

RINGKASAN

Trichoderma sp. TNJ63 merupakan fungi tanah yang diisolasi dari tanah perkebunan jeruk di Riau dan memiliki sifat antagonistik yang tinggi terhadap beberapa spesies mikroba sehingga dapat digunakan sebagai agen biokontrol tanaman. Kapang ini tidak hanya mampu menghasilkan enzim ekstraselular dan antibiotik yang berperan sebagai senyawa antimikroba, namun juga mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen. Aplikasi *Trichoderma sp.* TNJ63 dalam produksi enzim, biokontrol, dan produksi metabolit sekunder berhubungan erat dengan identifikasi dan klasifikasi spesies yang tepat. Identifikasi *Trichoderma sp.* TNJ63 baru dilakukan secara morfologi yang diidentifikasi sebagai *Trichoderma viride*. Identifikasi secara morfologi sering tidak tepat dalam identifikasi dan klasifikasi spesies sehingga perlu ditambah dengan data molekuler yang dapat memberikan kepastian. Salah satu caranya adalah dengan analisis sekuensing urutan ribosomal DNA pada daerah *Internal Transcribe Spacer* (ITS), yaitu sekuens daerah ITS-1 dan ITS-2 dari rDNA.

Identifikasi dan klasifikasi *Trichoderma sp.* TNJ63 diawali dengan isolasi DNA kromosomal menggunakan enzim litikase dan metoda kit Wizard Genomic ex. Promega. Karakterisasi DNA kromosomal isolat terdiri dari penentuan berat molekul DNA secara elektroforesis, kemurnian DNA dan titik leleh DNA secara spektrofotometri pada A_{260} dan A_{280} , serta $\%(G+C)$ DNA. Daerah ITS-1 dan ITS-2 dari isolat DNA kromosomal diamplifikasi dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan kombinasi primer ITS5-ITS4 dan ITS1-ITS4, lalu urutan DNANYa ditentukan menggunakan primer ITS2, ITS3, ITS4, dan ITS5 pada Lembaga Biologi Molekular Eijkman di Jakarta.

Ekstraksi DNA kromosomal *Trichoderma sp.* TNJ63 berhasil baik pada miselium berumur maksimum 4 hari dan berat molekul DNA yang terisolasi adalah 12.611 pb. Berdasarkan rasio A_{260}/A_{280} diperoleh nilai sebesar 1,802 yang menunjukkan DNA hasil isolasi cukup murni. Titik leleh (T_m) DNA *Trichoderma sp.* TNJ63 adalah $66^{\circ}C$ sehingga diperoleh $\%(G+C)$ sebesar 5,61%. Amplifikasi PCR menggunakan primer ITS5-ITS4 berhasil baik dengan memberikan produk sebesar 527 pb, namun kurang baik pada kombinasi primer ITS1-ITS4. Hasil sekuensing yang diperoleh menunjukkan sekuensing produk PCR ITS5-ITS4 berhasil baik menggunakan primer ITS5 dengan pembacaan yang baik sebesar 390 pb, namun kurang baik pada sekuens menggunakan primer ITS4. Hasil sekuens daerah ITS-1 dan ITS-2 diverifikasi dengan mensekuens produk PCR ITS5-ITS4 menggunakan primer ITS2 dan ITS3. Hasil akhir diperoleh sekuens lengkap daerah rDNA yang meliputi sebagian kecil ujung 3' 18S rDNA, ITS-1, 5,8S rRNA, ITS-2, dan sebagian kecil ujung 5' 28S rDNA sebesar 636 pb.

