

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eboni (*Diospyros celebica* Bakh) merupakan salah satu jenis kayu yang berasal dari famili *Ebenaceae*. *D. celebica* merupakan salah satu tanaman yang paling terbatas penyebarannya dan jenis *D. celebica* hanya dapat ditemukan pada pulau Sulawesi. Pohon ini memiliki kayu teras berwarna hitam dan garis serat kemerahan hingga kecoklatan dan sifatnya yang unik, kuat dan awet menjadi daya tarik bagi pengrajin dan kolektor kayu. Kayu eboni tumbuh dengan berasosiasi dengan tumbuhan lain. Di beberapa tempat seperti Maros, eboni tumbuh dengan berbagai jenis vegetasi lain seperti pinang hutan dan palem hutan (Allo, 2002).

Fungi mikoriza arbuskular atau yang dikenal sebagai FMA adalah organisme hayati yang berfungsi meningkatkan penyerapan unsur hara pada tanah dalam membantu tanaman (Nusantara et al., 2012). FMA merupakan struktur yang terbentuk dari hasil simbiosis mutualistik antara fungi dan akar tumbuhan. Fenomena asosiasi simbiotik sangat membantu kebutuhan nutrisi, kesehatan, dan perkembangan tumbuhan. Kompatibilitas tumbuhan, fungi, dan lingkungannya sangat penting untuk keberhasilan asosiasi simbiotik ini. FMA adalah kelompok fungi yang berasosiasi dengan akar tumbuhan dan membentuk mikoriza. Jenis mikoriza yang paling umum adalah mikoriza arbuskula. Hampir semua tumbuhan berklorofil memiliki mikoriza arbuskula, termasuk *Bryophyta*, *Pteridophyta*, *Gymnospermae*, dan *Angiospermae* (Ervayenri, 2010).

FMA sangat membantu akar tanaman inang untuk menyerap unsur hara di dalam tanah yang tidak bisa diserap oleh bulu akar. Selain itu, FMA juga dapat meningkatkan toleransi tanaman terhadap kekeringan dan kondisi yang mengandung banyak garam. Melalui hifa eksternal, FMA dapat meningkatkan serapan hara dari tanah, terutama fosfor, sehingga dapat mengurangi gejala defisiensi dan mengurangi penggunaan pupuk. FMA memiliki kemampuan untuk meningkatkan nutrisi tanaman, meningkatkan pertumbuhan, mempertahankan keanekaragaman tumbuhan, meningkatkan daya tahan tanaman terhadap patogen, dan membantu pertumbuhan tanaman dalam lingkungan yang tercemar logam berat (Istiqomah, 2015).

FMA dapat berfungsi sebagai pupuk organik yang memiliki sifat biologis. FMA juga dapat berasosiasi dengan 80-90% tumbuhan tingkat tinggi, termasuk tanaman yang ditanam untuk pertanian, kehutanan, dan perkebunan dengan memperbaiki kemampuan tanaman dalam menyerap nutrisi dan air. Asosiasi ini dapat terbentuk karena FMA mengkolonisasi jaringan akar tanaman melalui struktur organ berupa hifa panjang, yang berperan dalam meningkatkan kemampuan tanaman untuk menyerap nutrisi. FMA dapat ditingkatkan jumlahnya melalui metode *kultur trapping* (Nurhayati, 2019).

Kultur *trapping* merupakan suatu metode untuk meningkatkan jumlah populasi spora FMA dengan bantuan tanaman inang yang spesifik. Dengan cara

yang tidak langsung, FMA memiliki peran dalam memperbaiki struktur tanah, meningkatkan kelarutan unsur hara, serta mendukung proses pelapukan bahan induk (*biogeokimia*). Secara langsung, mikoriza mampu meningkatkan penyerapan air, nutrisi, serta melindungi tanaman dari patogen akar dan unsur berbahaya, memperkuat ketahanan tanaman terhadap kekeringan dan kelembaban yang tinggi, serta meningkatkan produksi hormon pertumbuhan dan zat pengatur tumbuh lainnya seperti auksin, sitokinin, giberelin, dan vitamin pada tanaman inangnya. Oleh karena itu, mikoriza dapat memperbaiki pertumbuhan tanaman karena status nutrisi tanaman dapat ditingkatkan dan diperbaiki (Nurhayati, 2019).

1.2 Teori

Sorghum vulgare, atau lebih dikenal sebagai sorgum, adalah salah satu tanaman pangan penting dari keluarga *Poaceae* yang memiliki potensi besar sebagai sumber karbohidrat, pakan ternak, dan bahan baku industri. Tanaman ini berasal dari Afrika dan telah menyebar luas ke berbagai wilayah tropis dan subtropis, termasuk Indonesia. Sorgum dikenal tahan terhadap kekeringan, tumbuh baik di lahan marginal, serta memiliki siklus hidup yang relatif singkat, sehingga cocok sebagai alternatif pengganti padi, jagung, dan gandum. Kandungan nutrisi pada sorgum, seperti karbohidrat, serat, protein, dan sejumlah mineral, menjadikannya bermanfaat bagi ketahanan pangan dan gizi masyarakat. Tanaman sorgum diklasifikasikan sebagai berikut (Tanwar et al., 2023):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae
Genus	: Sorghum
Spesies	: <i>Sorghum vulgare</i> (L.) Moench

Dari segi agronomi, *S. vulgare* memiliki keunggulan dalam adaptasi terhadap berbagai kondisi lingkungan dan efisiensi penggunaan air yang tinggi. Tanaman ini dapat tumbuh pada pH tanah yang bervariasi serta toleran terhadap suhu ekstrem, menjadikannya solusi pertanian yang berkelanjutan di tengah perubahan iklim. Selain bijinya yang kaya nutrisi, sorgum juga memiliki nilai tambah dalam bentuk batang dan daun yang dapat dimanfaatkan sebagai pakan hijauan dan bahan baku bioetanol. Dengan potensi multifungsi tersebut, pengembangan budidaya sorgum dinilai strategis untuk mendukung ketahanan pangan nasional dan diversifikasi pertanian (Tanwar et al., 2023).

Secara morfologi, *Pueraria javanica* tumbuh menjalar dengan batang keras dan berbulu, memiliki daun trifoliolate berwarna hijau tua, dan bunga berwarna ungu kebiruan. Tanaman ini termasuk leguminosa perennial (berumur panjang) yang dapat hidup lebih dari satu tahun dan memiliki kemampuan memfiksasi nitrogen melalui simbiosis dengan bakteri *Rhizobium*, sehingga berkontribusi pada peningkatan kesuburan tanah. Produksi biomassa keringnya cukup tinggi, mencapai sekitar 10

ton/ha di bawah intensitas cahaya penuh, dan tanaman ini juga toleran terhadap naungan hingga 50% intensitas cahaya (Fakriansyah, 2021).

Kultur *trapping* adalah teknik yang digunakan untuk memperoleh data jenis spora Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) yang sebenarnya, yang mungkin mengalami dormansi saat isolasi langsung dari lapangan (Astri et al., 2014). Proses trapping digunakan untuk menstimulasi sporulasi atau meningkatkan jumlah propagul FMA yang ada di dalam tanah yang diambil dari lapangan. Hal ini perlu dilakukan karena tidak semua FMA aktif pada periode waktu yang sama. Sebagian jenis FMA jumlahnya akan melimpah pada musim hujan, sebagian yang lain pada musim kemarau, dan ada jenis FMA yang akan aktif sepanjang tahun (Muryati et al., 2016).

Kultur *trapping* juga digunakan untuk memperbanyak spora yang terdapat dalam sampel tanah agar diperoleh spora dengan viabilitas tinggi (Haska, 2018). Media tanam berupa campuran tanah dan pasir atau batuan zeolit, yang disusun berlapis dalam pot kultur (Astri et al., 2014).

1.3 Tujuan Penelitian

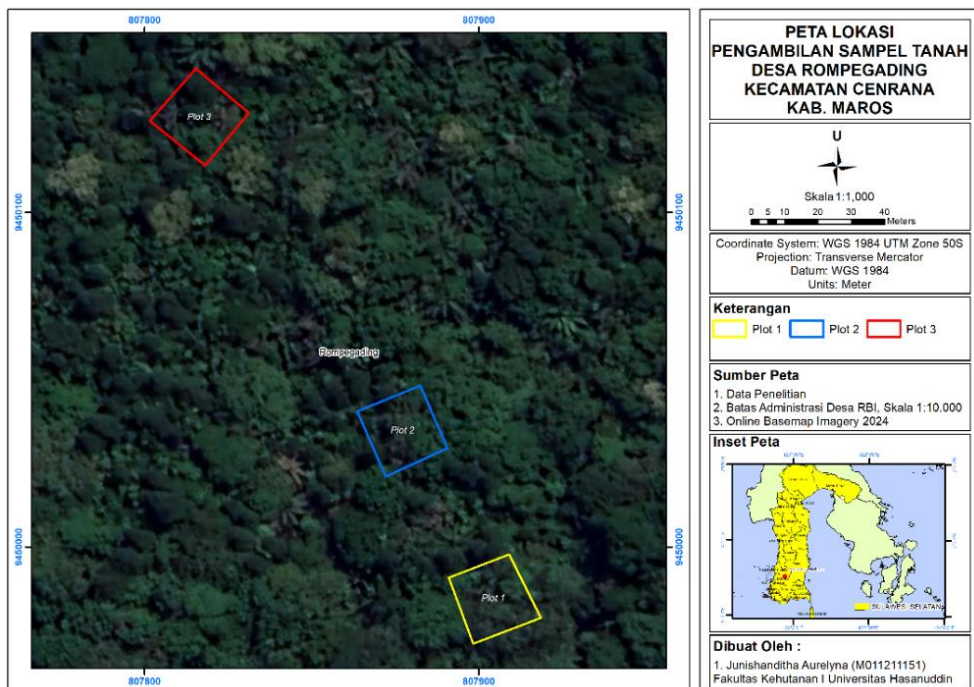
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberagaman spesies, kepadatan spora serta persentase kolonisasi Fungi Mikoriza Arbuskular (FMA) melalui metode *kultur trapping* yang bersumber dari *rhizosfer* Eboni di KHDTK Universitas Hasanuddin Desa Rompegading, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 hingga bulan April 2025. Pengambilan sampel dilakukan di KHDTK Universitas Hasanuddin Desa Rompegading. Selanjutnya, sampel tersebut di gunakan sebagai media tanam di Persemaian Kampung Rimba dan dilanjutkan degen melakukan analisis lebih lanjut di Laboratorium Perlindungan dan Serangga Hutan dan Laboratorium Silvikultur dan Fisiologi Pohon Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan. Peta Lokasi pengambilan sampel tanah dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel Tanah

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah linggis, parang, sekop, pita meter, roll meter, gunting, *avenza maps*, kamera, alat tulis menulis, kantong plastik, timbangan analitik, pot, gelas plastik, gelas ukur, sendok, saringan bertingkat ukuran 250 μm , 125 μm , dan 63 μm , botol semprot, *cutter*, tabung sentrifugasi, alat sentrifugasi, cawan petri, pinset spora, gelas arloji, kaca preparat (*object glass*), kaca penutup (*cover glass*), mikroskop *compound*, penangas air, pisau *scalpel*, spidol serta mikroskop stereo.

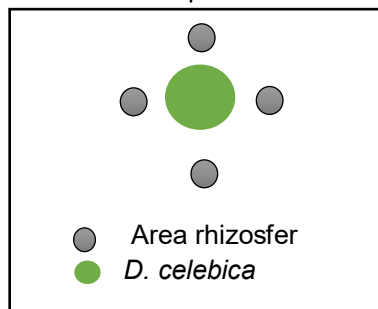
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini Pasir sungai, zeolit, bata, benih *Sorghum vulgare* dan *Pueraria javanica*, akar tanaman kultur trapping, kantong

plastik, plastik sampel, kertas label, kertas A4, kertas saring, air destilata, larutan sukrosa, alkohol 70%, KOH 10%, HCl 2%, asam laktat, gliserin, trypan blue, glukosa, larutan Melzer (*iodine*, air destilata dan KI (*potassium iodine*), larutan PVLG (*polivinil alcohol*, asam laktat, gliserin, air destilata), larutan pemutih (bayclin, air destilata).

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pengambilan Sampel Tanah

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada 3 plot dengan ukuran 20 m x 20 m. Tanah diambil masing-masing sebanyak ± 250 g dari 4 sisi area rhizosfer tanaman dengan kedalaman 30 cm dari permukaan tanah kemudian dikompositkan menjadi 500gram pada plastik sampel. Kegiatan pengambilan sampel tanah dilakukan dengan menggunakan metode *purposive sampling* pada beberapa titik di area penelitian. Penerapan metode *purposive sampling* dilakukan berdasarkan keberadaan tanaman *D. celebica* dalam satu plot.



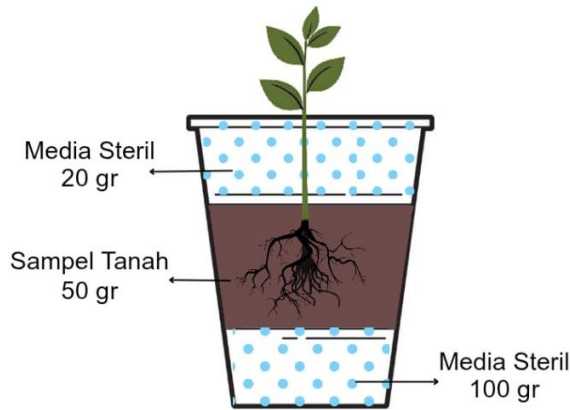
Gambar 2. Sketsa pengambilan tanah pada area rhizosfer *D. celebica* (Nusantara et al, 2012)

2.3.2 Pembuatan Kultur *Trapping*

Pembuatan kultur *trapping* mengacu (Brundrett et al., 1996) dengan menggunakan pot-pot kultur kecil.

1. Menyiapkan media tanam pada masing-masing pot dengan campuran sampel tanah seberat 50 gram dan media tanam (pasir sungai, zeolith dan bata) sebesar 120 gram yang disterilkan menggunakan *autoclave* selama 15-30 menit. Kemudian, media tanam di susun dengan urutan media setril-tanah-media steril.
2. Benih *S. vulgare* dan *P. javanica* disemai pada media steril (pasir sungai) hingga 7-14 hari kemudian dibersihkan dan dipindahkan pada media kultur dan diberi label pada setiap pot sesuai dengan jenis tanaman inang dan media yang digunakan. Setiap sampel dibuat sebanyak 5 kali pengulangan (**Gambar 3**).
3. Tanaman kultur *trapping* kemudian disiram secara rutin setiap hari dengan air dan dirawat hingga berumur ± 3 bulan untuk dapat dipanen spor dan akarnya. Saat merawat tanaman perlu dilakukan pengendalian hama secara manual agar tanaman dapat tumbuh dengan baik.

4. Setelah pemilihan kultur *trapping* selama ± 3 bulan, masing-masing tanaman pada pot kemudian dipanen. Sampel tanah dan bagian akar halus tanaman pada tiap pot diambil sebanyak 5 pengulangan dan dimasukkan ke dalam plastic sampel yang telah diberi label.



Gambar 3. Sketsa Pot Kultur Trapping (Nusantara et al, 2012)

2.3.3 Ekstraksi Spora FMA

Ekstraksi Spora FMA dari sampel tanah dilakukan dengan mengacu metode tuang dan saring basah (Gerdemann & Nicolson, 1963) dengan modifikasi sentrifugasi (Brundrett et al., 1996). Pertama, tanah sebanyak 50 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas beaker 1000 ml, kemudian ditambahkan air hingga mencapai 1 liter. Suspensi diaduk selama $\pm$ dua menit untuk menghancurkan tanah yang mengeras agar spora terbebas dari kotoran dan tanah. Setelah itu didiamkan selama ± 15 menit agar partikel besar dari tanah mengendap, kemudian suspensi disaring menggunakan saringan bertingkat berukuran 250 μm , 125 μm , dan 63 μm (proses ini diulang sebanyak tiga kali). Residu pada tiap saringan dibilas menggunakan air mengalir untuk menjamin bahwa semua partikel kecil tanah sudah terbawa. Endapan yang tertinggal di saringan 125 μm dan 63 μm kemudian dipindahkan ke tabung sentrifus 15 ml dengan bantuan botol semprot. Suspensi kemudian dimasukkan ke dalam sentrifuge selama lima menit dengan kecepatan 2500 rpm. Selanjutnya kotoran yang mengambang pada cairan supernatan dibuang dan diisi dengan larutan gula 50% sebanyak dua kali dari banyaknya air di dalam tabung sentrifuge, lalu dimasukkan kembali ke dalam sentrifuge yang di putar dengan kecepatan 2500 rpm selama lima menit. Spora akan mengapung pada larutan gula atau bagian atas suspensi jernih, kemudian suspensi jernih dituang ke dalam saringan 63 μm dan segera bilas dengan air mengalir untuk mencegah terjadinya lisis pada spora. Selanjutnya, hasil saringan dipindahkan ke dalam cawan petri menggunakan bantuan botol semprot untuk dilakukan pengamatan spora.

2.3.4 Pengamatan Dan Identifikasi Spora FMA

Hasil saringan yang telah dipindahkan ke dalam cawan petri untuk diamati dan dihitung dibawah mikroskop stereo. Spora yang diamati kemudian dipindahkan

dan dikelompokkan berdasarkan morfotipenya ke kertas saring yang diletakkan didalam cawan petri lain agar memudahkan saat pengamatan. Spora yang telah di hitung dan dipisahkan sesuai dengan morfotipe diletakkan pada satu kaca preparat dengan bantuan mikroskop dan pinset spora. Selanjutnya pada preparat ditetesi masing-masing PVLG dan Melzer. Sisi kiri preparat ditetesi larutan Melzer, dan sisi kanan ditetesi larutan PVLG. Kedua sisi kaca preparat kemudian ditutup menggunakan *cover glass* dan diberi sedikit tekanan agar spora pecah sehingga bagian dalam dinding spora dapat terlihat untuk memudahkan identifikasi jenis spora. Untuk memastikan *cover glass* melekat dengan baik, setiap sisinya diberi cat kuku bening agar merekat dengan baik. Untuk menentukan tipe spora yang ada dapat dilihat dengan adanya perubahan warna pada spora dalam larutan melzer's yang merupakan salah satu indikator untuk menentukan tipe spora yang ada (Nusantara et al., 2012).

2.3.5 Pengamatan Infeksi Kolonisasi Akar

Kolonisasi FMA pada akar *S. vulgare* dan *P. javanica* menggunakan metode pewarnaan akar (Philips dan Hayman, 1970) yang telah dimodifikasi Laboratorium Bioteknologi Hutan Institut Pertanian Bogor. Sampel akar dibersihkan dengan hati-hati dan disimpan dalam larutan *alcohol* 70% untuk mengawetkan. Setelah itu, potongan rambut akar dimasukkan kedalam botol film dan direndam dalam larutan KOH 10% selama 24 jam. Selanjutnya, rambut akar dicuci dengan air mengalir. Rambut akar yang telah bersih kemudian direndam dalam larutan pemutih sampai warna akar berubah menjadi putih, lalu dibilas dengan air bersih. Rambut akar direndam dalam larutan HCL 2% selama 24 jam. Selanjutnya, rambut akar direndam dalam larutan staining selama 24 jam sampai akar berwarna biru dan terakhir tambahkan larutan destaining selama 24 jam untuk membersihkan akar dari sisa pewarnaan. Pengamatan akar dilakukan dengan mengambil 10 potongan rambut akar sepanjang satu cm dan diletakkan berjejer pada slide preparat. Kemudian setiap potong rambut akar diamati dibawah mikroskop untuk melihat struktur mikoriza (hifa, vesikula, dan arbuskula).

2.4 Analisis Data

Analisis data dilakukan untuk menganalisis Kepadatan, kolonisasi dan indeks keanekaragaman spora. Adapun variabel yang digunakan dalam analisis data yaitu Jumlah spora dan akar tanaman *S. vulgare* dan *P. javanica*. Variabel tersebut diolah dengan menggunakan *software Microsoft excel* kemudian data yang sudah diolah disajikan dalam bentuk diagram batang dan tabel.

1. Analisis Data Spora FMA

$$\text{Kepadatan spora} = \frac{\text{jumlah spora}}{50 \text{ gr tanah}}$$

2. Kolonisasi Akar

Dalam (Prayoga & Prasetya, 2021) kolonisasi FMA pada akar diklasifikasikan dalam beberapa kategori yang di sajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Tingkat Infeksi pada Akar

Persentase kolonisasi (%)	Kriteria
0-5	Sangat Rendah
6-25	Rendah
26-50	Sedang
51-75	Tinggi
76-100	Sangat Tinggi

Sumber: (Prayoga & Prasetya, 2021).

Hasil pengamatan kemudian dilakukan perhitungan menggunakan rumus (Padri et al., 2015).

$$\% \text{ kolonisasi FMA} = \frac{\text{jumlah akar terkolonisasi}}{\text{Total akar yang diamati}} \times 100\%$$

3. Indeks Keanekaragaman FMA (*Shannon-Wiener*)

$$H' = - \sum (P_i) \ln (P_i)$$

Keterangan :

H' = Indeks Keanekaragaman

P_i = Jumlah spora suatu genus/jumlah total spora seluruh genus

Kategori indeks keanekaragaman jenis :

H' < 1 = Rendah

1 < H' < 3 = Sedang

H' > 3 = Tinggi

4. Indeks Kemerataan (*Evennes*)

$$E = \frac{H'}{\ln S}$$

Keterangan :

E = Indeks kemerataan

H' = Indeks keanekaragaman jenis

S = Jumlah total spesies

Kategori indeks kemerataan :

- 0,0 < E < 0,5 = Tidak merata

- 0,5 < E < 1,0 = Merata

5. Indeks Dominansi (D) (*Simpson*)

$$D = \sum \left[\frac{n_i}{N} \right]^2$$

Keterangan :

D = Indeks dominansi

n_i = Jumlah spora suatu spesies

N = Jumlah total spora seluruh spesies

Kategori indeks dominansi :

- $0,0 < D < 0,5$ = Tidak terdapat dominansi
- $0,5 < D < 1,0$ = Terdapat dominans