tinggi tajuk, dan jumlah klorofil total daun (preventif)	40
4.8	Pengaruh aplikasi bakteri kitinolitik setelah inokulasi *Ganoderma boninense* terhadap pertumbuhan panjang akar, tinggi tajuk, dan jumlah klorofil daun (kuratif)	41
4.9	Pengaruh aplikasi bakteri kitinolitik sebelum dan sesudah inokulasi terhadap insidensi penyakit busuk pangkal batang	42
4.10	Pengaruh aplikasi bakteri kitinolitik sebelum dan sesudah inokulasi terhadap keparahan penyakit busuk pangkal batang dan luas AUDPC penyakit	42
5.1	Homologi sikuens DNA gen kitinase *Pseudomonas aeruginosa* Uc14 dibandingkan dengan sikuens gen kitinase pada *Genbank*	52
5.2	Populasi dan persentase efisiensi transformasi vektor pTZ57R:chiAUc14 ke *Escherichia coli* DH5α	53

DAFTAR GAMBAR

1.1	Luas lahan dan produksi CPO kelapa sawit tahun 2019-2023 (BPS 2024)	1
1.2	Skema Alur Penelitian "Eksplorasi dan Kajian Bakteri Kitinolitik sebagai Agens Hayati dan Peran Kitinase dalam Menekan *Ganoderma boninense*"	3
2.1	Tubuh buah *Ganodema boninense*	6
2.2	Gejala busuk pangkal batang yang terlihat pada pohon kelapa sawit tanaman menghasilkan (TM)	7
2.3	Proses mutagenesis yang disesabkan paparan sinar UV	9
2.4	Peta plasmid pTZ57R	10
3.1	Skrining isolat bakteri pada medium koloidal kitin agar	15
3.2	Visualisasi amplikon gen kitinase menggunakan primer *chi*AF dan *chi*AR	17
3.3	Pengukuran nilai indeks kitinolitik bakteri berdasarkan diameter koloni dan diameter zona bening	17

IPB University
Bogor Indonesia
@Hak cipta milik IPB University
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.
Perpustakaan IPB University

4.1	Makroskopis cendawan patogen *Ganoderma boninense* pada medium PDA	27
4.2	Persentase penekanan bakteri kirinolitik terhadap pertumbuhan *Ganoderma boninense* secara *in vitro*	28
4.3	Penghambatan pertumbuhan Ganoderm boninense oleh senyawa volatil bakteri kitinolitik	29
4.4	Reaksi hipersensitif daun tembakau terhadap isolat bakteri kitinolitik	30
4.5	Aktivitas hemolisis bakteri kitinolitik pada media agar darah 24 jam.	30
4.6	Aktivitas bakteri kitinolitik dalam memproduksi hormon IAA pada medium Luria bertani broth + L-triftophan	31
4.7	Aktivitas bakteri kitinolitik dalam menambat nitrogen pada medium NFB semi padat	32
4.8	Aktivitas bakteri kitinolitik dalam melarutkan fosfat pada medium pikovskaya agar	33
4.9	Isolat bakteri kitinolitik terbaik berdasarkan hasil *analical hierarchy process* (AHP).	35
4.10	Visualisasi amplikon gen 16S rRNA pada ukuran basa ±1500 bp	35
4.11	Persentase daya berkecambah dan indeks vigor kelapa sawit pada beberapa perlakuan bakteri kitinolitik	36
4.12	Pengaruh aplikasi bakteri kitinolitik terhadap jumlah klorofil daun	38
4.13	Pengaruh aplikasi bakteri kitinolitik terhadap berat basah dan berat kering brangkasan kelapa sawit	39
4.14	Kelapa sawit yang terinfeksi *Ganoderma boninense*	40
4.15	Efikasi bakteri terhadap penyakit busuk pangkal batang kelapa sawit	44
5.1	Pengujian mutan kitinase pada medium kolidal kitin agar	50
5.2	Persentase penghambatan mutan kitinase terhadap *Ganodermteera boninense*.	50
5.3	Panghambatan pertumbuhan *Ganoderma boninense* oleh mutan kitinase	51
5.4	Visualisasi DNA gen kitinase hasil optimalisasi suhu annealing dengan primer C_PseudomonasF & C_PseudomonasR	52
5.5	Bakteri *Escherichia coli* DH5α yang digunakan dalam proses kloning	53
5.6	Visualisasi amplikon transforman kitinase	54

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.
©Hak cipta milik IPB University
IPB University
Perpustakaan IPB University

DAFTAR LAMPIRAN

1	Perkecambahan benih kelapa sawit umur 14 hari setelah tanam	67
2	Kromatogram gen kitinase	68
3	Posisi sikuens gen kitinase *Pseudomonas aeruginosa* Uc14 dibandingkan gen kitinase *Pseudomonas aeruginosa* PAO1	69
4	Pengaruh bakteri kitinolitik terhadap pertumbuhan tinggi tanaman pada 3,6, dan 9 minggu setelah tanam	71
5	Pengaruh bakteri kitinolitik terhadap panjang akar pada 3, 6, dan 9 minggu setelah tanam	71
6	Pengaruh bakteri kitinolitik terhadap jumlah klorofil daun kelapa sawit pada fase pembibitan	71

IPB University
Bogor Indonesia
@Hak cipta milik IPB University
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.
Perpustakaan IPB University