

UJI JUMLAH PROPAGUL DAN JUMLAH SPORA MIKORIZA ARBUSKULA MENGGUNAKAN METODE MPN (*MOST PROBABLE NUMBER*) PADA TANAMAN INANG KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.)

Fatimah Nur Istiqomah^{1*}, dan Praditya Rizqi Novanto¹

Abstrak - Mikoriza merupakan pupuk hayati yang mampu bersimbiosis dengan akar tanaman. Terdapat dua metode untuk melihat mutu dari produk mikoriza yaitu, uji jumlah spora dan uji jumlah propagul. Uji jumlah spora dilakukan dengan metode tuang saring basah kemudian jumlah sporanya dihitung menggunakan mikroskop. Uji jumlah propagul dihitung menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*) dengan cara mengencerkan inoculum mikoriza dengan media zeolit steril. Pengenceran dilakukan dengan urutan seri mulai dari 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , hingga 10^{-4} menggunakan tanaman inang kelapa sawit. Setiap pengenceran dijadikan sebagai perlakuan dan diulang sebanyak 5 kali. Seri pengenceran 10^0 dilakukan dengan cara memasukan 500 g inoculum mikoriza ke dalam polybag. Seri pengenceran 10^{-1} dilakukan dengan mengambil inoculum mikoriza 50 g dari 10^0 dan dicampurkan dengan 450 g zeolit steril, dan seterusnya hingga seri pengenceran 10^{-4} . Setelah umur 6 bulan akar kelapa sawit dibuat preparat untuk melihat infeksi mikoriza, kemudian dihitung jumlah potensi propagulnya menggunakan tabel dan rumus MPN. Jumlah propagul mikoriza pada tanaman inang kelapa sawit umur 6 bulan adalah 450 cfu/g. Jumlah propagul tersebut telah memenuhi standar Persyaratan Teknis Kepmentan No. 261 tahun 2019 yaitu $\geq 1 \times 10^2$ cfu/g bobot kering contoh. Rata-rata jumlah spora mikoriza pada seri pengenceran 10^0 adalah 192,8 spora/10 g, kemudian jumlah spora menurun seiring dengan seri pengenceran mikoriza hingga 10^{-4} . Metode MPN ini lebih efektif untuk menghitung kerapatan populasi mikoriza karena dapat mengetahui potensi spora, hifa, miselia dalam inoculum mikoriza dan dapat mengetahui infeksi akar mikoriza pada tanaman inang, dibandingkan dengan hanya menghitung jumlah spora mikoriza menggunakan metode tuang saring basah.

Kata kunci: hifa, infeksi akar, *sieving*, sorghum, zeolit.

PENDAHULUAN

Mikoriza merupakan pupuk hayati yang mampu bersimbiosis dengan akar tanaman. Menurut Campos (2020), mikoriza merupakan hubungan simbiosis mutualisme antara fungi dan akar tanaman (*mykes*=fungi/jamur; *rhiza*=akar). Hubungan saling menguntungkan ini terjadi karena akar membantu tanaman dalam menyerap air dan unsur hara, sedangkan tanaman memberikan makanan hasil fotosintesisnya kepada jamur mikoriza. Manfaat mikoriza bagi tanaman antara lain; meningkatkan

pertumbuhan tanaman, mengefisienkan penggunaan pupuk anorganik, dan meningkatkan ketersediaan unsur P bagi tanaman (Hazra et al., 2023), serta meningkatkan adaptasi bibit terhadap kandungan logam berat dalam tanah (Istiqomah, Budi, dan Wulandari, 2017).

Mikoriza digolongkan sebagai pupuk hayati menurut (Permentan No 1 Tahun 2019). Proses perizinan pupuk hayati mikoriza melalui tahapan uji mutu dan uji efektivitas sebagai syarat komersial dan perlindungan konsumen. Menurut peraturan lama yaitu (Permentan No. 70/Permentan/SR.140/10/2011), jumlah spora endomikoriza yang disyaratkan untuk lolos uji mutu adalah ≥ 50 spora/g bobot kering contoh. Permentan tersebut telah direvisi melalui (Keputusan Menteri Republik Indonesia No. 261/KPTS/SR.310/M/4/2019), yaitu menggunakan jumlah propagul hidup yang disyaratkan lolos uji mutu adalah $\geq 1 \times 10^2$ cfu/g bobot kering contoh.

Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit

Fatimah Nur Istiqomah^{1*} (✉)
PT Anugerah Sarana Hayati
Email: fatimahnuristiqomah2@gmail.com

¹ PT Anugerah Sarana Hayati, Divisi TIC Saraswanti Group, Bogor

Jumlah spora dan jumlah propagul mikoriza merupakan suatu ukuran yang berdeda, metode untuk menghitung keduanya juga berbeda. Propagul mikoriza memiliki cakupan yang lebih luas, yaitu kumpulan spora, hifa, miselia, dan akar tanaman inang yang dapat menularkan atau menginfeksi mikoriza. Metode yang digunakan untuk menghitung propagul mikoriza adalah metode MPN (*Most Probable Number*) dengan cara mengencerkan mikoriza menggunakan media steril kemudian ditanami tanaman inang. Sementara itu jumlah spora memiliki cakupan yang lebih sempit, yaitu hanya menghitung cacah aktual dari spora yang dilihat menggunakan mikroskop. Metode yang digunakan untuk menghitung jumlah spora adalah tuang saring basah menggunakan alat sieving spora, kemudian hasil spora yang tersaring dihitung jumlahnya menggunakan mikroskop. Menurut Porter (1979), metode MPN ini dinilai lebih efektif untuk menghitung kepadatan populasi mikoriza dibandingkan metode konvensional dengan menghitung jumlah spora menggunakan metode tuang saring basah (Porter, 1979).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah spora dan potensi propagul suatu produk mikoriza menggunakan metode tuang saring basah dan metode MPN (*Most Probable Number*) pada tanaman inang kelapa sawit menggunakan media zeolit. Tanaman inang yang biasa digunakan untuk menghitung potensi propagul mikoriza adalah jagung, kudzu (Ginting dan Simanungkalit, 2022), dan sorghum (Nusantara et. al., 2012). Penggunaan tanaman kelapa sawit sebagai tanaman inang untuk menghitung jumlah propagul mikoriza belum pernah dilakukan. Tanaman kelapa sawit merupakan komoditas perkebunan yang biasa digunakan untuk melihat efektivitas produk pupuk hayati mikoriza, namun pada penelitian ini kelapa sawit dijadikan tanaman inang untuk melihat respon infeksi akar dan jumlah spora mikoriza. Media tanam yang digunakan adalah zeolit, karena zeolite merupakan media yang mudah untuk disterilkan dari pengaruh mikroba lainnya. Menurut Karepesina et al. (2021) untuk menunjang keberhasilan dalam menghasilkan mikoriza, penggunaan media tumbuh zeolite lebih baik dibandingkan pasir.

BAHAN DAN METODE

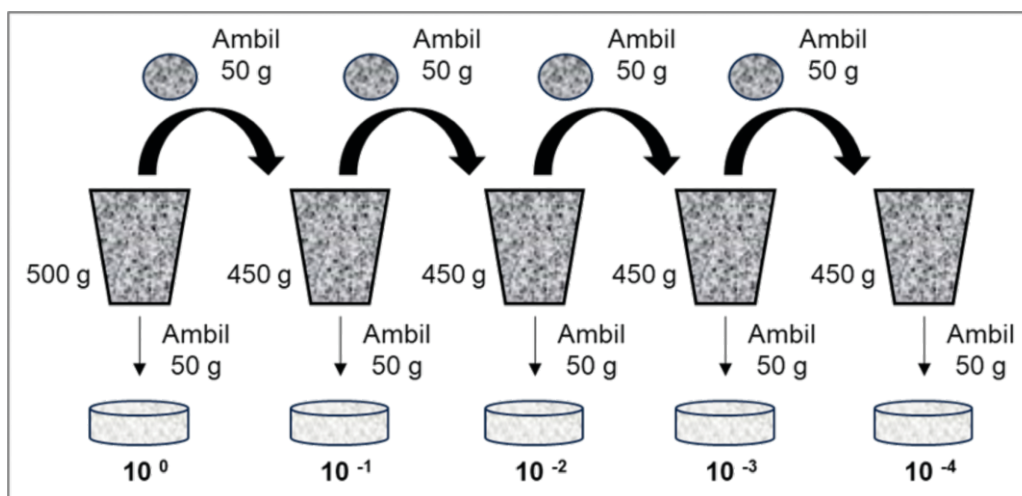
Penelitian dilaksanakan dari bulan Juni sampai Desember 2023 di Kecamatan Citareup, Kabupaten

Bogor, Jawa Barat. Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain inokulum mikoriza dengan jumlah spora rata-rata 250 spora/10 g, zeolit steril, kecambah kelapa sawit varietas D x P Socfindo, KOH 10%, HCl, asam laktat, gliserin, pewarna *trypan blue*, timbangan digital, polybag ukuran (15 x 15) cm, preparat, mikroskop saringan bertingkat ukuran 250 μ m, 125 μ m dan 63 μ m.

Metode *Most Probable Number* (MPN) dilakukan dengan cara mengencerkan inokulum mikoriza dengan media zeolit steril (Nusantara et al., 2012). Pengenceran dilakukan dengan urutan seri mulai dari 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} . Setiap pengenceran dijadikan sebagai perlakuan dan diulang sebanyak 5 kali. Pengenceran 10^0 dilakukan dengan cara memasukkan 500 g inokulum mikoriza ke dalam polybag, kemudian inokulum mikoriza diambil 50 g dan dicampurkan dengan 450 g zeolit steril untuk dimasukan ke dalam polybag pengenceran ke 10^{-1} . Hal tersebut dilakukan hingga pengenceran seri 10^{-4} (Gambar 1). Kecambah kelapa sawit ditanam pada media pengenceran propagul mikoriza dan dipelihara selama 6 bulan (Gambar 2).

Setelah umur 6 bulan, akar kelapa sawit dipangkas untuk analisa infeksi mikoriza menggunakan metode Rajapakse dan Miller (1992) yang dimodifikasi. Akar dimasukan dalam larutan KOH 10% (w/v), lalu dioven pada suhu 90°C selama 30-40 menit, jika akar belum transparan dapat direndam dalam larutan H_2O_2 alkalin : mencampurkan 3 ml NH_4OH + 30 ml H_2O_2 10% dan 567 ml air destilata. Selanjutnya akar dicuci di bawah air mengalir untuk menghilangkan sisa KOH yang menempel. Akar kemudian dimasukan dalam larutan HCl 0,1 N selama 10 menit. Akar diwarnai menggunakan larutan *trypan blue*, kemudian dioven pada suhu 90°C selama 30-40 menit. Akar kemudian dibuat preparat, terdapat 10 helai akar ukuran 1 cm.

Preparat tersebut diamati menggunakan mikroskop untuk melihat infeksi mikoriza, kemudian dihitung jumlah potensi propagulnya menggunakan tabel dan rumus MPN berdasarkan (Halvorson dan Ziegler, 1933). Akar yang terinfeksi mikoriza diberi tanda (+), sedangkan akar yang tidak ada infeksi mikoriza diberi tanda (-). Hasil 3 seri pengenceran terakhir (P1, P2, P3) yang menunjukkan adanya infeksi mikoriza dicocokkan dengan tabel MPN. Nilai pada tabel MPN kemudian dibagi dengan faktor pengenceran P2 untuk mendapatkan MPN dari contoh asli (Nusantara et al., 2012).



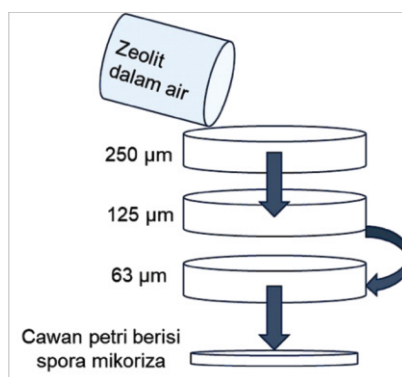
Gambar 1. Pembuatan pengenceran propagul jamur arbuskula mikoriza yang digunakan dalam penelitian ini



Gambar 2. Bibit kelapa sawit tumbuh pada media zeolit hasil pengenceran propagul mikoriza

Jumlah spora mikoriza dihitung dengan cara mengambil sampel media zeolit sebanyak 10 g/polybag kemudian dilakukan *sieving* atau pemisahan spora menggunakan metode tuang basah (Brundrett et al., 1996). Media zeolit dimasukan ke dalam gelas ukur 1 liter, kemudian diisi air sambil diaduk dan selanjutnya air

dituang ke dalam saringan bertingkat. Hal tersebut diulang sebanyak tiga kali hingga air menjadi bening. Hasil saringan *layer* tengah (125 μ m) dan *layer* paling bawah (63 μ m) dikumpulkan di dalam cawan petri untuk dihitung jumlah sporanya menggunakan mikroskop. Proses pemisahan spora dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pemisahan spora mikoriza dari media zeolit yang digunakan dalam penelitian ini

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah propagul mikoriza

Hasil jumlah propagul dan jumlah spora

mikoriza pada bibit kelapa sawit umur 6 bulan setelah tanam disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Jumlah propagul mikoriza pada bibit kelapa sawit umur 6 bulan setelah tanam

Seri Pengenceran	Ulangan					Jumlah akar yang terinfeksi mikoriza
	1	2	3	4	5	
10 ⁰	+	+	+	+	+	5
10 ⁻¹	+	+	+	+	-	4
10 ⁻²	-	+	+	+	+	4 (P1)
10 ⁻³	-	-	+	+	+	3 (P2)
10 ⁻⁴	-	+	-	+	+	3 (P3)

Nilai MPN (Jumlah propagul) = 450 cfu/g

Keterangan : (P1), (P2), dan (P3) merupakan 3 seri pengenceran terakhir.

Tanda (+) merupakan simbol untuk ada nya kolonisasi akar.

Tanda (-) merupakan simbol untuk tidak ada nya kolonisasi akar.

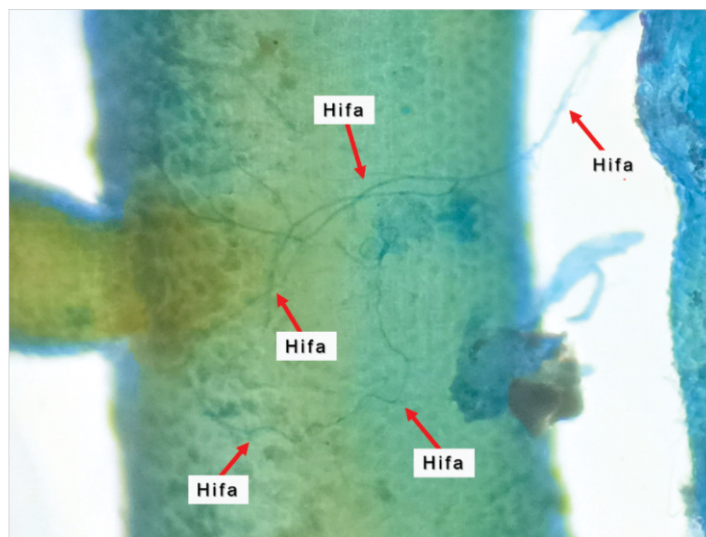
Tabel 1 menjelaskan jumlah propagul mikoriza pada tanaman inang kelapa sawit umur 6 bulan adalah 450 cfu/g. Jumlah propagul tersebut telah memenuhi standar Persyaratan Teknis Kepmentan No. 261 tahun 2019 yaitu $\geq 1 \times 10^2$ cfu/g bobot kering contoh. Jika dibandingkan dengan hasil uji propagul pada tanaman inang lain, jumlah propagul pada inang kelapa sawit tergolong rendah karena akar kelapa sawit tergolong akar tanaman keras yang berkayu, sehingga infeksi akar kurang terlihat jelas. Infeksi akar mikoriza akan terlihat jelas pada akar muda atau pada tanaman inang golongan rumput (Sukiman 2015).

Menurut Muslimin et al. (2023), jumlah propagul mikoriza dipengaruhi oleh pemupukan, pestisida yang tidak terkendali, pengolahan tanah berlebihan, lokasi pengambilan sampel tanah, jenis tanaman inang, serta inokulum mikoriza yang digunakan. Jumlah propagul dari inokulum tanah di Hutan Cagar menggunakan tanaman inang kenikir adalah 12.961 propagul/g. Penelitian Kirana et al. (2023), jumlah propagul dari

inokulum tanah Hutan Kota Malabar Malang menggunakan tanaman inang marigold adalah 34.343 propagul/g.

Jumlah propagul Fungi Mikoriza Arbuskula meliputi jumlah dari spora, hifa, miselia (kumpulan hifa), serta fragmen akar yang terinfeksi mikoriza di dalam kesatuan inokulum yang diuji (Bellgrad 1992). Penampang infeksi akar mikoriza pada bibit kelapa sawit usia 6 bulan dapat dilihat pada Gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan akar kelapa sawit yang telah terkolonisasi oleh hifa mikoriza. Hifa merupakan serabut panjang yang berfungsi untuk penyerapan air dan unsur hara. Terdapat hifa internal yang terdapat di luar akar dan hifa internal yang terdapat di dalam jaringan akar. Struktur mikoriza lain seperti vasikula dan arbuskula tidak ditemukan. Menurut Istiqomah dan Novanto (2023), infeksi akar mikoriza dipengaruhi oleh dosis dan umur simpan inokulum mikoriza, kandungan hara, jenis tanah, dan kadar air.



Gambar 4. Penampakan infeksi akar mikoriza pada bibit kelapa sawit umur 6 bulan dilihat menggunakan mikroskop binokuler

Jumlah spora mikoriza

Tabel 2 Jumlah spora mikoriza pada bibit kelapa sawit umur 6 bulan setelah tanam

Seri Pengenceran	Jumlah spora mikoriza/10 g					Rata-rata jumlah spora mikoriza/10 g
	1	2	3	4	5	
10^0	172	160	266	144	222	192,8
10^{-1}	13	20	30	14	5	17,2
10^{-2}	3	21	5	9	33	14,2
10^{-3}	3	3	11	23	79	23,8
10^{-4}	2	4	4	4	7	4,2

Hasil pada Tabel 2 merupakan jumlah spora yang ditemukan pada media pengenceran MPN. Pada dasarnya metode MPN digunakan untuk mengetahui kolonisasi atau infeksi akar suatu inokulum mikoriza pada tanaman inang, namun pada penelitian ini setiap media dihitung jumlah sporanya untuk mengetahui perbedaan hasil jumlah spora dan jumlah propagul pada inokulum mikoriza yang diuji. Tabel 2 menjelaskan jumlah spora mikoriza yang telah

diencerkan pada media zeolit. Rata-rata jumlah spora pada seri pengenceran 10^0 adalah 192,8 spora/10 g, kemudian jumlah spora menurun seiring dengan seri pengenceran mikoriza hingga 10^{-4} . Pada seri pengenceran 10^{-4} terdapat 4,2 spora/10 g, namun jika dihubungkan dengan seri pengenceran 10^{-4} pada Tabel 1 masih menunjukkan adanya infeksi akar mikoriza walaupun jumlah sporanya hanya 4,2 spora/10 g. Hal tersebut diduga karena selain spora,

terdapat propagul lain yaitu hifa atau miselia yang dapat menginokulasi/menginfeksi akar kelapa sawit. Menurut Widiastuti et al. (2002), propagul mikoriza campuran berupa spora, akar terinfeksi dan hifa eksternal dapat menginfeksi dalam waktu yang lebih cepat, dibandingkan dengan spora saja.

KESIMPULAN

Jumlah propagul mikoriza pada tanaman inang kelapa sawit umur 6 bulan yang dihitung menggunakan metode MPN adalah 450 cfu/g. Jumlah spora mikoriza rata-rata yang dihitung menggunakan metode tuang saring basah adalah 192,8 spora/10 g pada seri pengenceran 10^0 , kemudian jumlah spora menurun seiring dengan seri pengenceran mikoriza hingga 10^{-4} . Metode MPN lebih efektif untuk menghitung kerapatan populasi mikoriza karena dapat mengetahui potensi spora, hifa, miselia dalam inokulum mikoriza dan dapat mengetahui infeksi akar mikoriza pada tanaman inang, dibandingkan dengan hanya menghitung jumlah spora mikoriza menggunakan metode tuang saring basah.

DAFTAR PUSTAKA

- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture*, Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 32, 374
- Bellgard, S., E. (1992). The propagules of vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi capable of initiating VAM infection after topsoil disturbance. *Mycorrhiza*, 1, 147–152. <https://doi.org/10.1007/BF00203288>
- Da Silva Campos, M., A. (2020). Bioprotection by arbuscular mycorrhizal fungi in plants infected with *Meloidogyne* nematodes: A sustainable alternative. *Crop Protection*, 135, 105203. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105203>
- Ginting, R., C., B., & Simanungkalit, R., D., M. (2022). Cendawan Mikoriza Arbuskuler. *Metode Analisis Biologi Tanah*, 102-107.
- Halvorson H., O., Ziegler N., R. (1993). Application of Statistics to Problems in Bacteriology: I. A Means of Determining Bacterial Population by the Dilution Method, *J Bacteriol*, 25, 101 -121.
- Hazra, F., Istiqomah, F.,N., & Fadilla, A., N. (2023). Potensi Fumyco (Fungi Mikoriza Arbuskula) dalam meningkatkan pertumbuhan kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di pembibitan. *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*, 31(3), 153-162.
- Istiqomah, F., N., & Novanto, P., R. (2023). Pengaruh dosis dan daya simpan mikoriza terhadap efektivitas dan infektivitas pada bibit kelapa sawit pre dan main nursery. *WARTA Pusat Penelitian Kelapa Sawit*, 28(3), 154-163.
- Istiqomah, F., N., Budi, S., W., & Wulandari, A., S. (2017). Peran Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) dan asam humat terhadap pertumbuhan balsa (*Ochroma bicolor* Rowlee.) pada tanah terkontaminasi timbal (Pb). *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management)*, 7 (1), 72 - 78 . <https://doi.org/10.29244/jpsl.7.1.72-78>
- Karepesina, S., La Djumat, J., & Latuponu, H. (2021). Produksi inokulum Fungi Mikoriza Arbuskula dengan tiga tanaman indikator *Pueraria javanica*, *Sorghum vulgare* dan *Setaria italica*. *Jurnal Agro hut*, 12 (1), 31 - 37 . <https://doi.org/10.51135/agh.v12i1.133>
- Kirana, I., M., Syib'li, M., A., & Sektiono, A., W. (2023). Uji nilai propagul jamur arbuskula mikoriza dan hubungannya dengan ketersediaan C-organik, P total, dan P tersedia yang diperoleh dari hutan kota Malabar Malang. *Jurnal HPT (Hama Penyakit Tumbuhan)*, 11(2): 76-83. doi: 10.21776/ub.jurnalhpt.2023.011.2.3
- Muslimin, S., H., Syib'li, M., A., & Sektiono, A., W. (2023). Uji nilai propagul jamur arbuskula mikoriza indigenous tanah hutan Cagar dan hubungannya dengan Corganik, P total dan P tersedia tanah. *Jurnal HPT (Hama Penyakit Tumbuhan)*, 11(1), 42 - 54 . doi: 10.21776/ub.jurnalhpt.2023.011.1.5
- Nugroho, Y., A., Sumertajaya, I., M., Wiendi, N., M., A., & Toruan-Mathius, N. (2014). Estimation of genetic parameters for in vitro culture traits and selection best progenies for tenera oil palm tissue culture. *Energy Procedia*, 47, 316–322. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.01.231>

- Nusantara, A., D., Bertham, Y., H., & Mansur, I. (2012). *Bekerja dengan fungi mikoriza arbuskula*. Bogor: Southeast Asian Regional Centre for Tropical Biology. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70098-9](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70098-9)
- Porter, W., M. (1979). The 'Most Probable Number' method enumerates infective propagules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Soil Research*, 17(3), 515-519. <https://doi.org/10.1071/SR9790515>
- Rajapakse, S. & Miller, J., C. (1992), Methods for studying vesicular-arbuscular mycorrhizal root colonization and related root physical properties. *Methods Microbiol*, 24, 302–316.
- Sukiman, H. (2015). Pemanfaatan mikoriza untuk meningkatkan kualitas bibit pohon dan produktivitas lahan kawasan perkotaan. In *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1, (8), 2021-2026
- Widiastuti, H., Guhardja, E., Soekarno, N., Darusman, L. K., Goenadi, D. H., & Smith, S. (2002). Optimasi simbiosis cendawan mikoriza arbuskula *Acaulospora tuberculata* dan *Gigaspora margarita* pada bibit kelapa sawit di tanah masam, *Menara Perkebunan*, 70(2)

