



Pembuatan Mutan *Trichoderma* sp., yang Tahan Terhadap N dan P Tinggi serta pH Rendah dengan Menggunakan Irradiasi Sinar Gamma dan Ethyl Methane Sulfonate (EMS)



Merry Indriyati Karosekali¹⁾, Novisha Kurnia Utami¹⁾,Radix Suharjo²⁾,Yuyun Fitriana²⁾, Maria Viva Rini²⁾, Kuswanta Futas Hidayat²⁾, Fransiska Dina Marlinawati³⁾, Fransiskus Ellyando Sinaga³⁾ ¹⁾Mahasiwi Magister Agronomi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung; ²⁾ Staff Pengajar Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Lampung; ³⁾Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

E-mail: radix_suharjo@yahoo.com



Eksplorasi isolat Jamur *Trichoderma* sp., dari alam seringkali menghadapi kemampuan adaptasi pada lingkungan daya antagonis yang tidak sesuai dengan keinginan. Salah satu teknologi dalam upaya memperbaiki sifat antagonis *Trichoderma* sp. tersebut adalah diinduksi menggunakan sinar Gamma dan perendaman dalam larutan Ethyl Methane Sulfonate (EMS) untuk menghasilkan mutan *Trichoderma* sp. yang memiliki daya adaptasi lingkungan dan daya antagonis yang lebih baik.

Penyiapan suspensi jamur Trichoderma sp.

- Isolat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 4 isolat terpilih (T1 – T4) hasil seleksi 45 isolat yang telah dilakukan sebelumnya
- Sebelum dilakukan irradiasi terlebih dilakukan pemanenan isolat menggunakan 0,1% tween 80.

Irradiasi Sinar Gamma

- 4 isolat *Trichoderma* sp. terpilih, diirradiasi dengan dosis 0, 30, 100, 300, 1000, dan 3000 Gy. Setelah radiasi, petri kemudian diinkubasi pada ruang gelap selama 24 jam (T=20°C)
- Setiap isolat yang sudah diberi perlakuan mutan ditumbuhkan dalam berbagai kondisi kombinasi media yaitu P 18000 ppm; (3) N 1500 ppm. (1) pH 2; (2)

Ethyl Methane Sulfonate (EMS)

- Pelet spora *Trichoderma* sp., direndam di dalam EMS dengan konsentrasi 1% dan1,5% masing -masing selama l dan 2 jam pada suhu ruang. Setelah itu disentrifus (r=3000 rpm, t=10 menit), kemudian dicuci dengan phosphate buffer steril sebanyak 2 kali, spora diinkubasi pada ruang gelap selama 24 jam (T=20°C)
- Setiap isolat yang sudah diberi perlakuan mutan ditumbuhkan dalam berbagai kondisi kombinasi media yaitu (1) pH 2; (2) P 18000 ppm; (3) N 3000 ppm.



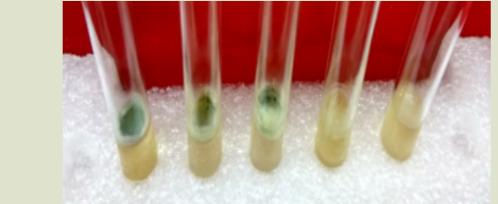
Irradiasi Sinar Gamma

Mutan dengan Irradiasi Sinar Gamma

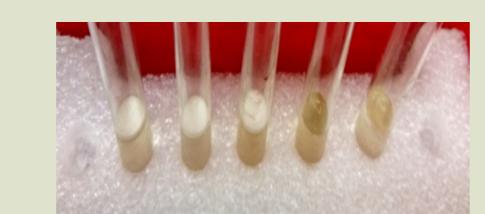
- Didapatkan 45 isolat yang mampu tumbuh pada media PDB dengan konsentrasi N tinggi (1500 ppm) dan 54 isolat Pada media dengan pH rendah (2) (Tabel 1).
- Pertumbuhan *Trichoderma* sp., pada media PDB dengan konsentrasi P tinggi (18.000 ppm) hanya berupa hifa berwarna putih tanpa menghasilkan spora.
- Trichoderma sp., terduga mutan memiliki kemampuan tumbuh yang lebih cepat dibandingkan dengan *Trichoderma* sp., *wild type*.
- Trichoderma sp., terduga mutan memiliki warna koloni yang berbeda dibandingkan dengan wild type pada media PDA.

Tabel 1. Jumlah Isolat *Trichoderma* sp., Terduga

		Jumlah Isolat <i>Trichoderma</i> sp., Terduga Mutan Pada Perlakuan Media				
Kode	Dosis Irradiasi					
Isolat	(Gray)	N	Р	рН		
	30	6	-	6		
T1	100	4	-	6		
	300	4	-	6		
	1000	1	-	-		
Kontrol T1	-	-	-	-		
	30	6	-	6		
T2	100	-	-	6		
	300	5	-	6		
	1000	1	-	-		
Kontrol T2	-	-	-	-		
	30	6		-		
	100	5		1		
T3	300	5		-		
	1000	1		-		
Kontrol T3	-	-	-	-		
	30	6		6		
T4	100	5		4		
	300	6		6		
	1000	3		1		
Kontrol T4	rol T4 -		-	-		
Jun	nlah	61	-	54		



Trichoderma sp., terduga mutan (N1500 ppm)



Trichoderma sp., terduga mutan (P 18.000 ppm)



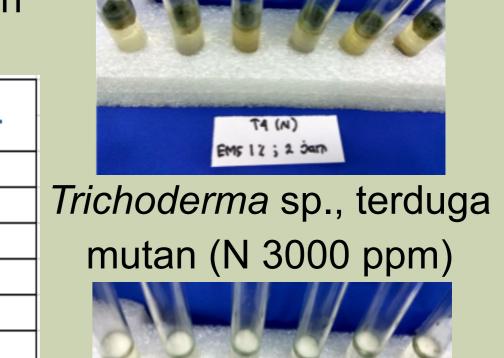
Trichoderma sp., terduga mutan (pH=2)

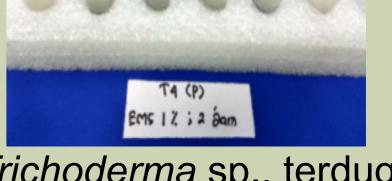
Ethyl Methane Sulfonate (EMS)

- Didapatkan 70 isolat *Trichoderma* sp., terduga mutan, yang tumbuh pada media dengan konsentrasi N tinggi (3000 ppm) (Tabel 2).
- Pertumbuhan *Trichoderma* sp., pada media dengan konsentrasi P tinggi (18.000 ppm) dan dengan konsentrasi pH rendah (2) hanya berupa hifa berwarna putih tanpa menghasilkan spora.
- Kecepatan pertumbuhan jamur *Trichoderma* sp., pada konsentrasi EMS 1 dan 1,5% dengan perendaman masing konsentarsi 1 dan 2 jam disetiap perlakuan media tidak menunjukkan perbedaan.

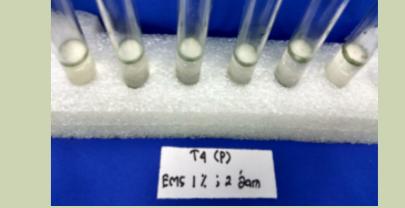
Tabel.2 Jumlah Isolat *Trichoderma* sp., Terduga Mutan dengan Perlakuan EMS

C					
Kode	Konsentrasi		Jumlah Isolat <i>Trichoderma</i> sp., Terduga Mutan Pada Perlakuan Media		
Isolat EMS		Perendaman			
	(%)	(Jam)	N	Р	рН
T1	1	1	5	-	-
		2	5	-	-
	1.5	1	5	•	•
		2	5	-	-
	Kontrol			-	-
T2	1	1	3	-	-
		2	3	-	-
	1.5	1	-	-	-
		2	3	-	-
	Kontrol			-	-
T3	1	1	4	-	-
		2	4	-	-
	1.5	1	4	-	-
		2	5	-	-
	Kontrol			-	-
T4	1	1	6	-	-
		2	6	-	-
	1.5	1	6	-	-
		2	6	-	-
	Kontrol			-	-
	Jumlah		70	-	-





Trichoderma sp., terduga mutan (P 18.000 ppm)

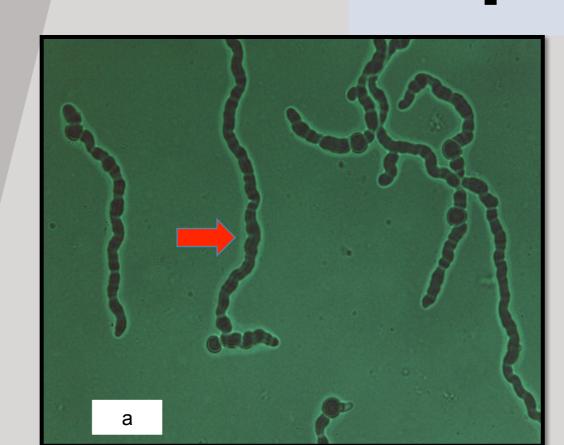


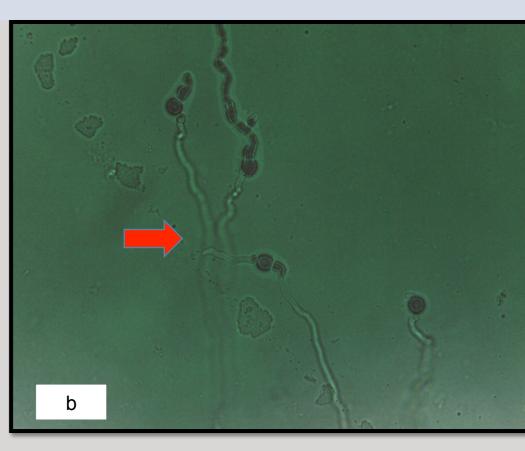
Trichoderma sp., terduga mutan (pH=2)

Koloni *Trichoderma* sp., terduga mutan VS wild type



Koloni Isolat *Trichoderma* sp., T1 ,T3,dan T4 beserta *wild typenya* pada media PDA





Spora Trichoderma sp.,

Spora Isolat *Trichoderma* sp., (a) Terduga Mutan (b) *Wild Type*

ESIMPULAN

- Didapatkan 99 Isolat *Trichoderma* sp., terduga mutan pada Irradiasi sinar Gamma, 45 Isolat *Trichoderma* sp., tahan pada N 1500 ppm dan 54 Isolat *Trichoderma* sp., tahan pH 2.
- Didapatkan 70 Isolat *Trichoderma* sp., terduga mutan pada perlakuan EMS yang tahan pada N 3000 ppm.