

Perbanyak *Gigaspora* sp. dan *Acaulospora* sp. dengan Kultur Pot di Rumah Kaca

Propagation of *Gigaspora* sp dan *Acaulospora* sp by pot culture in a green house

SITI CHALIMAH¹ ♥, MUHADIONO², LATIFAH AZNAM², SAID HARAN², NURITA TORUAN-MATHIUS³

¹FPMIPA IKIP PGRI Tuban/Mahasiswa Prog.Studi Biologi, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor

²Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor

³SEAMEO BIOTROP Bogor/ Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor

Diterima: 21 Juli 2006. Disetujui: 27 Desember 2006.

ABSTRACT

Spore production of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) was usually carried out in pot culture with sorghum and *P. phaseoloides* as host plants. Host plant, genotype of AMF, and growth container are important factors for AMF spores production. The objectives of this research were to observe (i) the effect of growth container, AMF species, and host plants on spore production of *G. margarita* and *A. tuberculata*, (ii) the effect of those combinations on spore productions, and (iii) the compatibility of host plant-AMF interaction on spore production. The experiment was conducted in green house condition, *G. margarita* and *A. tuberculata* were cultured in Petri dish and colored glass plastic pot containing zeolith as a carrier with sorghum and *P. phaseoloides*, as host plants. Completely Randomized Design with Factorial 2x2x2x5 was used in this experiment. The results showed that spore production increased in line with the increase of host plant age. The highest spore number was obtained from *G. margarita* with *P. phaseoloides* as host plant producing 155 spores/50 g inoculum, on the other hand spore production of *A. tuberculata* with *P. phaseoloides* as host was 161 spores/50 g inoculum. The average root infection occurred in 5 month old host plant i.e. around 90 % in 5-month-old host plant. The best container for inoculum production is the coloured plastic pot, however Petri dish considered as the best growth container for producing uniform spores and the contamination of other spores could be inhibited. Based on the result it could be concluded that sorghum and *P. phaseoloides*, can be further developed as host plants for mass production of *Gigaspora margarita* and *Acaulospora tuberculata* spores.

© 2007 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: *Pueraria phaseoloides*, sorghum, *Gigaspora margarita*, *Acaulospora tuberculata*, pot culture, AMF production.

PENDAHULUAN

Hal penting untuk diperhatikan dalam perbanyak inokulum adalah inang kompatibel, tempat tumbuh, dan lingkungan. Hal tersebut penting dipertimbangkan karena cendawan mikorhiza arbuskula (CMA) bersifat obligat, dan kebutuhan masing-masing CMA terhadap faktor tersebut tidak selalu sama. Menurut Bagyaraj (1992) perbanyak inokulum harus mempunyai daya infeksi dan efektivitas tinggi, kolonisasi akar inang cepat dan menghasilkan spora banyak. CMA tidak memilih inang spesifik, semua tanaman berpotensi terinfeksi, namun tingkat infeksi dan efektivitas berbeda setiap asosiasi inang dan CMA. Bakhtiar (2002) menyatakan bahwa meskipun CMA menginfeksi dan mengkolonisasi akar berbagai spesies tanaman, namun ada yang lebih disukai dengan memperlihatkan respon kolonisasi akar maksimum.

Spora merupakan inokulum utama CMA, namun akar bermikorhiza dan ekstradikal hifa dapat digunakan sebagai inokulum (Smith & Read 1997). Tidak semua CMA mampu menggunakan tiga jenis inokulum tersebut, tergantung perbedaan siklus hidup dan lingkungan. Klironomos & Hart

(2002) menyatakan bahwa inokulum *Gigaspora* berupa spora, sedang inokulum *Acaulospora* dan *Glomus* berupa spora, akar bermikorhiza dan ekstradikal hifa.

Widiastuti (2004) menyatakan bahwa perbanyak CMA *indigenous* (setempat) di bawah tegakan kelapa sawit menggunakan tanaman inang *P. phaseoloides*, dan sorghum. Perbanyak spora menggunakan sorghum memperlihatkan hasil lebih rendah bila dibandingkan dengan inang *P. phaseoloides*. Namun pada *trapping* (memperbanyak inokulum dari lapang) menggunakan kedua inang tersebut menunjukkan hasil yang sama. Fenomena tersebut menunjukkan bahwa kedua inang kompatibel untuk perbanyak CMA dari tegakan kelapa sawit secara *in vivo* (konvensional).

Persediaan energi untuk pertumbuhan CMA diperoleh dari hasil fotosintat tanaman. Manfaat yang diperoleh tumbuhan tergantung kedua simbiosis tersebut (tanaman dan CMA), dan karakteristik lingkungan (Bever 2002, Heijden 2002). Pemanfaatan CMA untuk pertanian dan perkebunan berkembang pesat, oleh sebab itu CMA perlu dikembangkan dan diperbanyak secara masal. Kolonisasi dan sporulasi merupakan hal penting dalam perbanyak inokulum CMA. Banyak faktor berpengaruh terhadap kondisi tersebut, salah satunya adalah lama waktu inkubasi (Vaast & Zasoski 1991). Abbot & Gazey (1994) melaporkan bahwa faktor dormansi, tingkat kematangan spora, kelembapan dan inokulum berpengaruh terhadap kolonisasi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa secara tidak langsung, tempat tumbuh

♥ Alamat Korespondensi:

Jl. Manunggal No. 61, Tuban 62381
Telp.: / Fax.: + 62-356-322233
Email: edmasih@yahoo.com

merupakan salah satu faktor berpengaruh terhadap kolonisasi dan sporulasi CMA.

Bakhtiar (2002) menyatakan bahwa pemilihan inang kultur pot sangat berpengaruh terhadap sporulasi, dan infeksi akar. Pertimbangan utama untuk memilih inang adalah tanaman yang toleran terhadap lingkungan rumah kaca. CMA tidak memilih inang spesifik, tetapi CMA mampu bersimbiosis terhadap sebagian besar tanaman, bahkan ada yang menyatakan 90 % CMA bersimbiosis dengan akar tanaman termasuk Angiospermae, Gymnospermae, Pteridophyta dan Briophyta (Varma & Hock 1998). Namun daya infeksi, serta efektivitas berbeda pada setiap inang. Hanya inang yang disukai CMA, memberi tanggapan simbiotik dan kolonisasi maksimal (Bagyaraj 1992).

Beberapa inang sering digunakan untuk perbanyakan inokulum, di antaranya adalah sorghum, jewawut, kacang-kacangan, jagung, asparagus dan kapas (Menge 1984). Menurut Diop *et al.* (1994), spora dan propagul (akar berkoloni) merupakan material efektif sebagai inokulum. Selain itu akar tanaman mempengaruhi fisiologi CMA. Pemilihan inokulum dan tanaman inang merupakan kunci sukses dalam sistem kerjasama kedua organisme tersebut. Buce *et al.* (2000) menyatakan bahwa CMA mampu berkecambah secara spontan tanpa kehadiran inang, namun memutus langkah perkembangan, pertumbuhan dan berkolonisasi. Kolonisasi merupakan bentuk awal proses simbiosis terhadap akar tanaman inang. Pada umumnya sumber inokulum kultur aksenik CMA *in vivo* diperoleh dari kultur pot. Menurut Fortin *et al.* (2002), perbanyakan spora kultur pot digunakan sebagai sumber spora, selanjutnya disterilkan dan digunakan sebagai sumber inokulum steril untuk perkembangan dan perbanyakan CMA kultur aksenik secara *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan mengetahui (1) pengaruh interaksi faktor tempat tumbuh, jenis CMA dan tanaman inang, shorgum dan *P. phaseoloides*, (2) jenis tanaman simbiosis yang kompatibel untuk perbanyakan inokulum *G. margarita* dan *A. tuberculata*, (3) pengaruh tempat tumbuh terhadap perkembangan *G. margarita* dan *A. tuberculata* (4) pengaruh lama waktu inkubasi terhadap perbanyakan inokulum *G. margarita* dan *A. tuberculata* terbaik di rumah kaca.

BAHAN DAN METODE

Pelaksanaan penelitian di laboratorium dan di rumah kaca Biomolekuler dan Rekayasa Genetik, Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia (BPBPI) dari bulan Oktober 2003 –Juli 2004. Penelitian terdiri beberapa tahap, yaitu, (1) pengaruh interaksi tempat tumbuh, jenis CMA dan tanaman inang, (2) penyediaan inokulum *G. margarita* dan *A. tuberculata*, (3) inokulasi *G. margarita* dan *A. tuberculata* pada tanaman inang.

Rancangan percobaan digunakan Rancangan Acak Lengkap dengan faktorial lima ulangan, $2 \times 2 \times 2 \times 5$. Faktor pertama adalah tempat tumbuh tanaman inang terdiri dua macam, yaitu cawan Petri plastik dan gelas plastik berwarna. Faktor kedua adalah jenis inokulum, yaitu *G. margarita* dan *A. tuberculata*. Faktor ketiga adalah jenis inang, yaitu sorghum dan *P. phaseoloides*, dengan ulangan lima kali. Analisis data hasil penelitian dengan ANOVA, sedang simpulan diambil berdasarkan uji F. Apabila hasil uji F tersebut menunjukkan beda nyata atau beda sangat nyata antar perlakuan, maka pengujian dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT) tingkat kepercayaan 95 % ($P < 0,05$).

Pengaruh interaksi tempat tumbuh, jenis CMA dan inang

Tanaman inang yang digunakan adalah sorghum dan *P. phaseoloides*, jenis CMA *G. margarita* dari koleksi laboratorium Mikrobiologi dan Bioproses BPBPI di Bogor dan *A. tuberculata* diperoleh dari PT. Inagro Parung. Perbanyakan CMA dilakukan subkultur menggunakan inang *P. phaseoloides*, dan sorghum ditumbuhkan di dalam gelas plastik warna dan cawan Petri plastik di rumah kaca.

Benih tanaman dicuci, dan diseleksi, selanjutnya benih direndam dalam air, benih yang terapung dibuang, dan benih yang tenggelam direndam akuades steril selama 5 jam. Selanjutnya benih disterilkan dengan NaOCl_2 1,56 % (Bayclin 30 %) selama 10 menit, dicuci air mengalir, direndam fungisida selama 5 menit, dicuci dengan akuades steril, dan direndam selama 5 jam. Benih steril selanjutnya dikecambahkan di kotak mika transparan. Benih yang berkecambah dan tumbuh dua daun, ditanam pada cawan Petri plastik dan gelas plastik warna yang berisi medium zeolit, sebagai perlakuan, dan diinokulasi dengan CMA uji.

Penyediaan inokulum G. margarita dan A. tuberculata

Penyaringan CMA menggunakan metode tuang saring basah (Pacioni 1992), dan dilanjutkan metode sentrifugasi (Brundrett *et al.* 1994). Zeolit dihomogenkan, diambil sampel 50 g media, diaduk dalam air 200–300 ml, kemudian disaring dengan satu set saringan secara berurutan dari atas ke bawah paling besar berukuran 1000 μm , 250 μm dan 45 μm . Partikel tertinggal pada saringan berukuran 250 dan 45 μm disentrifus berkecepatan 2.000-2.500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, tabung diisi larutan gula 50 %, disentrifugasi kecepatan dan waktu yang sama. Lapisan antara gula dan air diambil dituang dalam saringan berukuran 45 μm , selanjutnya dicuci air mengalir sampai larutan gula hilang, CMA siap digunakan sebagai inokulum.

Inokulasi G. margarita dan A. tuberculata pada tanaman inang

Sebelum spora *G. margarita* dan *A. tuberculata* digunakan, diseleksi berdasarkan bentuk, ukuran dan warna spora seragam. Tempat tumbuh tanaman inang berupa cawan Petri diisi 150 g zeolit, sedang tempat tumbuh gelas plastik berwarna diisi 250 g zeolit. Cawan Petri diberi lubang berdiameter 2 cm tepat di bagian tengah berfungsi tempat keluar tanaman inang sehingga dapat tumbuh dengan baik. Untuk tempat tumbuh gelas berwarna diberi lima buah lubang di bagian bawah berfungsi untuk penyerapan air.

Kecambah tanaman inang ditanam pada cawan Petri plastik dan diinokulasi CMA, selanjutnya ditutup dan diikat lakban agar cawan Petri plastik tidak terbuka. Ujung akar lateral tanaman inang diinokulasi *G. margarita* dan *A. tuberculata*, masing-masing sebanyak 10 spora untuk cawan Petri plastik dan 20 spora untuk gelas plastik warna. Selanjutnya masing-masing perlakuan disusun dalam bak diisi air. Penyiraman dilakukan dengan menambahkan air sebanyak 1 l ke dalam setiap bak setiap 2 hari dan dibiarkan selama 45 hari tanpa pemupukan (*stress*). Setelah kultur berumur lebih 45 hari dilakukan pemupukan setiap minggu dengan hiponeks merah sebanyak 1,5 g/l.

Pengaruh perlakuan diukur pada tanaman berumur 3, 4 dan 5 bulan setelah tanam. Pengumpulan data tanaman berumur 4 bulan dilakukan dengan memetik daun tua. Sedang pengumpulan data tanaman umur 5 bulan, 15 hari sebelum dipanen, bagian atas tanaman dipangkas dan disisakan 5-10 cm dari permukaan media, kemudian air dikeringkan. Peubah diamati adalah biomasa tanaman, nisbah pucuk akar, jumlah dan persentase infeksi akar, serta perubahan struktur CMA pada akar secara histologi menggunakan metode Koske & Gema (1989) dalam Ezawa *et al.* (2002 dengan modifikasi

lama waktu. Penghitungan spora, dilakukan melalui teknik tuang saring menurut Pacioni (1992), dilanjutkan metode sentrifugasi sebanyak 50 g medium (Brundrett *et al.* 1994). Hasil saringan dituang ke dalam cawan Petri, kemudian dihitung di bawah mikroskop binokuler.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh interaksi tempat tumbuh, jenis CMA dan tanaman inang

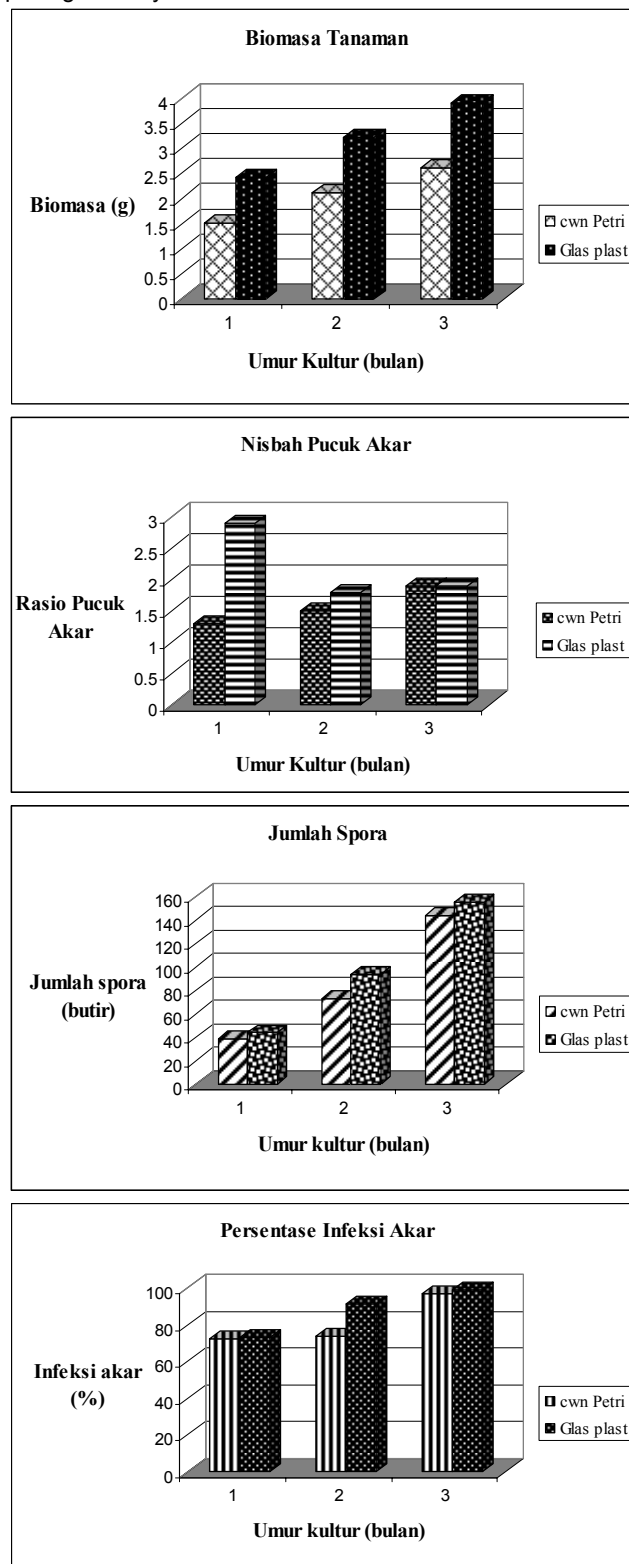
Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pengaruh tempat tumbuh, jenis inang, dan jenis CMA berbeda nyata terhadap peubah biomasa, nisbah pucuk akar, jumlah spora dan infeksi akar. Biomasa tertinggi diperoleh tanaman inang sorghum ditanam pada gelas plastik berwarna, baik diinokulasi *G. margarita* maupun *A. tuberculata*, dan meningkat dengan bertambahnya umur tanaman. Nisbah pucuk akar menunjukkan keseimbangan pertumbuhan dimulai umur tanaman 4–5 bulan, sedang nisbah pucuk akar tertinggi umur 3 bulan pada tanaman *P. phaseoloides*, diinokulasi *A. tuberculata*. Jumlah spora dan persentase infeksi akar menunjukkan peningkatan, sejalan dengan meningkatnya umur tanaman inang. Jumlah spora jenis *G. margarita* dan *A. tuberculata* tertinggi diperoleh inang *P. phaseoloides*, dikultur gelas plastik warna, umur 5 bulan setelah tanam, demikian pula hasil infeksi akar. (Gambar 1 A, B, C dan D)

Pengaruh faktor tempat tumbuh menunjukkan perbedaan yang nyata pada masing masing peubah umur 3, 4 dan 5 bulan, kecuali nisbah pucuk akar dan infeksi akar umur tanaman 5 bulan. Biomasa, jumlah spora dan infeksi akar meningkat sejalan meningkatnya umur tanaman. Sedang nisbah pucuk akar menunjukkan pertumbuhan seimbang dengan meningkatnya umur tanaman. Jenis CMA dan tanaman menunjukkan kecenderungan yang sama pengaruh masing-masing faktor terhadap semua peubah yang diamati (Gambar 1; 3.2; 3.3, A,B,C dan D)

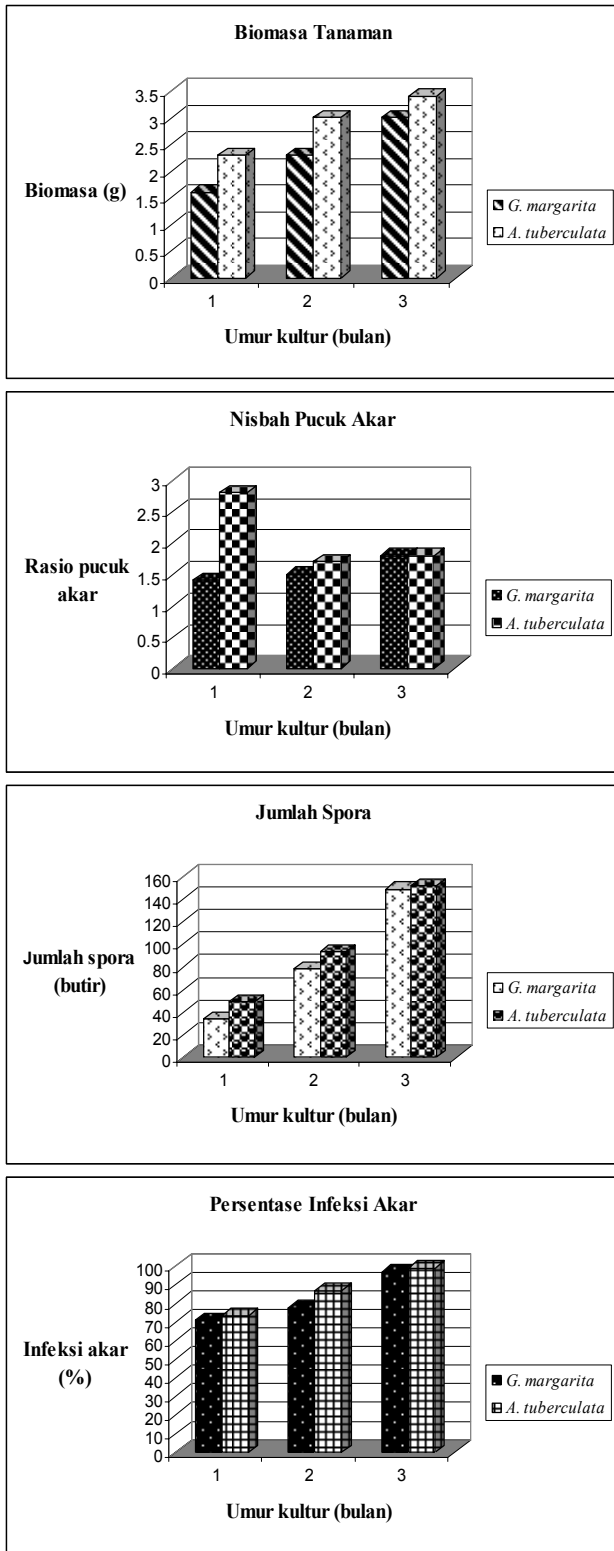
Hasil analisis interaksi pengaruh tempat tumbuh cawan Petri plastik dan gelas plastik terhadap peubah (Biomassa, nisbah pucuk akar, jumlah spora dan persentase infeksi akar) menunjukkan perbedaan yang nyata, pada umur 3, 4 dan 5 bulan setelah tanam (Tabel 1.). Jenis CMA berpengaruh nyata terhadap biomasa tanaman, nilai nisbah pucuk akar, jumlah spora dan persentase infeksi akar umur 3, 4 dan 5 bulan setelah tanam, kecuali infeksi akar umur 5 bulan setelah tanam (Tabel 1). Jenis inang sorghum dan *P. phaseoloides*, berpengaruh nyata terhadap biomasa tanaman, nilai nisbah akar pucuk, jumlah spora, kecuali persentase infeksi akar umur 4 dan 5 bulan setelah tanam (Tabel 1).

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa biomasa tanaman tertinggi adalah sorghum dikultur pada gelas plastik warna, diinokulasi *A. tuberculata*, umur 5 bulan. Sedang nilai terendah adalah tanaman *P. phaseoloides*, dikultur pada cawan Petri plastik, diinokulasi *G. margarita*, umur 3 bulan. Nisbah pucuk akar tertinggi pada *P. phaseoloides*, diinokulasi *A. tuberculata*, dikultur pada gelas plastik warna umur 3 bulan setelah tanam, dan terendah pada *P. phaseoloides*, diinokulasi *G. margarita* umur 3 bulan. Jumlah spora tertinggi pada tanaman *P. phaseoloides*, diinokulasi *A. tuberculata*, dikultur pada gelas plastik umur 5 bulan setelah tanam. Jumlah spora terendah pada tanaman sorghum, diinokulasi *G. margarita*, dikultur pada cawan Petri plastik umur 3 bulan. Infeksi akar tanaman sorghum dan *P. phaseoloides*, yang diinokulasi *A. tuberculata*, dikultur gelas

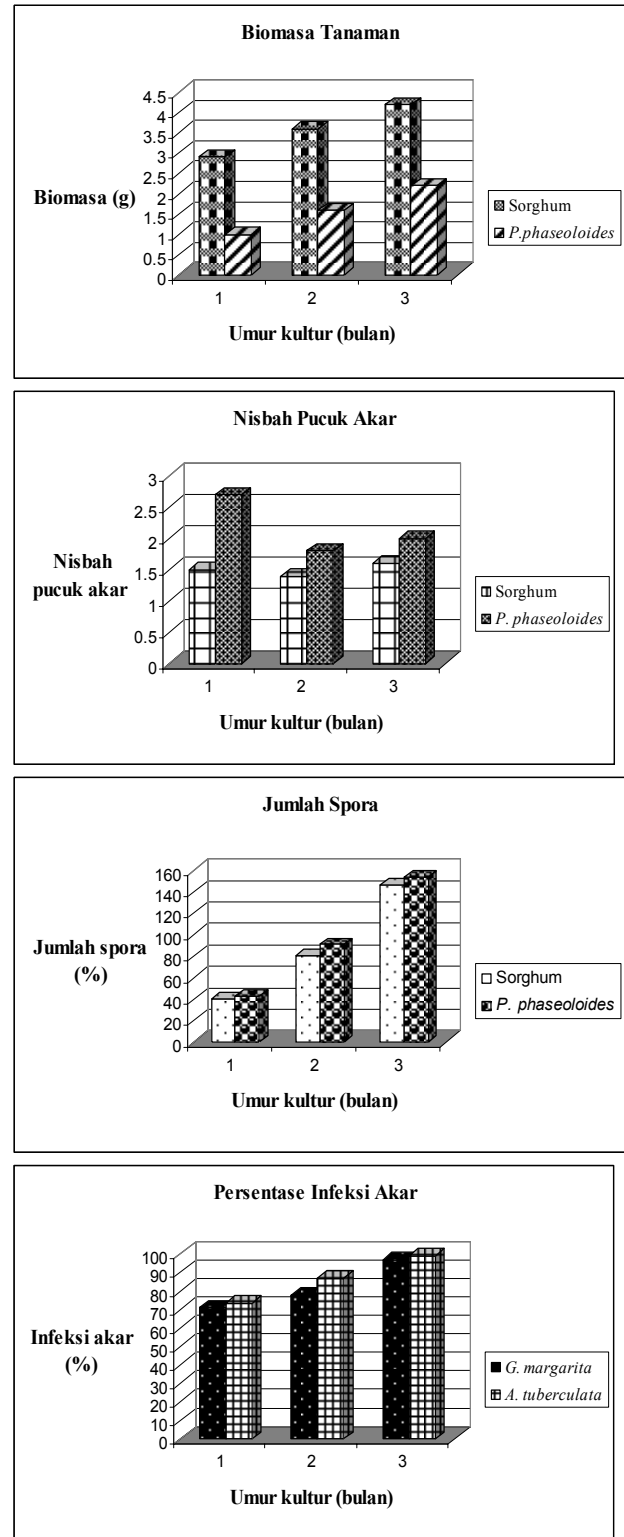
plastik warna, umur 5 bulan tidak berbeda nyata. Infeksi akar tanaman terendah pada tanaman sorghum diinokulasi *G. margarita*, dan dikultur cawan Petri plastik umur 3 bulan. Berdasar hasil yang diperoleh ternyata umur pengamatan berpengaruh terhadap semua peubah dan menunjukkan peningkatan nyata.



Gambar 1. Pengaruh jenis tempat tumbuh terhadap Biomasa, Nisbah pucuk akar, Jumlah spora dan Infeksi akar umur 3, 4 dan 5 bulan setelah tanam



Gambar 2. Pengaruh *G. margarita* dan *A. tuberculata* terhadap Biomasa, Nisbah pucuk akar, Jumlah spora dan Infeksi akar umur 3, 4 dan 5 bulan setelah tanam.



Gambar 3. Pengaruh jenis tanaman inang Sorghum dan *P. phaseoloides* terhadap Biomasa, Nisbah pucuk akar, Jumlah spora dan Infeksi akar umur 3, 4 dan 5 bulan setelah tanam

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa biomasa tanaman tertinggi adalah tanaman sorghum dengan inokulan *G. margarita* dikultur pada gelas plastik berwarna umur 5 bulan, sedang nilai terendah pada tanaman *P. phaseoloides* dengan inokulan *G. margarita*

yang dikultur pada cawan Petri plastik umur 3 bulan. Jumlah spora tertinggi diperoleh dari tanaman *P. phaseoloides* dengan inokulan *G. margarita* dikultur pada gelas plastik, dan jumlah spora terendah pada tanaman sorghum dengan inokulan *G. margarita* dikultur pada cawan Petri plastik umur 3 bulan.

Hasil analisis korelasi

Hasil analisis korelasi masing-masing peubah menunjukkan tidak semua peubah berkorelasi. Jumlah spora dan persentase infeksi akar berkorelasi dengan biomasa tanaman, dan jumlah akar berkorelasi dengan infeksi akar (Tabel 2).

Perubahan struktur CMA di dalam akar inang

Infeksi spora CMA mempunyai formasi karakteristik, yaitu spora berkecambah, terbentuk hifa dari permukaan spora, menginfeksi akar membentuk apresorium. Hifa masuk ke dalam kortek membentuk hifa internal diikuti pembentukan arbuskula, vesikula, dan hifa gelung. Vesikula hanya ditemukan pada *A. tuberculata* (Gambar 4).

Biomassa Tanaman.

Hasil analisis menunjukkan bahwa biomasa tanaman berbeda nyata antar jenis tempat tumbuh pada setiap waktu pengamatan. CMA bersifat obligat, maka CMA harus bersimbiosis. Pada umumnya tanaman dan CMA merupakan simbiosis mutualistik, tanaman memberikan karbon dari fotosintat untuk pertumbuhan dan perkembangan CMA. Jasa paling utama diberikan oleh CMA kepada tanaman adalah pengambilan, asimilasi, dan translokasi nutrisi di luar zona rhizosfir ke akar tanaman, dan tugas tersebut dilaksanakan oleh ekstraradikal miselium CMA (Johansen *et al.* 1993, Ezawa *et al.* 2002). Hasil fotosintesis berupa karbohidrat, diubah menjadi senyawa lain, digunakan untuk pembentukan daun, batang, jaringan baru dan sistem organ lainnya. Biomasa juga merupakan indikator pertumbuhan tanaman. Nilai biomasa tinggi menunjukkan terjadi peningkatan proses fotosintesis, karena unsur hara diperlukan cukup tersedia sehingga memberikan pengaruh nyata pada biomassa tanaman (Suraya 2002). Umumnya CMA meningkatkan kesuburan tanaman, daya tahan terhadap serangan patogen, dan kekeringan serta meningkatkan biomasa (Ezawa *et al.* 2002).

Hasil analisis kombinasi dua maupun tiga faktor, yaitu jenis tempat, inokulum, dan inang menghasilkan berat kering (biomasa) tanaman berbeda nyata dan memperlihatkan peningkatan setiap pertambahan lama waktu pengamatan. Hal tersebut terkait simbiosis *G. margarita* dan *A. tuberculata*, serta kompatibilitas antara inang dan inokulum meningkatkan biomassa tanaman. Simbiosis tanaman dengan CMA dilaporkan meningkatkan berat kering tanaman (biomassa) manggis (*Garcinia mangostana*) (Lucia 2005), klon jati (*Tectona*

grandis) (Suraya 2002), kelapa sawit (Widiastuti 2004) dan kopi arabika (Winarsih & Baon 1999).

Nisbah pucuk akar

Nilai nisbah pucuk akar tanaman dalam kondisi seimbang, kecuali umur 3 bulan. Hal tersebut menunjukkan bahwa umur 3 bulan, tanaman memperlihatkan pertumbuhan pucuk cepat. Nilai nisbah pucuk akar ditentukan perkembangan akar dan pucuk tanaman. Apabila akar tumbuh baik, maka pucuk juga tumbuh baik. Pertumbuhan pucuk tanaman baik dan normal ditunjukkan nilai nisbah pucuk akar mendekati seimbang antara tajuk dan akar. Banyak faktor mempengaruhi pertumbuhan pucuk, baik secara internal yaitu kondisi fisiologis tanaman, faktor lingkungan, persediaan nutrisi dan air, serta simbiosis CMA.

Widiastuti (2004) menyatakan bahwa infeksi CMA terhadap kelapa sawit menyebabkan perubahan bentuk organ CMA, terlihat hifa eksternal, internal, hifa gelung, vesikula dan arbuskula dalam kortek akar, serta hifa eksternal. Citernes *et al.* (1998) menyatakan bahwa kolonisasi CMA merubah sistem dan arsitektur perakaran tanaman *Olea europaea*, demikian pula pernyataan Widiastuti (2004) pada tanaman kelapa sawit. Perubahan tersebut disebabkan nutrisi (hara), dan peran hormon terinduksi akibat infeksi CMA. Disatu sisi perakaran mempunyai arti penting, selain sebagai penopang tegak tanaman, untuk menyerap hara tidak mudah bergerak, yaitu P, dan air. Simbiosis CMA mengubah arsitektur

Tabel 1. Pengaruh interaksi jenis tempat tumbuh, CMA dan tanaman inang terhadap biomasa, nisbah pucuk dan akar, jumlah spora dan infeksi spora.

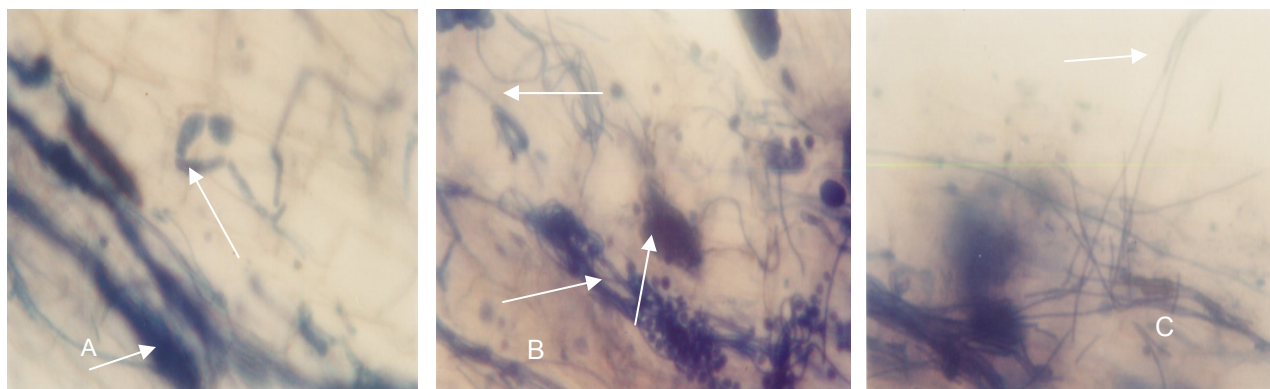
Umur/ bln	Peubah	Tempat tumbuh	<i>Gigaspora margarita</i>		<i>Acaulospora tuberculata</i>	
			Sorghum	<i>Pueraria phaseoloides</i>	Sorghum	<i>Pueraria phaseoloides</i>
3	Biomasa/g	Cawan Petri	1,6 ^d	0,3 ^h	2,9 ^c	1,3 ^e
		Gelas plastik	3,3 ^b	1,2 ^f	3,9 ^a	1,1 ^g
4		Cawan Petri	2,0 ^c	0,9 ^d	3,5 ^b	2,0 ^c
		Gelas plastik	4,4 ^b	1,6 ^c	4,6 ^a	2,1 ^c
5		Cawan Petri	3,0 ^d	1,2 ^h	4,0 ^c	2,1 ^g
		Gelas plastik	5,2 ^a	2,6 ^f	4,7 ^b	2,9 ^e
3	Nisbah pucuk akar/g	Cawan Petri	2,1 ^b	0,4 ^h	0,9 ^g	1,7 ^e
		Gelas plastik	1,0 ^f	2,1 ^b	2,0 ^d	6,6 ^a
4		Cawan Petri	1,9 ^c	0,5 ⁱ	1,0 ^h	2,5 ^a
		Gelas plastik	1,2 ^g	2,4 ^b	1,6 ^f	1,8 ^d
5		Cawan Petri	2,3 ^c	0,5 ⁱ	1,1 ^g	2,5 ^b
		Gelas plastik	1,2 ^f	3,1 ^a	1,7 ^e	1,8 ^{de}
3	Jum Spora (butir)	Cawan Petri	32,2 ^e	33,0 ^{de}	43,2 ^c	47,4 ^b
		Gelas plastik	34,8 ^d	35,6 ^d	49,4 ^b	55,6 ^a
4		Cawan Petri	92,2 ^b	93,0 ^b	93,2 ^{ab}	97,4 ^a
		Gelas plastik	94,8 ^{ab}	95,6 ^{ab}	95,0 ^{ab}	95,5 ^{ab}
5		Cawan Petri	136,0 ^f	151,4 ^{cd}	143,2 ^e	147,4 ^c
		Gelas plastik	156,6 ^b	155,6 ^b	149,4 ^d	161,2 ^a
3	Infeksi akar (%)	Cawan Petri	68,0 ^b	73,0 ^{ab}	72,0 ^{ab}	75,8 ^a
		Gelas plastik	75,0 ^a	71,0 ^{ab}	76,0 ^a	71,0 ^{ab}
4		Cawan Petri	86,0 ^c	86,2 ^c	96,0 ^b	96,2 ^b
		Gelas plastik	88,2 ^c	87,0 ^c	98,5 ^a	93,3 ^{ab}
5		Cawan Petri	93,2 ^b	98,8 ^a	98,2 ^b	98,8 ^a
		Gelas plastik	98,0 ^a	98,4 ^a	99,6 ^a	99,4 ^a

Keterangan : Huruf yang sama pada baris dari masing-masing peubah tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT (P < 0,05).

Tabel 3. Analisis korelasi biomasa tanaman, nisbah akar pucuk, jumlah spora dan infeksi akar

Parameter	Biomasa tanaman	Nisbah akar pucuk	Jumlah spora
Nisbah pucuk akar	0,442	-	-
Jumlah spora	0,902 [*])	0,613 [*])	-
Infeksi akar	0,817 [*])	0,227	0,494 [*])

Keterangan : *) ada korelasi positif



Gambar 4. Struktur morfologi organ CMA pada kortek akar tanaman inang (A). hifa gelung dan vesikula (*Acaulospora* sp); (B). Arbuskula dan hifa internal (*Acaulospora* sp dan *Gigaspora* sp); (C). Hifa eksternal (*Acaulospora* sp dan *Gigaspora* sp)

perakaran sehingga zona rhizosfir lebih luas, dan pengambilan nutrisi maupun air digunakan sebagai bahan dasar proses fotosintesis tersedia optimal. Akibatnya pertumbuhan dan perkembangan tanaman mencapai optimal, karena proses fotosintesis berlangsung optimal, sehingga menghasilkan biomasa optimal (Widiastuti 2004, Lucia 2005).

Orcutt dan Nielsen (2000) menyatakan bahwa ada empat cara peningkatan serapan hara tanaman oleh CMA, yaitu: (i) melalui luas perakaran tanaman, sehingga memperluas area penyerapan, (ii) hifa eksternal memperluas area penyerapan karena diameter lebih kecil dibandingkan dengan akar ($1\mu\text{m}$), sehingga meningkatkan serapan hara 60 kali (Bolan 1991), (iii) menyebabkan pergerakan P lebih baik, (iv) menginduksi pembentukan asam organik dan fosfatase, masing-masing meningkatkan persediaan P tanaman melalui pelarutan dan mineralisasi, (v) meningkatkan langsung atau tidak langsung transfer hara sesama tanaman bermikorhiza, dan (vi) meningkatkan kapasitas serapan hara akar, karena akar bermikorhiza hidup lebih lama.

Inokulasi CMA mempercepat pertumbuhan akar dan dapat mengubah bentuk percabangan akar sehingga tanaman lebih banyak akar lateral (Tisserant *et al.* 1996, Masri & Azizah 1998). Lucia (2005) menyatakan bahwa semua inokulum CMA diinokulasi bibit manggis menghasilkan jumlah akar lateral nyata lebih banyak dibanding tidak diinokulasi CMA.

Berdasarkan uraian tersebut dapat disimpulkan bahwa perbaikan struktur akar tanaman akibat terbentuk simbiosis CMA meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman, proses fotosintesis, dan menstabilkan pertumbuhan.

Perbanyakan Spora

Pengaruh perlakuan tempat tumbuh tanaman inang dan lama waktu memberikan hasil berbeda nyata terhadap perbanyakan spora (jumlah spora). Faktor penentu di dalam perbanyakan spora adalah perkecambahan spora, karena dari spora berkecambah menginfeksi akar tanaman, dan hifa berkembang. Perkembangan diikuti sporulasi. Namun, banyak faktor mempengaruhi proses sporulasi (terbentuknya spora) antara lain lingkungan, jenis inang, kemampuan infeksi dan efektif spora dan lama waktu inkubasi (Sancayaningsih 2005).

Spora merupakan salah satu tahapan di dalam siklus hidup CMA, (de-Souza 2005) menyatakan bahwa siklus hidup CMA ada tiga tahap yaitu, tahap pertama penetapan simbiosis, melibatkan aktivitas propagul, inang tanaman,

apresorium, penetrasi akar dan arbuskula. Pada tahap tersebut keterlibatan jenis inokulum dan jenis tanaman sebagai kunci utama, karena energi digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan CMA berasal dari fotosintat tanaman, demikian pula sebaliknya CMA memberikan nutrisi dan air sebagai bahan dasar fotosintesis (Bever 2002, Heijden 2002, Ezawa *et al.* 2002).

Tahap kedua pertumbuhan dan perkembangan melibatkan hifa eksternal, internal dan ekstraradikal secara keseluruhan meningkatkan biomasa CMA, pembentukan struktur hifa dan perluasan CMA di luar maupun antar tanaman. Perkembangan hifa berfungsi sebagai saluran meluas secara radikal, selanjutnya terjadi perkembangan struktur arbuskula berperan untuk mengambil nutrisi, dan pembentukan vesikula yang berfungsi untuk penyimpanan lipid. Tahap ketiga adalah tahap perbanyakan yang melibatkan struktur reproduktif, yaitu pembentukan spora merupakan inokulum utama untuk CMA (Bago *et al.* 1998).

Diop *et al.* (1994) menyatakan bahwa pemilihan inokulum dan tanaman inang merupakan kunci sukses, sistem penanaman kedua organisme bersimbiosis. Selanjutnya Buce *et al.* (2000) menyatakan bahwa eksudat inang sangat berpengaruh terhadap lingkungan dan mampu merangsang perkecambahan spora. Hal ini disebabkan eksudat akar merupakan isyarat merangsang pertumbuhan hifa, dengan memecah kantong perkecambahan. Lebih lanjut spora berkecambah dan mengkolonisasi akar, maka mulai terjadi simbiosis, dan sporulasi.

Vaast & Zasoski (1991) melaporkan bahwa lama waktu inkubasi berpengaruh terhadap kolonisasi, demikian pula faktor dormansi, tingkat kematangan spora, kelembapan, dan tempat pertumbuhan dan perkembangan inokulum (Abbot & Gazey 1994). Siqueira *et al.* (1998) melaporkan bahwa keadaan spora, cekaman lingkungan, dan media tumbuh merupakan salah satu faktor mempengaruhi perkecambahan spora dan kolonisasi CMA. Sancayaningsih (2005) menggunakan jenis inokulum dan jenis inang berbeda, menghasilkan pertumbuhan tanaman, kolonisasi, dan sporulasi berbeda.

Infeksi akar

Hasil menunjukkan bahwa kombinasi faktor tempat, jenis inokulum dan jenis inang berbeda nyata terhadap peubah yang diukur. Banyak faktor mempengaruhi infeksi akar, antara lain kemampuan spora berkecambah.

Perkecambahan spora berperan penting di dalam infeksi akar, yang dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya kompatibilitas inang, eksudat akar, jenis inokulum dan faktor lingkungan. Bakhtiar (2002)

menyatakan bahwa eksudat inang berpengaruh terhadap lingkungan, dan mampu merangsang perkecambahan. Selain itu Sancayaningsih (2005) melaporkan bahwa kolonisasi CMA dipengaruhi jenis spora, kemampuan infeksi dan efektivitas spora, serta kompatibilitas inang dan faktor lingkungan berpengaruh terhadap induksi akar. Lucia (2005) menyatakan bahwa keefektifan inokulum CMA bervariasi dalam memberikan respons terhadap pertumbuhan. Hal tersebut berkaitan infeksi dan efektivitas inokulum.

Muas (2003) menyatakan bahwa tidak semua species CMA efektif meningkatkan pertumbuhan tanaman. Kolonisasi CMA tidak selalu berhubungan jumlah spora yang dihasilkan, karena proses dipengaruhi kondisi inokulum, lingkungan, jenis inang, serta media (Siqueira *et al.* 1989). Vaast & Zasoski (1991) melaporkan bahwa lama waktu inkubasi, tingkat kematangan spora berpengaruh terhadap kolonisasi. Kelembapan, keadaan spora, cekaman lingkungan, dan media merupakan faktor yang dapat mempengaruhi perkecambahan spora dan kolonisasi CMA. Sejalan penelitian Bakhtiar (2002) menggunakan jenis inokulum dan jenis inang berbeda, menghasilkan pertumbuhan tanaman, kolonisasi, dan sporulasi berbeda, dimana keduanya berpengaruh nyata terhadap peubah yang diamati, walaupun besar respon tidak sama.

Faktor luar dan dalam berpengaruh terhadap infeksi akar. Faktor luar di antaranya adalah fotosintat dihasilkan inang, inang yang kompatibel mampu memacu pertumbuhan dan perkembangan CMA melalui pembentukan struktur CMA di dalam akar. Fotosintat merupakan faktor eksternal berpengaruh terhadap penyebaran hifa, selanjutnya berperan terhadap infeksi akar. Penyebaran tersebut sering berhubungan dengan efisiensi penggunaan inang terkait perbanyak fotosintat (Bago *et al.* 1998). Faktor internal meliputi infeksi, penyerangan, agresif dan kepadatan propagul. Selain itu dinyatakan bahwa faktor eksternal mencakup pH lahan, persediaan fosfor dan potensi air. Infektivitas adalah jumlah akar tanaman terinfeksi oleh CMA tanpa melihat kemampuan menginfeksi dan penyebaran hifa jenis lain. Infektivitas tersebut sangat bergantung pada banyak inokulum atau kepadatan inokulum, dan penempatan inokulum (Wilson & Tommerup 1992).

Korelasi Antar Peubah

Hasil analisis korelasi antar peubah, menunjukkan bahwa peubah jumlah spora dan infeksi akar serta biomasa tanaman berkorelasi positif. Fenomena terlihat bahwa jumlah spora berkorelasi dengan infeksi akar dan biomasa. Hal tersebut dipahami, karena proses infeksi, dipengaruhi efektivitas dan infeksi spora CMA, dan melalui struktur organ CMA dalam korteks akar dapat mengubah arsitektur tanaman (Widiastuti 2004, Lucia 2005), sehingga zone rhizosfir lebih luas, nutrisi yang tersedia dan diserap lebih banyak, proses fotosintesis optimal, sehingga biomasa meningkat. Bakhtiar (2002) menyatakan bahwa kolonisasi CMA dipengaruhi jenis spora. Kemampuan infeksi dan efektivitas spora, serta kompatibilitas terhadap inang dan faktor lingkungan berpengaruh terhadap induksi akar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbanyak inokulum perlu mempertimbangkan (i) kombinasi tempat tumbuh tanaman, (ii) jenis CMA dan jenis inang yang digunakan, (iii) lingkungan, (iv) fisiologi CMA, karena setiap jenis CMA mempunyai karakter beda. Selain itu cekaman fisik mampu meningkatkan sporulasi, yaitu pemotongan kotiledon (Widiastuti 2004). Di dalam penelitian tersebut dilakukan cekaman dengan pemotongan daun tua setelah 3

bulan, serta pemotongan tanaman bagian atas setelah umur 4 bulan, dan diamati pada umur 5 bulan.

Hasil penelitian yang diperoleh mendukung fenomena lapang dimana inang sorghum dan *P. phaseoloides* merupakan inang yang sering digunakan perbanyak spora dengan kultur pot terbuka. Percobaan ini memberikan jawaban bahwa penggunaan kedua tanaman tersebut untuk perbanyak spora di rumah kaca dengan kultur pot memberi informasi peningkatan perbanyak CMA berdasar berbagai faktor.

Perbanyak spora secara massal dilakukan dalam pot terbuka (konvensional) di rumah kaca mempunyai beberapa kelemahan, yaitu spora tidak murni dan spora terkontaminasi CMA jenis lain, atau mikroorganisme lain menurunkan perbanyak spora secara cepat, yaitu *Microdochium* sp, sebagai mikroba kontaminan sangat merugikan usaha perbanyak spora CMA (Hijri *et al.* 2000). Oleh sebab itu spora steril merupakan kunci peningkatan kualitas perbanyak CMA *in vitro* (Becard & Piche 1992).

Fortin *et al.* (2002) menyatakan bahwa sumber inokulum untuk perkembangan spora CMA *in vitro* diperoleh dari kultur pot. Hasil penelitian digunakan sebagai sumber spora yang disterilkan sebagai sumber inokulum steril, dan dikultur pada medium kultur ganda, yaitu medium MM (Becard & Fortin 1988) dan MSR (Strullu & Romand 1986) dengan inang eksplan tomat dan wortel *in vitro*. Selain sebagai sumber spora, spora dihasilkan juga digunakan untuk uji coba enkapsulasi spora CMA (*G. margarita* & *A. tuberculata*) dengan Na-alginat, serta uji daya viabilitas perkecambahan spora dengan inang *P. phaseoloides*.

KESIMPULAN

Tempat tumbuh tanaman (cawan Petri plastik dan gelas plastik warna), jenis CMA (*G. margarita* dan *A. tuberculata*) serta jenis inang tanaman (sorghum dan *P. phaseoloides*) berpengaruh nyata terhadap biomasa tanaman, nisbah pucuk akar, jumlah spora dan infeksi akar. Terjadi korelasi antar peubah terkecuali biomasa tanaman dan nisbah pucuk akar.

Sorghum dan *P. phaseoloides* merupakan tanaman inang kompatibel terhadap perbanyak *G. margarita* dan *A. tuberculata* kultur pot (*in vivo*) di rumah kaca. Cawan Petri plastik menghasilkan bentuk dan ukuran spora CMA uji seragam, menekan kontaminasi, menghasilkan spora banyak dan infeksi akar tinggi. Gelas plastik warna menghasilkan ukuran spora bervariasi, kontaminan lebih tinggi, jumlah spora dan infeksi spora relatif lebih tinggi dibandingkan dengan tempat tumbuh cawan Petri. Lama waktu inkubasi meningkatkan perbanyak spora dan persentase infeksi akar *G. margarita* dan *A. tuberculata*. Inang tanaman *P. phaseoloides* menghasilkan jumlah *G. margarita* maupun *A. tuberculata* tertinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia di Bogor yang telah memberikan dana penelitian disertasi melalui Dr. Nurita Toruan-Mathius, MS, APU yang sekaligus sebagai anggota komisi pembimbing. Juga kepada Dr. Ir. Muhadiono, M.Sc., sebagai Ketua komisi pembimbing dan Dr. Ir. Said Haran M.Sc. serta Prof. Dr. Ir. Latifah K.

Darusman, M.S. sebagai anggota komisi yang telah memberikan bimbingan selama penelitian dan penulisan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bagyaraj, D.J. 1992. Ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. p. 3-34. In D.K. Arora, B. Rai, K.G. Mukerti and G.R. Knudsen (Ed.) Handbook of applied Mycology, Soil and Plants. New York : Marcel Dekker.
- Bakhtiar.Y. 2002. Selection of vascular mycorrhiza (VAM) fungi, host plants and spore numbers for producing inoculum. *J. Biosains dan Bioteknologi Indonesia* 2(1); 36-40.
- Bécard, G. and Y. Piché. 1992. Establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizal in root organ culture: review and proposed methodology. In: Norris JR, Read DJ, Varma AK, eds. *Methods in microbiology: Techniques for study of mycorrhiza*. Vol. 24. London, UK: Academic Press. p 89-108.
- Bécard, G. and J.A. Fortin 1988. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots. *New Phytol* 108:211-218.
- Bever, J.D. 2002. Negative feedback within a mutualism: host-specific growth of mycorrhizal fungi reduces plant benefit. *Proc. of the Royal Soc. of London Series B-Biological Sciences* 269: 2595-2601.
- Bolan, N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant Soil*. 134, 189-207.
- Brundrett.M, L. Melville, and L. Petersoon. 1994. Practical methods in mycorrhiza researoh. *Mycologue Publications*, p. 95- 100.
- Buce, M., M. Rossignol, A. Jauneau, R. Ranjeva, and G. Beacard. 2000. The presymbiotic growth of Arbuscula Micorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified plant root exudates *Mol. Plant*. 13: 693 -698.
- Citernesi, K.S., C. Vitagliano and M. Giovannetti. 1998. Plant growth and root system morphology of *Olea europaea*, L. rooted cuttings as influenced by arbuscular mycorrhizas. *J. Hort. Sci. & Biotechnol.* 73, 647-654.
- de-Souza, FA. 2005. *Biology, Ecology and evolution of the family Gigasporaceae arbuscular mycorrhizal fungi* (Glomeromycota), [Desertation]. Nederlands Institute of Ecology, p 121- 158
- Diop, T.A.,C. Plenchente, and D.G.Strullu. 1994. Dual axenis culture of sheared root inocula of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi associated with tomato roots. *Mycorrhiza* 5: 17-22
- Ezawa, T., S.E. Smith and F.A. Smith.2002. P metabolism and transport in AM fungi. *Plant and Soil* 244: 221-230.
- Fortin,J.A., G.Becard, S. Declerck, Y. Dalpe, M. St-Arnaud, A.P.Coughlan, and Y. Piche. 2002. Arbuscula mycorrhiza on root organ culture. *Can. J. Bot.*80:1-20
- Hijri, M., D. Redecker, J.A.M.C. Petetot, K. Voigt, J.Wostemeyer, I.R. Sanders. 2002. Identification and isolation of two Ascomycete fungi from spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Scutellospora castanea*. *App. Environ. Microb.* 68:4567-4573.
- Lucia.Y. 2005. *Cendawan micoriza arbuscula di bawah tegakan tanaman manggis dan peranannya dalam pertumbuhan bibit manggis (Garcinia mangastania,L)* [Tesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana IPB.
- Masri,M. and H. Azizah. 1998. Root alterations and nutrient uptake of mangosteen (*Garcinia mangostana.L.*) seedling in response to arbuscular mycorrhizal inoculation . *J Trop Agric and Foo Scien.* 26(2):119-1286
- Menge,J.A. 1984. Inoculum production, in VA mycorrhiza, eds Powell, C.L., and Bagyaraj, D.J. CRC Press, Florida, pp. 187-203.
- Muas, I. 2003. Peranan cendawan mikoriza arbuscula terhadap peningkatan serapan hara oleh bibit papaya. *J. Hort* 12(3):165-171.
- Orcutt, D.M. and E.T. Nilsen. 2000. *The Physiology of Plants Under Stress: Soil and biotic factors*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Pacioni G. 1992. Wet sieving and decanting techniques for the extraction of spores of VA mycorrhizal fungi. pp 317-322.
- Sancayaningsih,R.P. 2005. *The effects of single and dual inoculations of arbuscula mycorrhizal fungi on ploant growth and the EST and MDH iszyme profiles of maize roots (Zea mays.L) grown on limited growth media*. [Desertasi]. Yogyakarta: UGM.
- Siqueira,J.O., O.J. Saggin-junior, W.W. Flores-Aylas, and P.T.G. Guimaraes. 1998. Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence
- Suraya. 2002. *Kajian kompatibilitas isolate cendawan mikoriza arbuskula (CMA) terhadap pertumbuhan dua klon jati (Tectona grandis,L.F) hasil perbanyakan kultur jaringan* . [Tesis]. Bogor: Program Pasca Sarjana IPB, p. 23 -54
- Tisserant, B.,S. Gianinazzi and V. Ganinazzi-Pearson. 1996. Relationships between Lateral root order, arbuscular mycorrhiza development and the physiological state of the symbiotic fungus in *Platanus acerifolia*. *Can J. Bot* 74: 1974-1955.
- Vaast, P.H. and R.J. Zasoski (1991), Effect of nitrogen sources and mycorrhizal inoculation with different species on growth and nutrient composition of young Arabica seedlings. *Café Cacao* 35: 121-128 .
- Varma, A. and Hock (Eds.) 1998. *Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology*, 2nd Edition. New York: Springer-verlag.Berlin, Heidelberg, p. 704
- Widiastuti, H, 2004. *Biologi interaksi cendawan mikoriza arbuskula kelapa sawit pada tanah asam sebagai dasar pengembangan teknologi aplikasi dini* [Desertasi]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, IPB.
- Winarsih, S. dan J. Baon. 1999. Pengaruh masa inkubasi dan jumlah spora terhadap infeksi mikoriza dan pertumbuhan planlet kopi. *Pelita Perkebunan*.