

Isolasi Cendawan Mikoriza Arbuskula dari Rizosfer Tanaman Berkayu Asal Pulau Bangka dan Karakteristik Struktur Kultur Mikorizanya

Isolation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from Rhizosphere of Bangka Island Woody Plants and their Mycorrhizal Structure Culture Characteristics

NAMPIAH SUKARNO*, CICI RAHMAWATI, SRI LISTIYOWATI, WENDI NURUL FADILLAH, YANTI NOVERA

Departmen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

Diterima 29 Maret 2023/Diterima dalam Bentuk Revisi 12 April 2023/Disetujui 13 April 2023

Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) associate with a variety of plants including forest trees. Research on AMF in forestry in Indonesia is limited, especially on woody plants grown in Bangka Island. Therefore, the aim of this research was to isolate and identify AMF associated with woody plants from Bangka Island grown in the post-mining soil in greenhouse for 7 years. The Soil samples derived from 8 pots of the 7 years old woody plants were used as spore sources. Spore extraction from the soil used the wet sieving and decanting method. Fungal identification was carried out based on morphological characteristics, and fungal isolation used pot culture with *Pueraria javanica* as a host plant. Fungal structures within the root were analyzed after root staining with trypan blue. There were 18 spore morphotypes observed which belong to 5 types of *Acaulospora* and 13 types of *Glomus*. Seven single spore pot cultures were successfully isolated from species of *Acaulospora* sp.1, *Acaulospora* sp.4, *Acaulospora* sp.5, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3, *Glomus* sp.6, and *Glomus* sp.11. AM fungal colonization structures observed within the root were Paris type arbuscules, internal hyphae, and vesicles. The AMF cultures obtained could be used as biofertilizer for woody plant seedlings production for post mining reclamation activities.

Key words: AMF, woody plants, *Acaulospora*, *Glomus*, Bangka Island

PENDAHULUAN

Mikoriza merupakan simbiosis mutualisme antara akar tumbuhan dengan cendawan tanah. Mikoriza arbuskula (MA) ialah salah satu tipe mikoriza yang umum dijumpai di alam dan kolonisasinya tanpa memiliki spesifisitas inang. Simbiosis mikoriza arbuskula terbentuk pada 600 juta tahun yang lalu dan simbiosis ini memungkinkan tumbuhan dapat mengkolonisasi daratan (Strullu-Drrien *et al.* 2018). Sampai saat ini sekitar 80% tumbuhan daratan membentuk simbiosis mikoriza arbuskula (Piliarova *et al.* 2019).

Dalam simbiosis mikoriza, hasil fotosintesis tumbuhan sebagai inang berupa unsur karbon dipertukarkan dengan unsur hara yang diserap dari dalam tanah oleh cendawan melalui jalinan

miselium. Transfer nutrisi pada MA terjadi pada arbuskula yang merupakan struktur modifikasi hifa yang mengalami pertumbuhan dikotomus yang intensif (Smith dan Read 2008). Istilah arbuskula berasal dari bahasa latin “arbuscula” yang artinya ialah struktur yang menyerupai pohon yang dibentuk di dalam sel kortek akar tumbuhan inang. Struktur arbuskula bersama-sama dengan vesikula merupakan struktur diagnostik untuk mikoriza arbuskula. Cendawan yang membentuk mikoriza arbuskula (CMA) termasuk ke dalam filum *Glomeromycota* (Smith dan Read 2008). *Glomeromycota* merupakan cendawan yang sangat beragam. Kruger *et al.* (2009) melaporkan bahwa *Glomeromycota* beranggotakan lebih dari 200 spesies yang terdiri dari 4 ordo, 11 famili dan 27 genus yang tersebar diseluruh dunia termasuk di daerah tropis.

CMA mengkolonisasi epidermis dan korteks akar tumbuhan inang secara inter dan intraseluler.

*Penulis korespondensi:

E-mail: nampiah@apps.ipb.ac.id

Proses kolonisasi dimulai dengan penetrasi hifa ke dalam ruang antar sel epidermis membentuk struktur penetrasi dan apresorium secara interseluler, kemudian hifa tumbuh lebih lanjut ke daerah korteks akar tumbuhan inang membentuk struktur hifa interseluler dan intraseluler, arbuskula dan kadang-kadang vesikula. Arbuskula merupakan struktur kolonisasi yang berfungsi untuk transfer nutrisi antara mikobion dan fitobion. Vesikula dapat terbentuk baik di dalam maupun di ruang antar sel korteks akar. CMA tidak mengkolonisasi jaringan endodermis dan jaringan bagian dalam endodermis seperti xilem dan floem. Selain mengkolonisasi akar, CMA membentuk jalinan miselia intensif di dalam tanah yang berfungsi untuk menyerap nutrisi dan produksi spora. CMA menghasilkan spora secara aseksual, dan belum pernah dilaporkan menghasilkan reproduksi spora secara seksual (Smith dan Read 2008).

Cendawan MA ialah cendawan simbiosis obligat yang artinya tidak dapat ditumbuhkan pada medium sintetik dan semi sintetik. Pertumbuhan CMA memerlukan akar tumbuhan hidup yang aktif tumbuh. Oleh karena itu isolasi CMA dilakukan menggunakan akar tumbuhan dalam pot yang ditumbuhkan pada berbagai media pertumbuhan tumbuhan yang sebelumnya telah disetrilisasi seperti tanah, pasir atau zeolit steril (Smith dan Read 2008). Kultur CMA hasil isolasi menggunakan kultur pot disebut kultur monoksenik. Isolasi CMA secara aksenik dapat dilakukan dengan menggunakan akar tumbuhan yang aktif tumbuh pada sistem kultur jaringan atau kultur akar (Bago *et al.* 2000; Abd-Ellatif *et al.* 2012).

Sebanyak 80% tumbuhan di dunia bersimbiosis membentuk mikoriza arbuskula. Kisaran inang CMA sangat luas, CMA tidak memiliki spesifisitas inang seperti halnya cendawan patogen pada tumbuhan. Namun demikian terdapat katagori responsivitasnya terhadap kolonisasi yaitu obligat dan fakultatif. Tumbuhan yang bersifat fakultatif terhadap mikoriza arbuskula dibagi menjadi tumbuhan yang responsif dan tidak responsif (Smith dan Read 2008). *Pueraria javanica* ialah salah satu tumbuhan yang bersifat responsif terhadap kolonisasi mikoriza arbuskula dan tumbuh cepat sehingga dapat digunakan sebagai inang standar dalam isolasi CMA.

Tumbuhan *Agathis dammara*, *Aporosa actandra*, *Callophyllum* sp., *Dyera costulata*, *Eugenia lineata*, *Eugenia* sp., *Melastoma malabathrichum*, dan *Microcos tomentosa* merupakan tumbuhan yang dijumpai di hutan alam (hutan sekunder) dan juga di lahan hasil reklamasi pasca tambang yang berumur antara 16-28 tahun di Pulau Bangka. Tumbuhan

ini dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan di Pulau Bangka sehingga dapat digunakan untuk reklamasi lahan tambang di pulau tersebut. Keberhasilan tumbuhan dalam beradaptasi diduga karena bersimbiosis dengan mikoriza arbuskula (Smith dan Read 2018).

Tumbuhan berkayu dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia untuk berbagai keperluan, misalnya konstruksi bangunan, alat transportasi, kerajinan, pangan, obat, bahan bakar dan berbagai alat rumah tangga. Namun penelitian tentang keragaman dan pembuatan kultur CMA yang tumbuh di daerah rizosfer tumbuhan berkayu di Indonesia untuk koleksi kultur belum banyak dilakukan terutama tumbuhan asal Pulau Bangka. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengidentifikasi CMA pada tanah rizosfer tumbuhan berkayu asal pulau Bangka yang tumbuh pada lahan bekas tambang timah.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel Penelitian. Sampel ialah tanah rizosfer 8 spesies tumbuhan berkayu asal pulau Bangka, yaitu *Agathis dammara*, *Aporosa actandra*, *Callophyllum* sp., *Dyera costulata*, *Eugenia lineata*, *Eugenia* sp., *Melastoma malabathrichum*, dan *Microcos tomentosa* berumur 7 tahun yang ditumbuhkan di rumah kaca PPSHB IPB. Sampel tanah diambil dari rizosfer setiap spesies tumbuhan inang masing masing sebanyak ± 200 g, sampel tanah selanjutnya dipergunakan sebagai sumber isolasi spora yang digunakan untuk pembuatan kultur spora tunggal. Identifikasi secara morfologi dilakukan terhadap spora CMA yang berhasil diekstraksi dari tanah rizosfer sebelum dilakukan pengkulturan.

Ekstraksi dan Identifikasi Spora. Spora CMA diekstraksi dari 100 g tanah rizosfer tanaman berkayu asal pulau Bangka yang ditumbuhkan di rumah kaca selama 7 tahun menggunakan metode tuang saring basah dan sentrifugasi (Brundrett *et al.* 2008). Spora disaring menggunakan saringan spora bertingkat, spora hasil saringan kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifus dan disentrifugasi pada kecepatan 2.000 rpm selama 2 menit. Supernatan dibuang, pelet diresuspensi dengan 50% glukosa, kemudian disentrifugasi kembali pada kecepatan 2.000 rpm selama 1 menit. Supernatan yang berisi spora disaring menggunakan saringan yang memiliki diameter pori sebesar 90 μm , kemudian dibilas dengan air mengalir. Jumlah setiap jenis spora yang berhasil diekstraksi dari masing-masing jenis inang dihitung. Spora yang dipilih untuk identifikasi ialah spora dengan struktur yang lengkap. Spora dipindahkan ke gelas objek dengan

media *polyvinyl alcohol lacto glyserol* (PVLG), kemudian media diganti menggunakan larutan Meltzer's untuk diamati perubahan warna spora. Identifikasi dilakukan berdasarkan kunci identifikasi Schenk dan Perez (1990) *Manual for The Identification of VA Mycorrhizal Fungi*.

Pembuatan Kultur Spora Tunggal. Pembuatan kultur spora tunggal mengacu pada metode yang dilakukan Mansur (2000), yaitu *Petridish Observation Chamber* (PDOC) dengan modifikasi. Cawan Petri plastik berdiameter 9 cm dengan satu sisi diberi lubang sebesar 0.5×0.5 cm. Cawan kemudian diisi dengan zeolit steril berukuran 1-2 mm sampai penuh dan cukup padat, serta ditanami kecambah *Pueraria javanica* yang memiliki 2-3 helai daun. Perkecambahan *P. javanica* dilakukan dengan cara merendam bibit dalam larutan 10% NaOCl selama 10 menit, kemudian bibit direndam dengan air hangat selama satu malam. Bibit yang telah direndam, ditanam dalam zeolit steril hingga bibit berkecambah dan memiliki daun sebanyak 2-3 helai (Khastini *et al.* 2022).

Spora-spora CMA yang telah diekstraksi dari masing-masing rizosfer setiap spesies tumbuhan dikumpulkan dalam gelas arloji dan dilakukan pemisahan berdasarkan genusnya. Kemudian spora diinokulasikan pada bibit *P. javanica* yang telah disiapkan. Setiap bibit hanya diinokulasi dengan satu spora. Kultur dipelihara selama 2-3 bulan, sampai terbentuk kolonisasi CMA dan memproduksi spora baru (sporulasi). Perkecambahan spora dan perkembangan proses kolonisasi dan sporulasi pada setiap kultur diamati setiap minggu dengan pengamatan dimulai pada awal minggu kedua setelah inokulasi sampai terbentuk simbiosis dan produksi spora baru. Setelah

terbentuk kolonisasi dilakukan pengambilan sampel akar untuk pengamatan keberhasilan kolonisasi, dan produksi spora baru.

Pengamatan Struktur Kolonisasi dan Produksi Spora pada Kultur CMA yang Berhasil Diisolasi.

Akar *P. javanica* yang sebelumnya telah diinokulasi spora CMA dan membentuk kolonisasi, diwarnai mengikuti metode pewarnaan Phillips dan Hayman (1970). Akar sampel direndam dalam 10% KOH pada penangas selama 15 menit, kemudian dibersihkan dengan air mengalir dan direndam kembali dengan 1N HCl selama 30 menit. Akar yang telah direndam 1N HCl kemudian diwarnai dengan 0,05% pewarna biru tripan dengan cara direndam selama 15 menit pada penangas 90°C. Akar yang telah terwarnai diamati struktur mikorizanya menggunakan mikroskop majemuk dan mikroskop stereo. Struktur mikoriza yang diamati ialah titik atau hifa penetrasi (*entry point*), arbuskula, hifa gelung, hifa internal, dan vesikula. Produksi spora diamati setiap minggu menggunakan mikroskop stereo. Parameter yang diamat ialah karakteristik dan jumlah spora yang terbentuk.

HASIL

Karakteristik dan Jumlah Spora Hasil Ekstraksi dari Tanah Rizosfer Delapan Spesies Tumbuhan.

Karakteristik spora ditentukan berdasarkan bentuk, warna, ukuran, reaksi dengan Meltzer's, dan tekstur permukaan spora. Berdasarkan karakteristik spora yang teramati, diperoleh 18 spora CMA yang terdiri atas 2 genus yaitu *Acaulospora* dan *Glomus*. Terdapat 5 spesies *Acaulospora* dan 13 spesies *Glomus* (Tabel 1). Spora genus *Acaulospora* memiliki ciri bentuk,

Tabel 1. Karakteristik spora CMA yang diekstraksi dari rizosfer 8 spesies tumbuhan hutan asal Pulau Bangka berumur 7 tahun yang ditumbuhkan di rumah kaca

Genus	Karakteristik spora cendawan MA				
	Bentuk	Warna	Ukuran (μm)	Reaksi Meltzer's	Tekstur permukaan spora
<i>Acaulospora</i> sp.1	Bulat	Cokelat kehitaman	$82,5 \times 91,1$	+(1)	Halus
<i>Acaulospora</i> sp.2	Bulat	Merah	$229,9 \times 235,9$	+(2)	Agak kasar
<i>Acaulospora</i> sp.3	Bulat	Kuning	$90,9 \times 93,7$	+(3)	Halus
<i>Acaulospora</i> sp.4	Bulat	Kuning kecokelatan	$177,3 \times 178,3$	+(4)	Halus
<i>Acaulospora</i> sp.5	Bulat	Cokelat kehitaman	$82,9 \times 84,6$	+(5)	Agak kasar
<i>Glomus</i> sp.1	Bulat	Cokelat	$171,8 \times 198,8$	-	Halus
<i>Glomus</i> sp.2	Bulat	Cokelat kehitaman	$87,2 \times 89,4$	-	Halus
<i>Glomus</i> sp.3	Bulat	Cokelat kemerahan	$153,3 \times 159,3$	-	Halus
<i>Glomus</i> sp.4	Bulat	Cokelat kemerahan	$155,3 \times 158,3$	-	Agak kasar
<i>Glomus</i> sp.5	Bulat	Cokelat muda	$79,1 \times 83,3$	-	Halus
<i>Glomus</i> sp.6	Bulat	Hitam	$86,6 \times 86,8$	-	Agak kasar
<i>Glomus</i> sp.7	Lonjong	Kuning kemerahan	$136,2 \times 153,3$	-	Halus
<i>Glomus</i> sp.8	Bulat	Kuning kecokelatan	$112,2 \times 112,7$	-	Halus
<i>Glomus</i> sp.9	Lonjong	Kuning kecokelatan	$137,7 \times 178,3$	-	Agak kasar
<i>Glomus</i> sp.10	Bulat	Kuning kecokelatan	$92,2 \times 93,7$	-	Halus
<i>Glomus</i> sp.11	Bulat	Kuning keemasan	$77,2 \times 85,0$	-	Agak kasar
<i>Glomus</i> sp.12	Lonjong	Kuning kemerahan	$71,7 \times 91,3$	-	Halus
<i>Glomus</i> sp.13	Bulat	Merah kecokelatan	$119,7 \times 122,2$	-	Halus

(+): terjadi perubahan warna: (1) cokelat kehitaman menjadi hitam, (2) merah menjadi cokelat kehitaman, (3) kuning menjadi merah kekuningan, (4) kuning kecokelatan menjadi cokelat, dan (5) cokelat kehitaman menjadi hitam, (-) : tidak terjadi perubahan warna

warna, ukuran, dan tekstur permukaan spora yang beragam, begitu pula dengan spora genus *Glomus*. Genus yang paling dominan ditemukan yaitu *Glomus*.

Jumlah spora yang diperoleh dari tanah rizosfer 8 spesies tumbuhan inang berkisar antara 6–144 spora/100 g tanah. Jumlah spora terbanyak didapatkan dari sampel tanah rizosfer *Callophyllum* sp. yaitu sebanyak 144 spora/100 g tanah sedangkan tingkat keragaman tertinggi didapatkan dari sampel tanah *Agathis dammara* yaitu sebanyak 10 tipe spora (Tabel 2).

Karakteristik Kultur Spora Tunggal CMA pada Akar *P. javanica*. Diperoleh sebanyak 113 kultur spora tunggal yang terdiri dari 18 spesies CMA yaitu 5 spesies *Acaulospora* dan 13 *Glomus* hasil isolasi kultur spora tunggal. Simbiosis dimulai dengan perkecambahan spora (Tabel 3). Proses selanjutnya pembentukan hifa penetrasi pada akar inang *P. javanica* yaitu apresorium, hifa gelung, arbuskula dan vesikula (Gambar 1-7). Setelah struktur kolonisasi akar terbentuk, CMA yang telah bersimbiosis membentuk spora baru (Tabel 1).

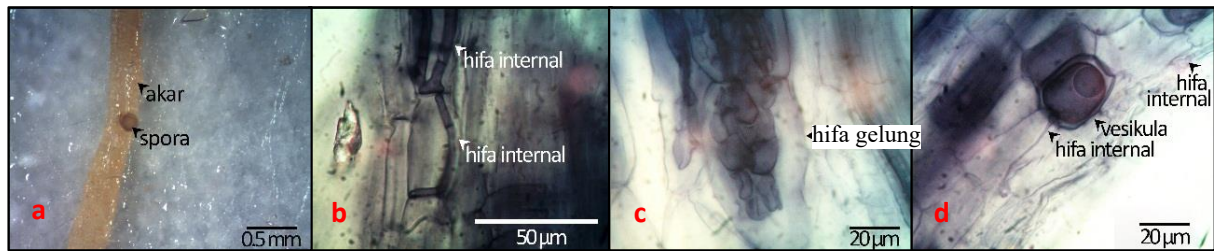
Waktu yang dibutuhkan untuk perkecambahan spora CMA sangat bervariasi (Tabel 1) yaitu dari 11 sampai 87 hari setelah inokulasi. Beragamnya waktu perkecambahan teramati pada tingkat genus, spesies dan bahkan pada tingkat individu spora dari setiap spesies inang. Setelah spora berkecambah membentuk tabung kecambah, tahap selanjutnya tabung kecambah melakukan morfogenesis membentuk percabangan hifa yang intensif membentuk jejaring miselia pada media zeolit, sebagian hifa tumbuh mengarah ke akar tumbuhan inang. Kecepatan morfogenesis hifa yang teramati sangat beragam bergantung pada spesies cendawannya (Gambar 1-7). Hifa CMA yang tumbuh mengarah ke akar tanaman inang *P. javanica*, selanjutnya membentuk hifa penetrasi dan apresorium. Pengamatan lebih lanjut menunjukkan bahwa hifa yang telah melakukan penetrasi pada sel epidermis akar, tumbuh secara inter dan intraseluler di korteks akar. Pertumbuhan hifa intraseluler membentuk struktur berupa hifa gelung dan arbuskula. Pada kolonisasi

Tabel 2. Jumlah dan keragaman spora CMA (per 100 g tanah) yang diekstraksi dari rizosfer 8 spesies tumbuhan hutan asal Pulau Bangka berumur 7 tahun yang ditumbuhkan di rumah kaca

Inang	Kode isolat	Tipe spora	Jumlah spora	Total
<i>Agathis dammara</i>	DA	<i>Glomus</i> sp.2	20	84
		<i>Glomus</i> sp.3	4	
		<i>Glomus</i> sp.4	4	
		<i>Glomus</i> sp.6	12	
		<i>Glomus</i> sp.7	6	
		<i>Glomus</i> sp.11	6	
		<i>Glomus</i> sp.12	6	
		<i>Acaulospora</i> sp.2	6	
		<i>Acaulospora</i> sp.4	6	
		<i>Acaulospora</i> sp.5	14	
<i>Eugenia</i> sp.	SA	<i>Glomus</i> sp.2	4	16
		<i>Glomus</i> sp.13	4	
		<i>Acaulospora</i> sp.1	8	
<i>Microcos tomentosa</i>	JE	<i>Glomus</i> sp.1	2	44
		<i>Glomus</i> sp.2	34	
		<i>Glomus</i> sp.6	2	
		<i>Glomus</i> sp.11	2	
		<i>Acaulospora</i> sp.1	4	
<i>Dyera costulata</i>	PK	<i>Glomus</i> sp.2	40	68
		<i>Glomus</i> sp.3	2	
		<i>Glomus</i> sp.6	8	
		<i>Glomus</i> sp.8	16	
		<i>Acaulospora</i> sp.11	2	
<i>Callophyllum</i> sp.	BE	<i>Glomus</i> sp.2	2	144
		<i>Glomus</i> sp.5	86	
		<i>Glomus</i> sp.9	54	
		<i>Acaulospora</i> sp.4	2	
<i>Melastoma malabathricum</i>	ME	<i>Glomus</i> sp.2	4	6
		<i>Glomus</i> sp.8	2	
<i>Aporosa actandra</i>	PL	<i>Glomus</i> sp.6	24	38
		<i>Glomus</i> sp.10	14	
<i>Eugenia lineata</i>	SE	<i>Glomus</i> sp.2	24	44
		<i>Glomus</i> sp.3	4	
		<i>Glomus</i> sp.8	16	

Tabel 3. Karakteristik spora CMA yang berhasil dikulturkan dan durasi perkecambahannya pada kultur spora tunggal dengan inang akar *P. javanica* umur 3 bulan setelah inokulasi

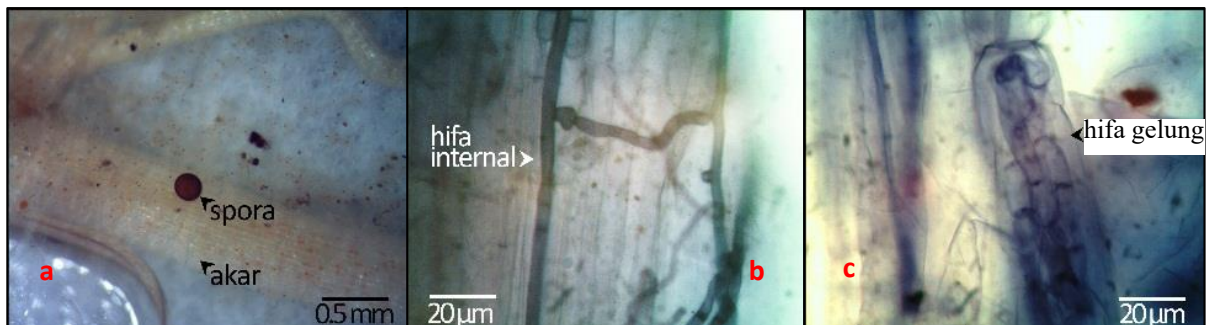
Kode isolat	Jumlah kultur yang berhasil diisolasi	Jumlah kultur yang berhasil diisolasi	Nama kultur	Genus CMA yang diinokulasikan	Warna spora yang diinokulasikan	Jumlah spora pada kultur CMA umur 3 bulan	Warna spora yang dihasilkan pada kultur spora tunggal	Lama perkecambahan spora setelah diinokulasikan (hari)
BE	15	2	BE1	<i>Glomus</i> sp.2	Cokelat kehitaman	1	Kuning pucat	87
			BE8	<i>Acaulospora</i> sp.4	Kuning kecokelatan	6	Kuning pucat	48
DA	42	11	DA2	<i>Acaulospora</i> sp.5	Cokelat kehitaman	1	Kuning	36
			DA30	<i>Acaulospora</i> sp.5	Cokelat kehitaman	1	Kuning	52
			DA45	<i>Acaulospora</i> sp.5	Cokelat kehitaman	1	Kuning	32
			DA5	<i>Acaulospora</i> sp.5	Cokelat kehitaman	1	Kuning	25
			DA31	<i>Glomus</i> sp. 2	Cokelat kehitaman	2	Kuning pucat	22
			DA34	<i>Glomus</i> sp. 2	Cokelat kehitaman	1	Kuning pucat	52
			DA44	<i>Glomus</i> sp. 2	Cokelat kehitaman	1	Kuning pucat	32
			DA12	<i>Glomus</i> sp.2	Cokelat kehitaman	2	Kuning pucat	36
			DA14	<i>Glomus</i> sp.2	Cokelat kehitaman	1	Kuning pucat	36
			DA16	<i>Glomus</i> sp.2	Cokelat kehitaman	2	Kuning pucat	36
JE	7	3	DA53	<i>Glomus</i> sp.2	Cokelat kehitaman	2	Kuning pucat	32
			JE3	<i>Acaulospora</i> sp.1	Cokelat kehitaman	1	Kuning	33
ME	8	1	JE5	<i>Acaulospora</i> sp.1	Cokelat kehitaman	2	Kuning	33
			JE9	<i>Glomus</i> sp.11	Kuning keemasan	1	kuning pucat	36
PL	22	6	ME4	<i>Glomus</i> sp.2	Cokelat kehitaman	1	Kuning pucat	22
			PK10	<i>Glomus</i> sp. 6	Hitam	2	Cokelat pucat	30
			PK22	<i>Glomus</i> sp. 3	Cokelat kemerahan	32	Kuning	19
			PK24	<i>Glomus</i> sp. 11	Kuning keemasan	2	Kuning pucat	11
			PK5	<i>Glomus</i> sp. 6	Hitam	1	Cokelat pucat	50
			PK6	<i>Glomus</i> sp. 6	Hitam	1	Cokelat pucat	25
			PK7	<i>Glomus</i> sp. 6	Hitam	1	Cokelat pucat	11
			PL1	<i>Glomus</i> sp. 6	Hitam	4	Cokelat pucat	46
			PL4	<i>Glomus</i> sp. 6	Hitam	1	Cokelat pucat	25
			PL5	<i>Glomus</i> sp. 6	Hitam	2	Cokelat pucat	25
SA	5	1	SA1	<i>Glomus</i> sp.2	Cokelat kehitaman	3	Kuning pucat	13
			SE3	<i>Glomus</i> sp. 2	Cokelat kehitaman	3	Kuning pucat	72
SE	8	3	SE6	<i>Glomus</i> sp. 3	Cokelat kemerahan	3	Cokelat	80
			SE9	<i>Glomus</i> sp. 3	Cokelat kemerahan	1	Cokelat	39



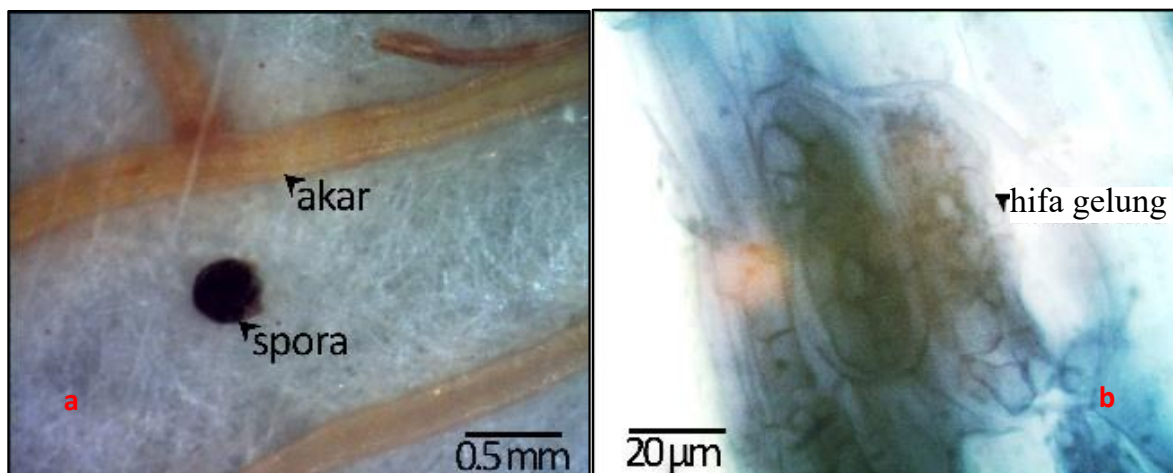
Gambar 1. Kultur spora tunggal *Glomus* sp.11 (JE9) dan struktur kolonisasinya pada akar *P. javanica* umur 3 bulan setelah inokulasi, (a) spora *Glomus* sp.11 yang diinokulasikan pada akar tanaman *P. javanica*, (b) hifa internal, (c) hifa gelung, dan (d) vesikula



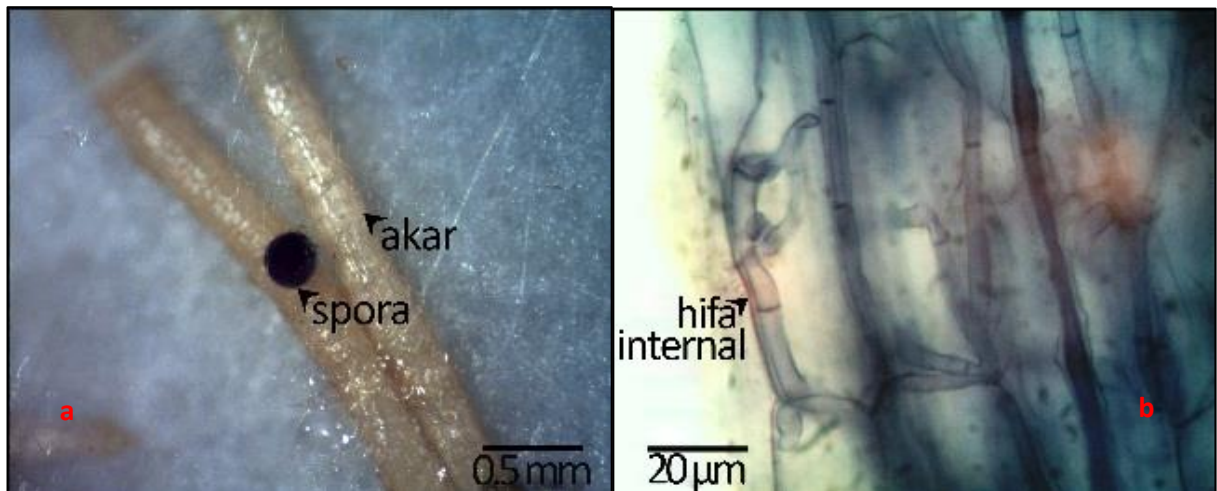
Gambar 2. Kultur spora tunggal *Glomus* sp.2 (DA12) dan struktur kolonisasinya pada akar *P. javanica* umur 3 bulan setelah inokulasi, (a) spora *Glomus* sp.2 yang diinokulasikan pada akar tanaman *P. javanica*, (b) hifa internal dan hifa penetrasi, (c) hifa gelung



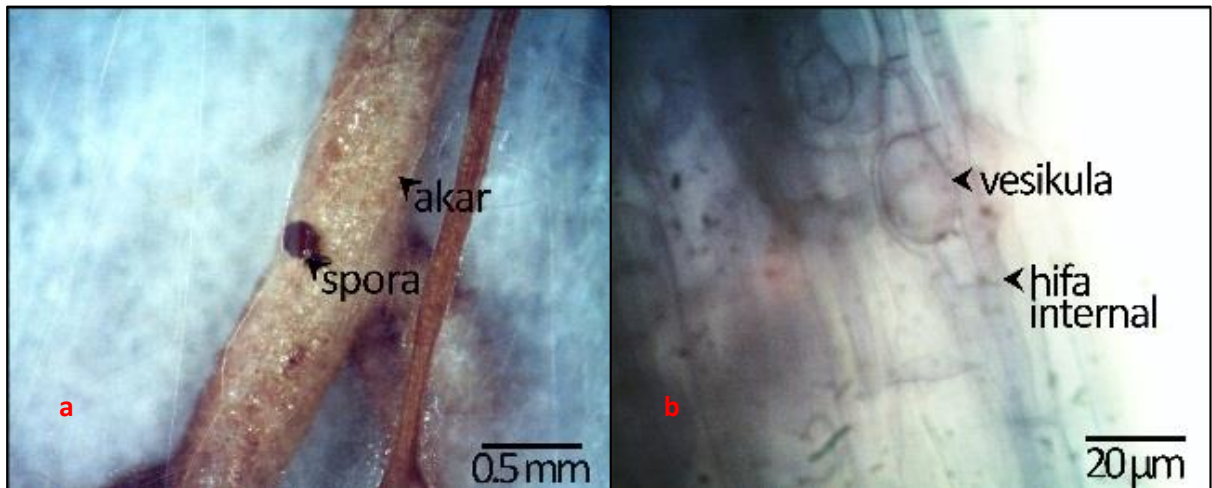
Gambar 3. Kultur spora tunggal *Glomus* sp.3 (SE9) dan struktur kolonisasinya pada akar *P. javanica* umur 3 bulan setelah inokulasi, (a) spora *Glomus* sp.3 yang diinokulasikan pada akar tanaman *P. javanica*, (b) hifa internal, dan (c) hifa gelung



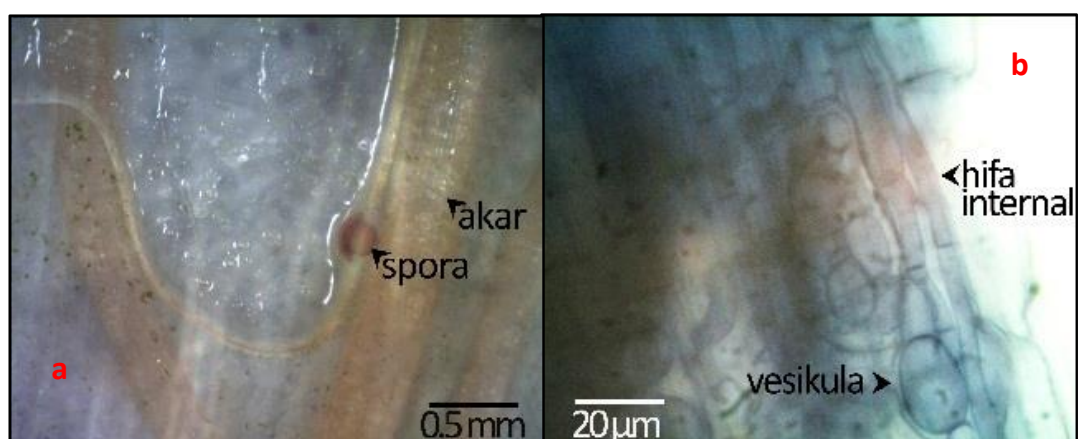
Gambar 4. Kultur spora tunggal *Glomus* sp.6 (PL1) dan struktur kolonisasinya pada akar *P. javanica* umur 3 bulan setelah inokulasi, (a) spora *Glomus* sp.6 yang diinokulasikan pada akar tanaman *P. javanica*, (b) hifa gelung



Gambar 5. Kultur spora tunggal *Acaulospora* sp.5 (DA30) dan struktur kolonisasinya pada akar *P. javanica* umur 3 bulan setelah inokulasi, (a) spora *Acaulospora* sp.5 yang diinokulasikan pada akar tanaman *P. javanica*, (b) hifa internal



Gambar 6. Kultur spora tunggal *Acaulospora* sp.1 (JE3) dan struktur kolonisasinya pada akar *P. javanica* umur 3 bulan setelah inokulasi, (a) spora *Acaulospora* sp.1 yang diinokulasikan pada akar tanaman *P. javanica*, (b) hifa internal dan vesikula



Gambar 7. Kultur spora tunggal *Acaulospora* sp.4 (BE8) dan struktur kolonisasinya pada akar *P. javanica* umur 3 bulan setelah inokulasi, (a) spora *Acaulospora* sp.4 yang diinokulasikan pada akar tanaman *P. javanica*, (b) hifa internal dan vesikula

tahap lanjut terbentuk struktur vesikula. Arbuskula yang terbentuk umumnya ialah tipe Paris dan hifa interseluler terbentuk secara intensif (Gambar 1-7). Proses selanjutnya ialah ekstensifikasi produksi miselia eksternal di dalam media zeolit.

Setelah kolonisasi akar terbentuk dengan baik, beberapa kultur mengalami sporulasi yaitu pembentukan spora CMA baru. Dari 113 kultur yang terdiri dari 18 spesies yang dikulturkan, terdapat 30 kultur yang terdiri dari 7 spesies CMA yang berhasil membentuk simbiosis dan menghasilkan spora baru. Kultur CMA yang berhasil bersporulasi ialah genus *Glomus* dan *Acaulospora* yaitu *Acaulospora* sp.1, *Acaulospora* sp.4, *Acaulospora* sp.5, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3, *Glomus* sp.6, dan *Glomus* sp.11 (Gambar 1-7, Tabel 2 dan 3). Persentase spora CMA yang berhasil tumbuh dan berkembang dengan baik melalui kultur spora tunggal pada penelitian ini ialah sebesar 38,88% dari seluruh jenis spora yang diperoleh dan dikulturkan. Seluruh kultur spora tunggal yang menghasilkan jumlah spora baru terbanyak ialah kultur *Glomus* sp.6 PK22, dengan jumlah spora yang dihasilkan sebanyak 32 pada umur kultur 3 bulan setelah inokulasi. Spora baru kultur *Glomus* sp.6 PK22 memiliki ciri berwarna coklat kemerahan, bentuk bulat, permukaan halus dan tidak bereaksi dengan Meltzer's (Tabel 3). Jumlah spora yang dihasilkan dari kultur spora tunggal dari spesies CMA lainnya yaitu antara 2 sampai 6 spora pada umur kultur 3 bulan setelah inokulasi.

PEMBAHASAN

Mikoriza arbuskula ialah simbiosis obligat yang hidupnya bergantung pada akar tumbuhan hidup, dan kolonisasi akar dilakukan oleh propagul cendawan yaitu spora, miselium atau akar yang telah terkolonisasi cendawan (Lee *et al.* 2013; Giovannini *et al.* 2020; Buck *et al.* 2018). Spora cendawan juga merupakan struktur penting dalam identifikasi CMA. Siklus hidup CMA dimulai dari perkecambahan spora di dalam tanah pada kondisi lingkungan yang sesuai. Spora merupakan struktur yang sangat penting dalam simbiosis mikoriza arbuskula.

Spora CMA yang diperoleh dari penelitian ini memiliki jumlah spora dengan kisaran yang sama dengan yang dilaporkan oleh Tuheteru *et al.* (2020) yaitu antara 34 sampai 206 spora/100 gram tanah, dan berada dalam rentang jumlah spora yang dilaporkan oleh Widiastuti (2004) yang menemukan 1-474 spora/100 gram pada tanah rizosfer kelapa sawit. Namun jumlah spora yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah dari populasi spora *Glomus* sp.1, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3, dan *Funneliformis* cf. *mosseae* yang dilaporkan oleh Husna *et al.* (2022). Produksi spora diantaranya dipengaruhi oleh spesies CMA, spesies tumbuhan inang, sifat fisik dan kimia tanah

termasuk kesuburan tanah, kehadiran mikroba lain dalam tanah, dan iklim (Puspitasari 2005; Spruyt *et al.* 2014; Souza 2015; Velazquez *et al.* 2020). Tumbuhan inang pada penelitian ini ialah tumbuhan berkayu yang memiliki sifat pertumbuhan lebih lama dibandingkan dengan tanaman semusim seperti jagung, kedelai dan shorgum.

Spora cendawan MA yang berhasil diidentifikasi pada penelitian ini didapatkan 18 tipe spora yang terdiri atas 5 tipe *Acaulospora* dan 13 tipe *Glomus*. Tingkat keragaman spora pada penelitian ini lebih tinggi, dibandingkan dengan hasil penelitian Novera (2008) yang menemukan 13 tipe spora cendawan MA, yaitu terdiri atas 10 tipe *Glomus*, 2 tipe *Scutelospora*, dan 1 tipe *Gigaspora* pada tanah bekas lahan tambang timah. Perbedaan tingkat keragaman ini karena contoh tanah yang digunakan pada penelitian ini diambil dari rizosfer tumbuhan pada umur yang lebih tua yaitu umur 7 tahun sehingga tipe spora yang didapatkan lebih tinggi pada tingkat spesies. Selain terdapat perbedaan dalam jumlah spesies atau tipe spora juga dijumpai perbedaan pada tingkat genus.

Glomus spp. ialah genus terbanyak dijumpai pada semua rizosfer tanaman berkayu pada penelitian ini. Hal ini sesuai dengan hasil yang dilaporkan oleh Zhu *et al.* (2020) yang melakukan penelitian tentang keragaman CMA pada lahan pertanian di Cina, dan Fradejas *et al.* (2022) di lahan pertanian di Mediterania. *Glomus* juga dilaporkan memiliki penyebaran inang tanaman buah-buahan yang luas, seperti diantaranya ditemukan pada rizosfer tanaman durian di Bogor (Chairani *et al.* 2002), rambutan di Bogor (Muliawan *et al.* 2002), manggis dari tujuh lokasi di Indonesia, yaitu Lombok Barat, Medan, Trenggalek, Purworejo, Leuwiliang, Tasikmalaya, dan Purwakarta (Lucia 2005), pisang dan tomat di Jambi (Duaja dan Jasminarni 2008), dan jambu-jambuan (*Syzygium* sp.) di Sorowako, Sulawesi Selatan (Setiadi dan Setiawan 2011). Hal ini disebabkan karena *Glomus* mempunyai keragaman genetik yang luas, dan memiliki kemampuan mengkolonisasi akar dengan miselia dan akar yang terkolonisasi CMA sehingga dapat bertahan hidup dan berpropagasi dengan mudah (Zhu *et al.* 2020). Selain itu, umumnya memiliki dinding tebal yang mengandung melanin sehingga lebih mampu bertahan hidup dari kondisi lingkungan yang kurang baik (Hetrick 1984). Lebih lanjut Allen dan Cunningham (1983), Pond *et al.* (1984), serta Ragupathy dan Mahadevan (1991) melaporkan bahwa *Glomus* lebih beradaptasi dibandingkan genus yang lain terhadap kisaran keadaan lingkungan yang luas. Selain itu, menurut Ocampo *et al.* (1986), respon setiap individu cendawan MA terhadap perubahan lingkungan seperti halnya musim dipengaruhi oleh faktor intrinsik dari spesiesnya. Kemungkinan

lain ialah beberapa genus cendawan MA terbatas penyebarannya, sehingga kemungkinan genus spora yang ditemukan pada suatu jenis tanah di wilayah dalam waktu tertentu diduga tidak mewakili seluruh spora yang terdapat di daerah tersebut.

Jumlah kultur spora tunggal yang berhasil membentuk spora-spora baru relatif rendah. Hal ini diduga selama penelitian semua kultur mendapatkan larutan hara dalam rasio dan jumlah yang sama, begitu juga komposisi dan konsentrasi hara yang diberikan belum merupakan komposisi dan konsentrasi terbaik bagi proses pembentukan spora. Setiap spesies cendawan MA membutuhkan rasio dan jumlah hara yang berbeda (Smith dan Read 2008).

Tipe spora yang berhasil tumbuh dan berkembang baik melalui kultur spora tunggal sebanyak 7, terdiri atas tipe spora *Acaulospora* sp.1, *Acaulospora* sp.4, *Acaulospora* sp.5, *Glomus* sp.2, *Glomus* sp.3, *Glomus* sp.6, dan *Glomus* sp.11. Dalam penelitian ini genus *Glomus* tumbuh dengan baik, menghasilkan jumlah spora baru terbanyak dikarenakan spora *Glomus* merupakan spora yang lebih cepat berkecambah dibandingkan spora *Acaulospora*, dengan kecepatan berkecambah 11 hingga 87 hari (Tabel 3). Struktur MA yang terdapat di dalam korteks pada tanaman inang dalam penelitian ini terdiri atas struktur hifa internal, vesikula, dan arbuskula. Arbuskula yang dijumpai merupakan tipe Paris merujuk pada Smith dan Read (2008). Tipe Paris ialah tipe arbuskula yang dibentuk dari hifa gelung yang intensif di dalam sel korteks akar (Dickson 2004).

Tumbuhan berkayu asal pulau Bangka, yaitu *Agathis dammara*, *Aporosa actandra*, *Callophyllum* sp., *Dyera costulata*, *Eugenia lineata*, *Eugenia* sp., *Melastoma malabathrichum*, dan *Microcos tomentosa* berumur 7 tahun yang ditumbuhkan dalam pot di rumah kaca pada media lahan bekas tambang bersimbiosis membentuk mikoriza arbuskula yang menghasilkan spora beragam dan dapat diisolasi dan dikulturkan menggunakan kultur spora tunggal dengan inang *P. javanica*. Dalam kolonisasinya CMA tidak memiliki spesifisitas, namun keragaman dan produktivitas spora CMA dipengaruhi oleh inangnya. Rizosfer *Agathis damara* memiliki keragaman spora tertinggi sedangkan *Callophyllum* sp. memiliki jumlah spora paling tinggi (Tabel 2). Media tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini ialah tanah asal lahan pasca tambang sehingga memiliki rizosfer yang sama dengan kondisi di lapangan di area pasca tambang.

Keberhasilan dalam pembuatan kultur spora tunggal menunjang tersedianya koleksi kultur CMA indigenus Indonesia asal tumbuhan berkayu yang dapat digunakan untuk konservasi dan pemanfaatannya sebagai pupuk hayati dalam bidang pertanian dan kehutanan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT. Koba Tin, Kabupatn Bangka Tengah, Provinsi Bangka Belitung yang telah memberikan izin pengambilan sampel untuk penelitian dan PPSHB-IPB yang telah memberikan fasilitas rumah kaca.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd-Ellatif SA, Rahman RAA, Mazen MBH, El-Enany AE, Allam N. 2012. Biotechnological Aspects for VAM aseptic mass production. *World Applied Sciences Journal*. 17:20-28.
- Allen EB, Cunningham 1983. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae on *Distichlis spicata* under three salinity levels. *New phytol*. 93:227-236 <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1983.tb03427.x>
- Bago B, Pfeffer PE, Shachar-Hill Y. 2000. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiology*. 124:949-957. <https://doi.org/10.1104/pp.124.3.949>
- Buck MT, Straker CJ, Mavri-Damelin D, Weiersbye. 2018. Diversity of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi colonising roots of indigenous *Vachellia* and *Senegalia* trees on gold and uranium mine tailings in South Africa. *South African Journal of Botany*. 121:34-44. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.10.014>
- Brundrett MC, Bougher N, Dell B, Grove T, Malajczuk N. 2008. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. CSIRO Forestry and Forest Product. CSIRO Centre for Mediterranean Agricultural Research Wembley, WA. Bernie Dell. Murdoch University. Murdoch, WA.
- Chairani, Gunawan AW, Kramadibrata K. 2002. Mikoriza durian di Bogor dan sekitarnya. *J Mikrobiol Indones*. 7:44-46.
- Dickson S. 2004. The arum-paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytol*. 163:187-200. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01095.x>
- Duaja MD, Jasminarni. 2008. Isolasi dan karakterisasi cendawan mikoriza arbuskular di rizosfer beberapa jenis tanaman di kebun percobaan Fakultas Pertanian, Universitas Jambi. *J Agron*. 12:34-38.
- Giovannini L, Palla M, Agnolucci M, Avio L, Sbrana C, Turrini A, Giovannetti M. 2020. Arbuscular mycorrhizal fungi and associated microbiota as plant biostimulants: Research strategies for the selection of the best performing inocula. *Agronomy*. 10:1-14. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010106>
- Hetrick BAD. 1984. Ecology of VA mycorrhizal fungi. Di dalam: Powell CL, Bagyaraj, editor. VA Mycorrhiza. Florida (US): CRC Pr.
- Husna, Tuheteru FD, Albasri, Arif A, Basrudin, Nurdin WR, Arman E, Agustin DI, Saribadu J, Rahmat, Dermawansyah A, Daliana, Lody LP, Deri AS, Safitri I. 2022. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi of *Kalappia celebica*: an endemic and endanger plant species in Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas*. 23:5290-5297. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d231038>
- Khastini RO, Sukarno N, Suharsono UW, Hashidoko Y. 2022. Isolasi dan respon tumbuh cendawan mutualistic akar pada beberapa tanaman pangan dan kehutanan. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 27:85-94. <https://doi.org/10.18343/jipi.27.1.85>

- Kruger M, Stockinger H, Kruger C, Schubler A. 2009. DNA-based species level detection of *Glomeromycota*: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 183:212-223. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02835.x>
- Lee EH, Eo JK, Ka KH, Eom AH. 2013. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their roles in ecosystems. *Mycobiology.* 41:121-125. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2013.41.3.121>
- Lucia Y. 2005. Cendawan mikoriza arbuskula di bawah tegakan tanaman manggis dan peranannya dalam pertumbuhan bibit manggis (*Garcinia mangostana* L.) [Tesis]. Bogor, Indonesia: Institut Pertanian Bogor.
- Mansur I. 2000. Diversity of rhizobia nodulating tree legumes *Acacia mangium* and *Paraserinthes falcataria* and their interaction with mycorrhizal fungi and young seedling [Disertasi]. Canterbury, US: University of Kent.
- Muliawan J, Gunawan AW, Kramadibrata K. 2002. Mikoriza rambutan di Bogor dan sekitarnya. *J Mikrobiol Indones.* 7:24-25.
- Novera Y. 2008. Analisis Vegetasi, Karakteristik Tanah dan Kolonisasi Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) pada Lahan Bekas Tambang Timah di Pulau Bangka. [Thesis]. Bogor, Indonesia: Institut Pertanian Bogor.
- Ocampo JA, FL Cardona, F El-Atrach. 1986. Effect of root extracts of non host plants on VA mycorrhizal infection and spore germination. Di dalam: Gianinazzi-Pearson V dan Gianinazzi S (Eds.). *Physiological and genetical aspect of mycorrhizae. Proceed. on the 1st European Symposium on Mycorrhizae.* p 721-724.
- Fradejas GG, de Leon DG, Vasar M, Koorem K, Zobel M, Opik M, Moora M, Benayas JMR. 2022. Hedgerows increase the diversity and modify the composition of arbuscular mycorrhizal fungi in Mediterranean agricultural landscapes. *Mycorrhiza.* 32:397-407. <https://doi.org/10.1007/s00572-022-01090-5>
- Puspitasari RT. 2005. Keanekaragaman cendawan mikoriza arbuskula (CMA) di hutan Pantai Ujung Genteng, Sukabumi-Jawa Barat [Tesis]. Bogor, Indonesia: Institut Pertanian Bogor.
- Phillips JM, Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment for infection. *Trans Br Mycol Soc.* 55:158-161. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3)
- Piliarova M, Ondreichkova K, Hudcovicova M, Mihalik D, Kraic J. 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi-their life and function in ecosystem. *Agriculture (Polnohospodarstvo).* 5:3-15. <https://doi.org/10.2478/agri-2019-0001>
- Pond EC, JA Menge, WM Jarrell. 1984. Improved growth of tomato in salinized soil by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi collected from saline soils. *Mycologia.* 76:74-84. <https://doi.org/10.1080/00275514.1984.12023811>
- Ragupathy S, A Mahadevan. 1991. VAM distribution influenced by salinity gradient in a coastal tropical forest. Di dalam: Soerianegara and Supriyanto (Eds.). *Proceed. of second Asian Conference on Mycorrhiza. BIOTROP Special Publication. No. 42 SEAMEO BIOTROP Bogor.* p 91-97.
- Schenck NC, Pérez Y. 1990. Manual for The Identification of VA Mycorrhizal Fungi. Ed ke-3. Gainesville: Synergistic Publications.
- Setiadi Y, Setiawan A. 2011. Studi status fungi mikoriza arbuskula di areal rehabilitasi pasca penambangan nikel (Studi kasus PT INCO Tbk, Sorowako, Sulawesi Selatan). *J Silvikul Trop.* 3:88-95.
- Smith SE, Read DJ. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Ed ke-3. New York: Academic Pr.
- Souza T. 2015. Handbook of arbuscular mycorrhizal fungi. London: Springer International Publishing Switzerland. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24850-9>
- Spruyt A, Buch MT, Mia A, Straker CJ. 2014. Arbuscular mycorrhiza (AM) status of rehabilitation plants of mine wastes in South Africa and determination of AM fungal diversity by analysis of the small subunit rRNA gene sequences. *South African Journal of Botany.* 94:231-237. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.07.006>
- Strullu-Drien C, Selosse M-A, Kenrick P, Martin FM. 2018. The origin and evolution of mycorrhizal symbioses: from palaeomycology to phylogenomics. *New Phytologist.* 220:1012-1030. <https://doi.org/10.1111/nph.15076>
- Tuheteru FD, Husna, Albasri, Arif A, Kramadibrata K, Soka G. 2020. Composition and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi spore associated with different land-use types in tropical gold mine. *Journal of Degraded and Mining Lands Management.* 8:2503-2512. <https://doi.org/10.15243/jdmlm.2020.081.2503>
- Velazquez MS, Fabisik JC, Barrera M, Allegrucci N, Valdes FE, Abarca CL, Cabello M. 2020. Diversity and abundance of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*) associated with *Ilex paraguarensis* in Northeastern Argentina. *Rev. Biol. Trop.* 68:1231-1240. <https://doi.org/10.15517/rbt.v68i4.41543>
- Widiastuti H. 2004. Biologi interaksi cendawan mikoriza arbuskula kelapa sawit pada tanah masam sebagai dasar pengembangan teknologi aplikasi dini [Disertasi]. Bogor, Indonesia: Institut Pertanian Bogor.
- Zhu X, Yang W, Song F, Li X. 2020. Diversity and composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities in the cropland black soils of China. *Global Ecology and Conservation.* 22:1-4. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e00964>