

Isolasi dan Identifikasi Fungi Mikoriza Arbuskular (Fma) secara Mikroskopis pada Rhizosfer Tanaman Jeruk (*Citrus sp.*) di Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar

I WAYAN SUAMBA
I GEDE PUTU WIRAWAN*)
WAYAN ADIARTAYASA

Konsentrasi Bioteknologi Pertanian, Program Studi Agroekoteknologi
Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar 80362 Bali
*)Email: igpwirawan@yahoo.com

ABSTRACT

Isolation and Identification of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) by Microscopic (AMF) in Rhizosphere of Citrus Plant (*Citrus sp.*) in Kerta Village, Payangan District, Gianyar Regency

Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) is a group of organisms from fungi that describes a form of mutualism between symbiotic fungi and plant roots. AMF has great potential as a biological fertilizer because the microorganism which has a very important role in facilitating the absorption of nutrients in the soil to increase plant growth, in addition AMF also function as a biological barrier against pathogen that infect the roots, increasing the availability of water for plants to grow and improve hormone boosters.

The purpose of the study was to determine the types of AMF that exist in the rhizosphere of citrus plant and determine the presence of infection by the AMF in the citrus plant roots in the village of Kerta.

The results of the isolation and identification of AMF spores in the rhizosphere of citrus plants in the village of Kerta found 14 different types of AMF spores. This study found 7 type of *Glomus*, 5 types of *Gigaspora* and 2 types of *Acaulospora*. Those types were determined by using the characteristic of their spores. Observations on root finding that the AMF infection in the form vesicles and arbuscular structures.

Keywords : *Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Glomus, Gigaspora, Acaulospora, Vesicles and Arbuscular.*

1. Pendahuluan

Desa Kerta merupakan salah satu desa di Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar yang mayoritas penduduknya bekerja di sektor pertanian. Jenis tanaman jeruk merupakan tanaman yang paling banyak dibudidayakan terutama spesies jeruk siam (*C. nobilis microcarpa*). Tanaman jeruk di Desa Kerta ditanam secara tumpang sari dengan tanaman semusim seperti kubis, cabai, kacang-kacangan, terong, dan tomat. Untuk meningkatkan produktivitas jeruk petani menggunakan pupuk

anorganik seperti pupuk Urea, Mutiara, Phonska dan NPK serta ditambah pupuk kandang. Pupuk anorganik diaplikasikan sebanyak 2 kali dalam setahun yaitu pada bulan Januari dan September. Dosis pemupukan yaitu pupuk Urea/Mutiara diaplikasikan sebanyak 150 kg/ha, pupuk Phonska/NPK diaplikasikan sebanyak 100 kg/ha dan pupuk kandang diaplikasikan 1 kali dalam setahun dengan dosis pemupukan sekitar 2 ton/ha . (Nadi, 2013).

Penggunaan pupuk anorganik memiliki dampak negatif antara lain dapat menyebabkan perubahan struktur tanah, pemadatan, kandungan unsur hara dalam tanah menurun, dan pencemaran lingkungan. Pemberian pupuk anorganik secara terus-menerus dalam jangka panjang akan menaikkan keasaman tanah yang berdampak buruk terhadap mikroorganisme yang ada di dalam tanah dan apabila dibiarkan berlarut-larut maka kesuburan alami tanah akan merosot (Triyono *dkk.*, 2013).

FMA merupakan organisme yang berasal dari golongan jamur yang menggambarkan suatu bentuk hubungan simbiosis mutualisme antara fungi dengan akar tanaman (Brundrett *et al.*, 1996). Pemanfaatan FMA sebagai pupuk hayati dapat digunakan sebagai alternatif untuk menghindari kerusakan tanah akibat penggunaan pupuk anorganik (Sundari *dkk.*, 2011). FMA berpotensi besar sebagai pupuk hayati karena salah satu mikroorganisme yang memiliki peranan yang sangat penting bagi tanaman seperti dapat memfasilitasi penyerapan hara dalam tanah sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, sebagai penghalang biologis terhadap infeksi patogen akar, meningkatkan ketersediaan air bagi tanaman dan meningkatkan hormon pemacu tumbuh (Prihastuti, 2007).

Fungi mikoriza arbuskular (FMA) dapat ditemukan hampir pada semua ekosistem, termasuk pada lahan masam (Kartika, 2006) dan alkalin (Swasono, 2006). Menurut Smith dan Read (2008), FMA dapat berasosiasi dengan hampir 90% jenis tanaman. Walaupun demikian, tingkat populasi dan komposisi jenis FMA sangat beragam dan dipengaruhi oleh karakteristik tanaman dan faktor lingkungan seperti suhu, pH tanah, kelembapan tanah, kandungan fosfor dan nitrogen, serta konsentrasi logam berat (Daniels dan Trappe, 1980).

Pemanfaatan FMA sebagai pupuk hayati akhir-akhir ini mulai mendapat perhatian, hal ini tidak saja karena kemampuannya meningkatkan penyerapan air dan unsur hara dari dalam tanah, menghasilkan hormon pemacu tumbuh serta sebagai barier terhadap serangan patogen tular tanah, tetapi di sisi lain FMA juga berperan dalam menjaga kelestarian tanah baik secara fisik, kimia maupun biologi sehingga keseimbangan biologis selalu terjaga (Hartoyo *dkk.*, 2011)

Informasi mengenai jenis-jenis FMA dan pemanfaatannya pada tanaman jeruk khususnya di Desa Kerta sejauh ini belum pernah dilaporkan, maka dari itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis FMA pada rhizosfer tanaman jeruk di Desa Kerta dan sebagai tahapan awal dalam pemanfaatan FMA sebagai pupuk hayati. Hasil penelitian diharapkan mendapatkan isolat FMA indigenous pada rhizosfer tanaman jeruk di Desa Kerta, sehingga dapat dilakukan penelitian lebih

lanjut terhadap kompatibilitas dan efektivitas spesies-spesies FMA yang ditemukan untuk pertumbuhan dan produktivitas tanaman jeruk.

2. Bahan dan Metode

2.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan November 2013 – Januari 2014. Pengambilan sampel tanah dan akar dilakukan di salah satu kebun jeruk di Desa Kerta dan proses isolasi dan identifikasi spora FMA dilaksanakan di UPT Laboratorium Sumber Daya Genetika dan Biologi Molekuler Universitas Udayana.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set penyaring (*sieve*) dengan diameter lubang 1 mm, 500 μm , 212 μm , 106 μm , 53 μm , gelas beaker 1000 ml, cawan Petri, pipet mikro, kaca preparat, *cover glass*, objek glass, mikroskop stereo, mikroskop compound, jarum *oose*, timbangan analitik, kamera, *mikrowave*, gunting, gelas beaker 100 ml, dan pinset. Bahan yang dibutuhkan yaitu tanah rhizosfer dari kebun jeruk di Desa Kerta, kertas label, kantong plastic, air kran, KOH 10%, 3% H_2O_2 , 1% HCL, *lactoglycerol*, *Trypan blue*, dan air kran.

2.3 Pelaksanaan Penelitian

Pengambilan sampel tanah dan akar dilakukan di salah satu kebun jeruk di Desa Kerta milik I Wayan Nadi. Metode pengambilan sampel tanah dilakukan secara diagonal yang berjumlah sebanyak 5 sampel. Masing-masing sampel diambil sebanyak 100 gram di sekitar perakaran, jarak pengambilan 10-50 cm dari pangkal batang dengan kedalaman 0-30 cm, pada setiap sampel diambil 100 gram, di komposit dan dimasukkan dalam kantong plastik, serta pengambilan sampel akar dilakukan dengan cara memotong bagian ujung akar yang masih muda.

Isolasi dan Identifikasi FMA dilakukan dengan cara menimbang sampel tanah sebanyak 100 gr, kemudian dimasukkan dalam gelas beaker 1000 ml dan ditambah air sampai volume 1 liter. Tanah tersebut diaduk selama ± 10 menit sampai homogen dan agregat tanah dipecah dengan tangan supaya spora terbebas dari tanah. Suspensi tersebut di diamkan selama ± 1 menit sampai partikel-partikel yang besar mengendap. Cairan supernatan dituang ke dalam saringan bertingkat dengan diameter lubang 1 mm, 500 μm , 212 μm , 106 μm , 53 μm (prosedur ini diulang sebanyak 2-3 kali). Residu masing-masing saringan dibilas dengan air kran untuk menjamin bahwa semua partikel yang kecil sudah terbawa. Residu saringan yang berukuran 212 μm , 106 μm dan 53 μm dituang kedalam cawan petri dengan bantuan botol semprot untuk dilakukan pengamatan spora di bawah mikroskop Ciri-ciri mikroskopis spora yang ditemukan kemudian dicocokkan dengan pedoman identifikasi yang digunakan INVAM untuk menentukan genus FMA yang ditemukan.

Pewarnaan Akar (*Staining*) dilakukan dengan cara mencuci akar sampai bersih, akar dipotong ± 5 cm dan diletakan pada gelas beaker 100 ml. Ditambah 10 % KOH, dipanaskan pada suhu 250°C selama 10 menit, selanjutnya disimpan selama ± 12 jam pada suhu ruangan. 10% KOH dibuang, akar dicuci dengan air kran (pencucian dilakukan 3 kali), dan ditambahkan 3 % H_2O_2 , selanjutnya disimpan selama ± 12 jam pada suhu ruangan. 3% H_2O_2 dibuang, akar dicuci dengan air kran (pencucian dilakukan 3 kali), ditambahkan 1% HCL, selanjutnya disimpan selama ± 12 jam pada suhu ruangan. 1% HCL dibuang dan ditambah *trypan blue*, dipanaskan pada suhu 250°C selama 5 menit, kemudian disimpan selama ± 12 jam pada suhu ruangan. *Trypan blue* dibuang, ditambah *laktoglycerol*, dipanaskan pada suhu 250°C selama 5 menit, kemudian disimpan selama ± 12 jam pada suhu ruangan. Akar dipotong kurang lebih 3 cm dan diletakan berjejer pada preparat, kemudian setiap potong akar diamati dibawah mikroskop untuk melihat struktur mikorizanya (vesikel, arbuskula dan hifa).

Variabel yang diamati dan dianalisis pada penelitian ini adalah karakter morfologi spora yang meliputi bentuk dan warna spora. Infeksi FMA pada akar, berdasarkan adanya struktur FMA (vesikel, arbuskula dan hifa) pada akar tanaman setelah pewarnaan (*Staining*).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Kondisi Umum Desa Kerta

Desa Kerta terletak pada ketinggian 600 – 925 meter di atas permukaan laut dengan topografi landai sampai berbukit, kemiringan 15 sampai 39 %, termasuk kawasan dengan batuan induk yang berasal dari abu vulkanik, jenis tanah regosol, tekstur tanah lempung berpasir. Curah hujan rata-rata 2800 mm/ tahun dengan bulan basah antara bulan Oktober-April dan bulan kering antara bulan April-Oktober. Tingkat kemasaman tanah (pH) adalah 5,5 sampai 7,5, kelembaban rata-rata diatas 80%, rata-rata suhu harian dari 22°C sampai 28°C , dan memiliki drainase yang baik (Profil Desa Kerta, 2013).

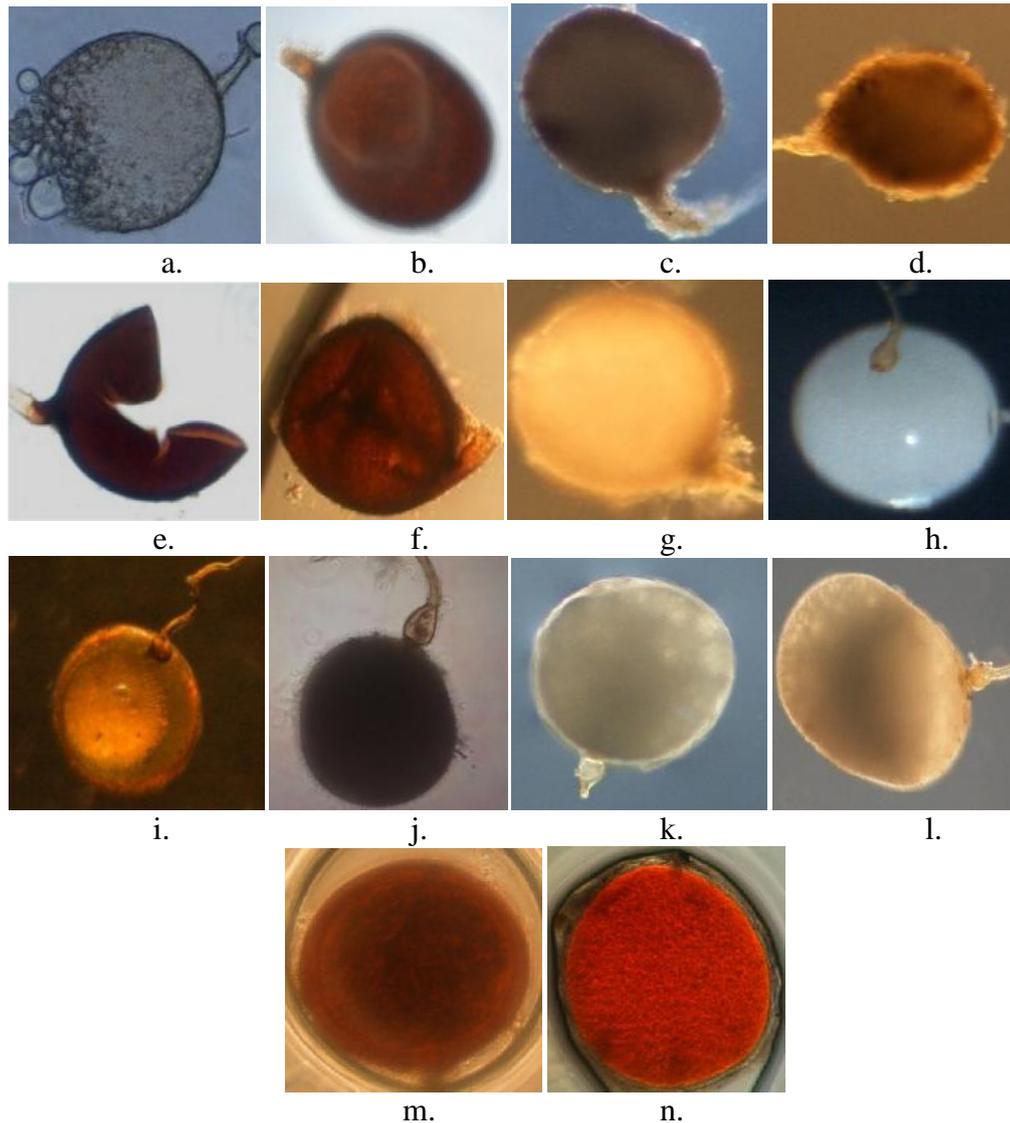
3.2 Isolasi dan Identifikasi Spora Fungi Mikoriza Arbuskular (FMA)

Hasil isolasi dan identifikasi spora FMA pada rhizosfer tanaman jeruk di Desa Kerta diperoleh 14 jenis spora FMA yang berbeda. Tipe spora yang diperoleh memiliki ciri-ciri bentuk dan warna spora yang berbeda-beda. Spora tersebut kemudian dikelompokan berdasarkan bentuk dan warna sehingga didapatkan tiga jenis spora FMA yaitu *Glomus*, *Gigaspora*, dan *Acaulospora*. Jenis *Glomus* didapatkan sebanyak 7 tipe spora (Gambar 4.1.a-g), *Gigaspora* didapatkan sebanyak 5 tipe spora (Gambar 4.1.h-l) dan *Acaulospora* didapatkan sebanyak 2 tipe spora (Gambar 4.1.m dan n).

Secara mikroskopis masing-masing tipe spora yang ditemukan memiliki karakteristik yang khas, seperti tipe spora *Glomus* spora terdapat dudukan hifa (*subtending hyphae*), sedangkan tipe spora *Gigaspora* karakteristik yang khas adalah

pada pangkal hifa terdapat *bulbous suspensor* dan tidak memiliki lapisan perkecambahan, dan tipe spora *Acaulospora* memiliki dinding yang tebal dan spora memiliki ornamen.

Hasil isolasi dan identifikasi spora FMA pada rhizosfer tanaman jeruk di Desa Kerta didapatkan 3 jenis spora yaitu *Glomus*, *Gigaspora* dan *Acaulospora*. Berdasarkan jumlah tipe spora FMA, didapatkan tipe spora *Glomus* paling banyak, diikuti *Gigaspora* dan *Acaulospora*.

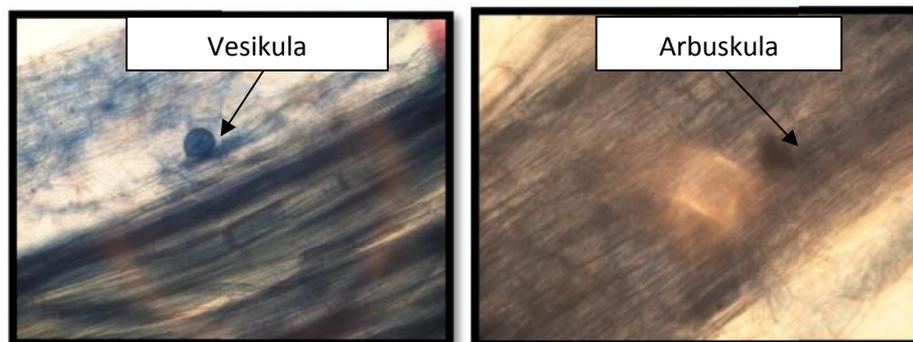


Gambar .1 Hasil isolasi dan identifikasi fungi mikoriza arbuskular (FMA) pada rhizosfer tanaman jeruk di Desa Kerta. Tipe spora *Glomus* dengan pembesaran 200 kali (a-g), tipe spora *Gigaspora* dengan pembesaran 100 kali (h-l), dan tipe spora *Acaulospora* dengan pembesaran 400 kali (m dan n)

Menurut Sundari (2011) keberadaan FMA pada suatu daerah dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan jenis tanah. Baon (1998) melaporkan tanah yang didominasi oleh fraksi lempung berdebu merupakan tanah yang baik bagi perkembangan genus *Glomus* dan tanah yang berpasir genus *Acaulospora* dan *Gigaspora* ditemukan dalam jumlah yang tinggi. Sejalan dengan hasil penelitian mengenai keberadaan spora FMA, seperti yang dilaporkan oleh Ragupathy dan Mahadevan (1991) yang mempelajari FMA pada hutan pantai juga menyimpulkan bahwa *Glomus* adalah jenis FMA yang paling dominan penyebarannya, yaitu 25 spesies dari 37 spesies yang ditemukan adalah tipe *Glomus*, dan Husin *et al.* (2007) juga telah mengobservasi dan mengidentifikasi spora FMA jenis *Glomus* sp. dalam jumlah dominan pada berbagai rhizosfir di lahan kritis Sumatera. Hal tersebut menunjukkan bahwa *Glomus* memiliki adaptasi yang sangat luas, sehingga hampir ditemukan di berbagai kondisi lingkungan seperti di Desa Kerta. Baon (1998) juga melaporkan pada tanah berpasir, pori-pori tanah terbentuk lebih besar sehingga keadaan ini diduga sesuai terhadap perkembangan genus FMA yang memiliki ukuran besar salah satunya adalah *Gigaspora*. Menurut INVAM (2008) ukuran rata-rata genus ini berkisar 321 μ m.

3.3 Analisis Infeksi Fungi Mikoriza Arbuskular (FMA) Pada Akar

Hasil pewarnaan struktur FMA pada akar dan pengamatan dibawah mikroskop dengan 200 kali pembesaran menemukan struktur FMA berupa arbuskula dan vesikula (Gambar 4.2). Struktur vesikula yang ditemukan berbentuk bulat dan warna biru disebabkan karena struktur tersebut menyerap larutan pewarna *trypan blue*, serta struktur arbuskula yang ditemukan berbentuk menggumpal dan berwarna gelap.



Gambar 2. Infeksi fungi mikoriza arbuskular (FMA) pada akar tanaman jeruk di Desa Kerta. (Kiri) struktur vesikula dengan pembesaran 200 kali (Kanan) struktur arbuskula dengan pembesaran 200 kali.

Terbentuknya struktur vesikula dan arbuskula pada akar tanaman jeruk di Desa Kerta menunjukkan bahwa tanaman mampu bersimbiosis dengan FMA dan sudah terjadi infeksi FMA pada akar tanaman jeruk. Menurut Anonim (2010) dengan bertambahnya umur, arbuskula ini berubah menjadi satu struktur yang menggumpal dan cabang-cabang pada arbuskul kemudian tidak dapat dibedakan lagi. Harley (1972) melaporkan satu akar tanaman dapat terinfeksi lebih dari satu jenis FMA,

begitu juga sebaliknya satu jenis FMA dapat menginfeksi lebih dari satu akar tanaman.

Struktur arbuskula dan vesikula merupakan struktur spesifik yang dibentuk oleh FMA sehingga keberadaan struktur tersebut sangat penting untuk mengidentifikasi bahwa sudah terjadi infeksi FMA pada akar tanaman. Menurut Brundrett *et al.*, (1996) pembentukan arbuskula diawali dengan masuknya hifa internal dari FMA dan tumbuh di antara sel-sel korteks, kemudian menembus dinding sel inang dan berkembang di dalam sel. Sedangkan Vesikel Menurut Abbott dan Robson (1982) berasal dari menggelembungnya hifa internal dari FMA, vesikula ditemukan baik di dalam maupun di luar lapisan kortek parenkim.

4. Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Isolasi FMA pada rhizosfer tanaman jeruk di Desa Kerta diperoleh 14 jenis spora FMA yang berbeda.
2. Hasil identifikasi FMA berdasarkan perbedaan mikroskopis didapatkan 3 jenis FMA yaitu *Glomus*, *Gigaspora* dan *Acalauspora*.
3. Hasil pewarnaan struktur FMA pada akar ditemukan struktur arbuskula dan vesikula pada jaringan akar tanaman jeruk.

Saran dari penelitian ini adalah perlu penelitian lebih lanjut terhadap spesies-spesies FMA indigenous yang ditemukan pada rhizosfer tanaman jeruk Desa Kerta terkait potensinya sebagai pupuk hayati. Penelitian seperti ini juga perlu dilakukan di lokasi lain dengan sampel yang berbeda mengingat sebaran dan keragaman FMA di masing-masing lokasi berbeda-beda.

Daftar Pustaka

- Abbott, L. K. and Robson, A. D. 1982. The role of VAM fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation. *Aust J Agric Res.* 33:389-395. Anas, I. 1992. *Bioteknologi Tanah*. Laboratorium Biologi Tanah. Jurusan Tanah. Fakultas Pertanian. IPB.
- Anonim. 2010. Mikoriza. Tersedia: <http://D:/myces/mikoriza.html>. [3 juni 2014]
- Baon, J. B. 1998. Peranan Mikoriza VA Pada Kopi Dan Kakao. Makalah disampaikan dalam workshop aplikasi fungi mikoriza arbuskula pada tanaman pertanian, perkebunan dan kehutanan. Bogor.
- Brundrett, M. C., Bougher, N., Dells, B., Grove, T., dan Malajozuk, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research: Canberra.
- Daniels, B. A. and J. M. Trappe. 1980. Factors affecting sporegermination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeus*. *Mycologi.* 72 :457-463.
- Harley, J. L. 1972. The biology of Mycorrhiza. Plant science monographs. Leonard Hill, London. 334.

- Hartoyo, B., M. Ghulamahdi., L. K. Darusman., S. A. Ariz., dan I. Mansur. 2011. Keanekaragaman Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) Pada Rizosfer Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban. Jurnal Littri Vol. 17 No. 1 : 32 – 40.
- Husin, E. F., Marlis, R., Trimitri., Auzan., Burhanuddin., dan Zelfi, Z. 2007. Observasi dan identifikasi spora Cendawan Mikoriza Arbuskular (CMA) pada berbagai rhizosfir di lahan kritis Sumatera. Disajikan pada Se-minar Nasional Mikoriza “Percepat-an Sosialisasi Teknologi Mikoriza untuk Mendukung Revitalisasi Ke-hutanan, Pertanian dan Perkebunan. Bogor, 19–20 Juli 2007.
- INVAM. 2008. International culture collection of (vesicular) arbuscularmycorrhizalfungi. Tersedia: <http://invam.caf.wvu.edu/Myco-info/Taxonomy/classification.htm>. [12Juni 2008].
- Kartika, E. 2006. Tanggap Pertumbuhan, Serapan Hara, dan Karakter Morfofisiologi terhadap Cekaman Kekeringan pada Bibit Kelapa Sawit yang Bersimbiosis dengan CMA. Disertasi. Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor. 188p. (tidak dipublikasikan).
- Profil Desa Kerta. 2013. Karakteristik Tanah dan Iklim. Payangan, Gianyar, Bali.
- Prihastuti. 2007. Isolasi dan karakterisasi mikoriza vesikular-arbuskular di lahan kering masam, Lampung Tengah. Berk. Penel. Hayati: 12 (99-106).
- Ragupathy, S. dan A. Mahadevan. 1991. VAM Distribution Influenced by Salinity Gradient in A Coastal Tropical Forest, pp. Soerianegara dan Supriyanto [eds.]. Proceedings of Second Asian Conference on Mycorrhiza. Seameo Biotrop, Bogor.
- Nadi, W. 2013. Hasil Wawancara Dengan Petani Jeruk di Desa Kerta Tentang Sistem Budidaya Jeruk. [17 Oktober 2013]
- Smith, S. E. and D. J. Read. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Third edition: Academic Press. Elsevier Ltd. New York, London, Burlington, San Diego. 768 p.
- Sundari, S., Nurhindayati, T. dan Trisnawati, I. 2011. Isolasi dan Identifikasi Mikoriza Indigenous dari Perakaran Tembakau Sawah (*Nicotiana tabacum* L) di Area Persawahan Kabupaten Madura. Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November
- Swasono, D. H. 2006. Peranan Mikoriza Arbuskula dalam Mekanisme Adaptasi Beberapa Varietas Bawang Merah terhadap Cekaman Kekeringan di Tanah Pasir Pantai. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, IPB, Bogor. 106 p. (tidak dipublikasikan)
- Triyono, A., Purwanto. dan Budiyono. 2013. Efisiensi Penggunaan Pupuk N Untuk Mengurangi Kehilangan Nitrat pada Lahan Pertanian. *Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumber Daya Alam dan Lingkungan*. Program Magister Ilmu Lingkungan, Universitas Diponegoro, Semarang.