

Identifikasi Mikoriza Vesikular Arbuskular pada Rhizosfer Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) dan Kopi Robusta (*Coffea robusta* L.) dan Perbanyakannya dengan Media Zeolit

PUTU AYU MEITA YUDIA DEWI
MADE SRITAMIN*)
I KETUT SUADA

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. P.B. Sudirman Denpasar Bali 80326
*)Email: madesritamin@gmail.com

ABSTRACT

Vesicular Arbuscular Mycorrhizae Identification of Arabica Coffee (*coffea arabica* L.) and Robusta Coffee (*Coffea robusta* L.) Rhizosphere and Its Spore Multiplication in Zeolite Media.

The high demand of coffee in the world led the farmers to improve coffee productivity by using inorganic fertilizers. Considering potential problems that may occurred due to inorganic fertilizer use, application of biological fertilizer which one of them is containing Vesicular Arbuscular Mycorrhizae (VAM) could be expected to assist the growth of Arabica coffee and Robusta coffee plants in more naturally manner. This study aimed to determine the types mycorrhizal of rhizosphere coffee plants and determine the effectiveness of zeolite media and corn symbiont plant in propagation of VAM. The study began in April to August 2015. Spore isolation was done by conducting wet sieving method. Roots colonization percentages were calculated by root staining method and spores multiplication through trapping culture method. The results showed that VAM spores found in the rhizosphere arabica coffee plants are two genera VAM *Acaulospora* and *Glomus*, whereas in robusta coffee plant found three genera *Acaulospora*, *Glomus*, and *Gigaspora*. Mycorrhizal structures found in the rhizosphere of Arabica and Robusta coffee plants were arbuscular, vesicles, hyphae and inner spores. Corn symbionts plant and zeolite media were good combination for the propagation of VAM spores.

Keywords: *mycorrhiza, zeolite, rhizosphere, spores.*

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Tingginya kebutuhan kopi di dunia menyebabkan petani berusaha meningkatkan hasil produktivitasnya dari tahun ke tahun dengan hasil produksi rata-rata kopi robusta 0,8 ton/ha dengan populasi 1.200 pohon/ha dan kopi arabika 2 ton/ha dengan populasi 2.500 pohon/ha (PPKKI, 2008). Untuk meningkatkan hasil tanaman kopi maka tidak jarang petani memaksimalkan pemupukannya terutama pupuk kimia karena lebih cepat tersedia bagi tanaman, apabila pemupukan kimia ini di luar kendali dapat berdampak negatif bagi tanaman kopi dan juga bagi tanah di sekitar pertanaman kopi karena tanah menjadi cepat mengeras, kurang mampu menyimpan air dan cepat menjadi asam yang pada akhirnya akan menurunkan produktivitas tanaman (Parman, 2007). Hal semacam ini tentu nantinya akan berdampak pada petani itu sendiri. Melihat permasalahan tersebut diperlukan adanya upaya peningkatan produksi dan pemanfaatan lahan kritis dengan pemberian pupuk hayati dan salah satunya adalah mikoriza yang bersifat ramah lingkungan dan bisa membantu penyerapan unsur hara.

Mikoriza merupakan asosiasi antara tumbuhan dan jamur yang hidup dalam tanah. Jika dibandingkan dengan tumbuhan yang tidak memiliki mikoriza, akar tumbuhan yang memiliki mikoriza ternyata lebih efisien karena penyerapan air dan hara dibantu jamur. Benang-benang hifa jamur memiliki akses dan jangkauan lebih luas dalam mengeksploitasi nutrisi pada suatu area (Brundrett *et al.*, 1996). Meskipun kopi merupakan tanaman tahunan, tetapi umumnya mempunyai perakaran yang dangkal. Oleh karena itu tanaman ini mudah mengalami kekeringan pada kemarau panjang bila di daerah perakarannya tidak di beri mulsa. Tanaman kopi juga biasanya bersimbiosis dengan mikoriza dan sangat tergantung pada asosiasi-asosiasi tertentu (Diriba, 2007). Maka diperlukan identifikasi MVA pada rhizofe tanaman kopi untuk mengetahui jenis-jenis MVA yang terdapat pada rhizofe tanaman kopi dan melihat infeksi akar tanaman kopi oleh mikoriza. Perbanyakan dilakukan dengan menggunakan media zeolit dan symbion jagung. Keberhasilan perbanyakan dalam media zeolit akan mendukung pembuatan pupuk hayati yang memerlukan inokulan dalam jumlah besar. Pupuk tersebut pada akhirnya dapat digunakan untuk membantu rehabilitasi tanah dan peningkatan produksi tanaman.

2. Bahan dan Metode

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan sejak bulan April sampai Agustus 2015. Penelitian dilaksanakan di UPT Laboratorium Sumber Daya Genetika dan Biologi Molekuler Universitas Udayana.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan cangkul, penggaris, gunting, kantong plastik, 1 set saringan (berukuran 1 mm, 500 μ m, 212 μ m, 106 μ m, dan 53 μ m), pipet mikro, gelas beaker 1000 ml, cawan petri, *cover glass*, kaca preparat, jarum *oose*, timbangan analitik, botol semprot, kamera digital, alat hitung (*hand counter*), *centrifuge*, tabung roll film, mikroskop stereo, gunting, *microwave*, pinset, pot plastik, autoklaf, higrometer. Bahan yang digunakan yaitu tanah sampel, KOH 10%, H₂O₂ 3%, HCl 1%, *lactoglycerol*, *trypan blue* 0,05%, *aquades*, akar tanaman sampel, kertas label, zeolit, stater mikoriza (spora hasil isolasi), dan bibit jagung (*Zea mays*).

2.3 Pelaksanaan Penelitian

Sampel tanah dan akar tanaman diambil di desa Pedawa, kecamatan Banjar, kabupaten Buleleng. Sebanyak 1000 g tanah diambil di sekitar perakaran pada kedalaman 10-15 cm dari permukaan tanah.

Sebanyak 100 g tanah sampel, dimasukkan ke dalam gelas beker dan ditambahkan air sampai 700 ml. Tanah tersebut di aduk sampai homogen. Cairan yang sudah tercampur dituang ke dalam saringan bertingkat dengan ukuran berturut-turut 1 mm, 500 μ m, 212 μ m, 106 μ m, 53 μ m (diulang 5 kali). Hasil saringan masing-masing dituang ke dalam tabung roll film dengan bantuan botol semprot dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 2 menit sebanyak 2 kali. Hasilnya dituang ke dalam cawan petri kemudian dilakukan pengamatan spora di bawah mikroskop stereo.

Pengamatan kolonisasi MVA pada jaringan akar dilakukan dengan cara pewarnaan akar (*staining*). Akar kecil dan muda dicuci sampai bersih dan diletakkan pada gelas beaker. Kemudian ditambahkan KOH 10% dan ditutup dengan aluminium foil dan dipanaskan pada suhu 250^oC selama 10 menit. Selanjutnya akar dicuci dengan air kran sebanyak 3 kali. Kemudian ditambahkan H₂O₂ 3% dan didiamkan selama \pm 24 jam. Akar dicuci dengan air kran sebanyak 3 kali dan ditambahkan HCL 1% dan didiamkan selama \pm 1 jam, setelah itu akar direndam dengan *trypan blue* dan ditutup menggunakan plastik cling film kemudian dipanaskan pada suhu 250^oC selama 10 menit kemudian didinginkan pada suhu ruangan. Selanjutnya larutan *trypan blue* dibuang dan ditambahkan *lactoglycerol* kemudian ditutup menggunakan plastik cling film dan dipanaskan pada suhu 250^oC selama 10 menit dan didiamkan selama 24 jam. Akar selanjutnya dipotong 5 cm dan ditata pada *petridish* untuk menghitung persentase kolonisasi mikoriza. Persentase kolonisasi mikoriza dihitung berdasarkan metode Giovannetti dan Mosse (1980) dalam Haryuni (2001):

$$\text{Persentase kolonisasi MVA pada akar} = \frac{\sum \text{akar terkolonisasi}}{\sum \text{akar yang diamati}} \times 100\% \quad (1)$$

Metode perbanyakan spora yang dilakukan mengikuti metode Brundrett *et al.*, (1996). Zeolit dan tanah sampel dipanaskan dalam autoklaf selama 20 menit untuk mensterilkan. Setelah steril, media perbanyakan dimasukkan ke dalam 3 pot dengan komposisi pada dasar diberi zeolit sebanyak 250 g. Selanjutnya dimasukkan stater mikoriza dari hasil isolasi sebanyak 100 spora, kemudian ditambahkan 150 g tanah sampel yang telah steril dan selanjutnya ditutup dengan 50 g zeolit secara merata. Kemudian tanah dilubangi dan ditanam dua bibit jagung yang telah berusia 2 minggu. Penyiraman dilakukan 2 hari sekali selama 6 minggu. Setelah itu dilakukan stressing dengan cara tanpa penyiraman selama 2 minggu. Spora MVA kemudia dipanen dan dilanjutkan dengan isolasi dan karakterisasi spora MVA.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolasi dan Identifikasi Spora MVA

Hasil isolasi, ditemukan spora MVA pada kedua sampel tanah rhizosfer tanaman kopi arabika dan robusta. Jumlah spora MVA pada rhizosfer tanaman kopi arabika adalah 59 spora dalam 100 g tanah sampel, sedangkan jumlah spora MVA dari rhizosfer tanaman kopi Robusta yaitu 67 spora dalam 100 g tanah sampel (Tabel 1). Berdasarkan hasil pengamatan terhadap spora mikoriza pada tanaman kopi arabika diperoleh dua genus mikoriza yang menyerupai *Acaulospora* sebanyak 33 spora dan *Glomus* sebanyak 26 spora .

Tabel 1. Genus dan Jumlah Spora MVA dalam 100 g Tanah Sampel.

Sempel	Genus spora MVA dalam 100 g tanah		
	Genus spora	Jumlah spora	Total jumlah spora
Kopi arabika	• <i>Acaulospora</i>	33	59
	• <i>Glomus</i>	26	
Kopi robusta	• <i>Acaulospora</i>	37	67
	• <i>Glomus</i>	21	
	• <i>Gigaspora</i>	9	

Identifikasi Mikoriza Vesikular Arbuskular dilakukan berdasarkan morfologi spora yang dapat dibedakan berdasarkan bentuk spora, ornamen spora, ukuran spora, dan warna spora. Ciri-ciri morfologi spora MVA pada rhizosfer kopi arabika sebagai berikut:

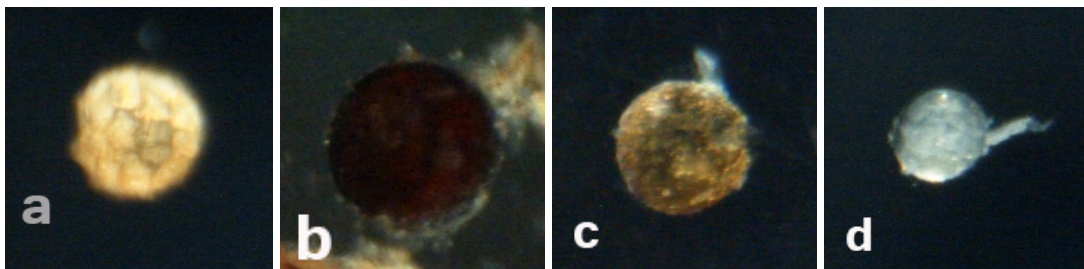
1. *Acaulospora*

Spora yang ditemukan berbentuk bulat dan agak bulat, ukuran diameter spora 120-223 μm , tidak ditemukan dudukan hifa, memiliki *cicatrix*, spora berwarna

oranye kecoklatan hingga merah tua kecoklatan (Gambar 1.a,b,c). Menurut INVAM (2009) Spora *Acaulospora* dihasilkan oleh *soporiferous saccule* yang berasal dari perluasan hifa terminal. Saat spora telah terbentuk sempurna, isi *saccule* akan dipindahkan kedalam spora, kemudian *saccule* menipis dan lama kelamaan *saccule* akan terdegradasi. Spora biasanya berbentuk bulat, agak bulat, lonjong. Memiliki dua lapis dinding spora. Mempunyai *cicatrix*. Ukuran diameter spora 60-360 μm . Warna spora saat muda berwarna hyaline dan berwarna kuning kecoklatan hingga merah tua kecoklatan setelah matang.

2. *Glomus*

Spora berbentuk agak bulat, ukuran diameter spora 105 μm , memiliki dudukan hifa berwarna putih bening, permukaan spora halus tanpa ornamen, spora berwarna putih (Gambar 1.d). Menurut INVAM (2009) Spora *Glomus* berbentuk bulat, agak bulat, dan lonjong. Memiliki beberapa lapis dinding spora. Ada dudukan hifa (*Substending hyphae*) lurus berbentuk silinder. Tidak memiliki ornamen. Ukuran diameter spora 50-162 μm . Warna spora bervariasi dari hyaline, putih pucat, kuning kecoklatan, coklat kekuningan, coklat muda, oranye kecoklatan, hingga coklat tua kehitaman.



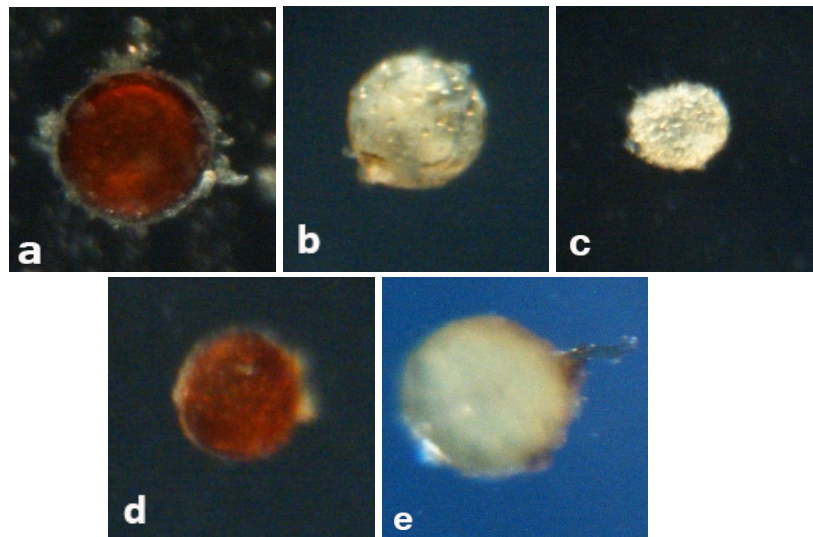
Gambar 1. Spora MVA pada tanaman kopi arabika. a,b,c : *Acaulospora* dan d : *Glomus* (pembesaran 100x)

Pada tanaman kopi robusta diperoleh tiga genus mikoriza yang menyerupai *Acaulospora* sebanyak 37 spora, *Glomus* sebanyak 21 spora, dan *Gigaspora* sp sebanyak 9 spora (Tabel 1) dengan ciri-ciri morfologi sebagai berikut:

1. *Acaulospora*

Spora yang ditemukan berbentuk bulat dan agak bulat, ukuran diameter spora 97-249 μm , tidak ditemukan dudukan hifa, memiliki *cicatrix*, spora berwarna oranye kemerahan dan kuning kecoklatan (Gambar 2.a,b,c). Menurut INVAM (2009) Spora biasanya berbentuk bulat, agak bulat, lonjong. Memiliki dua lapis dinding spora. Mempunyai *cicatrix*. Ukuran diameter spora 60-360 μm . Warna spora saat muda

berwarna hyaline dan berwarna kuning kecoklatan hingga merah tua kecoklatan setelah matang.



Gambar 2. Spora MVA pada tanaman kopi robusta. a,b,c : *Acaulospora*; d : *Glomus*; dan e : *Gigaspora*. (pembesaran 100x)

2. *Glomus*

Spora berbentuk bulat, ukuran diameter spora 115 μm , permukaan spora halus tanpa ornament, spora berwarna oranye tua kecoklatan (Gambar 2.d). Menurut INVAM (2009) Spora *Glomus* berbentuk bulat, agak bulat, dan lonjong. Memiliki beberapa lapis dinding spora. Ada dudukan hifa (*Substending hyphae*) lurus berbentuk silinder. Tidak memiliki ornamen. Ukuran diameter spora 50-162 μm . Warna spora bervariasi dari hyaline, putih pucat, kuning kecoklatan, coklat kekuningan, coklat muda, oranye kecoklatan, hingga coklat tua kehitaman.

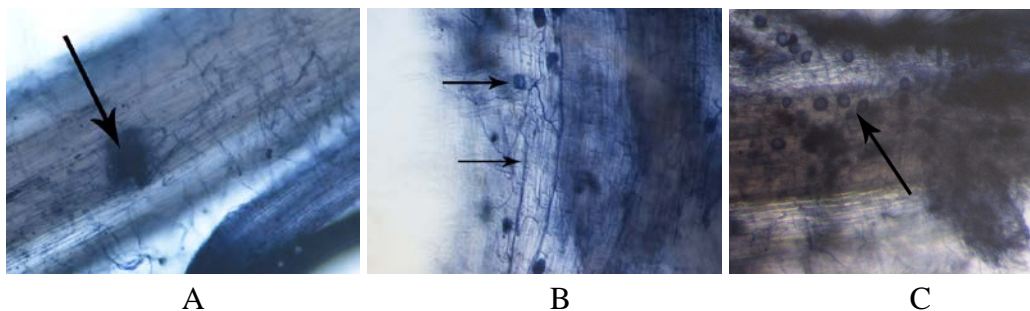
3. *Gigaspora*

Spora berbentuk bulat, ukuran diameter spora 260 μm , permukaan spora halus tanpa ornamen, memiliki dudukan hifa berwarna kuning kecoklatan dan memiliki *bulbus suspensor*, spora berwarna putih agak krem (Gambar 2.e). Menurut INVAM (2009) Bentuk spora bulat. Terdapat alat pelengkap berupa *bulbus suspensor*. Ukuran diameter spora 160-400 μm . Warna spora bervariasi dari putih pucat, cream, hijau muda kekuningan, kuning muda kehijauan, kuning kecoklatan hingga kuning tua.

3.2 *Kolonisasi MVA pada Akar Tanaman*

Hasil *staining* atau pewarnaan akar dengan pengamatan dibawah mikroskop pada kedua jenis tanaman sampel ditemukan struktur MVA yaitu arbuskula dan vesikula. Struktur arbuskula dan vesikula merupakan struktur spesifik yang dibentuk oleh MVA sehingga keberadaan struktur tersebut sangat penting untuk

mengidentifikasi ada atau tidaknya infeksi MVA pada jaringan akar tanaman sampel. Setelah dilakukan perbanyakan spora (*trapping*) dengan tanaman simbion jagung ditemukan adanya infeksi pada akar tanaman simbion jagung karena telah ditemukannya struktur spesifik MVA yaitu arbuskula dan vesikula. Selain itu, ditemukan juga hifa dan spora yang mengkolonisasi jaringan akar yang disebut *inner spore* (Gambar 3). Arbuskula adalah struktur hifa yang berfungsi sebagai tempat pertukaran nutrisi antara tanaman simbion dengan mikoriza. Vesikula merupakan suatu struktur berbentuk lonjong, mengandung cairan lemak, yang berfungsi sebagai organ penyimpanan makanan atau berkembang menjadi klamidospora, yang berfungsi sebagai organ reproduksi dan struktur alat untuk mempertahankan kehidupan cendawan (Widiatma, 2015).



Gambar 3. Kolonisasi MVA pada jaringan akar tanaman jagung. (A) struktur Arbuskula, (B) Struktur vesikula dan hifa, dan (C) *inner spora*. (pembesaran 200x)

Persentase infeksi MVA yang terjadi pada tanaman kopi arabika adalah 20% dan setelah perbanyakan spora melalui tanaman simbion jagung meningkat menjadi 40%. Peningkatan persentasi infeksi MVA juga didapat pada tanaman kopi robusta adalah 30% dan setelah perbanyakan spora melalui tanaman simbion jagung meningkat menjadi 50% (tabel 2).

Tabel 2. Perbandingan persentase infeksi MVA pada akar tanaman kopi arabika, kopi robusta, dan tanaman simbion jagung.

No	Tanaman	Infeksi akar (%)	Infeksi pada tanaman simbion jagung (%)	Persentase pertambahan (%)
1	Kopi arabika	20	40	20
2	Kopi robusta	30	50	20

Adanya peningkatan infeksi dari spora MVA pada akar tanaman simbion jagung menunjukkan bahwa jagung merupakan tanaman simbion yang baik bagi perbanyakan spora MVA karena tanaman jagung memiliki system perakaran yang banyak dan halus sehingga mudah bagi mikroorganismenya untuk berkembang. Jagung merupakan inang yang cukup baik untuk perkembangan hifa mikoriza karena jagung

mempunyai pertumbuhan yang relatif cepat, daya adaptasi tinggi terutama pada daerah yang kering, system perakaran yang banyak, serta merupakan universal host bagi mikoriza (Sofyan, 2005).

4.3 *Perbanyakan Spora MVA dengan Media Zeolit*

Pada tanaman kopi arabika dan robusta memiliki spora awal adalah 23 spora dalam 100 g tanah, setelah dilakukan perbanyakan spora terjadi peningkatan populasi yang dapat diisolasi dari rhizosfer tanaman kopi arabika yaitu menjadi 116 spora dalam 100 g tanah sehingga terjadi peningkatan 4 kali dari jumlah spora awal (Tabel 3). Sedangkan pada tanaman kopi robusta terjadi peningkatan populasi yang dapat di isolasi yaitu 129 spora dalam 100 g tanah sehingga terjadi peningkatan sebanyak 4,6 kali.

Tabel 3. Genus dan jumlah spora MVA sesudah dilakukan *trapping*

Sempel	Jumlah spora dalam 100 g tanah		Peningkatan kelipatan jumlah spora
	Populasi awal	Populasi setelah <i>trapping</i>	
Kopi arabika	23	116	4 kali
Kopi robusta	23	129	4,6 kali

Tingginya peningkatan kelipatan jumlah spora pada perbanyakan spora menggunakan simbion jagung dengan media zeolit, menunjukkan bahwa zeolit merupakan media yang baik bagi pertumbuhan spora MVA. Hal ini diduga karena batuan zeolit dapat mengikat unsur hara yang berada pada tanah, sehingga ketersediaannya lebih baik.

Menurut Mosse (1981) *dalam* Widiarti (2007) perbedaan jumlah keanekaragaman spesies spora MVA dipengaruhi oleh lingkungan dan faktor biotik diketahui memiliki pengaruh terhadap pembentukan mikoriza dan derajat infeksi dari sel korteks inang. Interaksi antar faktor-faktor biotik memiliki efek yang signifikan dalam merespon pertumbuhan tanaman yang diinokulasi. Selain itu, menurut Hetrick (1984) *dalam* Yuni (1995) bahwa kadar karbohidrat akar tanaman jagung umumnya relatif tinggi sehingga jumlah eksudat akar berupa gula tereduksi dan asam-asam amino meningkat terutama senyawa flavonoid dari jenis flavonol yang berfungsi memicu pertumbuhan hifa spora MVA.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Spora MVA yang ditemukan pada rhizosfer tanaman kopi arabika yaitu *Acaulospora* dan *Glomus*. Pada kopi robusta diperoleh *Acaulospora*, *Gigaspora*, dan *Glomus*.
2. Persentase tingkat infeksi pada jaringan akar kopi arabika yaitu 20% dengan kepadatan populasi 59 spora/100 g tanah, pada kopi robusta yaitu 30% dengan kepadatan populasi 67 spora/100 g tanah. Struktur mikoriza yang ditemukan yaitu arbuskula, vesikula, hifa, dan *inner spora*.
3. Tanaman simbiosis jagung dan media zeolit merupakan kombinasi yang baik untuk memperbanyak spora MVA.

4.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi spora MVA sampai tingkat spesies secara molekuler agar hasil identifikasi spora lebih jelas.
2. Perlu dilakukannya penelitian dengan variasi media perbanyak selain zeolit serta simbiosis selain jagung untuk menguji keefektifan media dan simbiosis tersebut sebagai media perbanyak spora MVA.

Daftar Pustaka

- Brundrett, M. C., N. Bougher, B. Dells, T. Grove, & N. Malajozuk. 1996. Working With Mycorrhizas In Forestry And Agriculture. Canberra. Australian Centre for International Agricultural Research
- Diriba, M. 2007. Microbial inputs in coffee (*Coffea arabica* L.) production systems, Southwestern Ethiopia. *Doctoral thesis*. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences.
- Haryuni. 2001. Pengaruh Mikoriza Vesikular Arbuskular dari Beberapa Daerah Terhadap Pertumbuhan dan Kesehatan Bibit Kakao. *Tesis*.
- INVAM. 2009. International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. <<http://invam.caf.wvu.edu/Mycoinfo/Taxonomy/classification.htm>> [21 Agustus 2015]
- Parman. 2007. Pengaruh pemberian pupuk organik cair terhadap pertumbuhan dan produksi kentang (*Solanum tuberosum* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi* 15(2) :1-5.
- PPKKI, 2008. *Panduan budidaya dan pengolahan kopi arabika Gayo*. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Sofyan A., Y. Musa, & H. Feranita. 2005. Perbanyak cendawan mikoriza arbuskular (CMA) pada berbagai varietas jagung (*Zea mays* L) dan pemanfaatannya pada dua varietas tebu (*Saccharum officinarum* L). *Jurnal Sains dan Teknologi*. 5 (1) :12-20.

- Widiarti, I. 2007. Sebaran spora mikoriza pada *seedling* di hutan pantai barat cagar alam Pananjung Pangandaran. *Laporan Kuliah Kerja Lapangan*. Jurusan Biologi, Universitas Padjadjaran.
- Widiatma, P. S. 2015. Identifikasi mikoriza vesicular arbuskular (MVA) pada rhizosfer tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas* L) dan ubi kayu (*Manihot esculenta* crantz) serta perbanyakannya dengan media zeolit. *Skripsi*. Bukit Jimbaran: Universitas Udayana.
- Yuni, S. R. & Santosa. 1995. Pembentukan mikoriza vesukular-arbuskular pada *Capsicum annum* L. yang ditumbuhkan pada tanah asam ultisol. *Jurnal Biologi* 1(9): 371-379.