

Identifikasi Mikoriza Arbuskula Secara Mikroskopis pada Rhizosfer Beberapa Jenis Rumput-rumputan dan Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.)

NI KADEK SINTYA DEWI
GEDE PUTU WIRAWAN^{*)}
MADE SRITAMIN

PS Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB Sudirman Denpasar 80232 Bali
^{*)}E-mail: igpwirawan@yahoo.com

ABSTRACT

Identification of Arbuscular Mycorrhiza through Microscopic Methode in Rhizosfer of Several Grass and Cacao (*Theobroma cacao* L.)

Arbuscular mycorrhiza fungi that live in a symbiotic mutualism with plant roots and helps the absorption of plant nutrients, and also able to live in various places. The study aimed to identify arbuscular mycorrhiza through microscopic methode in rhizosfer of several grass and cacao was conducted from December 2013 to March 2014. The method used in this study were spore isolation by wet sieving and root staining techniques. The results showed that arbuscular mycorrhiza spores and structures found in *Imperata cylindrica* L. are 2 types spores of genus *Glomus* (Glomales: Glomeaceae) with vesicular and hyphae structures. The presence of spores and structures in *Paspalum notatum* are *Acaulospora* (Glomales: Acaulosporaceae) and genus *Gigaspora* (Glomales: Gigasporineae) with arbuscular, vesicular and hyphae structure. Spores and structures of mycorrhiza found in the *Pennisetum purpureum* are 3 types of the genus *Glomus* with hyphae and arbuscular structure. Spores and structures mycorrhiza in the *Cyperus rotundus* are 1 type spore of the genus *Gigaspora* and 2 types of spores *Glomus* with internal hyphae structure. While spores and mycorrhiza structures in the cacao are 2 types spore of the genus *Glomus* with hyphae and vesicular structures.

Keywords: Glomus, Gigaspora, Acaulospora, Arbuscular Mycorrhiza Structure

1. Pendahuluan

Produksi dan produktivitas tanaman dalam 10 tahun terakhir, mengalami penurunan secara signifikan yang terutama diakibatkan oleh penurunan kualitas ekologi lahan dan kesuburan tanah, serta semakin mahalnya harga pupuk (Nasaruddin, 2012). Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi keterbatasan pupuk dan kerusakan lingkungan adalah pemanfaatan bioteknologi tanah (jasa mikroba tanah dan teknologi pupuk alam). Salah satu pengembangan bioteknologi tanah yaitu pupuk mikroba tanah, dengan memanfaatkan mikroba simbiotik seperti mikoriza arbuskula. Cendawan mikoriza arbuskula merupakan suatu cendawan yang hidup secara simbiosis mutualisme dengan akar tanaman dan tumbuh di antara sel-sel korteks akar (Bundrett *et al*, 1996).

Mikoriza arbuskula hampir 100% dijumpai pada tanaman jenis rumput-rumputan khususnya famili *Gramineae* dan 70% terdapat pada rhizosfer tanaman tingkat tinggi seperti kakao (Nasaruddin, 2009). Tumbuhan golongan *Gramineae* yang dapat tumbuh pada daerah kritis memungkinkan adanya asosiasi mikoriza yang lebih tinggi. Adapun rumput-rumputan yang dimaksudkan adalah rumput bahia, rumput gajah, rumput teki dan alang-alang. Sedangkan jumlah mikoriza pada tanaman kakao lebih sedikit dibandingkan pada rumput-rumputan, karena umumnya kakao merupakan tanaman budidaya yang kesuburan tanahnya terjaga sehingga keragaman mikoriza lebih rendah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mikoriza arbuskula pada rhizosfer rumput-rumputan dan tanaman kakao dan mengetahui ada atau tidaknya infeksi mikoriza arbuskula pada jaringan akar rumput-rumputan dan tanaman kakao.

2. Bahan dan Metode

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Desember 2013 sampai Maret 2014. Pengambilan sampel dan akar rumput-rumputan dilakukan di Desa Penelokan, sedangkan pengambilan sampel tanah dan akar kakao dilakukan di Desa Kintamani serta identifikasi mikoriza arbuskula dilaksanakan di laboratorium Sumber Daya Genetik dan Biologi Molekuler, Universitas Udayana.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah 100 gram sampel tanah dan akar dari tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) dan 4 jenis rumput-rumputan yaitu rumput bahia (*Paspalum notatum*), alang-alang (*Imperata cylindrica*), rumput gajah (*Pennisetum purpureum*), dan rumput teki (*Cyperus rotundus*), *Hydrogen peroxyde*, *Lactic acid* 90 %, *Glycerol*, *Potassium Hydroxide Phospate*, dan air steril.

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah autoklaf, saringan ukuran 1mm, 500 μ m, 212 μ m, 106 μ m, 53 μ m, pinset, *petridish*, shaker, timbangan elektrik, erlenmeyer, *microtube*, *compound microscope* dan *stereo microscope*, *water bath*, *slide* dan *cover glass*, *pasteur pippete*, *twesser*, *case preparat*.

2.3 Pelaksanaan Penelitian

Pengambilan sampel tanah dan akar diambil pada masing-masing tanaman yang dipilih pada 3 titik dan dengan kedalaman 0-30 cm dari pangkal batang tanaman, sampel ditimbang sebanyak 100 gr, dan dimasukkan ke dalam kantong kertas yang berbeda dengan contoh akar dan diberi label serta disimpan pada lemari pendingin.

Pengambilan spora pada keseluruhan sampel tanah, dilakukan dengan teknik saring basah. Sebanyak 100 gram sampel tanah kering angin diberi air hingga volume 1000 ml dan diaduk rata selama 2 menit. Selanjutnya disaring dengan saringan berukuran 1 mm, 500 μ m, 212 μ m, 106 μ m dan 53 μ m. Endapan yang tersisa dalam saringan 500 μ m, 212 μ m, 106 μ m dan 53 μ m disemprot air dan

dituangkan ke dalam tabung sentrifugasi. Endapan tersebut disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Supernatan sentrifugasi kemudian dituangkan pada petridish dan kemudian diperiksa dibawah mikroskop stereo untuk perhitungan spora dan pembuatan preparat guna identifikasi spora. Hasil pengamatan preparat pada mikroskop kemudian didokumentasikan dengan kamera mikroskop dan foto spora tersebut disesuaikan dengan buku determinasi jamur atau dicocokkan pada website www.INVAM.wvu.edu.com.

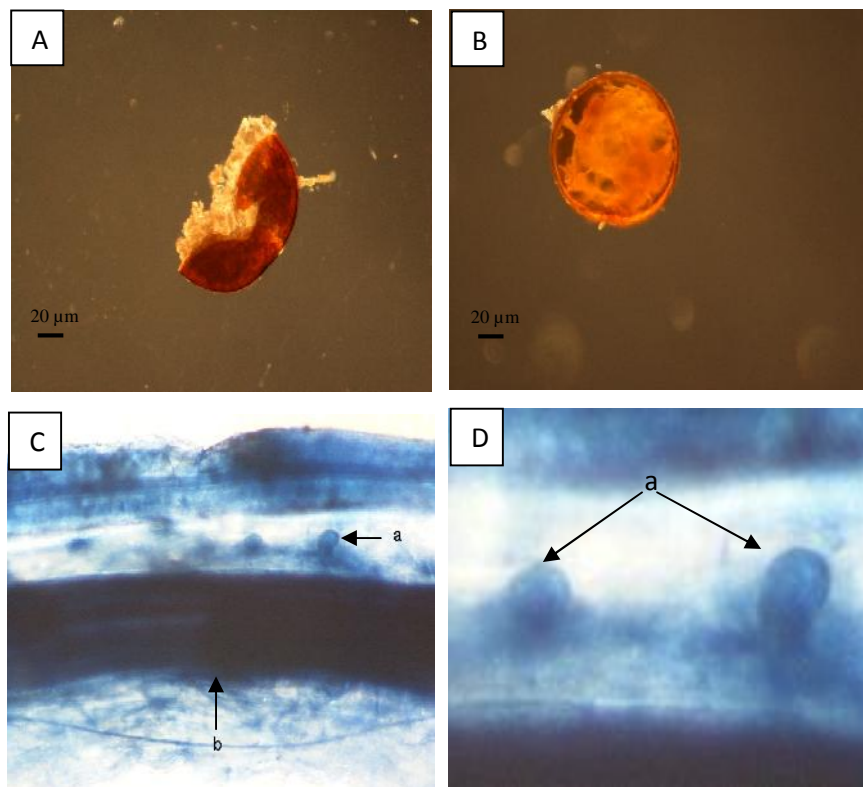
Pengamatan kolonisasi struktur mikoriza arbuskula pada akar tanaman sampel dilakukan melalui teknik pewarnaan akar (*staining*). Segmen akar dipotong dengan panjang 3-5 cm, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Akar sampel dimasukkan ke dalam larutan KOH 10% dan dipanaskan pada suhu 250°C selama 10 menit dalam *microwave oven* dan didinginkan dalam suhu ruangan selama kurang lebih 24 jam sehingga akar akan berwarna putih atau pucat. Larutan KOH kemudian dibuang dan akar sampel dicuci pada air mengalir selama 5-10 menit. Selanjutnya akar sampel direndam dalam larutan HCl 1% dan didiamkan selama satu malam dan kemudian dibuang. Selanjutnya akar sampel direndam dalam larutan *trypan blue* 0,05% dan diganti dengan larutan *lactoglycerol* untuk proses pengurangan warna (*destaining*) selama satu hari. Pengamatan struktur cendawan dilakukan dengan meletakkan potongan akar yang telah diwarnai pada preparat. Kemudian, potongan akar tersebut ditutup dengan *cover glass* dan dilakukan pengamatan pada mikroskop *compound* perbesaran 100 kali.

Variabel yang diamati dan dianalisis dalam penelitian ini adalah karakter morfologi spora meliputi bentuk, warna spora sebelum pewarnaan dan lekatan hifa (*substending hyphae*) serta penentuan genus berdasarkan karakteristik masing-masing spora. Analisis infeksi mikoriza arbuskula dilihat melalui struktur mikoriza (arbuskular, vesikular, dan hifa) pada akar setelah pewarnaan (*staining*).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakteristik Spora dan Struktur Mikoriza Arbuskula pada Alang-alang

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberadaan spora pada tanaman alang-alang berupa genus *Glomus* dengan dua jenis karakteristik spora. Struktur mikoriza melalui pewarnaan dengan larutan *trypan blue* menunjukkan bahwa struktur mikoriza terlihat jelas dimana mikoriza di dalam akar alang-alang memiliki struktur vesikular, dan hifa internal. Karakteristik masing-masing spora dan struktur mikoriza arbuskula dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Spora Genus *Glomus* dan Struktur Mikoriza Arbuskula pada Alang alang. (A) *Glomus* tipe 1, (B) *Glomus* tipe 2, (C) Struktur Mikoriza Arbuskula (a. Vesikular, b. Hifa), (D) Struktur Vesikular (a). (perbesaran 100 kali)

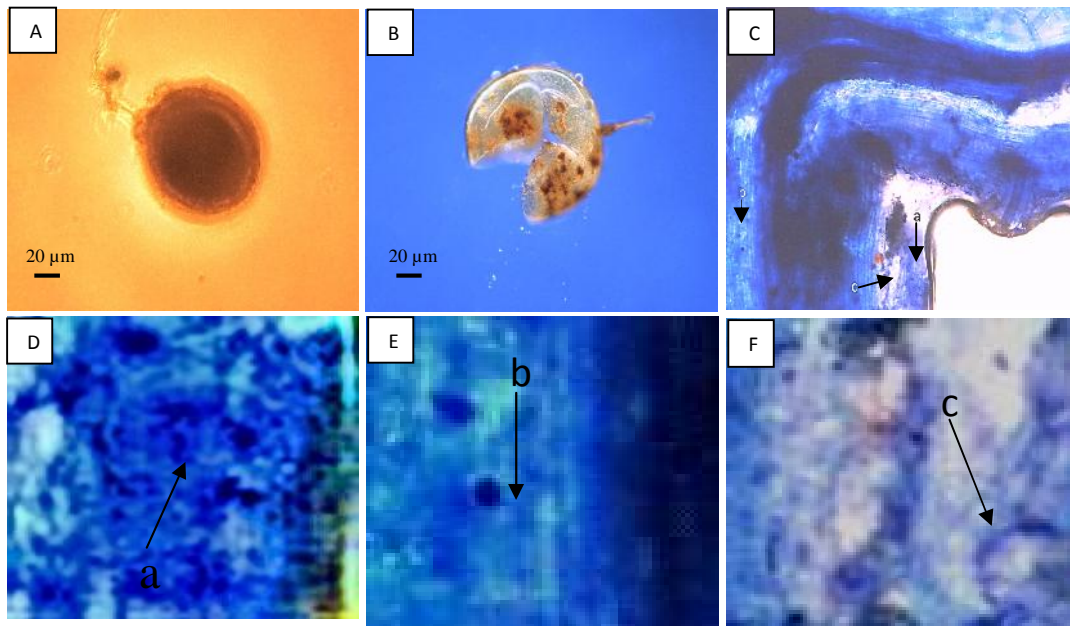
Karakteristik spora *Glomus* tipe 1 adalah spora berwarna merah kecoklatan, memiliki bentuk bulat, dinding spora terlihat jelas, memiliki ornamen seperti kulit jeruk dan memiliki ukuran spora $172,03 \mu\text{m} \times 172,03 \mu\text{m}$. *Glomus* tipe 2 memiliki karakteristik spora berwarna kuning kecoklatan, memiliki bentuk bulat, dinding spora terlihat jelas, permukaan spora halus, tidak memiliki ornamen dan berukuran $125,39 \mu\text{m} \times 125,39 \mu\text{m}$.

Struktur vesikular pada akar memiliki bentuk bulat dan bereaksi terhadap larutan *trypan blue*, sedangkan hifa internal berbentuk serabut dan menyerap warna dari larutan *trypan blue*. Struktur arbuskular tidak dapat diamati pada akar alang-alang karena genus *Glomus* sedikit yang membentuk arbuskular. Arbuskular hidup berkisar 4-6 hari, kemudian tergenerasi dan diserap oleh tanaman inang (Brundrett *et al.*, 1996).

3.2 Karakteristik Spora dan Struktur Mikoriza Arbuskula pada Rumput Bahia

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberadaan spora pada rumput bahia berupa genus *Acaulospora* (Glomales : Acaulosporaceae) dan genus *Gigaspora* (Glomales: Gigasporineae). Hasil pewarnaan dengan *trypan blue* pada jaringan akar rumput bahia, menunjukkan bahwa terdapat struktur lengkap mikoriza arbuskula

(arbuskular, vesikular, dan hifa internal). Karakteristik masing-masing spora dan struktur mikoriza arbuskula dapat dilihat pada Gambar 2.



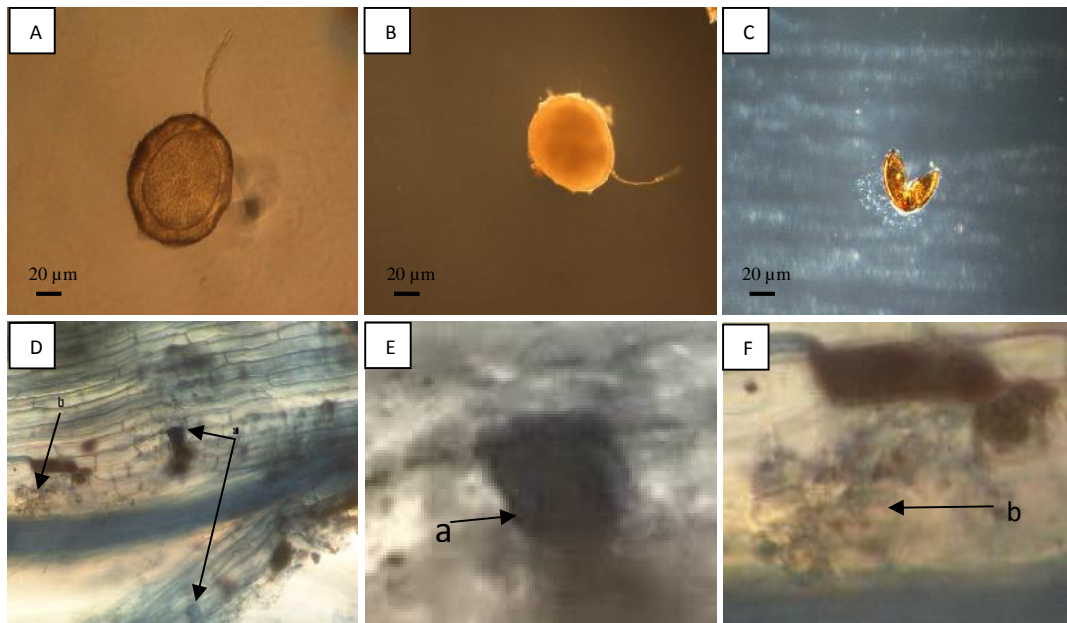
Gambar 2. Spora dan Struktur Mikoriza Arbuskula pada Rumput Bahia. (A) *Acaulospora*, (B) *Gigaspora* tipe 1, (C) Struktur Mikoriza Arbuskula (a. Arbuskular, b. Vesikular, c. Hifa Internal), (D) Struktur Arbuskular (a), (E) Struktur Vesikular (b), (F) Struktur Hifa Internal (c). (perbesaran 100 kali)

Karakteristik spora *Acaulospora* adalah spora berwarna merah kecoklatan pekat, memiliki bentuk bulat, dinding spora terlihat jelas, memiliki tangkai hifa dan ukuran spora $413,63 \mu\text{m} \times 413,63 \mu\text{m}$. *Gigaspora* tipe 1 memiliki karakteristik spora berwarna putih halus, memiliki bentuk bulat, dinding spora tipis, memiliki *bulbous suspensor*, dan berukuran $313,98 \mu\text{m} \times 313,98 \mu\text{m}$.

Hasil pengamatan terhadap kolonisasi mikoriza pada akar rumput bahia yang ditunjukkan pada Gambar 2, struktur mikoriza seperti arbuskular, vesikular dan hifa internal terlihat jelas melalui hasil pewarnaan dengan larutan *trypan blue*. Hasil penelitian terhadap keberadaan struktur mikoriza didukung oleh jenis mikoriza yang berasosiasi dengan rumput bahia. Penelitian ini memperoleh keberadaan mikoriza genus *Acaulospora* dan *Gigaspora* pada rumput bahia. Hampir semua genus mikoriza dapat membentuk struktur arbuskular, vesikular dan hifa internal, namun masing-masing struktur memiliki daya tahan hidup yang berbeda-beda.

3.3 Karakteristik Spora dan Struktur Mikoriza Arbuskula pada Rumput Gajah

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberadaan spora pada rumput gajah berupa genus *Glomus* dengan tiga jenis karakteristik spora. Karakteristik spora dan struktur mikoriza dapat dilihat pada Gambar 3.



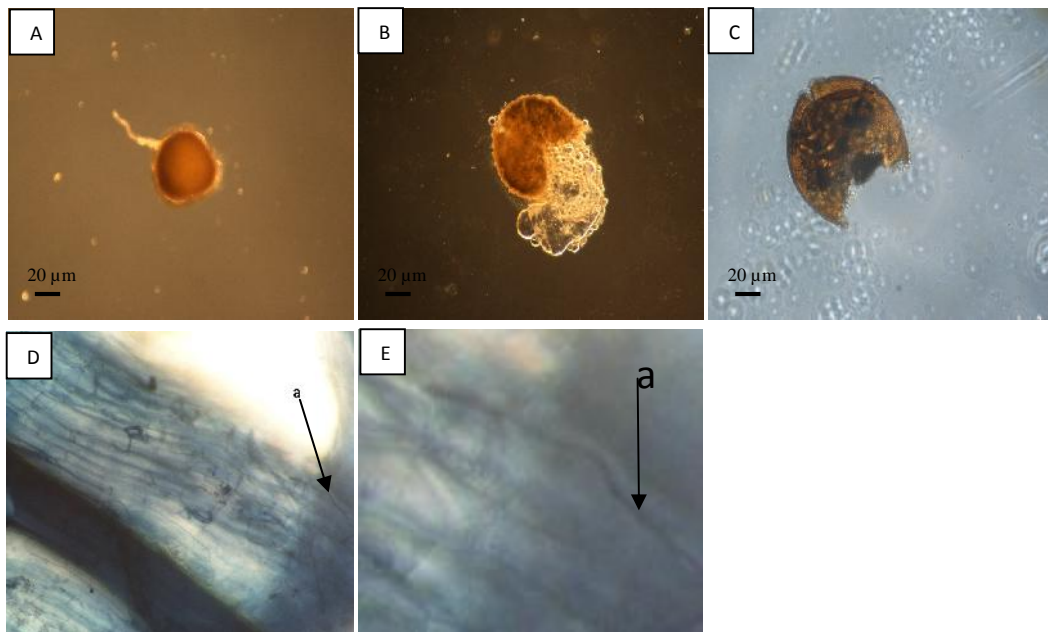
Gambar 3. Spora Genus *Glomus* dan Struktur Mikoriza Arbuskula pada Rumput Gajah. (A) *Glomus* tipe 3, (B) *Glomus* tipe 4, (C) *Glomus* tipe 5, (D) Struktur Mikoriza Arbuskula (a. Vesikular, b. Arbuskular), (E) Struktur Vesikular (a), (F) Struktur Arbuskular (b). (perbesaran 100 kali)

Karakteristik spora *Glomus* tipe 3 adalah spora berwarna coklat, memiliki bentuk bulat, dinding spora terlihat tebal, memiliki ornamen pasir pada bagian tengah dinding selnya dan spora berukuran $341,09 \mu\text{m} \times 341,09 \mu\text{m}$. *Glomus* tipe 4 memiliki karakteristik spora berwarna kuning pekat, memiliki bentuk bulat telur (*elips*), dinding spora terlihat tidak jelas, tidak memiliki ornamen dan spora berukuran $336,45 \mu\text{m} \times 336,45 \mu\text{m}$. *Glomus* tipe 5 memiliki karakteristik spora berwarna kuning, memiliki bentuk bulat, dinding spora tipis dan berukuran $108,80 \mu\text{m} \times 108,80 \mu\text{m}$.

Hasil pengamatan struktur mikoriza pada mikroskop *compound* perbesaran 100 kali diperoleh struktur arbuskular dan vesikular pada rumput gajah. Keberadaan struktur utama tersebut menunjukkan bahwa pada akar rumput gajah terjadi kolonisasi oleh mikoriza. Struktur utama lain seperti hifa internal tidak terlihat pada hasil pengamatan. Menurut Bundrett *et al.*, (1996), hifa mengalami perkembangan menjadi vesikular dan arbuskular.

3.4 Karakteristik Spora dan Struktur Mikoriza Arbuskula pada Teki

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberadaan spora pada teki berupa genus *Glomus* dengan dua jenis karakteristik spora dan satu jenis tipe spora *Gigaspora*. Karakteristik masing-masing spora dan struktur hifa mikoriza arbuskula dapat dilihat pada Gambar 4.



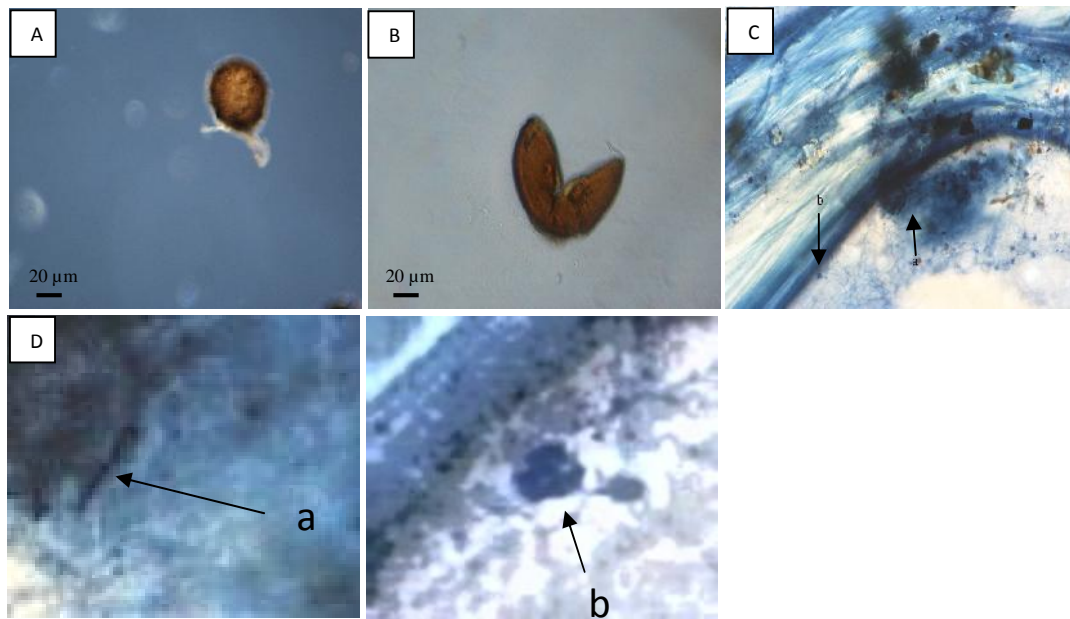
Gambar 4. Spora dan Struktur Mikoriza Arbuskula pada Teki. (A) *Gigaspora* tipe 2, (B) *Glomus* tipe 6, (C) *Glomus* tipe 7, (D) Struktur Mikoriza Arbuskula (a. Hifa), (E) Struktur Hifa (a). (perbesaran 100 kali)

Karakteristik spora *Gigaspora* tipe 2 adalah spora berwarna coklat, memiliki bentuk bulat, dinding spora terlihat jelas, memiliki *bulbous suspensor*, dan spora berukuran $146,48\mu\text{m} \times 146,48\mu\text{m}$. *Glomus* tipe 6 memiliki karakteristik Spora berwarna coklat, memiliki bentuk bulat, dinding spora terlihat jelas, bercorak seperti kulit jeruk dan memiliki ukuran spora $312,80 \mu\text{m} \times 312,80 \mu\text{m}$. *Glomus* tipe 7 memiliki karakteristik spora berwarna coklat halus, memiliki bentuk bulat, dinding spora tipis, tidak memiliki corak dan spora berukuran $346,48 \mu\text{m} \times 346,48 \mu\text{m}$.

Hasil pengamatan struktur mikoriza menunjukkan adanya struktur hifa internal pada akar rumput teki. Pertumbuhan hifa secara eksternal terjadi jika hifa internal tumbuh dari korteks melalui epidermis. Menurut Widyastuti dkk., (2005) pertumbuhan hifa secara eksternal tersebut terus berlangsung sampai tidak memungkinnnya untuk terjadi pertumbuhan lagi. Hifa eksternal berfungsi mendukung fungsi reproduksi serta untuk transportasi karbon serta hara lainnya kedalam spora, selain fungsinya untuk menyerap unsur hara dari dalam tanah untuk digunakan oleh tanaman.

3.5 Karakteristik Spora dan Struktur Mikoriza Arbuskula pada Kakao

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberadaan spora pada tanaman kakao berupa genus *Glomus* dengan dua jenis karakteristik spora. Hasil pengamatan struktur mikoriza pada akar kakao menunjukkan adanya struktur vesikular dan hifa. Karakteristik masing-masing spora dan struktur mikoriza dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Spora Genus *Glomus* dan Struktur Mikoriza Arbuskula pada Kakao. (A) *Glomus* tipe 8, (B) *Glomus* tipe 9, (C) Struktur Mikoriza Arbuskula (a. Hifa, b. Vesikular), (D) Struktur Hifa (a), (E) Struktur Vesikular (b). (perbesaran 100 kali)

Karakteristik spora *Glomus* tipe 8 adalah spora berwarna coklat pekat, memiliki bentuk bulat, dinding spora terlihat jelas, bercorak seperti kulit jeruk, dan spora berukuran $123,15 \mu\text{m} \times 123,15 \mu\text{m}$. *Glomus* tipe 9 memiliki karakteristik spora berwarna merah kecoklatan, memiliki bentuk bulat, dinding spora terlihat jelas, bercorak seperti kulit jeruk dan memiliki ukuran spora $280,37 \mu\text{m} \times 280,37 \mu\text{m}$.

Hasil pengamatan struktur mikoriza dengan mikroskop *compound* perbesaran 100 kali menunjukkan adanya struktur vesikular dan hifa internal pada akar kakao. Struktur vesikular pada akar memiliki bentuk bulat dan bereaksi terhadap larutan *trypan blue*, sedangkan hifa internal berbentuk serabut dan menyerap warna dari larutan *trypan blue*.

4. Simpulan dan Saran

4.1 Simpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh adalah sebagai berikut.

1. Spora yang ditemukan pada alang-alang adalah genus *Glomus* (Glomales : Glomeaceae) dengan 2 tipe spora. Keberadaan spora pada rumput bahia berupa genus *Acaulospora* (Glomales : Acaulosporaceae) dan genus *Gigaspora* (Glomales: Gigasporineae). Spora yang ditemukan pada rumput gajah adalah genus *Glomus* dengan 3 tipe spora. Spora yang ditemukan pada teki adalah genus *Gigaspora* dengan 1 tipe spora dan 2 tipe spora *Glomus*. Sedangkan

keberadaan spora pada tanaman kakao berupa genus *Glomus* dengan 2 tipe spora.

2. Akar alang-alang dan kakao memiliki struktur mikoriza seperti vesikular dan hifa, sedangkan struktur arbuskular dan hifa ditemukan pada akar rumput gajah. Kolonisasi dengan struktur lengkap (arbuskular, vesikular, dan hifa internal) terlihat pada akar rumput bahia, sedangkan pada akar rumput teki hanya terlihat hifa internal saja.

4.2 *Saran*

Adapun saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut.

1. Tipe dan jumlah spora pada keseluruhan sampel tergolong sedikit, oleh karena itu perlu dilakukan usaha peningkatan populasi spora dengan *trapping* perbanyak spora sehingga bahan identifikasi lebih akurat.
2. Perlu dilakukan identifikasi secara molekuler untuk mendapatkan gambaran dan data kompleksitas mikoriza.

DAFTAR PUSTAKA

- Brundrett, M., N. Bougher, B. Dell, T. Grove, dan N. Malajczuk. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph 32.
- Delvian. 2003. Keanekaragaman dan potensi pemanfaatan cendawan mikoriza arbuskula (CMA) di Hutan Pantai. Disertasi. Program pasca sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Dewi, R.I. 2007. Makalah Peran, Prospek dan Kendala dalam Pemanfaatan Endomikoriza. Fakultas Pertanian. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Husin, E. F. dan R. Marlis. 2002. Aplikasi Cendawan Mikoriza arbuskula sebagai pupuk biologi pada pembibitan kelapa sawit. Prosiding Seminar Nasional BKS PTN Wilayah Indonesia Barat, FP USU Medan.
- INVAM. 2005. International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Acaulospora foveata* (reference accession BR861). <http://Ninvarn.caf.wvu.edu/iungi~tlxonorny/Aca~losporaceae/Acaulospora/foveata/foveata.html> [7 Jul 2005]. Diakses 1 Oktober 2013.
- Khan, A.G., 1993. Effect of various soil environment stresses on the occurrence, distribution and effectiveness of VA mycorrhizae. *Biotropia* 8 : 39-44.
- Nasaruddin. 2009. Kakao. Budidaya dan Beberapa Aspek Fisiologisnya. Yayasan Fores Indonesia dan Cocoa Reserch Group (CRG) Fakultas Pertanian Unhas.. Makassar. 164p.
- _____. 2012. Respon Pertumbuhan Bibit Kakao Terhadap Inokulasi Azotobacter Dan Mikoriza. *Jurnal Agrivigor Unhas*. Makasar.
- Widyastuti, H., Guhardja, E., Soekarno, N., Darusman, L.K, Goenadi, D.H dan Smith, S. 2005. Penggunaan Spora Cendawan Mikoriza arbuskula Sebagai Inokulum untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Serapan Hara Bibit Kelapa Sawit. *Jurnal Menara Perkebunan*. Halaman 26-34

Wright, S.F. and A. Upadhyaya, 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 198 : 97 – 107.