

## BIODIVERSITY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI (AMF) ON POTATOS RHIZOSPHERE AND IT POTENTIAL AS BIOFERTILIZER

Upik Yelianti<sup>\*)</sup>, Kasli<sup>\*\*)</sup>, Musliar Kasim<sup>\*\*)</sup>, & Eti Farda Husin<sup>\*\*)</sup>

### ABSTRAK

*AMF as the biofertilizer on several crops has been reported, but not so much the information about biodiversity of AMF on potatoes rhizosphere and its potential to colonize that crop. The research about the biodiversity of AMF has been done in laboratorium Biology in Faculty of Agriculture of Andalas University and in laboratorium Biotechnology of Agriculture Faculty of Jambi University from November 2004 till April 2005. The sample of soil have been collected from rhizosphere of potatoes plant in Alahan Panjang, West Sumatera, and then the AMF spore are isolated and identification based on morphology and size of spores. Inoculation of single and multi spores to potatoes root to see the structure of colonization and percentage of colonization. The result of identification of AMF spores show that there are many kind of spores on rhizosphere of potatoes plant and the spores are dominated by: Glomus, Acaulospora, Scutellospora, Gigaspora, and Enterophospora. Unfortunately, the inoculation of single spore has no good effect to the structure of colonization and the potatoes plant not vigorous and easy to be severe of stem disease. But, inoculation with multi spores show that the tipe of colonization on potatoes root have the coil hyphal and intracellular vesicular. The same result also indicated that colonization with active propagule (mycelium, spores, and infected root) have the coil hyphal and intracellular vesicular. The species of AMF that have the typical characteristic is assumed as Gigaspora sp..*

**Key words :** AMF, potatoes rhizosphere, biofertilizer

<sup>\*)</sup> Biology Department of Teacher Training and Education of Jambi University, email: [upy\\_unja@yahoo.co.id](mailto:upy_unja@yahoo.co.id) HP: 08126747058

<sup>\*\*)</sup> Faculty of Agriculture of Andalas University Padang, Kampus Limau Manis Padang

### PENDAHULUAN

Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) merupakan suatu obligat simbiosis mutualistik yang membentuk struktur mikoriza di dalam akar tanaman yang masih hidup. Bentuk hubungan mutualistik yang tinggi ketergantungannya ini dapat diartikan bahwa tanaman inang akan menerima nutrisi, sedangkan fungi/ cendawan menerima sebahagian hasil fotosintesis dalam bentuk karbon. FMA juga merupakan fungi tanah yang banyak terdapat di mana-mana di seluruh dunia. Fungi ini mempunyai kemampuan berasosiasi dengan hampir 96% jenis tanaman, seperti tanaman pangan, hortikultura, kehutanan, perkebunan, dan pakan ternak (pastura), akan tetapi efektivitasnya tidak sama untuk setiap tanaman.

FMA berfungsi dalam memperbaiki nutrisi dan meningkatkan pertumbuhan tanaman, sehingga berpotensi untuk dijadikan sebagai

pupuk hayati. Tanaman bermikoriza biasanya tumbuh lebih baik daripada tanaman yang tidak bermikoriza, karena mikoriza dapat meningkatkan penyerapan unsur hara makro terutama fosfat dan beberapa unsur mikro seperti: Cu, Zn, dan Bo. Di samping itu, FMA juga sebagai pelindung hayati melalui peningkatan resistensi tanaman terhadap serangan patogen tular tanah. Pada kondisi kekeringan, FMA juga dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap kekeringan, sehingga dapat meningkatkan produktivitas tanaman yang ditanam pada lahan marjinal (Setiadi, 2000).

Pada umumnya penelitian mengenai mikoriza ini lebih ditekankan pada respons tanaman inang terhadap kolonisasi fungi. Respons tanaman berupa penyerapan hara terutama fosfat seringkali menjadi pusat perhatian para peneliti, akan tetapi yang sering kali diabaikan adalah apakah semua jenis spora

dapat mengkolonisasi perakaran tanaman. Kolonisasi dan produksi spora sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor yang saling berinteraksi satu sama lainnya, namun tidak terdapat hubungan yang erat antara kolonisasi dengan produksi spora (Hayman, 1970). Jumlah spora yang ada tidak dapat dijadikan secara langsung sebagai petunjuk persentase kolonisasi yang terbentuk. Brundrett, (1999) mengatakan bahwa lebih mudah mengamati genus FMA melalui pola kolonisasinya pada perakaran. Sifat morfologi yang penting termasuk variasi pada vesikula (ukuran, bentuk, ketebalan dinding sel, lapisan dinding sel, posisi dan kelimpahannya), pola percabangan hifa, struktur dan diameter hifa (khususnya dekat entry point), dan intensitas pewarnaan (gelap atau pudar).

Studi tentang eksplorasi jenis-jenis FMA dari berbagai ekosistem telah banyak dilaporkan dan telah dilakukan penangkaran (*trapping*). Jenis-jenis FMA yang potensial untuk dikembangkan sebagai pupuk hayati juga telah diisolasi dan dibiakkan di dalam kultur monosonic. Isolat-isolat yang diperoleh juga telah dicobakan pada berbagai jenis tanaman, namun tidak semua isolat secara konsisten efektif dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman inang. Hasil penelitian Setiadi, (2000) menunjukkan bahwa tidak semua jenis tanaman selalu memberikan respons yang positif terhadap aplikasi FMA. Walaupun suatu tanaman dapat terkolonisasi secara intensif, namun tidak menunjukkan respon pertumbuhan yang baik. Hal ini sangat ditentukan oleh berbagai faktor, antara lain: tingkat efektivitas isolat, status nutrisi substrat yang dipakai, dan juga sangat ditentukan oleh tingkat ketergantungan tanaman tersebut terhadap mikoriza (*mycorrhizal dependency*). Pengkajian tentang keragaman spora FMA yang terdapat pada rizosfir tanaman kentang dan efektivitasnya dalam mengkolonisasi tanaman kentang belum banyak dilaporkan.

Oleh karena itu, perlu dilakukan suatu penelitian tentang keragaman FMA yang terdapat pada rizosfir tanaman kentang dan potensinya sebagai pupuk hayati yang mudah, murah dan ramah lingkungan. Dari hasil penelitian ini diharapkan diperoleh informasi tentang tipe dan jumlah spora yang terdapat dari rizosfir tanaman kentang (indigenous), tingkat infektivitas serta struktur kolonisasinya pada akar tanaman kentang, sehingga dapat dijadikan

sebagai pupuk hayati untuk tanaman kentang. Oleh karena tipe cendawan ini bersifat obligat, dimana untuk hidup dan berkembang biaknya selalu memerlukan tanaman inang, maka teknik kolonisasi dengan menggunakan propagul aktif (spora, miselia, dan akar bermikoriza) dari tanaman kentang sebagai sumber inokulan juga dicobakan dalam penelitian ini, sehingga diperoleh suatu teknik kolonisasi yang praktis dan efektif.

## METODE PENELITIAN

Percobaan ini diawali dengan pengambilan sampel tanah dari lahan pertanaman kentang di Alahan Panjang, Kabupaten Solok Sumatera Barat dan dilanjutkan di laboratorium Biologi Jurusan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Penelitian ini berlangsung dari bulan Januari 2005 sampai dengan bulan Juni 2005. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: tanah dari rizosfir tanaman kentang, kantong plastik, label, reagent Melzer's, PVLG, akuades, glukosa 60%, KOH, HCl, Lactofenol, asam fuchsin atau trypan blue. Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: sekop kecil, timbangan analitik, gunting, tabung reaksi, petridish, pinset, gelas kimia, saringan basah bertingkat (500, 250, 125, dan 54  $\mu$ ), mikroskop, gelas objek, gelas penutup, kaca arloji, tabung film, baki plastik, gelas akua, dan lain-lain.

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan jalan mengambil sampel tanah dari rizosfir tanaman kentang di lapangan, kemudian ditimbang sebanyak 50 g dan dicampur dengan 500 ml air, lalu diaduk sampai rata, kemudian diblender selama 3 menit, selanjutnya didiamkan beberapa saat sehingga partikel-partikel besar mengendap. Campuran tanah tersebut disaring dengan saringan bertingkat mulai dari ukuran 500, 250, 125, dan 54  $\mu$ . Dari saringan bagian atas disemprotkan air kran untuk memudahkan bahan saringan lolos. Demikian juga halnya dengan saringan kedua, setelah saringan teratas dilepas dilakukan juga penyemprotan dengan air kran. Setelah saringan kedua dilepas, seluruh tanah yang terdapat pada saringan terakhir dimasukkan ke dalam tabung sentrifus masing-masing sebanyak 25 ml. Kemudian tambahkan larutan glukosa 60% sebanyak 25 ml ke dalam tabung sentrifus tadi, lalu disentrifus selama 30 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Larutan supernatan dituang dan

disaring dengan saringan 54  $\mu$ , lalu dicuci dengan air mengalir untuk mencuci glukosa.

Pengamatan spora yang akan diidentifikasi secara deskriptif sampai ke tingkat genus, mengacu pada kunci determinasi dari Schenk dan Perez (1988). Selain itu, spora juga diamati morfologinya dan dibedakan dalam beberapa tipe sekaligus dihitung jumlahnya. Selanjutnya dibuat preparat mikroskop dengan menggunakan reagen Melzer's dan PVLG sebagai bahan untuk pengawet spora.

### Inokulasi Spora FMA

Inokulasi spora tunggal dan multi spora, serta kolonisasi dengan menggunakan propagul aktif dilakukan pada akar tanaman kentang untuk melihat infektivitasnya. Pengamatan secara visual dilakukan seminggu sekali. Pada umur 2 bulan, akar tanaman dipanen kemudian diamati tipe, struktur, dan persentase kolonisasinya dengan jalan membuat preparat dengan pewarna *Lactophenol Fuchsin acid*.

Pewarnaan akar dilakukan untuk melihat persentase kolonisasi serta tipe kolonisasinya, dengan jalan memperbanyak spora yang diperoleh dengan metode kultur pot (*open culture pot*) dengan media zeolit selama 3 bulan. Untuk menguji efektivitas dari isolat-isolat tersebut dilakukan inokulasi pada tanaman kentang.

Cara pembuatan preparatnya adalah akar tanaman dibersihkan kemudian dipotong-potong dengan ukuran 1 cm. Untuk akar-akar yang tidak langsung diamati, dimasukkan ke dalam larutan FAA (Formalin 90 ml + asam asetat 5 ml + alkohol 50%) untuk disimpan. Kemudian akar diwarnai dengan larutan staining (*trypan blue*) sesuai dengan metode Phillip dan Hayman, (1970). Akar direndam dalam larutan  $H_2O_2$  alkalin ( $NH_3O_4$  3 ml +  $H_2O_2$  10% 30 ml + air 576 ml) selama 10-20 menit, lalu dibilas dengan air 3 kali, tambahkan HCl 1% dan rendam 3-5 menit, lalu buang larutan HCl, dan tambahkan *trypan blue lactophenol* (phenol 300 g + asam laktat 250 ml + glycerol 250 ml + akuades 300 ml + trypan

blue 0,5 g). Masukkan ke dalam autoklaf selama 10 menit pada tekanan 15 psi. Setelah itu, masukan akar ke dalam petri yang berisi larutan lactophenol untuk distaining, lalu dibilas dan masukan glycerol 50%. Akar yang telah distaining diamati di bawah mikroskop stereo binokuler dengan perbesaran 40x atau 60x untuk melihat ada atau tidaknya kolonisasi. Selanjutnya dihitung derajat kolonisasinya dengan menggunakan metode panjang slide (*slide length methods*) (Gederman dan Nicolson, 1963). Persentase kolonisasi FMA dalam akar mengacu pada kriteria oleh (Kormanik, 1980), yaitu: 0-25 % (kurang), 26-50% (cukup), 51-75% (baik), dan 76-100% (baik sekali).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Jumlah Spora

Hasil isolasi dan identifikasi terhadap spora yang terdapat pada rizosfir tanaman kentang sangat bervariasi (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah Spora FMA yang Terdapat pada Rizosfir Tanaman Kentang di Alahan Panjang, Kabupaten Solok Sumatera Barat.

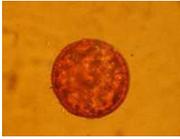
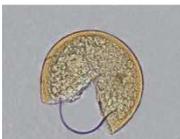
No.	Tipe spora	Jumlah spora
1.	Glomus	123
2.	Acaulospora	43
3.	Scutellospora	26
4.	Gigaspora	12
5.	Entrophospora	4
6.	Sclerostyis	2

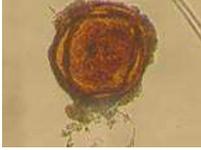
### 2. Tipe Spora FMA

Hasil pengamatan terhadap tipe spora yang ada pada rizosfir kentang berdasarkan ciri morfologis dan reaksinya terhadap reagent Melzer's dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini. Terlihat bahwa genus *Glomus* mempunyai bermacam-macam bentuk dan ukuran.

Tabel 2. Tipe Spora FMA yang Terdapat pada Rizosfir Tanaman Kentang dari Alahan Panjang, Kabupaten Solok, Sumatera Barat.

Tipe spora	Ciri-ciri Morfologi	Reaksinya terhadap Pewarna Melzer's
 <i>Glomus sp. 1</i>	Spora bulat, berwarna coklat kemerahan, permukaan halus ber dinding tebal, mempunyai <i>Hyphal attachment</i> . Spora lolos pada saringan 325 $\mu$ m	Tidak bereaksi dengan pewarna melzer's

Tipe spora	Ciri-ciri Morfologi	Reaksinya terhadap Pewarna Melzer's
 <i>Glomus sp. 2</i>	Spora bulat, berwarna merah kehitaman, permukaan halus berdinding tebal, mempunyai <i>Hyphal attachment</i> berbentuk <i>straight</i> . Spora lolos pada saringan 325µm	Tidak bereaksi dengan pewarna melzer,s
 <i>Glomus sp. 3</i>	Spora bulat, berwarna kuning kecoklatan, permukaan halus berdinding tebal, tidak mempunyai <i>Hyphal attachment</i> . Spora lolos saringan berukuran 125µm	Tidak bereaksi dengan pewarna melzer,s
 <i>Glomus sp. 4</i>	Spora bulat persegi panjang, berwarna kuning kecoklatan, permukaan halus dan berdinding tebal, <i>Hyphal attachment</i> berbentuk <i>straight</i> . Spora lolos pada saringan 250 µm	Tidak bereaksi dengan pewarna melzer,s
 <i>Glomus sp. 5</i>	Spora bulat telur, berwarna hitam kecoklatan, permukaan halus berdinding tebal, <i>Hyphal attachment</i> berbentuk <i>straight</i> . Spora lolos pada saringan 250µm	Tidak bereaksi dengan pewarna melzer,s
 <i>Glomus sp. 6</i>	Spora bulat panjang, berwarna coklat kehitaman, permukaan halus berdinding tebal, <i>Hyphal attachment</i> berbentuk <i>straight</i> . Spora lolos saringan berukuran 325µm	Tidak bereaksi dengan pewarna melzer,s
 <i>Glomus sp.</i>	Spora berbentuk bulat, berwarna kuning, permukaan halus dan berdinding tebal 2-3 lapis. <i>Hyphal attachment</i> berbentuk <i>straight</i> . Spora lolos saringan berukuran 325µm	Tidak terjadi perubahan warna dengan reagent Melzer's
 <i>Scutellospora sp.</i>	Spora berbentuk bulat, berwarna kuning, berdinding tebal, permukaan kasar, mempunyai <i>auxiliary cell</i> seperti tonjolan ( <i>knobby</i> ), mempunyai <i>subtending hypha</i> . Lolos pada saringan 325 µm	Terjadi perubahan warna dengan reagent Melzer's
 <i>Scutellospora sp.</i>	Bentuk lain dari spora Scutellospora (keterangan sama dengan di atas)	Terjadi perubahan warna dengan reagent Melzer's
 <i>Scutellospora sp.</i>	Spora berbentuk bulat, berwarna kuning, berdinding tebal, permukaan kasar, mempunyai <i>auxiliary cell</i> seperti tonjolan ( <i>knobby</i> ), mempunyai <i>subtending hypha</i> . Lolos pada saringan 325 µm	Terjadi perubahan warna dengan reagent Melzer's.
 <i>Acaulospora sp.</i>	Spora bulat, berwarna merah kekuningan, permukaan kasar dan berdinding tebal. Spora lolos saringan berukuran 325µm	Terjadi perubahan warna dengan reagent Melzer's.
 <i>Acaulospora sp.</i>	Spora bulat (globose), berwarna kuning, permukaan halus berdinding tebal (2-3 lapis), mempunyai <i>auxiliary cell</i> seperti tonjolan ( <i>spiny</i> ). Spora lolos pada saringan 325µm	Terjadi perubahan warna dengan reagent Melzer's, bagian dalam spora berwarna lebih gelap

Tipe spora	Ciri-ciri Morfologi	Reaksinya terhadap Pewarna Melzer's
 <i>Gigaspora sp.</i>	Spora berbentuk bulbous, berwarna coklat kemerahan, berdinding tebal 2-3 lapis, mempunyai auxiliary sel seperti duri, lolos pada saringan 325 µm	Berubah warna dengan reagent Melzer's
 <i>Entrophospora sp.</i>	Spora bulat, berwarna kuning kecoklatan, berdinding 2-3 lapis, permukaan halus, spora terbentuk dalam <i>subtending hypha</i> di bawah <i>sporiferous saccule</i> . Spora lolos saringan berukuran 125µm	Terjadi perubahan warna dengan reagent Melzer's
 <i>Sclerocystis sp.</i>	Spora berwarna coklat kemerahan, berbentuk bulat, bergerombol dan diselimuti oleh peridium. Spora lolos pada saringan 325 µm	Tidak terjadi perubahan warna dengan reagent Melzer's

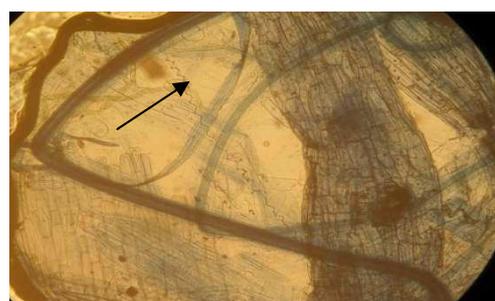
Pada Tabel 1 di atas, terlihat bahwa spora dari genus *Glomus* mendominasi keragaman spora yang ada pada rizosfir kentang, kemudian diikuti oleh *Acaulospora*, *Scutellospora*, *Gigaspora*, *Enterophospora*, dan *Sclerocystis*. Walaupun spora dengan tipe *Glomus* mendominasi rizosfir kentang, namun setelah dilakukan inokulasi spora tunggal tidak terlihat adanya kolonisasi pada perakaran tanaman dan tanaman umumnya terserang oleh penyakit busuk pangkal batang. Hal ini menunjukkan bahwa tidak semua jenis spora dapat mengkolonisasi perakaran tanaman kentang. Tingkat kolonisasi sangat ditentukan antara lain oleh kecocokan antara fungi mikoriza dengan perakaran tanaman inang. Hal ini sejalan dengan pendapat Hayman, (1970) yang menyatakan bahwa jumlah produksi spora umumnya tidak berkorelasi positif dengan kolonisasi FMA pada sel akar. Setiadi, (2000) menambahkan bahwa tidak semua jenis tanaman selalu memberikan respons yang positif terhadap aplikasi FMA. Walaupun suatu tanaman dapat terkolonisasi secara intensif, namun tidak menunjukkan respon pertumbuhan yang baik. Hal ini sangat ditentukan oleh berbagai faktor, antara lain: tingkat efektivitas isolat, status nutrisi substrat yang dipakai, dan juga sangat ditentukan oleh tingkat ketergantungan tanaman tersebut terhadap mikoriza (*mycorrhizal dependency*). Akan tetapi, inokulasi dengan menggunakan multi spora menunjukkan respon kolonisasi yang tergolong baik. Demikian juga dengan penggunaan inokulan yang berasal dari propagul aktif juga memberikan respons kolonisasi paling baik pada perakaran tanaman kentang dan vigor tanaman terlihat lebih baik.

Hal ini menunjukkan bahwa kolonisasi FMA pada perakaran tanaman dapat membantu penyerapan unsur hara dan air, sehingga pertumbuhan tanaman terlihat lebih baik.

### 3. Persentase Kolonisasi dan Tipe Kolonisasi

Hasil pengamatan terhadap inokulasi multi spora pada akar tanaman kentang terlihat bahwa persentase kolonisasinya adalah 80%. Menurut Kormanik, (1980) bahwa persentase kolonisasi 76-100% tergolong baik sekali. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat kecocokan antara satu spora atau lebih yang diinokulasi dengan akar tanaman kentang tersebut. Makin banyak akar yang terkolonisasi diperkirakan akan makin besar pula tingkat penyerapan unsur hara dan air oleh akar tanaman, sehingga pertumbuhan tanaman menjadi lebih baik.

Berdasarkan pengamatan akar secara mikroskopis terlihat bahwa vesikulanya terdapat pada intraseluler dengan tipe hifa internal yang berdinding tipis dan seringkali pudar dengan pewarnaan. Hifa bagian luar korteks tidak beraturan percabangannya dan menggeling (Gambar 1, 2, dan 3).



Gambar 1. Hifa Eksternal yang Menggeling



Gambar 2. Eksternal Vesikula pada Akar Kentang

Berdasarkan pengamatan akar secara mikroskopis terlihat bahwa vesikulanya terdapat pada intraseluler dengan tipe hifa internal yang ber dinding tipis dan seringkali pudar dengan pewarnaan. Hifa bagian luar korteks tidak beraturan percabangannya dan menggeling (Gambar 1 dan 2).

Berdasarkan karakteristik tipe dan struktur kolonisasi FMA pada sel akar tanaman kentang yang menunjukkan bahwa vesikula yang tidak beraturan dan struktur hifa yang menggeling, maka tipe spora yang mengkolonisasi akar tanaman kentang tersebut adalah FMA dari genus *Gigaspora*. Hal ini sejalan dengan pendapat Brundrett (1999), yang mengatakan bahwa tipe kolonisasi dengan struktur vesikula intraselulernya berisi butiran minyak dan seringkali mempunyai bentuk yang tidak beraturan. Vesikulanya mempunyai dinding yang tipis. Hifa eksternal ditemukan seperti per menggeling, dan hifa pada bagian terluar korteks umumnya mempunyai percabangan yang tidak beraturan dan menggeling. Sedangkan hifa internalnya ber dinding tipis, sehingga lebih pudar dalam menyerap zat warna. Tipe dan struktur kolonisasi yang demikian tergolong pada genus *Gigaspora*.

### SIMPULAN

Hasil percobaan dapat disimpulkan bahwa terdapat keragaman jenis spora FMA pada rizosfir tanaman kentang dan jenis spora didominasi oleh genus *Glomus*, kemudian diikuti oleh *Acaulospora*, *Scutellospora*, *Gigaspora*, *Enterophospora*, dan *Sclerocystis*. Tidak ter-

dapat korelasi yang positif antara jumlah spora dengan tingkat kolonisasi perakaran.

Inokulasi dengan spora tunggal menunjukkan tidak terjadinya kolonisasi, sebaliknya inokulasi dengan multi spora menunjukkan tingkat kolonisasi yang baik. Inokulasi dengan menggunakan propagul aktif juga menunjukkan tingkat kolonisasi yang sangat baik sekali, sehingga sangat baik untuk dijadikan sebagai sumber inokulan untuk dikembangkan sebagai pupuk hayati untuk tanaman kentang.

### DAFTAR RUJUKAN

- Brundrett, M. (1999). **Arbuscular mycorrhizas. CSIRO Forestry and Forest Products.**
- Gedermann, J. W., dan T. H. Nicholson (1963). *Spores of mycorrhizal endogon species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of British Mycological Society* 46: 235-244.
- Hayman, D.S. (1970). *Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment. Transaction of the British Mycological Society*, 54: 53-63
- Kormanik, P.P. (1980). **Quantification of vesicular arbuscular mycorrhiza in plant roots.** In: Schenk, N.C. (ed) *Methods and Principles of mycorrhizal research.* The American Phytopathological Society, St. Paul, 37-45.
- Schenck, N.C., and Perez, Y. (1988). **Manual for identification of VA mycorrhizal fungi.** (2<sup>nd</sup> edition). INVAM, University of Florida, Gainesville.
- Setiadi, Y. (2000). *Status Penelitian dan Pemanfaatan Cendawan Mikoriza Arbuskula dan Rhizobium untuk Merehabilitasi Lahan Terdegradasi.* **Prosiding Seminar Nasional Mikoriza I.** Bogor 15-16 November 1999.