

KARAKTERISTIK ISOLAT *Rhizoctonia* sp. PATOGENIK DAN *Rhizoctonia* MIKORIZA PADA TANAMAN ANGGREK TANAH (*Spathoglottis plicata*)

CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC *Rhizoctonia* sp. AND MYCORRHIZAL *Rhizoctonia* ISOLATES ON TERRESTRIAL ORCHID PLANT (*Spathoglottis plicata*)

*Soelistijono*¹, *Christanti Sumardiyono*², *Achmadi Priyatmojo*³, *Endang Semiarti*⁴

ABSTRACT

Mycorrhizal Rhizoctonia is a fungus that capable to associate with terrestrial orchids. Apart from being mycorrhizal, there are isolates of Rhizoctonia sp. that are pathogenic and caused root rot disease on Spathoglottis plicata. This study aimed to know the differences between pathogenic Rhizoctonia sp. and mycorrhizal Rhizoctonia in morphology and molecular structure using RAPD technique. The results showed that colony colour, cell length and nucleus number a several isolates of pathogenic Rhizoctonia sp. and of mycorrhizal Rhizoctonia on S. plicata had no differences, but had differences on cell thickness and isolate grouping based on hyphal anastomosis test. RAPD molecular technique showed that each isolate of pathogenic Rhizoctonia sp. and mycorrhizal Rhizoctonia had differences on DNA structure.

Key words: *mycorrhizal Rhizoctonia, pathogenic Rhizoctonia sp. and Spathoglottis plicata*

PENDAHULUAN

Secara alami anggrek tanah berkembang biak dengan biji atau anakan. Biji anggrek kebanyakan tidak memiliki cadangan makanan (endosperm) sehingga membutuhkan asosiasi dengan jamur mikoriza untuk memenuhi kebutuhan suplai unsur hara dari lingkungannya (Smith & Read, 2008). Menurut Hayakawa *et al.* (1999), pertumbuhan biji anggrek secara alami menjadi protokorm memiliki ketergantungan pada mikoriza untuk ketersediaan nutrisi

pertumbuhannya sampai tanaman tumbuh dewasa.

Salah satu anggrek tanah yang banyak dibudidayakan di Indonesia adalah *Spathoglottis plicata*. *S. plicata* memiliki akar yang mudah terinfeksi oleh jamur *Rhizoctonia* sp. yang bersifat patogen penyebab penyakit busuk pada akar. Selain mudah terinfeksi, akar *S. plicata* juga dapat berasosiasi dengan *Rhizoctonia* mikoriza dan membentuk struktur peloton di bagian kortek akar. *Rhizoctonia* sp. patogen memiliki

¹ Staff Pengajar Fakultas Pertanian, Universitas Tunas Pembangunan Surakarta

² Staff Pengajar Fakultas Pertanian, Universitas Gajah Mada Yogyakarta

³ Staff Pengajar Fakultas Pertanian, Universitas Gajah Mada Yogyakarta

⁴ Staff Pengajar Fakultas Pertanian, Universitas Gajah Mada Yogyakarta

sklerotium berwarna coklat, bentuknya tidak teratur, miselium berbentuk elips, biasanya terletak pada permukaan tumbuhan inang dan dihubungkan oleh benang-benang miselium berwarna coklat dengan percabangan membentuk sudut siku-siku dan umum terdapat dalam tanah (Semangun, 1996; Agrios, 2005). *Rhizoctonia* sp. patogen merupakan jamur yang mampu menginfeksi berbagai tanaman (polifag) dan umumnya terdapat di dalam tanah. Gejala penyakit berupa leher akar membusuk mencapai rhizoma dan umbi batang. Daun dan umbi batang menguning, berkeriput, tipis dan bengkok. Pada umumnya *Rhizoctonia* sp. patogen menyebabkan tanaman menjadi kerdil (Anonim, 2008). Penetrasi *Rhizoctonia* sp. patogen pada bagian akar tanaman terjadi melalui celah yang terbentuk pada saat pembentukan percabangan akar (Agrios, 2005). Secara umum *Rhizoctonia* spp. dapat dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan jumlah inti selnya yaitu: uninukleat, binukleat, dan multinukleat (Otero *et al.*, 2002).

Selain sebagai patogen, anggota *Rhizoctonia* spp. juga ada yang bersifat sebagai mikoriza yang mampu

berasosiasi dengan akar anggrek. Mikoriza pada anggrek memiliki kemampuan untuk penetrasi hingga ke jaringan kortek akar, seperti kemampuan mikoriza arbuskular dan membentuk struktur peloton (Dressler, 1990). Manoch *et al.* (2008) menemukan adanya asosiasi antara akar beberapa anggrek tanah dengan *Rhizoctonia* spp. yang diisolasi dari berbagai tempat di Thailand dan semua isolat tersebut termasuk dalam kelompok binukleat.

Interaksi antara *Rhizoctonia* mikoriza dengan biji anggrek menyebabkan beberapa kemungkinan, yaitu: (1) membentuk peloton dan simbiosis diantara keduanya bersifat mutualisme, (2) menyebabkan kematian biji anggrek karena adanya infeksi hifa *Rhizoctonia* mikoriza dan simbiosisnya bersifat parasitik, atau (3) tidak saling merugikan karena mikoriza terletak di ruang antar sel jaringan biji anggrek (Smith & Read, 2008).

Perbedaan antara *Rhizoctonia* mikoriza dengan *Rhizoctonia* sp. patogen adalah *Rhizoctonia* mikoriza berperan dalam penyediaan unsur hara yang dibutuhkan oleh anggrek (Otero *et al.*, 2002), sedangkan *Rhizoctonia* sp. patogen menyebabkan terjadinya

penyakit busuk pada akar anggrek (Cubeta & Vilgalys, 1997).

Penelitian ini bertujuan melakukan karakterisasi berbagai isolat *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza, sehingga dapat diketahui perbedaan *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza secara morfologi dan molekuler.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan penelitian adalah 3 isolat *Rhizoctonia* sp. patogen, 1 *R. solani* dan 4 isolat *Rhizoctonia* mikoriza yang diperoleh dari Magelang, Tawangmangu (Jateng) dan Sleman (DIY). Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi PDA, cat Safranin, CTAB 2%, gel akrilamid 6%, ethidium bromide, kit MMB, primer OPA-18, AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, dan AP6. Peralatan yang digunakan mikroskop Olympus CX31, mikroskop *Optic Lab.*, sentrifus Kokusan H-9R, mesin PCR Infinigen TC-25/H.

Isolasi, identifikasi dan karakterisasi *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza

Isolasi *Rhizoctonia* sp. patogen dilakukan dari akar *S. plicata* yang

bergejala busuk di berbagai tempat. menurut metode Bayman *et al.* yang dimodifikasi pada cara sterilisasi akar (Otero *et al.*, 2002). Identifikasi *Rhizoctonia* sp. patogen dilakukan menurut Barnett & Hunter (1972) meliputi: (1) ukuran sel hifa, (2) bentuk percabangan hifa, (3) jumlah inti, dan (3) warna sklerotium.

Karakterisasi dilakukan pada isolat *Rhizoctonia* sp. patogen berdasarkan morfologi, dimensi jamur dan *isolates grouping*. Karakterisasi dilakukan berdasarkan cara yang digunakan oleh Windels, *et al.* (1997); Carling, *et al.* (1999), meliputi:

1. Morfologi jamur. Pengamatan morfologi koloni meliputi warna koloni dan ada tidaknya sklerotium pada medium PDA.
2. Dimensi jamur. Pengamatan dimensi jamur meliputi lebar dan panjang sel hifa serta jumlah inti sel. Penghitungan jumlah inti sel menurut Sneh *et al.* (2004) sebanyak 30 bidang pandang untuk setiap isolat.
3. Pengelompokan isolat (*isolates grouping*) menurut Villajuan-Abgona, *et al.* (1996).

Isolasi, identifikasi dan karakterisasi *Rhizoctonia* mikoriza dari berbagai

tempat dilakukan dengan cara yang sama.

Pengelompokan *Rhizoctonia* spp. (isolate grouping) berdasar anastomosis hifa

Berdasarkan kemampuan anastomosis, baik *Rhizoctonia* sp. dan *Rhizoctonia* mikoriza dapat dibagi menjadi 4 macam, yaitu C0: kedua hifa tetap tumbuh, tidak terjadi kontak, C1: tidak terjadi kontak dinding sel, reaksi dapat atau tidak diikuti kematian sel, C2: terjadi fusi dinding sel (anastomosis) diikuti kematian sel, respon inkompatibilitas somatik dan C3: terjadi fusi dinding sel tanpa diikuti kematian sel (McNish *et al.*, 1993).

Analisis perbedaan *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza secara molekular

Ekstraksi jamur dilakukan dengan metode CTAB 2% (Kumar, 2009). PCR DNA menggunakan metode RAPD dengan primer OPA-18, AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, dan AP6 pada suhu annealing 36⁰C selama 30 siklus. Elektroforesis hasil PCR DNA dilakukan di PAGE 6% dengan voltase 50 volt selama 2 jam. Hasil amplifikasi selanjutnya diamati menggunakan UV.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan identifikasi *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza

Rhizoctonia sp. patogen saat menginfeksi akar *S. plicata* akan menyebabkan gejala penyakit busuk pada akar (Gambar 1).

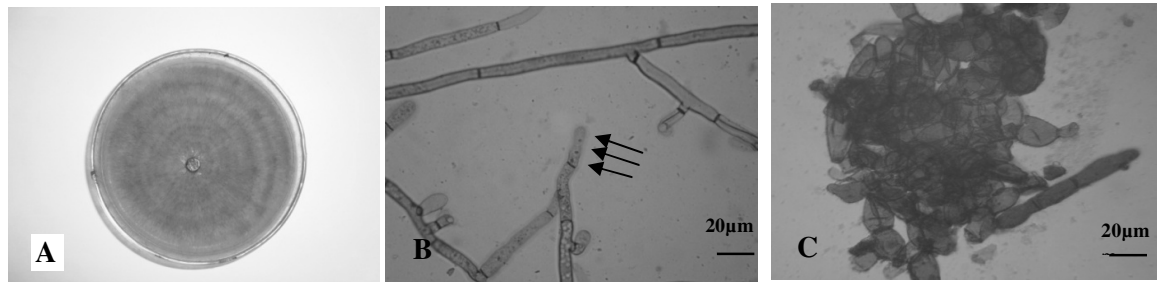


Gambar 1. Gejala penyakit busuk akar oleh *Rhizoctonia* sp. pada akar *S. plicata*. Tanaman *S. plicata* sehat (A), tanaman *S. plicata* sakit (B), dan gejala busuk akar pada *S. plicata* (C). Keterangan: Anak panah pada C menunjukkan hifa *Rhizoctonia* sp. patogen. Skala - : 1 cm pada A, B dan C

Dari gambar 1A dan 1B terlihat perbedaan antara *S. plicata* yang sehat dan sakit, sedangkan pada gambar 1C terlihat bagian permukaan epidermis akar *S. plicata* yang diselubungi hifa *Rhizoctonia* sp. patogen, sehingga akan menghambat pertumbuhan dari akar anggrek. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Agrios (2005) yang menyatakan bahwa hifa *Rhizoctonia* sp. patogen dapat menginfeksi akar tanaman dengan cara menembus

jaringan epidermis dan masuk ke bagian kortek, sehingga akan mengganggu pertumbuhan tanaman.

Isolasi *Rhizoctonia* sp. patogen dari beberapa lokasi di Tawangmangu, Magelang dan Sleman diperoleh isolat Twmg, Brbd, Slmn 1 dan Slmn 2 (*Rhizoctonia solani*). Warna koloni, jumlah inti, dan sklerotium *Rhizoctonia* sp. patogen berbeda antara satu isolat dengan isolat lainnya (Gambar 2).



Gambar 2. Morfologi koloni *Rhizoctonia* sp. patogen (A), jumlah inti di dalam sel (B), dan sklerotium (C). Tanda panah adalah inti sel. Skala - : 20 µm pada B dan C

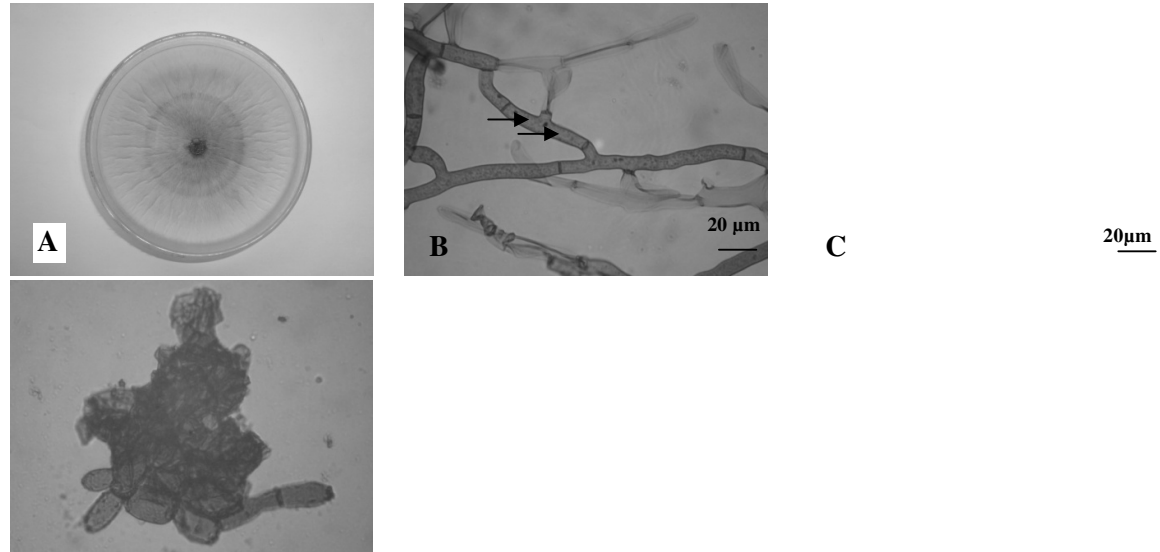
Isolat Twmg, Brbd dan Slmn 2 berwarna putih sedangkan isolat Slmn 1 berwarna kecoklatan. Hal tersebut sesuai dengan Carling *et al.* (1999) yang menemukan, bahwa dari 26 isolat *R. solani* (AG-12) yang dikoleksi dari tanaman anggrek *Pterostylis acuminata*, 20 isolat berwarna coklat tua sedangkan 6 isolat lainnya berwarna coklat muda. Hyakumachi *et al.* (2005) juga menemukan hal yang

sama bahwa dari 670 isolat *Rhizoctonia* spp., 168 berwarna coklat muda hingga coklat dan 502 berwarna putih. Sehingga dari penelitian Carling dan Hyakumachi tersebut, dapat dikatakan warna koloni *Rhizoctonia* sp. patogen berbeda-beda tergantung dari umur isolat.

Isolasi *Rhizoctonia* mikoriza dari beberapa lokasi di Tawangmangu, Magelang dan Sleman diperoleh isolat

Rhizoctonia mikoriza 1 (M1),2 (M2),3 (M3) dan 4 (M4). Warna koloni, jumlah inti, dan sklerotium

Rhizoctonia mikoriza berbeda antara satu isolat dengan isolat lainnya (Gambar 3).



Gambar 3. Morfologi koloni *Rhizoctonia* mikoriza (A), jumlah inti didalam sel (B), dan sklerotium (C). Tanda panah adalah inti sel. Skala - : 20 µm pada B dan C.

Warna koloni *Rhizoctonia* mikoriza berbeda-beda tergantung dari kelompoknya masing-masing (*isolates grouping*). Isolat *Rhizoctonia* mikoriza (M1, M2, M3 dan M4) yang diperoleh, sebagian besar memiliki warna koloni putih kecoklatan/coklat muda. Athipunyakom dan Manoch (2008) menemukan hal yang sama, bahwa 7 isolat *Rhizoctonia* mikoriza yang diisolasi dari *S. plicata* dari berbagai tempat di Thailand menunjukkan koloni berwarna putih, sedangkan Agustini *et al.* (2009) menemukan hal yang berbeda di kebun raya Cycloops

Jayapura, bahwa 10 isolat mikoriza anggrek yang diperoleh warna koloni bervariasi dari putih hingga hitam. Oleh karena itu berdasarkan pengamatan secara morfologi warna koloni isolat *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza dapat dikatakan bahwa warna koloni tidak dapat digunakan sebagai pembeda antar masing-masing isolat.

Isolat *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza memiliki perbedaan lebar dan panjang sel (Tabel 1).

Tabel 1. Dimensi *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza.

<i>Rhizoctonia</i> spp. (8 isolat)	Ukuran sel (μm)		Warna koloni	Pembentukan sklerotia
	Lebar sel	Panjang sel		
Twmg (<i>Rhizoctonia</i> sp. 1)	3,5-10,0	42,0-202,1	Putih kecoklatan	+
Brbd (<i>Rhizoctonia</i> sp. 2)	4,1-11,3	89,0-200,0	Putih kecoklatan	+
Slmn 1 (<i>Rhizoctonia</i> sp. 3)	6,0-11,0	75,0-169,0	Coklat tua	+
Slmn 2 (<i>R. solani</i>)	4,5-11,0	56,0-131,1	Putih kecoklatan	+
M1 (<i>Rhizoctonia</i> mikoriza 1)	4,8-11,0	55,0-145,0	Putih kecoklatan	+
M2 (<i>Rhizoctonia</i> mikoriza 2)	6,0-11,3	56,0-131,2	Coklat muda	+
M3 (<i>Rhizoctonia</i> mikoriza 3)	6,0-11,7	42,1,0-135,0	Coklat muda	+
M4 (<i>Rhizoctonia</i> mikoriza 4)	5,0-10,0	42,0-194,0	Coklat muda	+

Keterangan: Twmg: *Rhizoctonia* sp. patogen dari Tawangmangu; Brbd: *Rhizoctonia* sp. patogen dari Magelang; Slmn 1 dan 2: *Rhizoctonia* sp. patogen dan *R. solani* dari Sleman; M1: *Rhizoctonia* mikoriza dari Tawangmangu; M2: *Rhizoctonia* mikoriza dari Magelang; M3 dan M4: *Rhizoctonia* mikoriza dari Sleman.

+ = Terbentuk sklerotia

Dari tabel 1 terlihat ukuran sel *Rhizoctonia* sp. patogen memiliki ukuran lebar sel yang lebih kecil dibandingkan lebar sel *Rhizoctonia* mikoriza. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Carling *et al.* (1999) tentang *Rhizoctonia* sp. yang bersifat patogen pada anggrek yaitu kelompok AG-12 dengan lebar sel berkisar 6,7 – 7,7 μm , sedangkan penelitian oleh Garcia *et al.* (2006) tentang *Rhizoctonia* mikoriza pada anggrek, menyimpulkan lebar sel lebih dari 10 μm . Berdasarkan dua

penelitian tersebut, dapat dikatakan isolat Twmg, Brbd, Slmn 1 dan 2 memiliki lebar sel yang lebih kecil dibandingkan lebar sel isolat M1, M2, M3 dan M4. *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza memiliki ukuran panjang sel yang bervariasi, mulai 42 hingga 202 μm . Hal ini dapat dikaitkan dengan umur dari masing-masing sel, dimana makin tua isolat akan makin panjang ukuran selnya. Dapat dikatakan isolat *Rhizoctonia* sp. patogen maupun

Rhizoctonia mikoriza tidak berbeda pada panjang sel tetapi berbeda pada lebar sel.

Isolat *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza memiliki perbedaan dalam jumlah inti masing-masing sel (Tabel 2).

Tabel 2. Jumlah inti tiap sel hifa *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza.

<i>Rhizoctonia</i> spp. (8 isolat)	Jumlah sel yang memiliki inti					Kisaran (Range)	Keterangan
	1	2	3	4	5		
Twmg	2	12	16	0	0	3	binukleat
Brbd	2	4	24	0	0	3	binukleat
Slmn 1	0	3	27	0	0	3	binukleat
Slmn 2	0	0	3	20	7	4	multinukleat
M1	5	15	6	4	0	2	binukleat
M2	3	20	6	1	0	2	binukleat
M3	4	17	9	0	0	2	binukleat
M4	6	17	3	4	0	2	binukleat

Keterangan: Twmg: *Rhizoctonia* sp. patogen dari Tawangmangu; Brbd: *Rhizoctonia* sp. patogen dari Magelang; Slmn 1 dan 2: *Rhizoctonia* sp. patogen dan *R. solani* dari Sleman; M1: *Rhizoctonia* mikoriza dari Tawangmangu; M2: *Rhizoctonia* mikoriza dari Magelang; M3 dan M4: *Rhizoctonia* mikoriza dari Sleman.

Isolat Twmg, Brbd, Slmn 1 dan Slmn 2 yang bersifat patogen, sebagian besar merupakan sel hifa dengan inti rata-rata berkisar (range) 3 – 4. Menurut Sneh *et al.* (1991), isolat yang memiliki jumlah inti sel 1 - 3 merupakan kelompok binukleat, sedangkan isolat yang memiliki jumlah inti sel lebih dari 3 merupakan kelompok multinukleat. Dari pendapat Sneh tersebut dapat dikatakan isolat Twmg, Brbd, Slmn 1 bersifat binukleat,

sedangkan isolat Slmn 2 bersifat multinukleat. Carling *et al.* (1999) melaporkan adanya *R. solani* AG-12 multinukleat yang berasosiasi dengan anggrek *Pterostylis acuminata* sebagai mikoriza.

Isolat M1, M2, M3 dan M4 memiliki inti berkisar 2 sehingga dari pendapat Sneh *et al.* (1991), dapat dikelompokkan kedalam binukleat. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Taylor *et al.* (2002),

Athipunyakom and Manoch (2008) dan Garcia *et al.* (2006) pada tanaman anggrek, yang menyimpulkan sebagian besar isolat *Rhizoctonia* sp. yang diisolasi bersifat mikoriza dan termasuk dalam kelompok binukleat. Sehingga secara keseluruhan dapat dikatakan isolat *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza yang diperoleh tidak dapat dibedakan berdasarkan jumlah intinya.

Pengelompokan *Rhizoctonia* spp. (*isolate grouping*) berdasar anastomosis hifa

Isolat *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza dari lokasi di Tawangmangu, Magelang dan Sleman dapat dikelompokkan (*isolates grouping*) berdasarkan kemampuan anastomosisnya (Tabel 3).

Tabel 3. Pengelompokan isolat *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza dari Tawangmangu, Magelang dan Sleman berdasarkan reaksi anastomosis hifa.

<i>Rhizoctonia</i> spp. (8 isolat)	<i>Rhizoctonia</i> spp.							
	Twmg	Brbd	Slmn 1	Slmn 2	M1	M2	M3	M4
Twmg	C3	C1	C0	C0	C0	C0	C0	C0
Brbd		C3	C0	C0	C0	C0	C0	C0
Slmn 1			C3	C1	C0	C0	C0	C0
Slmn 2				C3	C0	C0	C0	C0
M1					C3	C2	C0	C0
M2						C3	C0	C0
M3							C3	C2
M4								C3

Keterangan: Twmg: *Rhizoctonia* sp. patogen dari Tawangmangu; Brbd: *Rhizoctonia* sp. patogen dari Magelang; Slmn 1 dan 2: *Rhizoctonia* sp. patogen dan *R. solani* dari Sleman; M1: *Rhizoctonia* mikoriza dari Tawangmangu; M2: *Rhizoctonia* mikoriza dari Magelang; M3 dan M4: *Rhizoctonia* mikoriza dari Sleman.

C0: kedua hifa tetap tumbuh, tidak terjadi kontak, C1: tidak terjadi kontak dinding sel, reaksi dapat atau tidak diikuti kematian sel, C2: terjadi fusi dinding sel (anastomosis) diikuti kematian sel, respon inkompatibilitas somatik C3: terjadi fusi dinding sel tanpa diikuti kematian sel

Dari tabel 3 terlihat isolat Twmg dengan Brbd, tidak terdapat hubungan kekerabatan, hal ini dapat dilihat dari tidak adanya hubungan

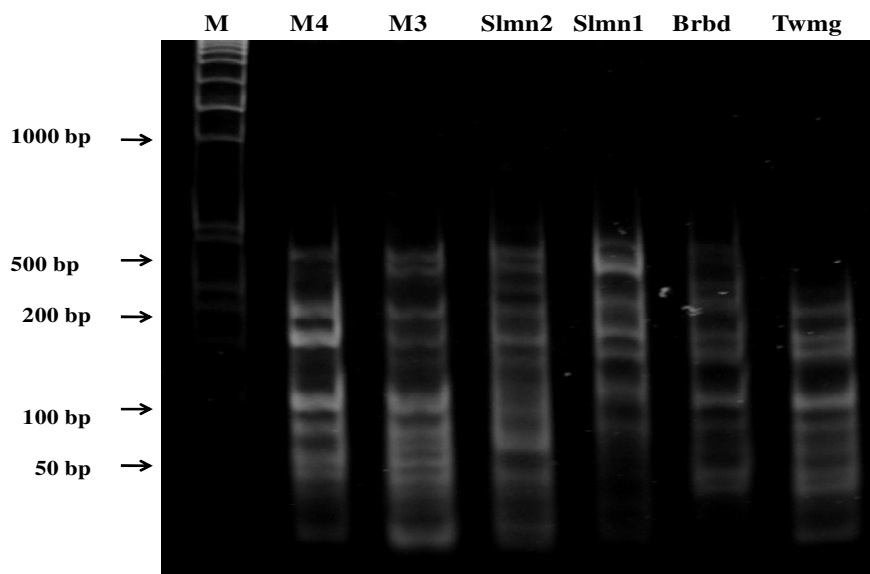
anastomosis diantara keduanya (C1). Diduga hal tersebut disebabkan keduanya berasal dari lokasi yang berbeda. Meski demikian juga tidak

terdapat hubungan kekerabatan antara isolat Slmn 1 dan Slmn 2, yang terlihat tidak ada kontak membran diantara keduanya (C1), walaupun keduanya berasal dari lokasi yang sama.

Reaksi anastomosis antara isolat M1 dan M2 menunjukkan adanya hubungan kekerabatan (C2), hal ini dapat dilihat dari adanya fusi dinding sel diantara keduanya. Diduga kedua isolat M1 dan M2 berasal dari kelompok yang sama, walaupun keduanya berasal dari tempat yang berbeda. Demikian juga antara isolat M3 dan M4 yang berasal dari lokasi yang sama, memiliki hubungan kekerabatan diantara keduanya (C2). Secara keseluruhan pengelompokan (*isolates grouping*) berdasarkan reaksi anastomosis dapat digunakan sebagai pembeda antara isolat *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza.

Analisis perbedaan *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza secara molekular

Karakterisasi secara molekular untuk membedakan isolat *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza dilakukan menggunakan teknik RAPD dengan primer OPA-18, AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, dan AP6. Dari 7 primer tersebut yang digunakan, ternyata hanya primer AP4 dan AP5 yang dapat mengamplifikasi *Rhizoctonia* patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza. Dari ke 2 primer tersebut yang memberikan hasil amplifikasi terbaik adalah primer AP5 yaitu dapat mengamplifikasi DNA isolat Twmg, Brbd, Slmn 1, Slmn 2, M3 dan M4 (Gambar 4).



Gambar 4. Analisis molekular RAPD, dengan primer AP5 pada isolat *Rhizoctonia* sp. Keterangan : (M)Marker 1 Kb DNA Ladder, (M4) dan (M3)*Rhizoctonia* mikoriza dari Sleman, (Slmn2)*R. solani* dari Sleman, (Slmn 1)*Rhizoctonia* patogen dari Sleman, (Brbd) *Rhizoctonia* patogen dari Magelang, dan (Twmg) *Rhizoctonia* patogen dari Tawangmangu.

Urutan DNA diberbagai kromosom dengan primer AP5 menunjukkan *Rhizoctonia* mikoriza (M4 dan M5) memiliki struktur DNA yang berbeda dengan *Rhizoctonia* sp. patogen yaitu dengan teramplifikasinya fragmen/pita DNA sepanjang 50bp. Demikian juga *Rhizoctonia* sp. patogen (Slmn2, Slmn1, Brbd dan Twmg) memiliki struktur DNA yang berbeda dengan *Rhizoctonia* mikoriza yaitu pada fragmen DNA 300bp.

Isolat M3 dan M4 (*Rhizoctonia* mikoriza) dari tempat yang sama (Sleman), ternyata merupakan isolat yang berbeda. Hal tersebut dapat diketahui dari hasil amplifikasi DNA isolat M4 yang menghasilkan 3 pita DNA sepanjang 75kb, 150kb dan 480kb yang tidak dimiliki oleh isolat M3.

Rhizoctonia sp. patogen yang bersifat multinukleat (Slmn2) merupakan isolat yang berbeda dengan *Rhizoctonia* sp. patogen yang bersifat binukleat (Slmn1, Brbd dan Twmg). Hal tersebut terlihat pada pola pita

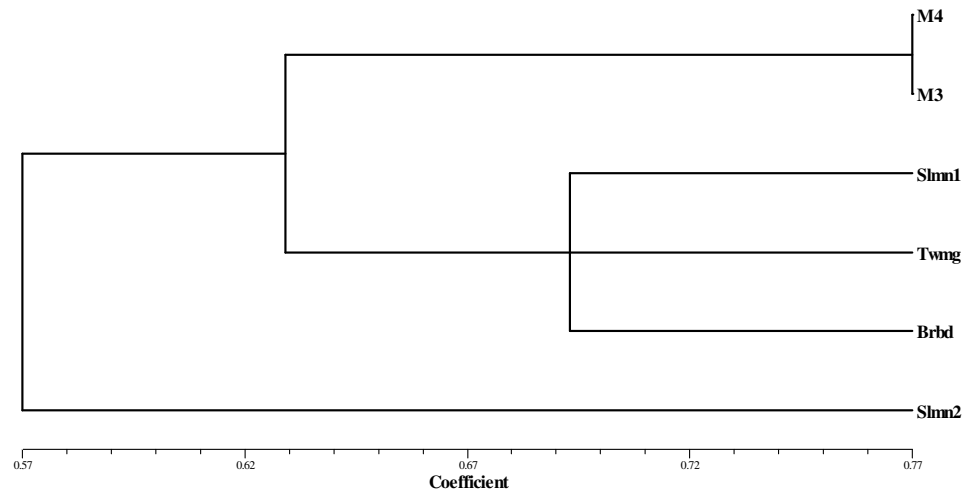
DNA isolat Slmn 2 yang teramplifikasi pada DNA sepanjang 25bp, tetapi tidak teramplifikasi dari DNA *Rhizoctonia* sp. patogen binukleat. *Rhizoctonia* sp. patogen binukleat berbeda dengan *Rhizoctonia* sp. patogen multinukleat yaitu dengan teramplifikasi DNA dengan panjang 80bp dan 100bp, yang juga terdapat pada DNA *Rhizoctonia* mikoriza. Sehingga dapat dikatakan struktur DNA *Rhizoctonia* binukleat baik yang bersifat mikoriza maupun patogen memiliki persamaan yaitu memiliki fragmen DNA dengan panjang 80bp dan 100bp.

Struktur DNA *Rhizoctonia* sp. patogen binukleat (Slmn1, Brbd dan Twmg) berbeda satu dengan lainnya. Struktur DNA isolat Slmn 1 dan Brbd memiliki persamaan dengan adanya pita DNA sepanjang 480bp dan 500bp, sedangkan isolat Brbd dan Twmg memiliki persamaan hasil amplifikasi DNA sepanjang 30bp, 40bp dan 60bp. Isolat Brbd berbeda dengan Slmn1 dan

Twmg yaitu dengan terdapatnya pita DNA sepanjang 300bp.

Sesuai dengan perbedaan struktur DNA *Rhizoctonia* sp. yang ditunjukkan pola DNA hasil

amplifikasi menggunakan primer random AP5 dapat diperoleh dendogram yang disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Dendogram *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza. Keterangan : (M4) dan (M3) *Rhizoctonia* mikoriza dari Sleman, (Slmn2) *R. solani* dari Sleman, (Slmn 1) *Rhizoctonia* patogen dari Sleman, (Brbd) *Rhizoctonia* patogen dari Magelang, dan (Twmg) *Rhizoctonia* patogen dari Tawangmangu.

Dari gambar 5 terlihat bahwa struktur DNA *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza berbeda satu dengan lainnya. Isolat Slmn 2 yang bersifat multinukleat hanya memiliki kemiripan struktur DNA sebesar 57% dengan semua isolat yang diuji, hal tersebut menunjukkan bahwa isolat Slmn 2 memiliki hubungan kekerabatan yang paling jauh dengan

isolat lainnya. Hal tersebut dikarenakan hanya isolat Slmn 2 yang bersifat multinukleat sedangkan isolat *Rhizoctonia* sp. lainnya bersifat binukleat, baik yang patogen (Slmn 1, Brbd dan Twmg) maupun mikoriza (M3 dan M4).

Rhizoctonia sp. patogen (Slmn 1, Brbd, dan Twmg) dan *Rhizoctonia* mikoriza (M3 dan M4) memiliki

kemiripan struktur DNA yang dekat yaitu sebesar 63%. Diduga hal tersebut dikarenakan kedua kelompok *Rhizoctonia* tersebut sama-sama bersifat binukleat.

Rhizoctonia sp. patogen (Slmn 1, Brbd, dan Twmg) memiliki kemiripan struktur DNA hingga 69%. Hal tersebut menunjukkan bahwa walaupun termasuk *Rhizoctonia* sp. patogen binukleat, isolat Slmn1, Brbd, dan Twmg merupakan isolat yang berbeda.

Rhizoctonia mikoriza (M3 dan M4) memiliki kemiripan struktur DNA yang lebih tinggi yaitu 77%. Kemiripan struktur DNA isolat M3 dan M4 yang tinggi diduga karena keduanya merupakan mikoriza binukleat pada anggrek (*orchid mycorrhiza*), dimana setiap mikoriza pada anggrek mempunyai hubungan yang erat dengan tanaman inang dalam siklus hidupnya. Dapat dikatakan isolat M3 dan M4 merupakan *Rhizoctonia* mikoriza spesifik yang dapat berasosiasi dengan *S. plicata*. Hal ini sesuai dengan pendapat Smith & Read (2008), bahwa setiap biji anggrek tanah membutuhkan mikoriza yang spesifik dalam penyediaan unsur hara dari lingkungan untuk perkecambahannya

hingga dewasa. Hasil dendogram tersebut secara keseluruhan dapat dikatakan *Rhizoctonia* patogen (Slmn1, Slmn2, Brbd dan Twmg) dan *Rhizoctonia* mikoriza (M3 dan M4) kemiripan sebesar 57% walaupun berbeda secara genetis.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa karakterisasi isolat *Rhizoctonia* sp. patogen dan *Rhizoctonia* mikoriza pada *S. plicata* yang berasal dari Tawangmangu, Magelang, dan Sleman tidak berbeda secara morfologi, tetapi berbeda secara genotipe. Persamaan pada karakter warna koloni, panjang sel dan jumlah inti, dan perbedaan karakter pada lebar sel, kelompok anastomosis dan struktur DNA.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada DP2M Direktorat Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana penelitian sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2010 Nomor : 091/SP2H/PP/DP2M/III/2010 Tanggal 1 Maret 2010.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. 4th ed. Academic Press. New York. 922 p.
- Agustini, V. S. Sufaati, and Suharno. 2009. Mycorrhizal association of terrestrial orchids of Cycloops Nature Reserve, Jayapura. Biodiversitas.
- Anonim. 2008. *Anggrek*. Bidang Pemberdayaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, Jakarta. 17 h.
- Athipunyakom, P. and L. Manoch. 2008. Isolation and identification of mycorrhizal fungi from eleven terrestrial orchids. http://www.aseanbiodiversity.info/scripts/count_article.asp?Article_code=53004001. Diakses tanggal 13 Juni 2008.
- Barnett, H. L. and B. B. Hunter, 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, 3rd Edition. Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota. 241p.
- Carling, D.E., E. J. Pope, K. A. Brainard and D. A. Carter. 1999. Characterization of mycorrhizal isolates of *Rhizoctonia solani* from an orchid, including AG-12, a new anastomosis group. *Phytopathology* 89 : 942 – 946.
- Cubeta, M. A. and R. Vilgalys. 1997. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. *Phytopathology* 87: 480 – 484.
- Dearnaley, J. D. W. 2007. Further advances in orchid mycorrhizal research. *Mycorrhiza* 17 : 475 – 486.
- Dressler, R. L. 1990. *The Orchids, Natural History and Classification*. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. 332 p.
- García, V.G., M.A.P Onco & V.R. Susan. 2006. Biology and systematics of the form genus *Rhizoctonia*. *Spanish Journal of Agricultural Research* 4: 55-79
- Hayakawa, S., Y. Uetake and A. Ogoshi. 1999. Identification of symbiotic rhizoctonias from naturally occurring protocorms and roots of *Dactylorhiza aristata* (orchidaceae). *Journal of Faculty Agriculture Hokkaido University* 6 : 129 – 141.
- Hyakumachi, M., A. Priyatmojo. M. Kubota, and H. Fukui. 2005. New anastomosis groups, AG-T and AG-U, of binucleate *Rhizoctonia* spp. causing root and stem rot of cut-flower and miniature roses. *Phytopathology* 95: 784-792.
- Kumar, Anil. 2009. *Training Manual GBPUAT*. <http://www.enufor.nic.in/division/CSURV/biosafety/newsletter/Training%20Manual%20GBPUAT.pdf>. Diakses tanggal 20 Agustus 2009

- Manoch, L., P. Athipunyakom and M. Tanticharoen. 2008. *Rhizoctonia*-like fungi associated terrestrial orchids in Thailand. http://www.aseanbiodiversity.info/scripts/count_article.asp?Article_code=53004001. Diakses tanggal 5 Februari 2008.
- McNish, G. C.; Carling, D. E.; Sweetingham, M. W.; and Brainard, K. A. 1994. Anastomosis group (AG) affinity of pectic enzyme (zymogram) groups (ZG) of *Rhizoctonia solani* from Western Australian cereal belt. *Mycology Research* 98: 1369-1375
- Otero, J. T., J. D. Ackerman and P. Bayman. 2002. Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia*-like fungi from tropical orchids. *American Journal of Botany* 89 : 1852 – 1858.
- Semangun, H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 754 h.
- Smith, S.E. and D. J. Read. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd Edition. Academic Press. New York. 805 p.
- Sneh, B., L. Burpee, & A. Ogoshi. 1991. *Identification of Rhizoctonia Species*. APS Press. St. Paul. MN.
- Sneh, B., E. Yamoah and A. Stewart. 2004. Hypovirulent *Rhizoctonia* spp. isolats from New Zealand soils protect radish seedlings against damping-off caused by *Rhizoctonia sp. patogen*. *New Zealand Plant Protection* 57 : 54 – 58.
- Taylor, D.L.; T.D. Bruns; J.R. Leake and D.J. Read. 2002. *Mycorrhizal Specificity and Function in Myco-heterotrophic. Ecological Studies*, Vol. 157, M.G.A. van der Heijden, I. Sanders (Eds.) Mycorrhizal Ecology, © Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Villajuan-Abgona, R.; N. Katsuno; K. Kageyama; M. Hyakumachi. 1996. Isolation and identification of hypovirulent *Rhizoctonia* spp. from soil. *Plant Pathology* 45: 896-904
- Windels, C. E.; R. A. Kuznia; J. Call. 1997. Characterization and pathogenicity of *Thanatephorus cucumeris* from sugar beet in Minnesota. *Plant Disease* 87: 245-249