

**ISOLASI *ORCHID MYCORRHIZA* PADA
ANGGREK *Phalaenopsis amabilis***

(Skripsi)

Oleh

DAVID IRVANTO



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

ABSTRAK

ISOLASI *ORCHID MYCORRHIZA* PADA ANGGREK *Phalaenopsis amabilis*

Oleh

DAVID IRVANTO

Phalaenopsis amabilis merupakan salah satu spesies anggrek yang paling diminati oleh konsumen baik di dalam maupun luar negeri dan menjadi tetua paling penting dalam pasar *Phalaenopsis* dunia. Persen pertumbuhan produktivitas tanaman anggrek pada tahun 2014–2015 mengalami penurunan sebesar -1,57%, sehingga dibutuhkan teknik budidaya yang mampu meningkatkan produktivitas tanaman anggrek. Mikoriza adalah istilah yang mencerminkan hubungan simbiosis yang saling menguntungkan antara akar tanaman dan fungi tertentu. Salah satu jenis mikoriza adalah *Orchid mycorrhiza*. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan bagian akar tanaman anggrek yang memiliki keberhasilan tertinggi untuk mendapatkan *Orchid mycorrhiza* melalui isolasi *in vitro* dan memverifikasi isolat hasil isolasi dari anggrek *Phalaenopsis amabilis* yang berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza*.

Isolasi dilakukan pada 7 tanaman anggrek *Phalaenopsis amabilis*. Untuk setiap tanaman dipilih secara acak 3 sampel akar masing-masing sepanjang 15 cm dan setiap akar dibagi menjadi tiga bagian/umur yaitu 1–5 cm dari ujung (akar muda), 6–10 cm dari ujung (akar remaja), dan 11–15 cm dari ujung (akar tua). Dari setiap umur akar dibuat potongan akar setebal 1–2 mm sebanyak 3–6 potongan setelah dilakukan sterilisasi. Total potongan akar

yang diperoleh sebanyak 90 potongan untuk setiap umur akar. Potongan akar tersebut ditumbuhkan dalam cawan petri yang berisi media *Potato Sucrose Agar* (PSA) selama 2 minggu pada suhu 21 °C, kemudian diamati jamur yang tumbuh di setiap potongan akar. Jamur yang tumbuh selanjutnya di-*subculture* dengan media PSA dan diamati warna pigmen hifa dan sel moniloid, kemudian dibuatkan *slide culture* untuk mengamati, ada tidaknya sudut hifa 90°, hifa dan septa di dekat asal percabangannya, dan fusi hifa untuk mengkonfirmasi apakah jamur yang tumbuh merupakan *Orchid mycorrhiza* atau tidak.

Sebanyak 56 isolat jamur telah berhasil tumbuh dari potongan akar, 8 isolat dari akar muda, 20 dan 28 isolat dari akar remaja dan akar tua. Dari keseluruhan isolat tersebut, hanya 14 isolat yang memiliki ciri-ciri dan berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza* (pigmen hifa berwarna coklat, sudut hifa 90°, hifa dan septa di dekat asal percabangannya, terdapat fusi hifa, dan sel moniloid). Akar tua menghasilkan isolat *Orchid mycorrhiza* tertinggi yaitu sebanyak 9 isolat atau sebesar 64,3%.

Kata kunci: *Orchid mycorrhiza*, *Phalaenopsis amabilis*, umur akar

**ISOLASI *ORCHID MYCORRHIZA* PADA
ANGGREK *Phalaenopsis amabilis***

Oleh

DAVID IRVANTO

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN

Pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

Judul Skripsi : ISOLASI *ORCHID MYCORRHIZA* PADA
ANGGREK *Phalaenopsis amabilis*

Nama Mahasiswa : David Irvanto

Nomor Pokok Mahasiswa : 1314121031

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

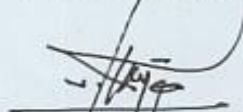


Dr. Ir. Maria Viva Rini, M.Sc.
NIP 196603041990122001



Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.
NIP 198108152008122001

2. A.n. Ketua Jurusan Agroteknologi
Sekretaris Jurusan,



Ir. Setyo Widagdo, M.Si.
NIP 196812121992031004

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Ir. Maria Viva Rini, M.Sc.

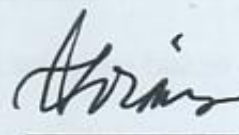


Sekretaris : Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.



Penguji

Bukan Pembimbing : Sri Ramadiana, S.P., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 28 Juli 2017

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "ISOLASI *ORCHID MYCORRHIZA* PADA ANGGREK *Phalaenopsis amabilis*" merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan skripsi ini, saya kutip dari karya orang lain, dan telah saya tuliskan sumbernya secara jelas sesuai dengan kaidah, norma, dan etika penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila dikemudian hari ditemukan bahwa skripsi ini seluruhnya ataupun sebagian bukan hasil karya saya sendiri atau adanya plagiat dalam bagian-bagian tertentu, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku.

Bandar Lampung, 17 Agustus 2017
Pembuat Pernyataan



David Irvanto
NPM 1314121031

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Mojopahit, Kecamatan Punggur, Kabupaten Lampung Tengah pada tanggal 7 Januari 1995, sebagai anak keempat dari empat bersaudara dari pasangan alm. Bapak Mujio Jodok dan Mamah Jumirah.

Pendidikan yang telah diselesaikan oleh penulis yaitu Taman Kanak-kanak Pertiwi Mojopahit lulus pada tahun 2000, kemudian Sekolah Dasar Negeri 1 Mojopahit lulus pada tahun 2007, kemudian Sekolah Menengah Pertama Negeri 2 Punggur lulus pada tahun 2010, selanjutnya Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Kota Gajah lulus pada tahun 2013. Tahun 2013 penulis terdaftar sebagai mahasiswa jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Penulis diterima melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) Undangan.

Selama perkuliahan, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Dasar-Dasar Budidaya Tanaman pada semester ganjil tahun ajaran 2015–2016, mata kuliah Fisiologi Tumbuhan pada semester genap tahun ajaran 2015–2016, dan mata kuliah Pengelolaan Kebun Kelapa Sawit pada semester ganjil tahun ajaran 2016–2017.

Selama kuliah, penulis tergabung sebagai anggota UKM-U *English Society Organisation* tahun 2014, anggota UKM-F Forum Studi Islam Fakultas Pertanian

tahun 2014, *Staff of creativity and financial support department* UKM-U *English Society Organisation* tahun 2015. Ketua bidang akademik UKM-F Forum Studi Islam Fakultas Pertanian tahun 2015, dan Anggota Duta Fakultas Pertanian tahun 2015.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Gedung Meneng Baru, Kecamatan Gedung Meneng, Kabupaten Tulang Bawang selama 60 hari pada bulan Januari hingga Maret 2016. Kemudian, pada Juli 2016 penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Nusantara Tropical Farm, Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur selama 40 hari.

Penulis pernah menjadi peserta Indonesia *Model United Nations* yang diadakan oleh Universitas Indonesia pada tahun 2014, mewakili UKM-F Forum Studi Islam Fakultas Pertanian dalam kegiatan Rakernas IV IMPERTI yang diselenggarakan oleh Universitas Andalas pada tahun 2014, dan juara 2 Pawai Budaya pada Festival Krakatau Provinsi Lampung tahun 2015.

“Ketahuilah, sesungguhnya kehidupan dunia itu hanyalah permainan dan senda gurauan, perhiasan dan saling berbangga diantara kamu serta berlomba dalam kekayaan dan anak keturunan, seperti hujan yang tanaman-tanamannya mengagumkan para petani; kemudian (tanaman) itu menjadi kering dan kamu lihat warnanya kuning kemudian menjadi hancur. Dan di akhirat (nanti) ada azab yang keras dan ampunan dari Allah serta keridaan-Nya. Dan kehidupan dunia tidak lain hanyalah kesenangan yang palsu.” (Q.S. AL-HADID: 20)

This opus is presented for my beloved Mom and Dad,
The Angels who love, care, treat, raise, and teach me how to be a real person.
The one who always love their God and Prophet Muhammad, SAW.
I couldn't wish for better parents than both of you.

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik, hidayah, dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Isolasi *Orchid Mycorrhiza* pada Anggrek *Phalaenopsis amabilis*.” Penulis menyadari bahwa selama penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan, saran, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Dr. Ir. Maria Viva Rini, M.Sc., selaku Pembimbing Utama atas bimbingan, kritik, saran, kesabaran, pengalaman, dan waktu berharga yang diberikan selama penelitian hingga penyelesaian skripsi ini.
2. Ibu Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku Pembimbing Kedua atas bimbingan, kritik, saran, kesabaran, dan waktu berharga yang diberikan selama penelitian hingga penyelesaian skripsi ini.
3. Ibu Sri Ramadiana, S.P., M.Si., selaku Penguji Bukan Pembimbing yang telah memberikan kritik dan saran untuk perbaikan dan penyempurnaan penulisan skripsi ini.
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
5. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi Universitas Lampung.

6. Bapak Prof. Dr. Ir. Setyo Dwi Utomo, M.Sc., selaku Ketua Bidang Studi Agronomi atas saran dan koreksi saat penulisan skripsi ini.
7. Bapak Prof. Dr. Ir. Soesiladi Esti Widodo, M.Sc., selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan, kritik, dan taujih yang diberikan selama penulis menjadi Mahasiswa.
8. Ibu Ir. Tri Dewi Andalasari, M.Si., terimakasih atas ilmu, kritik, saran, dan bantuannya dengan mengizinkan penulis untuk mengambil sampel akar *Phalaenopsis amabilis* koleksi ibu sebagai bahan penelitian ini.
9. Seluruh dosen dan staf administrasi jurusan Agroteknologi Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu pengetahuan, kritik, saran, dan nilai-nilai kehidupan selama penulis menjadi mahasiswa.
10. Orang tua penulis alm. Bapak Mujio Jodok dan Mamah Jumirah serta ketiga kakak penulis Dwi Setianingsih, Triyono, dan Eko Setawan, S.Kom., yang telah memberikan cinta, kasih sayang, doa, dan segala dukungan baik moril maupun materil untuk keberhasilan penulis.
11. Orang tua angkat penulis Ayah Joko Adiyono dan Mama Sulistyaning Puji Haryani serta kelima adik penulis Diana Eka Saputri, Yunita Dwi Wardhani, Gustiana Tri Andriana, Rizal Okta Saktiawan, dan Delima Febrilian Putri atas cinta, kasih sayang, doa dan segala dukungan baik moril maupun materil untuk keberhasilan penulis.
12. Keluarga Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian Universitas Lampung Mbak Anggun, Mbak Retta, Mbak Novri, Mbak Usnaqul, Mbak Novi, dan Itsna Afifaturahmah atas bantuan, kritik, saran, dan pengertiannya kepada penulis selama penelitian hingga penyelesaian skripsi ini.

13. Keluarga Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Lampung Mbak Hayane, Mbak Yanti, Mbak Rezlinda, Alifia, Dytri, Dea, dan Diana atas kebaikan, kritik, dan saran yang telah diberikan kepada penulis.
14. Keluarga Hawer-Hawer Andi Kurniawan, Mahmud Rifa'i, Agil Ikhsandi, Bela Aldila, dan Eka Setiososari atas bantuan, motivasi, dukungan, dan saran kepada penulis.
15. Keluarga Wacana Asik Catur Ryan Nugraha, Andri Tri Wicaksono, Arif Wicaksono, Ayu Widya, Diah Monica, Eka Aprilia, Ananda Rizki, dan Dian Latifathul atas bantuan, kritik, dan saran yang diberikan kepada penulis.
16. Sahabat Penulis Adi Wiranata, Aris Kencono, Suyitno, Saiful Anwar, Sita Suharyadi, Dito Aditya, Arie Najib, Tri Nandy, Rido Amalgrah, Armayyeni, Basa Natalia, Apriyanti, Dian Ratna, Erni Maryani, Suyadi, dan Iffa Afifa Khairani, atas bantuan, kritik, saran, dan motivasi kepada penulis.
17. Keluarga Kosan Bapak Budi dan Ibu Desi, Yosep, Aji, Destu, Imam, Yohanes, Yosua, Giarno, Gede, Yudi, Dimas, Ari, Ayun, Akbar, Rahmat, Imbron, Winky, Sugara, dan Robi atas kebersamaan, kebaikan, kritik, saran, dan kerjasama selama menjadi penghuni kosan.

Semoga Allah SWT melindungi dan melimpahkan rahmat-Nya serta membalas kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga hasil penelitian ini bermanfaat dan memberikan informasi yang berguna bagi semua pihak.

Bandar Lampung, 17 Agustus 2017

David Irvanto

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang dan Masalah	1
1.2. Tujuan Penelitian	4
1.3. Landasan Teori	4
1.4. Kerangka Pemikiran	7
1.5. Hipotesis	10
II. TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1. Anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i>	11
2.1.1. Syarat Tumbuh Anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i>	13
2.1.2. Morfologi dan Klasifikasi Anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i>	14
2.2. <i>Orchid Mycorrhiza</i>	17
2.2.1. Sejarah <i>Orchid Mycorrhiza</i>	18
2.2.2. Fisiologi <i>Orchid Mycorrhiza</i>	19
2.2.3. Mekanisme Infeksi <i>Orchid Mycorrhiza</i>	19
2.2.4. Efek Fisiologis <i>Orchid Mycorrhiza</i> dan Kemungkinan Aplikasinya	21
2.3. Genus <i>Rhizoctonia</i> sebagai <i>Mycorrhiza</i>	21
2.3.1. Klasifikasi dan Karakteristik Genus <i>Rhizoctonia</i>	22

2.3.2. Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Perkembangan Jamur	24
III. BAHAN DAN METODE	27
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	27
3.2. Bahan dan Alat	27
3.3. Pelaksanaan Percobaan	28
3.3.1. Isolasi <i>Orchid Mycorrhiza</i> pada Anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i>	29
3.3.1.1. Pembuatan Media <i>Potato Sucrose Agar</i> (PSA)	29
3.3.1.2. Pengambilan Sampel di Lapangan	30
3.3.1.3. Isolasi Jamur	32
3.3.1.4. Reisolasi Isolat	33
3.3.1.5. Pengamatan Infeksi Akar	34
3.3.2. Verifikasi Isolat Hasil Isolasi untuk Menentukan Isolat yang Berpotensi sebagai <i>Orchid Mycorrhiza</i>	35
3.3.2.1. Pengamatan Isolat secara Makroskopis	35
3.3.2.2. Pembuatan <i>Slide Culture</i>	36
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	39
4.1. Hasil Penelitian	39
4.1.1. Jumlah dan Persentase Tumbuh Jamur	39
4.1.2. Verifikasi Isolat	41
4.1.2.1. Pigmen Hifa Berwarna Cokelat	45
4.1.2.2. Hifa Membentuk Percabangan 90° di Dekat Sekat pada Hifa Vegetatif yang Muda	45
4.1.2.3. Membentuk Hifa dan Sekat yang Pendek di Dekat Asal Tempat Percabangan	46
4.1.2.4. <i>Perfect Fusion</i> pada Hifa	47
4.1.2.5. Sel Monilioid	48
4.1.3. Persentase Tumbuh <i>Orchid mycorrhiza</i>	49
4.1.4. Pengamatan Infeksi Akar	51
4.2. Pembahasan	51
V. SIMPULAN DAN SARAN	61
5.1. Simpulan	61
5.2. Saran	61

DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN	67
Tabel 2–3	68
Tabel 4–5	69
Tabel 6	70
Tabel 7–8	71
Tabel 9	72

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Verifikasi isolat jamur dari akar <i>Phalaenopsis ambilis</i>	42
2. Jumlah dan persentase tumbuh jamur berdasarkan kriteria akar pada sampel tanaman 1	68
3. Jumlah dan persentase tumbuh jamur berdasarkan kriteria akar pada sampel tanaman 2	68
4. Jumlah dan persentase tumbuh jamur berdasarkan kriteria akar pada sampel tanaman 3	69
5. Jumlah dan persentase tumbuh jamur berdasarkan kriteria akar pada sampel tanaman 4	69
6. Jumlah dan persentase tumbuh jamur berdasarkan kriteria akar pada sampel tanaman 5	70
7. Jumlah dan persentase tumbuh jamur berdasarkan kriteria akar pada sampel tanaman 6	71
8. Jumlah dan persentase tumbuh jamur berdasarkan kriteria akar pada sampel tanaman 7	71
9. Total persentase tumbuh jamur berdasarkan kriteria akar	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i>	12
2. Peloton pada akar anggrek	20
3. Kriteria umur akar	29
4. Tanaman anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i> yang digunakan sebagai sampel	31
5. Akar anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i> sampel tanaman 7	32
6. Tahap pembuatan <i>slide culture</i>	38
7. Jamur yang tumbuh pada potongan akar anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i>	40
8. Jumlah jamur hasil isolasi dari akar tanaman anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i> pada 14 hari setelah inkubasi di ruangan bersuhu 21 °C	40
9. Persentase tumbuh jamur hasil isolasi dari akar tanaman anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i> pada 14 hari setelah inkubasi di ruangan bersuhu 21 °C	41
10. Pigmen hifa isolat yang diperoleh	45
11. Hifa membentuk percabangan 90° di dekat sekat pada hifa vegetatif yang muda	46
12. Sekat yang pendek di dekat asal tempat percabangan hifa	47
13. <i>Perfect fusion</i> pada hifa	48
14. Sel monilioid	49
15. Persentase tumbuh <i>Orchid mycorrhiza</i> hasil isolasi dari akar tanaman anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i> pada 14 hari setelah inkubasi di ruangan bersuhu 21 °C	50

16. Pengamatan infeksi akar	51
-----------------------------------	----

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Anggrek merupakan tanaman hias dari famili Orchidaceae yang terdiri dari 750 genera dengan spesies terbanyak yaitu berkisar antara 25.000–30.000 dan sekitar 5.000 spesies anggrek berada di Indonesia (Yusnita, 2012). Potensi Indonesia untuk mengembangkan dan memproduksi tanaman anggrek sangatlah tinggi karena didukung oleh kekayaan spesies anggrek dan iklim tropis yang dimiliki Indonesia.

Menurut Effendie (1994), anggrek termasuk dalam bunga yang paling diminati baik sebagai tanaman hias maupun bunga potong. Anggrek memiliki nilai ekonomi yang tinggi dan menduduki posisi keempat bunga potong yang disukai konsumen dalam negeri setelah mawar, sedap malam, dan krisan karena memiliki keragaman yang tinggi yang terlihat dari corak, bentuk, tekstur, ukuran, dan warna bunga yang beranekaragam. Anggrek *Phalaenopsis amabilis* adalah salah satu spesies anggrek yang paling diminati konsumen dan menjadi tetua paling penting dalam pasar *Phalaenopsis* dunia (Yusnita, 2012).

Permintaan konsumen yang tinggi terhadap tanaman anggrek ternyata tidak diimbangi dengan produktivitas tanaman tersebut. Pada tahun 2014, produktivitas anggrek di Indonesia sebesar 13,39 tangkai/m² dan sebesar 13,18 tangkai/m²

pada tahun 2015 dengan persen pertumbuhan pada tahun 2014–2015 yaitu sebesar -1,57% (Kementrian Pertanian RI, 2016). Pertumbuhan produktivitas anggrek di Indonesia pada tahun 2014–2015 mengalami penurunan. Oleh karena itu, dibutuhkan teknik budidaya yang dapat meningkatkan produktivitas anggrek di Indonesia dan salah satunya adalah dengan pengaplikasian pupuk hayati (*biofertilizer*) berupa *Orchid mycorrhiza* pada tanaman anggrek.

Fungi mikoriza merupakan fungi yang bermanfaat bagi tanaman. Fungi ini membentuk simbiosis mutualisme dengan tanaman inangnya. Mikoriza digolongkan dalam tiga golongan yaitu ektomikoriza, endomikoriza, dan ektendomikoriza (Smith dan Read, 2008). Fungi yang tergolong ke dalam endomikoriza dibagi ke dalam tiga golongan yaitu *Ericoid mycorrhiza*, *Orchid mycorrhiza*, dan *Arbuscular mycorrhiza fungi*. Diantara ketiga jenis tersebut, mikoriza yang berasosiasi dengan tanaman anggrek adalah *Orchid mycorrhiza* (Brundrett dkk., 1995).

Orchid mycorrhiza membentuk simbiosis mutualisme dengan tanaman anggrek dan menyediakan nutrisi organik dan anorganik berupa karbon, fosfor, nitrogen, air, dan vitamin (Alexander dkk., 1984). Selain itu, *Orchid mycorrhiza* juga dapat memecah karbohidrat dari bentuk polisakarida menjadi disakarida dan monosakarida, sehingga biji ataupun organ lain dapat dengan mudah menyerap senyawa tersebut (Arditti, 1992). Sebaliknya, fungi mikoriza memperoleh karbon fiksatif dari hasil fotosintesis tanaman anggrek melalui sistem perakaran untuk pertumbuhan dan perkembangannya (Smith dan Read, 2008).

Berdasarkan manfaat yang diberikan *Orchid mycorrhiza* terhadap tanaman inangnya anggrek, membuat fungi ini sangat dibutuhkan oleh tanaman anggrek pada semua tahapan pertumbuhan dan perkembangannya. Dimulai dari proses pengecambahan biji, membantu menyediakan unsur hara pada tanaman anggrek pada fase vegetatif maupun generatif terutama pada anggrek dewasa yang klorofilnya kurang baik (Ningsih dkk., 2014).

Fungi *Orchid mycorrhiza* menginfeksi anggrek melalui akar yang ditandai dengan adanya struktur hifa yang membentuk lilitan padat pada korteks akar yang disebut peloton. Dengan demikian, isolasi *Orchid mycorrhiza* dapat dilakukan dengan mengisolasi fungi dari akar anggrek pada media *Potato Sucrose Agar* secara *in vitro*.

Menurut Fajriyah (2011), persentase kepadatan *Orchid mycorrhiza* pada jaringan akar dapat dikorelasikan dengan usia akar yang dapat dikategorikan dalam 3 bagian, yaitu akar muda yang terletak pada ujung akar, akar remaja yang terletak pada bagian tengah akar, dan akar tua yang terletak pada pangkal akar. Oleh karena itu, untuk memperoleh tingkat keberhasilan yang tinggi dalam mengisolasi *Orchid mycorrhiza*, maka dibutuhkan bagian akar yang memiliki tingkat kepadatan *Orchid mycorrhiza* yang tinggi.

Akar anggrek yang berada pada tanah, kulit pohon, dan media tanam lainnya berkemungkinan besar terinfeksi oleh mikroorganisme yang berperan sebagai patogen, saprofit, mikoriza, dan *Plant Growth Promoting Fungi*. Dengan demikian, perlu dilakukan verifikasi terhadap isolat hasil isolasi untuk mendapatkan isolat yang berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza* (Fitriana, 2007).

Berdasarkan latar belakang dan masalah di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk menjawab masalah yang dirumuskan dalam pertanyaan berikut.

1. Bagian akar manakah yang akan memberikan keberhasilan isolasi *Orchid mycorrhiza* pada anggrek *Phalaenopsis amabilis* lebih dari 50% ?
2. Apakah semua isolat hasil isolasi dari akar anggrek *Phalaenopsis amabilis* berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza* ?

I.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan identifikasi latar belakang dan masalah tersebut, maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Untuk menentukan bagian akar yang akan memberikan keberhasilan isolasi *Orchid mycorrhiza* pada anggrek *Phalaenopsis amabilis* lebih dari 50%.
2. Memverifikasi isolat hasil isolasi dari akar anggrek *Phalaenopsis amabilis* yang berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza*.

I.3 Landasan Teori

Isolasi *Orchid mycorrhiza* dan hubungan simbiotiknya pada persemaian anggrek secara *in vitro* berhasil dilakukan oleh Bernard dan Burgeff pada tahun 1909.

Bernard menunjukkan bahwa endofit anggrek tersebut merupakan genus *Rhizoctonia*, yang terdiri dari tiga spesies, yaitu *Rhizoctonia repens*, *Rhizoctonia mucoroides*, dan *Rhizoctonia lanuginose* (Andersen dan Rasmussen, 1996).

Menurut George (2016), *Rhizoctonia* merupakan kelompok terbesar dari asosiasi endofitik dengan akar tanaman anggrek. *Rhizoctonia* adalah jamur *soil borne*

dengan pigmen hifa berwarna coklat, hifa membentuk percabangan 90° di dekat sekat pada hifa vegetatif yang muda, membentuk hifa dan sekat yang pendek di dekat asal tempat percabangannya, dan terjadi *perfect fusion* pada hifa. Namun karakterisasi seperti membentuk sel moniloid, membentuk sklerosium, diameter hifa lebih dari $5 \mu\text{m}$, rata-rata pertumbuhan cepat dan patogenik tidak selalu dimiliki. Adapun ciri-ciri morfologi utamanya adalah tidak pernah terdapat *clamp connection*, konidium, dan rhizomorf (Sneh dkk., 1998).

Sneh dkk. (1998) menyebutkan bahwa anggota jamur *Rhizoctonia* dapat berperan sebagai patogen, mikoriza, dan saprofit. Genus *Rhizoctonia* juga banyak ditemukan pada famili Orchidaceae (Anderson dan Rasmussen, 1996).

Infeksi fungi mikoriza terhadap tanaman anggrek terjadi hampir pada semua tipe dan spesies anggrek, dari anggrek yang mikoheterotrof sampai anggrek autotrof (Agustini dkk., 2009). Fungi mikoriza yang bersimbiosis dengan akar anggrek akan membentuk struktur peloton di dalam sel-sel akar. Mikoriza yang berasosiasi dengan akar anggrek umumnya termasuk dalam divisi Deuteromycota, genus *Rhizoctonia* (Alexopoulos dkk., 1996).

Menurut Fajriyah (2011), persentase kepadatan *Orchid mycorrhiza* pada jaringan akar dapat dikorelasikan dengan usia akar yang diwakilkan dengan ukuran akar yang berbeda-beda. Pada akar anggrek yang berukuran 15 cm dapat dibagi menjadi 3 bagian yaitu akar muda (1–5 cm dari ujung akar), akar remaja (6–10 cm dari ujung akar), dan akar tua (11–15 cm dari ujung akar).

Identifikasi *Orchid mycorrhiza* telah dilakukan oleh Ningsih dkk. (2014) pada tanaman anggrek *Spathoglottis plicata* Blume dan *Phalaenopsis amabilis* L. Ditemukan 3 genus jamur mikoriza pada anggrek tanah *Spathoglottis plicata* Blume yaitu genus *Chaetomium*, *Beltrania* dan *Rhizoctonia*. Sedangkan pada tanaman anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. hanya ditemukan satu genus yaitu *Rhizoctonia*.

Roberts (1999) berhasil mengisolasi jamur dari akar anggrek *Goodyera repens* yang termasuk dalam jenis anggrek terestrial dan *Trichoglottis australiensis* Dockr. yaitu anggrek epifit dengan tipe tumbuh monopodial. Pada anggrek *Goodyera repens* diperoleh isolat dengan teleomorph *Ceratobasidium cornigerum* yang termasuk dalam group *Ceratobasidiales* yang bersifat saprofit dan parasit. Sedangkan pada anggrek *Trichoglottis australiensis* Dockr. diperoleh isolat dengan teleomorph *Ceratobasidium globisporum* yang tergolong dalam grup *Ceratobasidiales* yang hanya diketahui bersimbiosis dengan tanaman anggrek.

Menurut Prianggodo (2015), ketinggian tanah berhubungan dengan keberagaman genus jamur mikoriza anggrek, karena menjadi faktor isolasi penyebaran spora yang dimungkinkan berkaitan dengan vektor pembawa seperti cacing, arthropoda tanah, dan insekta lainnya serta faktor kecepatan angin. Akan tetapi, ketinggian tanah tidak berhubungan dengan keberadaan jamur mikoriza dalam jaringan akar anggrek *Calanthe pulchra*, *Cryptostylis javanica*, dan *Goodyera rubicunda*.

Fajriyah (2011) mengemukakan bahwa pada anggrek *Dendrobium crumenatum*, *Dendrobium cuculatum*, dan *Dendrobium anosmum*, fungi mikoriza ditemukan di dalam jaringan eksodermis, korteks, dan endodermis. Sedangkan pembentukan

peloton fungi terjadi di dalam jaringan korteks karena korteks merupakan tempat penyimpanan nutrisi hasil fotosintesis akar. Persentase kepadatan fungi mikoriza tertinggi terdapat pada jaringan korteks dan kepadatan fungi mikoriza pada akar muda dan remaja tidak sebanyak pada akar tua, karena fungi mikoriza terdapat pada bagian akar dengan sel-sel yang telah terdiferensiasi. Sedangkan pada akar muda terdapat sel-sel meristematik yang belum terdiferensiasi. Saha dan Rao (2006) menyatakan bahwa tidak pernah terlihat hifa fungi di dalam sel-sel meristematik.

I.4 Kerangka Pemikiran

Berdasarkan landasan teori yang telah dikemukakan, berikut ini disusun kerangka pemikiran untuk memberikan penjelasan teoretis terhadap perumusan masalah.

Orchid mycorrhiza adalah bentuk simbiosis mutualisme antara jamur tertentu dan akar tanaman anggrek. Simbiosis ini dapat ditemui pada berbagai jenis anggrek terutama pada kecambah anggrek maupun tanaman anggrek dewasa. Infeksi *Orchid mycorrhiza* pada jaringan tanaman anggrek terdapat pada perakaran yang berada di bawah tanah pada anggrek terestrial dan media substrat pada anggrek epifit.

Seperti halnya tipe endomikoriza, infeksi *Orchid mycorrhiza* terjadi pada jaringan korteks akar. *Orchid mycorrhiza* akan membentuk sekumpulan hifa intraseluler berupa lilitan padat pada struktur akar tanaman anggrek. Struktur ini dikenal dengan nama peloton yang merupakan ciri khas fungi mikoriza pada tanaman anggrek.

Persentase kepadatan *Orchid mycorrhiza* di dalam jaringan akar tanaman anggrek dapat dikorelasikan dengan usia akar. Usia akar dapat diwakilkan dengan ukuran akar yang berbeda-beda. Pada akar anggrek dengan panjang 15 cm dapat dibagi menjadi 3 bagian yaitu akar muda (1–5 cm dari ujung akar), akar remaja (6–10 cm dari ujung akar), dan akar tua (11–15 cm dari ujung akar).

Apabila dilakukan isolasi *Orchid mycorrhiza* pada akar anggrek dengan kriteria berdasarkan umur akar, maka bagian akar yang tua akan memberikan persentase keberhasilan yang lebih tinggi dibandingkan akar remaja dan muda. Karena sel-sel jaringan akar tua telah terdiferensiasi dengan sempurna, sehingga memudahkan mikoriza menginfeksi sel-sel akar dan lebih mudah dalam melakukan aktivitas metabolisme dan pertukaran nutrisi yang dibutuhkan bagi kedua simbion.

Pada akar remaja, sel-sel akar baru terdiferensiasi sehingga sel-sel pada bagian akar ini belum sepenuhnya terinfeksi oleh *Orchid mycorrhiza*. Pada akar muda terdapat jaringan meristematik yang aktif membelah dan sel-sel di dalamnya belum terdiferensiasi secara sempurna sehingga sulit untuk hifa fungi mendiami sel-sel tersebut.

Keberhasilan isolasi pada akar tua akan ditandai dengan tumbuhnya fungi *Orchid mycorrhiza* di sekitar potongan akar anggrek yang diisolasi pada media *Potato Sucrose Agar* yang memiliki persentase tumbuh lebih dari 50%. Dengan demikian, jika dilakukan isolasi *Orchid mycorrhiza* pada kriteria akar tersebut akan memberikan keberhasilan tumbuhnya fungi *Orchid mycorrhiza* lebih dari 50%.

Akar tanaman anggrek yang tumbuh pada tanah atau media substrat yang berada pada lingkungan yang tidak aseptik sangat memungkinkan untuk terinfeksi berbagai jenis mikroorganisme yang ada pada lingkungan tersebut.

Mikroorganisme yang menginfeksi akar anggrek dapat berperan sebagai parasit, patogen, saprofit, mikoriza, dan sebagai *Plant Growth Promoting Fungi*. Dengan demikian, tidak dapat dipastikan bahwa jamur yang tumbuh dari akar anggrek pada media PSA *in vitro* adalah *Orchid mycorrhiza*. Oleh karena itu, perlu dilakukan verifikasi terhadap isolat hasil isolasi secara makroskopis dan mikroskopis kemudian dicocokkan dengan ciri-ciri genus *Rhizoctonia*.

Mikoriza yang berasosiasi dengan akar anggrek umumnya termasuk dalam divisi Deuteromycota, genus *Rhizoctonia*. Genus *Rhizoctonia* merupakan kelompok terbesar dari asosiasi endofitik dengan tanaman anggrek. Genus *Rhizoctonia* memiliki pigmen hifa berwarna coklat, hifa membentuk percabangan 90° di dekat sekat pada hifa vegetatif yang muda, membentuk hifa dan sekat yang pendek di dekat asal tempat percabangannya, dan terjadi *perfect fusion* pada hifa. Namun karakterisasi seperti membentuk sel monilioid, membentuk sklerosium, diameter hifa lebih dari 5 µm, rata-rata pertumbuhan cepat dan patogenik tidak selalu dimiliki. Adapun ciri-ciri morfologi utamanya adalah tidak pernah terdapat *clamp connection*, konidium, dan rhizomorf (Sneh dkk., 1998). Oleh karena itu, verifikasi terhadap isolat hasil isolasi untuk memperoleh isolat yang berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza* dapat dilakukan dengan mengamati isolat secara makroskopis dan mikroskopis, kemudian mencocokkan ciri-ciri isolat dengan ciri-ciri dari genus *Rhizoctonia*. Dengan demikian, apabila isolat hasil isolasi dari

akar anggrek *Phalaenopsis amabilis* memiliki ciri-ciri yang sesuai dengan ciri-ciri genus *Rhizoctonia*, maka isolat tersebut berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza*.

1.5 Hipotesis

Dari kerangka pemikiran yang telah dikemukakan dapat disimpulkan hipotesis sebagai berikut.

1. Bagian akar tua akan meningkatkan keberhasilan isolasi *Orchid mycorrhiza* pada anggrek *Phalaenopsis amabilis* lebih dari 50%.
2. Tidak semua isolat hasil isolasi dari anggrek *Phalaenopsis amabilis* berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza*. Isolat yang berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza* memiliki ciri-ciri morfologi (1) pigmen hifa berwarna coklat, (2) hifa membentuk percabangan 90° di dekat sekat pada hifa vegetatif yang muda, (3) membentuk hifa dan sekat yang pendek di dekat asal tempat percabangan, (4) terjadi *perfect fusion* pada hifa, dan (5) membentuk sel moniloid, maka isolat tersebut berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anggrek *Phalaenopsis amabilis*

Phalaenopsis amabilis atau dalam bahasa Indonesia disebut anggrek Bulan dan *Moth orchid* dalam bahasa Inggris (Gambar 1), merupakan salah satu spesies anggrek yang sangat populer di kalangan pecinta anggrek baik di dalam negeri maupun di luar negeri dan menjadi spesies terpenting dalam pasar *Phalaenopsis* dunia (Yusnita, 2012).

Anggrek *Phalaenopsis amabilis* dianggap cukup penting di pasar *Phalaenopsis* dunia karena peranannya sebagai induk yang dapat menghasilkan berbagai hibrida baru (Rukmana dan Rahmat, 2000). Anggrek ini dipilih sebagai tetua karena memiliki bunga berwarna putih dengan hiasan kuning dan bintik kemerahan pada labellumnya dan terdapat dua tanduk pada callus labellumnya, berukuran besar, bermalai panjang, bentuk dan susunan bunga yang bagus dengan masa segar yang panjang (Yusnita, 2012).

Anggrek *Phalaenopsis amabilis* ditetapkan sebagai bunga nasional dengan sebutan Puspa Pesona Indonesia sesuai dengan Keputusan Presiden No. 4 Tahun 1993. Penetapan anggrek *Phalaenopsis amabilis* sebagai Puspa Pesona Indonesia merupakan usul dari Ibu Tien Soeharto dan Boediarjo pada kongres PAI

(Perhimpunan Anggrek Indonesia) tahun 1983 di Gedung Granadi
(Puspitaningtyas dan Sofi, 2010).

Anggrek *Phalaenopsis amabilis* berasal dari daerah tropis dan sub tropis diantaranya adalah Asia Tenggara dari Pegunungan Himalaya ke Filipina (Palawan), Malaysia, Indonesia (Sumatera, Jawa, Kalimantan, Maluku, Sulawesi, dan Papua), Papua Nugini, hingga ke bagian utara Australia (Queensland). Penyebaran anggrek *Phalaenopsis amabilis* pada daerah tropis dan sub tropis menyebabkan munculnya variasi karakter berupa perbedaan pigmen warna pada bagian bibir bunga yang umumnya berwarna kuning dan merah, spot merah pada bagian *lateral lobe* dan bentuk bunga (Alrich dan Higgins, 2014).



Gambar 1. Anggrek *Phalaenopsis amabilis*.

2.1.1 Syarat Tumbuh Anggrek *Phalaenopsis amabilis*

Berdasarkan habitatnya, anggrek *Phalaenopsis amabilis* termasuk dalam golongan anggrek epifit, yaitu anggrek yang tumbuh menempel pada tanaman lain, akan tetapi tidak merugikan karena tidak mengambil makanan dari tanaman yang ditumpanginya, tetapi hanya menyerap nutrisi dari kulit kayu yang telah mati atau dari lingkungan di sekitarnya (Darmono, 2004).

Suhu yang sesuai untuk menunjang pertumbuhan anggrek *Phalaenopsis amabilis* yaitu berkisar antara 24–27 °C pada siang hari dan sekitar 16 °C pada malam hari (Mattjik, 2010). Anggrek *Phalaenopsis amabilis* dapat bertahan pada suhu tinggi antara 32–35 °C dengan periode yang singkat (Baker dan Baker, 1991).

Ketinggian tempat yang sesuai untuk pertumbuhan anggrek jenis ini adalah 50–600 meter di atas permukaan laut (m dpl) dan dapat berkembang dengan baik pada ketinggian 700–1.100 m dpl.

Kelembapan ideal untuk tumbuh dan berkembangnya anggrek *Phalaenopsis amabilis* yaitu 60–80%, tetapi kelembapan tinggi mampu meningkatkan resiko terserang penyakit pada anggrek. Anggrek jenis ini memerlukan cahaya berkisar antara 10–30% dengan suhu udara yang hangat di bawah 29 °C, sehingga anggrek *Phalaenopsis amabilis* dapat tumbuh dengan baik pada areal yang diberi naungan atau pada *green house* (Arditti, 1992).

2.1.2 Morfologi dan Klasifikasi Anggrek *Phalaenopsis amabilis*

Pola pertumbuhan anggrek *Phalaenopsis amabilis* adalah tipe monopodial, yaitu batang tanaman hanya mempunyai satu poros tumbuh vertikal (tunas terus menerus tumbuh ke atas), pertumbuhan tajuk terjadi secara *indeterminate*, tidak menumbuhkan tunas anakan, tidak memiliki cabang atau hanya terdiri atas satu titik tumbuh, tidak memiliki *rhizome*, terdapat akar adventif yang muncul dari batang di antara buku-bukunya, dan malai bunga (*infloresens*) muncul secara lateral (di ketiak daun) (Yusnita, 2012).

Seperti tanaman anggrek lainnya, anggrek *Phalaenopsis amabilis* memiliki bagian-bagian tanaman seperti daun, akar, batang, bunga, dan buah.

a. Daun

Daun anggrek *Phalaenopsis amabilis* berwarna hijau dengan tekstur tebal dan berdaging yang berfungsi untuk menyimpan air dan cadangan makanan serta klorofil. Bentuk daun anggrek *Phalaenopsis amabilis* seperti daun tanaman monokotil lainnya yaitu memanjang dengan tulang daun sejajar dan tepi daun yang rata. Pangkal daun menghimpit batang atau pangkal daun di atasnya. Susunan daun bertunggang dan sejajar dalam dua baris yang rapat berhadapan (berselang-seling) dengan lebar 5–10 cm (Utami dkk., 2007).

b. Akar

Akar anggrek *Phalaenopsis amabilis* tergolong dalam akar adventif yaitu akar yang tumbuh dari bagian batang antar buku-buku dengan ukuran yang relatif

besar dan berbentuk pipih melebar dari pangkal sampai ke ujung dan ada yang berbentuk bulat (silindris), berdaging, lunak serta mudah patah dengan ujung meruncing licin dan sedikit lengket (Setiawan dan Setiawan, 2006). Dalam keadaan kering, akar tampak berwarna putih keperak-perakan pada bagian luarnya dan hanya pada bagian ujung saja yang berwarna hijau atau keunguan (Darmono, 2004).

c. Batang

Anggrek *Phalaenopsis amabilis* memiliki batang yang tumbuh meninggi atau vertikal dengan ukuran 30–40 cm pada satu poros tumbuh (Yusnita, 2012). Sisi batang di antara ketiak daun merupakan tempat keluarnya tangkai bunga dan akar adventif. Ukuran batang anggrek *Phalaenopsis amabilis* sangat pendek sehingga hampir tidak terlihat dan tidak menghasilkan *rhizome* maupun umbi semu (*Pseudo bulb*) (Utami dkk., 2007).

d. Bunga

Bunga anggrek *Phalaenopsis amabilis* bersifat *hermaprodit* yaitu terdapat organ reproduksi jantan (*androecium*) dan organ reproduksi betina (*gymnoecium*) dalam satu kuntum bunga. Bunga anggrek *Phalaenopsis amabilis* terdiri dari kelopak bunga (sepal) berjumlah tiga kelopak, yang teratas disebut sepal dorsal dan dua lainnya dibagian samping disebut sepal lateral. Mahkota bunga (petal) berjumlah tiga, dua diantaranya terletak berselang-seling dengan kelopak bunga, sedangkan yang terbawah mengalami modifikasi menjadi bibir bunga (*labellum*) (Yusnita, 2010).

Di bagian tengah bunga terdapat tugu bunga (*column* atau *gynostemium*) merupakan tempat berkumpulnya organ reproduksi jantan dan betina. Serbuk sari terdiri dari massa polen (*monads*) yang disebut *pollinia* yang umumnya berwarna kuning pucat atau kuning cerah. Putik atau alat reproduksi betina adalah rongga berisi materi lengket yang terletak di bawah *anther cap* menghadap ke arah bibir bunga. Bakal buah atau ovarium terletak di dasar bunga (*inferior*) yaitu di bawah tugu, sepal, dan petal (Yusnita, 2010).

e. Buah

Phalaenopsis amabilis memiliki polong buah berwarna hijau dengan ukuran yang beragam dan berbentuk kapsul memanjang. Polong buah anggrek *Phalaenopsis amabilis* tersusun dari tiga buah karpel dan ketika masak akan pecah dan mengeluarkan biji yang banyak jumlahnya yaitu sekitar 1300–4.000.000 biji dengan ukuran sangat kecil seperti debu (*dust seed*) dengan panjang 0,3–5 mm dan lebar 0,08–0,75 mm. Waktu yang dibutuhkan polong dari pembuahan hingga masak membutuhkan waktu 4–4,5 bulan (Yusnita, 2012).

Klasifikasi Anggrek *Phalaenopsis amabilis* menurut Yusnita (2010), adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
 Division : Spermatophyta
 Class : Monocotyledoneae
 Order : Microspermae
 Family : Orchidaceae
 Tribe : Vandaeae

Genus : *Phalaenopsis*
Spesies : *Phalaenopsis amabilis*.

2.2 *Orchid mycorrhiza*

Mikoriza merupakan istilah yang menggambarkan suatu hubungan antara fungi tertentu dan akar tanaman yang bersifat mutualisme. Dengan adanya simbiosis tersebut, tanaman memperoleh berbagai manfaat dari fungi antara lain, meningkatkan pertumbuhan tanaman, meningkatkan serapan unsur hara, dan air bagi tanaman serta melindungi tanaman dari infeksi patogen akar. Sebaliknya, tanaman akan memberikan senyawa-senyawa organik karbon untuk pertumbuhan fungi (Anas, 1997).

Brundrett (2008) mengklasifikasikan mikoriza ke dalam lima golongan, yaitu *Arbuscular mycorrhiza fungi*, *Ectomycorrhiza*, *Orchid mycorrhiza*, *Ericoid mycorrhiza*, dan *sub Epidermal mycorrhiza*. *Orchid mycorrhiza* terbagi menjadi tiga kelompok, yaitu *Orchid Roots*, *Orchid Stems*, dan *Exploitative Orchids*. *Orchid mycorrhiza* (Mikoriza Anggrek) merupakan asosiasi mutualisme antara mikoriza dengan tanaman dari famili Orchidaceae (Anggrek-anggrekan). Jamur yang berasosiasi dengan anggrek umumnya berasal dari divisi Deuteromycota, kelas Deuteromycetes, Ordo Agonomycetales, genus *Rhizoctonia* (Alexopoulos dkk., 1996).

2.2.1 Sejarah *Orchid mycorrhiza*

Penelitian anatomis yang dilakukan oleh Link pada tahun 1840 mengenai struktur yang terbentuk dalam sel akar persemaian tanaman anggrek, tidak dapat mendeskripsikan secara jelas adanya hifa jamur mikoriza. Barulah pada tahun 1853, Irmisch mendeskripsikan dengan jelas mengenai hifa jamur dalam sistem perakaran anggrek *Corallorhiza innata* (syn. *Corallorhiza trifida*), yaitu anggrek yang kekurangan klorofil (Setiawati, 2014).

Hubungan asosiasi ini lebih lanjut diteliti oleh Albert B. Frank, seorang ahli botani dari Jerman. Berdasarkan pengetahuannya mengenai berbagai tipe mikoriza, Frank berasumsi bahwa asosiasi antara anggrek dengan jamur endofit tersebut bersifat mutualisme. Frank menyatakan bahwa jamur endofit tersebut akan sulit atau tidak mungkin dikembangkan di luar tanaman anggrek karena memerlukan nutrisi yang spesifik. Pada tahun 1904, Decordenoy pertama kali melaporkan bahwa mikoriza dapat mendukung penyediaan nutrisi bagi tanaman yang berasosiasi dengannya (Setiawati, 2014).

Bernard dan Burgeff pada tahun 1909 berhasil mengisolasi mikoriza anggrek secara *in vitro* pada persemaian anggrek. Mereka menyatakan bahwa endofit anggrek tersebut merupakan jamur yang termasuk dalam genus *Rhizoctonia* yang terdiri dari tiga spesies, yaitu *Rhizoctonia repens*, *Rhizoctonia mucoroides*, dan *Rhizoctonia lanuginose* (Setiawati, 2014).

2.2.2 Fisiologi *Orchid mycorrhiza*

Rasmussen (1995) menyatakan bahwa terdapat dua tipe histologi pada *Orchid mycorrhiza* yaitu tipe tolipofagi dan fitofagi. Tipe tolipofagi merupakan bentuk *Orchid mycorrhiza* yang membentuk gulungan-gulungan hifa, yang dikenal dengan istilah peloton di dalam sel-sel korteks tanaman anggrek. Tolipofagi dikarakterisasikan sebagai proses pembentukan peloton, pelisisan peloton, dan reinfeksi peloton ke dalam jaringan akar secara berurutan. Tipe fitofagi adalah proses kebocoran ujung hifa secara terus menerus untuk menyediakan nutrisi yang dibutuhkan oleh inang.

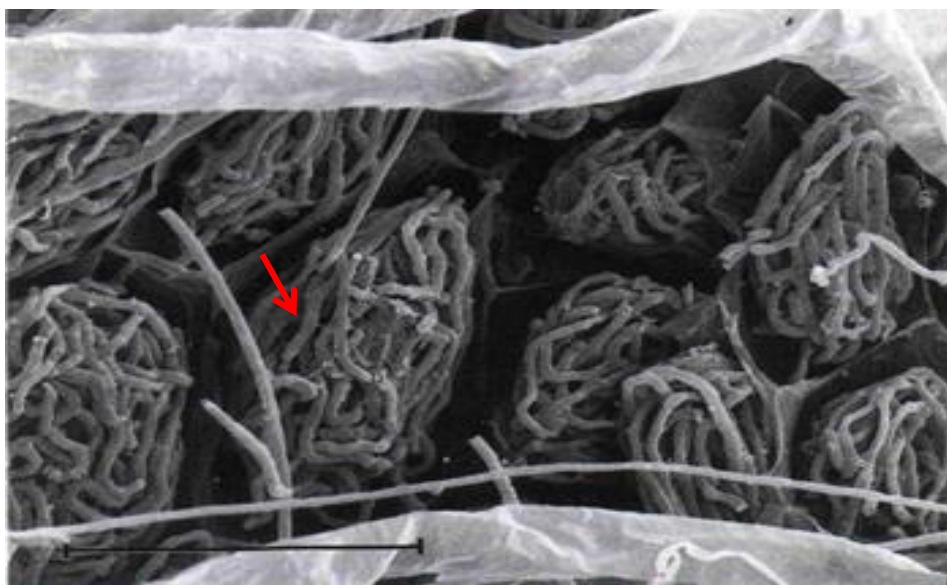
2.2.3 Mekanisme Infeksi *Orchid mycorrhiza*

Infeksi *Orchid mycorrhiza* pada jaringan tanaman anggrek terestrial terbatas pada perakaran yang berada di bawah tanah dan media substrat pada anggrek epifit. Seperti halnya tipe endomikoriza, infeksi tersebut terjadi pada jaringan korteks akar. Infeksi diawali dengan adanya proses pengenalan, proses pelekatan, dan proses penetrasi pada dinding sel akar oleh sekumpulan hifa yang terbentuk secara berlebihan pada struktur perakaran kecambah atau rambut akar (Setiawati, 2014). Selanjutnya jamur membentuk hifa intraseluler berupa lilitan padat yang menempati sebagian besar korteks akar. Struktur ini dikenal dengan nama peloton (Gambar 2), yang kemudian menjadi ciri khas fungi *Orchid mycorrhiza*.

Pada protokrom, formasi peloton terbentuk pada 20–36 jam setelah kontak awal. Hifa yang menginfeksi sel akar tanaman anggrek dan membentuk peloton,

memiliki aktivitas oksidase polifenol tinggi yang memungkinkan hifa *Orchid mycorrhiza* mampu memecah fitoaleksin yang dikeluarkan oleh akar anggrek selama reaksi pertahanan awal saat hifa *Orchid mycorrhiza* melakukan penetrasi. Pada peloton muda hifa memiliki mitokondria, ribosom dan glikogen yang melimpah. Akan tetapi, ketika struktur tersebut dewasa, sitoplasma hifa akan terвакуulasi, glikogen akan terdegradasi, dan peloton akan mengalami lisis akut yang disebut *phagocytosis* atau *digestion* (Dearnale dkk., 2017).

Beberapa peneliti mengungkapkan bahwa telah ditemukan senyawa metabolit sekunder (fitoaleksin) yang terbentuk di dalam jaringan anggrek seperti orchinol dan hircinol akibat adanya infeksi *Rhizoctonia* dan jamur endofit lain yang berasosiasi dengan anggrek. Kasiamdari (2000) menambahkan bahwa *Rhizoctonia* binukleat hanya menginfeksi bagian sel epidermis yang dinding selnya kaya akan endapan elektron, lignin, suberin, maupun senyawa-senyawa fenolat yang sering berperan dalam proses pertahanan terhadap patogen.



Gambar 2. Peloton pada akar anggrek, tanda panah menunjukkan struktur peloton dalam akar anggrek. Sumber: Smith dan Read (2008).

2.2.4 Efek Fisiologis *Orchid mycorrhiza* dan Kemungkinan Aplikasinya

Menurut Chang (2007), efek fisiologis *Orchid mycorrhiza* dan kemungkinan aplikasinya adalah (1) untuk meningkatkan perkecambahan biji anggrek secara *in vitro* dan *in vivo*, (2) meningkatkan tingkat kelangsungan hidup tanaman anggrek hasil mikropropaganda maupun bibit *in vivo* yang diinfeksi oleh *Orchid mycorrhiza*, (3) menstimulasi penyerapan dan penyebaran nutrisi oleh *Orchid mycorrhiza*, (4) meningkatkan pertumbuhan vegetatif dan reproduktif tanaman anggrek, (5) menghasilkan tanaman yang cepat berbunga dan meningkatkan kualitas bunga, (6) meningkatkan isi klorofil (berkaitan dalam proses fotosintesis), meningkatkan aktivitas enzim (asam dan basa fosfatase), dan untuk mendukung kemampuan antioksidan dalam meningkatkan jumlah asam ascorbat, flavonoid, polifenol dan polisakarida dalam anggrek *Anoctochilus formosana* Hayata, (7) mengurangi tingkat infeksi patogen sehingga dapat mengurangi kebutuhan akan pestisida, (8) mendukung pertumbuhan tanaman dan kemampuan berbunga tanaman serta meningkatkan kualitas dan kuantitas bunga, dan (9) membantu restorasi anggrek di alam liar.

2.3 Genus *Rhizoctonia* sebagai *Mycorrhiza*

Asosiasi fungi *Rhizoctonia* dengan tanaman anggrek sangat diperlukan dalam beberapa kasus, yaitu untuk perkecambahan benih dan pertumbuhan tanaman anggrek. Fungi *Rhizoctonia* menambah fosfat dan mineral lainnya pada tanaman anggrek, sedangkan asosiasi fungi *Rhizoctonia* dengan benih anggrek yaitu

menyediakan sumber karbon berupa vitamin-vitamin dan faktor pertumbuhan lainnya (Warcup, 1975).

Genus *Rhizoctonia* merupakan grup terbesar dalam asosiasi endofitik dengan akar tanaman anggrek, tetapi beberapa diantaranya tidak dapat diidentifikasi hingga spesies. Diantara isolat *Rhizoctonia* yang berperan sebagai *Orchid mycorrhiza* beberapa diantaranya menunjukkan adanya inang yang khusus dan ada pula yang memiliki inang yang luas (Sneh dkk., 1998).

2.3.1 Klasifikasi dan Karakteristik Genus *Rhizoctonia*

Di dalam habitatnya, *Rhizoctonia* dapat hidup dalam bentuk anomorf dan teleomorf. Anomorf merupakan bentuk aseksual, dimana pada bentuk ini *Rhizoctonia* tidak membentuk struktur seksual (spora) untuk berkembang biak. Pada bentuk ini *Rhizoctonia* berkembang biak menggunakan miselia. Bentuk ini merupakan bentuk yang paling banyak ditemukan di alam (Alexopoulos dkk., 1996).

Teleomorf merupakan bentuk seksual dari *Rhizoctonia*. Dalam bentuk ini *Rhizoctonia* akan membentuk struktur seksual (spora) yang berada dalam basidiospora. Jamur *Rhizoctonia* akan berubah dari bentuk anomorf ke bentuk teleomorf apabila mendapat tekanan lingkungan pada tingkatan tertentu. Bentuk teleomorf *Rhizoctonia* sangat sulit ditemukan di alam. Apabila berubah menjadi bentuk teleomorf, maka *Rhizoctonia* tersebut akan berubah menjadi genus *Ceratobasidium*, *Thanatephorus*, dan *Tulasnella*, bergantung dari spesiesnya (Alexopoulos dkk., 1996).

Menurut Alexopoulos dkk. (1996), klasifikasi kedua bentuk *Rhizoctonia* tersebut adalah sebagai berikut :

1. Bentuk anomorf

Divisi : Deuteromycota
Subdivisi : Deuteromycotina
Class : Deuteromycetes
Ordo : Agonomycetales
Genus : *Rhizoctonia*

2. Bentuk teleomorf

Divisi : Basidiomycota
Subdivisi : Basidiomycotina
Class : Hymenomycetes
Ordo : Ceratobasidiales, Tulasnellales
Genus : *Ceratobasidium*, *Thanatephorus*, *Tulasnella*

Menurut Sneh dkk. (1998), *Rhizoctonia* merupakan jenis jamur *soil borne* dengan beberapa karakteristik antara lain jamur ini mempunyai pigmen hifa berwarna coklat, hifa membentuk percabangan 90° di dekat sekat pada hifa vegetatif yang muda, membentuk hifa dan sekat yang pendek di dekat asal tempat percabangan, dan terjadi *perfect fusion* pada hifa. Namun karakterisasi seperti bentuk sel moniloid, membentuk sklerosium, diameter hifa lebih dari 5 µm, rata-rata pertumbuhan cepat, dan patogenik tidak selalu dimiliki. Adapun ciri-ciri morfologi utamanya adalah tidak pernah terdapat *clamp connection*, konidium,

dan rhizomorf. Dasar pengelompokan genus ini ke dalam spesies meliputi warna miselium (koloni), jumlah sel inti hifa, dan morfologi teleomorf.

2.3.2 Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Perkembangan Jamur

Lingkungan secara umum dapat mempengaruhi perkembangan jamur, begitu juga dengan *Rhizoctonia*. Faktor lingkungan tersebut diantaranya adalah suhu, cahaya, kelembapan, aerasi, inokulum, dan substrat. Faktor-faktor tersebut dapat berpengaruh langsung maupun tidak langsung pada perkembangan jamur terutama pada perubahan bentuk aseksual (Anamorf) menjadi bentuk seksual (Teleomorf).

a. Suhu

Beberapa laporan mengenai kajian kecepatan pertumbuhan dan hubungan suhu terhadap kecepatan pertumbuhan *Rhizoctonia* telah diberikan. Suhu kardinal untuk pertumbuhan *Rhizoctonia* bervariasi, umumnya berkisar 20–30 °C, sedangkan kecepatan pertumbuhannya antara 1–100 mm/jam (Parmeter dan Whitney, 1970).

Suhu optimum untuk terbentuknya struktur seksual pada jamur *Rhizoctonia* yaitu pada kisaran 20–30 °C. Sims (1956) menyatakan bahwa pembuahan terjadi pada suhu 20 °C tetapi tidak pada suhu 15, 25, dan 30 °C. Fluktuasi suhu antara siang dan malam hari berpengaruh terhadap pembuahan. Murray (1984) menyatakan bahwa suhu yang mampu mendukung terjadinya pembuahan yaitu 14–18 °C pada malam hari dan 23–26 °C pada siang hari.

b. Cahaya

Cahaya sangat berperan penting dalam pembentukan spora. Sporulasi *Rhizoctonia solani* terjadi secara hebat pada malam hari, sementara pemuahan berkurang pada siang hari (Carpenter, 1949). Dengan demikian, cahaya sangat mendukung dalam merangsang pembentukan *hymenium* tetapi mencegah pemasakan basidia. Flentje (1956) menyatakan bahwa pembentukan *hymenium* terjadi pada intensitas cahaya dibawah 200–2000 ft-c. Penelitian berikutnya menunjukkan bahwa isolat akan bersporulasi pada cahaya konstan atau fluktuatif dengan intensitas cahaya 4–1450 ft-c dengan durasi 8–24 jam. Akan tetapi, kondisi optimum terjadi pada 12–16 jam pada intensitas cahaya 10–440 ft-c.

c. Kelembapan

Kelembapan yang tinggi dibutuhkan jamur *Rhizoctonia* dalam pemuahan. Bagaimanapun, masing-masing isolat jamur memerlukan kelembapan yang berbeda-beda untuk mengalami pemuahan. Stretton dkk. (1964) mencatat bahwa kelembapan nisbi optimum untuk terjadinya pemuahan adalah 40–60%. Kelembapan nisbi yang tinggi sangat penting dalam pembentukan spora di lapang. Sporulasi akan terjadi secara hebat pada kelembapan yang meningkat.

d. Aerasi

Aerasi menyediakan oksigen dan melepaskan sisa respirasi berupa CO₂ yang dibutuhkan jamur *Rhizoctonia* untuk bersporulasi (Adams dan Butler, 1983).

e. Inokulum

Umur, ukuran, dan bentuk inokulum dapat mempengaruhi pembuahan pada jamur *Rhizoctonia*. Sims (1956) meneliti terjadinya pembuahan ketika suspensi miselium, tetapi bukan lembaran miselia yang digunakan untuk menginokulasi tanaman.

f. Substrat

Teleomorf akan terbentuk di dalam tanah, bahan-bahan tanaman, agar-agar, dan air. Isolat membutuhkan berbagai substrat untuk mendukung terjadinya pembuahan. Stretton dkk. (1964) menyatakan bahwa pembuahan yang baik terjadi pada pasir sungai yang kasar, lempung merah kecokelatan, dan liat berlempung. Flentje (1956) menyatakan bahwa sporulasi terbaik diperoleh pada lumpur berlempung berwarna merah kecokelatan.

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Produksi Perkebunan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dari bulan Januari sampai Mei 2017.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan pada percobaan ini yaitu, sampel akar anggrek *Phalaenopsis amabilis* dengan kriteria: akar muda (1–5 cm dari ujung akar), akar remaja (6–10 cm dari ujung akar), dan akar dewasa (11–15 cm dari ujung akar), media *Potato Sucrose Agar* (PSA), Alkohol 70%, Etanol 96%, spritus, asam laktat, akuades, *sodium hypochlorite* (NaOCl) 5,25 %, *Trypan blue*, *glycerol*, *Lactophenol cotton blue*, HCl 10%, H₂O₂ 3,5%, KOH 10%, kertas tisu, kertas label, aluminium foil, plastik *wrap*, plastik tahan panas, tusuk gigi, botol film, dan karet gelang.

Alat-alat yang digunakan pada percobaan ini adalah, cawan petri, tabung reaksi, mikroskop majemuk merek OLYMPUS BX51, mikroskop stereo merek OLYMPUS SZ61, kamera mikroskop merek OLYMPUS DP72, LAFC (*laminar air flow cabinet*), *autoclave*, *water bath*, gelas beker, gelas ukur, erlenmeyer, labu ukur, timbangan elektrik, mikro pipet, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, bunsen,

scalpel dan *blade*, botol film, pinset, jarum ose, bor gabus, *cutter*, kaca preparat, *cover glass*, penyaring, kompor, pisau, panci, pengaduk, talenan, penggaris, kamera, *stopwatch*, dan alat tulis.

3.3 Pelaksanaan Percobaan

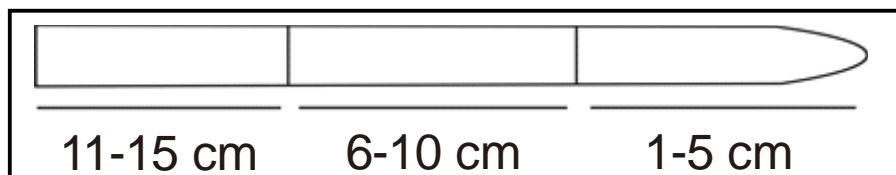
Isolasi *Orchid mycorrhiza* pada penelitian ini menggunakan anggrek *Phalaenopsis amabilis* yang terdiri dari tujuh tanaman yang berbeda, kemudian dari masing-masing tanaman diambil 3 akar berukuran 15 cm secara acak. Akar yang berukuran 15 cm dibagi menjadi tiga bagian berdasarkan umur akar, yaitu akar muda (1–5 cm dari ujung akar), akar remaja (6–10 cm dari ujung akar), dan akar tua (11–15 cm dari ujung akar) (Gambar 3).

Pada tanaman sampel 1–3 masing-masing umur akar diambil 2 sampel potongan melintang akar setebal 1–2 mm. Sehingga dari tanaman sampel 1–3 diperoleh 18 sampel akar muda, 18 sampel akar remaja, dan 18 sampel akar tua. Pada tanaman sampel 4–7 masing-masing umur akar diambil 6 sampel potongan melintang akar, sehingga diperoleh 72 sampel akar muda, 72 sampel akar remaja, dan 72 sampel akar tua. Maka diperoleh total sampel akar muda sebanyak 90 sampel, akar remaja sebanyak 90 sampel, dan akar tua sebanyak 90 sampel.

Kemudian masing-masing potongan akar diisolasi pada media PSA dan dihitung persen pertumbuhan jamur setelah 14 hari inkubasi. Pada potongan akar sisa isolasi diamati infeksi *mycorrhiza* pada sel akar yang ditandai dengan adanya peloton pada akar yang telah diberi perlakuan pewarnaan dengan *trypan blue*. Jamur yang tumbuh pada media PSA selanjutnya direisolasi untuk memperoleh

isolat murni yang digunakan untuk memverifikasi isolat secara makroskopis dan mikroskopis, kemudian mencocokkannya dengan ciri-ciri genus *Rhizoctonia*.

Data yang diperoleh dari kedua percobaan tersebut dianalisis secara deskriptif dan dibandingkan dengan pustaka yang berkaitan dengan penelitian ini.



Gambar 3. Kriteria umur akar, (1–5 cm) akar muda, (6–10 cm) akar remaja, dan (11–15 cm) akar dewasa.

3.3.1 Isolasi *Orchid mycorrhiza* pada Anggrek *Phalaenopsis amabilis*

3.3.1.1 Pembuatan Media *Potato Sucrose Agar* (PSA)

Pembuatan 1 liter media PSA diawali dengan mengupas kentang, kemudian kentang yang telah dikupas dipotong dadu dan dicuci hingga bersih. Selanjutnya ditimbang sebanyak 200 g dan direbus dengan akuades sebanyak 1 liter hingga air mendidih dan kentang menjadi lunak yang menandakan bahwa akuades telah bercampur dengan ekstrak kentang.

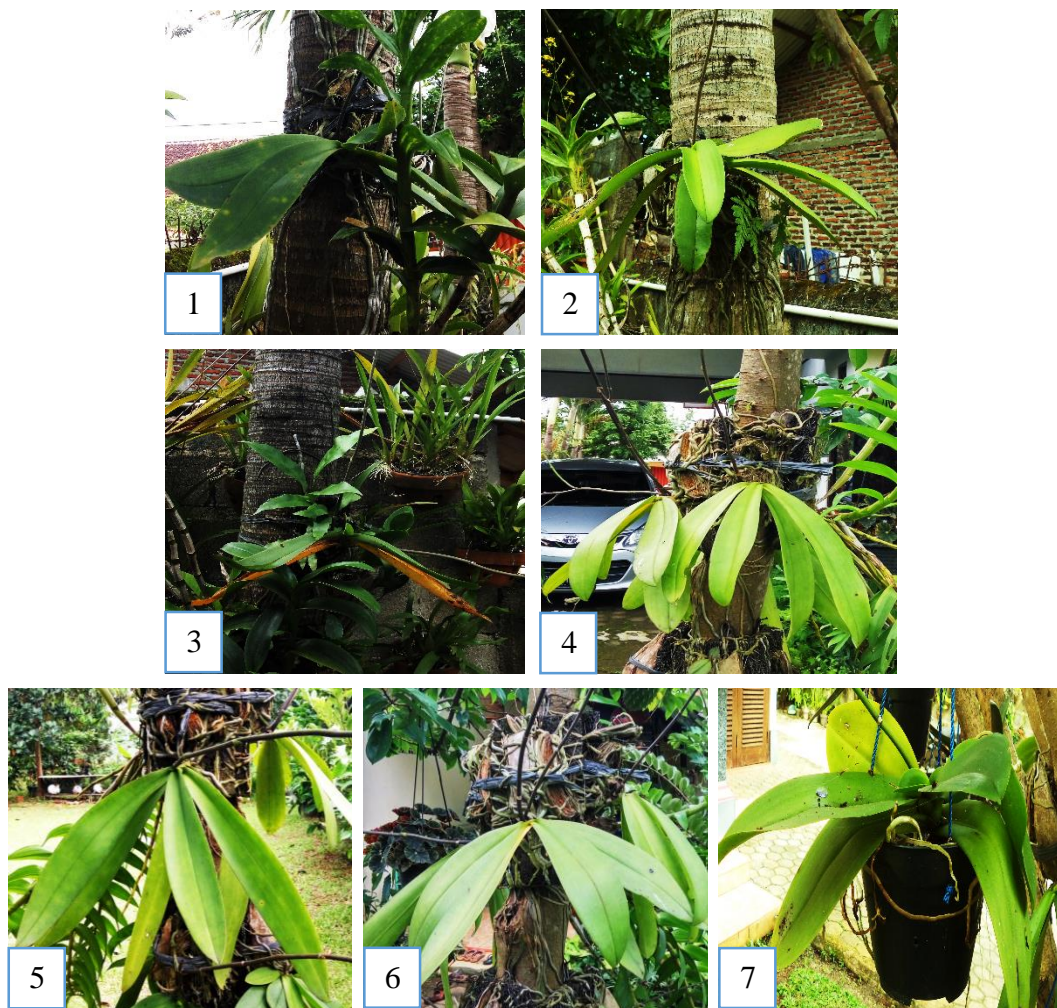
Setelah ekstrak kentang selesai dibuat, selanjutnya dipisahkan antara ekstrak dan kentang dengan cara disaring dan dimasukkan ke dalam labu ukur untuk ditera hingga 1 liter dengan ditambahkan akuades. Setelah ekstrak kentang ditera hingga 1 liter, selanjutnya ekstrak kentang dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 1 liter yang sebelumnya telah berisi *sucrose* 20 g dan agar 20 g.

Kemudian bahan-bahan tersebut dihomogenkan dan dipanaskan menggunakan *hot plate* dan *magnetic stirrer*. Setelah bahan-bahan tersebut homogen, selanjutnya bibir erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan dibungkus plastik tahan panas. Langkah berikutnya yaitu sterilisasi media dengan memasukkan media yang telah dibuat ke dalam *autoclave* selama 15 menit dengan tekanan 1 atm dan suhu 121 °C. Setelah disterilisasi, media didiamkan hingga mencapai suhu ± 50 °C kemudian diberi asam laktat sebanyak 1,8 ml/l dalam LAFC kemudian media yang telah bercampur dengan asam laktat dapat dituangkan pada cawan petri steril berdiameter 9 cm dalam LAFC. Setelah media memadat, bibir cawan dilapisi plastik *wrap* untuk mencegah kontaminasi media oleh jamur dan bakteri dari udara apabila media tidak langsung digunakan.

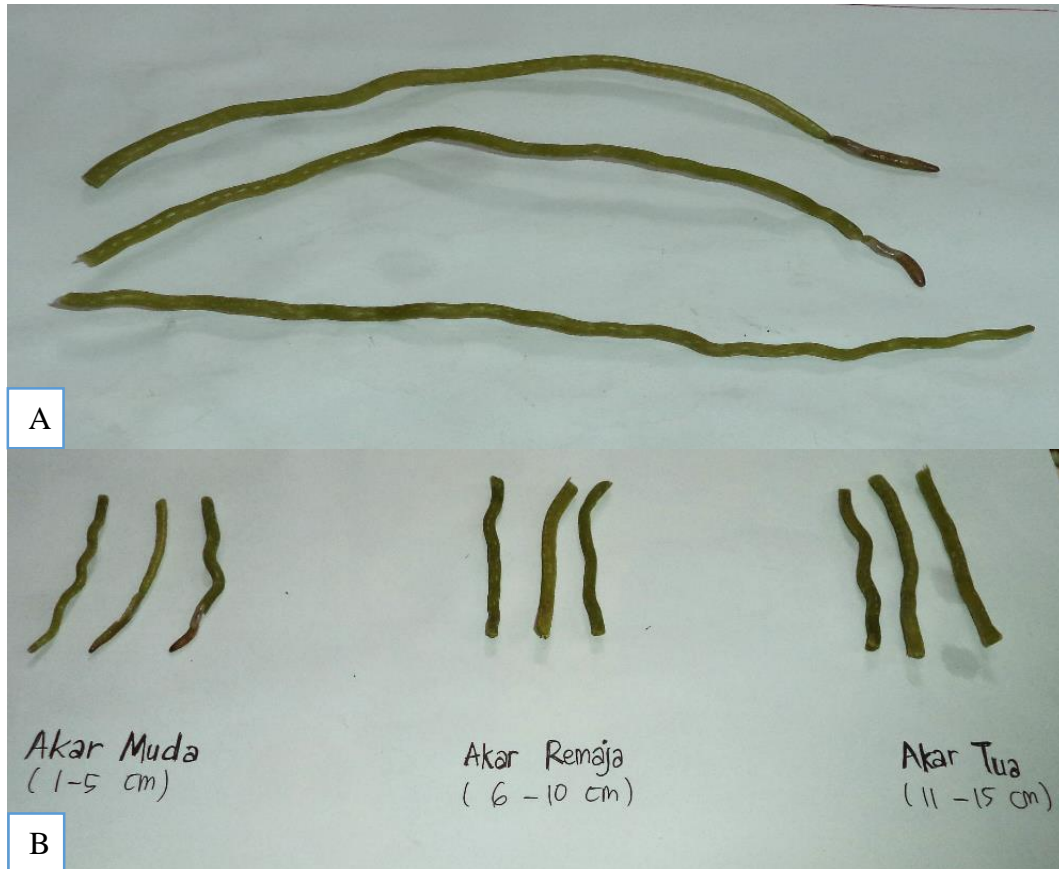
3.3.1.2 Pengambilan Sampel di Lapangan

Sampel akar anggrek *Phalaenopsis amabilis* diperoleh dari kebun milik Ibu Tri Dewi Andalasari, yang berlokasi di Jl. Purnawirawan, Gg. Swadaya VI, No. 39, Gunung Terang, Bandar Lampung. Sampel akar yang digunakan merupakan spesies anggrek *Phalaenopsis amabilis* yang berasal dari pulau Jawa dan telah berumur 2 tahun. Sampel akar diperoleh dari 7 tanaman anggrek *Phalaenopsis amabilis* yang berbeda, dengan akar yang melekat pada tanaman inang dan media tanam yang berbeda. Anggrek *Phalaenopsis amabilis* sampel 1–3 ditanam pada media pakis yang ditempelkan pada tanaman Palem Putri (*Ravenea* sp.), sedangkan pada sampel 4–6 ditanam pada media pakis dan sabut kelapa yang ditempelkan pada pohon Sirsak (*Annona muricata*), dan sampel 7 ditanam pada pot plastik dengan media tanam berupa moss yang digantungkan pada pohon

Mangga Namdokmai (*Mangifera indica*) (Gambar 4). Dalam 1 tanaman anggrek, diambil 3 akar berukuran 15 cm (Gambar 5) sehingga diperoleh 21 sampel akar. Sampel akar diambil pada pagi hari sekitar pukul 08.00–10.00 WIB. Selanjutnya sampel akar yang diperoleh dibungkus dengan kertas tisu yang dibasahi dengan akuades dan dibawa ke Laboratorium Produksi Perkebunan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.



Gambar 4. Tanaman anggrek *Phalaenopsis amabilis* yang digunakan sebagai sampel: sampel tanaman 1–3 ditanam pada media pakis yang ditempelkan pada tanaman Palem Putri, sampel tanaman 4–6 ditanam pada media pakis dan sabut kelapa yang ditempelkan pada pohon Sirsak, dan sampel tanaman 7 ditanam pada media moss dalam pot yang digantung dibawah pohon Mangga Namdokmai.



Gambar 5. Akar anggrek *Phalaenopsis amabilis* sampel tanaman 7: (A) akar anggrek berukuran 15 cm dan (B) akar anggrek yang dipotong menjadi 3 bagian berdasarkan kriteria umur akar (muda 1–5 cm), (remaja 6–10 cm), dan (tua 11–15 cm).

3.3.1.3 Isolasi Jamur

Langkah awal yang dilakukan terhadap sampel adalah sterilisasi pada permukaan akar. Permukaan akar dicuci dengan air mengalir selama 10 menit kemudian dipotong menjadi 3 bagian yaitu ukuran 1–5 cm dari ujung akar (akar muda), 6–10 cm dari ujung akar (akar remaja), dan 11–15 cm dari ujung akar (akar tua). Selanjutnya akar yang telah dipotong berdasarkan umur akar direndam dalam etanol 96% selama 3 menit, natrium hipoklorit (NaOCl) 5,25% selama 5 menit,

dan terakhir dicuci dengan akuades steril sebanyak 3 kali kemudian ditiriskan dan dipotong melintang dengan scalpel steril setebal 1–2 mm (Ningsih dkk., 2014).

Semua kegiatan sterilisasi akar kecuali pencucian dengan air mengalir, dikerjakan di dalam *laminar air flow cabinet* (LAFC). Potongan akar yang sudah kering diletakkan dalam cawan petri yang berisi media *potato sucrose agar* (PSA) dalam LAFC, dimana dalam satu cawan petri terdapat 3 potongan akar pada sampel 1–3 dan 6 potongan akar pada sampel 4–7. Kemudian masing-masing sampel diinkubasi selama 14 hari pada ruangan dengan suhu 21 °C.

Pada saat diinkubasi, setiap sampel diamati tumbuh atau tidaknya jamur pada setiap potongan akar yang diisolasi untuk mengetahui jumlah dan persentase tumbuh jamur. Jika tumbuh jamur pada potongan akar yang diisolasi, maka diberi skor 1 dan jika tidak tumbuh diberi skor 0. Kemudian nilai tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan total potongan akar yang diletakkan pada media PSA sesuai dengan kriteria umur akar dan dikalikan 100%.

3.3.1.4 Reisolasi Isolat

Jamur yang tumbuh pada media PSA yang telah diinkubasi selama 14 hari, kemudian direisolasi dengan cara mengambil miselium dengan bor gabus dan ditumbuhkan kembali ke media PSA pada cawan petri untuk *working culture* dan tabung reaksi untuk *stock culture* dalam LAFC. Kemudian cawan petri diberi label yang berisi keterangan tentang spesies anggrek, bagian akar, dan tanggal dilakukannya reisolasi. Selanjutnya kultur diinkubasi selama 14 hari pada ruangan dengan suhu 21 °C. Setelah selesai masa inkubasi, dilakukan pengamatan

secara makroskopis terhadap warna pigmen hifa dan mikroskopis terhadap ada/tidaknya sel monilioid pada isolat menggunakan mikroskop stereo dengan perbesaran 4,5X10.

3.3.1.5 Pengamatan Infeksi Akar

Pengamatan infeksi akar dilakukan pada potongan akar sisa isolasi menggunakan metode Brundrett dkk. (1995) yang dimodifikasi dengan tujuan untuk mengetahui infeksi *Orchid mycorrhiza* pada akar anggrek yang ditandai dengan adanya struktur peloton pada akar yang telah diberi perlakuan pewarnaan akar.

Adapun langkah kerja dalam pembuatan preparat untuk mengamati infeksi *Orchid mycorrhiza* pada sampel akar adalah:

a. Sampling Akar

Akar tanaman anggrek sisa isolasi dipotong tipis dengan posisi melintang.

Kemudian masing-masing akar dimasukkan ke dalam botol film dan diberi label dengan keterangan berupa, jenis tanaman, umur akar, dan tanggal dilakukannya pewarnaan akar.

b. Penjernihan (*Clearing*)

Akar anggrek yang telah dimasukkan ke dalam botol film direndam dengan larutan KOH 10% lalu dikukus dalam *water bath* dengan suhu 70 °C selama 20 menit. Setelah itu, KOH dibuang dan dilanjutkan ke tahap pemutihan.

c. Pemutihan (*Bleaching*)

Tahapan ini dilakukan untuk memutihkan pigmen akar dengan cara merendam akar dengan larutan H₂O₂ 3,5% dan dikukus dalam *water bath* selama 20 menit. Kemudian dilakukan netralisasi dengan merendam akar dalam larutan HCL 1% dan dikukus dalam *water bath* selama 10 menit. Setelah 10 menit perendaman, larutan HCL dibuang.

d. Pewarnaan (*Staining*)

Akar anggrek yang telah mengalami perlakuan *bleaching* dan *neutralization* selanjutnya direndam di dalam larutan *trypan blue* 0,05% (0,5 g *trypan blue* + 450 ml *glycerol* + 500 ml akuades + 50 ml HCL 1%). Selanjutnya akar dikukus selama 15 menit dalam *water bath*. Kemudian diambil 2 sampel akar yang telah diberi perlakuan dan disusun di atas kaca preparat secara teratur agar akar mudah diamati. Sampel akar kemudian diamati menggunakan mikroskop majemuk dengan perbesaran 40X10 untuk melihat adanya struktur peloton pada akar.

3.3.2 Verifikasi Isolat Hasil Isolasi untuk Menentukan Isolat yang Berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza*

3.3.2.1 Pengamatan Isolat Secara Makroskopis

Setelah kultur isolat selesai diinkubasi selama 14 hari, maka dilakukan pengamatan secara makroskopis terhadap isolat yang telah direisolasi pada cawan petri. Pengamatan dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri makroskopis isolat dengan ciri-ciri makroskopis yang dimiliki oleh genus *Rhizoctonia* berdasarkan

buku *Identification of Rhizoctonia Species* (Sneh dkk., 1998), yaitu isolat genus *Rhizoctonia* memiliki pigmen hifa berwarna cokelat. Jika secara makroskopis isolat memiliki ciri-ciri yang sama dengan genus *Rhizoctonia*, maka isolat tersebut berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza*.

3.3.2.2 Pembuatan *Slide Culture*

Pembuatan *slide culture* diawali dengan meletakkan tisu steril yang dipotong bundar ke dalam cawan petri steril, kemudian diletakkan 2 tusuk gigi steril pada bagian tengah cawan dengan jarak 1,5 cm antar tusuk gigi. Pemberian tusuk gigi pada bagian tengah cawan berfungsi sebagai penyangga kaca preparat agar tidak bersentuhan dengan tisu. Selanjutnya, diletakkan kaca preparat steril di atas tusuk gigi dengan posisi bersilangan.

Langkah berikutnya yaitu memotong media PSA yang telah dibuat sebelumnya dengan ukuran 1X1 cm menggunakan scalpel steril, kemudian potongan tersebut diletakkan di atas kaca preparat. Selanjutnya isolat yang diperoleh diinokulasikan secukupnya pada keempat sisi media PSA yang telah diletakkan pada kaca preparat dengan menggunakan jarum ose steril kemudian potongan PSA ditutup dengan *cover glass* steril.

Setelah isolat diinokulasikan pada media PSA, selanjutnya dilakukan pelembapan tisu dengan memberikan akuades steril pada tisu menggunakan mikro pipet.

Kemudian, cawan petri ditutup dan diberi plastik *wrap* pada bibir cawan agar mikroorganisme yang tidak dikehendaki tidak dapat masuk ke dalam cawan petri dan menyebabkan kontaminasi pada *slide culture* yang telah dibuat (Gambar 6).

Cawan petri diberi label dengan keterangan tentang jenis isolat dan tanggal dibuatnya *slide culture*. Selanjutnya cawan petri diletakkan pada ruangan dengan suhu 21 °C selama 7 hari. Semua kegiatan tersebut dilakukan dalam LAFC dengan tujuan agar *slide culture* yang dibuat tetap dalam keadaan steril. *Slide culture* yang telah dibuat, diambil *cover glass* nya kemudian diletakkan pada kaca preparat yang telah diberi satu tetes *lactophenol cotton blue* yang berfungsi untuk memberi warna pada morfologi isolat sehingga memudahkan dalam pengamatan.

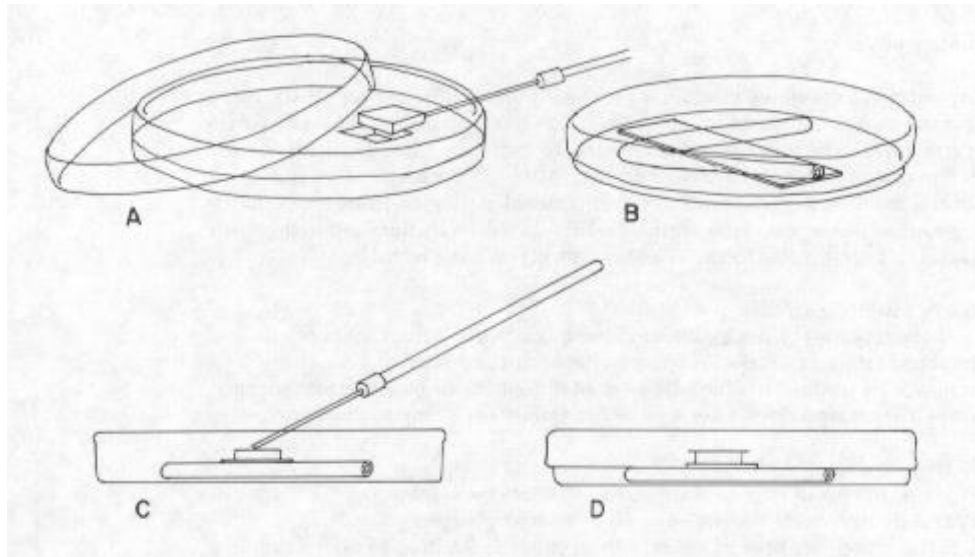
Slide yang telah dibuat digunakan untuk mengamati morfologi isolat menggunakan mikroskop majemuk dengan perbesaran 10 dan 100 kali. Verifikasi dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi isolat dengan ciri-ciri morfologi genus *Rhizoctonia* berdasarkan buku *Identification of Rhizoctonia* (Sneh dkk., 1998). Jika isolat yang diamati memiliki ciri-ciri morfologi (1) hifa membentuk percabangan 90° di dekat sekat pada hifa vegetatif yang muda, (2) membentuk hifa dan sekat yang pendek di dekat asal tempat percabangan, dan (3) terjadi *perfect fusion* pada hifa, maka isolat tersebut berpotensi sebagai *Orchid mycorrhiza*. Setelah seluruh isolat diverifikasi secara makroskopis dan mikroskopis, langkah berikutnya yaitu menghitung persentase tumbuh *Orchid mycorrhiza* dari masing-masing kriteria akar dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ Tumbuh } \textit{Orchid mycorrhiza} = \frac{\sum \textit{Om pada kriteria akar}}{\sum \textit{Total Om}} \times 100\%$$

Keterangan:

Om = *Orchid mycorrhiza*

Jika persentase tumbuh *Orchid mycorrhiza* lebih dari 50% maka bagian akar tersebut layak untuk dijadikan bahan isolasi *Orchid mycorrhiza* karena memiliki potensi tumbuhnya *Orchid mycorrhiza* lebih dari 50%.



Gambar 6. Tahap pembuatan *slide culture* : (A) potongan agar yang diambil dari media PSA, (B) cawan petri berisi batang penahan dan kaca preparat, (C) inokulasi fungi pada media PSA yang berada pada kaca preparat, (D) PSA yang telah diinokulasi ditutup dengan *cover glass*. Sumber : Nbm-mnb.ca (2016).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan dapat diambil simpulan sebagai berikut:

1. Akar tua memberikan keberhasilan isolasi *Orchid mycorrhiza* pada anggrek *Phalaenopsis amabilis* lebih tinggi dibandingkan akar muda dan akar remaja, yaitu sebesar 64,3%.
2. Dari 56 isolat yang berhasil diisolasi dari akar anggrek *Phalaenopsis amabilis*, terdapat 14 isolat yang memenuhi kriteria *Orchid mycorrhiza*, yaitu isolat 7, 9, 10, 12, 13, 30, 31, 47, 48, 49, 51, 52, 53, dan isolat 55.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka penulis menyarankan untuk melakukan penelitian lanjutan yang terkait dengan identifikasi isolat hingga tingkat spesies menggunakan metode analisis molekuler pada ke-14 isolat yang diduga sebagai *Orchid mycorrhiza* dan menginokulasikan ke-14 isolat tersebut pada planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* hasil perbanyakan dengan kultur jaringan untuk mengetahui kemampuan infeksi dari ke-14 isolat tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, G.C. Jr. and Butler, E.E. 1983. Environmental factors influencing the formation of basidia and basidiospores in *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology*. 73: 152–155.
- Agustini, V., Sufaati, S. and Suharno. 2009. Mycorrhizal association of terrestrial orchids of cyclops nature reserve, Jayapura. *Biodiversitas*. 10 (4): 175–180.
- Agustini, V., Sufaati, S., Suharno, and Suwannasai, N. 2016. Short communication: *Rhizoctonia*-like fungi isolated from roots of *Dendrobium lancifolium* var. *papuanum* and *Calanthe triplicata* in Papua, Indonesia. *Biodiversitas*. 17 (1): 377–383.
- Alexander, C., Alexander, I. J. and Hadley, G. 1984. Phosphate uptake by *Goodyera repens* in relation to mycorrhizal infection. *New Phytologist*. 97 (3): 401–441.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. and Blackwell, M. 1996. *Introductory Mycology*. John Wiley & Sons, Inc. New York. 869 pp.
- Alrich, P. and Higgins, W. 2014. *Phalaenopsis*. Bijdragen tot de Flora van Nederlandsch Indie. 24 (4): 18–21.
- Anas, I. 1997. *Bioteknologi Tanah*. Laboratorium Biologi Tanah. Jurusan Ilmu Tanah. Fakultas Pertanian, IPB. Bogor.
- Andersen, T.F. and Rasmussen, H.N. 1996. *The Mycorrhizal Species of Rhizoctonia*. In : Sneh, B., Ja baji-Hare, S., Neate, S. and Djist, G. *Rhizoctonia* Spesies: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. KAP. London. 379–390 pp.
- Arditti, J. 1992. *Fundamentals of Orchid Biology*. John Wiley & Sons, Inc. Department of Development and Cell Biology. University of California, Irvine. California. 691 pp.
- Athipunyakom, P., Manoch, L. and Pileuk, C. 2004. Isolation and identification of mycorrhizal fungi from eleven terrestrial orchid. *Nat Sci*. 38 (2): 216–228.

- Baker, M.L. and Baker, C.O. 1991. *Orchid Species Culture*. Timber Press. Portland, Or. 250 pp.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. and Malajczuk, N. 1995. *Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture*. Australian Centre for International Agricultural Research. Canberra, Australia. 374 pp.
- Brundrett, M.C. 2008. Mycorrhizal association. *The Web resource: www.Mycorrhiza.Info/vam.html#gves*. Diakses pada 5 Oktober 2016.
- Campbell, N. A., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V. dan Jackson, R.B. 2008. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 2*. Erlangga. Jakarta. 441 hlm.
- Carpenter, J.B. 1949. Production and discharge of basidiospores of *Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers on *Heavea rubber*. *Phytopathology*. 39: 980-985.
- Chang, D.C.N. 2007. The Screening of orchid mycorrhizal fungi (omf) and their application. IN; Chen, W.H. and Chen, H.H. *Orchid Biotechnology. World Scientific*. 77–80 pp.
- Darmono, D.W. 2004. *Menghasilkan Anggrek Silangan*. Penebar Swadaya. Jakarta. 78 hlm.
- Dearnaley, J.D.W. 2007. Further advances in orchid mycorrhizal research. *Mycorrhiza*. 17: 475–486.
- Dearnaley, J., Perotto, S. and Selosse, M. A. 2017. Structure and development of orchid mycorrhizas. *Molecular Mycorizal Symbiosis*. 63–86 pp.
- Effendie, K. 1994. Tata niaga dan perilaku konsumen bunga potong. *Buletin Penelitian Tanaman Hias*. 2 (2): 64–70.
- Fajriyah, H.N. 2011. Keberadaan fungi mikoriza di dalam jaringan akar *Dendrobium crumenatum* Sw., *Dendrobium cucullatum* R. Br., dan *Dendrobium anosmum* Lindl. (Skripsi). FMIPA Universitas Indonesia. Depok.
- Fitriana, Y. 2007. Potensi tiga isolat *Rhizoctonia* spp. sebagai mikoriza dan kemungkinan aplikasi bersama dengan *Trichoderma harzianum* untuk meningkatkan pertumbuhan dan kesehatan bibit vanili. (Tesis). Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Flentje, N.T. 1956. Studies on *Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers. I. Formation of the perfect state. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 39: 343–356.

- George, I.S. 2016. Orchids and fungi. <<http://www.anos.org.au/groups/newzealand/biology/fungi.htm>>. Diakses tanggal 27 November 2016 pukul 20.13 WIB.
- Haryuni. 2013. Identifikasi rhizoctonia mikoriza pada anggrekan dan kelompok anastomosisnya. *Biosantifika*. 5 (1): 43–49.
- Kasiamdari, R.S. 2000. Binukleat *Rhizoctonia* isolate from mychorrizal pot cultures: its morphological characteristics and pathogenicity. *Biology*. 2: 615-628.
- Kementrian Pertanian Republik Indonesia. 2016. Produktivitas anggrek menurut provinsi tahun 2011–2015. http://www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/data/hoti. Diakses pada 23 November 2016, pukul 21.14 WIB.
- Lee, J. K., Lee, S.S., Eom, A.H. and Paek, K.Y. 2003. Interaction of newly isolated orchid mycorrhiza fungi with korean *Cymbidium kanran* hybrid chungsu. *Mycobiologi*. 31 (1): 151–156.
- Mattjik, N.A. 2010. *Budi Daya Bunga Potong dan Tanaman Hias*. Purwito A, editor. IPB Press. Bogor. 453 hlm.
- Murray, D.I.L. 1984. Cultural condition influencing basidium formation in the *Ceratobasidiaceae*. *Aust. J. Bot.* 32 (1): 101–108.
- Nbm-mnb.ca. 2016. Preparation of Slide. <http://website.nbm mnb.ca/mycology/webpages/Moulds/Examination.html>. Diakses pada 19 Desember 2016, pukul 08: 05 WIB.
- Ningsih, R., Dinarni, dan Dwi, F. 2014. Identifikasi mikoriza anggrek *Spathoglottis plicata* dan *Phalaenopsis amabilis* L. *Jurnal Biowallacea*. 1 (1): 7–15.
- Ningsih R., Sri, A. dan Denofia. 2014. Peranan jamur *Rhizoctonia* sp. asal Taman nasional Rawa Aopa Watumohai Sulawesi Tenggara terhadap keberhasilan aklimatisasi dan laju pertumbuhan planlet anggrek macan (*Grammatophyllum scriptum* BL.). *Jurnal Biologi*. 7 (2): 58–68.
- Parmeter, J.R. and Whitney, H.S. 1970. *Taxonomy and Nomenclature of Perfect State*. In : *Rhizoctonia solani*, Biology and Pathology. University of California Press. Los Angeles. 7–19 pp.
- Prianggodo, J. 2015. Asosiasi jamur mikoriza pada akar anggrek *Calanthe pulchra*, *Cryptostylis javanica*, dan *Goodyera rubicunda* di Kebun Raya Baturaden. (Skripsi). Jurusan Biologi Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.

- Puspitaningtyas, D.M. dan Sofi, M. 2010. *Koleksi Anggrek Kebun Raya Bogor*. LIPI. Bogor. 72 hlm.
- Rasmussen H.N. 1995. *Terrestrial Orchid From Seed to Mycotrophic Plant*. Cambridge University Press. Cambridge. 460 pp.
- Roberts, P. 1999. *Rhizoctonia Forming Fungi, a Taxonomi Guide*. The Herbarium, Royal Botanic Gardens. England. 239 pp.
- Rukmana dan Rahmat. 2000. *Budidaya Anggrek Bulan*. Kanisius. Yogyakarta. 76 hlm.
- Saha, D. and Rao, A.N. 2006. Studies on endophytic mycorrhiza of some selected orchids of Arunachal Pradesh-1. Isolation and identification. *Bulletin of Arunachal Forest Research*. 22 (1&2): 9-16.
- Setiawan dan Setiawan, L. 2006. *Merawat Phalaenopsis*. Penebar Swadaya. Jakarta. 72 hlm.
- Setiawati, R. 2014. Orchid mycorrhiza, peran dan manfaatnya dalam bidang perlindungan tanaman. [http:// ditjenbun. pertanian.go.id/ bbpptpsurabaya /berita-646-Orchid-mycorrhiza-peranan-dan-manfaatnya--dalam-bidang-perindungan-tanaman-perkebunan-.html](http://ditjenbun.pertanian.go.id/bbpptpsurabaya/berita-646-Orchid-mycorrhiza-peranan-dan-manfaatnya--dalam-bidang-perindungan-tanaman-perkebunan-.html). Diakses 25 Oktober 2016, pukul 13.30 WIB.
- Sims, A.C. J. 1956. Factor affecting basidiospore development of *Pellicularia filamentosa*. *Phytopathology*. 46: 413-470.
- Smith, S.E. and Read, D.J. 2008. *Mycorrhiza Simbiosis*. Academic Press is an imprint of Elsevier 360 Park Avenue South. New York. 769 pp.
- Sneh, B., Burpee, L. and Ogoshi, A. 1998. *Identification of Rhizoctonia Spesies*. APS Press. St. Paul. Minnesota (USA). 134 pp.
- Stretton, H.M., McKenzie, A.R., Baker, K.F. and Flentje, N.T. 1964. Formation of the basidial stage of some isolates *Rhizoctonia*. *Phytopathology*. 54: 1093-1095.
- Suhardi. 1988. *Pedoman Kuliah Mikoriza Vesikular Arbuskular (MVA)*. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 178 hlm.
- Utami, E.S.W., Issirep, S., Taryono, dan Endang, S. 2007. Pengaruh naphthalene acetit acid (NAA) terhadap embrio genesis somatik anggrek bulan *Phalaenopsis amabilis* (L).BI. *Biodiversitas*. 8 (4): 295-299.
- Warcup, J.H. 1975. Factors affection symbiotic germination of orchid seed. In endomycorrhizas. Eds. Sanders, F.E., Mosse, B. and Tinker, P.P. Academic Press. London. 88–104 pp.

Yusnita. 2010. *Perbanyakan In vitro Tanaman Anggrek*. Universitas Lampung Press. Bandar Lampung. 128 hlm.

Yusnita. 2012. *Pemuliaan Tanaman untuk Menghasilkan Anggrek Hibrida Unggul*. Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung. 180 hlm.