

ISOLASI DAN SELEKSI ISOLAT POTENSIAL CENDAWAN DARK SEPTATE ENDOPHYTE ASAL AKAR *Pinus merkusii*

*Isolation and Selection of Potential Isolates of Dark Septate Endophyte Fungi from
Pinus merkusii Roots*

Jumadil Akhir^{14*}, Sri Wilarso Budi², Elis Nina Herliyana², dan Surono³

(Diterima 20 November 2023 /Disetujui 18 Desember 2023)

ABSTRACT

Root isolation activities to obtain dark septate endophytic fungi are currently mostly carried out on agricultural and plantation crops, while less so on forestry crops. Roots are a suitable habitat for the growth of various microorganisms, including dark septate endophytic fungi. The research aims to isolate the roots of *Pinus merkusii* plants from four locations, test pathogenicity, and test the biomass of sweet caisim mustard seeds. The research used a descriptive method by observing the number of dark septate endophytic fungal isolates obtained and the pathogenicity of these isolates. Meanwhile, sweet caisim mustard seed biomass from the pathogenicity test results of non-pathogenic isolates was analyzed using a completely randomized design. The results of root isolation from *Pinus merkusii* stands obtained as many as 25 isolates by isolating 1,160 root segments. Isolation of *Pinus merkusii* roots from the IPB Dramaga Campus obtained 16 isolates, Dabun Gelang Village, Gayo Lues Regency obtained 2 isolates, Gunung Walat University Forest obtained 2 isolates, and Gunung Halimun Salak National Park obtained 5 isolates. Pathogenicity tests showed that 12 isolates were pathogenic and 13 isolates were non-pathogenic. Biomass analysis of sweet caisim mustard seeds on non-pathogenic isolates obtained the highest biomass in the control treatment (not inoculated) and the lowest in isolates Apg 23.5 and Hs 14.6b. There is still a lack of isolates obtained from isolation activities in this research, so it is necessary to find an appropriate sterilization method to obtain the maximum number of isolates and have the potential to become non-pathogenic isolates.

Keywords: *Pinus merkusii*, dark septate endophyte, isolation

ABSTRAK

Kegiatan isolasi akar untuk mendapatkan cendawan *dark septate endophyte* saat ini lebih banyak dilakukan pada tanaman pertanian dan perkebunan, sedangkan pada tanaman kehutanan masih kurang. Akar merupakan habitat yang sesuai untuk pertumbuhan berbagai mikroorganisme termasuk cendawan *dark septate endophyte*. Tujuan penelitian untuk mengisolasi akar tanaman *Pinus merkusii* yang berasal dari empat lokasi, uji patogenesis dan biomassa benih sawi caisim manis. Penelitian menggunakan metode deskriptif yaitu dengan mengamati jumlah isolat cendawan *dark septate endophyte* yang diperoleh dan sifat patogenesis dari isolat, sedangkan biomassa benih sawi caisim manis dari hasil pengujian patogenesis isolat non patogen di analisis dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Hasil isolasi akar dari tegakan *Pinus merkusii* diperoleh sebanyak 25 isolat dengan mengisolasi sebanyak 1.160 segmen akar. Isolasi akar *Pinus merkusii* dari kampus Dramaga IPB diperoleh sebanyak 16 isolat, Desa Dabun Gelang Kabupaten Gayo Lues diperoleh 2 isolat, Hutan Pendidikan Gunung Walat diperoleh 2 isolat dan Taman Nasional Gunung Halimun Salak diperoleh 5 isolat. Pengujian patogenesis diperoleh 12 isolat yang bersifat patogen dan 13 isolat non patogen. Analisis biomassa benih sawi caisim manis pada isolat non patogen diperoleh biomassa tertinggi pada perlakuan kontrol (tidak diinokulasi) dan terendah pada isolat Apg 23.5 dan Hs 14.6b. Masih minimnya jumlah isolat yang diperoleh dari kegiatan isolasi pada penelitian ini, maka perlu dicarikan metode sterilisasi yang sesuai, sehingga diperoleh jumlah isolat yang maksimal dan mempunyai potensi sebagai isolat non patogen.

Kata kunci: *Pinus merkusii*, dark septate endophyte, isolasi

¹ Mahasiswa Program Studi Silvikultur Tropika, Sekolah Pascasarjana, IPB University
Jl. Ulin Kampus IPB, Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

² Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan dan Lingkungan, IPB University
Jl. Ulin Kampus IPB, Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

³ Badan Riset Inovasi Nasional, Jakarta Pusat, 10340

⁴ Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, 23111

* Penulis korespondensi:

e-mail: jumadilakhirbb@usk.ac.id

PENDAHULUAN

Akar merupakan habitat yang sesuai untuk pertumbuhan berbagai mikroorganisme termasuk cendawan (Tamilarasi *et al.* 2007). Akar berfungsi sebagai penyerap hara dan air yang sangat dibutuhkan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Rusdiana *et al.* 2000). Keanekaragaman spesies endofit akar dipengaruhi oleh faktor iklim, fisik, kimia, biologi dan faktor antropogenik, sehingga jaringan akar merupakan habitat yang sesuai untuk beragam mikroba termasuk dalam hal ini cendawan endofit (Sieber dan Grünig 2006). Kegiatan isolasi akar untuk mendapatkan cendawan endofit dari tanaman inang harus memperhatikan teknik sterilisasi permukaan yaitu dengan memotong bagian dalam organ tanaman seperti yang terdapat pada bagian akar, membersihkan tanah yang menempel pada bagian akar. Hal ini dilakukan agar cendawan epifit dari bagian luar organ tanaman tidak ikut diisolasi. Selanjutnya yang harus diperhatikan adalah saat pemotongan bagian segmen akar untuk eksplan isolasi menjadi potongan kecil dan lamanya waktu pengeringan sampel di atas kertas saring steril terutama pada organ tanaman yang mengeluarkan lendir (Strobel 2003; Strobel dan Daisy 2003).

Cendawan endofit mampu menginfeksi jaringan tanaman tanpa menyebabkan munculnya gejala penyakit dan menunjukkan tanaman mampu tumbuh dengan baik (Doss *et al.* 1998). Hal ini disebabkan adanya hubungan mutualisme antara cendawan endofit dan tanaman inang yang bersifat saling menguntungkan (Schulz dan Boyle 2006). Cendawan endofit hampir dapat ditemukan pada semua tumbuhan dalam hal ini pohon, rumput, alga dan tumbuhan herbal dan kebanyakan endofit termasuk dalam Ascomycetes dan fungi imperfecti (Huang *et al.* 2001).

Beberapa penelitian yang menjelaskan keberadaan cendawan endofit seperti penelitian yang dilakukan pada tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) oleh Susilowati *et al.* (2019) dengan menggunakan indeks keanekaragaman Shannon-Wiener ditemukan nilai keanekaragaman endofit tertinggi terdapat pada akar (1,91), daun (1,79), stolon (1,75) dan tangkai daun (1,29). Demikian juga penelitian yang dilakukan oleh Arifuddin *et al.* (2017) pada tanaman Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) frekwensi pertumbuhan koloni fungi sebesar 19,23% pada daun dan 21,43 pada bagian akar, dan penelitian yang dilakukan oleh Munif *et al.* (2015) isolasi terhadap 4 jenis tanaman kehutanan (mahoni, trembesi, gaharu dan meranti) yang telah berumur 4-5 bulan hanya didapatkan 33 isolat pada akar. Selanjutnya isolasi yang dilakukan pada akar tanaman *Shorea leprosula* dan *Shorea selanica* juga diperoleh persentase fungi endofit yang masih sangat rendah yaitu sebesar 5,8% sampai 7,1% (Hakim *et al.* 2014). Salah satu kelompok cendawan endofit yang telah teridentifikasi sebagai cendawan *dark septate endophyte* (DSE) adalah ditandai dengan ciri umum yaitu membentuk koloni berwarna gelap pada media agar dan mengalami pertumbuhan yang lambat apabila ditumbuhkan pada media PDA (Suroño dan Narisawa 2018).

Penelitian mengenai keberadaan cendawan DSE pada akar tanaman kehutanan sangat menarik dilakukan

karena selama ini informasi terkait dengan DSE masih sangat minim sekali bila dibandingkan dengan tanaman pertanian maupun perkebunan. Untuk itu perlu dilakukan isolasi pada tanaman kehutanan, dalam hal ini kami melakukan isolasi akar pada tanaman *Pinus merkusii* agar diperoleh isolat yang potensial khususnya diperoleh isolat yang non patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji kemampuan patogenisitas dari isolat yang telah diperoleh. Diharapkan dari kegiatan isolasi akar dari tanaman *P. merkusii* diperoleh isolat yang potensial yaitu bersifat non non patogen dan isolat yang diperoleh akan digunakan untuk penelitian tahap selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2020 sampai bulan Mei 2021. Pengambilan sampel akar *Pinus merkusii* dilakukan pada 4 lokasi yaitu satu sampel di Kabupaten Gayo Lues, Provinsi Aceh dan 3 sampel diambil di Provinsi Jawa Barat (Hutan Pendidikan Gunung Walat Kabupaten Sukabumi, Taman Nasional Gunung Halimun Salak dan Kampus Dramaga IPB University). Kegiatan isolasi dan seleksi isolat potensial dari akar *P. merkusii* dilakukan di laboratorium Balai Standarisasi Instrumen Pertanian (BSI) Cimanggu, Bogor.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu cangkul, sekop, plastik sampel, meteran, GPS, laminar air flow cabinet, autoklaf, timbangan analitik, hot plate dan stirer, oven, labu ukur, labu erlenmeyer, gelas piala, cawan petri, bunsen, korek api, spatula, jarum inokulasi, botol semprot, kain kasa, kertas label, cork borer, aluminium foil, gunting, kamera digital, spidol, botol plastik berukuran 500 gr dan perlengkapan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar dari tanaman *P. merkusii*, benih sawi ciasim manis, air steril, alkohol 70% dan 96%, chlorox 20%, spirtus, parafilm, media CMA 50% dan CMMYA 50%, PDA dan OMA.

Pengumpulan Data atau Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel Akar *Pinus merkusii*

Sampel akar *P. merkusii* diambil dari empat lokasi. Lokasi pertama berada di Kabupaten Gayo Lues, Provinsi Aceh, Indonesia (koordinat: 4⁰¹'12,34416" N, 97⁰¹'15'28,9332" E) pada ketinggian 1.078 meter di atas permukaan laut (mdpl). Lokasi kedua, ketiga dan keempat berada di Provinsi Jawa Barat Indonesia yaitu Kampus IPB Dramaga Bogor (koordinat: 06⁰³'33'23.4" N, 106⁰⁴'43'43.7" E) pada ketinggian 203 mdpl, Gunung Hutan Pendidikan Walat yang terletak di Kabupaten Sukabumi (koordinat: 06⁰⁵'48.4"S, 106⁰⁴'49'25.6"BT) pada ketinggian 607 mdpl dan Taman Nasional Gunung Halimun Salak yang terletak di Kabupaten

Bogor (koordinat: 06°40'38, 1"S, 106°41'27.7"E) pada ketinggian 855 mdpl.

Sampel akar diambil di sekitar tanaman sehat dengan mengambil sebagian akar dari tegakan *P. merkusii*. Sampel akar diambil dari 5 tegakan *P. merkusii* yang dipilih secara acak, dan sebelumnya telah dibuatkan plot dengan ukuran 20 m x 20 m. Pengambilan sampel akar dilakukan dengan menggali tanah hingga ditemukan akar halus di bawah tegakan pohon *P. merkusii*. Akar diambil dengan ukuran 10 sampai 15 cm kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi.

Isolasi Akar *Pinus merkusii*

Isolasi akar *P. merkusii* mengikuti metode tersebut (Suroño dan Narisawa 2017). Sampel akar diambil sepanjang 5 cm dan dicuci dengan air mengalir hingga tidak ada lagi tanah yang menempel pada bagian permukaan akar. Sampel akar yang telah dibersihkan selanjutnya diletakkan di atas nampan yang dilapisi kertas tisu. Kegiatan sterilisasi dilakukan didalam laminar dengan membungkus sampel akar dengan kain kasa. Akar direndam dalam larutan alkohol 70% selama \pm 30 detik, larutan clorox 20% selama \pm 30 detik, kemudian dibilas dua kali dengan menggunakan air akuades steril. Setelah disterilkan, akar dipotong-potong berukuran 0,5-1 cm dan ditempatkan dalam cawan petri (diameter 9 cm) dan berisi media CMA 50% dengan komposisi (CMA 0,85 gr, Bacto agar 0,75 gr, chloramphenicol 0,05 gr dan aquades 100 ml). Sebanyak 5-6 segmen akar diisolasi ke dalam cawan yang berisi media CMA 50% dan ditempatkan di ruang inkubasi pada suhu 26 °C - 30 °C hingga cendawan yang diinginkan (cendawan DSE) tumbuh.

Kegiatan pemurnian isolat akar *Pinus merkusii*

Setelah isolat yang diinginkan tumbuh pada media isolasi maka tahapan selanjutnya adalah isolat tersebut dipindahkan ke media CMMYA 50% dengan komposisi (CMA 0,85 gr, Bacto agar 0,75 gr, Malt extract 1 gr, Yeast extract 0,1 gr, chloramphenicol 0,05 gr dan aquades 100 ml) untuk kegiatan pemurnian. Isolat yang telah murni selanjutnya dipindahkan untuk ditumbuhkan pada media PDA sebagai media pengujian isolat. Komposisi media PDA (PDA 3,9 gr, chloramphenicol 0,025 gr dan aquades 100 ml).

Pengujian Patogenisitas secara In Vitro

Pengujian patogenisitas menggunakan benih sawi ciasim manis. Benih sawi ciasim manis diperoleh di toko perlengkapan pertanian. Sebelum sterilisasi, dilakukan seleksi pada benih yang sehat. Benih yang berwarna kemerahan digunakan untuk pengujian karena dianggap sehat, sedangkan benih yang berwarna coklat tidak digunakan. Hal ini dilakukan berdasarkan pengamatan pra penelitian pada saat perkecambahan, dimana benih yang berwarna kemerahan lebih banyak berkecambah dan tumbuh lebih baik dibandingkan dengan benih yang berwarna coklat. Kegiatan sterilisasi benih menggunakan etanol 70% selama 1,5 menit, Clorox 20% selama 3 menit, dan pembilasan menggunakan akuades steril sebanyak tiga kali kemudian dikeringkan dalam laminar. Langkah selanjutnya adalah menumbuhkan benih pada

media agar menggunakan cawan petri (diameter 9 cm). Komposisi media agar (Bacto agar 2 gr, chloramphenicol 0,025 gr dan aquades 100 ml). Benih yang telah ditumbuhkan pada media agar selanjutnya disimpan dalam wadah gelap pada suhu ruang 26 °C - 28 °C. Perkecambahan benih sawi ciasim manis terjadi setelah 24 jam penyimpanan.

Pengujian Patogenisitas

Metode yang digunakan untuk pengujian patogenisitas berdasarkan (Suroño dan Narisawa 2018), yang telah dimodifikasi. Media yang digunakan untuk uji patogenisitas adalah media OMA dengan komposisi (Oatmeal 1 gr, Bacto agar 1,8 gr, MgSO₄.7H₂O 0,1 gr, KH₂PO₄ 0,15 gr, NaNO₃ 0,1 gr, chloramphenicol 0,1 gr dan aquades 100 ml). Media OMA yang telah di autoclave pada suhu 121 °C selama 3 jam dibiarkan agak dingin dan selanjutnya dituangkan ke dalam cawan petri (diameter 5,5 cm) dan dibiarkan selama dua hari untuk menunjukkan bahwa media yang digunakan masih steril dan tidak terjadi kontaminasi sebelum digunakan.

Uji patogenisitas pada 25 isolat dilakukan untuk mengetahui apakah isolat yang diperoleh bersifat patogen atau nonpatogen. Sebanyak 3 keping isolat DSE berukuran (diameter 0,5 cm) yang telah ditumbuhi pada media PDA, diambil dengan menggunakan alat *cork bore* untuk ditumbuhkan pada media OMA. Isolat yang ditumbuhkan pada media OMA diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruang 26 °C - 30 °C. Setelah 14 hari inkubasi, isolat yang tumbuh pada media OMA diberi perlakuan dengan benih sawi ciasim manis yang sebelumnya telah dikecambahkan pada media agar. Masing-masing sebanyak 3 benih sawi ciasim manis yang berkecambah dipindahkan ke media OMA yang telah ditumbuhi isolat. Isolat yang diberi perlakuan benih sawi ciasim manis dimasukkan ke dalam botol plastik berukuran 500 gr dan sebelumnya telah disterilkan dengan disemprot alkohol 96% dan di UV dalam laminar selama 1 jam. Setelah diberikan perlakuan maka tindakan selanjutnya diletakkan pada rak inkubasi selama 14 hari pada suhu 28 °C - 30 °C. Untuk perlakuan kontrol pada media OMA digunakan benih sawi ciasim manis yang tidak diinokulasi isolat. Setiap perlakuan isolat ditanami tiga benih sawi ciasim manis dan setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali termasuk perlakuan kontrol, sehingga diperoleh 225 benih sawi ciasim manis. Parameter yang diamati adalah biomassa benih sawi ciasim manis dan potensi isolat baik patogen maupun non patogen.

Pengolahan dan Analisis Data

Data jumlah isolasi isolat dan patogenisitas di analisis secara deskriptif dan data biomassa benih ciasim manis diolah dan di analisis dengan menggunakan perangkat lunak *Microsoft Office Excel* dan *Statistical Analysis System (SAS)* versi 9.0. Pengaruh perlakuan di analisis secara statistik dengan menggunakan ANOVA (Analisis Varian) pada taraf kepercayaan 95%. Apabila terdapat pengaruh yang nyata pada variabel percobaan, maka akan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan tingkat kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Akar *Pinus merkusii*

Hasil isolasi akar *P. merkusii* yang berasal dari 4 lokasi disajikan pada Tabel 1. Dari hasil isolasi akar *P. merkusii* yang berasal dari Kampus Dramaga IPB diperoleh 16 yaitu Apls 3.1.3, Apls 3.4.3, Apls 1.5.3, Apls 1.4.1, Apls 3.1.4, Apls 2.3.1.1, Apls 3.4.2, Apls 2.1.1, Apls 3.4.3b, Apls 3.4.1.1, Pls 2.4, Pls 12.5, Pls 17.4, Pls 18.1, Pls 32.1 dan Pls 25.2, diperoleh 2 isolat yang berasal dari Debun Gelang Kab. Gayo Lues yaitu Apg 11.3 dan Apg 23.5, dan 2 isolat yang berasal dari Hutan Pendidikan Gunung Walad yaitu Gw 37.6 dan Gw 1.5 serta 5 isolat yang berasal dari Taman Nasional Gunung Halimun Salak yaitu Hs14.6a, Hs14.6b, Hs14.6c, Hs 6.1 dan Hs 9.5. Isolasi akar *P. merkusii* dengan menggunakan sebanyak 1.160 segmen akar dan diperoleh sebanyak 25 isolat atau sebesar 8.2%. Persentase isolat terbanyak dari 4 lokasi terdapat pada kampus Dramaga IPB yaitu berjumlah 16 isolat atau sebesar 5% sedangkan jumlah isolat yang paling sedikit berasal dari Dabun Gelang Kabupaten Gayo Lues dan Hutan Pendidikan Gunung Walat yaitu masing-masing berjumlah 2 isolat.

Penelitian yang dilakukan oleh Hakim *et al.* (2014) menyajikan temuan bahwa persentase kemunculan fungi endofit pada akar *Shorea leprosula* masih tergolong rendah, berkisar antara 6% hingga 11%. Rendahnya persentase ini menunjukkan bahwa interaksi antara fungi endofit dan akar tanaman tersebut cenderung kurang umum atau memiliki tingkat keberlanjutan yang rendah pada spesies tersebut. Masih rendahnya persentase isolat Dark Septate Endophytes (DSE) yang ditemukan pada akar *Pinus merkusii*, menurut penilaian kami, mungkin memiliki keterkaitan dengan metode isolasi yang diterapkan dalam penelitian tersebut. Metode isolasi yang digunakan dalam suatu penelitian dapat memengaruhi hasil yang diperoleh, terutama dalam mengidentifikasi dan mengukur jumlah fungi endofit yang hadir dalam suatu ekosistem.

Selain itu, rendahnya persentase isolat DSE tersebut juga dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan yang terkait dengan lokasi pengambilan sampel akar.

Tabel 2 Isolat hasil isolasi dari akar *P. merkusii* yang berasal dari 4 lokasi

No	Lokasi Sampel akar	Jumlah Segmen Akar	Jumlah Isolat	Isolation Rate
1	Kampus Dramaga IPB	320	16	5%
2	Dabun Gelang Kab. Gayo Lues	252	2	0,79%
3	Hutan Pendidikan Walat Kab.Sukabumi	300	2	0,67%
4	Taman Nasional Gunung Halimun Salak Kab. Bogor	288	5	1,74%
Total		1.160	25	8,2%

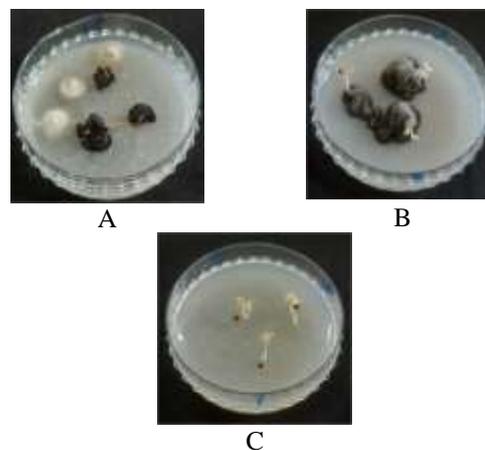
Faktor-faktor ini termasuk kondisi kesuburan tanah, kondisi geografis, dan umur tanaman. Beberapa penelitian lain, seperti yang disebutkan oleh Sondergaard *et al.* (2004) dan Sieber dan Grünig (2006), menekankan bahwa kondisi lingkungan di sekitar tanaman dapat memainkan peran kunci dalam mempengaruhi keragaman dan kelimpahan cendawan endofit. Hasil yang rendah pada persentase isolat DSE pada akar *Pinus merkusii* dapat diartikan sebagai refleksi dari kompleksitas interaksi antara tanaman, fungi endofit, dan lingkungan tempat tanaman tersebut tumbuh. Temuan ini memberikan dasar untuk lebih mendalam dalam memahami dinamika hubungan antara tanaman dan fungi endofit dalam konteks ekologi dan keberlanjutan hutan.

Pengujian Patogenisitas secara In Vitro

Analisis dari hasil pengujian patogenisitas terhadap isolat akar *P. merkusii* yang dapat dilihat pada Tabel 2 mengungkapkan bahwa dari 25 isolat yang diuji, sebanyak 12 isolat menunjukkan sifat patogen, sedangkan 13 isolat bersifat non patogen. Pengujian dilakukan menggunakan benih sawi ciasim manis, yang dianggap sebagai indikator benih yang non mikoriza (Dalimunthe *et al.* 2019). Isolat-isolat yang bersifat patogen, seperti Apls 3.1.3, Apls 3.4.3, Apls 1.4.1, Apls 2.3.1.1, Apls 3.4.2, Apls 2.1.1, Apls 3.4.3b, Apls 3.4.1.1, Pls 25.2, Apg 11.3, Hs 6.1, dan Hs 9.5, diduga menyebabkan gangguan fisiologi pada bibit sawi yang ditandai dengan gejala busuk atau nekrosis.

Tabel 1 Hasil pengujian patogenisitas isolat akar *P. merkusii* yang berasal dari 4 lokasi

No	Asal Isolat	Patogen	Non-Patogen	Total
1	Kampus Dramaga IPB	9	7	16
2	Dabun Gelang Kab. Gayo Lues	1	1	2
3	Gunung Walat Kab.Sukabumi	-	2	2
4	Gunung Halimun Salak Kab. Bogor	2	3	5
Total		12	13	25



Gambar 1 Hasil pengujian patogenisitas isolat akar *P. merkusii* pada benih sawi ciasim manis secara in vitro, (A) isolat patogen, (B) non patogen, (C) kontrol

Sebaliknya, isolat-isolat non patogen, seperti Apls 1.5.3, Apls 3.1.4, Pls 2.4, Pls 12.5, Pls 17.5, Pls 18.1, Pls 32.1, Apg 23.5, Gw 37.5, Gw 1.5, Hs14.6a, Hs14.6b, dan Hs14.6c, tidak menunjukkan gejala gangguan pada benih sawi. Benih sawi ciasim manis yang dapat tumbuh pada media perlakuan (OMA+cendawan) namun tidak normal dianggap sebagai indikator bahwa benih tersebut bersifat patogenik, sementara yang tumbuh normal bersifat non patogenik (Irawati *et al.* 2017).

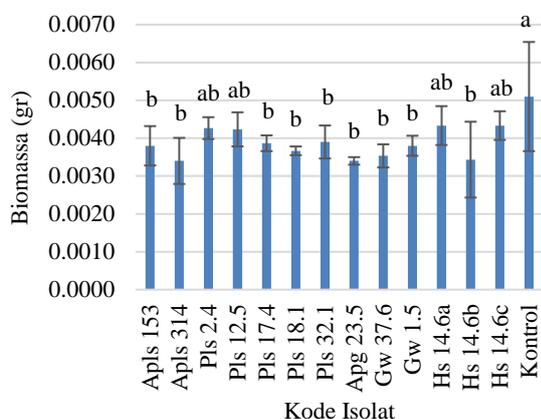
Perlu diperhatikan bahwa beberapa cendawan endofit, terutama cendawan DSE, memiliki karakteristik khusus yang mewajibkan pertumbuhannya di media yang sesuai dan tidak dapat tumbuh di media buatan. Media OMA, yang sering digunakan dalam penelitian ini, umumnya digunakan untuk menumbuhkan dan menyimpan kultur isolat dalam jangka waktu yang lama serta mengandung nutrisi lengkap (Khastini *et al.* 2015). Hasil analisis patogenisitas memberikan pemahaman mendalam mengenai potensi risiko beberapa isolat cendawan terhadap benih sawi ciasim manis, yang dapat menjadi dasar untuk merancang strategi pengelolaan penyakit tanaman.

Biomasa benih sawi ciasim manis

Hasil pengujian patogenisitas dengan menggunakan benih sawi ciasim manis diperoleh 13 isolat yang non patogen. Selain informasi isolat non patogen diperoleh juga data biomassa dari hasil pengujian patogenisitas yang disajikan pada Gambar 2.

Perlakuan benih sawi ciasim manis tanpa pemberian isolat DSE pada media OMA (perlakuan kontrol) menunjukkan hasil biomassa yang berbeda nyata yaitu sebesar 0.0051 gr bila dibandingkan dengan pemberian isolat Hs 14.6c, Hs 14.6a, Pls 2.4, Pls 12.5, Pls 32.1, Pls 17.4, Apls 1.5.3, Gw 1.5, Pls 18.1, Gw 37.6, Hs 14.6b, dan Apg 23.5 dan Apls 3.1.4 masing-masing sebesar 0,0043 gr; 0,0043 gr; 0,0043 gr; 0,0042; 0,0039 gr; 0,0039 gr; 0,0038 gr; 0,0038 gr; 0,0037 gr; 0,0035 gr; 0,0034 gr; 0,0034 gr dan 0,0034 gr secara berturut-turut. Sedangkan perlakuan antar isolat (diinokulasi DSE) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

Biomassa benih sawi ciasim manis pada perlakuan kontrol menunjukkan hasil yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan isolat yang diinokulasi



Gambar 2 Analisis sidik ragam biomassa benih sawi ciasim manis pada pengujian isolat non-patogen

DSE. Pertumbuhan benih sawi ciasim manis pada perlakuan kontrol (tidak diinokulasi) masih sangat mendukung karena ketersediaan unsur hara pada media OMA. Pada perlakuan yang di inokulasi isolat, kemungkinan ketersediaan nutrisi pada media OMA telah berkurang, karena nutrisi pada media OMA telah dimanfaatkan oleh isolat selama 14 hari masa inkubasi sebelum diberikan perlakuan pada benih sawi ciasim manis. Namun secara umum perlakuan isolat DSE masih memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan benih sawi ciasim manis dan menunjukkan adanya aktivitas dari cendawan endofit (Newsham 2011; Mayerhofer *et al.* 2013).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Kegiatan isolasi akar *Pinus merkusii* dari 4 lokasi dengan menggunakan 1.160 segmen akar diperoleh sebanyak 25 isolat yang teridentifikasi sebagai cendawan DSE. Isolasi akar *Pinus merkusii* dari kampus Dramaga IPB diperoleh sebanyak 16 isolat (5%), Dabun Gelang Kabupaten Gayo Lues diperoleh 2 isolat (0,79%), Hutan Pendidikan Gunung Walat diperoleh 2 isolat (2%) dan Taman Nasional Gunung Halimun Salak diperoleh 5 isolat (1,74%). Hasil pengujian patogenisitas dengan menggunakan media OMA diperoleh 12 isolat yang bersifat patogen dan 13 isolat non patogen. Dari analisis biomassa benih sawi ciasim manis pada isolat non patogen diperoleh biomassa tertinggi pada perlakuan kontrol (tidak diinokulasi DSE) dan terendah pada DSE isolat Apg 23.5 dan Hs 14.6b masing-masing sebesar 0,0051 gr, 0,0034 gr dan 0,0034 gr secara berturut-turut.

Saran

Berdasarkan hasil isolasi dari akar *Pinus merkusii* pada penelitian ini masih sangat sedikit diperoleh isolat yang memiliki karakteristik seperti cendawan DSE dan mempunyai sifat non patogen. Untuk mendapatkan isolat yang lebih banyak dari kegiatan isolasi maka perlu dicarikan metode isolasi dan sterilisasi akar lainnya, sehingga mampu menghasilkan isolat DSE yang lebih banyak. Penggunaan komposisi media untuk isolasi juga perlu dilakukan agar diperoleh isolat yang mampu tumbuh dengan baik dan memiliki kecepatan tumbuh saat dilakukan isolasi akar tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifuddin M, Bone M, Iswahyudi I, Ibrahim A, Rijai L. 2017. Isolasi dan karakterisasi fungi endofit tanaman Tapak Dara (*Catharanthus Roseus*). *J Trop Pharm Chem.* 4(1): 22–26.
- Dalimunthe CI, Soekarno BPW, Munif A, Surono S. 2019. Seleksi dan uji potensi cendawan dark septate endophyte sebagai agensia hayati penyakit jamur akar putih (*Rigidoporus microporus*) pada tanaman karet. *J Penelit Karet.* 37(1): 11–20.
- Doss RP, Clement SL, Kuy SR, Welty RE. 1998. A PCR-

- based technique for detection of Neotyphodium endophytes in diverse accessions of tall fescue. *Plant Dis.* 82: 738–740. doi:10.1094/pdis.1998.82.7.738.
- Hakim SS, Budi SW, Turjaman M. 2014. Sterilisasi permukaan untuk mengisolasi fungi endofit akar pada Meranti Tembaga (*Shorea leprosula* Miq.) di Hutan Penelitian Dramaga leprosula Miq in Dramaga Experimental Forest. *J Silvikultur.* 05(1): 49–53.
- Huang Y, Wang J, Li G, Zheng Z, Su W. 2001. Antitumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalataxus fortunei* and *Torreya grandis*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 31(2): 163–167.
- Irawati AFC, Mutaqin KH, Suhartono MT, Sastro Y, Sulastri N, Widodo N. 2017. Eksplorasi dan pengaruh cendawan endofit yang berasal dari akar tanaman cabai terhadap pertumbuhan benih cabai merah. *J Hortik.* 27(1): 105. doi:10.21082/jhort.v27n1.2017.p105-112.
- Khastini RO, Marianingsih P, Gia S, Fitri S. 2015. Isolasi dan penapisan cendawan endofit akar asal ekosistem mangrove Cagar Alam Pulau Dua Banten. *J Biosci.* 12(1): 16–28.
- Mayerhofer MS, Kernaghan G, Harper KA. 2013. The effects of fungal root endophytes on plant growth: A meta-analysis. *Mycorrhiza.* 23(2): 119–128. doi:10.1007/s00572-012-0456-9.
- Munif A, Wibowo AR, Herliyana EN. 2015. Bakteri endofit dari tanaman kehutanan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman tomat dan agens pengendali *Meloidogyne* sp. *J Fitopatol Indones.* 11(6): 179–186. doi:10.14692/jfi.11.6.179.
- Newsham KK. 2011. A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes. *New Phytol.* 190(3): 783–793. doi:10.1111/j.14698137.2010.03611.x.
- Rusdiana O, Fakuara Y, Kusmana C, Dan), Hidayat Y. 2000. Respon pertumbuhan akar tanaman sengon (*Paraserianthes falcataria*) terhadap kepadatan dan kandungan air tanah podsolik merah kuning. *Artik Trop For Manag J VI.* 6(2): 43–53.
- Schulz B, Boyle C. 2006. What are endophytes? Di dalam: *Microbial root endophytes*. Springer. hlm 1–13.
- Sieber TN, Grünig CR. 2006. Biodiversity of fungal root-endophyte communities and populations, in particular of the dark septate endophyte *Phialocephala fortinii* sl. Di dalam: *Microbial root endophytes*. Springer. hlm 107–132.
- Sondergaard TE, Schulz A, Palmgren MG. 2004. Energization of transport processes in plants. Roles of the plasma membrane H⁺-ATPase. *Plant Physiol.* 136(1): 2475–2482. doi:10.1104/pp.104.048231.
- Strobel G, Daisy B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol Mol Biol Rev.* 67(4): 491–502.
- Strobel GA. 2003. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes Infect.* 5(6):535–544. doi:10.1016/S1286-4579(03)00073-X.
- Surono, Narisawa K. 2018. The inhibitory role of dark septate endophytic fungus *Phialocephala fortinii* against *Fusarium disease* on the *Asparagus officinalis* growth in organic source conditions. *Biol Control.* 121: 159–167.
- Susilowati DN, Rakhmaniar A, Radiastuti N, Roostika I. 2019. Diversity of endophytic fungus in the root, leaf, stolon and petiole of asiatic pennywort (*Centella asiatica*). *Bul Penelit Tanam Rempah dan Obat.* 30(1): 47–58.
- Tamilarasi S, Nanthakumar K, Karthikeyan K, Lakshmanaperumalsamy P. 2007. Diversity of root associated microorganisms of selected medicinal plants and influence of rhizomicroorganisms on the antimicrobial property of *Coriandrum sativum*. *J Environ Biol.* 29(1): 127.