Biota Vol. 2 (1): 7−13, Februari 2017
ISSN 2527-323X

Identifikasi *Rhizoctonia* Mikoriza dan *Fusarium* pada Anggrek *Ascocentrum Miniatum*

Identification of Rhizoctonia Mycorrhizal and Fusarium on Ascocentrum Miniatum Orchid

Raden Soelistijono [1*], Dwi Susilo Utami[1], Achmadi Priyatmojo[2]

[1]Staf pengajar Fakultas Pertanian Universitas Tunas Pembangunan Surakarta
[2]Staf pengajar Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
*e-mail: sulistyo.utp@gmail.com *Penulis untuk korespondensi*

Abstract

Ascocentrum miniatum (kebutan orchids) is an orchid species in Indonesia is growing in Java. This orchid is rare (Appendix 2) and difficult to be cultivated. One of the obstacles faced in orchid cultivation A.miniatum because they are prone to fungal pathogens. Of the many fungal pathogens that infect, at most dominating is the fungus Fusarium sp.The aim of the research is to identify the mycorrhizal Rhizoctonia contained in A.miniatum orchids that are resistant to the fungus Fusarium sp. This study is the first stage of the three stages of research for 3 years and performed at the Laboratory of Plant Diseases, Faculty of Agriculture UTP using methods that refers to the research conducted by Bayman dkk. (Otero, 2002) and Barnett & Hunter (1972). Each observation was repeated 5 with each replication contained 5 plants. Results showed that characterization of isolates of Rhizoctonia root mycorrhizal A. miniatum derived from Tawangmangu, Bandungan, Kaliurang, Sleman were not morphologically distinct. Equation characters are in colony color, length and number of the cell nucleus, while the characters are in wide differences in the cells and grouped in Tulasnella. Isolation of Fusarium showed macroconidia formation and pathogenicity tests are positive, and the extent of the disease is highest in the 5th month after the inoculation.

Keywords: Induced resistance, Rhizoctonia binucleate, Fusarium sp., Ascocentrum miniatum

Abstrak

Nyamplung mengandung minyak yang cukup tinggi sehingga membuatnya potensial untuk digunakan sebagai bahan dasar pembuatan biofuel. Proses ekstraksi minyak dari biji nyamplung menghasilkan limbah padat dalam bentuk bungkil biji nyamplung yang masih memiliki kandungan protein dan belum optimal pemanfaatannya. Salah satu alternatif untuk mengolah protein dalam bungkil menjadi produk yang lebih bernilai adalah melalui hidrolisis secara enzimatis menggunakan bromelain. Bromelain adalah kelompok sistein endoprotease yang memiliki spesifisitas pemotongan yang cukup luas terhadap berbagai residu asam amino meliputi arginin, lisin, tirosin, dan fenilalanin sehingga aplikasi bromelain dalam hidrolisis protein bungkil biji nyamplung diharapkan dapat menghasilkan derajat hidrolisis (DH) yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan protein dalam bungkil biji nyamplung, dan menentukan pengaruh konsentrasi enzim serta waktu hidrolisis terhadap DH hidrolisat protein. Metode penelitian terdiri dari 2 tahapan yaitu : 1) analisis proksimat bungkil biji nyamplung dan 2) analisis DH hidrolisat protein menggunakan bromelain dengan variasi konsentrasi enzim (2, 6 dan 10) % (b/v), waktu hidrolisis (0, 30, 60, 120, 180 dan 240) menit pada pH 7 dan temperatur 45^{0}C. Hasil menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi enzim sebesar 10% dengan aktivitas enzim yang terukur (27,04 U/gr substrat) menghasilkan DH tertinggi (6,43%) dengan waktu hidrolisis 240 menit.

Kata kunci: Bromelain, Derajat Hidrolisis (DH), Nyamplung

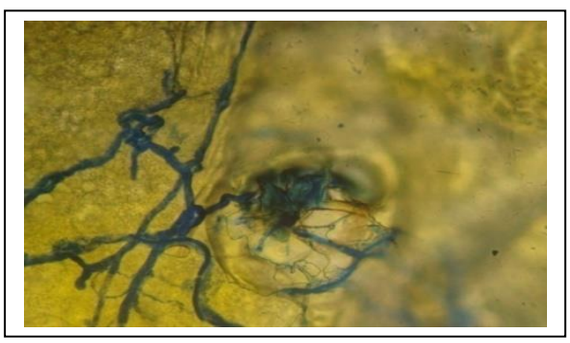
Diterima: 24 Februari 2016, disetujui: 05 Mei 2016

Pendahuluan

Anggrek sebagai komoditas ekspor nonmigas sudah banyak dilakukan baik oleh pemerintah maupun swasta. Tetapi usaha ini belum berhasil, diharapkan ekspor anggrek dapat meningkatkan pendapatan petani dan sebagai sumber devisa negara (Widiastuti, 2010). Salah satu kendala yang dihadapi dalam budidaya anggrek epifit adalah produktivitas yang rendah karena kurangnya unsur hara yang terserap oleh tanaman, dan faktor cekaman air yang rendah yang tidak menguntungkan bagi fase pembungaannya. Kurangnya kemampuan anggrek menyerap unsur hara karena anggrek membutuhkan asosiasi dengan jamur tertentu (Smith dan Read, 2008).

Berdasarkan tempat hidupnya, anggrek dibagi menjadi 5 kelompok yaitu epifit, semi epifit, saprofit, terestrial dan semi terestrial. Anggrek epifit adalah anggrek yang tumbuh menempel pada pohon lain/media tertentu tanpa merugikan tanaman inangnya. Salah satu anggrek epifit yang merupakan salah satu sumber plasma nutfah di Indonesia yang berasal dari Jawa dan bersifat langka adalah *Ascocentrum miniatum.*Penyebaran anggrek ini cukup luas di seluruh Jawa, dari dataran rendah sampai dataran tinggi, yaitu pada ketinggian 0-1200 m dpl. Selain di Jawa, anggrek ini juga sempat dijumpai tersebar luar dari Himalaya melalui Thailand, Semenanjung Malaysia dan pulau Sumatera. Selain itu anggrek ini juga ditemukan di hutan jati di daerah yang lembab. Akan tetapi seperti halnya dengan anggrek lainnya, anggrek ini bersifat rentan terhadap patogen jamur yang menyebabkan kehidupan anggrek ini sangat terancam di alam atau habitat aslinya (langka). Berdasarkan status kelangkaannya *A.miniatum* merupakan salah satu jenis anggrek langka yang masuk dalam daftar CITES Appendix II. Pelestarian anggrek ini terhadap patogen jamur mutlak diperlukan untuk menjaga keberadaannya sebagai plasma nutfah di alam Indonesia tercinta ini.Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan identifikasi *Rhizoctonia* mikoriza yang terdapat pada anggrek *A.miniatum* yang bersifat tahan terhadap jamur *Fusarium* sp.

Jamur mikoriza pada anggrek memiliki kemampuan untuk penetrasi hingga ke jaringan korteks akar, mirip dengan kemampuan jamur mikoriza arbuskular (Dressler, 1990). Salah satu jamur mikoriza yang mampu berasosiasi dengan anggrek epifit adalah*Rhizoctonia*mikoriza (Athipunyakom dan Manoch, 2008). *Rhizoctonia* mikoriza merupakan salah satu kelompok *Rhizoctonia* spp. yang mampu berasosiasi dengan anggrek. Menurut Rasmussen (2002, *cit.* Dearnaley, 2007) jamurmikorizapada anggrek terdiri dari kelompok *Tulasnellaceae*, *Ceratobasidiaceae*, *Sebacinaceae* yang termasuk kelompok *Rhizoctonia* spp. *Rhizoctonia*mampu bersimbiosis dengan jaringan akaranggrekdan membentuk lilitan hifa yang menggumpal pada jaringan korteks akar. Struktur lilitan hifa yang menggumpal disebut peloton (Smith & Read, 2008). Peloton adalah hifa intraseluler dalam jaringan korteks akar dan biasanya hanya ada pada periode tertentu sebelum kemudian mengalami lisis (Irawati, 2007) yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur peloton pada jaringan akar anggrek (Soelistijono dkk., 2013)

Kelompok *Rhizoctonia* spp. mampu berasosiasi dengan perakaran anggrek *Spathoglottis plicata* yang dikoleksi dari berbagai tempat di Jawa dan mampu membentuk peloton (Soelistijono, 2013).

Fusarium sp. merupakan jamur patogen yang paling banyak menyerang anggrek (Chung dkk., 2011) dibandingkan dengan jamur patogen lainnya. *Fusarium* sp. merupakan jamur yang mampu menginfeksi berbagai tanaman (bersifat polifag) dan umum terdapat pada anggrek. Pada tanaman anggrek, *Fusarium* sp. akan menyebabkan penyakit busuk pada daun. Gejalanya berupa daun dan batang menguning, berkeriput, tipis dan bengkok, leher daun membusuk mencapai pangkal batang. Pada umumnya *Fusarium* sp. menyebabkan tanaman menjadi busuk dan akhirnya mati.

Pengendalian hayati patogen tular udara dengan inokulasi pada tanaman dengan berbagai agen biologi menyebabkan peningkatan ketahanan terhadap inokulasi berikutnya oleh patogen utama. Salah satu macam pengendalian hayati adalah mekanisme ketahanan terimbas atau *induced resistance* (Agrios, 2005). Mekanisme pengimbasan ketahanan pada anggrek *A. miniatum* yang diinokulasi *Rhizoctonia* mikoriza adalah pembentukan struktur peloton, peroksidase, dan lignifikasi.

Metode Penelitian

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan adalah anggrek *A. miniatum* sehat yang bersifat tahan terhadap jamur *Fusarium* sp. dari berbagai lokasi, media Potato Dextrose Agar (PDA), media agar air, cat safranin O, alkohol 90%, dan kertas saring. Alat yang digunakan cawan petri, Erlenmeyer 250 ml, tabung reaksi, mikroskop Olympus CX31, jarum ent, dek glas, dan *laminar air flow* (LAF). Sampel diambil dari 4 lokasi dengan masing-masing 3 sampel setiap lokasi dan 30 bidang pandang untuk tiap sampelnya. Penelitian dilakukan di laboratorium Fitopatologi UTP.

Isolasi dan karakterisasi *Rhizoctonia* mikoriza

Isolasi *Rhizoctonia* mikoriza

Isolasi *Rhizoctonia* mikoriza dilakukan dari akar *A. miniatum* sehat dari 4 lokasi yaitu Kopeng, Magelang, Yogyakarta, dan Tawangmangu menurut metode Bayman dkk. yang dimodifikasi pada sterilisasi akarnya (Otero, 2002).

Karakterisasi *Rhizoctonia* mikoriza

Karakterisasi dilakukan pada miselium *Rhizoctonia* mikoriza menurut Barnett & Hunter (1972) meliputi: (1) warna koloni, (2) bentuk percabangan hifa, dan (3) jumlah inti.

Isolasi dan identifikasi *Fusarium* sp.

Isolasi *Fusarium* sp. dilakukan pada daun *A. Miniatum* yang sakit dari berbagai tempat menurut metode Bayman dkk., yang dimodifikasi pada sterilisasi daunnya (Otero, 2002) dan diidentifikasi menurut Barnett & Hunter (1972) berdasarkan bentuk konidianya.

Uji virulensi isolat *Fusarium* sp.

Uji virulensi isolat *Fusarium* sp. patogenik dilakukan di rumah kasa Fakultas Pertanian UTP, menurut Sneh dkk., (2004) yang dimodifikasi. Pengamatan dilakukan sebanyak 40 kali tiap bidang pandang.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi dan identifikasi *Rhizoctonia* mikoriza

Isolasi *Rhizoctonia* mikoriza

Isolasi *Rhizoctonia* mikorizadari akar *A. miniatum* di berbagai tempat diperoleh beberapa isolat *Rhizoctonia* mikoriza, yaitu dari Kopeng diperoleh isolat Rhizoc 1, dari Magelang diperoleh isolat Rhizoc 3, dari Yogyakarta diperoleh isolat Rhizoc 2, dan dari Tawangmangu diperoleh isolat Rhizoc 4.

Karakterisasi *Rhizoctonia* mikoriza

Morfologi miselium *Rhizoctonia* mikoriza diidentifikasi berdasar Barnett & Hunter (1972) meliputi: (1) warna koloni, (2) bentuk percabangan hifa, dan (3) jumlah inti yang dapat dilihat pada Gambar 2.

Warna koloni *Rhizoctonia* mikoriza berbeda-beda tergantung dari kelompoknya masing-masing (*isolates grouping*). Isolat *Rhizoctonia* mikoriza (Rhizoc 1, Rhizoc 2, dan Rhizoc 4) yang diperoleh sebagian besar memiliki warna koloni putih kecoklatan/coklat

muda, sedangkan koloni isolat Rhizoc 3 bewarna putih. Hyakumachi dkk.(2005) menemukan bahwa dari 670 isolat *Rhizoctonia* spp., 168 berwarna coklat muda hingga coklat dan 502 berwarna putih. Soelistijono (2013) juga menemukan hal yang sama, bahwa 4 isolat *Rhizoctonia* mikoriza yang diisolasi dari *Spathoglottis plicata* dari berbagai tempat di Jawa Tengah dan Yogyakarta menunjukkan koloni berwarna putih, sedangkan Agustini dkk. (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 warna koloni isolat *Rhizoctonia* mikoriza dari anggrek *A. miniatum*, dapat dikatakan bahwa warna koloni tidak dapat digunakan sebagai pembeda antar masing-masing isolat.

Karakteristik berbagai isolat *Rhizoctonia* mikoriza yang diisolasi dari Tawangmangu, Kopeng, Magelang, dan Sleman memiliki perbedaan pada lebar dan panjang sel (Tabel 1).

Dari Tabel 1 terlihat ukuran sel *Rhizoctonia* mikoriza memiliki ukuran lebar sel yang bervariasi antara 4,7µ hingga 9,1µ.

Dari tabel tersebut terlihat bahwa masing-masing isolat *Rhizoctonia* mikoriza yang diperoleh dari berbagai tempat di Kaliurang, Kopeng, Magelang, dan Yogyakarta memiliki ukuran lebar sel yang lebih seragam. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Garcia dkk. (2006) tentang *Rhizoctonia* mikoriza pada anggrek yaitu *Ceratobasidium,Thanatephorus* (Ceratobasidiales), *Sebacina* (Exidiales) dan *Tulasnella* (Tulasnellales), menyimpulkan lebar sel *Rhizoctonia* mikoriza dapat lebih dari 10 µm dan dikelompokkan dalam *Tulasnella*.

Isolat *Rhizoctonia* mikoriza yang diisolasi dari Kaliurang, Kopeng, Magelang, dan Yogyakarta juga memiliki perbedaan jumlah inti di dalam masing-masing sel (Tabel 2).

Isolat Rhizoc1, Rhizoc 2, Rhizoc 3, dan Rhizoc 4sebagian besar merupakan sel hifa dengan inti rata-rata berkisar (*range*) 2.Menurut Sneh dkk. (2004), 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 Kl, Kp, Mg, dan Slbersifat binukleat.Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Taylor dkk. (2002), Athipunyakom and Manoch (2008) dan Garcia dkk. (2006) pada tanaman anggrek, yang menyimpulkan sebagian besar isolat *Rhizoctonia* sp. yang diisolasi bersifat mikoriza dan termasuk dalam kelompok binukleat.

Isolasi *Fusarium* sp.

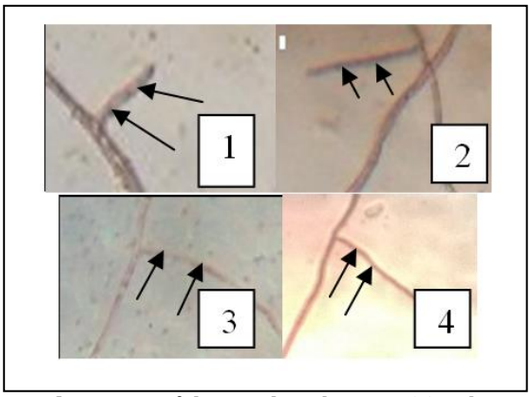
Dari bagian daun anggrek yang busuk telah diisolasi jamur patogen yang dikelompokan dalam *Fusarium* sp. (Gambar 3). Jamur *Fusarium* sp. merupakan penyebab membusuknya jaringan daun anggrek yang berlangsung sangat cepat, sekitar 1 minggu setelah terinfeksi jamur patogen.

Dari Gambar 3 terlihat bahwa konidium yang diisolasi merupakan kelompok makrokonidia. Menurut Semangun (1996), makrokonidia bersifat non patogenik. Walaupun demikian masih terdapat kemungkinan terjadinya virulensi karena adanya kemungkinan mutasi. Oleh karenanya penelitian patogenisitas *Fusarium* sp. pada anggrek perlu dikaji lebih mendalam, karena berdasarkan penelitian terbaru oleh Chung dkk. (2011) terdapat kelompok *Fusarium* sp. yang merupakan spesies terbaru yaitu *Fusarium solani*.

Uji virulensi isolat *Fusarium* sp.

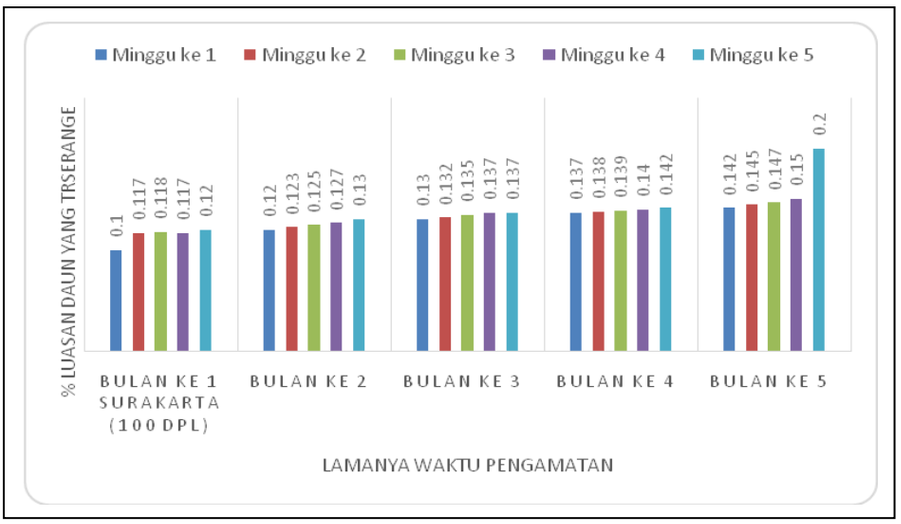
Hasil uji virulensi menunjukkan isolat *Fusarium* sp. memiliki patogenisitas yang berbeda (Gambar 4). Pada bulan ke 1 minggu 1, luasan tanaman sakit hanya berkisar 0,1 (10%). Terjadi kenaikan luasan tanaman sakit berkisar 0,12 (12%) pada bulan ke 1 minggu ke 5. Pada bulan ke 2, luasan tanaman sakit berkisar 0,14 (14%) pada akhir bulan (minggu ke 5).

Dari hasil pengamatan hingga bulan ke 4, tampak adanya kenaikan luasan daun anggrek yang terinfeksi. Kenaikan tertinggi terjadi pada bulan ke 5 minggu 5 yang ditunjukkan dengan skor 0,2 (20%). Skor ini tergolong tinggi karena terjadi kenaikan 0,5 (5%) dalam waktu 1 minggu. Oleh karenanya isolat *Fusarium* sp. ini digunakan sebagai patogen utama didalam pengujian selanjutnya tentang peningkatan peroksidase, phenol total, dan lignifikasi.



Gambar 2. Morfologi isolat Rhizoc 1 (1), Rhizoc 2 (2), Rhizoc 3 (3) dan Rhizoc 4 (4). Keterangan: Tanda panah inti sel.

Gambar 3. Makrokonidium *Fusarium* sp. yang diisolasi dari jaringan anggrek *A. miniatum* yang sakit.
Keterangan: (1) Makrokonidium dari Kopeng, (2) Makrokonidium dari Tawangmangu



Gambar 4. Skor luasan daun anggrek setelah diinokulasi *Fusarium* sp.

Tabel 1. Karakteristik *Rhizoctonia* mikoriza *A. miniatum*

Rhizoctonia **mikoriza**	**Ukuran sel (µm)**		**Warna koloni**	**Pembentukan sklerotium**
	Lebar sel	**Panjang sel**		
Rhizoc 1	4,7-8,3	43,0-128,0	Putih kecoklatan	+
Rhizoc 2	5,7-8,7	51,0-131,0	Coklat muda	+
Rhizoc 3	6,0-7,9	40,0-137,3	Coklat muda	+
Rhizoc 4	4,5-9,5	42,5-171,5	Coklat muda	+

Keterangan: Rhizoc 1: *Rhizoctonia* mikoriza dari Kopeng; Rhizoc 2: *Rhizoctonia* mikoriza dari Yogyakarta; Rhizoc 3: *Rhizoctonia* mikoriza dari Magelangdan Rhizoc 4: *Rhizoctonia* mikoriza dari Tawangmangu. + = Terbentuk sklerotium.

Tabel 2. Jumlah inti tiap sel hifa *Rhizoctonia* mikoriza

Rhizoctonia **sp.**	**Jumlah sel berdasarkan jumlah inti**					**Kisaran**	**Keterangan**
(4 isolat)	**1 inti**	**2 inti**	**3 inti**	**4 inti**	**5 inti**	**(*Range*)**	
Rhizoc 1	4	16	5	5	0	2	binukleat
Rhizoc 2	4	16	4	6	0	2	binukleat
Rhizoc 3	2	18	5	5	0	2	binukleat
Rhizoc 4	6	14	6	4	0	2	binukleat

Keterangan: Rhizoc 1: *Rhizoctonia* mikoriza dari Kopeng; Rhizoc 2: *Rhizoctonia* mikoriza dari Yogyakarta; Rhizoc 3: *Rhizoctonia* mikoriza dari Magelang dan Rhizoc 4: *Rhizoctonia* mikoriza dari Tawangmangu.

Simpulan dan Saran

Simpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa karakterisasi isolat *Rhizoctonia* mikoriza dari akar *A. Miniatum* yang berasal dari Tawangmangu, Kopeng, Magelang, dan Yogyakarta tidak berbeda secara morfologi. Persamaan karakter terdapat pada warna koloni, panjang sel dan jumlah inti, sedangkan perbedaan karakter terdapat pada lebar sel dan dikelompokkan dalam *Tulasnella*. Luasan daun anggrek yang berasosiasi dengan *Rhizoctonia* mikoriza apabila diinokulasi *Fusarium* sp. mengalami kenaikan dari bulan ke 1 hingga bulan ke 5. Kenaikan signifikan terjadi pada bulan ke 5 minggu ke 5.

Saran

Diharapkan penelitian dapat dilanjutkan sampai tahun ke 2 sehingga dapat ditemukan metode ketahanan anggrek *A. miniatum* berupa peningkatan peroksidase, phenol total, dan lignifikasi dan dapat masuk kategori Apendix 3. Diharapkan metode ini dapat diterapkan pada anggrek spesies lainnya yang bersifat langka (Apendix 2).

Ucapan Terima kasih

Terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah membiayai sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nomor: 007/K6/KM/RISETDASAR/2016 tanggal 4 Mei 2016.

Daftar Pustaka

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology 4th ed.Academic Press. New York. 922p.

Agustini, Sufaati, V.S. dan Suharno. 2009. Mycorrhizal association of terrestrial orchids of Cycloops Nature Reserve, Jayapura. *Biodiversitas*, 10:175-180.

Athipunyakom, P. dan Manoch, L. 2008. Isolation and identification of mycorrhizal fungi from eleven terrestrial orchids. *Plant protection*, 15: 195-207.

Chung J.W., Chen, L.W., Huang, J.H., Huang, H.C. dan Chung, W.H. 2011, A new ‘ forma spesialis’ of *Fusarium solani* causing leaf yellowing of *Phalaenopsis*. *Plant Pathology*, 60: 244-252.

Dressler, R.L. 1990. *The Orchids, Natural History and Classification.* Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. 332 p.

Garcia, V.G., Portal Onco, M. A. dan Rubio Susan, V. 2006. Review. Biologyand Systematics of the form genus Rhizoctonia. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 4: 55-79.

Hyakumachi, M., Priyatmojo, A., Kubota, M. and Fukui, H. 2005. New Anastomosis Group,AG-T and AG-U, of Binucleate Rhizoctonia spp.Causing Root and Stem Rot of Cut-Flower and Miniatur Roses. *Phytopatology*, 95: 784-792.

Irawati, A.F.C. 2007. *Karakteristik dan Uji Hipovirulensi Rhizoctonia sp. Yang Diisolasi dari Perdaunan Tanaman Vanili*. Tesis. PPS UGM 71 h.

Manoch, L., Athipunyakom, P. dan Tanticharoen, M. 2008. *Rhizoctonia*-like fungi associated terrestrial orchids in Thailand. *Plant protection*, 9: 105-114.

Otero, J.T., Ackerman, J.D. dan Bayman, P. 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. 754h.

Smith, S.E. dan Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*,3rd Edition. Academic Press. New York. 805 p.

Sneh, B., Yamoah, E. dan Stewart, A. 2004. Hypovirulent Rhizoctonia spp. isolates from New Zealand soils protectradish seedlings against damping-off caused by R.solani. *New Zealand Plant Protection*, 57: 54–58.

Soelistijono. 2013. Pemanfaatan Rhizoctonia Mikoriza Untuk Pengendalian Penyakit Busuk Akar Pada Tanaman Anggrek Spathoglottis plicata. Disertasi, tidak untuk dipublikasikan.

Taylor, D.L., Bruns, T.D., Leake, J.R. dan Read, D. J. 2002. Mycorrhiza Specifity and Functionin Myco-heterotrophic Plants. Springer-Verlag. Berlin. 413p.