

**EKSPLORASI CENDAWAN MIKORIZA ARBUSCULA PADA RHIZOSFER
DURIAN (*Durio zibethinus* Murr) BERDASARKAN SIFAT MORFOLOGI,
INFEKTIVITAS PADA INANG DAN POLA PITA ISOZIM**

TESIS

**Disusun Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan
Guna Memperoleh Gelar Magister Sains
Program Studi Biosains**



**Oleh :
Susilo
S900908013**


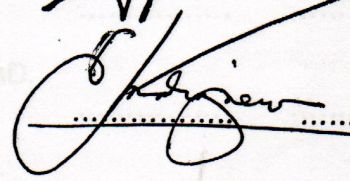
**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2011**

**KEANEKARAGAMAN CENDAWAN MIKORIZA ARBUSCULA PADA
RHIZOSFER AKAR TANAMAN DURIAN (*Durio zibethinus* Murr)
BERDASARKAN SIFAT MORFOLOGI, INFEKTIVITAS PADA INANG DAN
POLA PITA ISOZIM**

TESIS

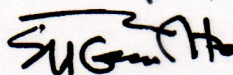
**Susilo
S900908013**

Telah disetujui oleh tim pembimbing

Komisi Pembimbing	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Pembimbing I	Prof. Drs. Suranto, MSc., PhD. NIP. 195708201985031004	2011
Pembimbing II	Dr. Edwi Mahajoeno, M.Si NIP. 196010251997021001	2011

Mengetahui

Ketua Program Studi Biosains
Program Pasca Sarjana



Dr. Sugiyarto, M.Si
NIP. 196704301992031002

**EKSPLORASI CENDAWAN MIKORIZA ARBUSCULA PADA RHIZOSFER
DURIAN (*Durio zibethinus* Murr) BERDASARKAN SIFAT MORFOLOGI,
INFEKTIVITAS PADA INANG DAN POLA PITA ISOZIM**

TESIS

Oleh :

Nama : Susilo

NIM : S900908013

**Telah dipertahankan di depan penguji dan
dinyatakan telah memenuhi syarat
pada tanggal 2011**

telah disetujui oleh tim penguji

Jabatan	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua	Dr. Sunarto, M.S. NIP. 1954060519910310022011
Sekretaris	Dr. Sugiyarto, M.Si NIP. 1967043019920310022011
Anggota Penguji	Prof. Drs. Suranto, MSc., PhD. NIP. 1957082019850310042011
	Dr. Edwi Mahajoeno, M.Si NIP. 1960102519970210012011

Mengesahkan

Direktur Program Pasca Sarjana UNS

Ketua Program Studi Biosains

Prof. Drs. Suranto, M.Sc, Ph.D
NIP. 195708201985031004

Dr. Sugiyarto, M.Si
NIP. 19670 4301992031002

PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PUBLIKASI TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa:

1. Tesis yang berjudul : " Keanekaragaman Cendawan Mikoriza Arbuscula pada Rhizosfer Akar Tanaman Durian (*Durio zibethinus* Murr) Berdasarkan Sifat Morfologi, Infektivitas pada Inang dan Pola Pita Isozim" ini adalah karya penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila ternyata di dalam naskah Tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia Tesis beserta gelar MAGISTER saya dibatalkan, serta diproses sesuai perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 Tahun 2003, pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).
2. Tesis ini merupakan hak milik Prodi Biosains PPs-UNS. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi tesis pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seijin Ketua Prodi Biosains PPs-UNS dan minimal satu kali publikasi menyertakan tim pembimbing sebagai *author*. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya satu semester (6 bulan sejak pengesahan Tesis) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan Tesis ini, maka Prodi Biosains PPs-UNS berhak mempublikasikannya pada jurnal ilmiah yang diterbitkan oleh Prodi Biosains PPs-UNS dan atau media ilmiah yang ditunjuk. Apabila saya melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka saya bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku.

a, Januari 2011
siswa,
Susilo
S900908013



EKSPLORASI CENDAWAN MIKORIZA ARBUSCULA PADA RHIZOSFER DURIAN (*Durio zibethinus* Murr) BERDASARKAN SIFAT MORFOLOGI, INFEKTIVITAS PADA INANG DAN POLA PITA ISOZIM

Susilo, Suranto dan Edwi Mahajoeno
Progam Studi Magister Biosains, Progam Pasca Sarjana
Universitas Sebelas Maret Surakarta

ABSTRAK

Eksplorasi cendawan mikoriza arbuskula (CMA) untuk penyediaan bibit tanaman bermikoriza secara komersial dapat meningkatkan produksi pertanian, perkebunan dan kehutanan. Oleh karena itu tanaman-tanaman yang digunakan untuk revegetasi lahan-lahan terdegradasi diinokulasi CMA sangat dibutuhkan. Pergerakan dua enzim *esterase* (EST) dan *peroxidase* (POD) dengan elektroforesis gel poliakrilamide telah digunakan untuk mengidentifikasi spesies cendawan mikoriza pada akar. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui keanekaragaman CMA pada tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr) pada ketinggian yang berbeda berdasarkan sifat morfologi, infektivitas CMA pada inang dan profil isozim.

Penelitian ini dilakukan di Kabupaten Karanganyar dengan membagi tempat pengambilan sampel menjadi tiga berdasarkan perbedaan ketinggian tempat. Zone I dengan ketinggian 100-400 mdpl, zone II dengan ketinggian 450-800 mdpl dan zone III pada ketinggian 850-1200 mdpl. Metode yang digunakan untuk mempelajari morfologi adalah metode tuang saring basah, metode pembersihan dan pewarnaan untuk uji kolonisasi CMA dan metode elektroforesis untuk mempelajari profil isozim. Analisis data yang digunakan meliputi deskriptif kualitatif untuk morfologi CMA dan kuantitatif untuk kolonisasi CMA dan profil isozim.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari ke tiga ketinggian ditemukan 9 CMA yaitu pada ketinggian pertama ditemukan *Glomus versiforme*, *Glomus sp1*, *Entropospora sp1* dan *Entropospora sp2*, pada ketinggian kedua ditemukan *Glomus mosseae*, *Acaulospora dentikulata* dan *Acaulospora sp* dan pada ketinggian ketiga ditemukan *Glomus sp1*, *Glomus sp2* dan *Gigaspora sp*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa genus *Glomus* mempunyai tingkat adaptasi cukup tinggi terhadap lingkungan dari pada genus lainnya sehingga *glomus* dapat ditemukan di ketiga ketinggian. Tingkat kolonisasi tertinggi terletak pada ketinggian pertama (T1 : 48,89%), sedangkan ketinggian lainnya adalah T2 : 46.56% dan T3 : 34.11%. Berdasarkan hasil elektroforesis dari 9 sampel CMA dengan enzim *esterase* dan *peroxidase* menunjukkan adanya perbedaan pada muncul tidaknya pita dan tebal tipisnya pita isozim.

Kata kunci: CMA, morfologi, infektivitas, isozim

Exsploration of Arbuscular Mycorrhizal Fungus in *Durio zibethinus* Murr Rhyzospher Based on Morphological, Host Infectivity and Isozyme Banding Pattern

Susilo, Suranto dan Edwi Mahajoeno
Program Study of Biosains, Post Graduate Program,
Sebelas Maret University of Surakarta

ABSTRACT

Exploration of arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) for mycorrhizal seedlings of commercial crops to increase farm production, agriculture and forestry. Therefore, the plants used for greening degraded land is required inoculated AMF. The mobilities of two enzymes, *esterase* (EST) and *peroxidase* (POD) during polyacrylamide gel electrophoresis have been used to identify species of mycorrhizal fungi in roots. The purpose of this study was to determine the diversity of AMF on fruit plant (*Durio zibethinus* Murr) at different altitudes on the basis of morphology, infectivity of AMF on host and isozyme profile.

This research was done in Karanganyar by divided the place into three place of sample based on the different of the height place. The first zone with height 100- 400mdpl, second zone is 450- 800 mdpl, and third zone is at 850- 1200mdpl. The method for study the morphology was filter wet pour method, clearing and staining method for testing AMF colonization and the electrophoresis method was used to study the isozyme profile. Analysis of the data used include quantitative descriptive for morphology and qualitative for colonization AMF and isozyme profiles.

The results showed that third of the altitude found 9 AMF that on first altitude was found *Glomus versiforme*, *Glomus sp1*, *Entropospora sp1* and *Entropospora sp2*, on second altitude was found *Glomus mosseae*, *Acaulospora dentikulata* and *Acaulospora sp* and on third altitude was found *Glomus sp1*, *Glomus sp2* and *Gigaspora sp*. These results indicate that the *Glomus* have a fairly high level of adaptation to the environment so genus *glomus* can be found at an altitude of third. The highest colonization level lies at an altitude of the first (T1: 48.89%), while other altitude T2: 46.56% and T3: 34.11%. Based on the electrophoresis results of 9 samples AMF with *esterase* and *peroxidase* showed a difference in appear or not of ribbons and thin of thick ribbons of isozyme bands.

Key word: FMA, morphology, infectivity, isozyme

PERSEMBAHAN

*Karya ini kami persembahkan kepada
Kedua Orang Tua dan
Saudara Tercinta*

TERIMA KASIH

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil' alamin segala puji syukur dipanjatkan ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya yang tidak terhingga sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul: "Eksplorasi Cendawan Mikoriza Arbuskula (CMA) pada Rhizosfer Durian (*Durio zibethinus* Murr) Berdasarkan Sifat Morfologi, Infektivitas pada Inang dan Pola Pita Isozim". Di dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi: pertama, penentuan lokasi penelitian dan cara pengambilan sampel. Kedua, ekstraksi sample dan pengamatan morfologi serta penghitungan kolonisasi CMA. Ketiga, kultur trapping dari CMA yang ditemukan pada tanaman inang *Pueraria phaseoloides* serta analisis isozim dengan metode elektroforesis.

Pengambilan sampel dilakukan di kabupaten Karanganyar dengan membagi menjadi tiga zona ketinggian. Metode tuang saring basah digunakan untuk mengetahui morfologi daripada CMA yang ditemukan, sedangkan uji infektivitas CMA dan profil isozim dilakukan dengan metode pembersihan dan pengecatan serta SDS-PAGE. Hasil penelitian menunjukkan pada rhizosfer tanaman durian yang berbeda ketinggian ditemukan 9 spesies CMA, yaitu pada ketinggian pertama ditemukan *Glomus versiforme*, *Glomus sp1*, *Entropospora sp1* dan *Entropospora sp2*, pada ketinggian kedua ditemukan *Glomus mosseae*, *Acaulospora dentikulata* dan *Acaulospora sp* dan pada ketinggian ketiga ditemukan *Glomus sp1*, *Glomus sp2* dan *Gigaspora sp*. Tingkat kolonisasi tertinggi terletak pada ketinggian pertama (T1 : 48,89%), sedangkan ketinggian lainnya adalah T2 : 46.56% dan T3 : 34.11%. Berdasarkan pola pita isozim dari 9 sampel CMA dengan enzim esterase dan peroxidase menunjukkan adanya perbedaan pada muncul tidaknya pita dan tebal tipisnya pita isozim.

Nilai penting dari penelitian ini adalah menggali keragaman CMA pada rhizosfer tanaman durian dengan perbedaan ketinggian tempat sebagai sumber informasi mengenai variasi morfologi, tingkat infektivitas terhadap inang dan profil isozim. Informasi ini dapat digunakan sebagai data pendukung terhadap penelitian-penelitian khususnya yang berkaitan dengan CMA dan sebagai sumber koleksi plasma nutfah Indonesia.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan thesis ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu masukan yang berupa kritik dan saran yang

membangun sangat berguna bagi penulis. Semoga thesis ini bermanfaat bagi penulis dan semua pihak yang membutuhkan.

Surakarta, Pebruari 2011

Penulis,

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SAW, berkat limpahan rahmat, hidayah dan petunjuk yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul "Eksplorasi Cendawan Mikoriza Arbuscula (CMA) pada Rhizosfer Durian (*Durio zibethinus* Murr) Berdasarkan Sifat Morfologi, Infektivitas pada Inang dan Pola Pita Isozim". Tak lupa penulis mengucapkan terima kasih setulusnya kepada yang terhormat:

1. Prof. Drs. Suranto, M.Sc, Ph.D, selaku direktur PPs UNS yang telah memberikan ijin penelitian dan sarana penunjang selama kuliah, serta selaku Pembimbing I yang telah memberikan banyak bimbingan , arahan serta petunjuk kepada penulis.
2. Dr. Sugiyarto, M.Si, selaku ketua Prodi Biosains yang telah memberikan ijin penelitian dan sarana yang mendukung selama kuliah dan penelitian, serta selaku penguji tesis yang telah memberikan banyak masukan.
3. Dr. Sunarto, M.S. selaku penguji tesis yang telah meluangkan waktunya memberikan saran dan masukan kepada penulis.
4. Dr. Edwi Mahajoeno, M.Si, selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan petunjuk, memberi dorongan dan arahan kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian.
5. Semua dosen di Prodi Biosains yang telah memberikan bantuan dan pengarahan serta dorongan yang tiada henti-hentinya.
6. Kepala dan staf Laboratorium Pusat MIPA Sub Laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah mengizinkan dan membantu penulis dalam melakukan penelitian.
7. Kepala dan staf Laboratorium Fakultas Kehutanan Universitas Gajah Mada Yogyakarta yang telah mengizinkan penulis melakukan penelitian dan memberikan bantuan sarana dan prasarana penelitian.
8. Teman-teman Biosains angkatan 2008 yang telah memberikan bantuan, support dan kerjasamanya.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT	vi
PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
UCAPAN TERIMA KASIH	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II. LANDASAN TEORI.....	7
A. Tinjauan Pustaka	7
1. Cendawan Mikoriza Arbuskula	7
2. Durian	16
3. Karakterisasi Pola Pita Protein	19
B. Kerangka Pemikiran	23
C. Hipotesis	25
BAB III. METODE PENELITIAN.....	26
A. Waktu dan Tempat Penelitian	26
B. Alat dan Bahan	27
C. Prosedur Penelitian	28

D. Analisis Data	35
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
A. Morfologi CMA	38
B. Infektivitas CMA	45
C. Pola Pita Isozim CMA	50
BAB V. KESIMPULAN dan SARAN	62
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Taksonomi Cendawan Mikoriza Arbuskula (Walker and Trappe, 1993)	12
Tabel 2. Analisis kimia fisika tanah dari ketiga ketinggian tempat di Kabupaten Karanganyar	37
Tabel 3. Jenis CMA yang ditemukan pada rhizosfer akar tanaman durian dari ketiga ketinggian	39
Tabel 4. Karakterisasi morfologi CMA pada rhizosfer akar tanaman durian	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Infeksi CMA pada inang yang menunjukkan struktur arbuskula didalam sel kortex akar	11
Gambar 2. Bagan kerangka pemikiran penelitian	24
Gambar 3. Peta kontur Kabupaten Karanganyar	26
Gambar 4. CMA yang ditemukan pada ketinggian pertama (T1: 100-400 mdpl)	40
Gambar 5. CMA yang ditemukan pada ketinggian kedua (T2: 400 - 800 mdpl)	41
Gambar 6. CMA yang ditemukan pada ketinggian ketiga (T3: 800 - 1200 mdpl)	42
Gambar 7. Dendogram hubungan kekerabatan diantara spesies CMA berdasarkan ciri morfologi	44
Gambar 8. Grafik tingkat kolonisasi CMA berdasarkan ketinggian tempat	46
Gambar 9. Zimogram pola pita isozim CMA dengan pewarna esterase	52
Gambar 10. Dendogram pola pita isozim CMA dengan pewarna esterase	54
Gambar 11. Zimogram pola pita isozim CMA dengan pewarna peroxidase	55
Gambar 12. Dendogram pola pita isozim CMA berdasarkan pewarna peroxidase	56
Gambar 13. Dendogram pola pita protein CMA dengan pewarna esterase dan peroxidase	58

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Komposisi Bahan Kimia untuk Analisis Isozim	70
Lampiran 2. Hasil penghitungan kolonisasi CMA	72
Lampiran 3. Pola pita isozim CMA dengan pewarna esterase	74
Lampiran 4. Pola pita isozim CMA dengan pewarna peroxidase	74
Lampiran 5. Data biner isozim esterase pada sembilan sampel CMA	75
Lampiran 6. Data biner isozim peroxidase pada sembilan sampel CMA	75
Lampiran 7. Uji Anova dan LSD tingkat kolonisasi CMA berdasarkan ketinggian tempat.....	76
Lampiran 8. Analisis dendogram CMA berdasarkan data morfologi.....	77
Lampiran 9. Analisis dendogram CMA berdasarkan data enzim esterase.....	78
Lampiran 10. Analisis dendogram CMA berdasarkan data enzim peroxidase.....	79
Lampiran 11. Analisis dendogram CMA berdasarkan data enzim esterase dan peroxidase	80
Lampiran 12. Pengambilan sampel dan trapping dengan kultur pot	81
Lampiran 13. Gambar kolonisasi CMA.....	81
Lampiran 14. Persiapan dan proses elektroforesis	82
Lampiran 15. Tempat Pengambilan Sampel	83
Lampiran 16. Analisis kimia fisika tanah sampel	85

DAFTAR SINGKATAN

AMF	: Arbuscular Micorrhizal Fungus
ANOVA	: Analisis of Varian
APS	: Amonium Persulat
CMA	: Cendawan Mikoriza Arbuskula
EST	: Esterase
LSD	: Least Square Differences
mdpl	: meter diatas permukaan laut
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	: Natrium Phosphat
NaH ₂ PO ₄	: Amonium Hidroksida
NaCl	: Natrium klorida
PAGE	: Polyacrilamida Gel Electrophoresis
PBS	: Phosphat Buffered Saline Solution
POD	: Peroxidase
PVLG	: Polyvinyl Lactoglycerol
PVPP	: Polyvinyl-polypyrrolidone
R _f	: Relative Furguson
SDS	: Sodium Deducyl sulfat
sp	: Spesies
ppm	: part per million
TEMED	: N'-N'-N'-N'- tetra-methyl-ethylenedinamine

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kondisi iklim di Indonesia seperti curah hujan dan suhu yang tinggi menyebabkan tanah-tanah di Indonesia berpotensi menjadi tanah marginal. Tanah marginal merupakan tanah yang rapuh serta mudah terdegradasi menjadi lahan kritis. Tanah marginal umumnya sulit sekali untuk ditumbuhi tanaman karena pada lahan marginal umumnya tanahnya berkapur dan air berlimpah namun jauh dibawah tanah. Sehingga tanaman sulit untuk tumbuh karena kekurangan nutrisi dan tidak dapat menjangkau sumber air. Meski Indonesia kerap disebut-sebut sebagai negeri yang subur dan kaya akan sumber daya alam, ternyata di tanah air banyak pula terdapat tanah marginal dan lahan kritis. Jumlah lahan kritis di Indonesia semakin meningkat seiring adanya pembukaan dan penggundulan hutan, penambangan, serta eksploitasi yang berlebihan terhadap tanah. Menurut data dari Direktorat Jenderal Rehabilitasi Lahan dan Perhutanan Sosial (2008), luas lahan kritis Indonesia mencapai 77,8 juta hektar, yang terdiri dari lahan agak kritis mencapai 47,6 juta hektar, lahan kritis seluas 23,3 juta hektar, dan lahan sangat kritis mencapai 6,8 juta hektar.

Usaha pertanian yang dilakukan pada lahan-lahan marginal semacam ini akan banyak menghadapi kendala biofisik berupa sifat fisik yang tidak baik, kurang hara, keracunan unsur, serangan hama dan penyakit. Ketidak tersediaan unsur hara bukan hanya disebabkan karena tanahnya yang miskin, tetapi terjadi karena erosi dan fiksasi hara yang tinggi sehingga tidak tersedia bagi tanaman. Erosi cenderung mengangkut lapisan tanah yang relatif subur dan meninggalkan

lapisan tanah bawah yang miskin hara.

Mengingat begitu luasnya lahan tidak produktif dan laju degradasi lahan yang semakin tinggi, maka usaha-usaha untuk revegetasi dan menekan laju lahan kritis sudah menjadi kebutuhan yang mendesak. Usaha konservasi tanah dan air secara fisik, kimia dan biologi sudah banyak dilakukan, namun hasil yang diperoleh belum optimal. Oleh karenanya upaya lain harus diusahakan sebagai pelengkap dari usaha-usaha yang telah dilakukan. Salah satu diantaranya adalah penerapan bioteknologi cendawan mikoriza arbuscula (CMA) pada tanaman. Pemanfaatan mikoriza diyakini mampu memperbaiki kondisi tanah dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Cendawan mikoriza merupakan satu kelompok jamur tanah yang dapat bersimbiosis dengan akar tanaman (Abimanyu. 2004). Struktur daripada CMA ini adalah mempunyai hifa yang panjang dan diameter yang kecil, sehingga mampu masuk kedalam pori-pori tanah yang tidak dapat dilakukan oleh akar tanaman. CMA dapat menghasilkan enzim fosfatase yang dapat memecah unsur P terfiksasi menjadi unsur P yang siap digunakan oleh tanaman (Pearson *et al.* 2006). Bolan (1991) dan Muin (2000) menambahkan bahwa pemberian CMA dapat meningkatkan serapan unsur P pada tanah-tanah yang kahat P. Tanaman yang bersimbiosis dengan CMA mampu beradaptasi terhadap kondisi stress air atau kekeringan.

Prinsip kerja dari simbiosis ini adalah mikoriza menginfeksi sistem perakaran tanaman kemudian memproduksi jalinan hifa secara intensif (John *et al.* 2001). Hifa tersebut mampu meningkatkan kapasitas penyerapan unsur hara terutama fosfor sampai pada daerah yang tidak mampu dijangkau akar (Irrazabal, 2005). Sedangkan keuntungan yang didapat mikoriza adalah mikoriza memperoleh sumber makanan dari hasil metabolisme tanaman. Akar tanaman

digunakan mikoriza sebagai tempat untuk tumbuh dan berkembang biak.

CMA dapat berasosiasi dengan hampir 80% jenis tanaman, dimana tiap jenis tanaman dapat juga berasosiasi dengan satu/lebih jenis CMA (Reddy *et al*, 2005). Namun tingkat populasi dan komposisi jenis sangat bervariasi dan dipengaruhi oleh karakteristik tanaman dan sejumlah faktor lingkungan seperti suhu, pH, kelembaban tanah, kandungan fosfor dan nitrogen. Suhu terbaik untuk perkembangan CMA adalah pada suhu 30 °C (Setiadi, 2001). Telah banyak penelitian yang membuktikan bahwa inokulum CMA memberikan respon positif terhadap pertumbuhan tanaman. Husna (2007) menyatakan bahwa pemberian inokulum CMA memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan dan produktifitas tanaman jati (*Tectona grandis* L.f) pada skala persemaian. Andadari (2005) menambahkan, pemberian inokulum CMA pada perbanyakan bibit murbei (*Morus alba var Kanva- 2* L.) dengan cara stek menunjukkan hasil yang lebih baik dari pada tanpa pemberian inokulum CMA. Schreiner, R. P. and K. L. Mihara (2009) menyebutkan bahwa keanekaragaman CMA pada akar pohon anggur (*Vitis vinifera* L.) tidak bergantung pada perbedaan musim dan spesies CMA yang paling banyak adalah *Glomus sp.*

Eksplorasi CMA dan penyediaan bibit tanaman yang bermikoriza secara komersial, dapat meningkatkan produksi pertanian, perkebunan dan kehutanan. Inokulasi tanaman-tanaman yang digunakan untuk revegetasi lahan-lahan terdegradasi ini dengan CMA sangat dibutuhkan terutama untuk lahan-lahan yang berpotensi kritis. Salah satau tanaman yang dapat digunakan untuk revegetasi adalah tanaman durian (*Durio zibenithus* Murr). Tanaman durian adalah tanaman hortikultura yang memiliki nilai ekonomis tinggi (Deni, 2007). Daging buah yang manis dan aroma yang khas menjadi daya tarik bagi

sebagian besar orang. Setiap 100 gram isi durian (tanpa biji) mengandung 2,7 gram protein, 3,4 gram lemak, 27,9 gram karbohidrat, 40 miligram kalsium, 1,9 miligram zat besi, 150 miligram vitamin A, 23 miligram vitamin C dan 153 kalori (Kamil, 2007). Tanaman durian dapat tumbuh pada ketinggian 100-1000 dpl dan ketinggian pohon dapat mencapai 40 meter (Steenis, 1997). Selain hasil buahnya, kayu dari tanaman durian dapat dimanfaatkan untuk industri mebel. Tanaman ini termasuk tanaman dengan system perakaran dalam, sehingga membutuhkan kandungan air tanah dengan kedalaman cukup.

Pemberian inokulum CMA pada tanaman diyakini dapat membantu proses penyerapan hara dan air yang tidak terjangkau oleh akar. Sehingga perlu diteliti jenis CMA yang paling dominan pada perakaran tanaman durian untuk selanjutnya dapat dikembangkan dan digunakan untuk membantu revegetasi lahan yang kritis. Kegiatan ini sangat penting dilakukan karena untuk mengetahui pola distribusi jenis-jenis CMA potensial dan telah beradaptasi dengan kondisi daerah setempat. Mikroba ini dapat diisolasi, dimurnikan dan dikembangkan sebagai agen hayati melalui serangkaian penelitian di laboratorium dan pengujian di lapangan (*field test*). Dengan cara ini dapat diseleksi dan dihasilkan isolat-isolat CMA unggul yang teruji efektif.

Untuk mengetahui karakteristik CMA tidak hanya bergantung pada sifat morfologi saja, tetapi dibutuhkan pula data molekuler guna mendukung data-data morfologi supaya jelas keragamannya. Salah satu pendekatan molekuler yang dapat digunakan adalah dengan analisis isozim. Isozim adalah penanda genetik yang merupakan produk langsung dari gen yang berupa protein dan enzim. Isozim bisa digunakan dalam identifikasi variasi genetik karena setiap individu yang sama bahkan pada dalam jaringan yang sama memungkinkan adanya

enzim yang berbeda-beda (Etikawati dan Suratman, 2008). Perbedaan antara isozim tersebut karena adanya lebih dari satu gen dalam suatu individu yang mengkode tiap isozim. Pentingnya suatu organisme mempunyai isozim yang berbeda yang mampu mengkatalis reaksi yang sama adalah sebagai perbedaan respon isozim terhadap faktor lingkungan. Artinya jika faktor lingkungan berubah, maka isozim yang paling aktif dalam lingkungan tersebut akan melaksanakan fungsinya dan membantu individu tersebut bertahan hidup.

Christine, *et al* (1985) menyebutkan untuk mengetahui isozim dari mikoriza dapat digunakan metode gel elektroforesis. Elektroforesis merupakan proses bergeraknya molekul enzim bermuatan yang telah dialiri suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran. Dengan demikian elektroforesis dapat digunakan untuk separasi makromolekul (seperti protein dan asam nukleat). Posisi molekul yang terseparasi pada gel dapat dideteksi dengan pewarnaan atau autoradiografi.

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti akan mengangkat masalah bagaimana keanekaragaman cendawan mikoriza arbulcula (CMA) pada akar tanaman durian berdasarkan sifat morfologi, infektivitas pada inang dan pola pita isozim.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah variasi morfologi CMA yang ditemukan di rhizosfer tanaman durian dengan perbedaan ketinggian tempat?
2. Bagaimanakah infektivitas CMA yang ditemukan di rhizosfer tanaman durian dengan perbedaan ketinggian tempat?
3. Adakah variasi profil isozim CMA yang ditemukan pada tanaman durian dengan perbedaan ketinggian tempat?

C. Tujuan

1. Mengetahui variasi morfologi CMA yang ditemukan di rhizosfer tanaman durian pada ketinggian tempat yang berbeda.
2. Menguji terjadinya variasi infektivitas CMA yang ditemukan di rhizosfer tanaman durian dengan perbedaan ketinggian tempat.
3. Menguji ada tidaknya variasi pola pita isozim CMA yang ditemukan di rhizosfer tanaman durian dengan perbedaan ketinggian tempat..

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat antara lain:

1. Mengetahui keanekaragaman CMA pada rhizosfer tanaman durian berdasarkan sifat morfologi, infektivitas pada inang dan pola pita isozim.
2. Memperkaya informasi taksonomi CMA dengan pendekatan molekuler melalui profil protein CMA.
3. Digunakan sebagai acuan untuk pengembangan ilmu pengetahuan khususnya yang berkaitan dengan penelitian CMA.

BAB II
LANDASAN TEORI
A. Tinjauan Pustaka

1. Cendawan Mikoriza Arbuskula (CMA)

Nama mikoriza pertama kali dikemukakan oleh ilmuwan dari Jerman bernama Frank pada tanggal 17 April 1885. Tanggal ini kemudian disepakati oleh para pakar sebagai titik awal sejarah mikoriza. Kata mikoriza berasal dari bahasa Yunani yaitu *myces* (cendawan) dan *rhiza* (akar) (Sieverding, 1991). Mikoriza adalah suatu bentuk hubungan simbiosis mutualisma antara cendawan dan perakaran tumbuhan tingkat tinggi (Abimanyu, 2004). Simbiosis ini terjadi saling menguntungkan, cendawan memperoleh karbohidrat dan unsur pertumbuhan lain dari tanaman inang, sebaliknya cendawan memberi keuntungan kepada tanaman inang, dengan cara membantu tanaman dalam menyerap unsur hara terutama unsur P (Pearson *et al.* 2006). Cendawan merupakan mikroorganisme eukariotik, memproduksi spora, tidak berklorofil, memperoleh nutrisi dengan cara absorpsi, bereproduksi secara seksual dan aseksual, mempunyai struktur somatik dalam bentuk hifa, dan berdinding sel yang terdiri atas kitin dan selulosa (Vierheilig, *et al.* 2005, Riza, 2008). Cendawan ini dicirikan oleh adanya struktur vesikel dan/atau arbuskel. Ada yang membentuk kedua struktur ini dalam akar yang dikolonisasi, sehingga lama sebelumnya cendawan dari kelompok ini dikenal sebagai cendawan vesikuler-arbuskuler. Struktur utama CMA adalah Arbuskula, vesikula, hifa eksternal dan spora.

Arbuskula

Arbuskula adalah struktur hifa yang bercabang-cabang seperti pohon-pohon kecil yang mirip haustorium (membentuk pola dikotom), berfungsi sebagai tempat pertukaran nutrisi antara tanaman inang dengan jamur. Struktur ini mulai terbentuk 2-3 hari setelah infeksi, diawali dengan penetrasi cabang hifa lateral yang dibentuk oleh hifa ekstraseluler dan intraseluler ke dalam dinding sel inang.

Arbuskula dengan cepat mengalami desintegrasi atau terjadi lisis/pecah dan membebaskan P ke tanaman inang (Muin, 2000). Luas permukaan arbuskula aktif secara metabolik per meter akar berkurang dengan waktu, sedangkan hifa mempunyai area permukaan lebih besar sesudah 63 hari setelah tanam. Arbuskula menyediakan area permukaan yang lebih luas untuk pertukaran metabolik. Arbuskula merupakan struktur yang bersifat labil di dalam akar tanaman. Sifat kelabilan tersebut sangat tergantung pada metabolisme tanaman, bahan makanan dan intensitas radiasi matahari. Pembentukan struktur tersebut dipengaruhi jenis tanaman, umur tanaman, dan morfologi akar tanaman (Brundrett, 1996).

Vesikel

Vesikel merupakan suatu struktur berbentuk lonjong atau bulat, mengandung cairan lemak, yang berfungsi sebagai organ penyimpanan makanan atau berkembang menjadi klamidospora, yang berfungsi sebagai organ reproduksi dan struktur tahan. Vesikel selain dibentuk secara interseluler ada juga yang secara intraseluler. Pembentukan vesikel diawali dengan adanya perkembangan sitoplasma hifa yang menjadi lebih padat, multinukleat dan mengandung partikel lipid dan glikogen.

Sitoplasma menjadi semakin padat melalui proses kondensasi, dan organel semakin sulit untuk dibedakan sejalan dengan akumulasi lipid selama maturasi (proses pendewasaan).

Vierheilig (2005) menyatakan bahwa vesikel biasanya dibentuk lebih banyak di luar jaringan korteks pada daerah infeksi yang sudah tua, dan terbentuk setelah pembentukan arbuskul. Jika suplai metabolik dari tanaman inang berkurang, cadangan makanan itu akan digunakan oleh cendawan sehingga vesikula mengalami degenerasi. Pada ordo Glomales tidak semua genus memiliki vesikula. *Gigaspora* dan *Scutellospora* adalah dua genus yang tidak membentuk vesikula di dalam akar. Oleh karena itu, ada dua pendapat yaitu ada yang menyebut cendawan mikoriza vesikula-arbuskula dan ada pula yang menggunakan istilah CMA (Rao, 1994). Nama vesikula-arbuskula tampaknya berdasarkan karakteristik struktur arbuskula yang terdapat di dalam sel-sel korteks dan vesikula yang terdapat di dalam atau di antara sel-sel korteks akar tanaman.

Hifa eksternal

Hifa eksternal merupakan struktur lain dari CMA yang berkembang di luar akar. Hifa ini berfungsi menyerap hara dan air di dalam tanah. Adanya hifa eksternal yang berasosiasi dengan tanaman akan berperan penting dalam perluasan bidang absorpsi akar sehingga memungkinkan akar menyerap hara dan air dalam jangkauan yang lebih luas. Distribusi hifa eksternal ini sangat dipengaruhi oleh lingkungan abiotik dan biotik seperti sifat kimia, fisika tanah, kandungan bahan organik, mikroflora dan mikrofauna.

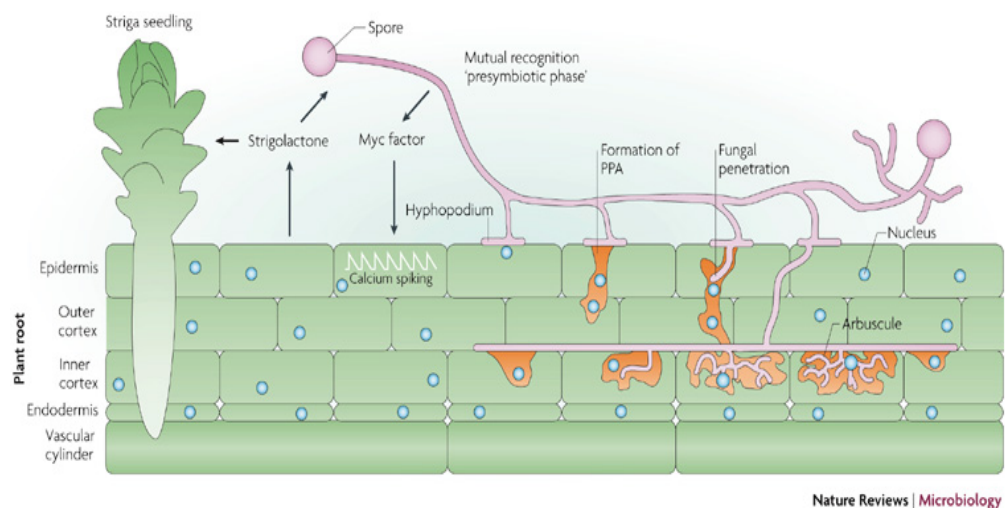
Spora

Spora merupakan propagul yang bertahan hidup dibandingkan dengan hifa yang ada di dalam akar tanah. Spora terdapat pada ujung hifa eksternal dan dapat hidup selama berbulan-bulan, bahkan bertahun-tahun. Perkecambahan spora bergantung pada lingkungan seperti pH, temperatur, dan kelembaban tanah serta kadar bahan organik. CMA mempunyai peran biologis yang cukup penting khususnya bagi tanaman yaitu (1) meningkatkan penyerapan hara, (2) sebagai pelindung hayati (bioprotektor), (3) meningkatkan ketahanan tanaman terhadap kekeringan, dan (4) berperan sinergis dengan mikroorganisme lain.

Berdasarkan struktur tubuh dan cara infeksi terhadap tanaman inang, mikoriza dapat digolongkan menjadi 2 kelompok besar (tipe) yaitu ektomikoriza dan endomikoriza (Rao, 1994). Namun ada juga yang membedakan menjadi 3 kelompok dengan menambah jenis ketiga yaitu peralihan dari 2 bentuk tersebut yang disebut ektendomikoriza. Pola asosiasi antara cendawan dengan akar tanaman inang menyebabkan terjadinya perbedaan morfologi akar antara ektomikoriza dengan endomikoriza. Pada ektomikoriza, jaringan hifa cendawan tidak sampai masuk ke dalam sel tapi berkembang diantara sel kortek akar membentuk "hartig net dan mantel" dipermukaan akar. Sedangkan endomikoriza, jaringan hifa cendawan masuk ke dalam sel kortek akar dan membentuk struktur yang khas berbentuk oval yang disebut vesikel dan sistem percabangan hifa yang disebut arbuskula, sehingga endomikoriza disebut juga vesicular-arbuscular micorrhizae (VAM)

Cendawan mikoriza arbuskuler (CMA) mampu membentuk simbiosis dengan sebagian besar (80%) famili tanaman darat (Irrazabal,

2005). Eksplorasi jenis – jenis CMA dapat dilakukan pada berbagai ekosistem yang masih alami maupun yang telah mengalami gangguan, dari kegiatan ini dapat diidentifikasi dan dipetakan jenis-jenis CMA dominan yang spesifik terdapat di suatu daerah. Kegiatan ini sangat penting dilakukan karena untuk mengetahui pola distribusi jenis-jenis CMA potensial dan telah beradaptasi dengan kondisi daerah setempat. Mikroba ini dapat diisolasi, dimurnikan dan dikembangkan sebagai agen hayati melalui serangkaian penelitian di laboratorium dan pengujian di lapangan (*field test*). Dengan cara ini dapat diseleksi dan dihasilkan isolat-isolat CMA unggul yang teruji efektif.



Gambar 1. . Infeksi CMA pada inang yang menunjukkan struktur arbuskula didalam sel korteks akar.(Parniske M, 2008)

Mikoriza arbuskula dapat menginfeksi akar tanaman dan menembus korteks namun tidak sampai xylem (Johnson, D. *et al.* 2003). Dalam siklus hidupnya cendawan membentuk hifa eksternal yang berukuran jauh lebih kecil dari akar tanaman sehingga secara fisik dapat menembus pori tanah yang tidak dapat ditembus oleh akar tanaman dan secara kimia menunjukkan bahwa hifa ini menghasilkan fosfatase yang dapat membantu tanaman menggunakan P dalam bentuk organik (Haug, I. 2010).

Pada akhir-akhir ini penggunaan teknik molekuler untuk taksonomi telah digunakan, selain teknik-teknik konvensional. Taksonomi CMA terbaru dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan taksonomi terbaru ini spesies dalam kelompok CMA berjumlah 176, masing-masing 32 *Acaulospora*, 4 *Entrophospora*, 3 *Archaeospora*, 98 *Glomus*, 2 *Paraglomus*, 8 *Gigaspora*, dan 29 *Scutellospora*.

Table 1. Taksonomi Cendawan Mikoriza Arbuskula Walker and Trappe (1993)

Filum	Ordo	Sub-ordo	Famili	Genus
Zygomycota	Glomeromycota	Glomineae	Glomaceae	<i>Glomus</i>
			Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>
				<i>Entrophospora</i>
			Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>
			Paraglomaceae	<i>Paraglomus</i>
			Gigasporineae	<i>Gigasporaceae</i>
			<i>Gigaspora</i>	

Populasi mikrobia dibagian perakaran (rizosfer)

Tanah didaerah perakaran tanaman merupakan sistem ekologi yang dinamis. Daerah perakaran tanaman dibagi menjadi dua bagian yaitu rizosfer dan bagian tanah (*bulk soil*). Dalam konsep ini rizosfer merupakan bagian ekosistem yang lebih dinamis karena adanya eksudat akar dan mikrobia tanah. Adanya mikrobia tersebut berpengaruh secara langsung maupun tidak langsung terhadap pertumbuhan suatu tanaman (Overbeek dan Elsas, 1995).

Di rhizosfer tanah selain cendawan juga terdapat mikrobia-mikrobia yang lain seperti bakteri, algae, protozoa dan lain-lain. Dibagian rizosfer ini mikrobia memperoleh sumber nutrient yang berasal dari eksudat akar.

Populasi mikrobial di dalam tanah dipengaruhi beberapa faktor yaitu jumlah dan macam zat hara, kelembaban, tingkat aerasi, suhu, pH tanah dan perlakuan pada tanah seperti pemupukan (Rao, 1994). Pengolahan tanah yang intensif akan merusak jaringan hipa eksternal cendawan mikoriza. Penelitian McGonigle dan Miller (1993), menunjukkan bahwa pengolahan tanah minimum akan meningkatkan populasi mikoriza dibanding pengolahan tanah konvensional.

Penyebaran

Faktor lingkungan sangat berpengaruh terhadap perkecambahan spora cendawan mikoriza. Kondisi lingkungan dan edafik yang cocok untuk perkecambahan biji dan pertumbuhan akar tanaman biasanya juga cocok untuk perkecambahan spora cendawan. Cendawan pada umumnya memiliki ketahanan cukup baik pada rentang faktor lingkungan fisik yang lebar. Mikoriza tidak hanya berkembang pada tanah berdrainase baik, tapi juga pada lahan tergenang seperti pada padi sawah (Solaiman dan Hirata, 1995). Bahkan pada lingkungan yang sangat miskin atau lingkungan yang tercemar limbah berbahaya, cendawan mikoriza masih memperlihatkan eksistensinya (Aggangan et al, 1998). Sifat cendawan mikoriza ini dapat dijadikan sebagai dasar dalam upaya bioremediasi lahan kritis.

Teknologi produksi inokulan CMA

Cara yang paling umum dipakai untuk memperbanyak inokulan CMA adalah dengan kultur pot dimana CMA tertentu yang telah diketahui keefektifannya diinokulasikan pada tanaman inang tertentu. Berbagai macam bahan padat seperti tanah, pasir, zeolit, expanded clay, dan gambut banyak digunakan sebagai medium pertumbuhan/bahan pembawa.

Simanungkalit dan Riyanti (1999) memperbanyak *Glomus fasciculatum* pada medium campuran pasir kuarsa dan arang sekam steril (dengan perbandingan volume 3:1) dengan jagung sebagai tanaman inang yang diberi larutan hara.

Produksi inokulan tentu tidak bermasalah seandainya CMA dapat ditumbuhkan pada kultur murni seperti bakteri rhizobia. Bila spora yang akan digunakan sebagai inokulan maka produksi dapat dilakukan dalam kultur pot dengan menggunakan berbagai tanaman inang pada medium tanah steril. Berbagai tanaman yang dapat dipakai sebagai tanaman misalnya jagung (*Zea mays*), rumput bahia (*Paspalum notatum*), rumput guinea (*Panicum maximum*), sorghum (*Sorghum bicolor*), *Purarea sp.* Setelah tanaman mencapai umur tertentu spora dipisahkan dengan menggunakan teknik saringan basah dan dekantasi. Tapi prosedur ini sangat makan waktu dan tenaga, sehingga tidak praktis bila tujuannya menyediakan inokulan spora untuk skala komersial. Selain itu juga kemungkinan terjadinya kontaminasi oleh jenis CMA lain dan mikroorganisme-mikroorganisme lain yang tidak diinginkan. Spora yang akan digunakan harus betul-betul spora murni dari suatu spesies tertentu. Ini hanya mungkin diperoleh bila betul-betul berasal dari suatu spora tunggal. Metode untuk memperbanyak inokulan dari spora tunggal telah dikembangkan dengan menggunakan satu spora untuk menginokulasi tanaman inang pada media tanah steril. Penggunaan lebih dari satu spora untuk menginokulasi tanaman inang mungkin menghasilkan spora dari spesies CMA yang berbeda, karena dua spora yang kelihatannya sama belum tentu memiliki sifat genetis yang sama.

Disamping untuk tanaman pangan, penghutanan kembali lahan alang-alang juga sangat diperlukan untuk memperbaiki kondisi hidrologi di wilayah tersebut dan daerah hilirnya. Kegagalan program reboisasi yang dilakukan di lahan alang-alang dapat diatasi dengan menginokulasikan mikoriza pada bibit tanaman penghijauan. Bibit yang sudah bermikorisa akan mampu bertahan dari kondisi yang ekstrim dan berkompetisi dengan alang-alang. Penelitian Ba *et al* (2000) yang dilakukan pada tanah kahat hara menunjukkan bahwa inokulasi ektomikoriza pada bibit tanaman *Azelia africana* dapat meningkatkan pertumbuhan bibit dan serapan hara oleh tanaman hutan tersebut. Pentingnya mikoriza didukung oleh penemuan bahwa tanaman asli yang berhasil hidup dan berkembang 81% adalah bermikoriza. Suherman (2007) menambahkan pemberian CMA dapat meningkatkan pertumbuhan bibit, hasil serta rendemen minyak nilam (*Pogostemon cablin Benth*).

Penelitian mengenai mikoriza telah mulai banyak dilakukan, bahkan usaha untuk memproduksinya telah mulai banyak dirintis. Hal ini disebabkan oleh peranannya yang cukup membantu dalam meningkatkan kualitas tanaman. Seperti yang disampaikan oleh Yusnaini (1998), bahwa CMA dapat membantu meningkatkan produksi kedelai pada tanah ultisol di Lampung. Bahkan pada penelitian lebih lanjut dilaporkan bahwa penggunaan CMA ini dapat meningkatkan produksi jagung yang mengalami kekeringan sesaat pada fase vegetatif dan generatif (Yusnaini dkk., 1999). Setiadi (2003), menyebutkan bahwa mikoriza juga sangat berperan dalam meningkatkan toleransi tanaman terhadap kondisi lahan kritis, yang berupa kekeringan dan banyak terdapatnya logam-logam berat. Mencermati kondisi

demikian maka dapat disepakati jika terdapat komentar mengenai potensi mikoriza yang cukup menjanjikan dalam bidang agribisnis. Namun demikian masih terdapat beberapa kendala yang perlu dihadapi dalam upaya pemanfaatan mikoriza ini, diantaranya seperti yang disampaikan oleh Simanungkalit (2003), bahwa upaya untuk memproduksi inoculan mikoriza dalam skala besar masih sulit. Di samping hal-hal tersebut penggunaan mikoriza ini masih mendapatkan kesulitan karena penggunaannya yang dalam jumlah relatif besar dan lamanya waktu untuk memproduksinya. Oleh karena itu masih diperlukan adanya penelitian-penelitian lebih lanjut dalam upaya untuk memaksimalkan potensi mikoriza ini.

2. Durian

Durian adalah salah satu jenis buah-buahan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi. Nama ini diambil dari ciri khas kulit buahnya yang keras dan berlekuk-lekuk tajam sehingga menyerupai duri. Sesungguhnya, tumbuhan dengan nama durian bukanlah spesies tunggal tetapi sekelompok tumbuhan dari marga *Durio*. Namun demikian, yang dimaksud dengan durian (tanpa imbuhan apa-apa) biasanya adalah *Durio zibethinus*. Jenis-jenis durian lain yang dapat dimakan dan kadangkala ditemukan di pasar tempatan di Asia Tenggara di antaranya adalah lai (*D. kutejensis*), kerantungan (*D. oxleyanus*), durian kura-kura atau kekura (*D. graveolens*), serta lahung (*D. dulcis*). Untuk selanjutnya, uraian di bawah ini mengacu kepada *D. zibethinus*.

Klasifikasi

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Superdivisio	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisio	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Ordo	: Malvales
Familia	: Bombacaceae
Genus	: <i>Durio</i>
Spesies	: <i>Durio zibethinus</i> Murr

Pohon durian dapat tumbuh tinggi mencapai ketinggian 25–50 m tergantung spesiesnya, pohon durian berwarna coklat kemerahan, mengelupas tak beraturan. Tajuknya rindang dan renggang. Daun berbentuk jorong hingga lanset, 10-15(-17) cm × 3-4,5(-12,5) cm, terletak berseling, bertangkai, berpangkal lancip atau tumpul dan berujung lancip melandai, sisi atas berwarna hijau terang, sisi bawah tertutup sisik-sisik berwarna perak atau keemasan dengan bulu-bulu bintang (Steenis, 1997).

Bunga (juga buahnya) muncul langsung dari batang (cauliflorous) atau cabang-cabang yang tua di bagian pangkal (proximal), berkelompok dalam karangan berisi 3-10 kuntum berbentuk tukal atau malai rata. Kuncup bunganya membulat, sekitar 2 cm diameternya, bertangkai panjang. Kelopak bunga bentuk tabung sepanjang 3 cm, daun kelopak tambahan terpecah menjadi 2-3 cuping berbentuk bundar telur. Mahkota bentuk sudip, kira-kira 2× panjang kelopak, berjumlah 5 helai, keputih-putihan. Benang sarinya banyak, terbagi ke dalam 5 berkas; kepala putiknya membentuk bongkol,

dengan tangkai yang berbulu. Bunga muncul dari kuncup dorman, mekar pada sore hari dan bertahan hingga beberapa hari. Pada siang hari bunga menutup. Bunga ini menyebarkan aroma wangi yang berasal dari kelenjar nektar di bagian pangkalnya untuk menarik perhatian kelelawar sebagai penyerbuk utamanya. Bunga durian keluar langsung dari batang/cabang secara berkelompok. Buah durian bertipe kapsul berbentuk bulat, bulat telur hingga lonjong, Kulit buahnya tebal, permukaannya bersudut tajam ("berduri", karena itu disebut "durian", walaupun ini bukan duri dalam pengertian botani), berwarna hijau kekuning-kuningan, kecoklatan, hingga keabu-abuan (Steenis, 1997).

Tanaman durian dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 200-800 dpl. Namun ada juga yang dapat tumbuh pada ketinggian 1000 dpl. Derajat keasaman tanah yang dikehendaki tanaman durian adalah (pH) 5-7, dengan pH optimum 6-6,5 (Steenis, 1997). Curah hujan untuk tanaman durian maksimum 3000-3500 mm/tahun dan minimal 1500-3000 mm/tahun dengan intensitas cahaya matahari antara 60-80%. Tanaman durian cocok pada suhu rata-rata 20-30°C. Pada suhu 15°C durian dapat tumbuh tetapi pertumbuhan tidak optimal. Bila suhu mencapai 35°C daun akan terbakar.

Tanaman durian termasuk tanaman tahunan dengan perakaran dalam, maka membutuhkan kandungan air tanah dengan kedalaman cukup. Tanaman durian menghendaki tanah yang subur (tanah yang kaya bahan organik). Tanah yang cocok untuk durian adalah jenis tanah grumosol dan andosol. Tanah yang memiliki ciri-ciri warna hitam keabu-abuan kelam, struktur tanah lapisan atas bebutir-butir, sedangkan bagian bawah bergumpal, dan kemampuan mengikat air tinggi.

. Pemuliaan durian diarahkan untuk menghasilkan biji yang kecil dengan salut biji yang tebal, karena salut biji inilah bagian yang dimakan. Beberapa varietas unggul menghasilkan buah dengan biji yang tidak berkembang namun dengan salut biji tebal adalah durian sukun, monthong, petruk, sunan, sitokong dan kani.

3. Karakterisasi Pola Pita Protein

a. Penanda Isozim

Setiap organisme memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Karakter ini bersifat genetik karena dikendalikan oleh gen. Gen merupakan segmen DNA yang kerjanya dapat diamati melalui karakter morfologi yang ditampilkan. Pengelompokan secara genotif dilakukan menggunakan data yang berasal dari penanda molekuler yang berkaitan langsung dengan fenotipe suatu organisme.

Kusumo dkk. (2002) menyebutkan salah satu marka biokimia yang digunakan dalam karakterisasi tanaman adalah penanda isozim. Isozim yang merupakan produk langsung dari gen berupa protein dan enzim yang terdiri atas berbagai molekul aktif yang mempunyai struktur kimia berbeda tetapi mengkatalisis reaksi yang sama. Isozim adalah protein-protein dengan karakteristik mirip tetapi berbeda sifat elektroforetiknya. Enzim merupakan hasil langsung dari bagian yang spesifik pada kode genetik dan merupakan visualisasi dan ekspresi dari gen. Isozim dapat digunakan dalam identifikasi variasi genetik karena tiap individu yang sama bahkan dalam jaringan yang sama memungkinkan adanya enzim yang berbeda (Etikawati dan Suratman 2008). Perbedaan antara isozim karena adanya lebih dari satu gen yang mengkode tiap

isozim. Perbedaan ini terjadi sebagai respon terhadap faktor lingkungan, artinya jika faktor lingkungan berubah maka isozim yang paling aktif akan memaksimalkan fungsinya dan membantu organisme tersebut bertahan hidup.

Isozim dapat dipelajari dan dilacak dengan menggunakan teknik elektroforesis berupa pengamatan dan analisis zimogram. Prinsip dasarnya adalah setiap genom (enzim, protein dan DNA) mempunyai berat molekul yang berbeda-beda sehingga kecepatan gerakannya pada media gel juga berbeda-beda. Hal ini dapat dilihat setelah reaksi elektroforesis melalui pewarnaan (*staining*).

b. Elektroforesis

Elektroforesis berasal dari bahasa Yunani yang mempunyai arti transport atau perpindahan melalui partikel-partikel listrik. Metode tersebut berkembang sangat pesat sekali di zaman kemajuan teknologi, disebabkan karena pengerjaannya sangat sederhana dan sangat mudah. Di dalam ilmu biologi maupun biologi molekuler, metode elektroforesis banyak digunakan untuk taksonomi, sistematik dan genetik dari hewan ataupun tumbuhan. Penanda isozim juga dapat digunakan dalam analisis keragaman genetik karena dikendalikan oleh gen tunggal dan bersifat kodominan dalam pewarisannya. Kelebihannya adalah mudah dilakukan dan membutuhkan bahan dalam jumlah sedikit. Metode isozim telah banyak dimanfaatkan oleh pemulia tanaman untuk mengidentifikasi varietas (Nur, dkk. 2008).

Pada prinsipnya elektroforesis itu adalah teknik pemisahan campuran molekul yang didasarkan pada perbedaan muatan listriknya

sehingga pergerakan molekul-molekul tersebut pada suatu fasa diam (*stationary phase*) dalam sebuah medan listrik akan berbeda-beda (Yepyhardi, 2009).

Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran. Dengan demikian elektroforesis dapat digunakan untuk separasi makromolekul (seperti protein dan asam nukleat). Posisi molekul yang terseparasi pada gel dapat dideteksi dengan pewarnaan atau autoradiografi, ataupun dilakukan kuantifikasi dengan densitometer.

Sebagian besar aplikasi elektroforesis dalam klasifikasi tanaman, menggunakan media pendukung berupa gel. Metode elektroforesis gel dapat memberikan data yang reliabel, yang telah diterima secara luas khususnya dalam studi genetika populasi tanaman. Selain itu metode tersebut memiliki sensitivitas untuk mendeteksi substitusi asam amino tunggal dalam protein yang tidak dapat ditunjukkan melalui metode eksperimental lain ataupun melalui analisis asam amino total. Tidak diragukan lagi bahwa elektroforesis akan berperan penting dalam kemajuan taksonomi serta aktivitas monitoring, misalnya dalam monitoring manipulasi sumber genetik plasma nutfah.

Dalam elektroforesis gel terdapat dua material dasar yang disebut *fase diam* dan *fase bergerak* (eluen). Fase diam berfungsi "menyaring" objek yang akan dipisah, sementara fase bergerak berfungsi membawa objek yang akan dipisah. Sering kali ditambahkan larutan penyangga berupa gel poliakrilamida (PAGE = *polyacrilamida gel electrophoresis*) pada fase bergerak untuk menjaga kestabilan objek

elektroforesis gel. Elektroda positif dan negatif diletakkan pada masing-masing ujung aparat elektroforesis gel (Suranto, 2000).

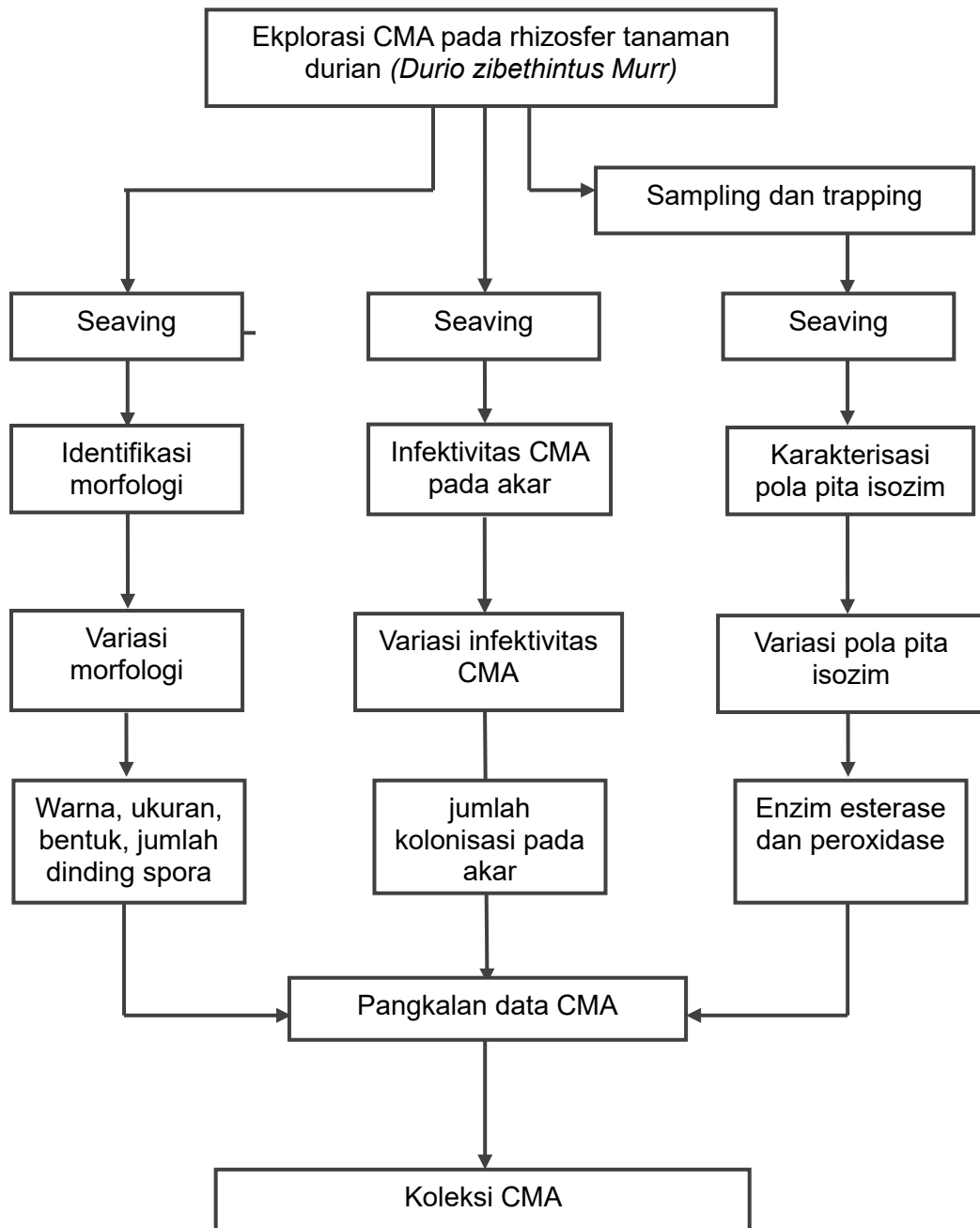
Zat yang akan dielektroforesis dimuat pada kolom (disebut *well*) pada sisi elektroda negatif. Apabila aliran listrik diberikan, terjadi aliran elektron dan zat objek akan bergerak dari elektroda negatif ke arah sisi elektroda positif. Kecepatan pergerakan ini berbeda-beda, tergantung dari muatan dan berat molekul. Kisi-kisi gel berfungsi sebagai pemisah. Objek yang berberat molekul lebih besar akan lebih lambat berpindah. Hasil elektroforesis di sajikan dalam bentuk zimogram yang memiliki corak yang khas. Sehingga dapat digunakan sebagai ciri untuk mencerminkan pembeda genetik.

Protein merupakan makro molekul yang paling melimpah di dalam sel, menyusun lebih dari setengah berat kering sel. Analisa protein tanaman dengan metode gel elektroforesis memiliki banyak kegunaan. Hal ini disebabkan karena jumlah protein dalam individu cukup besar sehingga mudah terdeteksi, selain itu protein tanaman muncul secara universal dalam semua tipe jaringan ataupun dalam organ tunggal, misalnya sehelai daun dapat mengandung beberapa ribu protein (Lehninger, 1990).

B. Kerangka Berpikir

CMA merupakan kelompok jamur yang bersimbiosis dengan akar tanaman. Mikoriza ini memiliki potensi yang besar terhadap pertumbuhan tanaman dan agregasi tanah. Keanekaragaman pada cendawan sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan kekhususan tanaman inang. Keragaman CMA tidak mengikuti pola keanekaragaman tanaman dan tipe CMA mungkin mengatur keanekaragaman spesies tanaman (Allen *et al.*, 1995). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui keragaman CMA pada rhizosfer tanaman durian berdasarkan sifat morfologi, tingkat infektivitas pada inang dan profil isozim dengan perbedaan ketinggian tempat. Pengambilan sampel atau eksplorasi CMA dilakukan secara acak di kabupaten Karanganyar yang dibagi menjadi tiga zona ketinggian yaitu zona I (100-400 mdpl), zona II (400-800 mdpl) dan zona III (800-1200 mdpl). Tiap zona diambil 9 sampel pada tempat yang berbeda secara acak.

Eksplorasi CMA dilakukan dengan mengambil tanah dekat perakaran tanaman durian pada kedalaman ± 20 cm beserta akarnya. Tanah yang diambil dianalisis guna mengetahui morfologi CMA melalui penyaringan bertingkat (*seaving*) dan digunakan untuk perbanyakan spora (*trapping*) guna persiapan analisis profil isozim. Analisis profil isozim menggunakan metode gel elektroforesis (SDS-PAGE). Diagram kerangka berpikir penelitian disajikan dalam gambar 2.



Gambar 2. Skema kerangka berpikir penelitian

C. Hipotesis

1. Ada keanekaragaman CMA pada rhizosfer tanaman durian.
2. Ada variasi kolonisasi CMA pada perakaran tanaman durian.
3. Ada variasi pola pita isozim CMA yang diperoleh dari perakaran tanaman durian.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

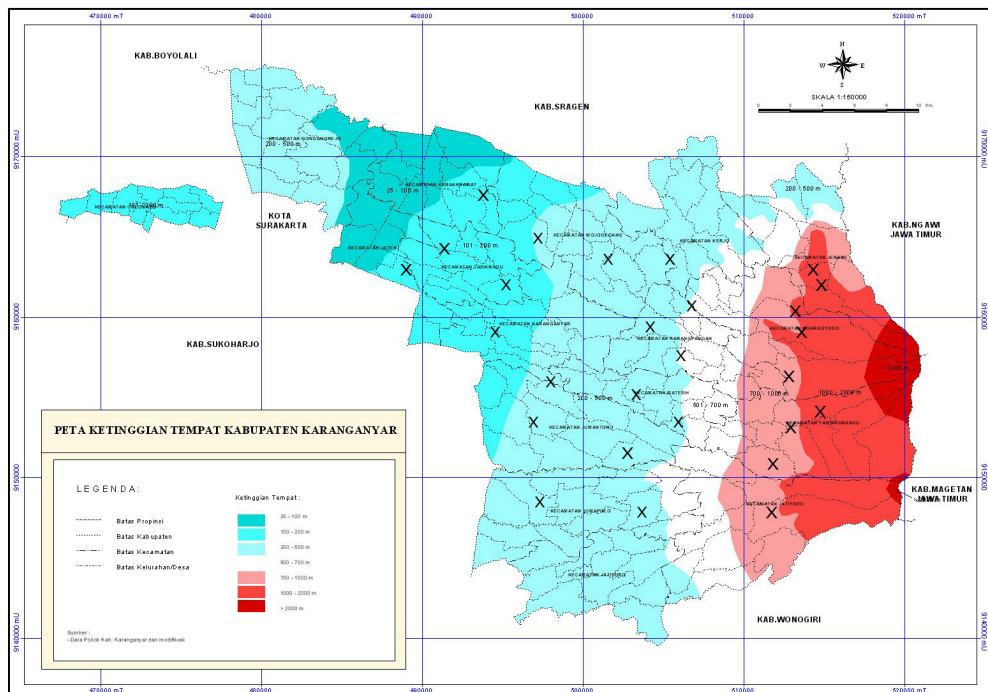
A. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2010 sampai bulan Januari 2011.

2. Tempat Penelitian

Tempat Pengambilan sampel dilakukan di Kabupaten Karanganyar berdasarkan ketinggian tempat.



Gambar 3. Peta kontur Kabupaten Karanganyar (sumber: Bappeda Karanganyar, 2008)

Keterangan : tanda x adalah tempat pengambilan sampel penelitian.

Analisis morfologi dan infektivitas CMA dilakukan di laboratorium Biologi MIPA Universitas Sebelas Maret dan karakterisasi pola pita isozim CMA dilakukan di laboratorium Bioteknologi Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

B. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat Penelitian

1.1 Alat yang digunakan analisis morfologi dan infektivitas spora antara lain cawan petri, gelas plastik, sit box, mikroskop, pipet, tabung reaksi, petridisk, object glass, ose, timbangan analitik, erlemayer, altimeter, lampu bunsen dan aluminium foil.

1.2 Alat yang digunakan untuk analisis profil pita protein adalah: Satu set elektroforesis mini tipe vertical, Power supply, autoklaf, pembuat kristal es, cawan, stirrer, mikrotube, effendorf, pengaduk magnetic, lampu neon, shield tube, sentrifuge, setter (jarum suntik), gelas piala, refrigererator, mortal atau penggerus, mikropipet ukuran 20 μ l dan 1000 μ l, aluminium foil, plastik, gunting, penggaris, plastik pembungkus, pipet tip, pH meter, vortex mixer, spatula, lemari pendingin bersuhu -20 $^{\circ}$ C, timbangan analitik dan gunting tanaman atau pisau tajam.

2. Bahan Penelitian

1.1 Bahan yang digunakan untuk analisis morfologi dan infektivitas spora antara lain tanah dan akar tanaman inang *Durio zibethinus*, aluminium foil, ziolit, media tumbuh, isolasi, Alkohol 100%, asam asetat, formalin,

KOH 10%, HCL 2%, H₂O₂ 2 %, lactofenol trypan blue 0,01%, aquades, glukosa 60%, larutan pewarna *Melzer's*, gliserin 50% dan larutan PVLG.

1.2 Bahan kimia yang digunakan untuk analisis pola pita protein adalah:

1.2.1 Buffer ekstraksi. PBS (*Phosphat buffered saline solution*): NaCl (8,55 gr), Na₂HP₀₄2H₂O (1,33 gr), NaH₂P₀₄H₂O (0,34 gr). Masing-masing dilarutkan ke dalam aquades sampai volumenya 50 ml.

1.2.2 Buffer sampel/loading dye. Meliputi: Tris pH 6,8 (2,5 ml), SDS (Sodium Deducyl Sulfat) (2,5 ml), mercapto etanol (5 ml), Bromophenol blue (10mg) Glycerin (10ml). Masing-masing bahan dilarutkan dalam aquades sampai volumenya 20 ml.

1.2.3 Stock buffer. Meliputi: Glycine (57,6 gr) dan Trizma (12 gr) ditambah aquades sampai volume 1 liter.

1.2.4 Running buffer. Meliputi: Stock buffer (250 ml) ditambah aquades hingga 5 liter.

1.2.5 enzim pewarna (stainer) meliputi: enzim *esterase* (EST) dan *peroksidase* (POD).

1.2.6 Larutan peluntur cat (destaining). Meliputi: etanol (325 ml), acetic acid (5 ml), aquades (40 ml).

C. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Sample

Pengambilan sample dilakukan pada rhizosfer tanaman durian dengan kedalaman ± 20 cm dari permukaan tanah di dekat perakaran tanaman. Pengambilan dilakukan pada tiga zona wilayah berdasarkan ketinggian tempat, yaitu zona I pada ketinggian 100-400 mdpl, zona II 400-

800 mdpl dan zona III 800-1200 mdpl. Tiap zona diambil 9 (sembilan) sampel tanah dan akar pada tanaman durian yang berbeda. Sampel tanah kemudian digunakan untuk trapping (perbanyak spora) dengan tanaman inang kacang ruji (*Pueraria phaseoloides*).

2. Trapping

- a. Mengecambahkan biji kacang ruji pada media sekam bakar yang steril.
- b. Menanam biji yang telah berkecambah ke dalam pot yang berisi sekam bakar dan tanah sample dengan ukuran 1/3 sekam baker pada lapisan paling bawah, 2/3 sample tanah tanaman durian dan paling atas sekam bakar tipis.
- c. Meletakkan pot pada *seedbox* yang telah diisi 1 liter air dan menaruhnya pada *green house*.
- d. Memupuk tanaman dengan pupuk hiponex merah 1,5 gr/l tiap *seedbox* setelah berumur 8 minggu. Pemupukan dilakukan 2 kali pada minggu ke-8 dan ke-9.
- e. Pada minggu ke-10, melakukan stressing pada tanaman dengan memangkas setengah batang tanaman dan menyisakan dua daun dari pangkal batang.
- f. Setelah berumur 3 bulan, memanen perakaran tanaman dan mengambil tanah untuk dianalisis.

3. Analisis Morfologi

Analisis data morfologi tanaman diuraikan secara deskriptif meliputi seluruh variabel yang telah diamati untuk bentuk, warna, jumlah dinding spora dan struktur spora. Metode ekstraksi dan pengamatan morfologi spora CMA dilakukan dengan metode tuang saring basah. Metode ini

pertama kali digunakan oleh Gadermann (1955) untuk menyaring spora dari tanah lembab.

- a. Eksplorasi CMA dengan mengambil 100 g sampel tanah dekat akar tanaman dengan jarak 5 cm dari batang bawah dan digali dengan kedalam 20 cm.
- b. Mencampurkan sampel tanah dengan 1 liter air, mengaduk dan membiarkan sampai mengendap.
- c. Menuangkan campuran pada saringan bertingkat berukuran 1 mm, 105 μm dan 45 μm . Kemudian memindahkan bahan-bahan yang tertinggal pada saringan kedua ke kertas saring dengan bantuan botol penyemprot yang berisi air.
- d. Mengamati spora dibawah mikroskop baik ketika kertas saring masih basah maupun setelah kering.

4. Infektivitas CMA

Salah satu cara untuk menghitung infektivitas spora dan populasi mikoriza adalah menggunakan metode Clearing and Staining (Giovannetti dan Mosse , 1980) dalam (Ana, 2003). Untuk menghitung infektifitas CMA metode penghitungan yang dipakai adalah Metode Persimpangan Garis (*The Gridline Intersection Method*):

- a. Mencuci perakaran durian yang telah diinokulasi dengan CMA sampai bersih secara perlahan, kemudian mengambil akar dan memotong-motongnya sepanjang sekitar 1 cm .
- b. Memasukkan potongan akar dalam KOH 10% lalu mendidihkan selama 10 menit kemudian mencuci dalam air mengalir. KOH berfungsi

membersihkan sitoplasma dan inti akar agar penetrasi zat warna lebih mudah.

- c. Setelah dingin merendam dengan HCl 2% selama 10 menit
- d. Merendam akar dalam 0,05% trypan blue lactophenol dan memanaskannya selama 10 menit setelah itu cuci dengan air mengalir.
- e. Merendam potongan akar tersebut dalam lactophenol untuk destaining.
- f. Membilas dengan air mengalir kemudian memasukkan kedalam cawan petri yang telah berisi glycersin 50%.
- g. Meletakkan akar yang telah dicat pada gelas preparat.
- h. Mengamati dengan menggunakan mikroskop binocular dan menghitung infeksi pada akar.
- i. Persentase infeksi mikoriza dihitung berdasarkan metode Giovannetti dan Mosse (1980) :

$$\% \text{ infeksi} = \frac{\text{Jumlah infeksi pada akar}}{\text{panjang akar yang diamati}} \times 100\%$$

- j. Penghitungan dilakukan dengan cara menghitung banyaknya bagian akar yang bermikoriza dan yang tidak pada tiap-tiap garis horisontal maupun vertical dari garis-garis pada slide. Proporsi mikoriza adalah jumlah total bagian mikoriza dibagi jumlah total akar yang diamati, dikalikan 100%.

5. Analisis Keragaman Berdasarkan Penanda Isozim

Analisis pola pita isozim dilakukan dengan teknik elektroforesis pada SDS-PAGE dengan tahapan sebagai berikut:

- a. Ekstraksi sampel

Ekstraksi sampel dilakukan dengan cara mengambil tanah dan

akar tanaman inang hasil trapping, kemudian mencuci akar secara perlahan-lahan sampai bersih. Kemudian mengamati dibawah mikroskop untuk memisahkan CMA (miselium) yang ditemukan. Sedangkan untuk tanah dilakukan dengan metode tuang saring basah untuk mengambil spora CMA yang ditemukan.

Setelah dipisahkan CMA yang ditemukan masing-masing (± 100 spora) kemudian memberi larutan ekstrak buffer sekitar 1 ml dan melumatkan sampai homogen kemudian memasukkan kedalam tabung microtube untuk selanjutnya diputar pada kecepatan 15.000 rpm selama ± 20 menit. Proses ini bertujuan untuk memisahkan supernatan yang berbentuk cair dengan pellet yang berbentuk padat . Supernatan digunakan untuk proses elektroforesis. Setelah selesai diputar kemudian dimasukkan kedalam pendingin sampai siap dilakukan proses elektroforesis.

b. Pembuatan gel poliakrilamid

Gel poliakrilamid terdiri atas 2 bagian, yaitu *running gel* yang terletak di bagian bawah dengan konsentrasi 7,5% dan *spacer gel* yang terletak di bagian atas dengan kepekatan 3,75%. Bahan dan komposisi yang digunakan untuk pembuatan gel poliakrilamid dapat dilihat pada tabel.

1. Pembuatan *running gel*

Bahan-bahan untuk *running gel* dicampur dan dihomogenkan kemudian dimasukkan ke glass elektroforesis, yaitu alat berupa sepasang kaca setebal 5 mm yang dirancang khusus untuk elektroforesis. Pada bagian tepi kaca yaitu kanan, kiri dan bawah diberi

sekat (*shield tube*). Sekat ini harus dipasang dengan cermat sehingga dapat membentuk sekat setebal 1 mm. Kemudian memasukkan larutan *running gel* 15 ml ke dalam sekat dan menambahkan etanol supaya permukaan larutan rata, selanjutnya menyedot etanol dan air dengan aspirator agar bagian atas *running gel* dapat dituangi *spacer gel*.

2. Prose pembuatan *spacer gel*

Setelah larutan dicampur dan homogen, campuran ini dimasukkan ke glass elektroforesis tepat di aras *running gel*. Kemudian *sample comb* dipasang pada *spacer gel* dan glass elektroforesis dipanasi dengan lampu neon \pm 1 jam agar larutan memadat. Setelah gel memadat, *sample comb* dilepas sehingga akan terdapat lubang-lubang yang akan diisi dengan supernatan. Selanjutnya mencuci bekas lubang dengan bromophenol blue dua kali.

c. Proses elektroforesis

Proses elektroforesis dilakukan dengan menggunakan alat elektroforesis vertikal lengkap dengan power supply-nya. Langkah pertama adalah penutup bak elektroforesis dibuka dan bak diisi larutan *elektroda buffer tank* setinggi 2 cm. Larutan ini berfungsi sebagai penghantar arus listrik selama elektroforesi berjalan secara bertahap-tahap. Pada saat pemasangan tidak boleh ada gelembung udara di antara plat kaca agar aliran arus listrik tidak terhambat oleh gelembung udara. Kedua mengencangkan palang holder agar plat kaca tidak bergeser-geser selama proses elektroforesis. Kemudian mengisi bak elektroforesis dengan larutan *running buffer tank*.

Setelah gel dipasang pada alat elektroforesi, larutan supernatan diisikan kedalam sumuran sebanyak 5 μ l dengan menggunakan injeksi stepper sesuai urutan sampel.. Selanjutnya sisa buffer tank diisikan hingga memenuhi bak elektroforesi dan menutup bak kembali. Power supply dihidupkan untuk menjalankan proses elektroforesi selama 180-200 menit dengan arus sebesar 100 mA.

d. Proses pewarnaan

Pemisahan molekul-molekul dengan muatan yang berbeda merupakan prinsip yang digunakan dengan elektroforesi. Metode ini akan memisahkan nukleotida berbeda dari tiap protein (enzim) yang dianalisis ke dalam pola pita yang akan terlihat melalui pewarnaan.

Proses pewarnaan dilakukan setelah proses elektroforesi selesai, yaitu dengan meletakkan gel yang telah dikeluarkan dari glas elektroforesi ke dalam nampan plastik, kemudian merendamnya dengan larutan staining. Nampan tersebut dibiarkan beberapa saat sambil digerak-gerakkan dengan menggunakan orbital shaker. Lama perendaman bergantung pada jenis staining yang digunakan. Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan tiga enzim yaitu EST dan POD.

e. Pengamatan gel

Setelah proses pewarnaan selesai dan terlihat pola pita pada gel, kemudian dilakukan proses fiksasi (gel diletakkan dalam larutan etanol 50% + asam asetat 5% ditambah aquades sampai 100% dan menutup dengan kaca lalu memasukkan ke refrigerator \pm 24 jam). Tujuan proses ini adalah untuk membantu mengawetkan gel dengan cara menghentikan reaksi kimia yang terjadi pada gel. Pengamatan dilakukan setelah proses

fiksasi selesai yaitu dengan melihat pola pita pada gel yang disalin dalam blangko data (zimogram).

f. Pembuatan dendogram

Pola pita izozim hasil elektroforesis diinterpretasikan dalam zimogram kemudian diubah menjadi data biner dan menggambar dendogramnya. Pengukuran jarak migrasi (RF) diukur dari jarak pita yang tampak dibagi dengan jarak migrasi terjauh.

D. Analisis Data

1. Hasil pengamatan morfologi spora CMA diuraikan secara deskriptif kualitatif.
2. Untuk mengetahui infektivitas CMA pada akar tanaman durian digunakan metode Persimpangan Garis (*The Gridline Intersection Method*) kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA satu jalur pada taraf signifikan 5% untuk analisis kuantitatif. Setelah uji anava menunjukkan hasil yang signifikan, maka dilakukan uji lanjut LSD untuk mengetahui perbedaan rata-rata jumlah kolonisasi CMA dari ketiga ketinggian dan mencari kelompok yang terbanyak di antara ketiga ketinggian tersebut.
3. Analisis isozim dilakukan untuk mengetahui keragaman genetik dari masing-masing spora yang ditemukan yaitu berdasarkan sifat kualitatif (muncul tidaknya pita pada gel) dan kuantitatif (tebal tipisnya pita). Keragaman pola pita ditentukan berdasarkan nilai Rf. Nilai Rf merupakan nilai pergerakan relatif yang diperoleh dari perbandingan jarak migrasi isozim terhadap jarak migrasi loading dye. Pita yang muncul diberi nilai 1 dan yang tidak muncul diberi nilai 0, lalu dibuat dendogram hubungan kekerabatannya dengan menggunakan *hierarchical cluster analysis metode average linkage*

(*between groups*) program SPSS 15.

$$R_f = \frac{\text{Jarak migrasi protein}}{\text{Jarak migrasi loading dye}}$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keanekaragaman cendawan mikoriza arbuskula pada rhizosfer perakaran tanaman durian berdasarkan sifat morfologi, infektivitas pada inang dan isozim. Pengambilan sampel dilakukan pada rhizosfer tanaman durian berdasarkan perbedaan ketinggian tempat yang dibagi menjadi tiga zona wilayah yaitu zona I pada ketinggian 100-400 mdpl, zona II 400-800 mdpl dan zona III 800-1200 mdpl. Tiap zona diambil sebanyak 9 (sembilan) sample tanah pada tanaman durian yang berbeda tempat secara acak. Pengambilan tanah dan akar dilakukan pada kedalaman ± 20 cm dari permukaan tanah di dekat perakaran tanaman, Sampel tanah kemudian digunakan untuk analisis morfologi dan kolonisasi CMA serta sebagian digunakan untuk *trapping* (perbanyak spora) dengan tanaman inang kacang ruji (*Pueraria phaseoloides*) untuk analisis isozim CMA.

Dalam penelitian ini terdapat tiga tahapan analisis penelitian. Pertama, mengetahui morfologi spesies CMA yang ditemukan. Kedua, menguji infektivitas atau kolonisasi CMA terhadap inang tanaman durian serta hubungannya dengan faktor lingkungan (perbedaan ketinggian tempat). Ketiga, menguji ada tidaknya variasi pola pita isozim dari CMA.

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada salah satu tanaman hortikultura yang memiliki nilai ekonomis tinggi yaitu tanaman durian. Tanaman durian dapat tumbuh subur pada ketinggian 200 – 1000 dpl dengan pH tanah 5-7. Tanah yang cocok untuk durian adalah jenis tanah grumosol dan andosol. Tanah yang memiliki ciri-ciri warna hitam keabu-abuan kelam, struktur tanah

lapisan atas bebutir-butir, sedangkan bagian bawah bergumpal, dan kemampuan mengikat air tinggi. Selain memiliki nilai ekonomis tinggi, tanaman ini dapat digunakan untuk revegetasi lahan-lahan gundul dan belum produktif.

Pengambilan sample dilakukan di Kabupaten Karanganyar karena selain dikenal sebagai daerah penghasil durian, daerah di Kabupaten Karanganyar pada umumnya berbukit-bukit sehingga memiliki ketinggian tempat yang bervariasi mulai dari 100 dpl di Kecamatan Colomadu, Tasikmadu, Karanganyar dan di atas 1000 dpl di Tawangmangu, Ngargoyoso dan Jenawi. Karanganyar terletak antara 110°40' – 110°70' BT dan 7°28' – 7°46' LS. dengan suhu berkisar antara 20°C-31°C. Jenis tanah di kabupaten Karanganyar kebanyakan adalah litosol, andosol, mediteran dan aluvial. Dari ketiga ketinggian telah diperoleh hasil analisis kimia tanah seperti tabel 2 berikut:

Tabel 2. Hasil analisis kimia fisika tanah dari ketiga ketinggian tempat di Kabupaten Karanganyar.

Ketinggian tempat (mdpl)	C-Organik (%)	Bahan Organik (%)	P - tersedia (ppm)	P - total (ppm)	pH tanah	Suhu (°C)
T1 (100-400)	1.36	2.35	11.85	294.92	6.72	30
T2 (400-800)	1.83	3.16	10.88	641.70	6.28	28
T3 (800-1200)	5.26	9.07	7.99	1043.65	5.44	24

Keterangan.

T1: Colomadu, Tasikmadu, Karanganyar, Mojogedang, Jumantono dan Jumapolo

T2: Mojogedang, Jumantono, Matesih, Karangpandan dan Kerjo

T3: Karangpandan, Matesih, Tawangmangu, Jenawi dan Jatiyoso

Mempelajari keanekaragaman CMA cukup rumit dan kekhususan inangnya adalah salah satu aspek lain dari keanekaragaman CMA. Jika kekhususan inang kecil dalam komunitas yang beragam maka tingkat keanekaragaman CMA sangat tinggi. Sebaliknya jika kekhususan inang ini tinggi

akan mengurangi keanekaragaman CMA dalam ekosistem (Schreiner *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2001) Selain itu stabilitas atau perubahan komunitas CMA sangat penting dalam menentukan keanekaragaman CMA. Lebih lanjut, keberadaan CMA pada ekosistem ditentukan oleh komposisi dan keberadaan vegetasi yang menjadi inangnya (Pearson *et al.*, 2006). Faktor-faktor yang mempengaruhi morfologi CMA, ketahanan CMA, perkecambahan spora, kolonisasi akar dan pembentukan spora akan menentukan keberadaan dan keanekaragaman CMA di alam (Kramadibrata *et al.*, 1994). Pemahaman seperti ini sangat penting dalam pemanfaatan CMA guna meningkatkan produksi pertanian dalam arti luas.

1. Keragaman morfologi CMA pada rhizosfer tanaman durian

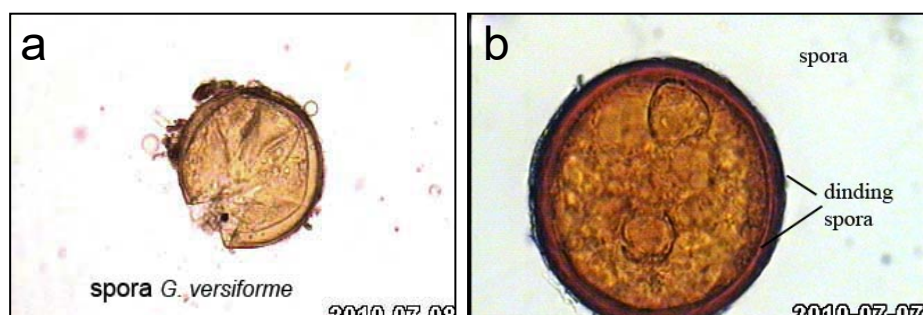
Hasil isolasi, pengamatan dan identifikasi yang dilakukan terhadap CMA pada ketiga ketinggian didapatkan empat genus spora CMA yaitu Enterospora (sebanyak 2 jenis), Glomus (sebanyak 4 jenis), Gigaspora (sebanyak 1 jenis) dan Acaulospora (sebanyak 2 jenis). Dari keseluruhan tempat pengambilan sampel, Glomus merupakan jenis CMA yang paling banyak ditemukan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa genus Glomus mempunyai tingkat adaptasi yang cukup tinggi terhadap lingkungan baik pada kondisi tanah yang masam maupun pada kondisi suhu yang bervariasi sehingga dapat ditemukan di berbagai ketinggian. Glomus secara keseluruhan terdapat empat jenis dengan bentuk dan ukuran yang berbeda-beda yaitu *G. mosseae*, *G. versiforme*, *Glomus sp1*, *Glomus sp2*. Genus lainnya yang ditemukan yaitu genus Enterospora yang berjumlah dua jenis dan hanya terdapat pada ketinggian 100-400 mdpl, genus Acaulospora berjumlah dua jenis yaitu *Acaulospora dentikulata* dan *Acaulospora sp* yang di

temukan pada ketinggian 400-800 mdpl dan Gigaspora yang berjumlah satu jenis hanya ditemukan pada ketinggian 800-1200 mdpl.

Table 3. Jenis CMA yang ditemukan pada rhizosfer akar tanaman durian dari ketiga ketinggian.

Zona Ketinggian	CMA yang ditemukan	Genus
T1	<i>Entropospora sp2</i>	Entropospora
	<i>Entropospora sp1</i>	Entropospora
	<i>Glomus sp1</i>	Glomus
	<i>Glomus versiformis</i>	Glomus
T2	<i>Glomus mosseae</i>	Glomus
	<i>Acaulospora dentikulata</i>	Acaulospora
	<i>Acaulospora sp</i>	Acaulospora
T3	<i>Glomus sp1</i>	Glomus
	<i>Glomus sp2</i>	Glomus
	<i>Gigaspora sp</i>	Gigaspora

Spora yang ditemukan tersebut adalah hasil pengamatan pada waktu akhir musim hujan, sehingga jumlah spora yang ditemukan sedikit. Jumlah spora kemungkinan akan berbeda pada pengamatan di musim yang lain. Tingkat sporulasi CMA bervariasi bergantung pada perbedaan jenis tanaman inang, pH, suhu, eksudat akar dan musim (Schreiner *et al.*, 2009; Pearson *et al.*, 2006; Muin A., 2000). Sporulasi CMA terjadi sebagai respon terhadap fluktuasi pertumbuhan akar, akan tetapi produksi spora mungkin akan meningkat setelah periode pertumbuhan akar terjadi penuaan dan pasca panen tanaman inang. Perbedaan tanaman inang dan kesuburan tanah akan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap sporulasi setiap spesies (Mizonobe, 1994). Disamping itu di beberapa habitat ditemukan bahwa pembentukan spora CMA bersifat musiman.

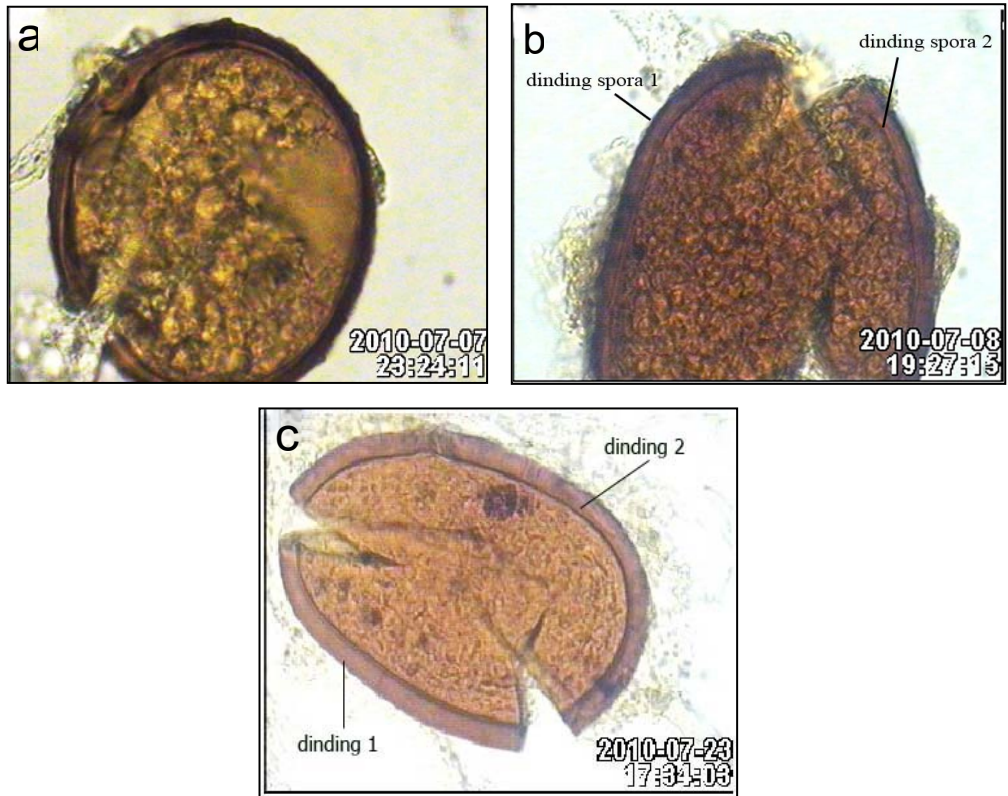




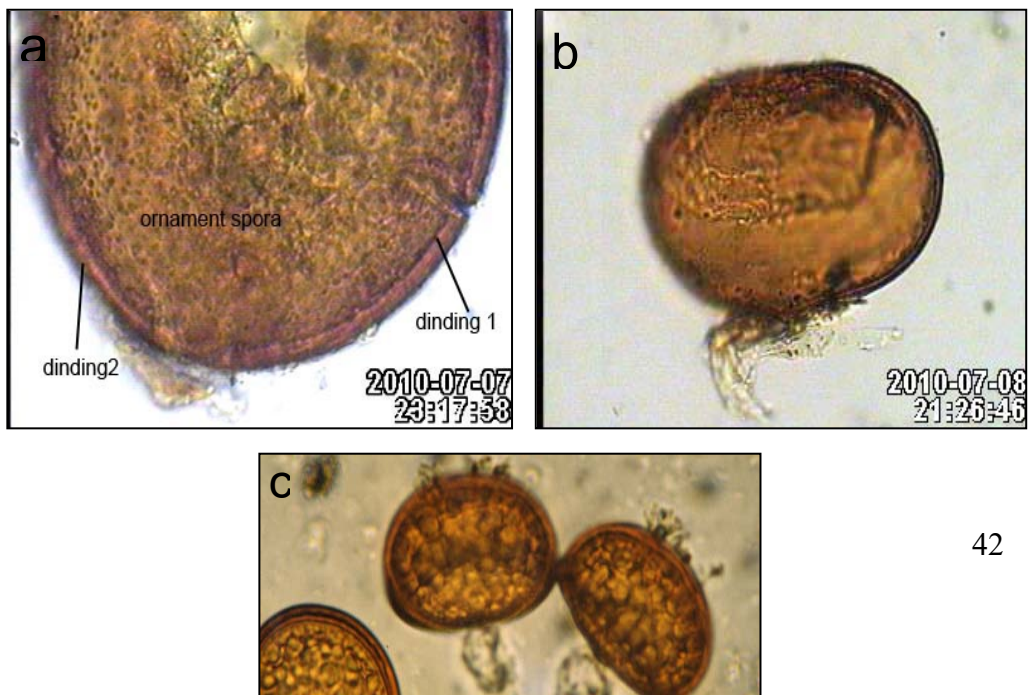
Gambar 4: CMA yang ditemukan pada ketinggian pertama (T1: 100 - 400 mdpl)
 Keterangan: a. *Glomus versiforme* (80 μ m, 40X), b. *Glomus sp1* (100 μ m, 40X),
 c. *Entropospora sp1* (100 μ m, 40X), d. *Entropospora sp2* (160 μ m, 40X)

Penyebaran CMA juga ditentukan oleh kondisi lingkungan atau edafis yang optimum. Tingkat adaptasi tiap spesies memiliki variasi toleransi dan keunikan tersendiri. *Glomus*, *Entropospora*, *Gigaspora* dan *Acaulospora* merupakan empat genus yang berbeda dan mempunyai adaptasi lingkungan yang berbeda. Hal ini dapat dilihat dari hasil analisis tanah pada tabel 1, dimana Genus *Glomus* dapat beradaptasi pada ketiga ketinggian sedangkan genus *Acaulospora* dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan ketinggian tempat 1500 m dpl; pH 4.95; suhu 28°C, *Entropospora* dapat ditemukan pada ketinggian 100-400 mdpl; pH 6.72; suhu 30°C dan *Gigaspora* hanya ditemukan pada ketinggian 800-1200 mdpl; pH 5.44 ; suhu 24°C. Jonhson *et al.* (1989) menyatakan bahwa CMA mampu beradaptasi secara optimal pada kisaran suhu 18-35°C. Hal ini menunjukkan bahwa *Glomus* mempunyai tingkat adaptasi yang cukup tinggi terhadap lingkungan baik pada kondisi tanah yang masam maupun pada kondisi

suhu yang bervariasi sehingga dapat ditemukan di berbagai tempat.



Gambar 5: CMA yang ditemukan pada ketinggian kedua (T2: 400 - 800 mdpl)
 Keterangan: a. *Glomus mosseae* (160 μ m, 40X), b. *Aclaulospora dentikulata* (180 μ m, 40X), c. *Aclaulospora* sp (180 μ m, 40X).



Gambar 6: CMA yang ditemukan pada ketinggian ketiga (T3: 800 - 1200 mdpl)
 Keterangan: a. *Glomus sp1* (180 μ m, 40X), b. *Glomus sp2* (120 μ m, 40X), c. *Gigaspora sp* (240 μ m, 20X).

Proses perkecambahan dan pembentukan CMA melalui tiga tahap yaitu perkecambahan spora di tanah, penetrasi hifa ke dalam sel akar dan perkembangan hifa di dalam korteks akar (Reddy *et al.*, 2005; Yano *et al.*, 1996). Pembentukan spora juga dipengaruhi oleh pertumbuhan tanaman inang. Spora biasanya banyak ditemukan pada pertengahan musim tumbuh daripada awal musim tumbuh. Spora akan meningkat jika pertumbuhan akar menjadi lambat dan berhenti (Iswandi dkk., 2004).

Perbedaan morfologi yang meliputi bentuk, ukuran, warna spora dan ciri pembeda yang lainnya telah dianalisa menjadi data biner untuk mencari hubungan kekerabatan dari CMA yang ditemukan. Adanya variasi ciri morfologi pada spesies CMA yang ditemukan dapat digunakan untuk mengukur kedekatan hubungan kekerabatan. Oleh karena itu dilakukan pengujian kedekatan hubungan kekerabatan yang terjadi dengan menggunakan *hierarchical cluster analysis* dalam bentuk dendrogram seperti terlihat pada gambar 7.

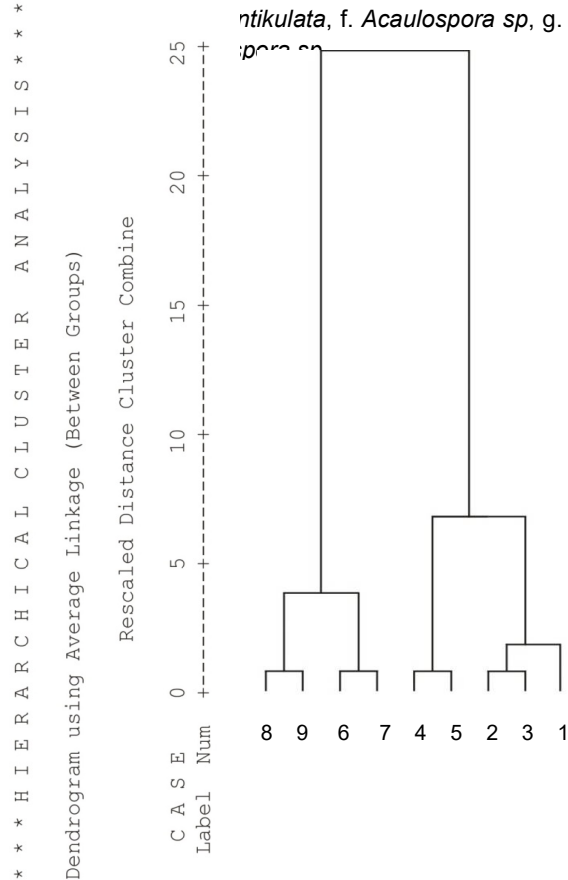
Tabel 4. Karakterisasi morfologi CMA pada rhizosfer akar tanaman durian

No.	Ciri	Spesies								
		a	b	c	d	e	f	g	h	i
1.	Warna Spora									
	a. Kuning pucat	1	0	0	1	0	1	0	0	1
	b. Coklat gelap	0	1	0	0	0	0	0	0	0

	c.	Coklat – jingga	1	1	1	0	1	0	1	0	0
	d.	Kuning - coklat	0	0	1	1	0	0	0	1	0
	e.	Jingga - merah	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	f.	Jingga pucat	1	0	1	0	0	1	0	0	0
2.		Ukuran Spora									
	a.	60 – 120 µm	1	0	0	1	0	0	1	0	0
	b.	120 – 180 µm	1	1	1	0	1	1	0	1	0
	c.	180 – 240 µm	0	0	1	0	1	1	0	0	0
	d.	240 – 300 µm	0	0	0	0	0	0	0	0	1
3.		Bentuk spora									
	a.	Bulat	1	1	1	1	0	0	1	0	1
	b.	Agak bulat	1	1	1	1	1	0	1	1	0
	c.	Lonjong	1	0	0	0	1	1	0	0	0
	d.	Tak beraturan	0	0	1	0	0	0	0	0	0
4.		Bentuk hifa									
	a.	bulat	0	0	0	0	1	0	1	1	1
	b.	silinder	1	1	0	1	0	1	0	0	1
	c.	corong	0	0	1	0	0	0	0	0	0
5.		Sporogenous cell (Bulbus suspensor)	0	0	0	0	0	0	0	0	1
6.		Hifa terminus (Sporiferous saccule)	0	0	0	0	1	1	1	1	0
7.		Ada sporocoarp									
	a.	Kuning	1	1	1	1	0	0	0	0	0
	b.	Coklat	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	c.	Gelap	1	0	0	1	0	0	0	0	0
8.		Ada peridium	0	1	1	0	0	0	0	0	0
9.		Ada Germination shield	0	0	0	0	0	0	0	1	0
10.		Jumlah Cicatrix									
	a.	Satu	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	b.	Dua	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	c.	Tiga	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11.		Lapisan dinding spora									
	a.	Satu	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	b.	Dua	1	0	0	1	0	1	1	1	1
	c.	Tiga	0	1	1	0	1	0	0	0	1

Keterangan:

a. *Glomus mosseae*, b. *Glomus mosseae*, c. *Glomus sp.*, d. *Glomus sp2.*, e. *Glomus sp3.*, f. *Acaulospora sp.*, g. *Entropospora sp1.*, h. *Entropospora sp2.*



Gambar 7. Dendrogram hubungan kekerabatan spesies CMA berdasarkan ciri morfologi

Keterangan: 1. *Glomus versiforme*, 2. *Glomus mosseae*, 3. *Glomus sp*, 4. *Glomus sp2*, 5. *Acaulospora dentikulata*, 6. *Acaulospora sp*, 7. *Entropospora sp1*, 8. *Entropospora sp2* dan 9. *Gigaspora sp*

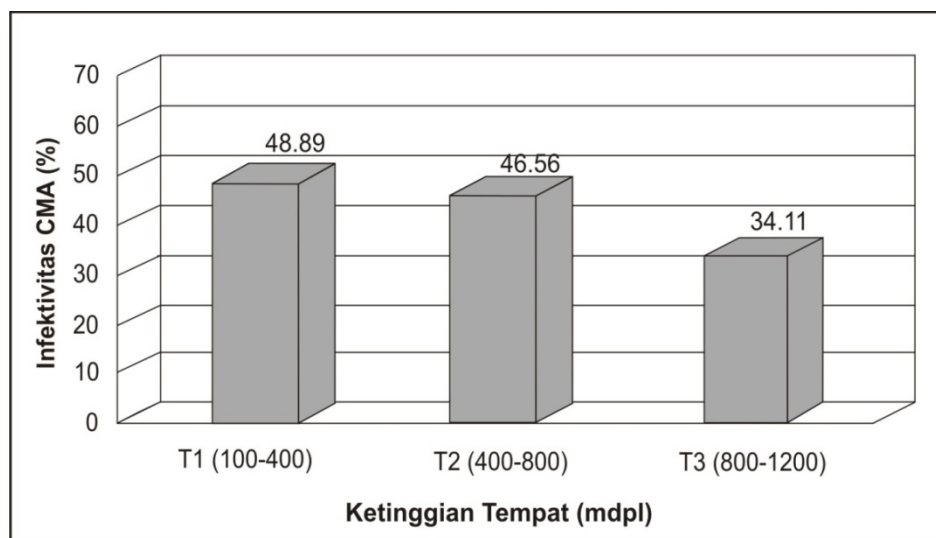
Hasil analisis dendrogram tersebut menunjukkan bahwa perbedaan ciri morfologi mengelompokkan sembilan sampel CMA menjadi tiga kelompok yaitu sampel 1, 2 dan 3 membentuk kelompok satu, sampel 4 dan 5 membentuk kelompok dua dan sampel 6, 7, 8 dan 9 membentuk kelompok dua. Hal ini berarti secara morfologi sampel 1, 2 dan 3 memiliki hubungan kekerabatan paling dekat. Begitu juga dengan kelompok dua dan tiga. Kelompok dua memiliki hubungan kekerabatan dengan kelompok satu yang terdiri atas *Glomus versiforme*, *Glomus mosseae*, *Glomus sp1*, *Glomus sp2* dan *Acaulospora dentikulata*.

Munculnya perbedaan CMA yang ditemukan pada tiap ketinggian disebabkan oleh faktor lingkungan. Perbedaan karakter morfologi yang nampak merupakan sifat-sifat yang berkaitan dengan pertumbuhan masing-masing CMA pada habitatnya. Sifat-sifat ini muncul sebagai bentuk adaptasi terhadap faktor lingkungan. Adaptasi tersebut tentu saja membawa perubahan terhadap karakter-karakter morfologi dan fisiologi CMA. Misalnya *Entropospora sp1* dan *Entropospora sp2* yang hanya ditemukan pada ketinggian 100-400 mdpl saja dan *Acaulospora dentikulata* dan *Acaulospora sp* hanya ditemukan pada ketinggian 400-800 mdpl serta *Gigaspora sp* juga hanya ditemukan pada ketinggian 800-1200 mdpl. Hasil ini dimungkinkan berbeda untuk jenis tanaman inang yang berbeda.

2. Kolonisasi CMA pada perakaran tanaman durian

Persentase kolonisasi dan kepadatan spora bervariasi dan berfluktuasi pada setiap tanaman inang dalam pengambilan sampel tanah dan penghitungan kolonisasi. Asghari (2008) menyebutkan variasi persentase kolonisasi CMA dipengaruhi oleh tingkat salinitas tanah, pH, suhu dan eksudat akar. Kondisi tanah yang sesuai bagi CMA akan mempercepat terjadinya perkembangbiakan baik dalam hal menginfeksi akar tanaman (inang) maupun dalam menghasilkan spora-spora sebagai bagian dari perkembangan berikutnya. Sebaliknya kondisi tanah yang bersalinitas buruk (misalnya terkontaminasi metal) pertumbuhannya akan menurun (Val *et al*,1999). Berdasarkan hasil pengujian kolonisasi CMA pada tanaman durian, rata-rata persentase infektivitas tertinggi terdapat pada ketinggian pertama (T1= 100-400 mdpl) sebesar 48,89%. Sedangkan pada ketinggian kedua dan ketiga masing-masing adalah 46,56% dan 34,11%. Hasil analisis data tentang pengaruh ketinggian tempat terhadap infektivitas CMA memperoleh nilai F_{anova} sebesar 5,560 dengan $p=0,010$ diterima pada taraf signifikansi 5% ($p<0,05$), maka terdapat perbedaan infektivitas CMA ditinjau dari ketinggian tempat. Artinya ketinggian tempat berpengaruh signifikan terhadap infektivitas CMA.

Hasil ini menunjukkan bahwa perbedaan ketinggian tempat yang ada di tempat penelitian terbukti mempengaruhi kepadatan spora yang berperan dalam pembentukan kolonisasi CMA. Gambar berikut ini memperjelas perbedaan infektivitas CMA dari ketiga ketinggian tempat tersebut.



T1 (100-400) T2 (450-800) T3 (850-1200)

Gambar 8. Grafik tingkat kolonisasi CMA berdasarkan ketinggian tempat

Setelah uji anova menunjukkan hasil yang signifikan, maka dilakukan uji lanjut anova untuk mengetahui perbedaan rata-rata jumlah kolonisasi CMA dari masing-masing kelompok ketinggian dan mencari kelompok yang terbanyak di antara kelompok ketinggian tersebut. Uji lanjut anova yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan uji LSD (*least square differences*).

Berdasarkan uji LSD perbandingan rata-rata dapat diketahui bahwa perbandingan infektivitas CMA pada rhizosfer perakaran durian dari ketiga ketinggian antara T1 (100 – 400 m) dengan T3 (850 – 1200 m) menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$), artinya terdapat perbedaan yang signifikan di antara keduanya atau infektivitas CMA pada ketinggian T1 (48,89%) lebih tinggi dari pada T3 (34,11%). Perbandingan antara T2 (450 – 800 m) dengan T3 (850 – 1200 m) juga menunjukkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$), artinya terdapat perbedaan yang signifikan di antara keduanya atau infektivitas CMA pada ketinggian T2 (46,56%) lebih tinggi dari pada T3 (34,11%). Sedangkan infektivitas pada T1 dengan T2 menunjukkan hasil yang tidak signifikan ($p > 0,05$), artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan di antara keduanya atau infektivitas CMA pada ketinggian T1 (48,89%) dan T2 (46,56%) hampir sama. Hal ini disebabkan karena keadaan lingkungan (suhu, pH dan nutrisi yang lain) tidak terlalu jauh perbedaannya. Sehingga pada ketinggian antara 100-850 mdpl merupakan tempat yang optimal bagi perkembangan CMA pada rizosfer

perakaran durian karena memiliki tingkat kolonisasi paling tinggi daripada ketinggian ketiga (T3). Abimanyu (2004) menyatakan bahwa tingkat kolonisasi CMA berbanding lurus dengan jumlah spora. Jika jumlah kolonisasi tinggi perakaran maka jumlah spora juga tinggi.

Berdasarkan hasil di atas, maka infektivitas CMA tertinggi diperoleh pada perlakuan T1 atau pada ketinggian tempat 450 – 800 mdpl dengan rata-rata infektivitas CMA mencapai 48,89%. Kondisi ini dimungkinkan oleh pengaruh kandungan P tersedia yang sangat rendah di dalam tanah (Delvian, 2006). Pada tabel 2 menunjukkan bahwa semakin menurunnya jumlah P-total dalam tanah maka kolonisaasi CMA akan meningkat. Pada ketinggian pertama menunjukkan jumlah infektivitas tertinggi karena pada ketinggian pertama kandungan posfornya (P-total) paling sedikit (294.92 ppm) dan P-tersedia paling tinggi. Kandungan P tersedia di dalam tanah pada dasarnya sangat mempengaruhi terbentuknya CMA. Rendahnya jumlah P-tersedia akan meningkatkan terbentuknya CMA pada tanaman karena kondisi tanah yang seperti ini, tumbuhan akan cenderung memanfaatkan CMA sebagai salah satu cara untuk mendapatkan unsur hara dari dalam tanah (Asghari, 2008). Hal ini dapat kita lihat pada kandungan P-tersedia yang dapat diserap tanaman yaitu sebesar 11.85 ppm. Jumlah ini adalah paling tinggi bila dibandingkan dengan ketinggian yang lain. Penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kolonisasi CMA maka semakin tinggi pula P-tersedia dalam tanah. P-tersedia adalah banyaknya P yang dapat diserap oleh tanaman dalam tanah (Stephen *et al.*, 2002).

Suhu juga mempengaruhi pembentukan koloni spora karena suhu tanah mempengaruhi proses biologi di dalam tanah, seperti aktivitas mikrobiologis, perkecambahan dan pertumbuhan akar (Manian *et al.*, 1995). Dekomposisi

bahan organik akan meningkat dengan bertambahnya suhu. Ada tiga titik tumbuh yang penting, yaitu suhu minimum, suhu optimum, dan suhu maksimum. Perkecambahan dan pembibitan akan berlangsung optimal di antara suhu minimum atau maksimum. Di luar suhu minimum sebagai batas bawah dan suhu maksimum sebagai batas atas, maka tanaman akan mati (Hendry, 1989).

Sesuai dengan uraian tersebut, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa suhu optimum akan mempercepat terjadinya perkembangbiakan baik dalam hal menginfeksi akar tanaman maupun dalam menghasilkan spora-spora. Dalam penelitian ini suhu optimum adalah 30 °C dengan pH tanah sebesar 6,67 yang terdapat pada ketinggian tempat 100 – 400 mdpl.

Setiadi (2001) menambahkan bahwa suhu tanah sangat berpengaruh terhadap terbentuknya koloni akar dan kemampuan membentuk spora serta kemampuan hidup dari alat-alat perkembang biakan CMA. Berdasarkan data analisis kimia tanah pada ketiga ketinggian terlihat bahwa dengan bertambahnya ketinggian tempat maka terjadi penurunan suhu (Tabel 2). Artinya dapat dikatakan dengan menurunnya suhu lingkungan dapat menurunkan tingkat kepadatan spora. Spora yang dihasilkan oleh CMA akan semakin rendah jika perkembangan kolonisasinya juga rendah, khususnya pada daerah tinggi. Sebaliknya meningkatnya suhu dan pH juga akan mempengaruhi kepadatan spora (Gadkar *et al.*, 2001). Dapat dikatakan dengan menurunnya suhu lingkungan dapat menurunkan tingkat kepadatan spora. Lovelock *et al* (2004) menyebutkan bahwa biomassa spora yang dihasilkan oleh CMA akan semakin banyak jika perkembangan kolonisasinya juga tinggi. Kolonisasi yang tinggi sangat ditentukan oleh keterbukaan lingkungan tajuk tanaman inang dan suhu lingkungan (Gadkar *et al.*, 2001). Setiadi (2001) menambahkan suhu terbaik

untuk perkembangan CMA adalah pada suhu 30 °C.

Suhu maupun sinar matahari yang masuk di sebuah lingkungan akan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap koloni dan perkembangan spora CMA. Peningkatan intensitas sinar biasanya meningkatkan kolonisasi akar. Kondisi lingkungan seperti pH tanah dan suhu akan mempengaruhi perkembangan CMA di alam. Pengukuran pH sangat penting untuk dilakukan karena reaksi-reaksi kimia dan biokimia pada tanaman terjadi pada pH khusus. Kisaran derajat keasaman (pH) tanah yang baik bagi pertumbuhan adalah antara 6 – 7. Pada tanah yang berada di bawah atau di atas kisaran tersebut, maka tanaman tidak akan tumbuh subur, tanaman akan menunjukkan pertumbuhan yang merana bila pH tanah dibawah 6, begitu pula pada pH di atas 7 tanaman akan mengalami gejala klorosis (warna daun akan mengalami, atau menjadi putih kekuning-kuningan terutama pada daun-daun yang masih muda). Pengaruh pH pada tanaman akan mempengaruhi perkembangan CMA. pH tanah merupakan faktor pembatas dimana setiap organisme mempunyai toleransi yang berbeda terhadap pH minimum dan maksimum serta optimal.

Ingeborg *et al* (2010) menyebutkan bahwa tingkat kolonisasi spora bergantung pada musim. Pada musim hujan umumnya kolonisasi CMA meningkat dan pembentukan spora baru berkurang. Hal ini disebabkan karena kelembaban tanah yang tinggi pada kondisi basah akan merangsang perkecambahan spora dan terbentuknya kolonisasi dengan tanaman inang. Selain itu kondisi hujan akan mempengaruhi suhu tanah sekitar. Sebaliknya pada kondisi yang kering atau sedikit hujan pembentukan spora baru akan meningkat dan persentasi kolonisasi akan menurun. Kondisi kering akan merangsang pembentukan spora yang banyak sebagai respon alami dari CMA serta sabagai

upaya mempertahankan keberadaannya di alam. Schreiner, *et al.* (2009) menyatakan bahwa jumlah spora yang dihasilkan setiap tahunnya mungkin tidak sama dan ada kecenderungan satu atau beberapa genus CMA sangat terbatas penyebarannya. Oleh karena itu sporokarp atau spora yang terkumpul dari wilayah tertentu mungkin tidak mewakili seluruh spora yang ada dari jenis CMA yang ada.

3. Keragaman CMA berdasarkan pola pita isozim

Pola pita isozim telah banyak digunakan untuk mendapatkan data variasi genetik pada berbagai jenis tanaman. Isozim yang merupakan produk langsung dari gen yang berupa protein dan enzim yang terdiri atas berbagai molekul aktif yang mempunyai struktur kimia berbeda tetapi mengkatalisis reaksi yang sama. Isozim adalah protein-protein dengan karakteristik mirip tetapi berbeda sifat elektroforetiknya. Isozim dapat dipelajari dan dilacak dengan menggunakan teknik elektroforesis berupa pengamatan dan analisis zimogram. Prinsip dasarnya adalah setiap genom (enzim, protein dan DNA) mempunyai berat molekul yang berbeda-beda sehingga kecepatan gerakannya pada media gel juga berbeda-beda. Hal ini dapat dilihat setelah reaksi elektroforesis melalui pewarnaan (*staining*).

Elektroforesis bertujuan untuk melihat apakah ada perbedaan pola pita isozim dari beberapa spesies cendawan mikoriza yang ditemukan pada rhizosfer tanaman durian, pada gel poliakrilamide dalam sebuah medan listrik. Pola pita tersebut dapat digunakan untuk melihat dan memprediksi ada tidaknya keragaman genetik cendawan mikoriza dan mengetahui hubungan kekerabatannya dengan membandingkan atau mencari kemiripan yang muncul.

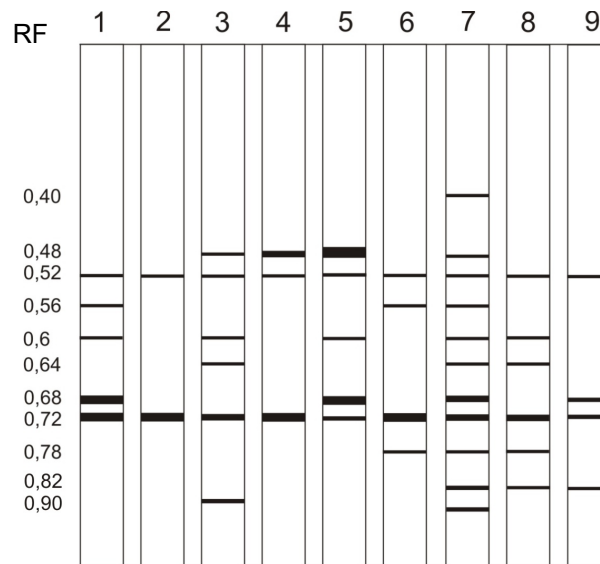
Pengujian pola pita isozim CMA dengan teknik elektroforesis telah

dilakukan. Tanaman hasil trapping selama \pm 3 bulan telah dilakukan penyaringan dan pemisahan baik spora maupun hifa eksternal atau miselium. Pengumpulan atau pemisahan spesies CMA menjadi tahap yang paling sulit karena membutuhkan ketelitian, kesabaran dan waktu yang lama. Hasilnya didapatkan 9 spesies yaitu *Glomus versiforme*, *Glomus mosseae*, *Glomus sp1*, *Glomus sp2*, *Acaulospora dentikulata*, *Acaulospora sp*, *Gigaspora sp*, *Entropospora sp1* dan *Entropospora sp2* dengan jumlah sample dari masing-masing spesies yang tidak sama. Hal tersebut dikarenakan tingkat adaptasi dan perkembangan spesies satu dengan yang lainnya terhadap lingkungan maupun tanaman inang berbeda-beda.

Proses selanjutnya adalah ekstraksi masing-masing spesies dengan buffer ekstraksi. Dalam pelaksanaan ekstraksi sample pada penelitian ini ditemui beberapa kendala. Antara lain pengambilan dan pemisahan sample yang harus dikerjakan secara hati-hati dan teliti sehingga membutuhkan kesabaran dan waktu yang lama.

1. Hasil analisis isozim dengan pewarna esterase

Hasil elektroforesis dengan gel polyakrilamid mengenai pola pita protein CMA yang ditemukan pada rhizosfer perakaran durian menunjukkan spesies dari CMA yang diuji dengan enzim esterase dapat divisualisasikan dengan baik. Secara umum pola pita yang muncul dari sembilan spesies CMA menunjukkan adanya perbedaan, yang berarti terdapat perbedaan kandungan proteinnya. Pola pita isozim tersebut dapat diperjelas dengan zimogram pada gambar 10. Corak dari zimogram elektroforesis dapat dianggap sebagai ciri fenotipik, melalui uji genetik dapat ditentukan corak zimogram yang dikode oleh gen-gen pada lokus yang sama dan gen pada lokus yang berbeda.



Gambar 9. Zimogram pola pita isozim CMA dengan pewarna Esterase

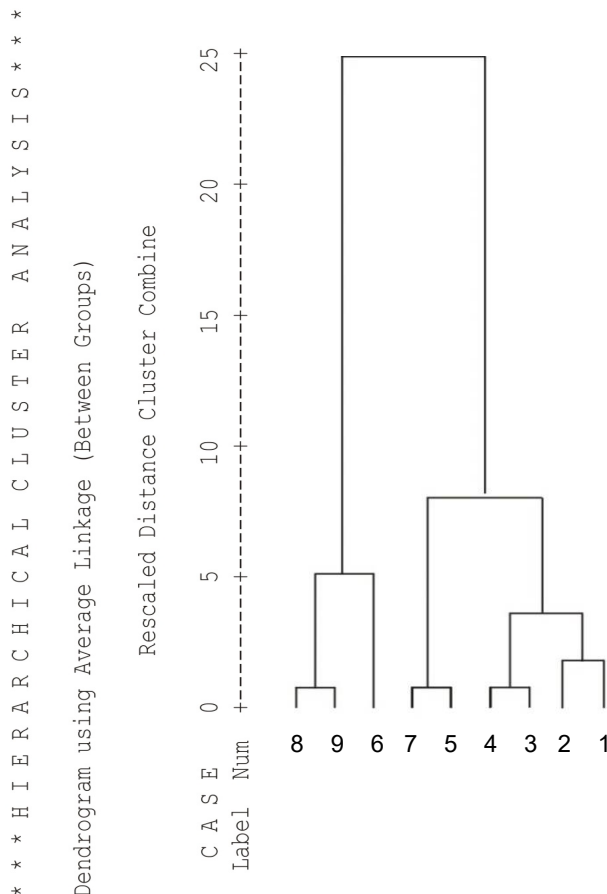
Keterangan: 1. *Glomus versiforme*, 2. *Glomus mosseae*, 3. *Glomus sp1*, 4. *Glomus sp2*, 5. *Acaulospora dentikulata*, 6. *Acaulospora sp*, 7. *Entropospora sp1*, 8. *Entropospora sp2* dan 9. *Gigaspora sp*

Berdasarkan analisis isozim dengan pewarna *esterase* pada sembilan spesies CMA yang di uji secara umum memiliki pola pita yang berbeda, baik berdasarkan nilai Rf maupun secara kualitatif yang ditunjukkan oleh pola pita yang terdeteksi. Hal ini berarti sembilan spesies CMA memiliki perbedaan secara genetik. *Gigaspora sp* (no.9) menunjukkan pola pita yang muncul paling tipis bila dibandingkan dengan spesies yang lainnya. *Glomus mosseae* memperlihatkan pita yang muncul paling sedikit bila dibandingkan dengan spesies yang lainnya.

Enzim *esterase* mengekspresikan 11 pita pada nilai Rf 0.40, 0.48, 0.52, 0.56, 0.6, 0.64, 0.68, 0.72, 0.78, dan 0.90. Pita pada Rf 0.52 dan 0.72 dimiliki oleh semua spesies CMA dengan tebal tipis yang berbeda. *Entropospora sp1* memiliki semua nilai Rf dan memunculkan pita yang spesifik dan tidak dimiliki oleh spesies yang lainnya (Rf 0.40). Ekspresi pola pita yang tipis bukan berarti

bahwa spesies tersebut tidak memiliki jenis protein tertentu, tetapi mungkin hanya memiliki satu protein saja dan sedikit kandungannya.

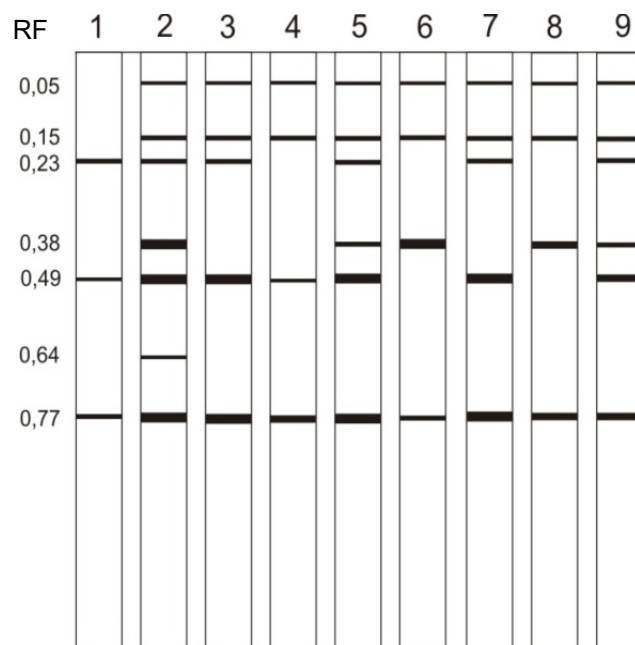
Dari zimogram pewarna esterase yang muncul kemudian di olah menjadi data biner (lampiran 4) dan diubah menjadi dendogram untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar spesies. Pola pita yang diperoleh dari elektroforesis diterjemahkan dalam sifat kualitatif (berdasarkan ada tidaknya pita pada jarak migrasi tertentu). Pita yang muncul diberi nilai 1 (satu) dan yang tidak muncul diberi nilai 0 (nol) tanpa membedakan tebal tipisnya pita. Dengan demikian data biner dari zimogram enzim esterase tersebut dianalisis dengan menggunakan *Hierarchical Cluster Analisis* dengan metode *Average (Between Groups)*. *Hierarchical Cluster Analisis* merupakan analisis pengelompokan berdasarkan suatu kemiripan atribut data.



Gambar 10. Dendogram pola pita isozim CMA dengan pewarna Esterase
 Keterangan: 1. *Glomus versiforme*, 2. *Glomus mosseae*, 3. *Glomus sp*, 4.
Glomus sp2, 5. *Acaulospora dentikulata*, 6. *Acaulospora sp*, 7.
Entropospora sp1, 8. *Entropospora sp2* dan 9. *Gigaspora sp*

Hasil analisis menunjukkan bahwa isozim pewarna *esterase* pada dendogram pola pita isozim CMA dari sembilan sampel mengelompokkan CMA menjadi 3 kelompok. Sample 1, 2 3 dan 4 membentuk kelompok pertama. Kelompok kedua terdiri dari sample 5 dan 7, serta kelompok ketiga dimiliki oleh sample 6, 8 dan 9. Sampel yang masuk kelompok yang sama berarti memiliki hubungan kekerabatan yang lebih dekat karena memiliki pola pita isozim yang lebih mirip daripada sampel yang lain.

2. Hasil analisis isozim dengan pewarna Peroxidase

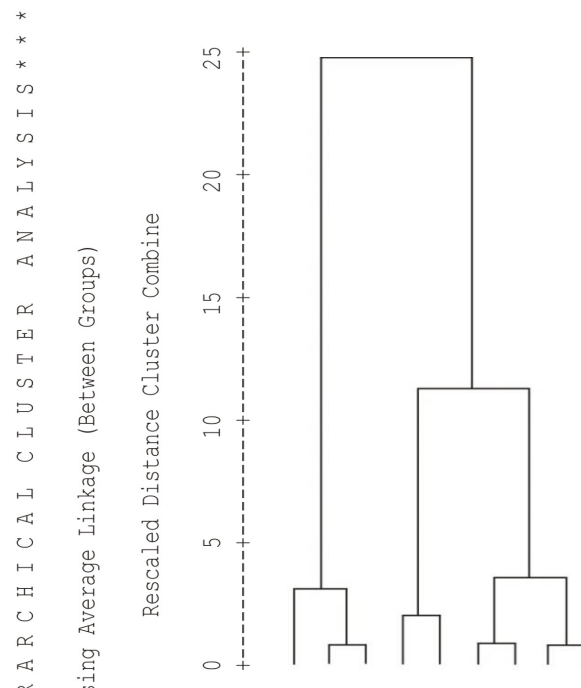


Gambar 11. Zimogram pola pita isozim CMA dengan pewarna *peroxidase*.

Keterangan: 1. *Glomus versiforme*, 2. *Glomus mosseae*, 3. *Glomus sp*, 4. *Glomus sp2*, 5. *Acaulospora dentikulata*, 6. *Acaulospora sp*, 7. *Entropospora sp1*, 8. *Entropospora sp2* dan 9. *Gigaspora sp*

Zimogram dengan enzim peroxidase menunjukkan 7 pita pada nilai Rf 0.05, 0.15, 0.23, 0.38, 0.49, 0.64 dan 0.77. Rf 0.05 dan 0.15 dimiliki oleh *Glomus mosseae*, *Glomus sp*, *Glomus sp2*, *Acaulospora dentikulata*, *Acaulospora sp*, *Entropospora sp1*, *Entropospora sp2* dan *Gigaspora sp*. Berdasarkan analisis pola pita enzim peroxidase, sembilan spesies CMA membentuk 5 kelompok. Kelompok 1 dengan nilai Rf 0.23, 0.49 dan 0.77 dimiliki oleh *Glomus versiforme*. Kelompok 2 dengan nilai Rf 0.05, 0.15, 0.23, 0.38, 0.49, 0.77 dimiliki oleh *Glomus sp* dan *Entropospora sp1*. Kelompok 3 dengan nilai Rf 0.05, 0.15, 0.38 dan 0.77 dimiliki oleh *Acaulospora sp* dan *Entropospora sp2*. Kelompok 4 dengan nilai Rf 0.05, 0.15, dan 0.77 dimiliki oleh *Glomus sp2*, *Acaulospora sp* dan *Entropospora sp2*. Kelompok 5 dengan nilai Rf 0.05, 0.15, 0.23, 0.38, 0.49 dan 0.77 dimiliki oleh *Glomus mosseae*, *Acaulospora dentikulata* dan *Gigaspora sp*.

Hasil dari zimogram CMA dengan enzim peroxidase kemudian diubah menjadi data biner dan dibuat dendogram sebagai berikut:



Gambar 12. Dendogram pola pita isozim CMA berdasarkan pewarna peroxidase

Keterangan: 1. *Glomus versiforme*, 2. *Glomus mosseae*, 3. *Glomus sp*, 4. *Glomus sp2*, 5. *Acaulospora dentikulata*, 6. *Acaulospora sp*, 7. *Entropospora sp1*, 8. *Entropospora sp2* dan 9. *Gigaspora sp*

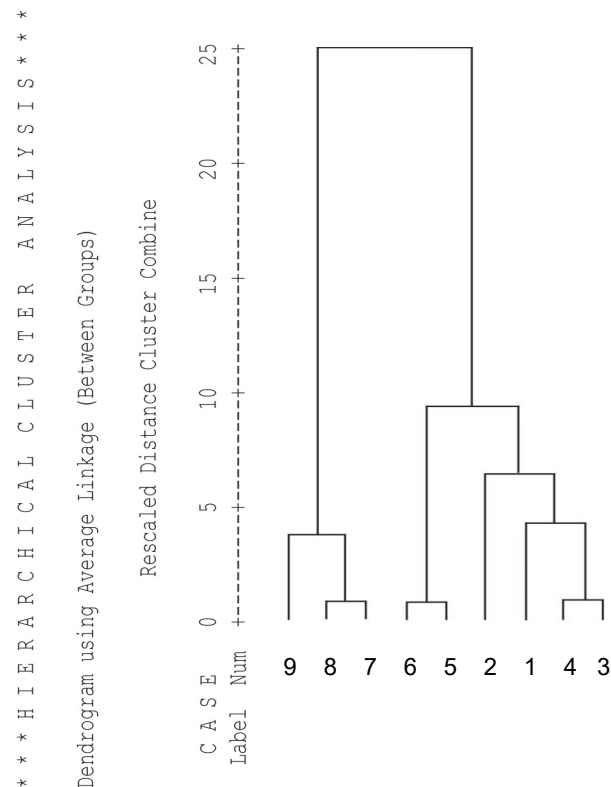
Hasil analisis dendogram pola pita isozim CMA dengan pewarna peroxidase menunjukkan bahwa profil protein dari sembilan sampel mengelompokkan CMA menjadi 3 kelompok besar. Sample 1, 2, 3 dan 4 membentuk kelompok pertama. Kelompok kedua terdiri dari sample 5 dan 6 dan kelompok ketiga dimiliki oleh sample 7, 8 dan 9. Kelompok pertama terdiri dari dua kelompok kecil yaitu sampel 1 dan 3 membentuk kelompok sendiri dan juga sampel 2 dan 4. Hal ini berarti mereka memiliki hubungan kekerabatan yang lebih dekat. Begitu juga dengan kelompok tiga yang terdiri dari kelompok kecil yang di bentuk oleh sampel 7 dan 8 kemudian bergabung dengan sampel 9 membentuk kelompok yang lebih besar. Hal ini berarti sampel 7 dan 8 memiliki hubungan yang lebih dekat daripada sampel 9.

Santos *et al.* (2001) menyatakan bahwa enzim peroxidase memiliki spektrum yang luas dan memiliki peran yang penting dalam proses fisiologi tanaman. Enzim ini dapat diisolasi dan tersebar pada sel atau jaringan tanaman terutama pada jaringan yang mengalami perkembangan. Peroxidase

pada tanaman merupakan protein yang mengkatalis H_2O_2 dengan berbagai macam substrat. Beberapa fungsi peroxidase pada tanaman antara lain memetabolisme auksi, pembentukan kayu, respon terhadap stress lingkungan dan pertahanan melawan pathogen.

3. Karakterisasi CMA berdasarkan pewarna esterase dan peroxidase

Dendrogram hubungan kekerabatan CMA berdasarkan pewarna esterase dan peroxidase menunjukkan bahwa dari 9 sampel CMA dapat membentuk menjadi tiga kelompok besar yaitu kelompok pertama terdiri dari sampel 3, 4, 1 dan 2. Kelompok kedua terdiri dari sampel 5 dan 6. Kelompok ketiga terdiri dari sampel 7, 8 dan 9.



Gambar 13. Dendrogram pola pita protein CMA dengan pewarna *esterase* dan *Peroxidase*
 Keterangan: 1. *Glomus versiforme*, 2. *Glomus mosseae*, 3. *Glomus sp*, 4. *Glomus sp2*, 5. *Acaulospora dentikulata*, 6. *Acaulospora sp*, 7. *Entropospora sp1*, 8. *Entropospora sp2* dan 9. *Gigaspora sp*

Kelompok satu yang terdiri dari sample *Glomus versiforme*, *Glomus mosseae*, *Glomus sp* dan *Glomus sp2 masing-masing CMA* memiliki jarak kekerabatan yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa sampel CMA tersebut memiliki sifat genetik yang berbeda. Begitu pula dengan kelompok yang lainnya. Masing-masing CMA yang membentuk satu kelompok tersendiri bukan berarti memiliki sifat genetik yang sama melainkan memiliki hubungan kekerabatan yang lebih dekat bila dibandingkan dengan CMA lain yang membentuk kelompok sendiri.

Keragaman jenis CMA merupakan manifestasi genetik dalam menanggapi pengaruh lingkungan yang ada. Tanggapan ini menunjukkan kemampuan beradaptasi terhadap lingkungan sekitar setiap individu berbeda-beda. Dengan kata lain setiap jenis CMA yang memiliki kemampuan adaptasi terhadap lingkungan yang lebih luas, akan mampu bertahan pada beberapa lingkungan yang berbeda. Misalnya genus *Glomus* dalam penelitian ini menunjukkan persebaran yang lebih luas yaitu dari mulai ketinggian 100 mdpl sampai 1200 mdpl. Mikoriza dikatakan memiliki adaptasi yang luas manakala dapat menyelesaikan satu siklus hidupnya pada lingkungan yang berbeda-beda.

Keanekaragaman CMA yang ditemukan pada rhizosfer tanaman durian dari ketiga ketinggian menunjukkan adanya perbedaan, baik morfologi, tingkat infektivitas pada inang dan pola pita isozim yang muncul. Hal tersebut disebabkan oleh sejumlah faktor lingkungan yang berbeda pada tiap ketinggian. Kondisi lingkungan menjadi faktor utama karena tingkat adaptasi dan kemampuan berkembang tiap individu berbeda. Munculnya perbedaan pita isozim pada sembilan spesies CMA tidak lain disebabkan oleh perbedaan

kemampuan dalam beradaptasi. Perbedaan antara isozim karena adanya lebih dari satu gen yang mengkode tiap isozim. Perbedaan ini terjadi sebagai respon terhadap faktor lingkungan, artinya jika faktor lingkungan berubah maka isozim yang paling aktif akan memaksimalkan fungsinya dan membantu organisme tersebut bertahan hidup. Sehingga pola pita isozim pada CMA tersebut kemungkinan dapat berbeda manakala analisis profil isozim tersebut dilakukan pada kondisi lingkungan yang berbeda misalnya pada musim kemarau.

Tebal tipisnya pita isozim merupakan sifat kuantitatif yang biasanya dikontrol oleh banyak gen dan sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, sedangkan muncul tidaknya pita merupakan sifat kualitatif yang dikontrol oleh gen tertentu dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Sehingga sifat kualitatif lebih diutamakan karena mencerminkan ada tidaknya asam amino penyusun enzim tertentu yang merupakan produk gen itu sendiri.

Pola pita isozim yang muncul dari sembilan spesies CMA dengan enzim esterase dan peroxidase menunjukkan adanya perbedaan baik jumlah pita dan tebal tipisnya pita. Perbedaan muncul tidaknya pita disebabkan perbedaan asam amino yang diproduksi oleh gen tiap spesies CMA. Perbedaan tebal tipis pita ini disebabkan adanya perbedaan jumlah dari molekul-molekul yang termigrasi dari masing-masing spesies CMA. Molekul yang memiliki kekuatan ionik yang besar akan termigrasi lebih jauh dari pada yang memiliki kekuatan ionik rendah (Banati, 2009). Hal ini dapat ditunjukkan oleh *Glomus sp1* dan *Entropospora sp1* yang memiliki jarak migrasi terjauh pada Rf 0.90 dengan enzim esterase.

Hubungan kekerabatan CMA berdasarkan karakter morfologi dan

isozim menunjukkan bahwa CMA yang memiliki morfologi yang berbeda dari ketiga ketinggian juga memiliki perbedaan profil isozimnya. Hal ini menunjukkan bahwa setiap CMA yang ditemukan pada tiap ketinggian dapat mengekspresikan pola pita isozim yang berbeda-beda. Meskipun secara morfologi spesies CMA memiliki perbedaan, namun diantara spesies tersebut memiliki kemiripan genetik yang dekat. Hal ini dapat dilihat pada pita yang muncul dimana setiap spesies dapat memunculkan pita tertentu pada jarak migrasi yang sama. Variasi pola pita yang dibentuk enzim peroxidase lebih sedikit dibandingkan dengan enzim esterase. Nur dkk. (2008) mengatakan bahwa perbedaan isoenzim akan menghasilkan kecepatan gerak yang tidak sama bila dikondisikan dalam medan listrik dan medium gel yang semiporous sehingga enzim yang berbeda akan menyebabkan pola pita yang berbeda.

Isozim merupakan variasi yang terdapat pada enzim yang sama yang memiliki kemiripan fungsi dan terdapat pada individu yang sama. Enzim adalah suatu rantai asam amino dimana informasi genetik yang ada padanya merupakan translasi RNA, sedangkan RNA merupakan transkripsi langsung dari DNA. Oleh karena itu adanya variasi pada tingkat isozim menunjukkan adanya variasi pada tingkat DNA. Variasi DNA (genetik) tersebut dapat dilihat dengan fenotipe yang muncul pada masing-masing individu. Sehingga fenotipe atau sifat yang tampak tidak hanya dipengaruhi oleh genotif tapi juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

BAB V

PENUTUP

A. KESIMPULAN

Dalam penelitian yang telah dilakukan terhadap variasi morfologi, tingkat kolonisasi dan pola pita protein cendawa mikoriza pada rhizosfer perakaran tanaman durian di berbagai ketinggian tempat dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. CMA yang berhasil ditemukan pada rhizosfer perakaran durian dari ketinggian adalah *Glomus versiforme*, *Glomus mosseae*, *Glomus sp1*, *Glomus sp2*, *Acaulospora dentikulata*, *Acaulospora sp*, *Entropospora sp1*, *Entropospora sp2* dan *Gigaspora sp*. Penyebaran *Glomus* lebih luas daripada genus yang lain yaitu terdapat pada ketinggian 100-1200 mdpl.
2. Persentase kolonisasi CMA pada rhizosfer perakaran durian yang tertinggi terdapat pada ketinggian 100-400 mdpl yaitu 48,89%, sedangkan terendah terdapat pada ketinggian 800-1200 mdpl yaitu 34,11%.
3. Berdasarkan analisis pola pita isozim enzim esterase dan peroxidase

pada sembilan sampel yang ditemukan memiliki perbedaan kandungan isozim yang ditunjukkan dengan muncul tidaknya pita dan tebal tipisnya pita pada gel poliakrilamide.

4. Berdasarkan enzim esterase, pola pita isozim menampilkan 11 pita dan terkelompok menjadi tiga kelompok. Pita spesifik muncul pada *Entropospora sp2* dengan nilai Rf 0.40.
5. Berdasarkan enzim peroxidase, pola pita isozim menunjukkan 7 pita dan terkelompok menjadi empat kelompok. Pita spesifik muncul pada *Glomus mosseae* dengan nilai Rf 0.64

63

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap keragaman CMA pada tanaman inang lain pada tempat yang sama untuk memperkaya koleksi CMA.
2. Perlu dilakukan pengujian kolonisasi CMA yang ditemukan terhadap tanaman inang lain untuk melihat pengaruh terhadap pertumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abimanyu, D. 2004. Strategi Produksi Inokulum Mikoriza Arbuskula Bebas Patogen. http://rudycr.com/PPS702-ipb/08234/abimanyu_dn.htm. [17 Januari 2010].
- Ana, F. 2003. Mikoriza: Peran, Prospek dan Kendalanya. Fitopatologi. Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Andadari. 2005. Pengaruh Cendawan Mikoriza Arbuskula Terhadap Pertumbuhan Stek Murbei (*Morus alba var Kanva- 2 L*). *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. **2**(3): 269-275.
- Anonim. 1993. Budidaya Durian (*Durio zibethinus* Murr). *Balai Informasi Pertanian Irian Jaya*. Irian Jaya.
- Aggangan, N.S. B. dan N. Malajczuk. 1998. Effects of Chromium and Nickel on Growth of the Ectomycorrhizal Fungus *Pisolithus* and Formation of Ectomycorrhizas on Eucalyptus Urophylla s.t. Blake. *J. Geoderma*. **84** : 15-27.
- Allen E.B, Allen MF, Helm DJ, Trappe JM, Molina R, dan Rincon E. 1995. Pattern and Regulation of Mycorrhizal Plant and Fungal Diversity. *Plant and Soil*. **170** (1) : 47-62.
- Asghari, H. R. 2008. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae (VAM) Improve Salinity Tolerance in Pre-Inoculation Subterranean Clover (*Trifolium subterraneum*) Seedlings. *International Journal of Plant Production*. **2** (3): 243-256.
- Bhoopander Giri · R. Kapoor dan K. G. Mukerji. 2003. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and salinity on growth, biomass, and mineral nutrition of *Acacia auriculiformis*. *Biol Fertil Soils*. **38**:170–175.
- Bolan, N.S. 1991. A Critical Review of the Role of Mycorrhizal Fungi in the Uptake of Phosphorus by Plants. *J. Plant Soil*. **134**: 189-207.

- Brundrett. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. *CSIRO Forestry and Forest Product*. Amerika.
- Delvian. 2007. Dinamika Sporulasi Cendawan Mikoriza Arbuscula. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Deni Emilda. 2007. Prosedur Pendeteksian Cepat Secara *In Vitro* Ketahanan Varietas Durian Terhadap *Phytophthora palmivor*. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. *Buletin Teknik Pertanian*. **12**(2): 59-62.
- Etikawati, N. dan Suratman. 2008. Petunjuk Praktikum Taksonomi Eksperimental. Progam Studi Biosains. Progam Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Faisal, E., Samia, O. Yagoub dan A. E. Elsiddig. 2000. Effects of Mycorrhizal Inoculation and Phosphorus Application on the Nodulation, Mycorrhizal Infection and Yield Components of Faba Bean Grown Under Two Different Watering Regimes. *J. Agric. Sci* .**8**(2): 107-116.
- Gadkar, V., Rakafet, D. S., Talya, K. dan Yoram, K. 2001. Arbuscular Mycorrhizal Fungal Colonization. Factors Involved in Host Recognition. *Plant Physiology*.**12**: 1493-1499.
- Haug, I. 2010. Species-rich but distinct arbuscular mycorrhizal communities in reforestation plots on degraded pastures and in neighboring pristine tropical mountain rain forest. *Tropical Ecology*. **51**(2): 125-148.
- Hendry, K. I. 1989. Pengolahan Kesuburan Tanah. *Bina Aksara*. Jakarta
- Heru, W. 2009. Uji Aktivitas Minyak Atsiri Kulit Durian (*Durio Zibethinus* Murr) Sebagai Obat Nyamuk Elektrik Terhadap Nyamuk *Aedes Aegypti*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Hijriah, M., Redecker, D., Jean, A. dan K. Voigt. 2004. Identification and Isolation of Two Ascomycete Fungi from Spores of the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Scutellospora castanea*. *Applied and Environmental Microbiology*. **68**(9): 4567-4573.
- Husna. 2007. Aplikasi Mikoriza untuk Memacu Pertumbuhan Jati di Muna. Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan. Jakarta.
- Iswandi, A. dan J. L. O. Tampubolon. 2004. Media Campuran Tanah-Pasir dan Pupuk Anorganik untuk Memproduksi Inokulum Cendawan Mikoriza Arbuskula (CMA). *Buletin Agronomi*. **2** (1): 26-31 Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- John C. D, dan P. C Justin. 2001. Mycorrhiza Manual Prepared for the Workshop. Huazhong Agricultural University. China.
- Johnson, D. *et al*. 2003. Plant Communities Affect Arbuscular Mycorrhizal Fungal

- Diversity and Community Composition in Grassland Microcosms. *New Phytologist* **161**: 503–515.
- Johnson, P., Kenkel, N.C. dan T. Booth. 2001. Soil Salinity and Arbuscular Mycorrhizal Colonization of *Puccinellia nuttalliana*. *Mycological Research*. **105**(9):1094-1110.
- Kramadibrata, K., E.I. Riyanti, dan R.D.M. Simanungkalit. 1995. Arbuscular Mycorrhizal Fungi from the Rhizospheres of Soybean Crops in Lampung and West Java. *J.Biotropic*. **8**: 30-38.
- Kusumo. D. 2002. Paduan Karakterisasi dan Evaluasi Plasma Nutfa Talas. Sekretariat Komisi Nasional Plasma Nutfah. Bogor.
- Manian, S., Thomson, T., Edathil dan K. Udalyaj. 1995. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Colonization and Growth of Tomato (*Lycopersicon esculentum*) in Autoclaved Soil. *J. Trop. Agric. Sci.* **18**(2): 95-101.
- Mizonobe. 1994. Effects Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculation on the Growth of Asparagus Seedlings. *J. Nat. Sci.* **27**: 59-68.
- Muin, A. 2000. Penggunaan Mikoriza untuk Menunjang Pembangunan Hutan pada Lahan Kritis atau Marginal. Makalah Falsafah Sains. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nur, I., J., Lilies, S. dan Arifin, N., G. 2008. Analisis Kekerabatan Mentimun (*Cucumis sativus* L.) Menggunakan Metode RAPD-PCR dan Isozim. *J. Biodiv.* **9**(2):99-102.
- Octavitani. 2009. Pemanfaatan Cendawan Mikoriza Arbuskular (CMA) sebagai Pupuk Hayati untuk Meningkatkan Produksi Pertanian.
- Parniske, M. 2008. Arbuscular Mycorrhiza: The Mother of Plant Root Endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*. **6**: 763-775.
- Pearson, G.D., Mendova, M.I., Reyes, L.M. dan J. M. Horrison. 2006. Arbuscular Mycorrhiza. *Medicago truncatula handbook*. Plante-Microbe-Environnement. Université Bourgogne. Perancis.
- Rao Subba N.S. 1994. Mikrobia Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. (diterjemahkan oleh Herawati Susilo). PT. Unilever Indonesia Press. Jakarta.
- Reddy, S.R., Pindi, P.K. dan S. M. Reddy. 2005. Molecular Methods for Research on Arbuscular Mycorrhizal Fungi in India: problems and prospects. Kakatiya University. India.
- Riza, Z. 2008. Pemanfaatan Cendawan untuk Meningkatkan Produktivitas dan Kesehatan Ternak. Balai Besar Penelitian Veteriner. Bogor.

- Rowe, A. and A. Pringle. 2005. Morphological and Molecular Evidence of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Associations in Costa Rican Epiphytic Bromeliads. *J. Biotropica*. **37**(2): 245–250.
- Santos, B. A., Maia, L. C., Cavalcante, U. M. T., and M. T. Correia. 2001. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Soil Phosphorus Level on Expression of Protein and Activity of Peroxidase on Passion fruit roots. *J. Biol.* **4**(61): 1519-6984.
- Schreiner, R. P. dan K. L. Mihara. 2009. The diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Amplified from Grapevine Roots (*Vitis vinifera* L.) in Oregon Vineyards is Seasonally Stable and Influenced by Soil and Vine Age. *Mycologia*. **101**(5):599-611.
- Vierheilig, H., Schweiger, P. and M. Brundrett. 2005. An Overview of Methods for the Detection and Observation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Roots. *Physiologia Plantarum*. **125**: 393–404.
- Simanungkalit, R. D. M. 2003. Teknologi Jamur Mikoriza Arbuskuler: Produksi inokulan dan pengawasan mutunya. Program dan Abstrak Seminar dan Pameran: Teknologi Produksi dan Pemanfaatan Inokulan Endo-Ektomikoriza untuk Pertanian, Perkebunan, dan Kehutanan. 16 September 2003.
- Solaiman, M.Z., dan H. Hirata, 1995. Effect of Indigenous Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Paddy Fields on Rice Growth and NPK Nutrition Under Different Water Regimes. *J. Soil Sci.* **41**(3) : 505-514.
- Solihin, D.D. 2005. Teknik Elektroforesis dan Polymerase Chain Reaction (PCR) dalam Pelatihan Singkat Teknik Biologi Molekuler: Eksplorasi Sumberdaya Genetik dengan Menggunakan Marka Molekuler. PSIH, LPPM-IPB. Bogor.
- Suranto. 2000. Electroforesis Studies on the morphological variation of *Ranunculus* population . *J. Biodiv.* **1**(1): 1-7.
- Steenis, V. 1997. Flora. Pradnya Paramita. Jakarta.
- Stephen, H. B., Tim, C. dan Jacobson, J. 2002. Functional Diversity of Arbuscular Micorrhizas Exstends to the Exspression of Plant Genes Involved in P Nutrition. *J. Exsperimental Botany*. **53**(324): 1593-1601.
- Untung. 2007. Petunjuk Kerja Analisis isozim. Fakultas Kehutanan. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Yano, K., Yamauchi, A. dan Y. Kono. 1996. Distribution of Arbuscular Micorrhizas in Peanut Root System. *J. Crop.Sci.* **62**(2): 315-323.
- Yepyhardi. 2009. Elektroforesis; Pintu Gerbang Penelitian Biologi Molekular. <http://sciencebiotech.net/> [16 Januari 2010].

- Val, D. C., Borea, J. M. dan Azcon, C.A. 1999. Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungus Populations in Heavy-Metal-Contaminated Soils. *Environ Microbiol.* **65**(2): 718–723.
- Walker dan Trappe. 1993. Names and Epithets in the Glomales and Endogonales. *Mycological Research*.**97**:339-344.
<http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/nomenclature.htm>. [16 Januari 2010].

LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Bahan Kimia untuk Analisis Isozim (Untung. 2007)

a. Komposisi Buffer Ekstraksi :

No.	Bahan	Jumlah	Penggunaan
1.	1 M Tris-HCL, pH 7,8	8,45 gr	2 ml
	Air suling s/d	50 ml	
2.	Glycerol	75,5 gr	6.67 ml
	Air suling s/d	40 ml	
3.	Tween 80	7,85 gr	1 ml
	Air suling s/d	42,5 ml	
4.	Dithiothreitol	330 mg	1 ml
	Air suling s/d	10,5 ml	
5.	PVPP		1.2 gr

b. Komposisi Larutan *Gel Polyacrylamide*

No	Bahan	Jumlah
1.	<i>Separating gel / running gel</i>	
a.	1.5 M Tris pH 8,8	2.50 ml
b.	Acrylamide	1.2 gr
c.	SDS 10 %	100 µl
d.	Amonium Persulfat (APS)	100 µl
e.	TEMED	10 µl
f.	Aquades	4.59 ml
2.	<i>Stacking gel / spacer gel</i>	
a.	1.5 M Tris pH 6,8	1.25 ml
b.	Akrilamide	0.67 ml
c.	SDS 10 %	50 µl
d.	Amonium Persulfat (APS)	100 µl
e.	TEMED	10 µl
f.	Aquades	2.91 ml

c. Komposisi *Elektroda Buffer*

No.	Bahan	Jumlah
-----	-------	--------

1.	Glycine	14,4 gr
2.	SDS 10 %	10 ml
3.	1 M Tris	3 gr
4.	Aquades s/d	1000 ml

d. Komposisi *Running buffer*

No	Larutan	Bahan	Jumlah
1.	Stock buffer	Trisma Base	12gr
		Glysin	57,6 gr
		Aquadest	1000 ml
2.	Running buffer	Stock buffer	250 ml
		Aquades s/d	5.000 ml

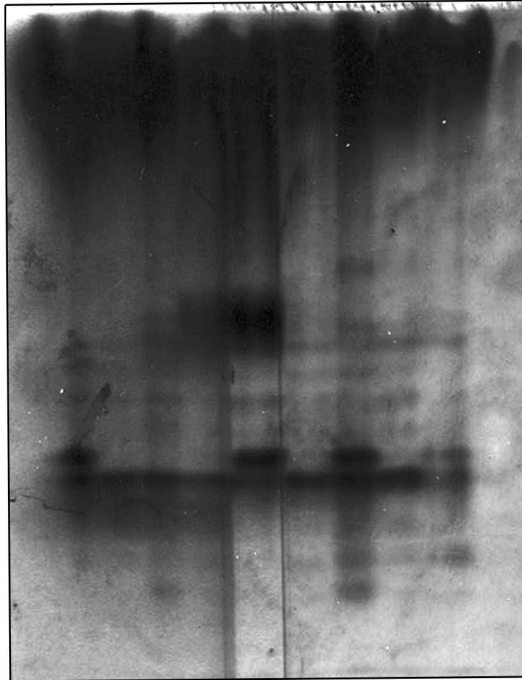
e. Komposisi *Buffer Esterase (EST)* dan *Peroksidase (POD)*

No.	Bahan	Jumlah
1.	<i>Esterase (EST)</i>	
a.	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	7.8 gr
b.	NaH ₂ PO ₄	1.42 gr
c.	Aquades s/d	500 ml
2.	<i>Peroksidase (POD)</i>	
a.	Trisma base	2.22 gr
b.	Acetil acid (glacial)	1.33 gr
c.	Aquades s/d	500 ml

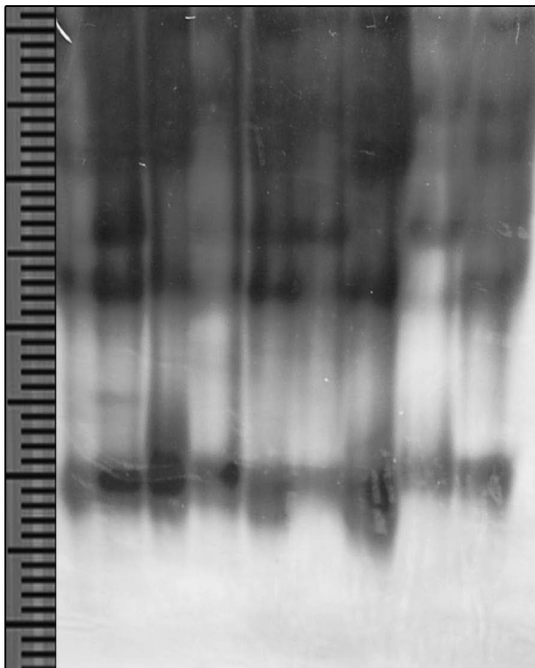
Lapiran 2. Hasil penghitungan kolonisasi CMA

Tinggi	Sampel											Jumlah
T1		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	
	1	6	3	8	6	4	4	7	2	1	3	44
	2	7	2	6	5	7	6	4	0	8	7	52
	3	0	6	4	6	3	7	8	2	5	5	46
	4	5	8	8	4	9	11	5	7	0	4	61
	5	4	6	6	9	5	5	8	6	1	0	50
	6	5	0	3	0	0	6	4	5	7	1	31
	7	5	8	6	3	4	6	7	8	8	8	63
	8	7	0	5	4	0	9	2	8	1	4	40
	9	7	7	6	3	0	5	5	6	8	9	53
Rerata											48,89	
Tinggi	Sampel											Jumlah
T2		a	b	c	d	e	f	g	h	i	J	
	1	3	0	6	5	5	8	4	5	3	2	39
	2	6	6	5	0	2	4	7	2	7	6	45
	3	2	4	8	5	3	2	2	6	7	8	47
	4	8	4	7	3	7	7	9	5	7	1	58
	5	0	7	5	1	3	7	6	1	0	4	34
	6	5	7	6	1	4	8	0	3	6	8	48
	7	4	8	8	0	2	5	6	8	5	6	52
	8	0	5	4	7	2	5	2	6	6	5	41
	9	7	8	1	2	6	8	5	5	8	5	55
Rerata											46,56	
Tinggi	Sampel											Jumlah
T3		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	
	1	1	5	8	0	6	4	7	7	8	6	52
	2	3	1	0	6	4	5	2	6	3	0	30
	3	0	4	7	3	0	1	5	3	2	0	25
	4	3	0	3	6	5	8	4	5	3	2	37
	5	1	2	1	6	0	5	1	3	0	0	19
	6	4	4	6	3	0	1	4	6	0	0	28
	7	7	2	0	4	4	6	5	7	4	3	42
	8	5	3	7	6	5	0	7	8	4	6	51
	9	2	4	4	0	6	0	1	4	2	0	23
Rerata											34,11	

Lampiran 4. Pola pita isozim CMA dengan pewarna esterase



Lampiran 5. Pola pita isozim CMA dengan pewarna esterase



Lampiran 5. Data biner isozim esterase pada sembilan sampel CMA

No	Rf	Sampel CMA								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0.40	0	0	0	0	0	0	1	0	0
2	0.48	0	0	1	1	1	0	1	0	0
3	0.52	1	1	1	1	1	1	0	1	1
4	0.56	0	0	0	0	0	1	1	0	0
5	0.6	1	0	1	0	1	0	1	1	0
6	0.64	0	0	1	0	0	0	0	0	0
7	0.68	1	0	0	0	1	0	1	0	1
8	0.72	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9	0.78	0	0	0	0	0	1	1	1	0
10	0.82	0	0	0	0	0	0	1	1	1
11	0.90	0	0	1	0	0	0	1	0	0

Lampiran 6. Data biner isozim peroxidase pada sembilan sampel CMA

No	Rf	Sampel CMA								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0.05	0	1	1	1	1	1	1	1	1
2	0.15	0	1	1	1	1	1	1	1	1
3	0.23	1	1	1	1	1	0	1	0	1
4	0.38	0	1	0	0	1	1	0	1	1
5	0.49	1	1	1	1	1	0	1	0	1
6	0.64	0	1	0	0	0	0	0	0	0
7	0.77	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Lampiran 7. Uji Anova dan LSD tingkat kolonisasi CMA berdasarkan ketinggian tempat

Descriptives

Infektivitas CMA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
T1 (100-400 m)	9	48.8889	10.03051	3.34350	41.1788	56.5990	31.00	63.00
T2 (400-800 m)	9	46.5556	7.76388	2.58796	40.5877	52.5234	34.00	58.00
T3 (800-1200 m)	9	34.1111	12.06694	4.02231	24.8356	43.3866	19.00	52.00
Total								63.00

ANOVA

Infektivitas CMA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1136.074	2	568.037	5.560	.010
Within Groups	2452.000	24	102.167		
Total	3588.074	26			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Infektivitas CMA

LSD

(I) Ketinggian Tempat	(J) Ketinggian Tempat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
T1 (100-400 m) a	T2 (400-800 m)	2.33333	4.76484	.629	-7.5008	12.1675
	T3 (800-1200 m)	14.77778*	4.76484	.005	4.9436	24.6119
T2 (400-800 m) b	T1 (100-400 m)	-2.33333	4.76484	.629	-12.1675	7.5008
	T3 (800-1200 m)	12.44444*	4.76484	.015	2.6103	22.2786
T3 (800-1200 m)	T1 (100-400 m)	-14.77778*	4.76484	.005	-24.6119	-4.9436
	T2 (400-800 m)	12.44444	4.76484	.015	2.6103	22.2786

Keterangan: Huruf yang sama berarti memberikan pengaruh beda nyata

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 8. Analisis dendrogram CMA berdasarkan data morfologi

Case Processing Summary(a,b)

Cases					
Valid		Missing		Total	
N	Percent	N	Percent	N	Percent
9	100.0	0	.0	9	100.0

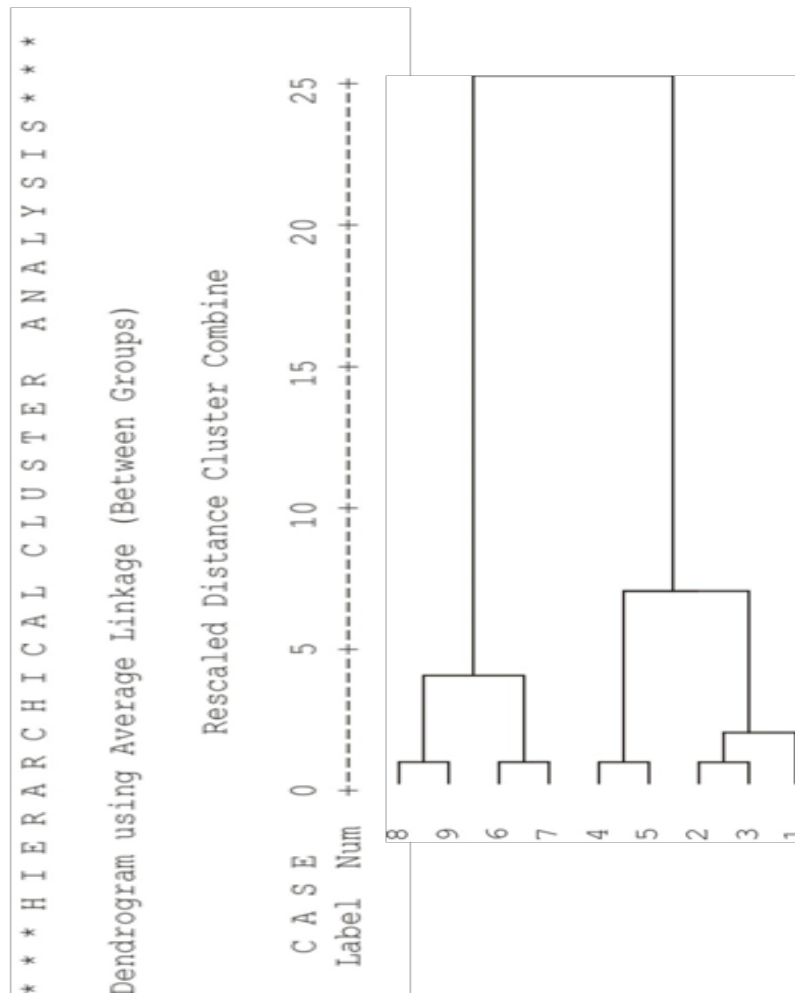
a Squared Euclidean Distance used
b Average Linkage (Between Groups)

Average Linkage (Between Groups)

Agglomeration Schedule

Stage	Cluster Combined		Coefficients	Stage Cluster First Appears		Next Stage
	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 1	Cluster 2
1	8	9	1.000	0	0	6
2	6	7	1.000	0	0	6
3	4	5	1.000	0	0	7
4	2	3	1.000	0	0	5
5	1	2	2.500	0	4	7
6	6	8	4.500	2	1	8
7	1	4	7.167	5	3	8
8	1	6	23.500	7	6	0

Dendrogram



Lampiran 9. Analisis dendrogram CMA berdasarkan data enzim esterase

Case Processing Summary(a,b)

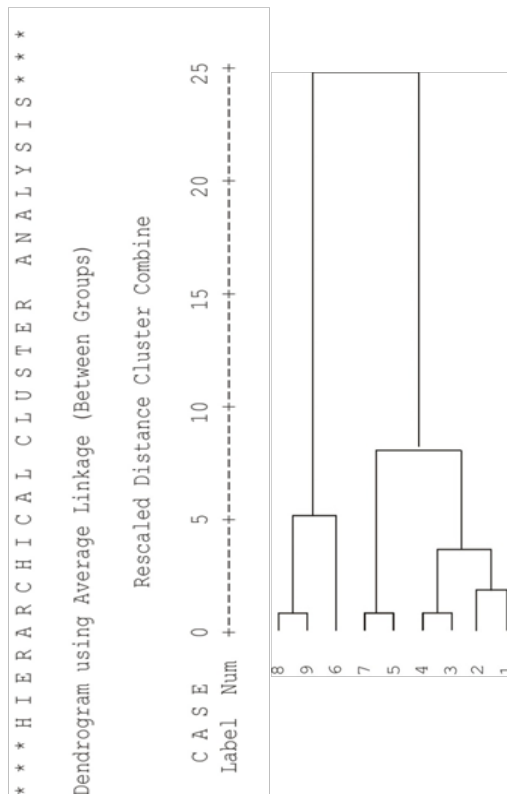
Cases					
Valid		Missing		Total	
N	Percent	N	Percent	N	Percent
9	100.0	0	.0	9	100.0

a Squared Euclidean Distance used
b Average Linkage (Between Groups)

Agglomeration Schedule

Stage	Cluster Combined		Coefficients	Stage Cluster First Appears		Next Stage
	Cluster 1	Cluster 2		Cluster 1	Cluster 2	
1	7	9	1.000	0	0	3
2	5	8	1.000	0	0	5
3	3	6	1.000	0	0	6
4	2	4	2.000	0	6	5
5	1	2	2.500	1	4	7
6	7	9	3.500	2	1	8
7	1	4	5.000	7	3	8
8	1	2	8.500	8	6	0

Dendrogram



Lampiran 10. Analisis dendrogram CMA berdasarkan data enzim peroxidase

Case Processing Summary(a,b)

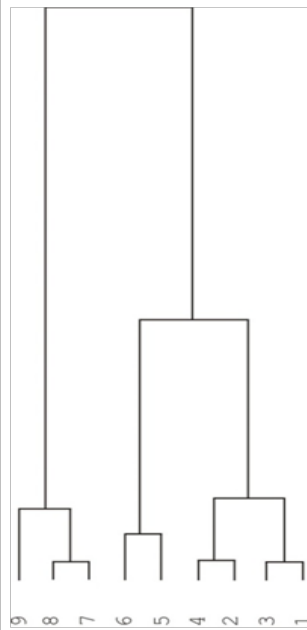
Cases					
Valid		Missing		Total	
N	Percent	N	Percent	N	Percent
9	100.0	0	.0	9	100.0

a Squared Euclidean Distance used
b Average Linkage (Between Groups)

Agglomeration Schedule

Stage	Cluster Combined		Coefficients	Stage Cluster First Appears		Next Stage
	Cluster 1	Cluster 2		Cluster 1	Cluster 2	
1	7	9	1.000	0	0	2
2	5	8	1.000	0	0	4
3	3	6	1.000	0	0	4
4	2	4	1.000	0	1	5
5	1	2	2.000	1	3	7
6	7	9	4.000	5	6	7
7	1	4	5.000	7	6	8
8	1	2	9.500	7	6	0

Dendrogram



Lampiran 11. Analisis dendrogram CMA berdasarkan data enzim esterase dan enzim peroxidase
Case Processing Summary(a,b)

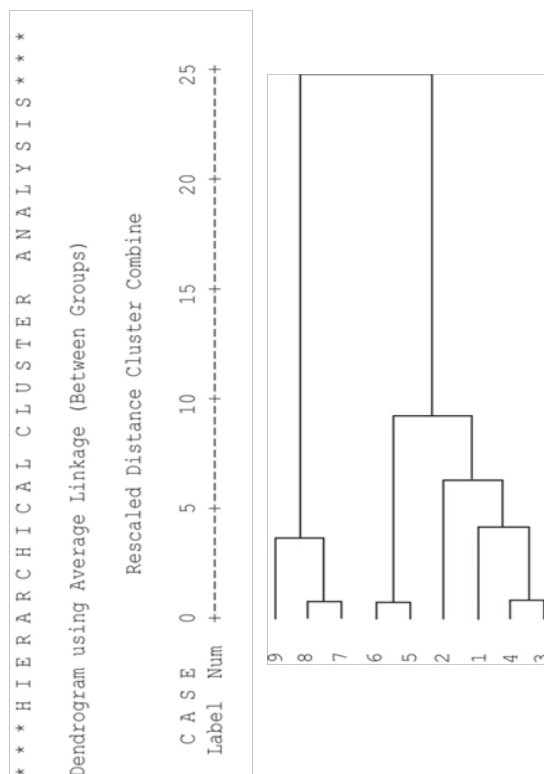
Cases					
Valid		Missing		Total	
N	Percent	N	Percent	N	Percent
8	96.3	1	6.7	9	100.0

a Squared Euclidean Distance used
b Average Linkage (Between Groups)

Agglomeration Schedule

Stage	Cluster Combined		Coefficients	Stage Cluster First Appears		Next Stage
	Cluster 1	Cluster 2		Cluster 1	Cluster 2	
1	7	9	1.000	0	0	1
2	5	8	1.000	0	0	2
3	3	6	1.000	0	0	4
4	2	4	1.000	0	3	5
5	1	2	2.000	0	0	6
6	7	9	5.500	2	1	6
7	1	4	8.000	6	3	8
8	1	2	10.000	7	6	0

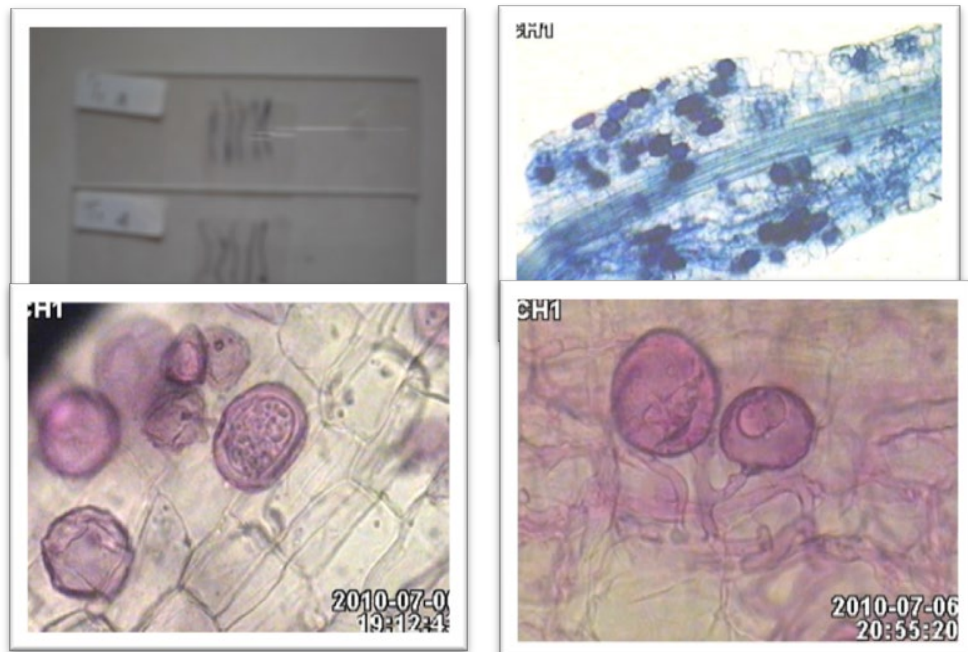
Dendrogram



Lampiran 12. Pengambilan sampel dan trapping dengan kultur pot



Lampiran 13. Gambar kolonisasi CMA



Lampiran 14. Persiapan dan proses elektroforesis



Lampiran 15. Tempat Pengambilan Sampel

Ketinggian/ jenis inang durian	Suhu (°C)	pH	Ketinggian tempat (dpl)	Lokasi
I. Juvenil	30	7	180	Kebakramat
	29	6,8	295	Pojok, Pojok, Mojogedang
	32	7	195	Bejen, Karanganyar

Baru Berbuah	29	7	290	Sukosari, Jatisari, Mojogedang
	29	6,8	265	Gawong, Sukosari, Mojogedang
	30	6.9	240	Seplang, Jatirejo, Jumapolo
Sudah Pernah Berbuah	31	7	200	Jatisari, Sedayu, Jumantono
	30	7	280	Podang, Genengan, jumantono
	30	7	130	Jaten
II. Juvenil	28	7	490	Karangpandan, Karanganyar
	27	7,1	640	Girilayu, Giribangun, Matesih
	27	6,8	630	Wukirsawit, Jatiyoso
Baru Berbuah	29	6,8	520	Tunggulrejo, Jumantono
	27	7	510	Matesih, Matesih
	26	7	660	Karangbangan, Tawangmangu
Sudah Pernah Berbuah	28	6.9	520	Tunggulrejo, Jumantono
	29	7	530	Jumapolo
	27	6,9	630	Doplang, Karangpandan
III. Juvenil	22	6,8	1000	Karangsari, Tawangmangu
	25	7	720	Pedan, karanglo, Tawangmangu
	24	6.6	950	Jenawi, Jenawi
Baru Berbuah	22	6.8	1100	Nglebak, Tawangmangu
	23	6.9	850	Punthuk, Punthukrejo, Ngargoyoso
	23	9	1050	Karangsari, Tawangmangu

Sudah Pernah Berbuah	24	6.8	1100	Bonglot, Jenawi, Jenawi
	23	6.9	940	Beruk, Jatiyoso
	23	7	890	Karanglo, Tawangmangu