

## ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *RHIZOCTONIA* MIKORIZA ANGGREK *VANDATRICOLOR* DARI KOPENG JAWA TENGAH

### *ISOLATION AND IDENTIFICATION MYCORRHIZAL RHIZOCTONIA OF VANDA TRICOLOR ORCHID FROM KOPENG CENTRAL JAVA*

Muhamad Zumri<sup>1)</sup>, Daryanti<sup>2)</sup>, R. Soelistijono<sup>2)\*</sup>

*sulistyo.utp@gmail.com*

#### ABSTRACT

*This study aims to identify mycorrhizal Rhizoctonia, morphology and anatomy, and determine the association of mycorrhizal Rhizoctonia among Vanda tricolor orchid from Kopeng Central Java with Vanda limbata from Malang, Jawa Timur. The research was held in June 2016 until December 2016 at Universitas Tunas Pembangunan Surakarta's Laboratory. This research used direct observation by isolating the root of Vanda tricolor orchid and Vanda limbata orchid that has growth. The research stages are sampling, sterilization, isolation, purification, identification, data analysis. From the results of this study indicate: (1) there are no differences in mycorrhizal Rhizoctonia shape morphology and anatomy at the root of Vanda tricolor orchid and Vanda limbata orchid. (2) There is a peloton that is associated with the mycorrhizal Rhizoctonia on the roots of Vanda tricolor orchid and Vanda limbata orchid. (3) There are differences in the location of the peloton on the roots of Vanda tricolor orchid and Vanda limbata orchid.*

**Key Words :** Vanda tricolor, Vanda limbata, Rhizoctonia Mycorriza

#### PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan alam beragam dan diperkirakan terdapat sekitar 5.000 spesies anggrek (Sutiyono dan Sarwanto, 2004). Setengah dari spesies anggrek tersebut terdapat di Papua, sedangkan 2.000 spesies lainnya terdapat di Kalimantan dan sisanya tersebar di pulau-pulau lain di Indonesia. (Lubis, 2010).

Anggrek *Vanda tricolor* yang berada di lereng Gunung Merapi sudah mulai berkurang jumlahnya karena letusan beberapa tahun yang lalu. Anggrek jenis ini memiliki ciri khas sehingga banyak diburu penggemar anggrek *Vanda tricolor*, yaitu mahkota yang ada bintik-bintiknya.

---

1) Mahasiswa program studi Agroteknologi Universitas Tunas Pembangunan Surakarta

2) Staf pengajar program studi Agroteknologi Universitas Tunas Pembangunan Surakarta

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi *Rhizoctonia Mikoriza* secara morfologi dan anatomi yang ada pada akar anggrek *Vanda tricolor*, dan mengetahui asosiasi *Rhizoctonia Mikoriza* dengan akar anggrek *Vanda tricolor* yang berasal dari Kopeng Jawa Tengah.

## METODE PENELITIAN

### Peralatan dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi: Cawan Petri, pot plastic, jarum ent, gelas ukur, silet, pipet, pinset, lampu spiritus, gunting, in case, Bunsen, timbangan analitik, mikroskop cahaya Olympus CXX41 dan kamera *handphone*. Agar powder extra pure (Merck), merkaptol etanol, PDA (Medium Potato Dextrose Agar), Safranin O, kapas steril, Alkhohol 90%. Sampel dalam penelitian ini yaitu akar anggrek *Vanda tricolor* asal Kopeng, Jawa Tengah dan *Vanda limbata* asal Malang, Jawa Timur.

### Cara Kerja

#### 1. Pengambilan sampel

Akar anggrek *Vanda tricolor* yang digunakan sebagai eksplan penelitian ini adalah akar dari anggrek dewasa yang sudah pernah berbunga dan

ditumbuhkan di rumah kaca. Akar anggrek ini di ambil ujung akar, panjang kurang lebih 1 cm.

Isolasi *Rhizoctonia Mikoriza* pada akar anggrek *Vanda tricolor* dilakukan mengikuti metode Bayman *et al.* (Otero, 2002) yang dimodifikasi cara sterilisasi akar. Langkah pertama adalah memotong akar anggrek *Vanda tricolor*. Setelah itu PDA dicairkan dengan cara dipanaskan terlebih dahulu. Selanjutnya PDA dituangkan kedalam Petridisk dan setelah dingin akar anggrek *Vanda tricolor* diletakan kedalam petridisk yang sudah berisi PDA harus dipisah antara keduanya. Kemudian petridisk disterilisasi menggunakan api bunsen didalam *incubator* serta ditutup rapat dan diberi label. Setiap petridisk ditandai dengan label untuk menghindari kesalahan dan kontaminasi.

#### 2. Sterilisasi isolat

Tahapan selanjutnya ialah memisahkan antara jamur yang terdapat *Rhizoctonia Mikoriza* dan kontaminan. Setelah 7 hari jamur yang telah membentuk hifa sekeliling akar yang di isolasi. Untuk itu hifa yang tumbuh diamati dan disubkulturkan kembali dengan cara memotong *mycelium*. Hifa ditumbuhkan kedalam

media PDA yang baru serta ditumbuhkan secara aseptik pada preparat. Isolasi ini dilakukan selama 21 hari dengan 3 kali ulangan. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan isolat *Rhizoctonia Mikoriza* pada akar Anggrek *Vanda tricolor* yang murni.

### 3. Pengelompokan jamur

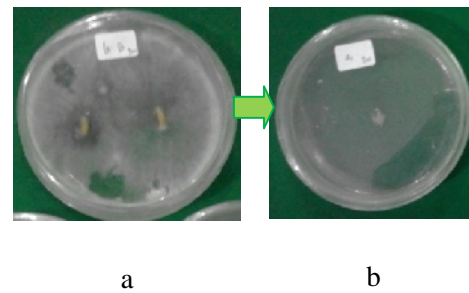
Pengelompokan pada isolat (*isolatesgrouping*) dilakukan menurut Villajuan-Abgona *et al.*, (1996) berdasarkan kemampuan anastomosis hifa antara masing-masing isolat diatas media agar.

### 4. Identifikasi isolat

*Rhizoctonia Mikoriza* diidentifikasi menurut Barnett & Hunter (1972) meliputi: bentuk *sklerotium*, warna *sklerotium*, bentuk percabangan hifa, dan jumlah inti.

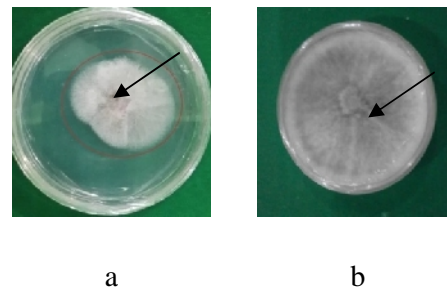
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan sampai hari ke 7, isolat mulai tumbuh jamur *Rhizoctonia* mikoriza ditengah media PDA .Selanjutnya isolate *Rhizoctonia* mikorizadisubkulturkan kembali.Hasil isolasi dapat dilihat pada gambar 1 berikut ini.



**Gambar 1.** Bentuk koloni *Rhizoctonia Mikoriza* (a) dan subkultur (b) yang diisolasi dari akar anggrek *Vanda tricolor*.

Struktur *Rhizoctonia* mikoriza tampak pada hifa ditengah media PDA yang membentuk gumpalan berwarna putih pada masing-masing isolat.

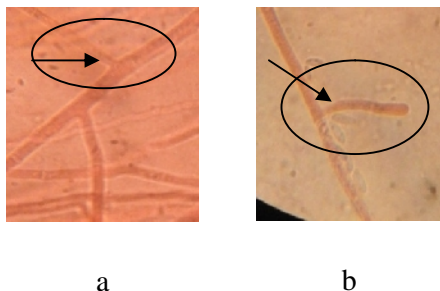


**Gambar 2.** Hifa *Rhizoctonia* mikorizadari anggrek *Vanda tricolor*

Struktur morfologi koloni jamur dilihat dari adanya sekumpulan hifa yang berbentuk seperti benang yang disebut miselium. Hifa *Rhizoctonia* mikorizadari anggrek *Vanda tricolor* berwarna coklat, bentuk tidak teratur, dan terhubung oleh benang-benang *miselium* berwarna coklat. Hal tersebut sesuai dengan pendapat

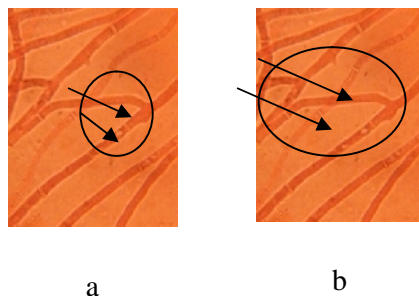
Agrios(2005) bahwa *Rhizoctonia Mikoriza* memiliki *sklerotium* yang berwarna coklat, berbentuk tidak teratur, dan terhubung oleh benang-benang *miselium* berwarna cokelat dan membentuk sudut siku-siku.

Hal serupa juga tampak pada bentuk percabangan hifa *Rhizoctonia Mikoriza* pada akar anggrek *Vanda tricolor* yang membentuk sudut siku-siku (Gambar 3).



**Gambar 3.** Bentuk percabangan siku-siku hifa *Rhizoctonia mikoriza* pada akar anggrek *Vanda tricolor*.

Pada penghitungan jumlah inti sel hifa sebanyak 30 bidang pandang untuk setiap isolat, diketahui bahwa masing-masing septa hifa memiliki 2 inti sel (Gambar 4).



**Gambar 4.** Letak inti sel hifa pada anggrek *Vanda tricolor*.

Berdasarkan Gambar 4, tampak bahwa *Rhizoctonia* mikoriza pada akar anggrek *Vanda tricolor* mempunyai 2 inti sel yang disekat oleh septum sehingga dapat dikatakan bahwa *Rhizoctonia* mikoriza pada akar anggrek *Vanda tricolor*. 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 anggrek *Vanda tricolor* bersifat binukleat.

Sneh *et al.* (1991) menyatakan bahwa *Rhizoctonia* mikoriza dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan jumlah inti sel pada sklerotiumnya. Berdasarkan inti selnya kelompok *Rhizoctonia Mikoriza* tersebut adalah *Rhizoctonia* Uninukleat, *Rhizoctonia* Binukleat, dan *Rhizoctonia* Multinukleat. *Rhizoctonia* Binukleat pada akar muda biasanya ujung sel memiliki 2 cabang atau dapat berkisar antara 1-3 sel yang bercabang. Sedangkan pada *Rhizoctonia* Multinukleat inti sel lebih dari 2 percabangan. Pada penelitian ini terdapat hifa *Rhizoctonia Mikoriza*

yang memiliki miselium dan sklerotium berwarna coklat dan memiliki 2 inti (percabangan miselium). Hal ini menunjukkan bahwa hifa dari masing-masing isolat termasuk kedalam jenis *Rhizoctonia* Binukleat.

#### **Asosiasi *Rhizoctonia* mikorizadengan akar anggrek *Vanda tricolor***

Pada penelitian ini ditemukan terbentuknya struktur *peloton* di dalam perakaran anggrek *Vanda tricolor* yang membentuk lilitan hifa menggumpal pada jaringan kortek akar. Menurut Andersen & Rasmussen, (1996) jaringan korteks merupakan tempat terjadinya infeksi *Rhizoctonia* pada akar angrek. Smith & Read (2008) menambahkan adanya hifa pada jaringan kortek akar yang berbentuk menggumpal, menggulung seperti benang yang tidak teratur disebut *peloton*. *Peloton* merupakan bentuk asosiasi antara *Rhizoctonia* mikoriza dengan akar akar anggrek, yang berfungsi didalam penyerapan unsur-unsur hara. Struktur *peloton* dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Struktur *pelotoni* kortek anggrek *Vanda tricolor*

Berdasarkan gambar diatas letak *peloton* pada akar angrek *Vanda tricolor* berada di tengah sel. Penelitian oleh Zumri (2017) menunjukkan bahwa tidak semua letak *peloton* berada ditengah, sebagai contoh letak *peloton* pada akar anggrek *Vanda limbatayang* terletak diantara ruang sel (skripsi, tidak untuk dipublikasikan).

*Peloton* dapat memproduksi hormon dan zat pengatur tumbuh seperti *auxin*, *sitokinin*, *giberellin*, juga zat pengatur tumbuh seperti vitamin pada saat kondisi suplai unsur hara tidak menguntungkan bagi anggrek. Dengan adanya hormone dan zat pengatur tumbuh tersebut, maka anggrek dapat merubah kandungan unsur hara yang tersedia untuk dirombak menjadi senyawa-senyawa yang dibutuhkan oleh anggrek untuk pertumbuhan dan perkembangannya (Smith & read 1997).

Hal tersebut yang membedakan dengan jamur mikoriza lainnya seperti jamur ektomikoriza maupun endomikoriza. Baik jamur ektomikoriza maupun endomikoriza mengambil unsur hara dari luar untuk diberikan kepada tanaman, bukan dengan merombak unsur-unsur hara yang ada dikortek seperti pada anggrek. Selain merombak unsur hara yang ada dikortek menjadi cadangan makanan bagi anggrek *Vanda tricolor*, juga mampu menyimpan cadangan air di dalam akar anggrek.

## KESIMPULAN

1. *Rhizoctonia* mikoriza yang diisolasi dari akar anggrek *Vanda tricolor* memiliki 2 inti (binukleat) dan membentuk percabangan siku-siku
2. *Rhizoctonia* mikoriza mampu berasosiasi didalam kortek akar anggrek *Vanda tricolor* dan membentuk struktur *peloton*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. 4th ed. Academic Press. New York. 922 p.
- Agustini, v., Supeni S., and Suharno. 2009. Mycoriza Association of Terrestrial Orchids of Cycloops Nature Reserve, Jayapura. *Biodiversitas* 10 : 175 – 180.
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 1972. *Illustrated Genera of imperfect fungi*. 4th ed. Prentice-Hall, Inc. USA. Beihefte zur Nova Hedwigia 84: 1-162.
- Brundrett, M., N. Bougher, B. Dell, T. Grove, & N. Malajczuk. 1996. Working with Mycorrhizal Forestry and Agriculture. *ACIAR Monograph* 32.374+xp.
- Panda, T., Pani, P.K., Mishra, N., Mohanty, R.B. Park, J.Y. 2003. Surface sterilization method. Workshop on Isolation Methods of Microbes. 37-38. *Biotechnology Center NITE & Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI*, Cibinong: 24-26 Juni 2003.
- Rasmussen, H. N. 1995. *Terrestrial Orchids From Seed To Mycotrophic Plant*. Cambridge University Press.
- Ritchie, B.J. 1995. International course on identification of fungi of agricultural importance: Plant Pathology Techniques. *International Mycological Institute*, Egham: 7 Agustus-15 September 1995.
- Kabirun, S. 2004. Peranan Mikoriza Arbuskula pada Pertanian Berkelanjutan. *Makalah Pengukuhan Guru Besar dalam Ilmu Mikrobiologi pada Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada*. Yogyakarta. 33.
- Lestari, S. S. 2002. *Mengenal dan Bertanam Anggrek*. CV. Aneka Ilmu. Semarang. 124 hlm.
- Metusala, D. 2006. Melirik Konservasi Anggrek *Vanda tricolor* di Merapi.

- <http://www.anggrek.org/melirik-konservasi-anggrek-vandatricolor-di-merapi-2.html>. diakses pada tanggal 14 Desember 20116
- Metusala, D. 2007. Vandatricolor Lindl. var. suavis, si totol yang mempesona. <http://www.anggrek.org/vandatricolor-suavis-si-toto-yangmempesona.html>. diakses pada tanggal 14 Desember 20116
- Maloch, D., 1981. Mould; Their Isolation, Cultivation and Identification. University of Toronto, Canada. 2010. A Comparative account of the diversity and distribution of fungi in tropical forest soils and sand dunes of Orissa, India. *J. Biodiversity* 1(1): 27 – 41.
- Munnagai P.G, Chukeatirote, E. Njogu, J.G. Hyde, K.D. 2012. *Coprophilous Ascomycetes in Kenya: Chaetomium Species from Wildlifes Dung*. Current Research in Enviromental and Applied Mycology 2(20) : 113 -128
- Panda, T., Pani, P.K., Mishra, N., Mohanty, R.B.Park, J.Y. 2003. *Surface sterilization method. Workshop on Isolation Methods of Microbes*. 37-38. Biotechnology Center NITE & Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong: 24-26 Juni 2003.
- Sneh B, Burpee L & Ogoshi A. (1991). *Identification of Rhizoctonia* sp. APSPress. St. Paul. Minnesota
- Sneh, B., Yamoah, E. dan Stewart, A. 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.
- McNish, G.C., Carling, D.E., Sweetingham, M.W. dan Brainard, K.A. 1994. Anastomosis group (AG) affinity of pectic enzyme (zymogram) (ZG) of *Rhizoctonia solani* from Western Australian cereal belt. *Mycology Research*, 98: 1369–1375.
- Arditi, J. 1992. *Fundamental of orchid biology*. Jhon Wiley & Sons, Inc. New York: xii + 691 hlm.
- Senthikumar, S., K. V. Krishnamurthy, S. J. Britto & D. I. Arockiasamy. 2000. Visualisation of orchid mycorrhizal fungal structures with fluorescence dye using epifluorescence microscopy. *Current Science* 79 (11):1527-1528
- Otero, J.T., Ackerman, J.D. dan Bayman, P. 2002. Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia*-like fungi from tropical orchids. *American J. of Botany*, 89: 1852–1858.
- Semangun, H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 754 h.
- Smith, S.E. dan Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd Edition. Academic Press. New York. 805p.

ISSN : 0854-2813

AGRINECA, VOL. 17 NO. I JANUARI 2017