

## Pengaruh Sterilisasi Media dan Dosis Inokulum terhadap Pembentukan Ektomikoriza dan Pertumbuhan *Shorea selanica* Blume.

### *Effect of Media Sterilization and Inoculum Dosage on Ectomycorrhizae Formation and Shorea selanica Blume. Growth*

Sri Wilarso Budi\*

Departemen Silviculture, Fakultas Kehutanan IPB

\*Corresponding author:

e-mail: wilarso62@yahoo.com

#### ABSTRACT

The objectives of this research were to examine the effects of soil media sterilization and the dosage of mycorrhizal inoculum on mycorrhizal development and function and plant growth. *Shorea selanica* seedlings were inoculated with different ectomycorrhizal soil inoculum dosage and grown in non-sterile and sterile soil. Ectomycorrhizal soil inoculum were collected from under *Shorea pinanga* trees in Silviculture laboratory. Soils used were infertile acid soils collected from field sites in Jasinga, Bogor. Mycorrhizal inoculation improved the growth of *S. selanica* seedlings more than on sterile soil medium. The uninoculated seedlings exhibited stunted growth typical of P deficiency both in sterile and unsterile soil. Height at 16 weeks was significantly taller in non-sterile than in sterile soil. A significant interaction effect of inoculation and soil sterilization on height, diameter, shoots and roots biomass at harvest was observed. Mycorrhizal inoculum dosage had a varied effect on mycorrhizal formation. Root colonization was significantly greater in non-sterile soil than in sterile soil in all inoculum dosage.

**Key words:** *Ectomycorrhizae inoculum, nutrient absorption, soil sterilization, Shorea selanica*

#### PENDAHULUAN

Asosiasi Ektomikoriza (ECM) merupakan salah satu elemen yang sangat penting dari ekosistem hutan. Melalui jaringan hifa di dalam tanah, ektomikoriza mampu mengambil nutrisi dan air yang sudah tidak terjangkau oleh akar tanaman. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa mikoriza mampu meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman (Duponnois *et al.* 2005), meningkatkan serapan hara N dan P (Gossous and Mohammad 2009, Rotor and Delima 2010) dan meningkatkan ketahanan tanaman dari stress air (Oyun *et al.* 2010) dan serangan patogen akar (Bachtiar *et al.* 2010).

Ektomikoriza banyak dijumpai di alam berasosiasi dengan berbagai pohon tropis diantaranya dari keluarga Dipterocarpaceae, Eucalyptus dan Pinus (Smith dan Reid, 2007). Namun demikian keberadaan ektomikoriza dapat menurun maupun hilang bersamaan dengan hilangnya pohon inangnya akibat kebakaran hutan dan *land clearing*.

Berbagai metode telah dikembangkan untuk menularkan kembali ektomikoriza pada tanaman. Lu *et al.* (1998) menggunakan inokulum spora dan Brundrett *et al.* (2005) menggunakan inokulum spora dan miselium pada tanaman Eucalyptus. Sedangkan Riniarti (2002) menggunakan inokulum tablet dan tanah 10%

pada tanaman *Shorea mecystopterix*, *Shorea pinanga* dan *Shorea seminis*.

Setiap bentuk inokulum mempunyai kelemahan dan kelebihan masing-masing. Kelebihan penggunaan inokulum spora, miselium dan tablet adalah lebih praktis, namun ketersediannya sangat terbatas sedangkan penggunaan inokulum tanah ketersediannya tidak terbatas namun belum diketahui dosis yang terbaik, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian pengaruh dosis inokulum tanah terhadap pembentukan ektomikoriza.

Pembentukan dan perkembangan ektomikoriza dipengaruhi oleh berbagai faktor di antaranya adalah bakteri dan jenis mikroorganisme tanah lainnya. Penelitian Garbaye *et al.* (1994) menunjukkan bahwa perkembangan ektomikoriza dipengaruhi secara positif oleh bakteri fluorescent pseudomonas. Perkembangan berbagai jenis ektomikoriza juga dirangsang dengan adanya streptomycetes (Becker *et al.* 1999). Oleh karena sterilisasi media tanam dalam praktik pembibitan di persemaian sering dilakukan dan berpeluang mematikan berbagai mikroorganisme tanah, maka perlu dilakukan penelitian pengaruh sterilisasi media terhadap perkembangan mikoriza dan tanaman.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis inokulum tanah dan sterilisasi media semai terhadap pembentukan mikoriza dan pertumbuhan *Shorea selanica* di persemaian.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Rumah Kaca Laboratorium Silviculture, Fakultas Kehutanan IPB pada bulan Maret 2010 sampai Juni 2010. Rancangan penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial 2 faktor. Faktor pertama adalah Media Tanam M0= Tanah tidak disterilkan dan M1= Tanah disterilkan. Faktor kedua adalah dosis inokulum tanah dengan 4 taraf perlakuan: D0 = 0%; D1 = 10%; D2 = 20% dan D3 = 30% (v/v). Media tanah diperoleh dari daerah Jasinga, Bogor yang ditumbuhi oleh vegetasi alang-alang. Tanah lapisan atas setebal lebih kurang 20 cm dikumpulkan, dikeringanginkan dan disaring dengan saringan 2 mm. Sebagian tanah disterilkan dengan menggunakan autoklave pada suhu 120°C tekanan 1 atm selama 2 jam. Media yang digunakan mempunyai sifat-sifat: pH 4.5; N total 0.24; P tersedia 8.6 ppm; C-organik 2.64; KTK 23.38. Inokulum tanah yang mengandung miselia dan akar ektomikoriza dikumpulkan dari bawah pohon *Shorea pinanga* di Persemaian Laboratorium Silviculture, diayak dengan ayakan 2 mm, kemudian langsung dicampur dengan media tanam dengan dosis sesuai perlakuan.

Biji *Shorea selanica* berasal dari Kebun Percobaan Haurbentes, dikecambahkan di bak kecambah dengan menggunakan media pasir steril. Kecambah *S. selanica* yang berdaun 2 dipindahkan ke dalam *polybag* ukuran 15 x 20 cm yang berisi media sesuai perlakuan. Tanaman ditumbuhkan selama 16 minggu di rumah kaca dan disiram bila diperlukan. Semua perlakuan terdiri dari 5 ulangan.

Pertambahan tinggi, diameter tanaman, % kolonisasi mikoriza, biomass pucuk dan akar serta serapan N, P dan K, diukur enam belas minggu setelah tanam. Semua data dianalisis menggunakan *software* aplikasi MINITAB. Untuk menentukan perbedaan dilakukan analisa lanjutan dengan DMRT pada taraf 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Inokulasi *S. selanica* dengan inokulum tanah yang mengandung akar dan miselia ektomikoriza secara nyata meningkatkan pertumbuhan tinggi, diameter, berat kering pucuk dan berat kering akar baik pada media tanah yang disterilkan maupun yang tidak disterilkan pada umur 16 minggu setelah tanam (**Table 1**).

Tabel 1 Pengaruh sterilisasi media dan dosis inokulum terhadap pertumbuhan *S. selanica* di Rumah Kaca 16 minggu setelah tanam

Media	Dosis inokulum % (v/v)	Tinggi (cm)	Diameter (mm)	Berat Kering Pucuk (g)	Berat Kering Akar (g)
Tidak disterilkan	0	9.5d	5.6a	2.77bc	1.05d
	10	25.8a	6a	6.10a	3.51a
	20	21.6b	5.8a	4.94b	2.20b
	30	21.4b	5.2a	3.39bc	1.50c
Disterilkan	0	6.1e	3.0b	1.0d	0.40e
	10	7.1e	3.4b	1.48d	0.75e
	20	13cd	5.4a	3.92b	1.75bc
	30	14.4c	5a	2.91c	1.45c
Signifikansi					
Media		**	**	**	**
Dosis inokulum		**	**	*	*
Interaksi		**	**	**	*

Ket: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi penularan fungi ektomikoriza dari tanah ke akar *S. selanica*, serta telah berfungsinya ektomikoriza dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Penelitian Riniarti (2002) menunjukkan bahwa inokulasi inokulum tanah dengan dosis 10% pada bibit *Shorea mecystopterix*, *Shorea pinanga* dan *Shorea seminis* dapat meningkatkan pertumbuhan tinggi berturut-turut sebesar 15%, 17,64% dan 1,4 % pada media tidak tanah steril. Pada penelitian ini, pemberian dosis 10%, 20% dan 30% meningkatkan pertumbuhan tinggi *S. selanica* sebesar berturut-turut 177,8%, 133% dan 134% dan semakin besar dosis yang diberikan peningkatan pertumbuhannya semakin menurun pada media tanah yang tidak steril. Sedangkan pada media tanah yang disterilkan peningkatan pertumbuhan tinggi *S. selanica* yang diberi dosis 10%, 20% dan 30% lebih kecil dibanding pada media tanah yang tidak disterilkan berturut-turut 16,7%; 116,7% dan

134% serta meningkat dengan meningkatnya dosis inokulum yang diberikan. Hal ini disebabkan karena adanya peran penting mikroflora yang dapat membantu perkembangan ektomikoriza. Sterilisasi media tanah dengan autoclave dapat mematikan mikroflora dan mikrofauna yang ada di dalamnya. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa bakteri dan mikroflora tanah mempunyai peranan penting dalam proses simbiosis dan perkembangan mikoriza (Tatiana *et al.* 2010). Pengaruh mikroflora terhadap perkembangan ektomikoriza dapat bersifat positif, netral maupun negatif (Varese *et al.* 1996).

Pada penelitian ini kolonisasi ektomikoriza menurun dengan meningkatnya dosis inokulum pada akar tanaman yang tumbuh pada media tidak steril, sedangkan pada tanaman yang tumbuh pada media steril, kolonisasi ektomikoriza meningkat dengan meningkatnya dosis inokulum, namun prosentase

kolonisasi ektomikodridza pada akar tanaman yang tumbuh di media tidak steril secara nyata lebih tinggi dari pada tanaman yang tumbuh pada media steril pada semua level dosis inokulum yang diberikan (**Tabel 2**). Pada tanaman yang tidak diinokulasi tidak ditemukan kolonisasi ektomikoriza baik pada media yang tidak steril maupun pada media yang steril (**Tabel 2**).

Tabel 2 Pengaruh sterilisasi media tanam dan dosis inokulum terhadap pembentukan ektomikoriza

Media	Dosis inokulum % (v/v)	% Kolonisasi mikoriza
Tidak disterilkan	0	0.0
	10	86a
	20	81b
	30	80b
Disterilkan	0	0.0
	10	41,6e
	20	48,6d
	30	56,6c
Signifikansi Media		**
Dosis inokulum		**
Interaksi		**

Ket: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Pada tanah yang tidak steril terdapat berbagai macam bakteri dan mikroflora lain yang dapat merangsang maupun menghambat perkembangan ektomikoriza (Varese *et al.* 1996) dan jika dalam tanah lebih banyak potensi mikroflora yang bersifat menghambat dari pada yang menstimulir perkembangan ektomikoriza maka akan menurunkan prosentase kolonisasi. Sifat penghambatan dan stimulasi dari mikroflora juga tergantung pada ketahanan fungi ektomikoriza terhadap antibiotik yang dihasilkan oleh mikroflora. Hasil penelitian Keller *et al.* (2006) menunjukkan bahwa mikroflora *Streptomyces* sp. AcH 505 menstimulir perkembangan fungi ektomikoriza *Amanita muscaria* dan *Suillus bovinus*, tetapi menghambat perkembangan fungi ektomikoriza

*Hebeloma cylindrosporium*, karena fungi tersebut sangat sensitif terhadap antibiotik yang diproduksi oleh *Streptomyces* sp. AcH 505. Pada penelitian ini jenis fungi yang membentuk ektomikoriza tidak diketahui dan kemungkinan lebih dari satu jenis dan sensitif terhadap antibiotik, sehingga semakin besar dosis inokulum yang diberikan yang berarti semakin banyak potensi mengandung mikroflora yang menghasilkan antibiotik dan menurunkan kolonisasi akar ektomikoriza. Hal lain yang menyebabkan turunnya kolonisasi ektomikoriza dengan naiknya dosis inokulum adalah semakin banyaknya P tersedia di dalam tanah sejalan dengan lebih banyaknya produksi enzim phosphatase. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kolonisasi mikoriza dipengaruhi oleh P tersedia, jika P tersedia cukup tinggi maka kolonisasi akar menurun dan jika P tersedia rendah, maka kolonisasi mikoriza meningkat (Vierheirliig 2004). Smith and Read (2007) melaporkan bahwa tanaman yang tumbuh pada media dengan ketersediaan P tinggi akan menurunkan permeabilitas membran yang pada gilirannya akan menurunkan jumlah eksudat yang dikeluarkan lewat akar yang pada akhirnya akan menurunkan kolonisasi mikoriza. Penelitian lebih lanjut sangat diperlukan untuk mempelajari populasi mikroflora pada mycorrhizofzer.

Pada media tumbuh yang disterilkan, kolonisasi ektomikoriza meningkat dengan meningkatnya dosis inokulum yang diberikan (**Tabel 2**). Hal ini dikarenakan semakin besar dosis inokulum yang diberikan semakin besar pula potensi propagul ektomikoriza yang dapat langsung kontak dengan akar *S. leprosula*, sementara tidak ada potensi mikroflora dari media yang dapat merangsang perkembangan ektomikoriza, sehingga produksi enzim phosphatase tidak berlebih dan ketersediaan P di dalam tanah masih dalam ambang yang tidak menurunkan kolonisasi mikoriza.

Dengan berkembangnya kolonisasi akar ektomikoriza, maka kemampuan penyerapan hara akan semakin baik. Interaksi antara inokulasi mikoriza dengan sterilisasi media secara nyata meningkatkan serapan hara N, P dan K oleh daun *S. selanica* dibandingkan dengan tanaman kontrol (**Tabel 3**).

Tabel 3 Serapan Hara N, P, K

Media	Dosis inokulum % (v/v)	N	P	K
Tidak disterilkan	0	33.67e	1.93e	20.36b
	10	107.19a	4.98a	42.27a
	20	77.0b	4.39b	38.55a
	30	66.38c	4.14b	24.06b
Disterilkan	0	30.35e	1.50e	18.25b
	10	39.79d	2.29d	15.77d
	20	66.56c	3.88c	23.75b
	30	40.36d	2.48d	18.70c

Ket: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Inokulasi ektomikoriza meningkatkan serapan hara N, P dan K baik pada media yang tidak steril maupun yang steril. Peningkatan hara N, P dan K pada tanaman yang diinokulasi ektomikoriza lebih besar pada tanaman yang tumbuh di tanah tidak steril dibanding dengan

tanaman yang tumbuh pada media yang steril (**Tabel 3**). Secara umum media tanah yang digunakan di penelitian ini adalah tanah asam dengan pH 4.5; N total 0.24; P tersedia 8.6 ppm; P tidak tersedia 206.6 ppm; C-organik 2.64; dan KTK 23.38. Dengan kondisi tanah yang

demikian, maka akar tanaman tidak mampu mengambil unsur P tidak tersedia yang jumlahnya cukup banyak. Salah satu mekanisme penyerapan hara oleh ektomikoriza adalah kemampuannya menghasilkan enzim fosfatase yang dapat membantu mengubah P tidak tersedia menjadi P tersedia bagi tanaman. Phosphorous adalah salah satu unsur esensial untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Shtark et al. 2010) yang berfungsi untuk membantu perkembangan akar dan penyerapan hara secara aktif dari dalam tanah. Nitrogen merupakan komponen dari asam amino, porpirin serta berbagai senyawa lain di dalam tanaman yang berfungsi dalam proses pembelahan sel (Kozłowski dan Palarady, 1997), sedangkan Kalium sangat penting dalam mengatur membuka dan menutupnya stomata yang menjaga proses keluar masuknya CO<sub>2</sub> dan air untuk proses fotosintesis. Dengan meningkatnya serapan N, P dan K pada tanaman yang bermikoriza maka pertumbuhan tanaman lebih sehat dan lebih cepat.

### KESIMPULAN

Pertumbuhan tinggi, diameter dan biomassa *S. selanica* yang ditanam pada media tidak steril dan diinokulasi inokulum ektomikoriza lebih baik dari pada tanaman yang ditanam pada media yang disterilkan, demikian juga tanaman yang tidak diinokulasi tumbuh lebih baik pada media yang tidak disterilkan. Pertumbuhan *S. selanica* yang paling baik adalah pada tanaman yang tumbuh di media tidak steril dan diinokulasi dengan inokulum dengan dosis 10%, peningkatan pertumbuhan tinggi dan diameter masing-masing sebesar 171,5% dan 7,14% dibandingkan dengan tanaman yang tidak diinokulasi. Media tanah yang tidak disterilkan dapat merangsang perkembangan ektomikoriza dengan dosis yang tepat yaitu 10%.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Tatang yang telah membantu dalam penyiapan media dan penyiraman tanaman selama proses penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Bakhtiar Y, Yahya S, Sumaryono W, Sinaga MS, Budi SW, & Tajudin T. 2010. Isolation and Identification of Mycorrhizosphere Bacteria and Their Antagonistic Effects Towards *Ganoderma boniense* in vitro. *Journal of Microbiology Indonesia* 4 (2): 96-102.
- Becker DM Bagley ST & Podila GK. 1999. Effects of mycorrhizal-associated streptomycetes on growth of *Laccaria bicolor*, *Cenococcum geophilum*, and *Armillaria* species and on gene expression in *Laccaria bicolor*. *Mycologia* 91: 33-40.
- Brundrett M, Malajczuk N, Gong M, Xu, Shirley S, Bernie D. 2005. Nursery inoculation of Eucalyptus seedlings in Western Australia and Southern China using spores and mycelial inoculum of diverse ectomycorrhizal fungi from different climatic regions. *Forest Ecology and Management* 209: 193-205.
- Duponnoisa R, Colombeta A, Hienb V & Thioulouse J. 2005. The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia holosericea*. *Soil Biology & Biochemistry* 37 : 1460-1468.
- Garbaye J. 1994. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol* 128: 197-210.
- Goussous SJ & Mohammad MJ. 2009. Comparative effect of two arbuscular mycorrhizae and N and P Fertilizers on growth and nutrient uptake of onions. *International Journal of Agriculture & Biology* 11: 463-467.
- Keller S, Schneider K & Sussmuth RD. 2006. Structure elucidation of auxofuran, a metabolite involved in stimulating growth of fly agaric, produced by the mycorrhiza helper bacterium *Streptomyces* ACH 505. *Journal of Antibiotics (Tokyo)* 59: 801-803.
- Kozłowski TT, Pollarady SG. 1997. *Physiology of Woody Plants*. 2<sup>nd</sup>ed. Academic Press. London.
- Lu X, Malajczuk N & Dell B. 1998. Mycorrhiza formation and growth of Eucalyptus globulus seedlings inoculated with spores of various ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 8: 81-86.
- Oyun MB, Adeduntan SA & Suberu SA. 2010. Influence of watering regime and mycorrhizae inoculations on the physiology and early growth of *Acacia senegal* (L.) Wild. *African Journal of Plant Science* 4(7): 210-216.
- Poole EJ, Bending GD, Whipps JM & Read DJ. 2001. Bacteria associated with *Pinus sylvestris*-*Lactarius rufus* ectomycorrhizas and their effects on mycorrhiza formation in vitro. *New Phytol* 151: 741-753.
- Riniarti M. 2002. Perkembangan kolonisasi ektomikoriza dan pertumbuhan semai Dipterocarpaceae dengan pemberian asam oksalat dan asam humat serta inokulasi ektomikoriza. [disertasi]. SPS. IPB.
- Rotor AV & Delima PC. 2010. Mycorrhizal association, N fertilization and biocide application on the efficacy of bio-N on Corn (*Zea mays* L) growth and productivity. *E-Int. J. Sci. Res.* 2(3): 267-290.
- Shtark OY, Borisov AY, Zhukov VA, Provorov NA & Tikhonovich I A. 2010. Intimate Associations of Beneficial Soil Microbes with Host Plants. GR Dixon and EL Tilston (eds.), *Soil Microbiology and*

- Sustainable Crop Production*, DOI 10.1007/978-90-481-9479-7\_5, c Springer Science+Business Media B.V. 119-196.
- Smith, S.E & Reid D.J. 2007. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3<sup>rd</sup> edition. New York, USA: Academic Press.
- Tatiana AR, Victor SP & Gabriela FD. 2010. The role of mycoization helper bacteria in the establishment and action of ectomycorrhizae associations. *Brazilian Journal of Microbiology* 41: 832-840.
- Thomson BD, Hardy GESTJ, Malajczuk N & Grove TS. 1996. The survival and development of inoculant ectomycorrhizal fungi on roots of outplanted *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant Soil* 178: 247–253.
- Varese GC, Portinaro S, trota A, Scannerini S, Luppi-Mosca AM & Martinotti MA. 1996. Bacteria associated with *Suillus grevillei* Sporocarps and Ectomycorrhizae and their effects on in vitro growth of the mycobion. *Symbiosis* 21: 129-147.
- Vierheilig H. 2004. Regulatory mechanisms during the plant – arbuscular mycorrhizal fungus interaction. *Can. J. Bot.* 82: 1166–1176.