

# Pengaruh Metode Sterilisasi Radiasi Sinar Gamma Co-60 dan Autoklaf terhadap Bahan Pembawa, Viabilitas Spora *Gigaspora margarita* dan Ketersediaan Fe, Mn, dan Zn

*Effect of sterilization using gamma rays and autoclave on carrier materials, viability of spore Gigaspora margarita and solubility of Fe, Mn, dan Zn*

Nurrobifahmi<sup>1\*</sup>, Iswandi Anas<sup>1</sup>, Yadi Setiadi<sup>2</sup>, Ishak<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Bioteknologi Tanah dan Lingkungan, Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680. Email: nurrobifahmi@gmail.com, HP. 081809024334

<sup>2</sup>Laboratorium Bioteknologi Kehutanan Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor

<sup>3</sup>Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional, Jl. Lebak Bulus Raya No. 49 Jakarta Selatan 12440

## INFORMASI ARTIKEL

### Riwayat artikel:

Diterima: 25 November 2016

Direview: 05 Januari 2017

Disetujui: 15 Februari 2017

### Katakunci:

Bahan Pembawa  
Mikoriza  
Sterilisasi  
Radiasi Sinar Gamma Co-60  
*Gigaspora margarita*.

### Keywords:

Carrier material  
Mycorrhiza  
Sterilization  
Co-60 Gamma Radiation  
*Gigaspora margarita*

**Abstrak.** Proses sterilisasi digunakan untuk menghilangkan atau mengurangi mikroba yang tidak diinginkan pada bahan pembawa. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh metode sterilisasi (autoklaf dan radiasi Gamma) terhadap viabilitas spora *G. margarita* dan kelarutan Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> pada bahan pembawa zeolit, kompos dan tanah. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari faktor jenis sterilisasi radiasi, autoklaf dan bahan pembawa kompos dan zeolit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sterilisasi autoklaf, radiasi sinar Gamma dosis 40 dan 50 kGy mampu mensterilkan bahan pembawa di zeolit sampai 0 cfu g<sup>-1</sup>, sedangkan pada bahan pembawa kompos yang diradiasi dengan sinar Gamma dosis 50 kGy mampu mengurangi mikroba kontaminan sebanyak 76 kali dibandingkan menggunakan sterilisasi autoklaf. Penyimpanan 1 bulan pasca sterilisasi menggunakan autoklaf pada zeolit viabilitas spora *G. margarita* tertinggi sebesar 46.95%, sedangkan untuk kompos tidak ada spora *G. margarita* yang berkecambah. Penyimpanan 3 bulan pasca sterilisasi pada radiasi dosis 10 kGy pada zeolit viabilitas spora *G. margarita* tertinggi sebesar 45,81%, sedangkan pada kompos tidak ada spora *G. margarita* yang berkecambah. Jenis sterilisasi menunjukkan bahwa bahan pembawa zeolit dan tanah tidak berpengaruh sedangkan pada kompos berpengaruh terhadap kelarutan Fe<sup>2+</sup>. Sterilisasi dengan radiasi dosis 50 kGy meningkatkan kelarutan Mn<sup>2+</sup> pada bahan pembawa zeolit. Sterilisasi dengan autoklaf meningkatkan kelarutan Mn<sup>2+</sup> pada tanah. Jenis sterilisasi pada tanah tidak berpengaruh terhadap Zn<sup>2+</sup> sedangkan pada zeolit dan kompos berpengaruh terhadap kelarutan Zn<sup>2+</sup>. Peningkatan unsur mikro dapat berpengaruh buruk bagi viabilitas *G. margarita*.

**Abstract.** A sterilization process is used to eliminate or reduce microbial contaminants on carrier materials. This study aimed to investigate the effect of the sterilization methods (autoclave and Gamma radiation) on the spore viability of *G. margarita* and availability of Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> in the carrier material of zeolite, compost and soil. Research using a completely randomized design (CRD), which consists of factor of the type of radiation sterilization, autoclaving and compost carrier material and zeolite. The results showed that the autoclave sterilization and Gamma radiation dose of 40 and 50 kGy were able to sterilize the carrier material on zeolite to 0 cfu g<sup>-1</sup>, whereas the carrier material of compost irradiated with Gamma ray dose of 50 kGy was able to reduce the microbial contaminants as much as 76 times compared to autoclave sterilization. The result showed that on 1 month incubation post-sterilization with autoclave for zeolite could reach the spore viability of *G. margarita* to 46.95%, while for compost the viability resulted in no germination. On 3 months incubation post-sterilization the radiation for zeolite gave the highest spore viability of *G. margarita* to 45.81% at doses of 10 kGy, while for compost the viability resulted in no germination. The type of sterilizations showed on carrier material of zeolite and soil did not affect the solubility of Fe<sup>2+</sup> while that of compost affected the solubility of Fe<sup>2+</sup>. Sterilization with the radiation dose of 50 kGy increased the solubility of Mn<sup>2+</sup> on zeolite carrier material. Sterilization with autoclave increased the solubility of Mn<sup>2+</sup> on soil. The types of sterilization on soil did not affect the Zn<sup>2+</sup> solubility while that on zeolite and compost affected the Zn<sup>2+</sup> solubility. The increase of micro elements might adversely affect the viability of *G. margarita*.

## Pendahuluan

Proses sterilisasi digunakan untuk menghilangkan atau mengurangi mikroba yang tidak diinginkan pada bahan pembawa. Teknik sterilisasi media yang umumnya

digunakan adalah sterilisasi autoklaf dan radiasi sinar Gamma. Sterilisasi autoklaf mempunyai kelemahan yaitu mampu meningkatkan kelarutan logam Mn pada bahan pembawa (Skipper and Westermann 1973). Menurut Toharisman (1989) sterilisasi tanah menggunakan autoklaf

\*Corresponding author: nurrobifahmi@gmail.com

dapat meningkatkan kelarutan Fe, Mn, Zn. Peningkatan logam-logam berat dalam jumlah besar ini akan berpengaruh negatif terhadap pada viabilitas mikroba dalam bahan pembawa dan pada akhirnya akan berpengaruh pada pertumbuhan tanaman.

Penelitian mengenai penambahan unsur mikro pada bahan pembawa menunjukkan hasil yang tidak konsisten. Anahid *et al.* 2010 menyimpulkan bahwa penambahan unsur mikro Fe 2000 ppm, Mn 5000 ppm dan Zn 1000 ppm pada media *Czapek Yeast Extract Agar* (CYEA) menyebabkan jamur *Aspergillus niger* tidak dapat hidup. Hasil ini diperkuat oleh penelitian Pawlowska and Charvat (2004) yang menyimpulkan bahwa pemberian 10 mM atau 653 ppm  $Zn^{2+}$  pada larutan  $Zn(SO_4)_2$  menyebabkan *G. etunicatum* tidak dapat berkecambah. Akan tetapi pemberian dosis 30 ppm ion  $Mn^{2+}$  dalam larutan  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  membuat mikoriza jenis *Scutellospora* dan *Gigaspora* mampu berkecambah, sedangkan pada penambahan 75 ppm ion  $Mn^{2+}$  mengalami penurunan viabilitas mikoriza tersebut hingga 75% (Cardoso *et al.* 2002).

Mikoriza adalah fungi yang bersimbiosis secara mutualisme dengan akar tanaman. Endomikoriza bersifat simbiosis obligat yang tidak dapat melestarikan tubuh dan reproduksinya bila terpisah dari tanaman inang (Simanungkalit *et al.* 2006; Parniske 2008; Hodge and Fitter 2010; Denison and Kiers 2011; Kheyrodin 2014). Umumnya produksi inoculum mikoriza dilakukan dengan cara kultur pot menggunakan tanaman inang (Chalimah *et al.* 2007; Mala *et al.* 2010; Marleen *et al.* 2011; Herryawan 2012; Tamin *et al.* 2012). Potongan akar yang mengandung mikoriza selain bisa disimpan di kultur pot, juga dapat disimpan di dalam bahan pembawa steril. Kelebihannya cara ini adalah dapat menghindari kontaminasi dari mikoriza atau mikroba lain. (Simanungkalit *et al.* 2006).

Bahan pembawa berpengaruh penting dalam perbanyak inoculum mikoriza. Berbagai macam bahan pembawa yang digunakan untuk perbanyak inoculum mikoriza yaitu arang sekam, jerami, tanah, pasir, zeolit, vermikulit, biochar (Ridgway *et al.* 2006, Prafithiasari and Nurbaity 2010, Saranya and Kumutha 2011; Nurbaity *et al.* 2011; Douds *et al.* 2014). Secara alamiah di dalam bahan pembawa tersebut masih terdapat mikroba indigenus (bawaan) di dalamnya. Apabila bahan pembawa tersebut tidak disterilisasi terlebih dahulu, maka akan mengganggu pertumbuhan mikoriza tersebut. Jenis sterilisasi yang digunakan dapat berpengaruh terhadap jumlah mikroba indigenus, ketersediaan Fe, Mn, Zn di dalam bahan pembawa sehingga akan mempengaruhi pertumbuhan spora *G. margarita*.

Sterilisasi bahan pembawa merupakan tahap yang harus dilakukan sebelum penginokulasian. Pemilihan

metode sterilisasi diperlukan agar bahan pembawa tidak mengalami kerusakan yang dapat mempengaruhi viabilitas inoculum. Metode sterilisasi bahan pembawa yang umum digunakan adalah metode fisik yaitu meliputi pemanasan, pengeringan dan radiasi. Metode sterilisasi pemanasan (panas lembab) biasanya menggunakan autoklaf yang memanfaatkan panas dalam suatu ruangan bertekanan dengan temperatur 121°C selama 60 menit. Autoklaf memiliki kekurangan yaitu menimbulkan kerusakan sifat kimia bahan pembawa dan menghasilkan unsur beracun. Menurut Toharisman (1989) intensitas sterilisasi tanah menggunakan autoklaf dapat meningkatkan kelarutan Fe, Mn dan Zn yang tinggi sehingga dapat meracuni mikroba yang ada di dalamnya.

Metode sterilisasi fisik lainnya adalah radiasi. Radiasi sinar Gamma Co-60 yang memanfaatkan gelombang elektromagnetik untuk meradiasi bahan pembawa. Radiasi sinar Gamma memiliki efektivitas yang berbeda dalam mematikan mikroba tergantung pada besaran dosis yang diberikan di dalam media pembawa. Semakin besar dosis yang diberikan, maka daya mematikan akan semakin besar (Sindy *et al.* 2010).

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji jumlah mikroba kontaminan, ketersediaan Fe, Mn, Zn akibat pengaruh sterilisasi, serta menguji pengaruh jenis sterilisasi dan bahan pembawa terhadap viabilitas spora *G. margarita*.

## Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Kehutanan Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor dan Laboratorium Pemupukan dan Nutrisi Tanaman Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional Jakarta. Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret - Desember 2015.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah: mikroskop (Olympus CX 21 dan XT 2 A), saringan bertingkat berukuran 710  $\mu m$ , 125  $\mu m$  dan 45  $\mu m$ , autoklaf (Tomy SS-325), irradiator Gamma Chamber 4000 A sumber radiasi Co-60, timbangan (analitik Precissa XT-220). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas: zeolit Dramaga ukuran 1 sampai 2 mm, kompos Super Grow, isolat mikoriza Mycofer *G. margarita* koleksi Laboratorium Bioteknologi Kehutanan Pusat Penelitian Sumber Daya Hayati dan Bioteknologi IPB Bogor, plastik HDPE (*High Density Polyethylene*).

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang tersusun dari 14 perlakuan. Perlakuan yang digunakan ditunjukkan pada Tabel 1. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Pengamatan dibagi menjadi dua yaitu : periode penyimpanan yaitu 1 bulan dan 3 bulan,

sehingga jumlah satuan percobaan adalah 84 satuan percobaan.

Tabel 1. Perlakuan jenis sterilisasi dan bahan pembawa

Table 1. Sterilization treatment types and carriers

No	Perlakuan
1	Zeolit tanpa sterilisasi (Kontrol)
2	Zeolit sterilisasi autoklaf
3	Zeolit sterilisasi radiasi 10 kGy
4	Zeolit sterilisasi radiasi 20 kGy
5	Zeolit sterilisasi radiasi 30 kGy
6	Zeolit sterilisasi radiasi 40 kGy
7	Zeolit sterilisasi radiasi 50 kGy
8	Kompos tanpa sterilisasi (Kontrol)
9	Kompos sterilisasi autoklaf
10	Kompos sterilisasi radiasi 10 kGy
11	Kompos sterilisasi radiasi 20 kGy
12	Kompos sterilisasi radiasi 30 kGy
13	Kompos sterilisasi radiasi 40 kGy
14	Kompos sterilisasi radiasi 50 kGy

### Persiapan dan Sterilisasi Media Tanam

Media zeolit dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Bahan pembawa zeolit dan kompos sebelum disterilisasi dikering-anginkan selama 7 hari, setelah itu dilakukan analisis kadar air awal. Media bahan pembawa disaring menggunakan saringan ukuran 16 mesh. Sebanyak 50 g bahan pembawa dimasukkan ke dalam plastik tahan panas HDPE dimasukkan ke dalam plastik tahan panas HDPE ukuran 1/2 kg untuk dilakukan sterilisasi menggunakan radiasi sinar Gamma Co-60 (dosis 10 kGy, 20 kGy, 30 kGy, 40 kGy, 50 kGy) dan autoklaf pada suhu 121°C selama 60 menit.

### Persiapan Isolat Mikoriza

Isolat mikoriza Mycofer *G. margarita* yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Bioteknologi Kehutanan Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor. Pemisahan spora dilakukan dengan metode penyaringan basah yang sudah dimodifikasi [Brundrett *et al.* 1996]. Spora mikoriza disaring menggunakan saringan bertingkat berukuran 710  $\mu\text{m}$ , 125  $\mu\text{m}$  dan 45  $\mu\text{m}$ . Spora hasil saringan 45  $\mu\text{m}$  dipisahkan pada cawan Petri dan dilakukan perhitungan di mikroskop. Sebanyak 50 spora *G. margarita* dimasukkan ke dalam plastik yang sudah berisi media dan sudah disterilisasi sesuai dengan perlakuan. Untuk memasukkan spora ke dalam bahan pembawa, spora diletakkan di dalam cawan Petri berisi 15 ml air steril lalu dimasukkan ke dalam bahan pembawa. Selanjutnya disimpan di baki yang ditutup rapat dengan plastik hitam. Penyimpanan dilakukan selama 1 dan 3 bulan.

### Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan yang dilakukan terdiri:

1. Keefektifan metode sterilisasi (autoklaf dan radiasi sinar Gamma) pada bahan pembawa zeolit dan kompos menggunakan metode *total plate count* (TPC).
2. Pengaruh autoklaf dan radiasi sinar Gamma terhadap kelarutan Fe, Mn dan Zn dari bahan pembawa zeolit, kompos dan tanah (Balai Penelitian Tanah 2009).
3. Viabilitas spora pada bahan pembawa zeolit dan kompos setelah penyimpanan selama 1 bulan dan 3 bulan dengan metode penyaringan basah yang sudah dimodifikasi (Brundrett *et al.* 1996).

Analisis statistik dengan menggunakan *software* SAS

9.1. Analisa menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada taraf kepercayaan 95%. Hasil analisis yang menunjukkan adanya pengaruh nyata pada perlakuan diuji lanjut dengan uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf kepercayaan 95%.

### Hasil dan Pembahasan

#### Keefektifan Metode Sterilisasi Bahan Pembawa Zeolit dan Kompos

Keefektifan metode sterilisasi menggunakan autoklaf dan radiasi sinar Gamma Co-60 menunjukkan bahwa zeolit dan kompos tingkat keefektifan yang berbeda (Tabel 2). Sterilisasi dengan autoklaf pada zeolit lebih efektif dibandingkan kompos. Hal ini terlihat dari tidak adanya pertumbuhan mikroba kontaminan pada zeolit, sedangkan sterilisasi autoklaf pada kompos masih terdapat adanya mikroba yang hidup. Sterilisasi terjadi pada dosis 40 dan 50 kGy pada zeolit mampu mematikan mikroba dari  $3,9 \times 10^4$  cfu  $\text{g}^{-1}$  menjadi 0 cfu  $\text{g}^{-1}$ .

Kompos yang disterilisasi radiasi Gamma dosis 50 kGy mampu menurunkan jumlah mikroba dari  $1,8 \times 10^7$  cfu  $\text{g}^{-1}$  menjadi  $5 \times 10^1$  cfu  $\text{g}^{-1}$ , sedangkan pada autoklaf hanya menurunkan sampai  $3,8 \times 10^3$  cfu  $\text{g}^{-1}$ . Dibandingkan sterilisasi dengan radiasi sinar Gamma Co-60, sterilisasi autoklaf yang bekerja dengan memanfaatkan panas lembab yaitu suhu 121°C selama 60 menit lebih efektif membunuh sel-sel vegetatif mikroba (Sindy *et al.* 2010).

Pengujian sterilisasi pada bahan pembawa yang disterilisasi dengan autoklaf dan radiasi Gamma juga telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya. Menurut penelitian (Sindy *et al.* 2010) metode sterilisasi radiasi sinar Gamma Co-60 pada dosis 50 kGy pada zeolit mampu mematikan sel hingga 0 cfu  $\text{g}^{-1}$ , sedangkan dengan metode sterilisasi autoklaf mematikan sel hanya pada zeolit. Enjelja (2011)

melaporkan bahwa metode sterilisasi radiasi sinar Gamma Co-60 pada dosis 50 kGy pada kompos Dramaga hanya mampu mengurangi jumlah mikroba kontaminan hingga  $3 \times 10^2$  cfu g<sup>-1</sup>, sedangkan dengan metode sterilisasi autoklaf mampu mengurangi total mikroba kontaminan hingga 0 cfu g<sup>-1</sup> pada kompos.

Kemampuan mematikan sel mikroba sterilisasi radiasi sinar Gamma atau elektron berenergi tinggi mampu mengurangi jumlah populasi mikroba indigenus dengan cara merusak rantai DNA. Mekanisme yang dilakukan yaitu dengan cara pemotongan untai DNA sehingga berakibat kematian sel (Narumi 2006).

Tabel 2. Jumlah mikroba kontaminan total pada zeolit dan kompos (cfu g<sup>-1</sup>)

Table 2. Total number of microbial contaminants on the zeolite and compost (cfu g<sup>-1</sup>)

Jenis sterilisasi	Zeolit	Kompos
Non sterilisasi	$3,9 \times 10^4$	$1,8 \times 10^7$
Autoklaf	0	$3,8 \times 10^3$
Radiasi 10 kGy	$7,9 \times 10^3$	$1,1 \times 10^7$
Radiasi 20 kGy	$7,1 \times 10^3$	$8,8 \times 10^6$
Radiasi 30 kGy	$6,8 \times 10^2$	$5,6 \times 10^3$
Radiasi 40 kGy	0	$2,1 \times 10^2$
Radiasi 50 kGy	0	$5 \times 10^1$

Keterangan: cfu g<sup>-1</sup> : satuan pembentuk koloni per gram bahan pembawa

### Analisis Fe, Mn, Zn Tersedia pada Zeolit, Kompos dan Tanah

Hasil uji statistik pada Tabel 3 menunjukkan jenis sterilisasi tidak berpengaruh nyata terhadap kelarutan Fe<sup>2+</sup> pada zeolit dan tanah. Hal ini terlihat dari tidak ada penurunan kandungan logam ini secara drastis. Diduga Fe terjerap (*adsorbed*) cukup kuat pada matriks tanah Latosol dan zeolit sehingga ekstraksi yang digunakan pada kedua matriks tersebut tidak cukup kuat menarik Fe keluar dari jerapan. Keadaan ini yang menunjukkan bahwa ketersediaan Fe tidak signifikan di dalam tanah. Hal ini diperlihatkan oleh hasil penelitian Rengel (2015) yang menyimpulkan bahwa kelarutan senyawa Fe di dalam tanah relatif rendah.

Kompos yang disterilisasi dengan autoklaf menunjukkan terjadi penurunan Fe yang signifikan. Hal ini disebabkan pada autoklaf dalam operasinya menggunakan *steam high pressure* untuk proses pensterilan. Kemungkinan dalam kondisi tekanan tinggi kompos akan mudah lemah ikatan kimianya dibanding dengan zeolit atau tanah. Secara fisik kompos lebih lunak dibandingkan zeolit atau tanah. Hal ini dapat berakibat terjadinya

*leaching* logam dari matriks kompos dengan adanya uap panas selama proses sterilisasi. Diduga jika kompos dikeluarkan dari autoklaf dan dilanjutkan dengan penetapan logam maka kemungkinan besar telah terjadi penurunan jumlah logam lebih signifikan dibandingkan dengan matriks yang berupa zeolit atau tanah. Dengan meningkatnya dosis radiasi sinar Gamma menunjukkan terjadinya penurunan terhadap kelarutan Fe serta peningkatan kelarutan Mn dan Zn pada zeolit dan tanah, sedangkan pada kompos terjadi peningkatan Fe, Mn, Zn.

Tabel 3. Pengaruh autoklaf dan radiasi sinar Gamma terhadap kelarutan Fe dari zeolit, kompos dan tanah

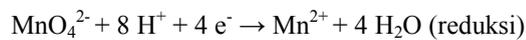
Table 3. Effect of autoclave and gamma ray radiation on the solubility of Fe carrier material zeolite compost and soil

Perlakuan	Fe tersedia (ppm)		
	Zeolit	Kompos	Tanah
Non sterilisasi	6,34 a	106,87 a	28,10 a
Autoklaf	4,86 a	50,03 d	28,12 a
Radiasi 10 kGy	7,44 a	81,60 c	37,03 a
Radiasi 20 kGy	6,86 a	115,24 a	25,64 a
Radiasi 30 kGy	5,98 a	112,53 a	32,47 a
Radiasi 40 kGy	6,45 a	111,88 a	28,18 a
Radiasi 50 kGy	4,39 a	95,59 b	29,10 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf nyata 5%.

Hasil uji statistik pada Tabel 4 menunjukkan jenis sterilisasi autoklaf pada tanah berpengaruh signifikan terhadap kelarutan Mn<sup>2+</sup>. Berdasarkan Tabel 4 juga terlihat pada tanah menunjukkan kelarutan Mn<sup>2+</sup> pada jenis sterilisasi autoklaf lebih tinggi yaitu 534,56 ppm dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sterilisasi autoklaf meningkatkan Mn tersedia sebesar 362,65% dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan karena kekuatan jerapan di dalam tanah menurun dengan naiknya temperatur (Ellis and Knezek 1972) sehingga terjadi reduksi ion MnO<sub>4</sub>. Dengan demikian Mn yang semula tidak tersedia menjadi tersedia di dalam sampel tanah. Selanjutnya pada zeolit dan tanah yang disterilisasi dengan radiasi dosis 50 kGy menghasilkan ketersediaan Mn<sup>2+</sup> tertinggi yaitu masing-masing 37,52 ppm dan 302,92 ppm. Hal ini disebabkan energi yang diberikan oleh radiasi sinar Gamma akan diserap oleh bahan pembawa. Energi tersebut kemudian ditransfer ke dalam komponen bahan pembawa tersebut. Interaksi energi radiasi dengan material bahan pembawa menyebabkan terjadinya proses ionisasi dan eksitasi. Proses radiasi akan menghasilkan produk

radiolisis air yaitu radikal H•, •OH dan e<sup>-</sup> (elektron terlarut) (Padmini 1998). Adanya e<sup>-</sup> yang terlarut bersifat akan menyebabkan terjadinya reduksi ion MnO<sub>4</sub><sup>2-</sup> menghasilkan Mn<sup>2+</sup>, dengan demikian Mn yang semula tidak tersedia menjadi tersedia di dalam sampel tanah. Reaksi kimia yang terjadi yaitu :



Tabel 4. Pengaruh autoklaf dan radiasi sinar Gamma terhadap kelarutan Mn dari zeolit, kompos dan tanah

Table 4. Effect of autoclave and gamma ray radiation on the solubility of Mn carrier material zeolite compost and soil

Perlakuan	Mn tersedia (ppm)		
	Zeolit	Kompos	Tanah
Non sterilisasi	15,43 b	73,85 a	115,54 d
Autoklaf	13,13 b	58,62 a	534,56 a
Radiasi 10 kGy	13,49 b	56,35 a	227,25 c
Radiasi 20 kGy	13,56 b	61,94 a	218,75 c
Radiasi 30 kGy	14,49 b	58,98 a	208,68 c
Radiasi 40 kGy	16,22 b	65,20 a	207,98 c
Radiasi 50 kGy	37,52 a	63,59 a	302,92 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf nyata 5%.

Penelitian yang dilakukan oleh Skipper and Westermann (1973) memperlihatkan bahwa autoklaf dapat menghasilkan peningkatan 3 kali lipat Mn di dalam tanah Dayton (Typic Albaqualfs dan Jory Xeric Haplohumults, laterit coklat kemerahan), sedangkan pada tanah Woodburn (Aquultic Argixerolls, podsolik abu-abu coklat) Mn di dalam tanah meningkat kira-kira 90 hingga 120 kali lipat, tergantung pada lamanya perlakuan.

Hasil uji statistik pada Tabel 5 memperlihatkan bahwa menunjukkan jenis sterilisasi pada tanah tidak berpengaruh nyata terhadap kelarutan Zn<sup>2+</sup>. Hal ini kemungkinan karena tanah mempunyai ikatan Zn dengan ligand nya paling kuat. Hal ini terlihat dari deret Irving-Williams (urutannya: Mn < Fe < Co < Ni < Cu > Zn) (Ante 2011). Hal ini menunjukkan bahwa logam Zn terjerap cukup kuat dalam matriks tanah sehingga ekstraksi yang diterapkan pada matriks tersebut tidak cukup kuat untuk menarik Zn keluar dari jerapan. Pada zeolit dan kompos menunjukkan bahwa jenis sterilisasi terjadi perbedaan yang signifikan terhadap Zn<sup>2+</sup>. Data Tabel 5 terlihat sterilisasi radiasi sinar Gamma 50 kGy pada meningkatkan ketersediaan Zn<sup>2+</sup> tertinggi yaitu 7,98 ppm dibandingkan dengan perlakuan

lainnya. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh energi yang diberikan oleh radiasi sinar Gamma akan diserap oleh bahan pembawa. Energi tersebut kemudian ditransfer ke dalam komponen tersebut sehingga terjadi proses ionisasi dan eksitasi sehingga menghasilkan produk radiolisis air yaitu radikal H•, •OH dan e<sup>-</sup> (elektron terlarut) (Padmini 1998). Dengan demikian Zn yang semula tidak tersedia menjadi tersedia.

Seperti pada penjelasan sebelumnya bahwa Fe pada kompos yang disterilisasi dengan autoklaf menunjukkan terjadi penurunan Zn yang signifikan. Hal ini disebabkan karena dalam kondisi tekanan tinggi, ikatan kimia pada kompos lemah dibanding zeolit atau tanah, sehingga berakibat terjadinya *leaching* logam dari matriks kompos dengan adanya uap panas selama proses sterilisasi. Dengan demikian terjadi penurunan jumlah logam lebih signifikan dibandingkan dengan matriks yang berupa zeolit atau tanah.

Tabel 5. Pengaruh autoklaf dan radiasi sinar Gamma terhadap kelarutan Zn dari zeolit, kompos dan tanah

Table 5. Effect of autoclave and gamma ray radiation on the solubility of Zn carrier material zeolite compost and soil

Perlakuan	Zn tersedia (ppm)		
	Zeolit	Kompos	Tanah
Non steril	0,57 f	9,05 a	3,33 a
Autoklaf	5,13 e	5,49 c	3,36 a
Radiasi 10 kGy	5,70 ed	6,91 b	3,41 a
Radiasi 20 kGy	6,06 cd	8,76 a	3,47 a
Radiasi 30 kGy	6,66 bc	7,04 b	3,20 a
Radiasi 40 kGy	7,15 b	9,20 a	3,45 a
Radiasi 50 kGy	7,98 a	7,60 b	3,50 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf nyata 5%.

Menurut penelitian Padhan *et al.* 2016 bahwa batas kritis Zn tersedia di dalam tanah yaitu 0,6 mg kg<sup>-1</sup>, semua tanah yang dalam penelitiannya menggunakan DTPA untuk mengekstrak Zn. Kandungan karbon organik tanah (SOC) berkorelasi positif dan signifikan dengan kandungan seng yang tersedia di tanah, namun pH tanah menunjukkan korelasi yang signifikan namun negatif dengan kandungan seng yang tersedia di dalam tanah.

### Viabilitas Spora *G. margarita* pada Zeolit dan Kompos

Hasil viabilitas awal spora *G. margarita* sebagai kontrol yang disimpan di dalam cawan Petri bahwa spora yang hidup yaitu 61,67%. Hasil viabilitas spora *G. margarita* sebagai kontrol yang disimpan di dalam cawan Petri selama 1 bulan spora yang hidup yaitu 47,50%.

Penyimpanan 3 bulan hasil viabilitas awal *G. margarita* sebagai kontrol yang disimpan di dalam cawan Petri bahwa spora yang hidup yaitu 44,17% (Tabel 6). Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah persentase dari 50 jumlah spora *G. margarita*. Perhitungan ini didasarkan dari jumlah spora yang disaring dan jumlahnya tidak sama untuk setiap perlakuan (Tabel 7).

Tabel 6. Analisis kontrol viabilitas spora *G. margarita* yang disimpan di dalam cawan Petri

Table 6. Analysis of control viability *G. margarita* spores stored in a petri dish

Umur penyimpanan	Spora yang berkecambah dari 20 spora						Rata-rata (%)
Kontrol							
Awal	12	10	12	11	14	15	61,67
1 bulan	9	7	10	11	9	11	47,50
3 bulan	8	9	11	8	7	10	44,17

Berdasarkan hasil uji statistik pada Tabel 7 menunjukkan bahwa jenis sterilisasi autoklaf pada zeolit berpengaruh nyata terhadap viabilitas spora setelah penyimpanan selama 1 bulan, sedangkan jenis sterilisasi pada kompos tidak berpengaruh nyata terhadap viabilitas spora setelah penyimpanan selama 1 bulan. Viabilitas spora *G. margarita* yang disimpan selama 1 bulan pada zeolit yang disterilisasi dengan autoklaf memberikan hasil tertinggi yaitu 46,95%, sedangkan proses sterilisasi radiasi dan autoklaf pada kompos viabilitas spora *G. margarita* tidak ada yang hidup. Proses sterilisasi radiasi pada zeolit viabilitas spora *G. margarita* tertinggi yaitu sebesar 27,72% pada dosis 30 kGy, sedangkan proses sterilisasi radiasi dan autoklaf pada kompos viabilitas spora *G. margarita* tidak ada yang hidup. Hal ini kemungkinan

kelarutan Fe, Mn dan Zn pada dosis 30 kGy jumlahnya sedikit dan spora yang terdapat di dalam tersebut memiliki kualitas yang lebih baik. Dengan demikian viabilitasnya tinggi dibandingkan dengan dosis radiasi lainnya.

Berdasarkan data Tabel 7 menunjukkan pada jenis sterilisasi radiasi dosis 10 kGy pada zeolit berpengaruh nyata terhadap viabilitas spora setelah penyimpanan selama 3 bulan, sedangkan jenis sterilisasi pada kompos tidak berpengaruh nyata terhadap viabilitas spora setelah penyimpanan selama 3 bulan. Proses sterilisasi radiasi pada zeolit viabilitas spora *G. margarita* tertinggi yaitu sebesar 45,81% pada dosis 10 kGy, sedangkan proses sterilisasi radiasi dan autoklaf pada kompos viabilitas spora *G. margarita* tidak ada yang hidup. Hal ini kemungkinan disebabkan kelarutan Fe, Mn dan Zn pada dosis 10 kGy jumlahnya sedikit dan spora yang terdapat di dalam tersebut memiliki kualitas yang lebih baik. Dengan demikian viabilitasnya tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Mikoriza hidup lebih baik pada zeolit bila dibandingkan pada kompos. Hal ini kemungkinan disebabkan jumlah mikroba yang tumbuh di zeolit lebih sedikit ( $0 - 3,9 \times 10^4$  cfu g<sup>-1</sup>) dibandingkan dengan yang ada di kompos ( $5 \times 10^1 - 1,8 \times 10^7$  cfu g<sup>-1</sup>) (Tabel 3). Kemungkinan mikroba indigenus yang ada di dalam memakan dinding spora tersebut sehingga spora tidak mampu berkecambah dengan baik. Kompos mengandung mikroba indigenus yang dapat mengganggu perkecambahan spora *G. margarita*, sehingga spora *G. margarita* tidak ada yang hidup (Tabel 7).

Hal ini didukung oleh hasil pengamatan mikroskopis (Gambar 1 & 2). Selain itu pada perlakuan kompos menunjukkan hasil analisis Mn yang sudah tinggi (Tabel 3), sehingga menyebabkan viabilitas *G. margarita* tidak

Tabel 7. Pengaruh sterilisasi pada zeolit dan kompos terhadap viabilitas spora setelah disimpan selama 1 dan 3 bulan

Table 7. Effect of sterilization on the zeolite carrier material and compost on the viability of spores after being stored for 1 and 3 months

Perlakuan	Persentase spora yang ditemukan setelah 1 bulan		Persentase spora berkecambah 1 bulan		Persentase spora yang ditemukan setelah 3 bulan		Persentase spora berkecambah 3 bulan	
	Zeolit	Kompos	Zeolit	Kompos	Zeolit	Kompos	Zeolit	Kompos
Non sterilisasi	56,6	14,6	14,9 bcd	0 a	84,0	14,6	35,4 ab	0 a
Autoklaf	58,6	26,0	46,9 a	0 a	81,3	23,3	21,5 bc	0 a
10 kGy	68,0	16,6	24,9 bc	0 a	76,6	14,6	45,8 a	0 a
20 kGy	70,6	10,6	14,3 cd	0 a	90,0	12,6	21,3 bc	0 a
30 kGy	60,0	14,6	27,7 b	0 a	72,6	14,6	36,8 ab	0 a
40 kGy	84,0	18,6	16,7 bcd	0 a	94,6	23,3	11,2 c	0 a
50 kGy	81,3	28,6	10,3 d	0 a	80,0	26,6	17,3 bc	0 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf nyata 5%.



(a) Hifa mikoriza



(b) Spora mikoriza yang terkontaminasi

Gambar 1. a) Spora *G. margarita* yang berkecambah pada zeolit pada penyimpanan 1 bulan; b) Spora *G. margarita* yang tidak berkecambah pada kompos penyimpanan 1 bulan rusak karena terserang oleh fungi

Figure 1. (a) *G. margarita* spores that germinate on a zeolite carrier material on storage 1 month; (b) *G. margarita* spores do not germinate on the compost carrier material storage 1 month damaged because of being attacked by fungie



(a) Hifa mikoriza



(b) Spora mikoriza yang terkontaminasi

Gambar 2. (a) Spora *G. margarita* yang berkecambah pada zeolit pada penyimpanan 3 bulan; (b) Spora *G. margarita* yang tidak berkecambah pada kompos penyimpanan 3 bulan rusak karena terserang oleh fungi

Figure 2. (a) *G. margarita* spores that germinate on a zeolite carrier material on storage 3 month; (b) *G. margarita* spores do not germinate on the compost carrier material storage 3 month damaged because of being attacked by fungie

ada yang hidup. Keadaan ini didukung oleh penelitian Cardoso *et al.* 2002 yang melaporkan bahwa pemberian dosis 30 ppm ion  $Mn^{2+}$  dalam larutan  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  mikoriza jenis *Scutellospora* dan *Gigaspora* mampu berkecambah sedangkan pada penambahan 75 ppm ion  $Mn^{2+}$  mengalami penurunan viabilitas hingga 75%. Menurut Cardoso *et al.* (2002) menunjukkan kenaikan konsentrasi Mn mampu menghambat pertumbuhan mikoriza

Umumnya viabilitas spora *G. margarita* pada zeolit yang diradiasi dengan dosis 40 - 50 kGy mengalami penurunan dibandingkan dengan yang disterilisasi menggunakan autoklaf (Tabel 6). Keadaan ini disebabkan oleh efek radiasi secara langsung dapat menyebabkan pemutusan ikatan kimia, ikatan gula dengan fosfat pada bahan (Heslot 1971) dan kerusakan DNA sehingga sel mati (Tabel 7).

## Kesimpulan dan Saran

Radiasi sinar Gamma dosis 30 kGy lebih efisien daripada dosis 40 dan 50 kGy untuk digunakan dalam meradiasi bahan pembawa karena viabilitas spora *G. margarita* nya tinggi. Radiasi sinar Gamma sedikit meningkatkan ketersediaan Fe, Mn, Zn pada zeolit dibandingkan dengan kompos dan tanah. Autoklaf dapat meningkatkan kelarutan Mn pada tanah sebesar 362,66% dan kelarutan Mn dapat mempengaruhi perkecambahan spora *G. margarita*. Zeolit lebih sesuai digunakan sebagai bahan pembawa spora mikoriza daripada menggunakan kompos.

## Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Ibu Nana, Ibu Susan yang telah membantu dalam proses kegiatan di laboratorium PAU IPB Bogor. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Dr. Irawan Soegoro, Ibu Tita Puspitasari M.Si dan Bapak Aviantara M.Sc, Anggi Nico Flatian SP. yang telah membantu dalam penulisan.

## Daftar Pustaka

- Anahid, S., S. Yaghmaei, dan Z. Ghobadinejad. 2011. Heavy metal tolerance of fungi. *Scientia Iranica*. 18(3):502-508.
- Ante, M., B. Gina, dan R. Nenad. 2011. Irving-williams order in the framework of connectivity index  $3\chi_v$  enables simultaneous prediction of stability constants of bivalent transition metal complexes. *Molecules*. 16:1103-1112.
- [BPT] Balai Penelitian Tanah. 2009. Petunjuk Teknis Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air, dan Pupuk. Balai Penelitian Tanah Departemen Pertanian Bogor.
- Brundrett, M.C., N. Bougher, B. Dells, T. Grove, dan N. Malajczuk. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR. Canberra (AUS).
- Cardoso, E.J.B.N., R.B Navarro, dan M.A. Nogueira. 2002. Manganese and spore germination of arbuscular mycorrhizal fungi in vitro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 26:795-799.
- Chalimah, S., Muhadiono, A Latifah, S. Haran, dan N.T. Mathius. 2007. Perbanyak *Gigaspora* sp. dan *Acaulospora* sp. dengan kultur pot di rumah kaca. *Biodiversitas*. 7(4):12-19.
- Denison, R.F. dan E.T. Kiers. 2011. Life Histories of symbiotic rhizobia and review mycorrhizal fungi (review). *Current Biology* 21. 21(18):775-785.
- Douds, D.D., J. Lee, J. Uknalis, A. Akwasi, Boateng, dan C.Z. Ulsh. 2014. Pelletized biochar as a carrier for AM fungi in the on-farm system of inoculum production in compost and vermiculite mixtures. *Compost Science & Utilization*. 22:253-262.
- Ellis, B.G. dan Knezek 1972. Adsorption reaction of micronutrients in soils. In J.J. Mortvedt, P.M. Giordano, and W. L. Lindsay (Ed). *Micronutrients in Agriculture*. Soil Sci. Soc. Of Amer., Inc., Madison, Wisconsin
- Enjelja. 2011. Penggunaan Sterilisasi Radiasi Sinar Gamma Co-60 dan Mesin Berkas Elektron Pada Viabilitas Inokulan Dalam Bahan Pembawa (Kompos dan Gambut) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Herryawan, K.M. 2012. Perbanyak inokulum fungi mikoriza arbuskular (FMA) secara sederhana. *Pasture*. 2(2):57-60
- Heslot, H. 1971. Molecular mechanism of mutation. *Proceedings Radiation and radioisotopes for industrial microorganisms*. Vienna. 13-38.
- Hodge, A. dan A.H. Fitter. 2010. Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling. *PNAS*. 107(31):13754-13759.
- Kheyrodin, H. 2014. Plant and soil relationship between fungi. *International J. of Research Studies in Biosciences (IJRSB)*. 2(9):42-49.
- Mala, W.J., I.S. Kumari, H.A. Sumanasena, dan C.M. Nanayakkara. 2010. Effective spore density of *Glomus mosseae*, arbuscular mycorrhiza (AM), for inoculation of rooted cuttings of black pepper (*Piper nigrum* Linn.). *Tropical Agricultural Research*. 21(2):189-197.
- Marleen, I., S. Cranenbrouck, dan S. Declerck. 2011. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. *Mycorrhiza*. 21:1-16.
- Narumi I. 2006. Biofertilizer Manual. *Carriers for Biofertilizers*. Forum for Nuclear Cooperation in Asia (FNCA). Tokyo (JPN).
- Nurbaity, A. Setiawan, dan O. Mulyani. 2011. Efektivitas arang sekam sebagai bahan pembawa pupuk hayati mikoriza arbuskular pada produksi sorgum. *Agrinimal*. 1(1):1-6.
- Padhan, D., A. Sen, and B. Pal. 2016. DTPA Extractable zinc in rice soils and its availability to rice. *Current World Environment*. 11(2):662-669.
- Padmini, O.S, F. Rumawas, H. Aswidinor, dan E. Sisworo. 1998. Pengaruh nitrogen dan *Bradyrhizobium japonicum* terhadap pertumbuhan kedelai (*Glycine max (L.) Merr*) dengan Metode  $^{15}\text{N}$ . *Risalah Pertemuan Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Aplikasi Isotop dan Radiasi*. BATAN.
- Parniske, M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*. 6:763-775.
- Pawlowska, T.E., dan I. Charvat 2004. Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*. 6643-6649.
- Prafithiasari, M. dan A. Nurbaity. 2010. Infektivitas inokulan *Glomus* sp. dan *Gigaspora* sp. pada berbagai komposisi media zeolit-arang sekam dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan sorgum (*Sorghum bicolor*). *J. Agrikultura*. 21(1):39-45.
- Rengel, Z. 2015. Availability of Mn, Zn and Fe in the rhizosphere. *J. of Soil Science and Plant Nutrition*. 15(2):397-409.
- Ridgway, H.J., J. Kandula, dan A. Stewart. 2006. Optimising the medium for producing arbuscular mycorrhizal spores and the effect of inoculation on grapevine growth. *New Zealand Plant Protection*. 59:338-342.
- Saranya, K. dan Kumutha K. 2011. Standardization of the substrate material for large scale production of arbuscular mycorrhizal inoculum. *International J. of Agriculture Sciences*. 3(1):71-77.
- Simanungkalit, R.D.M., A.S. Didi, S. Rasti, S. Diah, dan H. Wiwik. 2006. *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati (Organic Fertilizer and Biofertilizer)*. Di dalam: Simanungkalit RDM, Suriadikarta DA, Saraswati R, Setyorini D, Hartatik W. editor. Bogor, Indonesia. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 159-180.
- Skipper, H.D. dan D.T. Westermann. 1973. Comperative effects propylene oxide, sodium azide and autoclaving on selected soil properties. *Soil Biol. Biochem*. 5(4): 409-414.
- Sindy, M.P., I. Anas, F. Hazra, dan A. Citraresmini. 2010. Viabilitas inokulan dalam bahan pembawa gambut, kompos, arang batok dan zeolit yang disteril dengan radiasi sinar gamma Co-60 dan mesin berkas elektron. *Jurnal Tanah dan Lingkungan*. 12(1):9-16. Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Tamin, R.P, Nursanti, dan Albayudi. 2012. Identifikasi jenis dan perbanyak endomikoriza lokal di hutan kampus universitas jambi. *J. Penelitian Universitas Jambi*. 14(1):23-28.
- Toharisman, A. 1989. Evaluasi Berbagai Metode Sterilisasi Tanah dan Pengaruh Sterilisasi Autoklaf terhadap Beberapa Sifat Tanah dan Pertumbuhan Tanaman Kedelai dan Jagung [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor-