

Pengaruh Iradiasi Gamma Dosis Rendah Terhadap Peningkatan Aktivitas Enzim Selulase *Trichoderma harzianum*

Fitra Adi Prayogo*¹, Nana Mulyana²

¹Universitas Karya Husada Semarang,

²Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BRIN

*Email: fitraadi@unkaha.ac.id

Abstract

*This study aims to determine the effect of low-dose gamma irradiation on increasing cellulase enzyme activity from *Trichoderma harzianum*. The study used a Completely Randomized Design (CRD) with five gamma irradiation dose treatments: 0 Gy (control), 50 Gy, 150 Gy, 250 Gy, and 350 Gy, each with three replicates. The variables measured included viability, cellulase enzyme activity, and fungal biomass. The results showed that gamma irradiation significantly affected cellulase enzyme activity ($F=395.06$; $p<0.001$). The highest enzyme activity was found at a dose of 250 Gy with a value of 1.5097 ± 0.0338 U/ml, showing a 30.0-fold increase compared to the control (0.0503 ± 0.0001 U/ml). However, higher irradiation doses caused a significant decrease in viability and fungal biomass. At a dose of 250 Gy, viability decreased from $36.33\pm0.88\times10^7$ cfu/ml (control) to $1.00\pm0.00\times10^7$ cfu/ml (97.2% decrease), while biomass decreased from 223.63 ± 3.50 g/L to 38.83 ± 11.14 g/L (82.6% decrease). This study concludes that low-dose gamma irradiation, particularly at 250 Gy, can effectively increase cellulase enzyme production from *T. harzianum* with a 173-fold increase in specific activity, making it highly promising for industrial applications despite impacts on fungal viability and biomass.*

Keywords: Gamma irradiation, *Trichoderma harzianum*, cellulase enzyme, viability, biomass, mutagenesis

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma dosis rendah dalam meningkatkan aktivitas enzim selulase dari *Trichoderma harzianum*. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dosis iradiasi gamma yaitu 0 Gy (kontrol), 50 Gy, 150 Gy, 250 Gy, dan 350 Gy, masing-masing dengan tiga ulangan. Variabel yang diukur meliputi viabilitas, aktivitas enzim selulase, dan biomassa kapang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa iradiasi gamma berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas enzim selulase ($F=395,06$; $p<0,001$). Aktivitas enzim tertinggi ditemukan pada dosis 250 Gy dengan nilai $1,5097\pm0,0338$ U/ml, menunjukkan peningkatan 30,0 kali lipat dibandingkan kontrol ($0,0503\pm0,0001$ U/ml). Namun, dosis iradiasi yang lebih tinggi menyebabkan penurunan signifikan pada viabilitas dan biomassa kapang. Pada dosis 250 Gy, viabilitas menurun dari $36,33\pm0,88\times10^7$ cfu/ml (kontrol) menjadi $1,00\pm0,00\times10^7$ cfu/ml (penurunan 97,2%), sedangkan biomassa menurun dari $223,63\pm3,50$ g/L menjadi $38,83\pm11,14$ g/L (penurunan 82,6%). Penelitian ini menyimpulkan bahwa iradiasi gamma dosis rendah, khususnya pada 250 Gy, dapat meningkatkan produksi enzim selulase dari *T. harzianum* secara efektif dengan peningkatan aktivitas spesifik sebesar 173 kali lipat, sehingga sangat berpotensi untuk aplikasi industri meskipun berdampak pada viabilitas dan biomassa kapang.

Kata Kunci: Iradiasi gamma, *Trichoderma harzianum*, enzim selulase, viabilitas, biomassa, mutagenesis

PENDAHULUAN

Enzim selulase merupakan salah satu enzim penting yang berperan dalam proses degradasi selulosa menjadi komponen yang lebih sederhana. Enzim ini diproduksi oleh berbagai mikroorganisme, termasuk fungi *Trichoderma harzianum*, yang dikenal memiliki kemampuan tinggi dalam menghasilkan enzim selulolitik (Bhat & Bhat, 2016; Gupta et al., 2016). Kapasitas *T. harzianum* dalam mendegradasi lignoselulosa menjadikannya organisme yang potensial untuk aplikasi industri, khususnya dalam produksi bioetanol, industri kertas, tekstil, dan pakan ternak (Singh et al., 2017; Chapman et al., 2018).

Seiring dengan perkembangan teknologi dan meningkatnya kebutuhan industri terhadap enzim selulase, diperlukan strategi untuk meningkatkan produksi enzim tersebut secara signifikan. Salah satu pendekatan yang telah terbukti efektif adalah pemanfaatan teknik mutasi menggunakan iradiasi gamma (Kostyleva et al., 2017; Reyes-Olivas et al., 2024). Iradiasi gamma merupakan radiasi elektromagnetik berenergi tinggi yang dapat menginduksi mutasi pada tingkat genetik mikroorganisme, sehingga menghasilkan strain mutan dengan karakteristik yang lebih baik, termasuk peningkatan produksi enzim (Indrawati et al., 2019; El-Batal et al., 2013).

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa iradiasi gamma dapat meningkatkan produksi enzim pada berbagai mikroorganisme. Abo Elsoud & Al-Hagar (2023) melaporkan bahwa *Aspergillus flavus* yang diiradiasi dengan dosis optimal menghasilkan peningkatan aktivitas selulase hingga 510,69%. Studi oleh Hidayati et al. (2021) menunjukkan bahwa mutasi iradiasi gamma pada *Trichoderma sp* PK1J2 meningkatkan produksi selulase sebesar 90%. Penelitian Ahmad et al. (2023) juga mengkonfirmasi bahwa iradiasi gamma efektif dalam meningkatkan produksi enzim pada berbagai strain bakteri dan fungi.

Meskipun telah ada berbagai penelitian tentang iradiasi gamma pada fungi penghasil enzim, penelitian spesifik mengenai pengaruh iradiasi gamma dosis rendah terhadap *T. harzianum* masih terbatas. Dosis rendah iradiasi gamma (di bawah 500 Gy) dianggap lebih aman dan ekonomis untuk aplikasi industri, serta dapat meminimalkan kerusakan sel yang berlebihan (Ahmad et al., 2023; Indrawati et al., 2019).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh iradiasi sinar gamma dosis rendah (0 Gy, 50 Gy, 150 Gy, 250 Gy, dan 350 Gy) terhadap peningkatan aktivitas enzim selulase, viabilitas, dan biomassa *Trichoderma harzianum*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan teknologi produksi enzim selulase yang lebih efisien untuk memenuhi kebutuhan industri yang terus meningkat.

RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah: Bagaimana pengaruh iradiasi sinar gamma dosis rendah terhadap aktivitas enzim selulase, viabilitas, dan biomassa *Trichoderma harzianum*?

TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh iradiasi sinar gamma dosis rendah dalam meningkatkan aktivitas enzim selulase dari kapang *T. harzianum*, serta dampaknya terhadap viabilitas dan biomassa kapang.

LANDASAN TEORI

Trichoderma harzianum

Trichoderma harzianum merupakan jamur filamen yang termasuk dalam divisi Ascomycota, kelas Sordariomycetes, ordo Hypocreales, dan famili Hypocreaceae (Contreras-Cornejo et al., 2016). Jamur ini tersebar luas di berbagai ekosistem tanah dan dikenal memiliki kemampuan

mikoparasitik, yaitu kemampuan untuk menjadi parasit bagi jamur lain (Saravanakumar et al., 2017).

Secara morfologi, *T. harzianum* memiliki konidiofor bercabang tidak beraturan dengan konidia berbentuk jorong bersel satu yang tersusun dalam kelompok kecil terminal. Koloni jamur ini pada media agar awalnya berwarna putih, kemudian berubah menjadi hijau seiring dengan pembentukan konidia (Kubicek et al., 2019). Pertumbuhan optimal *T. harzianum* terjadi pada suhu 25-30°C dan pH 5,0-6,0 (Singh et al., 2018).

Aktivitas Selulolitik *Trichoderma harzianum*

Trichoderma harzianum merupakan salah satu jamur yang memiliki aktivitas selulolitik tinggi, yaitu kemampuan untuk menghasilkan enzim selulase yang dapat mendegradasi selulosa (Behera et al., 2017). Sistem enzim selulase yang diproduksi oleh *T. harzianum* terdiri dari tiga komponen utama: endo- β -1,4-glukanase (EC 3.2.1.4), ekso- β -1,4-glukanase atau selobiohidrolase (EC 3.2.1.91), dan β -glukosidase (EC 3.2.1.21) (Sajith et al., 2016).

Enzim Selulase

Enzim selulase merupakan kumpulan enzim yang bekerja secara sinergis untuk menghidrolisis selulosa menjadi gula sederhana. Selulase termasuk dalam kelompok glikosil hidrolase yang mengkatalisis pemecahan ikatan β -1,4-glikosidik dalam rantai selulosa (Bilal et al., 2018). Produksi enzim selulase oleh mikroorganisme umumnya bersifat induktif, artinya sintesis enzim dirangsang oleh keberadaan substrat selulosa atau produk hidrolisisnya seperti selobiosa (Schmoll et al., 2016).

Iradiasi Sinar Gamma

Iradiasi gamma merupakan radiasi elektromagnetik berenergi tinggi yang dihasilkan dari peluruhan inti radioaktif, umumnya Cobalt-60 (^{60}Co) atau Cesium-137 (^{137}Cs) (Kume et al., 2009). Sinar gamma memiliki energi foton sebesar 1,17

MeV dan 1,33 MeV untuk ^{60}Co , dengan daya penetrasi yang tinggi sehingga dapat menembus material biologis (Roberts, 2016).

Mekanisme kerja iradiasi gamma pada sel mikroorganisme terjadi melalui dua jalur: efek langsung dan efek tidak langsung (Sukeerthi et al., 2024). Dosis iradiasi yang digunakan sangat menentukan efek biologis yang ditimbulkan. Dosis rendah (di bawah 500 Gy) umumnya digunakan untuk induksi mutasi tanpa menyebabkan kematian massal sel, sedangkan dosis tinggi (di atas 10 kGy) digunakan untuk sterilisasi (Sukeerthi et al., 2024).

Mutasi dan Peningkatan Produksi Enzim

Mutasi yang diinduksi oleh iradiasi gamma dapat menghasilkan perubahan pada gen-gen yang terlibat dalam sintesis dan regulasi enzim (Ahmad et al., 2023). Mutasi pada gen regulator dapat menghilangkan represi sintesis enzim, meningkatkan ekspresi gen struktural, atau meningkatkan stabilitas mRNA enzim (Papagianni, 2007).

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima dosis iradiasi gamma (0, 50, 150, 250, dan 350 Gy), masing-masing tiga ulangan, total 15 unit percobaan untuk setiap parameter.

Alat dan Bahan

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: inkubator (Memmert IN110), shaker mekanis (IKA KS 260 basic), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1280), Iradiator Gamma Chamber 4000A (Board of Radiation and Isotope Technology, India), autoklav (Hirayama HVE-50), oven (Memmert UF75), sentrifuse (Eppendorf 5418), mikropipet (Eppendorf Research Plus), water bath (Memmert WNB 7-45),

perangkat alat gelas laboratorium, mikrotube, cawan petri, dan ose.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan meliputi: kultur murni *Trichoderma harzianum* strain BATAN TH-01, air fisiologis (NaCl 0,85% w/v, Merck), media Potato Dextrose Broth (PDB, Oxoid), media Potato Dextrose Agar (PDA, Oxoid), aquades steril, buffer sitrat (50 mM, pH $5,0 \pm 0,1$), larutan carboxymethylcellulose (CMC) 1% (w/v, Sigma-Aldrich), larutan dinitrosalicylic acid (DNS, Sigma-Aldrich), potasium sodium tartrat (Merck), dan glukosa standar (Merck).

Prosedur Penelitian

Persiapan Kultur Fungi

Kultur murni *T. harzianum* strain BATAN TH-01 diperbanyak pada media PDA steril dan diinkubasi pada $30 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 7 hari. Konidia dipanen dengan menambahkan 10 ml aquades steril, disaring menggunakan kain kasa steril, dan dihitung konsentrasinya menggunakan hemositometer hingga mencapai 10^6 konidia/ml (Maurya et al., 2024).

Perlakuan Iradiasi Gamma

Sebanyak 2 ml suspensi konidia *T. harzianum* dalam mikrotube steril diiradiasi menggunakan Gamma Chamber 4000A dengan sumber Cobalt-60, laju dosis 2,1 kGy/jam pada suhu $25 \pm 3^\circ\text{C}$ dan kelembaban $60 \pm 10\%$. Waktu iradiasi dihitung dengan rumus:

Waktu iradiasi (jam) = Dosis target (kGy) / Laju dosis (kGy/jam) (Horikiri et al., 2024).

Kultivasi Strain Fungi

Setelah perlakuan iradiasi gamma, 1 ml suspensi konidia hasil iradiasi diinokulasi ke dalam 100 ml media Potato Dextrose Broth (PDB) steril dalam erlenmeyer 250 ml. Media PDB disiapkan sesuai instruksi pabrik (24 g/L) dan disterilkan menggunakan autoklav pada suhu 121°C , tekanan 1 atm selama 15 menit. Kultivasi dilakukan menggunakan shaker mekanis pada kecepatan 150 rpm dengan suhu ruang berkisar $28-32^\circ\text{C}$ selama 4 hari.

Penentuan Viabilitas Fungi

Viabilitas fungi ditentukan menggunakan metode Total Plate Count (TPC) berdasarkan standar ISO 4833-1:2013 yang telah dimodifikasi. Pada hari ke-4 kultivasi, sebanyak 1 ml kultur fungi diambil secara aseptik dan ditambahkan ke dalam 9 ml larutan air fisiologis steril untuk memperoleh pengenceran 10^{-1} . Pengenceran serial dilakukan hingga tingkat 10^{-7} .

Sebanyak 0,1 ml dari setiap tingkat pengenceran dituangkan ke permukaan media PDA dalam cawan petri steril dan disebarkan menggunakan spreader gelas steril. Cawan petri diinkubasi pada suhu $30 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 7 hari. Penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dilakukan pada pengenceran yang menghasilkan 30-300 koloni. Viabilitas dinyatakan dalam satuan colony forming units per milliliter (cfu/ml).

Ekstraksi dan Penentuan Aktivitas Enzim Selulase

Ekstraksi enzim dilakukan pada hari ke-4 kultivasi. Sebanyak 10 ml kultur fungi diambil dan disentrifuse pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan miselium dari supernatan. Supernatan yang mengandung enzim ekstraseluler diambil dan disaring menggunakan filter membran $0,22 \mu\text{m}$ untuk menghilangkan sel yang tersisa.

Aktivitas carboxymethylcellulase (CMCase) ditentukan menggunakan metode DNS yang telah distandarisasi (Miller, 1959) dengan modifikasi.

Campuran reaksi terdiri dari 0,5 ml larutan CMC 1% dalam buffer sitrat pH 5,0, 0,5 ml buffer sitrat (50 mM, pH 5,0), dan 0,5 ml filtrat enzim. Campuran reaksi diinkubasi dalam water bath pada suhu $37 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 1,5 ml reagen DNS dan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit.

Setelah dingin, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Kurva standar dibuat menggunakan larutan glukosa

standar. Satu unit aktivitas enzim (U) didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan 1 μmol gula pereduksi per menit pada kondisi pengujian.

Penentuan Bobot Kering Biomassa Fungi

Penentuan biomassa dilakukan pada hari ke-4 kultivasi. Mikrotube kosong terlebih dahulu dioven pada suhu 105°C selama 2 jam dan ditimbang untuk mendapatkan berat kosong (W_0). Sebanyak 1,5 ml kultur fungi dimasukkan ke dalam mikrotube, kemudian disentrifuse pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang dan biomassa basah dicuci dengan aquades steril.

Biomassa dikeringkan dalam oven pada suhu $60 \pm 2^{\circ}\text{C}$ hingga mencapai berat konstan. Setelah pengeringan, mikrotube berisi biomassa kering ditimbang (W_1). Bobot kering biomassa dihitung menggunakan rumus:

Biomassa (g/L) = $[(W_1 - W_0) / \text{Volume kultur (ml)}] \times 1000$

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan inferensial. Sebelum analisis statistik, data diuji normalitas

menggunakan uji Shapiro-Wilk dan homogenitas varians menggunakan uji Levene. Untuk menguji pengaruh perlakuan dosis iradiasi, dilakukan analisis varians (ANOVA) satu arah pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Jika hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan, dilakukan uji lanjut menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT). Analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 25.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Iradiasi Gamma terhadap Viabilitas *Trichoderma harzianum*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa iradiasi gamma berpengaruh sangat signifikan terhadap viabilitas *T. harzianum* (Tabel 1). Analisis varians (ANOVA) menunjukkan nilai $F=186,42$ ($p<0,001$), mengindikasikan adanya perbedaan yang sangat nyata antar perlakuan dosis iradiasi. Secara umum, viabilitas kapang mengalami penurunan seiring dengan peningkatan dosis iradiasi.

Tabel 1. Viabilitas *Trichoderma harzianum* ($\times 10^7$ cfu/ml) pada Berbagai Dosis Iradiasi Gamma

Dosis Iradiasi	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Mean $\pm$ SE	SD	CV (%)
0 Gy (T_0)	38	35	36	$36,33 \pm 0,88^a$	1,53	4,2
50 Gy (T_1)	10	9	10	$9,67 \pm 0,33^b$	0,58	6,0
150 Gy (T_2)	6	4	5	$5,00 \pm 0,58^c$	1,00	20,0
250 Gy (T_3)	1	1	1	$1,00 \pm 0,00^d$	0,00	0,0
350 Gy (T_4)	1	1	1	$1,00 \pm 0,00^d$	0,00	0,0

Huruf superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$) berdasarkan uji DMRT. SE: Standard Error; SD: Standard Deviation; CV: Coefficient of Variatio

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol (0 Gy), viabilitas mencapai $36,33 \pm 0,88 \times 10^7$ cfu/ml. Penurunan signifikan dimulai pada dosis 50 Gy dengan viabilitas $9,67 \pm 0,33 \times 10^7$ cfu/ml, yang menunjukkan penurunan 73,4% dari kontrol. Penurunan yang lebih drastis terjadi pada dosis 150 Gy ($5,00 \pm 0,58 \times 10^7$ cfu/ml), dan mencapai level terendah pada

dosis 250 Gy dan 350 Gy yaitu $1,00 \pm 0,00 \times 10^7$ cfu/ml.

Penurunan viabilitas ini sejalan dengan sifat lethal dari radiasi pengion yang memiliki energi tinggi. Menurut Kai et al. (2025), radiasi gamma dapat menyebabkan kerusakan DNA melalui dua mekanisme utama yaitu efek langsung pada molekul DNA dan efek tidak langsung

melalui pembentukan radikal bebas dari radiolisis air.

Pengaruh Iradiasi Gamma terhadap Aktivitas Enzim Selulase *Trichoderma harzianum*

Hasil pengukuran aktivitas enzim selulase menunjukkan pola yang berbeda dengan viabilitas (Tabel 2). Analisis ANOVA menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan antar perlakuan ($F=395,06$; $p<0,001$).

Tabel 2. Aktivitas Enzim Selulase *Trichoderma harzianum* (U/ml) ada Berbagai Dosis Iradiasi Gamma

Dosis Iradiasi	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Mean $\pm$ SE	SD	CV (%)
0 Gy (T ₀)	0,0501	0,0504	0,0505	0,0503 $\pm$ 0,0001 ^a	0,0002	0,4
50 Gy (T ₁)	0,2850	0,2604	0,3183	0,2879 $\pm$ 0,0168 ^b	0,0291	10,1
150 Gy (T ₂)	0,5100	0,4535	0,5543	0,5059 $\pm$ 0,0292 ^c	0,0505	10,0
250 Gy (T ₃)	1,5200	1,4467	1,5624	1,5097 $\pm$ 0,0338 ^d	0,0585	3,9
350 Gy (T ₄)	0,9500	1,0212	0,8680	0,9464 $\pm$ 0,0443 ^e	0,0767	8,1

Huruf superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$) berdasarkan uji DMRT.

Aktivitas enzim pada perlakuan kontrol (0 Gy) hanya sebesar 0,0503 $\pm$ 0,0001 U/ml. Setelah diberi perlakuan iradiasi gamma, aktivitas enzim meningkat secara progresif hingga mencapai puncaknya pada dosis 250 Gy (1,5097 $\pm$ 0,0338 U/ml), yang menunjukkan peningkatan sebesar 30,0 kali lipat dibandingkan kontrol (2.901,39%). Namun, pada dosis 350 Gy terjadi penurunan aktivitas enzim menjadi 0,9464 $\pm$ 0,0443 U/ml.

Perhitungan aktivitas spesifik enzim (aktivitas per unit biomassa) menunjukkan:

- Kontrol (0 Gy): 0,0503 U/ml $\div$ 223,63 g/L = 0,000225 U/g
- Dosis 250 Gy: 1,5097 U/ml $\div$ 38,83 g/L = 0,03888 U/g

Ini menunjukkan peningkatan aktivitas spesifik sebesar 173 kali lipat pada dosis 250 Gy dibandingkan kontrol,

mengindikasikan bahwa mutasi tidak hanya meningkatkan produksi enzim total, tetapi juga efisiensi produksi enzim per unit biomassa secara drastis.

Peningkatan aktivitas enzim selulase pada dosis 250 Gy menunjukkan bahwa iradiasi gamma pada dosis tersebut efektif dalam menginduksi mutasi yang menguntungkan. Menurut Indrawati et al. (2019), mutasi yang diinduksi oleh radiasi dapat mempengaruhi gen-gen yang terlibat dalam biosintesis dan regulasi enzim.

Pengaruh Iradiasi Gamma terhadap Biomassa *Trichoderma harzianum*

Pengukuran biomassa menunjukkan pola yang serupa dengan viabilitas, dimana terjadi penurunan seiring dengan peningkatan dosis iradiasi (Tabel 3). Analisis ANOVA menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan antar perlakuan ($F=89,45$; $p<0,001$).

Tabel 3. Biomassa *Trichoderma harzianum* (g/L) pada Berbagai Dosis Iradiasi Gamma

Dosis Iradiasi	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Mean $\pm$ SE	SD	CV (%)
0 Gy (T ₀)	225,0	217,0	228,9	223,63 $\pm$ 3,50 ^a	6,07	2,7
50 Gy (T ₁)	185,5	164,6	201,3	183,80 $\pm$ 10,63 ^b	18,41	10,0
150 Gy (T ₂)	36,2	18,3	28,5	27,67 $\pm$ 5,18 ^c	8,98	32,5
250 Gy (T ₃)	55,5	17,7	43,3	38,83 $\pm$ 11,14 ^{cd}	19,29	49,7
350 Gy (T ₄)	30,4	13,1	25,8	23,10 $\pm$ 5,17 ^d	8,96	38,8

Huruf superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$) berdasarkan uji DMRT.

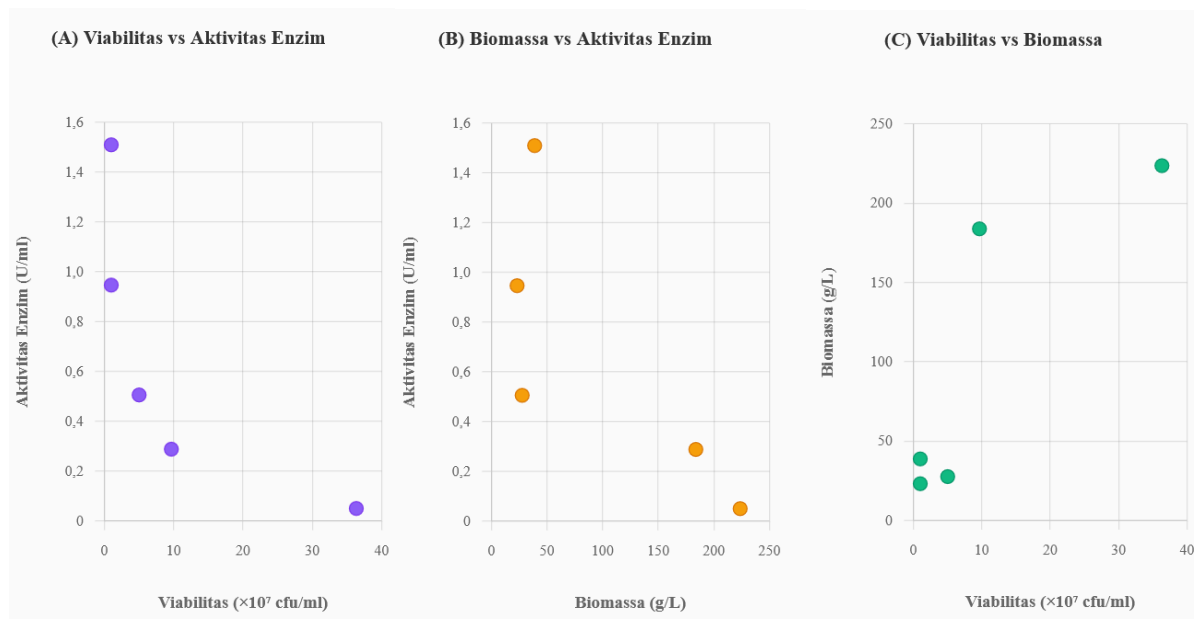
Biomassa tertinggi diperoleh pada perlakuan kontrol ($223,63 \pm 3,50$ g/L), kemudian menurun secara progresif pada dosis yang lebih tinggi. Penurunan biomassa dimulai pada dosis 50 Gy ($183,80 \pm 10,63$ g/L, penurunan 17,8% dari kontrol), berlanjut secara drastis pada dosis 150 Gy ($27,67 \pm 5,18$ g/L, penurunan 87,6%), dan mencapai level rendah pada dosis 250 Gy ($38,83 \pm 11,14$ g/L, penurunan 82,6%) dan 350 Gy ($23,10 \pm 5,17$ g/L, penurunan 89,7%).

Analisis Hubungan Antar Parameter

Analisis korelasi antara ketiga parameter menunjukkan pola yang kompleks. Gambar 1 memvisualisasikan hubungan korelasi antar parameter yang diukur dalam penelitian ini. Gambar 1A dan 1B menunjukkan korelasi negatif antara aktivitas enzim dengan viabilitas ($r = -0,456$; $p < 0,05$) dan biomassa ($r = -0,398$; $p < 0,05$),

dimana sampel dengan viabilitas dan biomassa tinggi (kontrol: $36,33 \times 10^7$ cfu/ml dan $223,63$ g/L) memiliki aktivitas enzim rendah ($0,0503$ U/ml), sedangkan sampel dengan viabilitas dan biomassa rendah (dosis 250 Gy: $1,00 \times 10^7$ cfu/ml dan $38,83$ g/L) justru menunjukkan aktivitas enzim tertinggi ($1,5097$ U/ml).

Pola ini mengkonfirmasi bahwa peningkatan produksi enzim terjadi pada sel-sel mutan yang bertahan hidup, mengindikasikan adanya trade-off antara pertumbuhan biomassa dan produksi enzim. Sebaliknya, Gambar 1C menunjukkan korelasi positif yang kuat antara viabilitas dan biomassa ($r = 0,892$; $p < 0,001$), mengkonfirmasi bahwa penurunan biomassa disebabkan oleh penurunan jumlah sel viable akibat efek lethal iradiasi gamma, bukan karena perubahan ukuran sel individual.



Gambar 1. Analisis korelasi Pearson antar parameter menunjukkan: (A) korelasi negatif antara viabilitas dan aktivitas enzim ($r = -0.456$, $p < 0.05$), (B) korelasi negatif antara biomassa dan aktivitas enzim ($r = -0.398$, $p < 0.05$), dan (C) korelasi positif kuat antara viabilitas dan biomassa ($r = 0.892$, $p < 0.001$). Setiap titik mewakili rata-rata dari tiga ulangan pada masing-masing dosis iradiasi (0, 50, 150, 250, 350 Gy).

Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, dimensi aktivitas enzim selulase berada dalam kategori optimal pada dosis 250 Gy dengan peningkatan 30,0 kali lipat ($2.901,39\%$).

Hal ini menunjukkan bahwa iradiasi gamma pada dosis tersebut mampu menginduksi mutasi yang menguntungkan pada gen-gen yang terlibat dalam produksi enzim selulase.

Hasil penelitian ini konsisten dengan studi sebelumnya yang menunjukkan potensi iradiasi gamma dalam meningkatkan produksi enzim. Abo Elsoud & Al-Hagar (2023) melaporkan bahwa *Aspergillus flavus* yang diiradiasi dengan dosis optimal menghasilkan peningkatan aktivitas selulase hingga 510,69%. Hidayati et al. (2021) menemukan peningkatan produksi selulase sebesar 90% pada *Trichoderma* sp PK1J2. Namun, peningkatan 30,0 kali lipat dalam penelitian ini jauh lebih tinggi (2.900%), menunjukkan potensi besar *T. harzianum* untuk aplikasi industri.

Fenomena penurunan viabilitas dan biomassa pada dosis iradiasi tinggi dapat dijelaskan melalui kerusakan DNA yang tidak dapat diperbaiki, menyebabkan kematian reproduktif sel (Sukeerthi et al., 2024). Meskipun demikian, sel-sel yang bertahan hidup pada dosis 250 Gy menunjukkan kapasitas produksi enzim yang luar biasa tinggi.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Iradiasi gamma dosis rendah berpengaruh sangat signifikan terhadap aktivitas enzim selulase *Trichoderma harzianum* ($F=395,06$; $p<0,001$). Aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada dosis 250 Gy ($1,5097\pm0,0338$ U/ml), menunjukkan peningkatan sebesar 30,0 kali lipat dibandingkan control (2.901,39%).
2. Peningkatan dosis iradiasi gamma menyebabkan penurunan viabilitas dan biomassa *Trichoderma harzianum* secara signifikan. Viabilitas menurun dari $36,33\pm0,88\times10^7$ cfu/ml (kontrol) menjadi $1,00\pm0,00\times10^7$ cfu/ml pada dosis 250 Gy (penurunan 97,2%), sementara biomassa menurun dari $223,63\pm3,50$ g/L menjadi

$38,83\pm11,14$ g/L (penurunan 82,6%).

3. Dosis iradiasi gamma 250 Gy merupakan dosis optimal untuk meningkatkan produksi enzim selulase dari *Trichoderma harzianum*, dengan peningkatan aktivitas spesifik sebesar 173 kali lipat yang sangat berpotensi untuk aplikasi industri.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, W., Zafar, M., & Anwar, Z. (2023). Enhancement of cellulase activity from indigenous strain of *Aspergillus niger* through incorporation of physical, chemical and combined mutagenesis. *Journal of Xi'an Shiyu University, Natural Science Edition*, 19(11), 224–250. <http://xisdxjxsu.asia>
- Behera, B. C., Sethi, B. K., Mishra, R. R., Dutta, S. K., & Thatoi, H. N. (2017). Microbial cellulases—diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: A review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(1), 197-210
- Bhat, M. K., & Bhat, S. (1997). Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. *Biotechnology Advances*, 15(3), 583-620
- Bilal, M., Nawaz, M. Z., Iqbal, H. M. N., Hou, J., Mahboob, S., Al-Ghanim, K. A., & Cheng, H. (2018). Engineering ligninolytic consortium for bioconversion of lignocelluloses to ethanol and chemicals. *Protein & Peptide Letters*, 25(2), 108-119.
- Chapman, J., Ismail, A. E., & Dinu, C. Z. (2018). Industrial applications of enzymes: Recent advances, techniques, and outlooks. *Catalysts*, 8(6), 238. <https://doi.org/10.3390/catal8060238>
- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., del-Val, E., & Larsen, J. (2016). Ecological functions of

- Trichoderma spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: Interactions with plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(4), fiw036.
<https://doi.org/10.1093/femsec/fiw036>
- El-Batal, A. I., Osman, E. M., & Ibrahim, A. M. S. (2013). Optimization and characterization of polygalacturonase enzyme produced by gamma irradiated *Penicillium citrinum*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(1), 336–347. <http://www.jocpr.com>
- Gupta, V. K., Steindorff, A. S., de Paula, R. G., Silva-Rocha, R., Mach-Aigner, A. R., Mach, R. L., & Silva, R. N. (2016). The post-genomic era of *Trichoderma reesei*: What's next? *Trends in Biotechnology*, 34(11), 970-982.
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.06.003>
- Hidayati, F. L. N., Sardjono, Giyatmi, & Cahyanto, M. N. (2021). Enhancement of indigenous fungal cellulase production by gamma rays. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1192(1), Article 012004.
<https://doi.org/10.1088/1757-899X/1192/1/012004>
- Indrawati, D., Susilowati, A., Atmojo, D. P., & Mulyana, N. (2019). Efektivitas enzim kasar kitinase dari jamur *Trichoderma viride* yang diiradiasi oleh sinar gamma terhadap degradasi cangkang telur nematoda *Haemonchus contortus* pada ternak domba. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 29(1), 24–36.
<https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2019.029.01.04>
- Kai, T., Toigawa, T., Matsuya, Y., Hirata, Y., Tsuchida, H., Ito, Y., & Yokoya, A. (2025). Multiple DNA damages induced by water radiolysis demonstrated using a dynamic Monte Carlo code. *Communications Chemistry*, 8, Article 1453.
<https://doi.org/10.1038/s42004-025-01453-x>
- Kostyleva, E. V., Sereda, A. S., Velikoretskaya, I. A., & Kislitsyna, O. V. (2017). Development of schemes of induced mutagenesis for improving the productivity of *Aspergillus* strains producing amyolytic enzymes. *Microbiology*, 86(4), 493–502.
<https://doi.org/10.1134/S0026261717040087>
- Kubicek, C. P., Steindorff, A. S., Chenthamara, K., Manganiello, G., Henrissat, B., Zhang, J., ... & Druzhinina, I. S. (2019). Evolution and comparative genomics of the most common *Trichoderma* species. *BMC Genomics*, 20(1), 485.
<https://doi.org/10.1186/s12864-019-5680-7>
- Kume, T., Furuta, M., Todoriki, S., Uenoyama, N., & Kobayashi, Y. (2009). Status of food irradiation in the world. *Radiation Physics and Chemistry*, 78(3), 222-226.
<https://doi.org/10.1016/j.radphysch>
- Papagianni, M. (2007). Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: Biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnology Advances*, 25(3), 244-263.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.01.002>
- Reyes-Olivas, Á., Pinedo-Alvarez, C., Pinedo-Alvarez, A., Hernández-Rodríguez, A., Barrón-Manquero, L. C., & Salas-Salazar, N. A. (2024). Effect of gamma radiation on the mortality of *Sitophilus zeamais* and the quality of stored maize grain. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 15(5), 828–838.
<https://doi.org/10.22319/rmcp.v15i5.6179>

- Roberts, P. B. (2016). Food irradiation: Standards, regulations and world-wide trade. *Radiation Physics and Chemistry*, 129, 30-34. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2016.06.005>
- Sajith, S., Sreedevi, S., Priji, P., & Benjamin, S. (2014). Production and partial purification of cellulase from a novel fungus, *Aspergillus flavus* BS1. *Annals of Microbiology*, 64(2), 763–771. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0711-0>
- Saravanakumar, K., Li, Y., Yu, C., Wang, Q. Q., Wang, M., Sun, J., ... & Chen, J. (2017). Effect of *Trichoderma harzianum* on maize rhizosphere microbiome and biocontrol of Fusarium Stalk rot. *Scientific Reports*, 7(1), 1771. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01680-w>
- Schmoll, M., Dattenböck, C., Carreras-Villaseñor, N., Mendoza-Mendoza, A., Tisch, D., Alemán, M. I., ... & Zeilinger, S. (2016). The genomes of three uneven siblings: Footprints of the lifestyles of three *Trichoderma* species. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(1), 205-327. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00040-15>
- Singh, G., Verma, A. K., & Kumar, V. (2018). Catalytic properties, functional attributes and industrial applications of β -glucosidases. *3 Biotech*, 8(3), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1178-6>
- Singh, A., Patel, A. K., Adsul, M., Mathur, A. & Singhania, R. R. (2017). Genetic modification: a tool for enhancing cellulase secretion. *Biofuel Research Journal*, 4(2), 600-610. doi: 10.18331/BRJ2017.4.2.5
- Sukeerthi, S., Mageswari, K., Photos, S. G. E. G., Prakash, T. M., Murugan, M. G., Uthandi, A., & Nakkeeran, S. (2024). *Trichoderma harzianum*: A multifunctional fungus for sustainable agriculture. *Heliyon*, 10(1), e23293. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23293>