

PENGUNAAN BEBERAPA JENIS TINTA UNTUK MENGGANTIKAN TINTA TRYPHAN BLUE DALAM PENGAMATAN KOLONISASI MIKORIZA**Hadianur¹**

¹Laboratorium Hortikultura, Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, e-mail: hadianur29@yahoo.com

Submisi : 23 Oktober 2019 ; Penerimaan : 17 Juli 2019

ABSTRAK

Pupuk hayati mikoriza merupakan salah satu pupuk yang digunakan untuk mengatasi masalah pada tanah marginal. Mikoriza berpotensi memfasilitasi penyediaan berbagai unsur hara bagi tanaman terutama unsur Phospor (P). Perbaikan pertumbuhan dan kenaikan hasil berbagai tanaman berkaitan dengan peningkatan penyerapan unsur hara P untuk tanaman. Penggunaan mikoriza pada tanaman yang dibudidayakan terlebih dahulu harus diuji apakah akar yang digunakan sebagai inokulannya terkolonisasi mikoriza atau tidak, karena jika akar yang digunakan tidak terkolonisasi mikoriza maka tidak akan terjadi kolonisasi jamur pada akar tanaman target. Konsekuensinya pupuk P yang tersedia di tanah tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Trypan Blue ($C_{34}H_{24}N_6Na_4O_{14}S_4$) merupakan bahan kimia yang biasa digunakan untuk pengamatan kolonisasi mikoriza. Senyawa ini digunakan untuk mempermudah pengamatan terhadap akar yang terkolonisasi mikoriza. Pada dasarnya penggunaan Trypan Blue berbahaya bagi kesehatan manusia sehingga diperlukan satu tehnik yang aman dan tidak berbahaya serta murah untuk proses pewarnaan akar pada pengamatan kolonisasi akar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana tinta yang beredar di pasaran dan mudah didapat dengan harga yang terjangkau untuk menggantikan tinta Tryphan Blue dalam pengamatan kolonisasi mikoriza. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Non Faktorial dengan 5 ulangan. Jenis tinta yang digunakan terdiri dari Tinta Quink Parker, Epson C664, Aiflo biru dan e-Print. Pengamatan yang diamati adalah perbandingan kolonisasi akar mikoriza. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis tinta berpengaruh sangat nyata terhadap perbandingan pengamatan kolonisasi akar/kolonisasi mikoriza dan persentase kolonisasi akar. Jenis tinta Quink Parker biru dan Epson C 664 merupakan tinta yang dapat menggantikan tinta Tryphan Blue pada pengamatan kolonisasi mikoriza.

Kata Kunci : Kolonisasi; Tinta; Tryphan Blue; Mikoriza.

PENDAHULUAN

Pupuk Hayati mikoriza merupakan salah satu pupuk yang digunakan untuk mengatasi masalah pada tanah marginal karena mikoriza berpotensi memfasilitasi penyediaan berbagai unsur hara bagi tanaman terutama P. Perbaikan pertumbuhan dan kenaikan hasil berbagai tanaman berkaitan dengan perbaikan nutrisi P tanaman (Simanungkalit, 2001)

Di samping sebagai fasilitator penyerapan hara, mikoriza juga berpotensi sebagai pengendali hayati (*bioprotektor*). Pada umumnya tanaman

yang mengandung mikoriza mengalami kerusakan lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman tidak mengandung mikoriza dan serangan penyakit berkurang atau perkembangan patogen terhambat. Mikoriza Asbuskular dapat menurunkan serangan penyakit terhadap tanaman (Simanungkalit, 1999). Mikoriza juga berperan penting dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman agrikultur, hortikultura, dan tanaman hutan (Wubet *et al.*, 2003).

Mikoriza mampu meningkatkan adaptasi tanaman bawang merah terhadap cekaman kekeringan yang

berkaitan dengan peningkatan pertumbuhan akar, peningkatan serapan air dan hara khususnya fosfor dan nitrogen. Pada kondisi tercekam kekeringan, varietas peka lebih tanggap terhadap mikoriza daripada varietas toleran (Swarsono dan Heru, 2014) dan Damayanti *et al.*, (2014) menyatakan bahwa mikoriza mampu meningkatkan bobot tanaman bawang merah.

Inokulasi mikoriza dapat meningkatkan pertumbuhan kacang merah secara signifikan (Hylton and Ahmad, 1994). Inokulasi mikoriza juga menyebabkan peningkatan fosfor yang signifikan terhadap tanaman kacang merah (Osman *et al.* 1990; Benadis *et al.* 2014). Pengaplikasian mikoriza pada tanaman tomat dapat memperpanjang masa berbuah tomat serta inokulasi mikoriza berpotensi penerapan bioteknologi mikoriza dalam hortikultura berkelanjutan (Reguar *et al.*, 2003). Inokulasi mikoriza jenis *oryzae* dan jamur mikoriza arbuskula dapat meningkatkan pertumbuhan dan kandungan klorofil cabai (Kim *et al.*, 2009)

Mikoriza dapat diaplikasikan dengan beberapa cara yaitu menggunakan tanah yang sudah mengandung mikoriza, menggunakan akar yang sudah mengandung mikoriza. Menggunakan miselia cendawan atau spora mikoriza yang sudah dikemas dalam bentuk kapsul, dengan cara menaburkannya pada lubang tanam sebelum penanaman, dan dengan cara menaburkan tanah yang terkolonisasi mikoriza disekitar akar tanaman (Hardiatmi, 2008).

Penggunaan mikoriza pada tanaman yang dibudidayakan terlebih dahulu harus diuji apakah akar yang digunakan sebagai inokulannya terkolonisasi mikoriza atau tidak karena jika akar yang digunakan tidak terkolonisasi mikoriza maka tidak akan terjadi

kolonisasi jamur pada akar tanaman target sehingga pupuk P yang tersedia di tanah tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman.

Berdasarkan masalah diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan beberapa jenis tinta untuk menggantikan tinta *tryptophan blue* dalam pengamatan kolonisasi mikoriza.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya tinta yang beredar di pasaran dan mudah didapat dengan harga yang terjangkau dapat menggantikan tinta *tryphan blue* dalam pengamatan kolonisasi mikoriza sehingga hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang ada tidaknyanya tinta yang dapat menggantikan peran *tryphan blue* dalam pengamatan kolonisasi mikoriza dengan harga yang murah dan mudah di dapat.

METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Kebun Percobaan dan Rumah Kaca Fakultas Pertanian dan Laboratorium Hortikultura Universitas Syiah, dari bulan Mei sampai dengan Juli 2018.

Bahan dan Alat

Bahan yang dipakai pada penelitian ini diantaranya adalah: benih cabai merah, tanah Andisol, polibag pembibitan, pupuk kandang, pupuk NPK mutiara, pot volume 14 kg, KOH, Tinta Quink Parker, tinta printer Epson C664, Tinta printer Aiflo warna biru, tinta printer e Print warna biru, cuka 25%, aquades.

Alat yang dipakai pada penelitian ini diantaranya: timbangan analitik, mikroskop, gunting, pot dan alas pot, peralatan gelas, *hot plate*.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) nonfaktorial 4x1 dengan 3 ulangan. Adapun faktor yang diteliti adalah jenis

tinta yang beredar dipasaran dan mudah didapat, yang terdiri dari 4 taraf yaitu:

T₀ = Tinta Quink Parker biru

T₁ = Tinta Epson C 664

T₂ = Tinta Aiflo Biru

T₃ = Tinta Data e-Print Biru

Pelaksanaan Penelitian

Media persemaian dan media tanam menggunakan tanah Andisol yang diperoleh dari daerah Bener Meriah. Media semai terdiri dari komposisi tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 2 : 1. Media persemaian dimasukkan dalam polibag pembibitan dan disusun dalam talem (*tray*), benih siap untuk dikecambahkan. Sedangkan untuk media tanam penelitian campuran tanah dan pupuk kandang (2 : 1) dimasukkan dalam pot isi 14 kg. Tanah dan pupuk kandang yang digunakan diayak dengan ayakan 2 mesh. Benih diaerator dengan aquades selama 60 menit untuk mempercepat perkecambahan. Benih ditanam sedalaman 1 cm dan ditutup dengan tanah. Mikoriza 5 g per polybag diberikan pada saat pembibitan.

Pemindahan tanam dari polibag pembibitan ke pot penelitian dilakukan pada saat bibit berumur tiga minggu atau bibit telah mempunyai lima sampai tujuh helai daun. Setiap pot penelitian di tanam satu bibit tanaman. Mikoriza diberikan dengan dosis 10 g per tanaman atau per pot pada saat tanaman dipindahkan dari polibag pembibitan ke pot penelitian, diberikan disekeliling lubang tanam dan harus mengenai akar bibit tanaman yang digunakan.

Pupuk dasar yang digunakan adalah pupuk anorganik diberikan 1/2 dosis anjuran yaitu Urea 200 kg ha⁻¹ (2 g per polibag), SP 36 dan KCl 150 kg ha⁻¹ (1,5 g per polibag). Pupuk Urea diberikan dalam dua tahap, tahap pertama diberikan setengah dosis (1 g

per polibag) pada saat pindah tanam, sedangkan setengah dosis lagi (1 g per polibag) diberikan pada saat tanaman berumur empat minggu. Pupuk KCl dan SP36 diberikan pada saat tanam. Pemberian pupuk anorganik dilakukan dengan cara sebar di sekitar perakaran tanaman.

Penyiraman dilakukan pada pagi dan sore hari sampai kapasitas lapang, menggunakan wadah dari plastik. Penyulaman dilakukan pada tanaman yang pertumbuhannya tidak normal, mati atau terserang penyakit, dan menggantikannya dengan tanaman lain yang pertumbuhannya seragam. Penyulaman dilakukan paling lambat dua minggu setelah tanam.

Pengajiran untuk tanaman cabai dilakukan saat tanaman berumur tiga minggu dengan menggunakan ajir dari bambu berukuran 100 cm dan lebar 4 cm yang ditancapkan pada setiap pot. Tanaman diikat pada ajir dengan menggunakan tali rafia. Pewilangan dilakukan setelah tanaman berumur 2 minggu pada tunas yang tumbuh di ketiak daun yang berada di bawah cabang utama, dan bunga pertama yang muncul pada cabang utama. Pewilangan dilakukan agar pertumbuhan vegetatif dapat tumbuh optimal. Pengamatan kolonisasi mikoriza dan persentasi kolonisasi mikoriza dilakukan pada saat tanaman sudah berumur 45 hari atau akhir masa vegetatif. Tanaman dibongkar dengan teliti dan hati-hati agar tidak merusak akar. Kemudian akar dicuci sampai bersih di air mengalir. Akar dipotong-potong sepanjang 10 cm dan dimasukkan dalam botol sampel.

Pengamatan

Persiapan Pengamatan:

Untuk dapat dilakukan pengamatan maka akar harus diperlakukan terlebih dahulu melalui proses pewarnaan akar (Brundrett *et al*, 1996) yaitu

1. Akar dari setiap tanaman dicuci dengan air sampai bersih, kemudian direndam dalam larutan KOH 10% selama 24 jam, sampai akar berwarna putih atau kuning bening.
2. Akar dibilas dengan air bersih agar KOH-nya hilang. Kemudian direndam dalam larutan H₂O₂ 5% selama dua hari.
3. Akar dibilas kembali dengan air bersih agar H₂O₂-nya hilang.
4. Selanjutnya Akar direndam dengan tinta cuka sampai akar berwarna biru.
5. Pengamatan akar dilakukan dengan memotong akar sepanjang 5 cm yang telah direndam dengan larutan tinta cuka sebanyak 10 potong akar dan ditata di atas preparat serta ditutup dengan *cover glass*.

- 6 – 25% = rendah (Kelas 2)
- 26 – 50% = sedang (Kelas 3)
- 51 – 75% = tinggi (Kelas 4)
- >75% = sangat tinggi (Kelas 5).

Kolonisasi akar dapat diketahui dengan adanya hifa, miselia, vesikula, arbuskula, maupun spora.

Persentase akar yang terkolonisasi dihitung dengan rumus:

Persentase kolonisasi akar:

$$= \frac{\sum \text{sampel akar terkolonisasi mikoriza}}{\sum \text{sampel yang diamati}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perbandingan Kolonisasi Akar (Kualitatif)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pengamatan perbandingan kolonisasi akar berpengaruh sangat nyata terhadap jenis tinta yang digunakan. Rata-rata perbandingan kolonisasi akar terhadap jenis tinta dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa jenis tinta yang lebih baik untuk mengamati kolonisasi mikoriza pada tanaman cabai merah dijumpai pada tinta Quink Parker dan Epson C 664, yang berbeda nyata dengan tinta aiflo dan e-print. Tinta aiflo dan e-print berpengaruh tidak nyata terhadap pengamatan kolonisasi akar walaupun secara statistik nampak berbeda.

Perbandingan Kolonisasi Akar (kualitatif)

Perbandingan kolonisasi akar dilakukan dengan cara melihat pewarnaan pada akar dan membandingkan dengan pemakaian tinta quink parker yang dinilai dengan kriteria sangat terang (C1), terang (C2) dan tidak terang (C3).

Persentase Kolonisasi Akar (%)

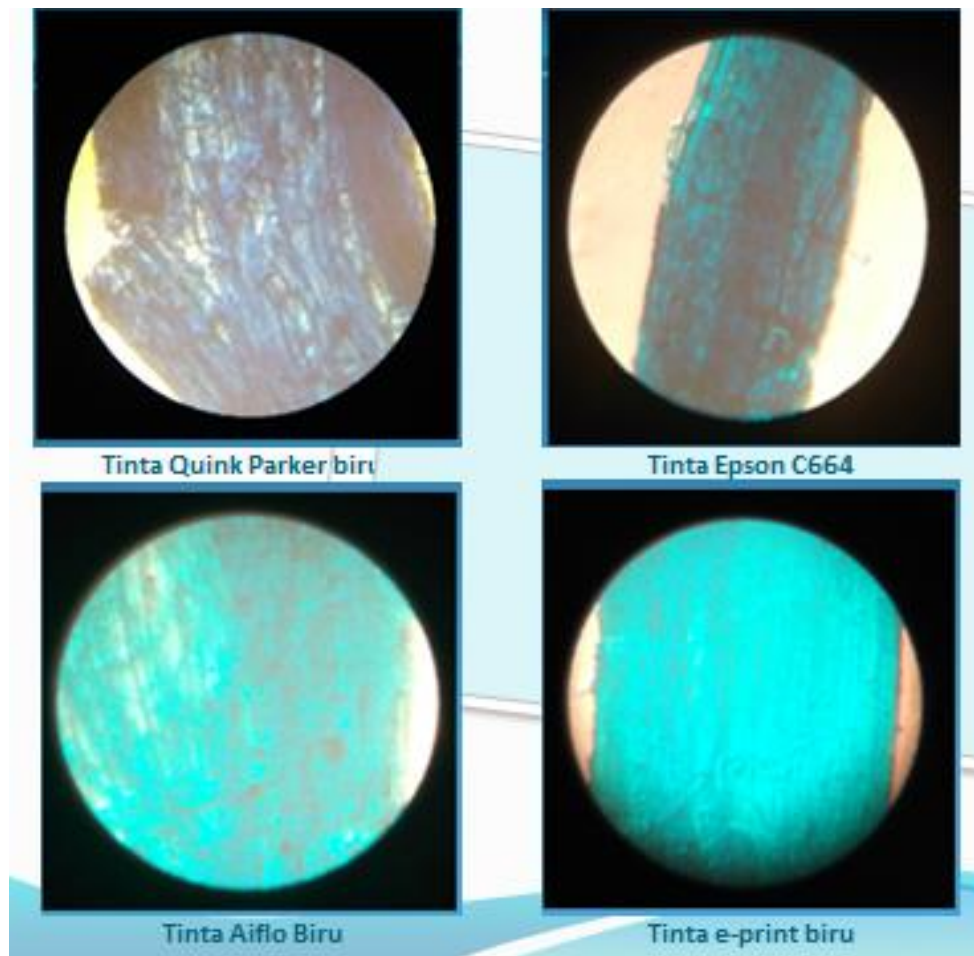
Persentase akar terkolonisasi ditentukan berdasarkan kriteria Rajapakse dan Miller (1992) yang dimodifikasi sebagai berikut:

- <5% = sangat rendah (Kelas 1)

Tabel 1. Rata-rata Perbandingan Kolonisasi Akar terhadap Jenis Tinta

Jenis Tinta	Pengamatan Kolonisasi Akar
T ₁ = Tinta Quink Parker biru	1,2a
T ₂ = Tinta Epson C 664	1,2a
T ₃ = Tinta Aiflo Biru	2,4b
T ₄ = Tinta Data e Print Biru	3,0b
BNJ _{0,05}	0,81

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% (uji BNJ_{0,05})



Gambar 1. Perbandingan penampakan mikoriza pada tinta yang berbeda

Tinta Quink Parker dan Epson C664 dapat mengamati akar yang terkolonisasi mikoriza secara jelas begitu juga dengan tinta Aiflo biru, namun pada sebagian ulangan yang diamati tinta Aiflo biru tidak menunjukkan kolonisasi dengan jelas atau buram. Tinta e-Print biru pada semua ulangan tidak dapat menunjukkan kolonisasi secara jelas hanya samar samar atau buram. Penampakan dari tinta yang digunakan pada pengamatan kolonisasi mikoriza dapat dilihat pada gambar 1.

Penelitian yang dilakukan oleh Cao *et al* (2013) menyatakan bahwa tinta

tryphan blue dapat digantikan dengan tinta asam asetat biru dari tiga tinta yang digunakan yaitu biru, merah dan hitam. Tinta asam asetat biru dapat menunjukkan warna yang kontras pada pengamatan kolonisasi mikoriza pada tanaman jeruk.

Persentase Kolonisasi mikoriza (%)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tinta Quink parker biru, Epson C 664 dan Aiflo biru berpengaruh sangat nyata terhadap pengamatan kolonisasi akar mikoriza.

Tabel 2. Rata-rata Kolonisasi Mikoriza terhadap Jenis Tinta

Jenis Tinta	Kolonisasi Kolonisasi (%)
T ₀ = Tinta Quink Parker biru	84 b
T ₁ = Tinta Epson C 664	84 b
T ₂ = Tinta Aiflo Biru	82 b
T ₃ = Tinta Data e Print Biru	12 a
BNJ _{0,05}	0,81

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% (uji BNJ_{0,05})

Tabel 2 menunjukkan bahwa kolonisasi mikoriza yang lebih baik dijumpai pada jenis tinta Quink Parker, Epson C 664 T2 dan Aiflo biru yang berbeda sangat nyata dengan tinta e-Print. Kolonisasi mikoriza pada tanaman cabai termasuk kategori sangat tinggi, hal ini dikarenakan akar tanaman cabai dapat mengkolonisasi mikoriza secara baik sehingga spora dapat mensuplai kebutuhan nutrisi organisme di dalam tanah yang diperlukan oleh tanaman.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis tinta memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pengamatan kolonisasi akar yang terkolonisasi mikoriza. Penelitian Fitriyah (2012) menunjukkan pemberian inokulan Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) sebanyak 100 g mendukung perkecambahan spora yang lebih cepat dan kolonisasi akar lebih aktif dalam melakukan kolonisasi akar. Adanya kolonisasi mikoriza pada akar tanaman dapat menyebabkan perubahan morfologi pada tanaman, yaitu mikoriza akan menggantikan peran akar dengan hifa eksternalnya dalam menyerap air dan unsur hara dalam tanah (Prasasti *et al.*, 2013). Sesuai dengan penelitian Junita (2015) yang menyatakan bahwa pemberian mikoriza mampu meningkatkan persentase kolonisasi akar.

Binatang di dalam tanah seperti semut atau colembola dan cacing dapat memakan fungi atau spora dari FMA. Nematoda mungkin juga dapat

memparasiti spora namun penelitian tentang hal ini belum banyak dilakukan. Bakteri juga dapat masuk ke dalam spora dan kemudian menghasilkan enzim penghancur dinding sel untuk ke dalam protoplasma dari fungi. Fungi arbuskula mungkin menjadi kurang aktif apabila disitu terdapat juga colembola (springtail). Adanya serangga yang hidup di dalam tanah juga akan mengurangi populasi FMA di dalam tanah (Suhardi, 1989)

Kesimpulan

1. Perlakuan jenis tinta berpengaruh sangat nyata terhadap perbandingan pengamatan mikoriza dan kolonisasi mikoriza.
2. Jenis tinta Quink Parker biru dan Epson C 664 merupakan tinta yang dapat menggantikan tinta tryptophan blue pada pengamatan kolonisasi mikoriza.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan warna yang berbeda dari tinta quink parker dan Epson.

DAFTAR PUSTAKA

- Benadis, C., A. Bekki, S. Khoulassa, Boukhatem Z.F, Drevon J.J. 2014. *Mycorrhizal colonization decreases respiration of common bean nodulated root in hydroaerobic culture.*

- Symbiosis. Springer Netherlands. Vol. 62. Issue 3:135-142.
- Brundett, M., Bougher N, Dell B, Grove T, Malajczuk N. 1996. *Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture*. ACIAR Monograph 32. 374+xp
- Cao, M.Q., Q.S. Wu and Y.N. Zou. 2013. *An Improved Ink-acetic Acid Technique for Staining Arbuscular Mycorrhizas of Citrus*. International Journal of Agriculture & Biology. 15:386-388
- Damayanti, G. Wirian., Purnomo, Bambang., Sariasih., Yenny. 2014. *Peran Fungi Mikoriza Vesikular Arbuskular Dalam Menekan Penyakit Bercak Ungu (Altenaria Porri) Pada Bawang Merah*. Undergraduated thesis, Universitas Bengkulu.
- Fitriyah, E. 2012. *Pengaruh mikoriza dan umur benih terhadap derajat kolonisasi, serapan P, pertumbuhan dan hasil padi (Oryza sativa L.) dengan Metode SRI (System of Rice Intensification)*. Majalah Ilmiah Solusi Unsika 10 (22) : 1-11 Ed. Mar-Mei 2012.
- Hardiatmi, S. J. M. 2008. *Pemanfaatan Jasad Renik Mikoriza Untuk Memacu Pertumbuhan Tanaman Hutan*. Jurnal Inovasi Pertanian, 7: 1-10.
- Hylton, K.D.M.D., M.H. Ahmad. 1994. *Inoculation response in kidney beans (Phaseolus vulgaris L.) to vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia in non-sterilized soil*. Biology and Fertility of Soils. Springer Verlag. 18(2):95-98
- Junita, E. 2015. *Pengaruh Media Tanam dan Fungi Mikoriza Arbuskular terhadap pertumbuhan dan hasil Tanaman Cabai Merah (Capsicum annum L.)*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- Prasasti, O. H., K. I Purwani, & S. Nurhatika. 2013. *Pengaruh mikoriza Glomus fasciculatum terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman Kacang Tanah yang terinfeksi patogen Sclerotium rolfsii*. J. Sains dan Seni Pomits 2 (2) : 74 – 78
- Simanungkalit, R.D.M. 1999. *Production of arbuscular mycorrhizae inoculation: forward and challenges*. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor. Indonesia
- Simanungkalit, R. D. M., 2001. *Aplikasi Pupuk Hayati dan Pupuk Kimia Suatu Pendekatan Terpadu*, Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor. Buletin Agrobio. 4 (2)
- Suhardi. 1989. *Mikoriza Vesikular Arbuskular*. Bioteknologi Universitas Gajah Mada
- Swasono dan Heru, F.D. 2006. *Peranan mikoriza arbuskular dalam mekanisme adaptasi beberapa varietas bawang merah terhadap cekaman kekeringan di tanah pasir pantai*. IPB Repository. Bogor
- Wubet, T., I. Kottke, D. Teketay, and F. Oberwinkler. 2003. *Mycorrhizal Status Of Indigenous Trees In Dry Afromontane Forest Of Ethiopia*. Ethiopian Agricultural Research. Forest Ecology And Management 179: 387 – 399