

# PENGARUH PEMAPARAN SINAR GAMMA ISOTOP COBALT-60 DOSIS 0,25–1 kGy TERHADAP DAYA ANTAGONISTIK *Trichoderma* *harzianum* PADA *Fusarium oxysporum*

Priyo Wahyudi\*, Untung Suwahyono\*, Harsoyo\*\*, Aris Mumpuni\*\*\* dan Dwi Wahyuningsih\*\*\*

\* P3 Teknologi Bioindustri – BPPT, Gedung BPPT 2 Lt. 15,  
Jl. MH Thamrin No.8 Jakarta, Telp. 021-3169520, Fax. 021-3169510  
Email: [wahyudi@bppt.go.id](mailto:wahyudi@bppt.go.id)

\*\* Pusat Aplikasi Isotop & Radiasi – BATAN, Pasar Jumat – Jakarta

\*\*\* Fakultas Biologi – UNSOED, Purwokerto

## ABSTRACT

*Trichoderma harzianum* is a well-known mycoparasitic fungus that has been used as biocontrol agent of many phytopathogenic fungi. One of the effort to improve the ability of wild strain of *T. harzianum* in its antagonistic activity is by exposed them in gamma ray irradiation. In this experiment wild strain of *T. harzianum* irradiated gamma ray of Cobalt-60 (0.25 kGy, 0.5 kGy, 0.75 kGy, and 1 kGy), then assess the effect of the irradiation on its growth, the antagonistic activity and chitinase activity toward *Fusarium oxysporum*. Results showed that irradiation of gamma ray 0.25–1 kGy has no effect on the growth of *T. harzianum* and its antagonistic activity, but it significantly influence the chitinase activity. Probably the fungi have repaired the damage of DNA caused by irradiation, so that the growth and even the enzymatic function has no longer affected.

**Key words:** mycoparasitic, antagonistic activity, irradiation, Cobalt-60, chitinase

## PENGANTAR

*Trichoderma harzianum* merupakan salah satu jenis cendawan yang mampu berperan sebagai pengendali hayati karena mempunyai aktivitas antagonistik yang tinggi terhadap cendawan patogen tular tanah. Cendawan ini termasuk jenis cendawan tanah, sehingga sangat mudah didapatkan di berbagai macam tanah, di permukaan akar berbagai macam tumbuhan, juga dapat diisolasi dari kayu busuk atau serasah (Suwahyono dan Wahyudi, 2001).

Koloni *T. harzianum* pada awal inkubasi akan berwarna putih yang selanjutnya berubah menjadi kuning dan akhirnya berubah menjadi hijau tua pada umur inkubasi lanjut. Cendawan *T. harzianum* mempunyai tingkat pertumbuhan yang cepat, spora yang dihasilkan berlimpah, mampu bertahan cukup lama pada kondisi yang kurang menguntungkan. Daya antagonistik yang dimiliki *T. harzianum* disebabkan oleh kemampuannya dalam menghasilkan berbagai macam metabolik toksik seperti antibiotik atau enzim yang bersifat litik serta kemampuan kompetisi dengan patogen dalam memperebutkan nutrisi, oksigen dan ruang tumbuh (Wahyudi *et al.*, 2000).

Menurut Wiyono (1994) *Trichoderma* spp. merupakan salah satu agen pengendali hayati yang efektif mengendalikan patogen tular tanah pada berbagai jenis tanaman seperti *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium oxysporum*, dan *Sclerotium rolfsii*. Beberapa cara yang dilakukan oleh cendawan

antagonis terhadap patogen sehingga dikategorikan sebagai agen biokontrol antara lain dengan mekanisme pengurangan kepadatan inokulum dan penekanan perkecambahan atau pertumbuhan patogen (melalui kompetisi atau antibiosis) (Mehrotra *et al.*, 1986). Aktivitas antagonistik *Trichoderma* dapat terjadi melalui sekresi enzim-enzim yang dapat melisiskan dinding sel hifa dari cendawan lawan. *Trichoderma* dapat menyekresi enzim-enzim hidrolisis seperti kitinase dan  $\beta$ -glukanase ke dalam media kultur yang mengandung laminarin, kitin atau dinding sel cendawan fitopatogenik (Papavizas, 1985).

Iradiasi adalah suatu pancaran energi yang berpindah melalui partikel-partikel yang bergerak dalam ruang atau melalui gerak gelombang cahaya. Zat yang dapat memancarkan iradiasi disebut zat radioaktif. Zat radioaktif adalah zat yang mempunyai inti atom tidak stabil, sehingga zat tersebut mengalami transformasi spontan menjadi zat dengan inti atom yang lebih stabil dengan mengeluarkan partikel atau sifat sinar tertentu. Proses transformasi spontan ini disebut peluruhan, sedangkan proses pelepasan partikel atau sinar tertentu disebut iradiasi. Iradiasi yang terjadi akibat peluruhan inti atom dapat berupa partikel alfa, beta, dan sinar gamma (Sinaga, 2000).

Sinar gamma merupakan gelombang elektromagnetik yang bergerak dengan kecepatan sangat tinggi, hampir menyamai kecepatan cahaya. Arahnya tidak dipengaruhi medan magnet dan mempunyai daya ionisasi kecil serta

daya tembus yang tinggi. Sinar gamma mempunyai panjang gelombang yang lebih pendek daripada sinar X sehingga mempunyai energi yang lebih tinggi (Soeminto, 1985). Pada umumnya sinar gamma yang digunakan untuk radiasi adalah hasil peluruhan inti atom Cobalt-60. Cobalt-60 adalah sejenis metal yang mempunyai karakteristik hampir sama dengan besi/nikel (Sinaga, 2000). Menurut Soeminto (1985) Cobalt-60 memancarkan dua sinar gamma dengan energi masing-masing sebesar 1,17 MeV dan 1,13 MeV yang mempunyai waktu paruh 5,6 tahun.

Dosis iradiasi yaitu jumlah energi radiasi yang diserap ke dalam bahan. Untuk setiap jenis bahan diperlukan dosis khusus untuk memperoleh hasil yang diinginkan (Hermana, 1991). Satuan yang digunakan saat ini adalah Gray (Gy). Satu Gray = 1 Joule/kg (Kustiono, 1994). Penggunaan dosis iradiasi bergantung kepada beberapa hal, antara lain populasi mikroba (cendawan atau bakteri) sebelum diiradiasi, daya tahan mikroba terhadap radiasi, lingkungan waktu meradiasi dan tujuan pemakaian dosis iradiasi (Hilmy, 1980). Agar setiap bahan dapat menerima dosis iradiasi secara tepat, maka dilakukan pengukuran dosis iradiasi dengan menggunakan dosimetri (Sinaga, 1998).

Dalam bidang mikrobiologi pemakaian dosis iradiasi selain untuk tujuan pengawetan bahan makan juga ditunjukkan untuk membantu perbaikan galur sehingga dapat menghasilkan keturunan yang lebih baik (Sudaryati dan Djajasukma, 1990) atau juga untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba yang bermanfaat (Siagian, 1980). Menurut Lydia *et al.* (1994) mutasi akibat radiasi dapat memperbaiki cendawan terinduksi untuk menghasilkan enzim yang lebih banyak daripada sebelum diradiasi.

Hasil penelitian Myrath *et al.* (1971) menyatakan bahwa aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh cendawan dapat ditingkatkan dengan meradiasi cendawan penghasil enzim tersebut. Tamada *et al.* (1987) meneliti mengenai pengaruh sinar gamma terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh cendawan *Trichoderma reesei*. Hasilnya menunjukkan bahwa cendawan yang diiradiasi dengan dosis 2 kGy dapat menghasilkan enzim selulase 1,8 kali lebih banyak daripada cendawan yang tidak diiradiasi.

Pada pengujian daya antagonistik secara *in-vitro* dapat dilakukan dengan menumbuhkan *Trichoderma* spp. pada miselia (dalam bentuk materi dinding sel) cendawan patogen tanaman *F. oxysporum* sebagai satu-satunya sumber karbon. Kemampuan antagonistiknya dinyatakan dengan kemampuan mendegradasi materi dinding sel *F. oxysporum* yang dinyatakan dengan aktivitas kitinasena.

Dinding sel cendawan terutama tersusun dari polisakarida baik homo maupun heteropolimer. Pada beberapa cendawan, dinding sel mengandung komponen protein yang seringkali berasosiasi dengan satu atau lebih penyusun polisakarida. Menurut Chet dan Sivan (1989), dinding sel *F. oxysporum* terdiri atas heksosamine (16,5%), gula netral (37,9%) dan komponen minor lainnya seperti lemak (4,2%), protein (5,6%), abu (1,4%), residu tak terhidrolisis (25,1%). Ciri khas dari dinding sel *Fusarium* adalah adanya kitin dalam jumlah besar. Menurut Chu dan Alexander (1970), dinding sel *F. oxysporum* mengandung heteropolisakarida dan protein yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan *F. oxysporum* bersifat rentan terhadap enzim litik seperti kitinase dan  $\beta$ -1,3 glukonase di dalam tanah.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 dengan dosis 0,25–1 kGy terhadap pertumbuhan *T. harzianum*, kemampuan antagonistik *T. harzianum* terhadap pertumbuhan *F. oxysporum*, serta terhadap aktivitas enzim kitinase *T. harzianum* pada materi dinding sel *F. oxysporum*. Diharapkan dari penelitian dapat diketahui dosis iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 dan waktu inkubasi yang dapat digunakan untuk menekan pertumbuhan *F. oxysporum*.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Bahan

Bahan yang digunakan antara lain Cendawan *T. harzianum* koleksi BPPT Culture Collection (BPPTCC), miselia cendawan *Fusarium oxysporum* diperoleh dari Laboratorium Mikologi Fakultas Biologi UNSOED, acetone, buffer sodium asetat, kitin, potasium tetraborat, p-dimetilamino benzaldehid, N-asetilglukosamin, akuades, kertas saring Whatman no. 41, media tanam *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), Likuid Basal Medium-Materi Dinding Sel *F. oxysporum*.

### Peremajaan biakan *T. harzianum*.

Biakan murni cendawan *T. harzianum* diremajakan pada cawan petri yang berisi medium PDA. Inkubasi dilakukan dalam inkubator pada suhu 28°C selama 3 hari.

### Iradiasi cendawan *T. harzianum*.

Cendawan *T. harzianum* yang telah diremajakan diinokulasikan pada PDA cawan petri dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu kamar. Biakan berumur 3 hari tersebut kemudian diiradiasi sinar Gamma isotop Cobalt-60 dalam *chamber* IRPASANA (instalasi iradiator

panorama serba guna) 4000A di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi – BATAN, Pasar Jumat Jakarta dengan laju dosis 2,1 kGy/jam. Dosis iradiasi yang dicobakan adalah 0 kGy (kontrol, tanpa iradiasi); 0,25 kGy; 0,5 kGy; 0,75 kGy dan 1 kGy.

### Rancangan percobaan

Untuk masing-masing uji pascairadiasi diperlukan rancangan percobaan sebagai berikut.

#### Uji pertumbuhan *T. harzianum*

T0 : Inkubasi 3 hari *T. harzianum* tanpa iradiasi.  
 T1 : Inkubasi 3 hari *T. harzianum* iradiasi 0,25 kGy.  
 T2 : Inkubasi 3 hari *T. harzianum* iradiasi 0,5 kGy  
 T3 : Inkubasi 3 hari *T. harzianum* iradiasi 0,75 kGy.  
 T4 : Inkubasi 3 hari *T. harzianum* iradiasi 1 kGy.  
 Masing-masing perlakuan diulang 3 kali.

#### Uji penekanan *T. harzianum* terhadap pertumbuhan *F. oxysporum*

T0 : Kultur ganda *T. harzianum* tanpa iradiasi dengan *F. oxysporum*  
 T1 : Kultur ganda *T. harzianum* iradiasi 0,25 kGy dengan *F. oxysporum*  
 T2 : Kultur ganda *T. harzianum* iradiasi 0,5 kGy dengan *F. oxysporum*  
 T3 : Kultur ganda *T. harzianum* iradiasi 0,75 kGy dengan *F. oxysporum*  
 T4 : Kultur ganda *T. harzianum* iradiasi 1 kGy dengan *F. oxysporum*  
 Masing-masing perlakuan diulang 3 kali.

#### Uji aktivitas kitinase *T. harzianum* terhadap *F. oxysporum*.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial terdiri atas dua faktor yang dicoba, yaitu:

- Dosis iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 (**T**) dengan lima taraf:
  - T0 : Tanpa iradiasi (0kGy)
  - T1 : 0,25 kGy
  - T2 : 0,5 kGy
  - T3 : 0,75 kGy
  - T4 : 1 kGy
- Waktu inkubasi (**W**) dengan tiga taraf:
  - W1 : Waktu inkubasi 2 hari
  - W2 : Waktu inkubasi 4 hari
  - W3 : Waktu inkubasi 6 hari

Perlakuan yang dicobakan merupakan kombinasi taraf-taraf faktor tersebut yang berjumlah  $5 \times 3 = 15$  dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

### Variabel

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah variabel bebas yaitu dosis iradiasi dan variabel tergantung, yaitu pertumbuhan *T. harzianum*, kemampuan penekanan *T. harzianum* terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* dan aktivitas enzimatik kitinase dari *T. harzianum* terhadap *F. oxysporum*. Parameter utama adalah diameter koloni *T. harzianum* hasil iradiasi, jari-jari koloni *F. oxysporum* yang tumbuh ke arah mendekati dan menjauhi *T. harzianum* dan pelepasan N-asetilglukosamin ( $\mu\text{mol/jam}$ ) dari aktivitas enzimatik kitinase *T. harzianum*.

#### Uji pertumbuhan *T. harzianum* pasca iradiasi

Cendawan *T. harzianum* yang telah diiradiasi dan kontrol diinokulasikan ke dalam media PDA dengan menggunakan T *borrer* dan diletakkan di bagian tengah cawan petri, dan dilakukan sebanyak 3 kali untuk masing-masing dosis iradiasi maupun yang tidak diiradiasi. Selanjutnya diinkubasi selama 3 hari pada suhu kamar dan diamati pertumbuhannya dengan cara mengukur diameter koloni dan mencatat warna koloni.

#### Uji kultur ganda *T. harzianum* terhadap *F. oxysporum*

Potongan tepi koloni inokulum cendawan antagonis dan cendawan patogen dengan diameter 5 mm diletakkan pada media PDA dalam cawan petri dengan jarak antara keduanya 3 cm, kemudian diinkubasi pada suhu ruang. Pertumbuhan kedua cendawan tersebut diamati dari hari pertama sampai hari ketiga. Bagian yang diukur adalah jari-jari koloni *F. oxysporum* yang tumbuh ke arah mendekati dan menjauhi *T. harzianum*. Hasil pengukuran jari-jari koloni pada hari ketiga digunakan untuk menghitung persentase penghambatan pertumbuhan oleh cendawan *T. harzianum*. Persentase penghambatan dihitung menggunakan rumus menurut Fokkema yang dinyatakan dalam Skidmore (1976) sebagai berikut.

$$I = \frac{(r1 - r2)}{r1} \times 100\%$$

Keterangan:

- I = Persentase penghambatan pertumbuhan oleh cendawan antagonis terhadap cendawan patogen.
- r1 = Jari-jari koloni cendawan patogen yang tumbuh ke arah menjauhi cendawan antagonis.
- r2 = Jari-jari koloni cendawan patogen yang tumbuh ke arah mendekati cendawan antagonis.

### Pembuatan Materi Dinding Sel (MDS) cendawan *F. oxysporum* (Mumpuni, 1996)

Inokulum *F. oxysporum* dibiakkan pada media tanam cair (PDB) selama 7 hari atau sampai diperoleh biomassa maksimum. Pemanenan biomassa dilakukan dengan menggunakan corong Buchner, labu Buchner, dan kertas saring. Untuk mempercepat pemisahan dari cairan kulturnya digunakan pompa sedot vakum. Biomassa yang terkumpul kemudian diekstraksi menggunakan aseton dingin sebanyak 2–3 kali kemudian disaring dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C sampai didapatkan bobot konstan. MDS kering ini disimpan pada botol kedap udara pada suhu ruang.

### Pembuatan Media Biakan Likuid Basal-MDS

Media yang digunakan untuk fermentasi adalah Media Biakan Likuid Basal-MDS dengan komposisi per 1000 ml akuades: 5,0 g MDS, 1,0 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 0,5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 4,6 g asam kasein hidrolisat; 2 ml *trace element* (yang mengandung 0,26 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,22 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,04 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; 0,02 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  per 1000 ml akuades). Sebanyak 100 ml media biakan likuid-basal – MDS dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 ml, dihomogenkan dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

### Penanaman Cendawan Uji pada Media Biakan Likuid Basal-MDS

Cendawan antagonistik uji berumur 5 hari yang dibiakkan pada media PDA dalam cawan petri diambil 3 potongan tepi inokulum ( $\pm 4$  mm) kemudian diinokulasikan pada media likuid basal-MDS. Biakan tersebut diinkubasi selama 2, 4, dan 6 hari. Pemanenan dilakukan dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring Whatman No. 41. Hasil penyaringan yang berupa padatan yang dijadikan sebagai biomassa yang dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C sampai tercapai bobot konstan. Cairan biakannya (filtrat) digunakan untuk analisis aktivitas kitinase.

### Pengukuran aktivitas enzim kitinase

Pengukuran aktivitas kitinase menurut Reissig *et al.* (1955) dengan mencampurkan 2 ml filtrat dengan 2 ml

larutan kitin (0,1% b/v pada 0,1 M buffer sodium asetat pH 5) sebagai substrat dalam sebuah tabung reaksi. Diinkubasi pada 37°C selama 12 jam dalam *waterbath*. Selanjutnya diambil 0,5 ml dan dicampur dengan 0,1 ml larutan potasium tetraborate 0,8 M pH 9,1 lalu dipanaskan pada air mendidih selama 3 menit, selanjutnya didinginkan pada air mengalir. Kemudian dicampur 3 ml larutan p-dimetilamino benzaldahide dan diinkubasikan pada suhu 36–38°C selama 20 menit di dalam *waterbath*. Dibaca nilai serapannya (absorbansi) pada panjang gelombang 585 nm menggunakan spektrofotometer.

### Pembuatan kurva kalibrasi

Kurva kalibrasi dibuat dari larutan baku N-asetil glukosamin (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0  $\mu\text{M}$ ). Sebagai blanko digunakan campuran 2 ml substrat dengan 2 ml cairan biakan yang telah dididihkan. Absorbansi dibaca dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 585 nm.

## HASIL

### Pengaruh Iradiasi pada Pertumbuhan *T. harzianum*

Pertumbuhan koloni *T. harzianum* hasil iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 menggunakan dosis yang berbeda, diameternya mencapai 5,13 cm sampai 6,29 cm. Warna koloni *T. harzianum* hasil iradiasi ternyata tidak berbeda dengan kontrol. Hasil analisis variansi (Tabel 1) menunjukkan iradiasi sinar gamma dengan dosis 2,5–1 kGy pada *T. harzianum* memberikan pengaruh yang tidak nyata terhadap pertumbuhannya.

Tidak berpengaruhnya iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 mungkin dikarenakan dosis iradiasi yang diberikan terlalu rendah sehingga belum memberikan adanya perubahan pada *T. harzianum*. Dengan penggunaan dosis iradiasi yang rendah tidak memberikan banyak pengaruh bagi pertumbuhan *T. harzianum*. Hal ini mungkin disebabkan energi radiasi yang dilepaskan oleh sinar gamma belum menyebabkan perubahan DNA yang cukup berat, sehingga *T. harzianum* masih menunjukkan pertumbuhan yang sama dengan kontrol. Tetapi pada saat

**Tabel 1.** Analisis variansi diameter pertumbuhan *T. harzianum* pasca iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 dengan dosis 0,25–1 kGy

Sumber ragam	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel 5%	F Tabel 1%
Perlakuan	4	1,404107	0,351027	1,991226 <sup>ns</sup>	3,48	5,98
Galat	10	1,762867	0,176287			
Total	14	3,166973				

Keterangan: ns = berbeda tidak nyata

iradiasi dosis yang diberikan adalah dosis yang cukup atau tepat bagi *T. harzianum*, mungkin akan dapat menyebabkan terjadinya perubahan DNA sehingga akan berpengaruh terhadap perubahan pertumbuhannya. Sardjono dan Wibowo (1987) menambahkan bahwa kerusakan DNA akibat iradiasi yang tinggi dapat menyebabkan tidak sempurnanya pemisahan kromosom pada pembelahan sel, sehingga mengakibatkan sel kehilangan kemampuan untuk memperbanyak diri.

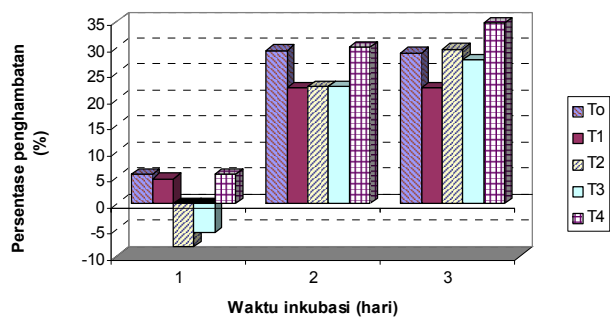
Selain karena rendahnya dosis, tidak adanya perbedaan pada pertumbuhan *T. harzianum* hasil iradiasi dengan kontrol, mungkin juga disebabkan oleh daya tahan *T. harzianum* terhadap pengaruh iradiasi yang disebabkan oleh faktor genetik dari *T. harzianum*. Faktor genetik tersebut adalah banyak sedikitnya kandungan Guanin-Sitosin dalam DNA-nya. Menurut Siagian (1980) daya tahan cendawan terhadap iradiasi selain dipengaruhi oleh faktor lingkungan saat iradiasi juga dipengaruhi oleh faktor genetik masing-masing cendawan.

### Pengaruh Iradiasi pada Kemampuan Antagonisme *T. harzianum* terhadap *F. oxysporum* melalui Uji Kultur Ganda

Pengamatan pada uji kultur ganda untuk *T. harzianum* hasil iradiasi sinar gamma menunjukkan tingkat penghambatan yang bervariasi terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* setelah inkubasi 3 hari, yaitu T0 : 28,97%; T1: 22,18%; T2 : 29,70%; T3 : 27,69%; dan T4 : 34,62%. Berdasarkan analisis variansi (Tabel 2) menunjukkan bahwa iradiasi dengan dosis 0,25–1 kGy tidak memberikan pengaruh terhadap kemampuan *T. harzianum* dalam menghambat pertumbuhan cendawan *F. oxysporum*.

Persentase penghambatan tertinggi diperoleh pada perlakuan T4 (*T. harzianum* dengan dosis iradiasi 1 kGy). Perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang lainnya. pada inkubasi pada hari ke-1, pertumbuhan jari-jari koloni *F. oxysporum* yang tumbuh ke arah menjauhi dan mendekati antagonis relatif sama dan belum terhambat. Hal ini disebabkan kedua cendawan masih dalam fase pertumbuhan adaptasi dan pertumbuhan *T. harzianum* masih lambat sehingga belum mempengaruhi pertumbuhan *F. oxysporum*. Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa pada hari ke-2 dan ke-3, jari-jari koloni *F. oxysporum* yang tumbuh

ke arah mendekati antagonis mengalami penghambatan dan pertumbuhannya terhenti. Penghambatan ini dapat terjadi karena *F. oxysporum* kalah bersaing dengan *T. harzianum* yang tumbuh lebih cepat. Selain hal tersebut, ini dapat dimungkinkan dari sifat *T. harzianum* sendiri sebagai biokontrol yang mampu memproduksi antibiotik dan beberapa enzim litik, sehingga *T. harzianum* mampu menghambat pertumbuhan cendawan patogen.



**Gambar 1.** Histogram persentase penghambatan *F. oxysporum* oleh *T. harzianum* yang diiradiasi dengan dosis 0, 25–1 kGy.

Tidak berbeda nyatanya efek penghambatan *T. harzianum* hasil iradiasi terhadap *F. oxysporum*, mungkin juga disebabkan oleh faktor yang sama pada uji pertumbuhan *T. harzianum*. Hal ini dapat dilihat dari hasil uji persentase penghambatan pada pertumbuhan *F. oxysporum*, ini juga sejalan dengan hasil uji pertumbuhan *T. harzianum* iradiasi yang tidak berbeda nyata. Meskipun demikian pada hari ke-3 terlihat bahwa penghambatan terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* oleh perlakuan T4 (iradiasi 1 kGy) lebih tinggi daripada perlakuan lain termasuk juga dengan kontrol.

### Pengaruh Iradiasi terhadap Aktivitas Enzim Kitinase *T. harzianum*

Analisis variansi terhadap aktivitas enzim kitinase *T. harzianum* hasil iradiasi (Tabel 3) menunjukkan bahwa interaksi antara dosis iradiasi dan waktu inkubasi memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas enzim pada dinding sel *F. oxysporum*. Begitu juga dengan perlakuan dosis iradiasi yang memberikan pengaruh nyata, sedangkan untuk perlakuan waktu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat nyata.

**Tabel 2.** Analisis variansi persentase penghambatan *F. oxysporum* oleh *T. harzianum*

Sumber ragam	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel 5%	F Tabel 1%
Perlakuan	4	101,835	25,45876	2,045153 <sup>ns</sup>	3,48	5,98
Galat	10	124,4834	12,44834			
Total	14	3,166973				

Keterangan: ns = berbeda tidak nyata

**Tabel 3.** Analisis variansi aktivitas kitinase *T. harzianum* yang diiradiasi dengan dosis 0,25–1 kGy

Sumber ragam	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel 5%	F Tabel 1%
Perlakuan	14	32,906	2,350	3,336**	2,04	2,74
Dosis	4	8,673	2,168	3,077*	2,69	4,02
Waktu inkubasi	2	11,390	5,695	8,082**	3,22	5,39
Interaksi	8	12,843	1,605	2,278*	2,27	3,17
Galat	30	21,140	0,705			
Total	44	54,046				

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata; \* = berbeda nyata

Hasil uji BNT (Tabel 4) menunjukkan bahwa rata-rata aktivitas enzim kitinase karena pengaruh iradiasi sinar gamma dan waktu inkubasi yang digunakan. Aktivitas enzim kitinase yang dihasilkan oleh *T. harzianum* rata-rata berkisar antara 0,002  $\mu\text{mol/jam}$  sampai 0,023  $\mu\text{mol/jam}$ .

**Tabel 4.** Hasil uji BNT aktivitas kitinase *T. harzianum* yang diiradiasi dengan dosis 0,25–1 kGy

Perlakuan	Rata-rata	0,05	0,01
T <sub>0</sub> W <sub>1</sub>	0,378	e	d
T <sub>0</sub> W <sub>2</sub>	0,378	e	d
T <sub>0</sub> W <sub>3</sub>	3,062	e	a
T <sub>1</sub> W <sub>1</sub>	1,434	bede	abcd
T <sub>1</sub> W <sub>2</sub>	1,434	bede	abcd
T <sub>1</sub> W <sub>3</sub>	2,358	ab	abc
T <sub>2</sub> W <sub>1</sub>	0,730	de	cd
T <sub>2</sub> W <sub>2</sub>	2,534	ab	abc
T <sub>2</sub> W <sub>3</sub>	1,786	abcd	abcd
T <sub>3</sub> W <sub>1</sub>	0,334	e	d
T <sub>3</sub> W <sub>2</sub>	0,906	cde	bcd
T <sub>3</sub> W <sub>3</sub>	1,522	Bcde	abcd
T <sub>4</sub> W <sub>1</sub>	1,830	abcd	abcd
T <sub>4</sub> W <sub>2</sub>	2,666	ab	ab
T <sub>4</sub> W <sub>3</sub>	2,138	abc	abcd

Keterangan:

Angka yang diikuti huruf yang sama pada tiap kolom menunjukkan perbedaan yang tidak nyata

$\text{BNT}_{0,05} = 2,042 \times 0,4698 \rightarrow 1,400$ ;  $\text{BNT}_{0,01} = 2,75 \times 0,4698 \rightarrow 1,885$

**Tabel 5.** Uji BNT pengaruh dosis iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 yang berbeda terhadap aktivitas kitinase *T. harzianum* pada media cair yang mengandung kitin sebagai satu-satunya sumber karbon

Dosis iradiasi	Rata-rata	0,05	0,01
T0 (0 kGy)	1,273	cb	ab
T1 (0,25 kGy)	1,742	ac	ab
T2 (0,5 kGy)	1,683	ab	ab
T3 (0,75 kGy)	0,921	b	b
T4 (1kGy)	2,211	a	a

Keterangan:

Angka yang diikuti huruf yang sama pada tiap kolom menunjukkan perbedaan yang tidak nyata

$\text{BNT}_{0,05} = 2,042 \times 0,3958 \rightarrow 1,8082$ ;  $\text{BNT}_{0,01} = 2,75 \times 0,3958 \rightarrow 1,88$

Dosis iradiasi sinar gamma yang digunakan berpengaruh nyata terhadap peningkatan kemampuan *T. harzianum*

dalam menghasilkan enzim kitinase. Hasil uji BNT (Tabel 5) diketahui bahwa dosis iradiasi sinar gamma yang paling baik dalam menghasilkan enzim kitinase adalah 1 kGy (T4).

Peningkatan aktivitas enzim kitinase *T. harzianum* yang terjadi pada dosis 1 kGy, disebabkan dosis yang diberikan merupakan dosis yang tertinggi yang menyebabkan cendawan akan mengalami kerusakan sel yang lebih besar sehingga cendawan tersebut memproduksi enzim yang lebih besar, oleh karena itu akan meningkatkan aktivitas enzimatik. Hal ini disebabkan perubahan yang terjadi pada struktur sel akibat iradiasi masih dalam batas toleransi sehingga *T. harzianum* masih mampu untuk memperbaiki kerusakan selnya. Dalam proses penyembuhan bagian sel yang rusak akibat iradiasi, cendawan memerlukan energi yang lebih jauh lebih besar daripada kebutuhan normalnya. Suwadji (1980) menyatakan bahwa kerusakan sel akibat iradiasi dapat memengaruhi metabolisme sel terutama dalam menggunakan substrat tempat tumbuhnya serta pada perubahan hasil metabolisme. Pelczar dan Reid (1985) menambahkan bahwa perubahan hasil metabolisme berdampak pada kemampuan fermentasi, jika kerusakan dapat diperbaiki maka daya fermentasi dapat lebih meningkat.

Berdasarkan analisis variansi pada Tabel 3, dapat dilihat bahwa waktu inkubasi berpengaruh sangat nyata terhadap peningkatan aktivitas kitinase *T. harzianum*. Hasil uji BNT (Tabel 6) diketahui bahwa aktivitas enzim kitinase tertinggi pada waktu inkubasi 6 hari (W3).

**Tabel 6.** Uji BNT pengaruh waktu inkubasi yang berbeda terhadap aktivitas kitinase *T. harzianum* Pada media cair yang mengandung kitin sebagai satu-satunya sumber karbon

Dosis iradiasi	Rata-rata	0,05	0,01
W1	0,942	c	c
W2	1,584	c	b
W3	2,174	a	a

Keterangan:

Angka yang diikuti huruf yang sama pada tiap kolom menunjukkan perbedaan yang tidak nyata

$\text{BNT}_{0,05} = 2,042 \times 0,3958 \rightarrow 1,192$ ;  $\text{BNT}_{0,01} = 2,75 \times 0,3958 \rightarrow 0,258$

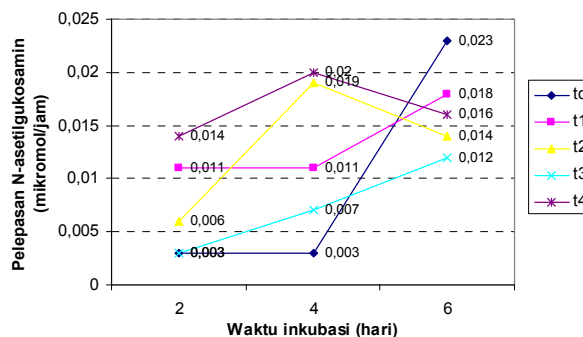
Aktivitas enzim kitinase yang bervariasi erat kaitannya dengan ketersediaan substrat di dalam medium pertumbuhannya. Jika substrat cukup tersedia maka enzim kitinase akan dipacu untuk melakukan perombakan substrat. Perombakan substrat akan berlangsung terus dengan bertambahnya waktu inkubasi, sampai substrat yang tersedia habis.

Pada waktu inkubasi 6 hari substrat di dalam medium masih cukup tersedia sehingga proses perombakan substrat masih terus berlangsung dan mungkin cendawan tersebut baru memasuki fase pertumbuhan cepat sehingga kondisi tersebut masih dapat untuk mendukung pertumbuhan dan aktivitas enzim kitinase. Salah satu faktor yang menunjang pertumbuhan *T. harzianum* serta produksi enzim dengan aktivitas tinggi adalah waktu inkubasi. Thenawidjaja (1986) menyatakan bahwa enzim kitinase yang dihasilkan oleh cendawan meningkat pada awal inkubasi, karena ketersediaan sumber nutrisi di dalam medium masih cukup terjamin, sehingga cendawan dapat melakukan metabolisme dengan baik dan dapat memproduksi enzim dengan aktivitas terbaik.

Interaksi dosis iradiasi dengan waktu inkubasi berpengaruh nyata terhadap peningkatan aktivitas enzim kitinase (Tabel 3). Berdasarkan grafik aktivitas enzim kitinase (Gambar 2) dapat terlihat bahwa *T. harzianum* hasil iradiasi sinar gamma dengan dosis yang berbeda dapat meningkatkan aktivitas enzim kitinase selama waktu inkubasi 2 dan 4 hari, dosis terbaiknya adalah 1 kGy. Hal ini disebabkan efek dari iradiasi yang mampu untuk menginduksi cendawan tersebut sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim kitinase yang tinggi dibandingkan dengan yang tidak diiradiasi, serta waktu inkubasi yang diperlukan relatif lebih pendek.

Adanya peningkatan aktivitas enzim akibat iradiasi menurut Clark (1967) disebabkan karena iradiasi telah merusak struktur sel, sehingga menyebabkan enzim yang terdapat pada struktur internal yang bersingungan secara langsung dengan substrat. Hal ini dapat menyebabkan perubahan fisiologis sel, seperti peningkatan aktivitas enzim yang cukup besar.

*T. harzianum* yang tidak diiradiasi pada waktu inkubasi 2 hari aktivitas kitinasenya rendah, sedangkan *T. harzianum* yang diiradiasi dengan dosis 1 kGy (T4) menunjukkan aktivitas kitinase tertinggi. Interaksi antara waktu inkubasi dan dosis iradiasi memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan aktivitas kitinase *T. harzianum*. Hal ini dikarenakan ketersediaan sumber nutrisi dalam medium masih cukup pada awal inkubasi sehingga cendawan dapat melakukan metabolisme dengan baik. Selain itu dosis



**Gambar 2.** Grafik aktivitas kitinase *T. harzianum* yang diiradiasi dengan dosis berbeda pada beberapa lama inkubasi

iradiasi yang diberikan merupakan dosis yang dapat ditoleransi, di mana kerusakan-kerusakan pada sel masih dapat diperbaiki sehingga memberikan stimulasi terhadap peningkatan aktivitas kitinasenya.

Pada waktu inkubasi hari ke-4 aktivitas kitinase *T. harzianum* yang tidak diiradiasi (kontrol) tidak menunjukkan peningkatan, sementara yang diiradiasi menunjukkan peningkatan aktivitas kitinase. Apabila dibandingkan dengan dosis 0,25 kGy dan 0,75 kGy aktivitas kitinase *T. harzianum* lebih tinggi pada dosis 0,5 kGy dan 1 kGy. Hasil ini menunjukkan bahwa ada kemungkinan kecepatan peningkatan aktivitas kitinase terjadi pada dosis-dosis tertentu, tidak selalu mengikuti interval peningkatan dosisnya. Interaksi waktu inkubasi dan dosis iradiasi menyebabkan adanya peningkatan aktivitas kitinase, hal ini dikarenakan pada awal inkubasi *T. harzianum* mengalami fase adaptasi dengan substrat sehingga terjadi “*self repairing*” akibat dari iradiasi dan memanfaatkan substrat untuk dapat memproduksi enzim yang lebih banyak sehingga aktivitas enzimnya meningkat. Darwis *et al.* (1993), Menambahkan bahwa produksi enzim yang berlangsung selama pertumbuhan cepat dapat mencapai maksimum dalam jangka waktu tertentu kemudian mengalami penurunan perlahan-lahan atau cepat setelah terjadi akumulasi enzim.

Aktivitas kitinase *T. harzianum* yang tidak diiradiasi pada waktu inkubasi hari ke-6 menunjukkan aktivitasnya maksimal, hal ini terjadi karena telah memasuki pertumbuhan cepat dan selanjutnya akan memasuki fase pertumbuhan yang tetap. *T. harzianum* yang diiradiasi dengan dosis 0,5 kGy dan 1 kGy pada inkubasi hari ke-6 mengalami penurunan aktivitasnya karena telah melewati fase pertumbuhan cepat dan akan memasuki fase pertumbuhan tetap sebab nutrisi yang tersedia mungkin telah habis sehingga akan mengakibatkan penurunan aktivitas enzimatis. Sedangkan *T. harzianum* yang diiradiasi

dengan dosis 0,25 kGy dan 0,75 kGy menunjukkan peningkatan aktivitas kitinasenya namun secara perlahan, hal ini dapat terjadi karena dosis yang diberikan pada waktu inkubasi 6 hari masih dapat untuk menstimulasi peningkatan aktivitas enzim kitinasenya. Dengan demikian interaksi waktu inkubasi dan dosis iradiasi dapat menunjukkan bahwa dengan adanya iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 dapat meningkatkan enzim kitinasenya meskipun masih berada dalam fase pertumbuhan adaptasi.

## PEMBAHASAN

Masih rendahnya kisaran dosis iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 dan daya tahan *T. harzianum* terhadap iradiasi diduga berperan terhadap tanggapan cendawan terhadap perlakuan yang dicoba, sehingga diketahui bahwa pertumbuhan *T. harzianum* dan kemampuan penghambatannya terhadap cendawan patogen *F. oxysporum* tidak terpengaruh oleh radiasi, sedangkan aktivitas enzim kitinasenya, waktu inkubasi dan interaksi keduanya dipengaruhi oleh dosis iradiasi.

Efek radiasi tergantung pada jenis, dosis, dan cara radiasi di satu pihak dan bahan yang diiradiasi di lain pihak. Dengan adanya sinar mengionisasi di samping keuntungan yang diperoleh ada juga kerugiannya, khususnya radiasi dengan dosis tinggi. Penyinaran dengan dosis tinggi terhadap jasad hidup dapat mengakibatkan kerusakan sel, sehingga sel-sel tersebut tidak dapat menghasilkan zat-zat yang dibutuhkan untuk berlangsungnya suatu kehidupan (Soeseno, 1973).

Mikroorganisme akan kehilangan kesanggupan membelah diri akibat perubahan yang ditimbulkan oleh radiasi pengion sinar gamma. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap mikroba dapat terjadi secara langsung ataupun tidak langsung. Radiasi sinar gamma bekerja secara langsung mengionisasikan DNA, sedangkan pengaruh radiasi sinar gamma secara tidak langsung akan menyebabkan terjadinya benturan sinar gamma dengan air. Timbulnya benturan ini menyebabkan pecahnya molekul air menjadi radikal hidrogen (\*H) dan radikal hidroksil (\*OH) yang sangat bersifat reaktif (Anonim, 2004).

Radiasi kapang akan menyebabkan perubahan struktur di dalam rantai DNA akibat putusnya rantai tunggal/ganda yang dapat bergabung kembali pada proses replikasi atau terjadi mutasi. Daya tahan kapang terhadap radiasi menurut Siagian (1980) dipengaruhi oleh faktor genetis masing-masing kapang. Faktor genetis tersebut berhubungan dengan banyak atau sedikitnya kandungan guanin-sitosin dalam DNA-nya. Semakin tinggi persentase kandungan

Guanin dan Sitosin pada DNA, maka mikroorganisme tersebut makin tahan terhadap radiasi.

Sebagai kesimpulan dari penelitian ini di antaranya, bahwa dosis iradiasi gamma isotop cobalt-60 antara 0,25–1 kGy ternyata tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan *T. harzianum* dan kemampuannya dalam menghambat cendawan patogen tanaman *F. oxysporum*. Namun, dosis iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 antara 0,25–1 kGy dan lama waktu inkubasi memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas enzim kitinase dari cendawan *T. harzianum* saat diuji aktivitas enzimatisnya pada materi dinding sel cendawan patogen tanaman *F. oxysporum*.

Menyimak kesimpulan di atas maka perlu kiranya dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap *T. harzianum* dengan menggunakan dosis iradiasi sinar gamma isotop Cobalt-60 yang lebih tinggi supaya dapat diperoleh dosis yang optimal untuk meningkatkan aktivitas enzim kitinasenya.

## KEPUSTAKAAN

- Anonim, 2004. Radiation Effect on Life. <http://www.science.uwaterloo.ca/~cchieh/cact/nuctek/safetyeffect.html>
- Clark GL, 1967. *The Encyclopedia of X-Rays and Gamma Rays*. Reinhold Publishing Co, New York.
- Chet I, dan Sivan A, 1989. *Cell Wall Composition of Fusarium oxysporum*. Department of Plant Pathology and Microbiology, The Faculty of Agriculture, The Hebrew University of Jerusalem, Israel.
- Chu SB, dan Alexander M, 1970. Resistance and Susceptibility of Fungal Spores to Lyses. *Transactions of The British Mycological Society*. 58: 489–92.
- Darwis A, Sailah A, Irawadi I, dan Safriasni TT, 1993. Kajian Kondisi Fermentasi pada Produk Selulose dari Limbah Kelapa Sawit (Tandan Kosong dan Sabut) oleh *Neurospora sitophila*. Fakultas Pertanian IPB, Bogor.
- Hilmy N, 1980. *Penentuan Dosis Radiopasteurisasi dan Radiosterilisasi*. PAIR-BATAN, Jakarta.
- Hermana, 1991. *Iradiasi Makanan*. Penerbit ITB, Bandung. 11–3.
- Kustiono SA, 1994. Dosimetri. *Buku Panduan Petugas Proteksi Radiasi*. Pusat Pendidikan dan Latihan BATAN, Jakarta.
- Lydia A, Sjarief SH, Sutarmi A, dan Sudrajad D, 1994. Pengaruh Kapang Iradiasi untuk Produksi Glukosa dari Tepung sagu. *Majalah BATAN*. 27: 3–4, 25–34.
- Mehrotra RS, Aneja KR, Gupta AK, dan Anggarwa A, 1986. Fungi Agents of Biological Control. Dalam Mukerji KG, dan Garg KL. (eds.). *Biological of Plant Disease Volume I*. CRC Press, Inc Bosca Raton Florida.
- Mumpuni A, 1996. Interaction Between *Trichoderma harzianum* Rifai and *Agaricus bisporus* (Langge) imbach. Master of Philosophy Thesis, Faculty of Agriculture and Food Science-The Queen's University of Belfast.

- Myrath JM, Bahn, Han HE, dan Atman H, 1971. Induction of Amylase Producing Mutants in *Aspergillus oryzae* by Different irradiation. *Radiation and Radioisotop for Industrial Microorganism*. IAEA, Vienna. 137–55.
- Papavizas GC, 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium* Biology, Ecology and Potential for Biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*. 23: 23–54.
- Pelczar MJ, dan Reid T, 1985. *Microbiology*. Mc-Graw Hill Book Co. Inc., New York.
- Reissig JL, Strominger JL, dan Leloir LF, 1955. A modified colorimetric method for the estimation of N-acetylamino sugars. *J. Biol. Chem.* 217: 959–66.
- Sardjono dan Wibowo D, 1987. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.
- Siagian EC, 1980. *Mikrobiologi Dasar*. Pusklat BATAN, Jakarta.
- Sinaga R, 1998. Penggunaan Iradiasi Untuk Memperpanjang Daya Simpan Pisang dan Tomat. Presentasi Ilmiah 26 Feb 1998. PAIR-BATAN, Jakarta.
- Sinaga R, 2000. Pemanfaatan Teknologi Iradiasi dalam Pengawetan Makanan. *Prosiding 2 Seminar Ilmiah Nasional dalam Rangka Lustrum IV* Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Penerbit MEDIKA, Yogyakarta, 2–7.
- Skidmore AM, 1976. Interaction and Relation to Biological Control of Plant Pathogens. Dalam Dickinson CH., dan Preece TF. (eds). *Microbiology of Aerial Plant Surface*. Academic Press, London.
- Soeminto B, 1985. *Manfaat Tenaga Atom untuk Kesejahteraan Manusia*. CV Karya Indah, Jakarta, 23-41; 125–130.
- Soeseno H, 1973. Radiasi Stimulasi pada Perlakuan Biji, dalam *Aplikasi Radioisotop BATAN*, Jakarta, 212–217.
- Sudaryati YS, dan Djajasukma E, 1990. *Pengaruh Iradiasi Sinar Neutron terhadap Produksi Enzim Selulase dan Amilase oleh Aspergillus niger pada Media Dedak*. BATAN, Jakarta.
- Suwadji E, 1980. *Pengaruh Lingkungan Substrat pada Proses Kematian Mikroorganisme Akibat Radiasi Sterilisasi*. PAIR-BATAN, Jakarta.
- Suwahyono U, dan Wahyudi P, 2001. *Trichoderma harzianum dan Aplikasinya: Penelitian dan Pengembangan Agen Pengendali Hayati*. Direktorat Teknologi Bioindustri BPPT, Jakarta.
- Tamada M, Kasai N, dan Kaetsu I, 1987. Effects of Gamma Ray Irradiation on Cellulase Secretion of *Trichoderma reesei*. *J. Ferment Technol.* 65(6): 703.
- Thenawidjaja M, 1986. Sintesis Enzim-enzim Pemecah Pati pada Fermentasi *Aspergillus niger* dengan Suplementasi Berbagai Limbah Hasil Pertanian. *Lap. Pengembangan Penelitian*, IPB-Bogor.
- Wahyudi P, Tambunan J, dan Abraham S, 2000. *Direktori potensi Mikroorganismen*. Jilid I Agen biokontrol & Biopestisida. Direktorat Teknologi Bioindustri BPPT, Jakarta.
- Wiyono S, 1994. Keefektifan *Gliocladium fimbriatum* Gilman dan Abbot terhadap Patogen Busuk Batang pada Kedelai dan Toleransinya terhadap Pestisida. *Jurnal Bul. HPT*. 7 (1): 5–10.

Reviewer: **Dr. Ir. Tini Surtiningsih, DEA**