Reisolasi dan Identifikasi Fungi pada Batang Gaharu (*Aquilaria malaccencis* Lamk.) Hasil Inokulasi.

Isolation and Identifying of Fungi from The Stem of Agarwood (Aquilaria malaccencis Lamk.) was had been Inoculation.

Lisdayania*, Nelly Annab, Edy Batara Mulya Siregarb

^aMahasiswa Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Jl. Tri Dharma Ujung Kampus USU 20155 (*Penulis Koerspondensi: E-mail: <u>ylisda17@yahoo..co.id</u>)

^bStaf Pengajar Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara

Abstract

Gubal of Agarwood is the infection of the microorganism and one of commonly used is *Fusarium* sp. The purpose of this research was to determine the presence of *Fusarium* sp consistency in agarwood (*Aquilaria malaccencis* Lamk.) which has been in the fungal inoculation. Sample which to used is stem which is taken away from Penungkiran Durin Jangah village, Pancur Batu. Isolation and identifying has been done in Forest Biotechnology laboraturium of Agriculture faculty University of Sumatera Utara, which is conducted from April – October 2013.

The result of this research showed that there are fifteen isolat of fungi from the stem, that are five isolat *Fusarim* sp, two isolat *Acremonium* sp, two isolat *Alternaria alternaria*, one isolat *Nigrospora sphaerica*, two isolat *Scopulariopsis* sp, two isolat *Cladosporium* sp, one isolat *Scytalidium lignicola*, one isolat *Mucor* sp. Consistency *Fusarium* sp are superior on top stem and all of the part of the stem can be found *Fusarium* sp. *Keywords: fungi. Agarwood. Reisolation. consistency*

PENDAHULUAN

LATAR BELAKANG

Fungi adalah mikroorganisme tidak berklorofil, berbentuk hifa atau sel tunggal, eukariotik, berdinding sel dari kitin atau selulosa, bereproduksi seksual dan aseksual. Dalam dunia kehidupan fungi merupakan kingdom tersendiri, karena mendapatkan makanannya berbeda dari organisme eukariotik lainnya, yaitu melalui absorpsi. Sebagian besar tubuh fungi terdiri atas benang-benang yang disebut hifa, yang saling berhubungan menjalin semacam jala, yaitu miselium. Miselium dapat dibedakan atas miselium vegetatif yang berfungsi menyerap nutrien dari lingkungan dan miselium fertil yang berfungsi dalam reproduksi (Gandjar et al, 1999).

Fungi dapat hidup disetiap tanaman. Ada yang bersifat merugikan bagi tanaman dan ada juga yang memberikan keuntungan bagi tanaman. Salah satu manfaat yang dihasilkan fungi pada tanaman adalah fungi yang menyebabkan terbentuknya gubal pada gaharu yang membuat tanaman ini menghasilkan batang yang berbau harum dan memiliki nilai jual yang tinggi. Tapi tidak semua jenis jamur yang ada digaharu yang dapat menyebabkan terbentuknya gubal, hanya jenis-jenis fungi tertentu yang dapat menghasilkan gubal pada gaharu. Diantaranya yang telah banyak diteliti adalah Fusarium sp dan Acremonium sp.

Bertahun-tahun masyarakat dan pemerintah daerah Kalimantan dan Sumatera menikmati berkah dari keberadaan gaharu, baik sebagai sumber pendapatan masyarakat maupun penerimaan daerah. Besarnya permintaan pasar, harga jual yang tinggi, dan

pola pemanenan yang berlebihan serta perdagangan yang masih mengandalkan pada alam tersebut, maka jenis-jenis tertentu misalnya Aquilaria dan Gyrinops saat ini sudah tergolong langka, dan masuk dalam lampiran Convention on International Trade on Endangered Spcies of Flora and Fauna(Appendix II CITES) (Siran, 2010).

Keberadaan gaharu di alam sudah semakin terancam jumlahnya akibat banyaknya gaharu diambil untuk dijual produknya. Masyarakat yang mengambil gaharu di alam biasanya tidak melihat apakah kayu tersebut sudah layak ditebang atau belum. Sehingga kayu gaharu yang di alam semakin habis karena tidak diimbangi penanaman kembali. Akibat eksploitasi yang berlebihan ini dapat mengancam kelestarian pohon penghasil gaharu.

Pada tahun 1984 Badan litbang Kehutanan (FORDA) merupakan lembaga pertama di Indonesia vang telah melakukan serangkaian rekayasa bioinduksi gaharu dengan menggunakan jamur Fusarium, tetapi menggunakan media padat serbuk gergaji, ukuran mata bor sebesar (10-12 mm) yang mudah patah dengan harga Rp 40.000-80.000, dan lubang batang yang telah diinduksi jamur harus ditutup plastisin sehingga sangat repot sekali dalam aplikasinya. Teknologi ini kita sebut sebagai teknologi generasi I Kelemahan dari teknologi ini adalah (pertama). produksi gaharu yang dihasilkan berkisar 40% terjadinya pembentukan gaharu, sisanya batang yang disuntik mengalami kebusukan. Teknologi generasi pertama bioinduksi ini telah diikuti oleh beberapa institusi perguruan tinggi dan lembaga riset yang melaksanakan penelitian gaharu di daerah masingmasing. Selanjutnya pada tahun 2004, FORDA melanjutkan pengimbangan bioinduksi generasi II dengan koleksi jamur Fusarium yang berasal dari berbagai provinsi di Indonesia. Kehebatan dari teknologi generasi II ini adalah aplikasi yang sangat sederhana digunakan oleh petani hutan termasuk keluarganya dalam proses induksi gaharu. Spesifikasi dari teknologi generasi II adalah mata bor yang digunakan adalah jari-jari sepeda motor berukuran kecil (3 mm) dengan harga produksi Rp 5000 dan mata bor yang tidak mudah patah. Kehebatan dari teknologi generasi II ini adalah hasil produksi gaharu mencapai 100 % dengan cara mengikuti metode yang telah diterapkan. Produk bioinduksi gaharu ini sangat mudah dikomersialisasikan karena jamur Fusarium dapat diproduksi dengan media cair dalam waktu 7-10 hari. (Turjaman, 2006).

Adapun hal yang melatarbelakangi penelitian ini adalah untuk melihat fungi-fungi apa saja yang tumbuh dan berkembang pada gaharu yang telah diinokulasikan. Setelah dilakukan penelitian dengan melakukan isolasi kembali pada batang gaharu maka akan diketahui apakah hanya *Fusarium* saja yang terdapat di batang yang telah diinokulasikan tersebut atau ada jenis fungi lain yang tumbuh. Jika hanya ada spesies *Fusarium* maka ada kemungkinan penginokulasian yang telah dilakukan oleh petani gaharu berhasil dilakukan.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April -Oktober 2013. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Hutan, Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian batang yang telah terinfeksi jamur dari tanaman gaharu (*A. malaccensis* Lamk.), media PDA, alkohol 70%, spirtus, kloroks,tisu, kertas label dan aquades.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), otoklaf, cawan petri, jarum ose, bunsen, *scalpel*, pinset, erlenmeyer, *beker glass*, mikroskop, kaca preparat dan *cover glass*.

Pelaksanaan Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel penelitian diperoleh dari Desa Penungkiran Dusun II Durin Jangah Pancur Batu Kabupaten Deli Serdang Sumatera Utara. Bagian tanaman *A. Malaccensis*yang diambil adalah bagian dalam batang pohon dimana tanaman tersebut telah diinfeksi dengan jamur.

Pembuatan Media PDA

Sebanyak 19,5 g ditimbang serbuk media PDA, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml kemudian ditambahkan aquades hingga 500 ml. Selanjutnya erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Kemudian serbuk PDA dipanaskan di atas kompor sampai larut dan disterilkan dalam aotuklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pada saat akan dipakai, media PDA padat dipanaskan dan dicairkan di atas kompor. Kemudian didinginkan dalam suhu kamar hingga suhunya mencapai \pm 40°C, selanjutnya dituang secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak \pm 10 ml. Sebelum digunakan, media PDA dalam cawan petri dibiarkan menjadi dingin dan memadat.

Isolasi, Pemurnian, dan Identifikasi Fungi

Fungi diisolasi dari sampel tanaman *A. Malaccensis*yang telah ditanam pada media PDA. Sterilisasi permukaan pada sampel dilakukan dengan menggunakan *clorox* 2% selama 2 menit sebanyak tiga kali, kemudian dibilas dengan menggunakan aquadest steril sebanyak tiga kali. Setelah dilakukan sterilisasi permukaan lalu sampel diletakkan ke dalam botol yang telah di beri tissu yang dibasahi dengan aquades lalu setelah itu di tutup dengan alumunium foil. Setelah itu sampel dibiarkan selama 24 jam. Setelah didiamkan selama 24 jam, sampel lalu diletakkan pada cawan petri yang berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang telah diberi antibiotik untuk menghindari kontaminasi oleh bakteri.

Fungi yang tumbuh, masing-masing dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi media PDA dan diinkubasi pada suhu 25°C, kemudian diberi tanda. Fungi yang telah tumbuh pada media isolasi PDA kemudian secara bertahap dimurnikan satu persatu. Masing-masing isolat murni fungi yang diperoleh kemudian dipindahkan ke dalam media PDA dalam cawan Petri. Pemurnian ini bertujuan untuk memisahkan koloni dengan morfologi berbeda untuk dijadikan isolat tersendiri. Pengamatan morfologi dilakukan kembali setelah inkubasi selama 5-7 hari, dan apabila masih ditemukan pertumbuhan koloni yang berbeda secara makroskopik maka harus dipisahkan kembali sampai diperoleh isolat murni. Fungi diinkubasi pada suhu kamar selama 3-5 hari sesuai dengan pertumbuhannya.

Pengamatan dilakukan terhadap warna koloni, konidiofor dan spora yang dihasilkan. Selanjutnya diidentifikasi menggunakan buku identifikasi fungi Gandjar *et al* (1999).

Pendokumentasian jenis fungi

Biakan fungi kemudian didokumentasi untuk menunjukkan strukturnya, dokumentasi dilakukan terhadap satu biakan atau lebih untuk membandingkan bentuk dari beberapa jenis fungi tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gaharu pada awalnya hanya diambil dari hasil alam dengan menebang pohon-pohon penghasil gaharu yang ada di hutan alam. Sejak pengeksploitasian gaharu secara besar-besaran oleh masyarakat maka keberadaan gaharu dialam menjadi semakin sedikit. Oleh karena itu para peneliti melakukan penelitian mengenai fungi pembentuk gaharu agar bisa dilakukan inokulasi buatan pada tanaman penghasil gaharu. Setelah dilakukannya penelitian maka didapatkanlah fungi penginfeksinya dan yang sering menginfeksi adalah spesies Fusarium sp. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sumarna (2009) yang menyatakan bahwa hasil uji dominansi yang dilakukan di laboraturium menunjukkan bahwa penyakit dari genus Fusarium spp. diduga kuat merupakan penyakit utama dalam proses terbentuknya gaharu pada berbagai jenis pohon penghasil. Hal ini juga didukung dengan banyaknya peneliti yang melakukan uji infeksi Fusarium sp. pada tanaman penghasil gaharu. Salah satunya adalah penelitian Iskandar dan ahmad (2012) yang melakukan inokulasi dengan menggunakan 4 isolat Fusarium dandidapatkan hasil bahwa perlakuan inokulasi berpengaruh nyata terhadap potensi hasil gaharu.

Pada saat pengambilan sampel dilapangan bagian batang yang diambil adalah bagian dalam batang. Dimana cara pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil bagian batang dengan menggunakan pisau yang sebelumnya kulit batang telah dibersihkan dengan menggunakan parang.

cara pengambilan sampel dengan cara mencungkil bagian dalam batang yang telah diinokulasi menggunakan isolat fungi *Fusarium* sp. dimana sampel yang diambil telah diinokulasi selama 2 tahun.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada batang gaharu yang telah diinokulasi dengan mengambil sampel batang gaharu pada bagian atas, tengah, dan bawah terdapat beberapa jenis fungi. Setelah dilakukan identifikasi terhadap fungi yang telah diisolasi diperoleh hasil bahwafungi yang banyak dijumpai pada ketiga bagian batang adalah jenis Fusarium sp. Hal ini menunjukkan bahwa telah terbentuk konsistensi pada batang gaharu yang telah diinokulasi, dimana yang menjadi isolat adalah Fusarium sp.

Berdasarkan data yang diperoleh, fungi yang banyak terdapat pada ketiga bagian batang adalah jenis Fusarium sp. Hal ini menunjukkan bahwa proses penginokulasian gaharu menggunakan inokulan Fusarium sp dapat dikatakan menunjukkan hasil yang baik. Dibuktikan dengan konsistensi fungi yang terdapat pada ketiga bagian batang gaharu. Dari hasil yang didapat juga menunjukkan bahwa Fusarium sp banyak terdapat dibagian batang atas dan bawah. Sedangkan pada bagian batang tengah dapat dilihat dari tabel bahwa jenis fungi cukup bervariasi. Bagian yang paling banyak terdapat Fusarium sp adalah batang bagian atas. Berdasarkan Gandjar (1999) spesies Fusarium sp ini banyak terdapat di daerah

tropis dan subtropis dan banyak dijumpai pada tumbuhan terutama pada bagian batang tanaman.

Presentasi *Fusarium* sp. pada tiga bagian batang adalah sebagai berikut:

agian hatang	lumlah isolat Fusarium	hanyak samnel	Persentase
agian batang	Junian Isolat r usanum	barryak samper	1 Craciitaac
20	10	13	76,90%
43	7	40	52.000/
engah	1	13	53,80%
awah	9	13	69,20%
	gian batang as ngah wah	ngah	ngah 10 13

Berdasarkan hasil persentase dari ketiga bagian batang didapat persentase tertinggi adalah pada batang atas dimana persentasenya adalah 76,9 %. Hal ini menunjukkan bahwa *Fusarium* sp. pada batang atas berasosiasi dengan baik dengan batang bagian atas. Tetapi dari ketiga hasil persentase setiap batang menunjukkan *Fusarium* sp. terdapat cukup banyak pada ketiga bagian batang. Hal ini menunjukkan hasil yang baik dari proses penginokulasian yang telah dilakukan oleh petani gaharu pada tempat sampel diambil yaitu Desa Penungkiran.

Reisolasi fungi pada A.malaccensis yang telah diinokulasi

Dari reisolasi yang telah dilakukan dan hasil identifikasi yang dicocokkan menggunakan buku identifikasi fungi Gandjar et al. (1999) didapatkan15 isolat dari sampel batang tanaman A. malaccensis Lamk yang telah diinokulasi. Dari 15 isolat ini terdapat lima isolat Fusarim sp, dua isolat Acremonium sp, dua isolat Alternaria alternata, satu isolat Nigrospora sphaerica, dua isolat Scopulariopsis sp, satu isolat Cladosporium sp, satu isolat Scytalidium lignicola, dan satu isolat Mucor sp.

Identifikasi fungi

Terbentuknya gaharu pada tanaman penghasilnya, terpicu oleh faktor biotik maupun abiotik. Untuk menghasilkan gaharu secara artifisial, pelukaan mekanis pada batang, pengaruh bahan-bahan kimia seperti metal jasmonat, oli, gula merah, dan yang lainnya dapat memicu pembentukan gaharu. Namun pembentukan gaharu oleh faktor abiotik, seperti yang telah disebutkan sebelumnya tidak menyebabkan terjadinya penyebaran mekanisme pembentukan ini ke bagian lain dari pohon yang tidak terkena efek langsung faktor abiotik tersebut. Lain halnya iika pembentukan gaharu dipicu oleh faktor biotik seperti jamur atau jasad renik lainnya, mekanisme pembentukan dapat menyebar ke bagian lain pada pohon, karenapenyebab mekanisme ini adalah makhluk yang melakukan semua aktivitas yang diperlukan untuk kehidupannya. Dengan terjadinya penyebaran pembentukan gaharu ke jaringan lain pada batang pohon, maka kualitas dan kuantitas produk gaharu yang dihasilkan akan lebih memuaskan. Adapun fungi yang telah banyak digunakan untuk menginokulasi gaharu diantaranya adalah Fusarium dan Acremonium.

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya juga dinyatakan bahwa fungi yang sering dijadikan sebagai inokulan gaharu adalah kedua jenis fungi tersebut. Sedangkan fungi yang lainnya belum ada penelitian yang menyangkut dengan keberadaannya di tanaman gaharu. Jadi bisa jadi fungi selain *Fusarium* dan *Acremonium* yang terdapat pada sampel batang gaharu yang diidentifikasi merupakan kontaminan yang tanpa sengaja ikut tumbuh didalam batang yang telah diinokulasi.

Dari tiga belas titik sampel yang diuji rata-rata fungi yang terdapat adalah *Fusarium* sp. jadi dari hasil identifikasi ini didapatkan bahwa hasil inokulasi dilapangan dapat dikatakan menunjukkan hasil yang baik dengan berkembangnya *Fusarium* sp. pada tanaman gaharu yang dijadikan inokulan.

Hasil penelitian Iskandar dan ahmad (2012) didapatkan perlakuan inokulasi dengan Fusarium sp. berpengaruh nyata terhadap potensi hasil gaharu. Inokulan yang paling potensial pada peringkat pertama dari hasil penelitian adalah F4 yaitu inokulan yang dikembangkan oleh badab Litbang Kehutanan Bogor dengan asal isolat dari Gorontalo. Inokulan yang berasal dari Gorontalo ini relatif efektif dalam merangsang pembentukan gaharu dan wangi pada pengukuran 3 bulan setelah inokulasi dibandingkan dengan Fusarium yang berasal dari daerah lain. Hal ini menunjukkan bahwa setiap isolat yang berasal dari daerah yang berbeda memiliki kemampuan yang berbeda pula dalam proses pembentukan gubal gaharu. Selain itu, diketahui juga bahwa Fusarium berpotensi dalam proses penginfeksian batang gaharu untuk terbentuknya gubal.

Dari hasil yang didapatkan yang menunjukkan bahwa mayoritas spesies fungi yang terdapat pada A.malaccensis yang dijadikan sampel adalah Fusarium sp maka hal ini menunjukkan bahwa fungi tersebut dapat berasosiasi dengan baik dengan A.malaccensis. Selain itu, Rahmawati et al. (2006) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa dalam uji ganda antar isolat Acremonium spp. (isolat Sr dan F) dengan planlet A. malaccensis menunjukkan bahwa seluruh cendawan yang diuji bersifat patogenik dan mampu menghasilkan tingkat wangi yang beragam.

Berdasarkan penelitian Wahyuningtias (2013) diperoleh hasil bahwa *Cladosporium*sp adalah salah satu fungi endofit pada *A. malaccensis. Cladosporium* merupakan genus yang ditemukan pada setiap jaringan tanaman *A. malaccensis* Lamk. yang diisolasi, hal tersebut diduga karena jenis tersebut mampu beradaptasi terhadap kondisi ekologi mikro dan fisiologi yang ada pada tanaman *A. malaccensis* Lamk. Dalam penelitiannya Faeth dan Fagan (2010) menjelaskan bahwa keberadaan fungi endofit pada jaringan tanaman berhubungan dengan banyaknya paparan sinar matahari yang diterima oleh bagian tanaman tersebut. *Cladosporium* yang diisolasi dari daun dan ranting muda mulai menunjukkan pertumbuhan pada hari ke-3, sedangkan pada akar hari ke-2 setelah

penanaman mulai menunjukkan pertumbuhannya. Untuk pengamatan secara mikroskopis, *Cladosporium* yang berhasil diidentifikasi konidianya berbentuk bulat dan membentuk seperti rantai.

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa fungi yang banyak terdapat pada ketiga bagian batang adalah Fusarium sp. Hal ini menunjukkan keberhasilan penginfeksian fungi yang diinokulasikan pada A. malaccensis karena pada saat penyuntikan pada tanaman A. malaccensis yang menjadi inokulannya adalah Fusarium sp. Selain itu, banyak juga penelitian yang telah membuktikan bahwa Fusarium sp. dapat berasosiasi dengan baik jika diinfeksikan pada tanaman penghasil gaharu. Wulandari(2009) pada penelitiannya menyatakan bahwa Acremonium sp. dan Fusarium sp. dalam bentuk inokulan tunggal atau inokulan ganda dapat merangsang pohon gaharu membentuk senyawa terpenoid. Kandungan senyawa triterpenoid paling tinggi pada pohon yang diinduksi Fusarium sp. sebagai inokulan tunggal.

Dari penelitian Wulandari (2009) ini dapat kita ketahui bahwa dari 15 isolat yang telah didapatkan dari penelitian yang telah dilakukan, *Acremonium* sp. dan *Fusarium* sp. adalah fungi yang dapat bersinergi dalam menginfeksi pohon gaharu.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- Persentase terbesar Fusarium sp adalah pada batang atas yaitu 69,7 %
- Fungi yang ditemukan pada A.malaccensis Lamk.yang telah diinokulasi dengan proses isolasi dan identifikasi, yaitu Acremonium, Alternaria alternata, Cladosporium, Fusarium, Nigrospora sphaerica, Mucor, Scopulariopsis, Scytalidium lignicola.
- Terdapat konsistensi isolat yang dijadikan penginfeksi batang gaharu yang ditunjukkan dengan banyaknya Fusarium spyang ditemukan pada batang gaharu
- 4. Fungi yang banyak terdapat pada batang gaharu yang dijadikan sampel adalah *Fusarium* sp

Saran

Perlu dilakukan aplikasi pada tanaman *A. malaccensis* Lamk. untuk mengetahui manfaat yang dihasilkan oleh fungi selain Acremonium dan Fusarium yang didapat pada penelitian ini di dalam jaringan tanaman inangnya.

DAFTAR PUSTAKA

Gandjar, I., R. A. Samson, Karin van den Tweel-Vermeulen dan A. Oetari. 1999. Pengenalan Kapang Tropik Umum.Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.

Iskandar, Dudi dan Ahmad Suhendra. 2012. Uji Inokulasi *Fusarium* sp. Untuk Produksi Gaharu

- Pada Budidaya *A. beccariana*. Pusat Teknologi Produksi Pertanian, BPPT. Jakarta.
- Rahmawati, Dewi dan Nurita Toruan-Mathius. 2006.
 Analisis Keragaman Genetik Acremonium yang
 Berasosiasi dengan Tanaman Gaharu
 Menggunakan Teknik Random Amplified
 Polymorphic DNA (RAPD). Laboraturium
 bioteknologi, SEAMEO BIOTROP. Jurnal
 Agrobiogen vol.5 no.2. Bogor.
- Siran, Sulistyo A. 2010. Perkembangan Pemanfaatan Gaharu. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam. Bogor.
- Sumarna, Yana. 2009. Gaharu *Budidaya dan Rekayasa Produksi.* Penebar Swadaya. Jakarta.
- Turjaman, Dr. Maman. Forest Microbiology Research Groups. Bogor.
- Wahyuningtyas, Retno, R. 2013. Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit pada Jaringan Muda Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccencis* Lamk.). USU. Medan
- Wulandari, Esti. 2009. Efektifitas *Acremonium* sp. dan *Fusarium* sp. Sebagai penginduksi ganda terhadap pembentukan gharu pada pohon *Aquilaria microcarpa*. IPB. Bogor.