

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Eboni (*Diospyros celebica* Bakh) adalah tanaman endemik Sulawesi yang kayunya dikenal dengan corak hitam-merah kecoklatan berpola strip, kekuatannya, dan ketahanannya, menjadikannya kayu mewah bernilai ekonomi tinggi. Namun, permintaan tinggi telah menurunkan populasinya di alam. Upaya penanaman kembali pun sering gagal, kemungkinan karena kurangnya pemahaman tentang kondisi ekologi yang sesuai (Allo, 2002). *D. celebica* umumnya ditemukan di hutan dataran rendah hingga pegunungan rendah (maksimal 400 mdpl, kadang 600 mdpl meskipun tidak optimal), baik di hutan tropis maupun muson. Tanaman ini toleran terhadap berbagai jenis tanah (kapur, pasir, latosol, podzolik, liat berbatu) asalkan tidak tergenang. Curah hujan ideal berkisar 2.000-2.500 mm/tahun, namun masih bisa bertahan di daerah kering dengan 700 mm/tahun. *D.celebica* semi toleran terhadap cahaya, dan membutuhkan suhu rata-rata 22-28 °C, dengan suhu maksimum 21,5-30 °C saat kemarau dan minimum 22-26 °C saat hujan. (Marwan & Umar., 2015). Faktor seperti masa tumbuh yang lama, penyebaran yang terbatas, dan siklus hidup yang panjang membuat *D. celebica* sangat rentan terhadap eksploitasi berlebihan. Akibatnya, jumlah populasinya dapat menurun drastis dalam waktu yang relatif singkat. Kondisi ini menyebabkan *D. celebica* menjadi semakin langka. *D. celebica* yang tumbuh di hutan alami, kini terancam punah, menimbulkan kekhawatiran serius akan kelestariannya di masa depan (Kurniawan, 2013). Spesies ini tidak dapat tumbuh mandiri; pertumbuhannya sangat bergantung pada interaksi dengan lingkungannya. Berbagai faktor lingkungan seperti ketinggian lokasi, curah hujan, jenis tanah, ketersediaan air, dan kemiringan lereng sangat memengaruhi pertumbuhannya (Allo, 2002). Selain faktor fisik, keberadaan mikoriza arbuskular yang bersimbiosis dengan akar tanaman memegang peranan krusial. Mikoriza ini berperan dalam meningkatkan ketersediaan air di dalam tanah, yang vital bagi kelangsungan hidup tanaman. Menurut Musfal (2010), mikoriza juga berkontribusi besar dalam memperbaiki penyerapan unsur hara, khususnya fosfor (P), yang esensial untuk pertumbuhan optimal *D.celebica*.

Mikoriza adalah jenis jamur yang bersimbiosis mutualisme dengan akar tanaman, atau yang dikenal sebagai Mikoriza, sangat menguntungkan bagi pertumbuhan tanaman inang. Salah satu jenis mikoriza yang paling umum adalah FMA, yang bersimbiosis dengan sekitar 80% tanaman. Ketika menginfeksi perakaran tanaman inang, FMA menghasilkan jaringan hifa eksternal yang luas. Jaringan ini secara signifikan meningkatkan kemampuan akar dalam menyerap nutrisi dan air (Utami et al., 2023). Di seluruh dunia, keanekaragaman FMA tercatat sekitar 250 jenis. FMA ini berasosiasi dengan berbagai tanaman, mulai dari daerah tropis, subtropis, hingga Kutub Utara. Di wilayah tropis, FMA umumnya bersimbiosis dengan hampir semua jenis tumbuhan, kecuali famili Dipterocarpaceae yang berasosiasi dengan ektomikoriza. Asosiasi FMA ini berkontribusi besar pada peningkatan kesuburan tanah dan berdampak positif terhadap kualitas serta kuantitas produksi tanaman. (Nugroho et al., 2022).

Pemanfaatan FMA alami dari tegakan lokal jauh lebih efektif daripada menggunakan isolat dari luar area pertumbuhan tanaman. Alasannya sederhana: FMA adalah mikroorganisme yang sangat adaptif terhadap inang dan lingkungan spesifiknya.

Perbedaan lokasi dan rizosfer (zona tanah di sekitar akar) akan menghasilkan perbedaan pada keanekaragaman spesies dan populasi FMA. Identifikasi menunjukkan bahwa sampel tanah dari lokasi yang berbeda memiliki keragaman jenis spora FMA yang berbeda pula. Menurut Sundari et al. (2011), faktor lokasi dan rizosfer sangat memengaruhi keanekaragaman spesies dan populasi mikoriza karena perbedaan jenis tanah dan kondisi lingkungan di setiap lokasi. Ini berarti FMA yang sudah terbiasa dengan kondisi lokal akan bekerja lebih optimal.

FMA adalah mikroorganisme tanah penting yang membantu siklus hara dan meningkatkan ketahanan tanaman inang terhadap penyakit akar. FMA bersimbiosis dengan sekitar 80% tanaman terestrial, menunjukkan rentang inang yang luas. Namun, efektivitas simbiosis bervariasi karena beberapa jenis FMA bersifat spesifik terhadap inang tertentu. Informasi ini sangat berharga karena dapat menjadi sumber inokulum dan berpotensi memberikan manfaat signifikan bagi tanaman *D. celebica*, khususnya di Desa Coppo, Kecamatan Barru, Kabupaten Barru.

1.2 Landasan Teori

Eboni (*Diospyros celebica* Bakh) adalah spesies genus *Diospyros* yang secara alami hanya tumbuh di Sulawesi, khususnya Sulawesi Tengah dan Selatan. Tumbuhan ini memiliki nilai ekonomis tinggi dan merupakan sumber devisa penting, namun data ilmiah mengenai kandungan kimianya masih terbatas. (Sasmita et al., 2019).

Menurut Samingan (1982) dalam (Allo, 2002) klasifikasi pohon *D. celebica* yaitu sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Divisi	: Spermatophyta
SubDivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Ebenales
Family	: Ebenaceae
Genus	: <i>Diospyros</i>
Spesies	: <i>Diospyros celebica</i> Bakh.

Mikoriza merupakan interaksi antar kingdom tumbuhan yang melibatkan lebih dari 340.000 tumbuhan daratan dan 50.000 taxa fungi. Sebanyak 90% dari keseluruhan spesies tumbuhan mempunyai asosiasi mikoriza. Simbiosis mikoriza akhir-akhir ini menjadi perhatian karena pengaruhnya terhadap produktivitas dan keragaman tumbuhan dan pergerakan sumber daya antar tumbuhan di suatu ekosistem melalui jaringan hifa dalam tanah. Simbiosis mikoriza mempunyai peranan penting di dalam siklus karbon (C), nitrogen (N), dan fosfat (P) di suatu ekosistem (Nugroho et al., 2022). Mikoriza adalah salah satu jenis jamur tanah yang memiliki banyak manfaat dalam ekosistem tanah. Jamur ini umumnya tersebar luas di berbagai jenis tanah dan tidak bergantung pada inang tertentu untuk tumbuh. Namun, populasi dan jenis mikoriza yang ada sangat bervariasi, tergantung pada karakteristik tanaman serta kondisi lingkungan, seperti suhu, tingkat keasaman (pH) tanah, kelembaban, kandungan unsur hara seperti fosfor dan nitrogen, serta kadar logam berat dalam tanah. Oleh karena itu, setiap ekosistem bisa saja memiliki jenis spora mikoriza yang serupa maupun berbeda

(Margaretta, 2011).

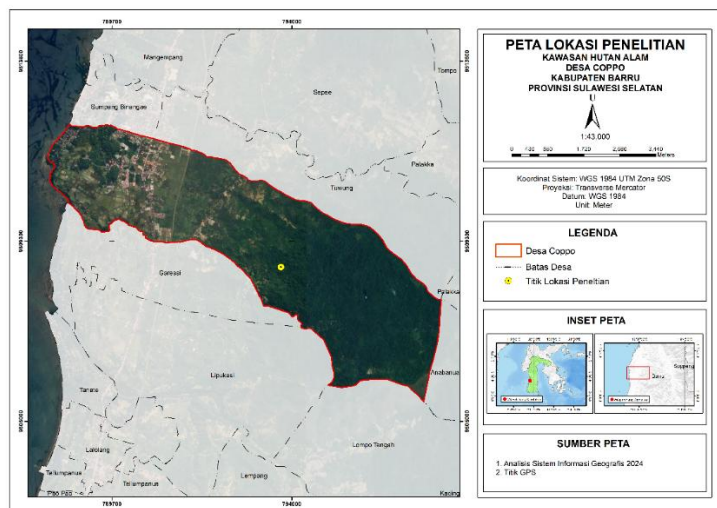
FMA Mikroorganisme tanah yang bersimbiosis mutualisme dengan tanaman ini memiliki kemampuan luar biasa dalam membantu penyerapan dan penyediaan unsur hara di dalam tanah. Hasilnya, pertumbuhan dan produksi tanaman pun meningkat. Fungi ini, yang mampu bersimbiosis dengan hampir 90% jenis tanaman, telah banyak dibuktikan keefektifannya dalam memperbaiki nutrisi dan mendorong pertumbuhan tanaman. (Hajoeningtjas, 2009).

FMA merupakan asosiasi simbiosis antara akar tumbuhan dengan fungi yang dicirikan oleh adanya penetrasi fungi hingga ke dalam kortika sel tumbuhan. Tipe asosiasi mikroriza ini dicirikan pula dengan dijumpainya adanya struktur vesikel dan arbuskula yang terbentuk dalam sel kortika akar tumbuhan. Struktur arbuskula merupakan struktur yang umum dijumpai pada semua jenis asosiasi FMA (Nugroho et al., 2022). Kehadiran FMA sangat penting bagi ketahanan ekosistem, stabilitas tanaman, pemeliharaan keragaman tumbuhan, dan peningkatan produktivitas tanaman. Fungi mikoriza ini menyebar melalui berbagai cara. Penyebaran aktif terjadi melalui pertumbuhan miselia di dalam tanah. Setelah menginfeksi akar, hifa akan berkembang di daerah perakaran tanah dan membentuk struktur jamur, termasuk miselium eksternal yang sangat vital dalam menyerap dan mentransfer unsur hara ke tanaman. Sementara itu, penyebaran pasif dapat terjadi melalui bantuan beberapa jenis hewan dan juga angin. (Zulfredy et al., 2015).

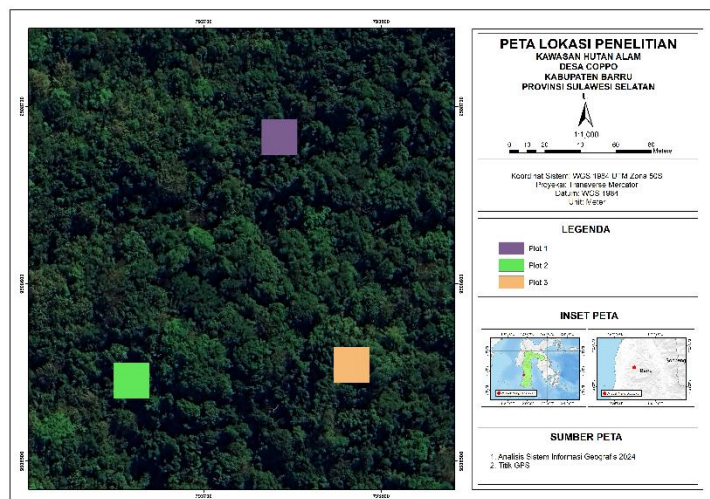
BAB II. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini berlangsung dari 11 Oktober 2024 hingga 16 April 2025, terbagi menjadi dua tahap. Tahap pertama, pengambilan sampel akar dan tanah, akan dilakukan pada Oktober 2024 di Kawasan Hutan Alam Desa Coppo, Kecamatan Barru, Kabupaten Barru, Provinsi Sulawesi Selatan. Tahap kedua, identifikasi FMA pada akar tanaman *D. celebica*, akan dilaksanakan di Laboratorium Silvikultur dan Fisiologi Pohon Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin. Peta lokasi penelitian juga akan disajikan pada Gambar 1.



(a)



(b)

Gambar 1. (a) Peta Lokasi Pengambilan Sampel dan (b) Peta Plot Pengamatan

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan meliputi cangkul, skop tanaman, linggis, pisau, gunting, timbangan, roll meter, plastik, spidol, alat tulis, plastik klip, saringan, dan *container box* untuk kegiatan lapangan dan persiapan. Untuk analisis di laboratorium, akan tersedia kaca penutup, kaca objek, kaca preparat, tabung reaksi, tabung sentrifugasi, sentrifugasi, cawan petri, mikroskop, pinset, mikroskop stereo, mikroskop binokuler, alat ukur, gelas beker ukuran 1000 ml, batang pengaduk, saringan bertingkat dengan diameter lubang 250 μm , 125 μm , 63 μm , kamera digital, dan komputer..

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel tanah dan akar tanaman dari bawah tegakan *D. celebica*, bahan kimia seperti air destilata, alkohol 70%, KOH 10%, HCL 2%, larutan pemutih (bayclin, air destilata), larutan sukrosa, asam laktat, gliserin, kantong plastik, plastik sampel, kertas label, kertas A4, trypan blue, glukosa, larutan Melzer (iodine, air destilata dan KI (potassium iodine), larutan PVLG (polivinil alcohol, asam laktat, gliserin, air destilata), kertas saring, mikro pipet.

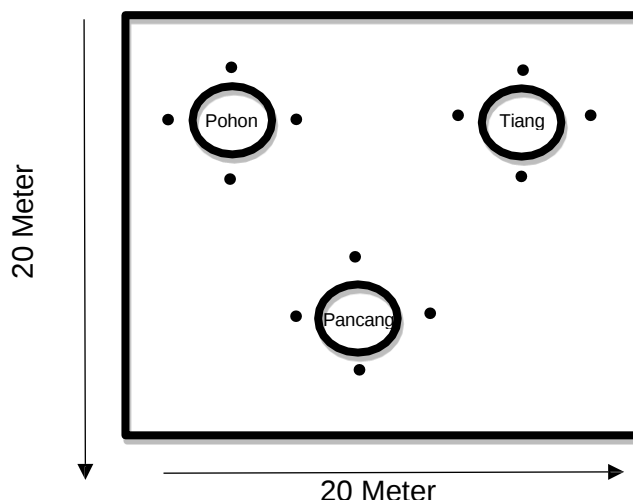
2.3 Prosedur Penelitian

Penelitian akan diawali dengan pengambilan sampel tanah dan akar, dilanjutkan dengan pewarnaan akar, pengamatan infeksi FMA, ekstraksi spora, pengamatan dan identifikasi spora FMA pada tanah.

2.3.1 Pengambilan Sampel Tanah dan Akar

1. Pengambilan sampel tanah dan akar dilakukan dengan pembuatan plot pengamatan ukuran 20 m x 20 m dengan 3 tingkatan fase pertumbuhan (pancang, tiang, pohon) sebanyak 3 plot dan pengambilan titik sampel sebanyak 9 titik pada setiap plot yaitu pada 3 pohon, 3 tiang dan 3 pancang pada kedalaman 20 cm. Pada masing masing titik, tanah di ambil secara acak dengan cangkul di sekitar perakaran tanaman *D. celebica* dengan 4 titik kemudian di kompositkan. Berat tanah dan akar yang diambil setiap titik sebanyak 500 gr, sehingga total sampel yang diambil untuk pengamatan sebanyak 27 sampel tanah dengan total berat 13.500 gr berdasarkan metode *purposive sampling*. Fachreza et al (2024), mendeskripsikan bahwa *purposive sampling* adalah cara pengambilan sampel berdasarkan kriteria yang telah di tetapkan oleh peneliti berdasarkan dengan apa yang dibutuhkan oleh peneliti. Berdasarkan dengan metode *purposive sampling* maka pengambilan sampel yang di lakukan di Desa Coppo Kecamatan Barru Kabupaten Barru ini dipilih berdasarkan dengan fase pertumbuhan (pohon, tiang, pancang) dan ada tidaknya tanaman *D.celebica* di kawasan tersebut.

2. Sampel kemudian di masukkan ke dalam plastik klip dan di beri tanda menggunakan kertas label yang tertulis plot tanaman, lokasi pengambilan, tanggal pengambilan.



Gambar 2. Sketsa plot pengambilan sampel

2.3.2 Pewarnaan Akar

1. Pengambilan sampel rambut akar di lakukan dengan cara menggali tanah dibawah pohon tajuk.
2. Sampel rambut akar di analisis menggunakan metode pewarnaan akar yang dimodifikasi (Suryati, 2017).
3. Rambut akar dibersihkan dengan hati-hati dan disimpan dalam larutan alkohol 70% untuk mengawetkannya.
4. Setelah itu, potongan rambut akar dimasukkan ke dalam botol film dan diklarifikasi dengan larutan KOH 10% selama 24 jam. Tujuannya adalah untuk membersihkan sitoplasma inti akar agar zat warna lebih mudah meresap.
5. Rambut akar dibilas dengan air hingga bersih.
6. Rambut akar kemudian direndam dalam larutan pemutih sampai warna akar berubah menjadi putih
7. Rambut akar kemudian di bilas dengan air bersih lalu ditambahkan dengan larutan HCl 2% selama 24 jam.
8. Selanjutnya, rambut akar diberi larutan pengembangan warna (*staining*) selama 24 jam dan warna dihilangkan dengan peluntur warna (*destaining*) selama 24 jam.

2.3.3 Pengamatan Infeksi FMA

1. Pada rambut akar dilakukan secara sistematis dengan mengambil 10 potongan rambut akar sepanjang 1 cm secara acak dari sampel akar pohon penelitian.
2. Potongan rambut akar tersebut kemudian disusun didalam slide mikroskop dan diamati di bawah mikroskop binokular. Setiap slide mikroskop berisi 10 potongan rambut akar dan memiliki 10 bidang pandang. Zulfredi et al (2015) mendeskripsikan bidang pandang yang menunjukkan tanda-tanda kolonisasi FMA (hifa, arbuskula, dan vesikula) diberi tanda positif (+), sedangkan yang tidak

menunjukkan tanda- tanda kolonisasi FMA diberi tanda negatif (-). Metode ini dilakukan untuk mengamati struktur internal rambut akar dan menentukan tingkat kolonisasi FMA pada akar pohon penelitian.

2.3.4 Ekstraksi Spora

- a. Persiapan Sampel Tanah: Timbang 50 gram sampel tanah.
- b. Pencampuran: Masukkan sampel tanah ke dalam gelas *beaker* 1000 ml, lalu campur dan aduk dengan air hingga hancur.
- c. Pengadukan dan Penyaringan Awal: Aduk suspensi tanah selama kurang lebih 2 menit hingga homogen, pastikan agregat tanah pecah agar spora terbebas. Diamkan selama sekitar 15 menit agar partikel besar mengendap. Setelah itu, saring suspensi menggunakan saringan bertingkat dengan ukuran 250 μm , 125 μm , dan 63 μm . Ulangi prosedur penyaringan ini sebanyak 3 kali untuk memisahkan spora dari partikel tanah yang lebih besar.
- d. Pembilasan Residu: Bilas residu pada masing-masing saringan dengan air keran untuk memastikan semua partikel kecil terbawa.
- e. Pemindahan ke Tabung Sentrifuse: Pindahkan endapan yang tertinggal di saringan 125 μm dan 63 μm ke dalam tabung sentrifuse 15 ml menggunakan botol semprot.
- f. Sentrifugasi Pertama: Masukkan tabung berisi suspensi ke dalam alat sentrifugasi dan putar selama 5 menit dengan kecepatan 2500 rpm.
- g. Pemisahan dan Penambahan Larutan Gula: Buang kotoran yang mengambang pada cairan supernatan. Kemudian, isi tabung sentrifuse dengan larutan gula sebanyak dua kali volume air yang tersisa. Putar kembali dalam sentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 5 menit.
- h. Pengapungan Spora: Spora FMA akan mengapung di permukaan larutan gula atau bagian atas suspensi yang jernih.
- i. Penyaringan Akhir dan Pembilasan Cepat: Tuang suspensi jernih yang mengandung spora ke dalam saringan 63 μm . Segera bilas dengan air mengalir untuk mencegah lisis spora (pecahnya spora).
- j. Pengamatan: Hasil saringan kemudian dituang ke cawan petri dengan bantuan botol semprot untuk dilakukan pengamatan spora di bawah mikroskop.

2.3.5 Pengamatan dan Identifikasi Spora FMA Pada Tanah

Identifikasi spora FMA dilakukan dengan mengamati beberapa karakteristik kunci. Ini meliputi struktur spora FMA, keragaman spora FMA, dan morfologi spora (Rahmawati et al., 2020).

- 1) Perhitungan Spora
Spora yang telah di saring dipindahkan kedalam cawan petri. Spora diamati dan dihitung di bawah mikroskop stereo. Spora yang diamati dipindahkan berdasarkan morfotipenya ke kertas saring yang diletakkan didalam cawan petri untuk memudahkan pengamatan.
- 2) Pengamatan Spora
 - a. Spora FMA yang telah dipisahkan per morfotipe diletakkan pada satu kaca preparat. Sisi kiri kaca preparat ditetesi dengan larutan Melzer, dan sisi kanan ditetesi dengan larutan pvlg. Melzer's bertindak sebagai pewarna yang akan membantu memperjelas struktur internal spora dan memudahkan pengamatan.
 - b. Kedua sisi kemudian ditutup dengan cover slip. Untuk memastikan cover slip

menempel dengan baik maka gunakan cat kuku untuk merekatkannya di setiap sisi kaca preparat.

- c. Spora dipecahkan dengan cara menekan permukaan cover slip menggunakan pentul. Perubahan warna spora dalam larutan Melzer's membantu menentukan tipe spora yang ada (Simamora et al., 2014).
- d. Pengamatan morfologi spora dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler berdasarkan keadaan spora pada preparat dan juga berdasarkan pengamatan struktur FMA (hifa intra radikal, vesikula, dan arbuskula). Identifikasi spora dilakukan hingga penentuan genus spora.
- e. Pemindahan disesuaikan berdasarkan bentuk dan warna spora dengan kategori yang sama kemudian diberi masing masing satu tetes pengawet PVLG dan pewarna Melzer's dengan menyisakan tempat untuk label.

2.4 Analisis Data

Data hasil pengamatan di laboratorium ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif dengan pendekatan kuantitatif menggunakan software excel kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan histogram. Persen infeksi mikoriza dihitung dengan rumus Rajapakse & Miller (1992) :

$$\% \text{Infeksi FMA pada akar} = \frac{\text{jumlah bidang pandang terinfeksi}}{\text{jumlah bidang pandang}} \times 100\%$$

Adapun Tingkat persentase FMA pada akar ditentukan berdasarkan kelas klasifikasi menurut Setiadi (2001) yaitu :

Kelas 1 : infeksi akar berada pada 0% - 5% (sangat rendah)

Kelas 2 : infeksi akar berada pada 6% - 25% (rendah)

Kelas 3 : infeksi akar berada pada 26% - 50% (sedang)

Kelas 4 : infeksi akar berada pada 51% - 75% (Tinggi)

Kelas 5 : infeksi akar berada pada 76% -100% (Sangat tinggi)

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah (1) kepadatan spora, (2) keragaman spora, (3) kelimpahan relatif dan (4) frekuensi relatif spora. Masing-masing parameter dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Shi et al., 2006):

$$\text{Kepadatan spora (spora)} = \frac{\text{Jumlah Spora}}{50 \text{ gram tanah}}$$

Keragaman spora (spora) = jumlah genus pada 50 gram tanah

$$\text{Kelimpahan relatif genus FMA (\%)} = \frac{\text{Jumlah Genus}}{\text{Total Spora}} \times 100\%$$

$$\text{Frekuensi relatif genus FMA (\%)} = \frac{\text{Jumlah sampel di temukan genus}}{\text{Total sampel}} \times 100\%$$

Kriteria penelitian sifat kimia tanah berdasarkan Balittanah (2009) dapat di lihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kriteria Penilaian Sifat Kimia Tanah

Sifat Tanah	Sangat Rendah	Rendah	Sedang	Tinggi	Sangat Tinggi
C (%)	<1,0	1,1-2,0	2,1-3,0	3,1-5,0	>5,0
N (%)	<0,1	0,1-0,20	0,21-0,5	0,51-0,75	>0,75
C/N	<5,0	5,0-7,9	8,0-12,0	12,1-17,0	>17
P ₂ O ₅ (pmm)	<5	5-10	11-15	16-20	>20
K (cmol/kg)	<0,1	0,1-0,3	0,4-0,5	0,6-1,0	>1,0
KTK (cmol/kg)	<5	5-16	17-24	25-40	>40
pH					
Sangat masam <4,5	Masam 4,5-5,5	Agak masam 5,6-6,5	Netral 6,6- 7,5	Agak Basa 7,6-8,5	Basa >8,5