

## **IDENTIFIKASI MOLEKULER JENIS-JENIS JAMUR MIKORIZA EKTO YANG BERSOSIASI DENGAN DIPTEROKARPA DI HUTAN HUJAN TROPIKA SEKUNDER**

### ***Molecular Identification of Ectomycorrhizal Fungi Species Associated with Dipterocarpaceae in Secondary Tropical Rain Forest***

**Maliyana Ulfa, Eny Faridah, Sumardi, Su See Lee, Patahayah Mansor, Christine le Roux, Antoine Galiana**

<sup>1</sup>Balai Penelitian dan Pengembangan Lingkungan Hidup dan Kehutanan Palembang, <sup>2</sup>Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, <sup>3</sup>Forest Research Institute of Malaysia (FRIM), Kepong, Selangor, Malaysia, <sup>4</sup>Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM), Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Prancis

#### **ABSTRACT**

*Many types of soil born fungi associate mutually with high-level plant roots by forming mycorrhiza. While fruit body characterization was used previously, now molecular method wide used to identify ectomycorrhizal fungi when faces discontinuity fruit body presented on the floor and the important of identifying ectomycorrhizal fungi that lignning in particular association. Hence, the purpose of research is to identify the ectomycorrhizal fungi associated with dipterocarp species using molecular method. Polymerase Chain Reaction (PCR) technique was conducted on DNA extract samples from root tips of dipterocarp trees and 3 (three) Shorea (*S. leprosula*, *S. stenoptera*, and *S. mecistopteryx*) seedlings intentionally planted under mature trees. DNA sequences were amplified using a specific primer pair of fungus and basidiomycetes ITS 1F-ITS 4B. The identity of ectomycorrhizal fungi was obtained by matching DNA sequence of the samples to Genbank database. Molecular identification resulted in 73 genotypes that belong to 13 families, i.e Thelephoraceae, Russulaceae, Clavulinaceae, Sebacinaceae, Inocyabaceae, Amanitaceae, Entolomataceae, Heliotialetaceae, Boletaceae, Cantharellales, Hymenogastraceae, Ceratobasidiceae, and Tricholomataceae. Thelephoraceae consists of 54 genotypes, Russulaceae and Sebacinaceae 13 genotypes, Clavulinaceae 6 genotypes, and the rest consist of 1-3 genotypes. Thelephoraceae is the dominant family in ectomycorrhizal jamur communities. Based on the results, it can be concluded that molecular method can be used to identify the real symbiont in mycorrhiza association. In addition, molecular methods can also detect the similarity of ectomycorrhizal fungi that colonizing dipterocarps, both at trees and seedlings level.*

**Keywords** : Ectomycorrhizal fungi, Dipterocarp species, Molecular technique, Secondary tropical rain forest

## PENDAHULUAN

Mikoriza ekto merupakan salah satu bentuk simbiosis mutualisme yang melibatkan jamur sebagai simbion dan tanaman sebagai inang. Kolonisasi jamur mikoriza ekto pada perakaran tanaman dapat meningkatkan serapan hara dan air bagi tanaman, serta melindungi akar tanaman dari patogen dan nematoda tanah. Jamur mikoriza ekto mendapatkan energi berupa karbon dari fotosintesis tanaman (Smith dan Read, 2008) dan substrat organik dari dekomposisi bahan organik (Read & Perez-Moreno, 2003). Oleh karena itu, jamur mikoriza ekto mempunyai peran penting dalam ekosistem hutan sebagai faktor ekologis utama dalam mengatur siklus hara tanaman dan dalam mempertahankan tutupan vegetasi (Riviere *et al.*, 2007). Menurut Garcia *et al.* (2015), asosiasi simbiosis terbentuk karena adanya sinyal pertukaran yang dikendalikan oleh mekanisme molekuler.

Jenis-jenis penyusun ekosistem hutan hujan tropis didominasi oleh jenis-jenis dipterokarpa yang dikenal mempunyai asosiasi simbiosis dengan jenis-jenis jamur mikoriza ekto membentuk mikoriza. Ketergantungan jenis-jenis dipterokarpa terhadap simbiosis mikoriza ekto telah dilaporkan oleh (Smits, 1983, 1994; Alexander *et al.*, 1992; Yasman, 1995; Brearley *et al.*, 2003; Brundrett, 2009). Keberadaan jamur mikoriza ekto dalam komunitas dipterokarpa telah diketahui berdasarkan tubuh buah (Watling dan Lee, 1995; Watling *et al.*, 2002) dan morfotipe jamur (Lee & Alexander, 1996; Lee *et al.*, 1997). Identifikasi secara molekuler jamur mikoriza ekto pada jenis-jenis dipterokarpa di Asia tercatat pertama kali dilakukan Sirikantaramas *et al.* (2003), yang kemudian dilakukan peneliti lain yaitu Yuwa-Amornpitak *et al.* (2006); Roy

*et al.* (2009); Peay, *et al.* (2010); Kaewgrajang *et al.* (2014).

Investigasi jamur mikoriza ekto dalam suatu komunitas tanaman menuntut cara identifikasi yang dapat mengetahui identitas secara akurat dan memberikan informasi kepastian jamur mikoriza ekto sebagai simbion dalam asosiasi mikoriza. Karakterisasi jamur mikoriza ekto secara morfologi tidak cukup untuk digunakan untuk mengetahui identitas suatu jenis jamur (Kretzer *et al.*, 2003). Hasil deskripsi tubuh buah juga menjadikan kendala untuk mengetahui komunitas jamur mikoriza ekto secara lengkap (Grogan *et al.*, 2000). Sementara itu, tidak semua tubuh buah selalu dikaitkan dengan mikoriza ekto dan suatu jamur mikoriza ekto mungkin tidak selalu membentuk tubuh buah (Horton dan Bruns, 2001), serta kemunculannya yang tidak konsisten (Brundrett *et al.*, 1996).

Pendekatan secara molekuler kini banyak digunakan untuk mengidentifikasi jenis jamur mikoriza ekto yang bertujuan untuk meningkatkan pengetahuan mengenai keragaman dan ekologi jamur (Tedersoo *et al.*, 2014). Pendekatan tersebut juga dapat melengkapi analisis morfologi tubuh buah dan memungkinkan identifikasi genera atau spesies jamur mikoriza ekto melalui analisis yang dilakukan pada DNA-nya (Riviere *et al.*, 2007). Identitas jamur mikoriza ekto diperoleh melalui perbandingan dengan urutan DNA database dari rangkaian spacer transkripsi transversal (ITS) atau mitokondria ribosom (Koljalg *et al.*, 2005). Dijelaskan lebih lanjut bahwa pendekatan molekuler juga dapat diterapkan pada sampel jamur mikoriza ekto berupa miselium karena kolonisasi beberapa jamur lebih sering ditemukan dalam bentuk miselium daripada spora. Di samping itu, beberapa jamur mikoriza ekto yang berlimpah di dalam tanah

jarang menghasilkan tubuh buah, demikian sebaliknya, spesies yang umum membentuk tubuh buah mungkin tidak ditemui di bawah tanah (Dahlberg, 2001).

Belum banyak penelitian mengenai keberadaan jamur mikoriza ekto dalam komunitas dipterokarpa di ekosistem hutan hujan tropika Asia Tenggara khususnya di Indonesia dengan menggunakan pendekatan molekuler. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menginvestigasi keberadaan jamur mikoriza ekto yang berasosiasi dengan jenis-jenis dipterokarpa di hutan hujan tropika sekunder menggunakan pendekatan molekuler. Hal tersebut merupakan hal penting terkait dengan upaya rehabilitasi, karena jamur mikoriza ekto di hutan sekunder merupakan modal regenerasi (Perry *et al.*, 1989).

## BAHAN DAN METODE

### A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama 2 tahun, yaitu pada bulan Mei 2012 sampai dengan Juli 2014. Penelitian lapangan dilaksanakan di Hutan Desa Sungai Telang, Kabupaten Bungo, Propinsi Jambi. Lokasi penelitian ini berjarak  $\pm 1,5$  km arah Tenggara dari Desa Sungai Telang, yang secara geografis terletak pada S  $01^{\circ} 42' 59''$  dan E  $101^{\circ} 47' 8.0''$ . Hutan tersebut merupakan hutan sekunder yang masuk dalam kawasan Hutan Lindung Bukit Panjang Rantau Bayur, Kabupaten Bungo. Sedangkan penelitian laboratorium dilaksanakan di laboratorium BP2LHK Palembang dan di *Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM), Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le*

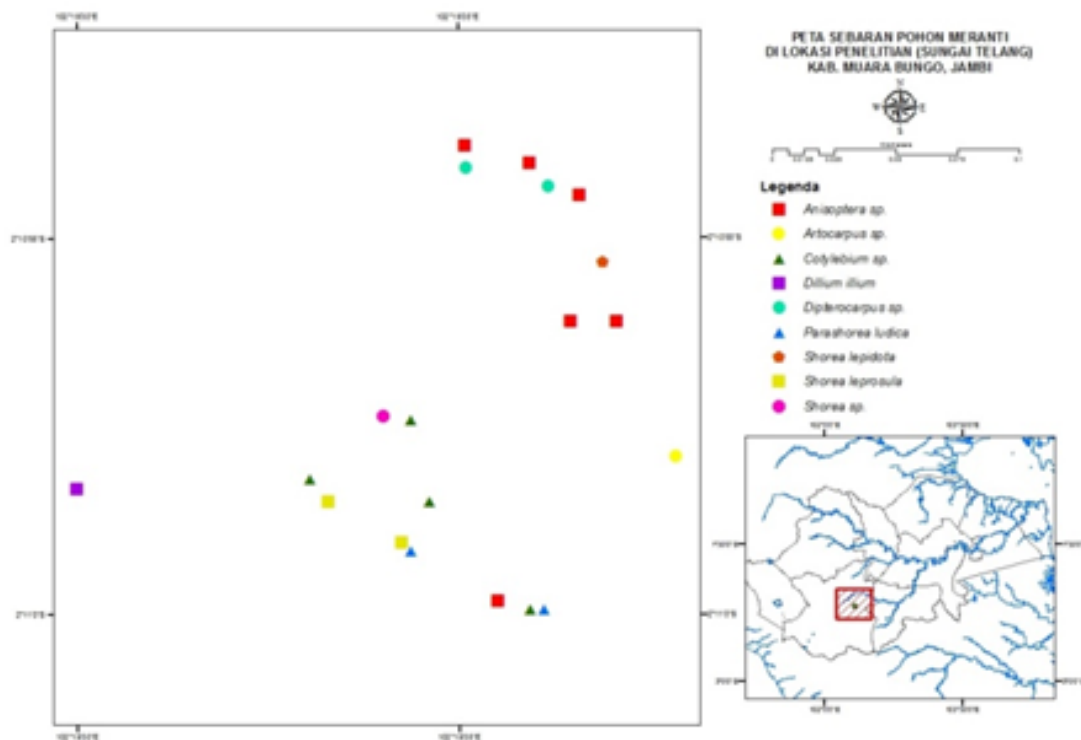
*Développement (CIRAD)* di Montpellier, Prancis.

### B. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian lapangan adalah GPS (*Global Positioning System*) untuk merekam posisi geografi plot sampel, kompas untuk menentukan arah plot sampel, tali tambang, pita plastik gulung, gunting tanaman, pisau lapangan, label, kantong plastik untuk menyimpan sampel akar, meteran, dan alat tulis untuk mencatat data lapangan. Sedangkan penelitian yang dilakukan di laboratorium menggunakan alat-alat, yaitu mikroskop *binocular*, autoklaf, *thermocycler*, vorteks, sentrifugasi, perangkat uji metode elektroforesis gel agarosa, UV-transiluminator, pipet mikro, gelas petri, spatula, pinset, dan endorff, serta alat tulis untuk mencatat data lapangan dan laboratorium. Bahan penelitian adalah *root tips* pohon dan semai dipterokarpa, aquades, larutan *trimethylammonium setil-dimodifikasi bromida* (CTAB), RedExtract® kit, primer ITS 1F, primer ITS 4, agarosa, buffer Tris-asam acetat (TAE) dan penanda DNA *ethidiumbromide*.

### C. Teknik Pengambilan Sampel Pohon

Pengambilan sampel pohon dilakukan di 3 plot dengan masing-masing plot berukuran panjang 100 m dan lebar 100 m (luas 10.000 m<sup>2</sup>) dan dilakukan secara acak dalam luas plot 10.000 m<sup>2</sup>. Pohon yang dijadikan obyek penelitian adalah pohon dewasa jenis-jenis dipterokarpa yang ditentukan berdasarkan dengan kriteria pohon yaitu berdiameter setinggi dada (1,3 m) 20 cm atau lebih, bila pohon berbanir diameter diukur 20 cm di atas banir (Wyatt-Smith, 1958). Pohon terpilih kemudian dipetakan secara geografis (GPS), serta diidentifikasi dan diukur diameter pohonnya (DBH) (Gambar 1).



Gambar 1. Peta sebaran pohon dipterokarpa di hutan sekunder Sungai Telang, Jambi

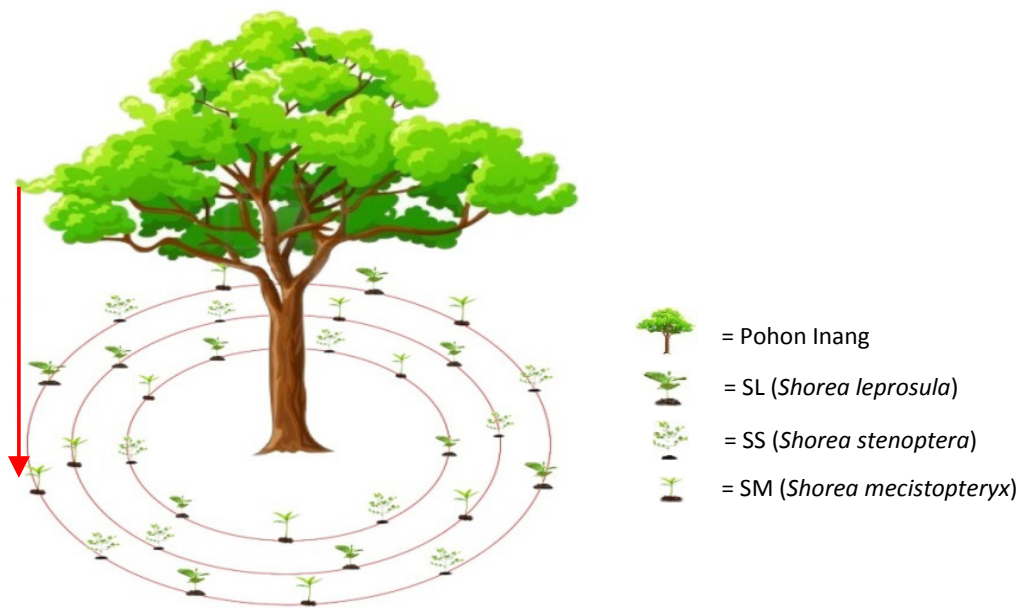
#### D. Uji *Bio-assay* di Bawah Pohon Dipterokarpa

Penelitian dilakukan dengan cara menanam semai dipterokarpa yang tidak bermikoriza, yang terdiri dari 3 jenis yaitu *Shorea leprosula*, *S. mecistopteryx*, dan *S. stenoptera*. Semai yang ditanam berasal dari biji, yang diperoleh dari KHDTK Carita Bogor (*S. mecistopteryx*, dan *S. stenoptera*) dan dari hutan alam di wilayah Kalimantan Selatan (*S. leprosula*). Benih disemai pada media pasir selama 30 hari, dan kemudian disapih pada media campuran *cocopeat* dan tanah dengan perbandingan 1:1 (v/v) yang telah disiapkan dalam polybag berukuran 12 x 10 cm. Media semai dan media sapih sebelumnya telah disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm dan suhu 121°C. Media *cocopeat* dipilih karena dapat menjaga kelembaban tanah dan media tanah diperlukan untuk mendukung kekokohan semai. Persemaian dilakukan selama 6 bulan

di persemaian yang ternaungi oleh paranet dengan intensitas cahaya 65%. Pada awal masa pembibitan dilakukan pemberian pupuk kimia NPK (15:15:15) sebanyak 0,25 g per pot untuk menjaga suplai hara bagi semai. Mutu semai yang siap tanam minimal merupakan semai kriteria ketiga, yaitu kurang dari 35 cm dan diameter kurang dari 4 mm (Hendromono, 2003). Penanaman semai yang dilakukan di area proyeksi tajuk pohon dipterokarpa, yang merupakan objek penelitian pada Penelitian 1. Jumlah semai setiap jenisnya adalah 10 semai, yang ditanam secara berselang-seling (Gambar 2).

#### E. Pengambilan Sampel *Root Tips*

Pengambilan *root tips* dari akar pohon dipterokarpa mengikuti prosedur *Diédhiou et al.* (2010), yaitu dengan melakukan penelusuran akar dari dasar batang. Sepuluh sampai 30 sampel akar diambil secara acak



Gambar 2. Lay out penanaman 3 (tiga) jenis semai Shorea (*S. leprosula*, *S. stenoptera*, dan *S. mecistopteryx*) di bawah pohon dewasa dipterokarpa

di 4 (empat) arah mata angin di setiap pohon pada kedalaman tanah 0 – 30 cm. Pada semai, sampel *root tips* diambil setelah 4 bulan setelah tanam. Penelitian Lee dan Alexander (1996) menunjukkan bahwa mantel jamur mikoriza ekto mulai ada pada akar semai umur 20 hari dan secara bertahap membentuk jaringan *hartig* serta semakin bertambah tipenya setiap bulannya dalam kurun waktu 2-7 bulan.

Semua sampel *root tips* disimpan dalam larutan *setiltrimetilamonium bromide* (CTAB), setelah *root tips* dibersihkan dalam air untuk menghilangkan tanah dan dipisahkan menurut tipe kenampakan (*morphotype*) akar yang terkolonisasi jamur mikoriza ekto menggunakan mikroskop *compound*. CTAB digunakan untuk mengekstrak DNA mikoriza ekto (Doyle dan Doyle, 1987), sekaligus memudahkan cara untuk membawa sampel ke laboratorium untuk keperluan analisis molekuler.

#### F. Analisis Identifikasi Molekuler

DNA jamur mikoriza ekto diisolasi dari tiap ujung akar menggunakan pengestrak pada *RedExtract®kit*, yang kemudian diekstraksi menggunakan larutan ekstraksi 50  $\mu\text{L}$  pada suhu 95°C selama 10 menit, dan 50  $\mu\text{L}$  larutan dilusi. Identifikasi jamur mikoriza ekto dilakukan dengan memperkuat (*amplifying*) dan mengurutkan (*sequencing*) rDNA ITS nuklir dengan menggunakan pasangan primer spesifik ITS 1F/ITS 4 (White *et al.*, 1990). Untuk mendapatkan replikasi DNA digunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR), digunakan larutan RedExtract® kit dan primer, sehingga terbentuk keselarasan urutan DNA maju dan mundur untuk menghasilkan sekuens DNA konsensus. Tahapan dalam PCR diawali dengan pembuatan campuran larutan 20 $\mu\text{L}$  dari reaksi yang mengandung 5  $\mu\text{L}$  H<sub>2</sub>O, larutan PCR RedExtract 10  $\mu\text{L}$ , 0,5  $\mu\text{L}$  primer ITS 1F 20 M, 0,5  $\mu\text{L}$  primer ITS 4 20 M, dan ekstrak DNA mikoriza ekto 4

µL. Primer yang digunakan meliputi ITS1 F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') sebagai *primer forward* dan ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') sebagai *reverse primer*.

Penguatan DNA (*amplifying*) dilakukan menggunakan *thermal cycler Gene Amp PCR 9700* dengan parameter cara kerja yaitu denaturasi awal pada 94°C selama 3 menit, selama 35 kali putaran, yang terdiri dari denaturasi pada 94°C selama 30 detik, *annealing* pada 52°C selama 1 menit, ekstensi pada 72°C selama 1 menit, dengan ekstensi akhir pada 72°C selama 10 menit. Hasil tahapan ini kemudian ditindaklanjuti dengan tahapan elektroforesis gel, yang dilakukan dengan menggunakan 15 µL produk PCR dan diisi ke dalam 1% gel agarose dan divisualisasikan dengan penanda DNA *ethidiumbromide*. Tahapan ini dilakukan untuk mengetahui ukuran fragmen DNA dari produk PCR (lebih dari 200 bp). Jika ditemukan sampel dengan ukuran di atas 200 bp, maka sisa produk PCR 5 µL, yang disimpan sebelum dilakukan tahapan penguatan DNA (*amplifying*), dikirimkan ke *Genoscreen* milik *CIRAD* untuk proses pengurutan (*sequencing*).

### G. Analisis Data

Identifikasi jamur mikoriza ekto dilakukan dengan membandingkan urutan ITS hasil analisis molekuler dengan urutan database

*Genbank*. Penyusunan dan analisis perbaikan urutan DNA menggunakan *software Chromas 2.5.1*. Untuk menentukan afiliasi taksonomi jamur mikoriza ekto, urutan DNA dibandingkan dengan database GenBank menggunakan algoritma BLAST (*Best Local Alignment Search Tool*) yang terdapat pada *National Center for Biotechnology Information* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), yang dilanjutkan dengan penamaan takson yaitu dengan mengikuti skor BLAST. Hasil identifikasi jamur mikoriza ekto dari *root tips* pohon dan semai dipterokarpa disampaikan dalam bentuk tabel yang menjadi bahan analisis yang dilakukan secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi jamur mikoriza ekto pada akar pohon dan semai dipterokarpa menunjukkan adanya jenis-jenis mikoriza ekto dengan sekuen DNA yang beragam (Tabel 1). Berdasarkan sekuen DNA tersebut, identitas jamur di tingkat famili dan genus cenderung lebih banyak ditemukan jika dibandingkan di tingkat spesies. Hal tersebut menunjukkan bahwa ketersediaan data identitas jamur mikoriza ekto di Genbank lebih didominasi oleh tingkat famili dan genus. Yuwa-Amornpitak *et al.* (2006) menyatakan bahwa jenis-jenis jamur mikoriza ekto di daerah tropika masih menghadapi kendala ketersediaan data di Genbank. Menurut

Tabel 1. Jenis-jenis jamur mikoriza ekto yang ditemukan berasosiasi dengan dipterokarpa di tingkat pohon dan semai di hutan sekunder

No.	Jamurmikoriza ekto	Kemiripan pada sekuen DNA		Famili	Inang	
		Genbank	No. Akses		Pohon	Semai
1.	<i>Clavulina</i> sp.		JO 346817	Clavulinaceae	1	
2.			LC 035145		1	
3.			KF 484437			1
4.			AB 848421			1

5.	<i>Clavulinaceae</i>	GQ 268599	Clavulinaceae	1	
6.		GQ 268602			1
7.	<i>Russula</i> sp.	AB 848565	Russulaceae	1	
8.		AB 629011			1
9.		EU 598176			1
10.		KC 679823			1
11.	<i>R. lepidicolor</i>	AY 061687	Russulaceae		2
12.	<i>R. lepida</i>	DQ 422013	Russulaceae		1
13.	<i>R. lutea</i>	HQ 604848	Russulaceae	1	
14.	<i>R. postiana</i>	KF 850410	Russulaceae	1	
15.	<i>Lactarius quietus</i>	KR 025623	Russulaceae	1	
16.	<i>Russulaceae</i>	FJ 454926	Russulaceae	1	
17.		AB 854698			1
18.		FJ 455025			1
19.	<i>Tomentella</i> sp.	KJ 769318	Thelephoraceae	2	1
20.		KM 403022		2	1
21.		GQ 268672		2	4
22.		JQ 347222		1	
23.		AY 748885			1
24.		JX 630377			3
25.		KM 403047			1
26.		AB 848668			1
27.		AY 635174			1
28.		AB 777490			7
29.		AY 635173			1
30.		GU 220622			3
31.		GQ 268675			2
32.		FR 852207			1
33.		AB 777492			1
34.		EU 668210			1
35.		AM 412297			1
36.		JF 748114			1
37.	<i>T. sublilacina</i>	DQ 482004	Thelephoraceae		1
38.	<i>T. beaveriae</i>	NR 121287	Thelephoraceae		1

39.	<i>Thelephora</i> sp.	EF 634080	Thelephoraceae	1	
40.		HM 100661		1	
41.		JN 858076			1
42.		EF 634087			1
43.	<i>Thelephoraceae</i>	FJ 454993	Thelephoraceae	1	1
44.		GQ 268671		1	
45.		JQ 991859			1
46.		KM 247463			1
47.		JN 704829			1
48.		FJ 455029			1
49.		KF 514715			3
50.	<i>Sebanica</i> sp.	FN 669246	Sebacinaceae	1	
51.		KM 576590			1
52.		HE 687106			1
53.		JN 129411			4
54.		EU 668260			1
55.		JN 294111			1
56.		AB 848611			1
57.	<i>Sebacinales</i> sp.	HE 814196	Sebacinacea		1
58.		KJ 188485			1
59.	Sebacinaceae	JF 210753	Sebacinacea		1
60.	<i>Inocybe</i> sp.	HG 796983	Inocybaceae	1	
61.	<i>Inocybe petiqinosa</i>	HQ 586862	Inocybaceae		1
62.	Inocybaceae	JQ 991743	Inocybaceae		1
63.	<i>Amanita rubescens</i>	AJ 889923	Amanitaceae	1	
64.	<i>Entoloma</i> sp.	KC 261490	Entolomataceae	1	
65.	<i>Helotiales</i> sp.	JN 847488	Helotialetaceae	1	
66.	<i>Boletus</i> sp.	AB 848411	Boletaceae		1
67.	<i>Cantharellales</i> sp.	JF 691054	Cantharellaceae		1
68.	<i>Phaeocollybia megalospora</i>	KF 219600	Hymenogastraceae		1
69.		KC 662116			1
70.	Ceratobasidiceae	GO 268601	Ceratobasidiceae		1
71.	Tricholomataceae	FJ 475747	Tricholomataceae		1
72.	Ascomycota	HQ 607793			1
73.		GQ 268562	-		1



Tedersooet *al.* (2010), data Genbank jamur mikoriza ekto yang berada di ekosistem hutan tropis Asia dan khususnya Asia Tenggara masih terbatas. Selain itu, beberapa hasil identifikasi masih berdasarkan kecocokan dengan jenis jamur mikoriza ekto yang berasosiasi dengan tanaman dari Pinaceae (Phosri *et al.*, 2012).

Jamur mikoriza ekto yang ditemukan dalam penelitian ini terdiri dari berbagai jenis jamur yang tergolong dalam 13 famili yaitu Thelephoraceae, Russulaceae, Clavulinaceae, Sebacinaceae, Inocybaceae, Amanitaceae, Entolomataceae, Heliotialetaceae, Boletaceae, Cantharellaceae, Hymenogastraceae, Ceratobasidiceae, dan Tricholomataceae. Jenis-jenis jamur mikoriza ekto tersebut yang merupakan bagian dari kekayaan jamur mikoriza ekto pada dipterokarpa, yang secara filogenetik memiliki unsur-unsur dari ekosistem tropis dan subtropis (Phosri *et al.*, 2012).

Identifikasi jamur mikoriza ekto dengan menggunakan metode molekuler pada akar pohon dipterokarpa dan semai seperti yang terlihat pada Tabel 1, menunjukkan kepastian identitas jamur mikoriza ekto sebagai simbiot pada bagian akar yang terinfeksi (*real* symbiont). Hal tersebut sulit diperoleh jika keberadaan jamur mikoriza ekto hanya berdasarkan tubuh buah, karena pembentukannya dipengaruhi oleh iklim (Gardes dan Bruns, 1996) dan banyak garis keturunan jamur mikoriza ekto tidak pernah ditemukan memproduksi buah-tubuh (Tedersoo *et al.*, 2010). Disamping itu, pengamatan berdasarkan inventarisasi tubuh buah terkendala dengan keberadaan beberapa jamur mikoriza ekto *epigeous* yang dapat tersembunyi pada akar karena adanya kolonisasi (Brundrett, 2002), tubuh buah yang *resupinate* (Erland dan Taylor, 1999), dan beberapa kolonisasi jamur mikoriza ekto yang tidak dapat terdeteksi secara langsung, seperti

pada *Cenococcum geophilium* (Lo Buglio *et al.*, 1996; Shinohara *et al.*, 1999).

Metode molekuler dapat menjadi metode identifikasi yang tidak mengenal batas waktu ketika inventarisasi dan pengambilan sampel dilakukan. Seperti jenis-jenis Russulaceae, Inocybaceae, Amanitaceae, Boletaceae, Cantharellaceae, Cortinariaceae, Entolomataceae dan Tricholomataceae yang ditemukan dalam penelitian ini merupakan jenis-jenis jamur mikoriza ekto yang dapat membentuk tubuh buah (Miller, 1982 *dalam* Brundrett *et al.*, 1996). Namun demikian, keberadaannya di permukaan lantai hutan tidak bertahan lama (Brundrett *et al.*, 1996). Hal ini karena tubuh buah jamur mikoriza ekto merupakan struktur yang durasi kemunculannya tidak sama. Beberapa spesies jamur memiliki tubuh buah yang besar dan memerlukan waktu berminggu-minggu menjadi matang, yang kemudian membusuk. Sementara itu, beberapa jamur lain bertubuh buah kecil yang rapuh dapat hilang dalam satu hari.

Di tingkat pohon dan semai dipterokarpa, jamur mikoriza ekto dalam famili Thelephoraceae ditemukan mendominasi di antara famili-famili yang lain. Hasil tersebut juga ditemukan Sirikantaramas *et al.* (2003) pada *Shorea* sp. dan *Dipterocarpus* sp. (Yuwa-Amornpitak *et al.*, 2006). Khususnya di tingkat semai, Thelephoraceae juga dominan ditemukan berasosiasi dengan jenis-jenis dipterokarpa (Ingleby *et al.*, 2000; Sirikantaramas *et al.*, 2003; Yuwa-Amornpitak *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2008; Tata, 2008; Kaewgrajan *et al.*, 2014) dan non dipterokarpa (Köljalget *et al.*, 2000; Bidartondo *et al.*, 2004; Richard *et al.*, 2005; Matsuda *et al.*, 2017). Hasil yang berlainan dijumpai pada penelitian Watling dan Lee (1995) menemukan *Russulacaeae* sebagai famili jamur mikoriza ekto yang paling banyak ditemukan berasosiasi

dengan *S. leprosula* berdasarkan inventarisasi tubuh buah.

Dominasi Thelephoraceae disebabkan oleh banyaknya jenis *Tomentella* sp. yang ditemukan dalam penelitian ini. Taylor dan Bruns (1999) menemukan *Tomentella* sp. Sebagai jamur mikoriza ektosupinate yang sering ditemukan di serasah dan tanah, sehingga spesies tersebut menjadi dominan atau subdominan di hutan sekunder. Kecenderungan dominasi *Tomentella* sp. dalam penelitian ini terkait dengan beberapa cara penyebaran spora melalui jaringan makanan berbasis spora, yaitu melalui agen fungivora arthropoda, predator arthropoda dan vertebrata, seperti yang ditemukan oleh Lilleskov dan Bruns (2005) dalam penyebaran spora *T. subtilacina* pada lapisan organik tanah.

Berdasarkan keberadaan jamur mikoriza ekto sebagai simbiosis dalam asosiasinya dengan dipterokarpa, dapat diketahui pula adanya kesamaan jenis jamur mikoriza ekto yang menginfeksi pohon maupun semai yaitu *Tomentella* sp. (Thelephoraceae). Selama ini jenis tersebut dikenal sebagai jamur mikoriza ekto tahap awal namun ternyata juga ditemukan di tingkat pohon. Temuan tersebut juga dijumpai oleh Ingleby *et al.* (2000); Kaewgrajang *et al.* (2014); Peay *et al.*, (2015) dalam asosiasi jamur mikoriza ekto dengan jenis-jenis dipterokarpa. Fleming (1983), justru menjumpai adanya kolonisasi jamur mikoriza ekto tahap akhir pada semai yang tumbuh di daerah perakaran pohon. Testeet *al.*(2009) dan Simard *et al.*(2012) menyatakan bahwa kesamaan komunitas jamur mikoriza yang ditemukan pada pohon dan semai merupakan indikasi adanya jaringan mikoriza yang terbentuk dalam suatu komunitas hutan.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Metode molekuler dapat digunakan untuk mengetahui kepastian identitas jamur mikoriza ekto sebagai simbiosis pada bagian akar yang terinfeksi (*real symbiont*). Berdasarkan hal tersebut, metode molekuler juga dapat mendeteksi kesamaan jenis jamur mikoriza ekto yang mengkolonisasi dipterokarpa, baik di tingkat pohon maupun semai.
2. Identifikasi secara molekuler menghasilkan 73 jenis jamur mikoriza ekto yang masing-masing mempunyai ciri genotip yang berbeda. Jenis-jenis jamur mikoriza ekto tersebut tergolong dalam 13 famili yaitu Thelephoraceae, Russulaceae, Clavulinaceae, Sebacinaceae, Inocyabaceae, Amanitaceae, Entolomataceae, Helotiales, Boletaceae, Cantharellales, Hymenogastraceae, Ceratobasidiceae, dan Tricholomataceae.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, I., Ahmad, N., & Lee, S. S. 1992. The Role of Mycorrhizas in the Regeneration of Some Malaysian Forest Trees The role of mycorrhizas in the regeneration of some Malaysian forest trees, 335(1275), 379–388.
- Bidartondo, M. I., Burghardt, B., Gebauer, G., Bruns, T. D., & Read, D. J. 2004. Changing partners in the dark : isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. In

- Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* (pp. 1799–1806). <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2807>.
- Brearley, F. Q., Press, M. C., & Scholes, J. D. 2003. Nutrient obtained from lead litter can improve the growth of dipterocarp seedlings. *New Phytologist*, 160, 101–110. <https://doi.org/10.1046/j.0028-646x.2003.00851.x>
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., & Malajczuk, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. ACIAR Monograph. *The Journal of Biological Chemistry*, 32(June 1982), 374. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00703-7.x>
- Brundrett, M. C. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: Understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*, 320(1–2), 37–77. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9877-9>.
- Dahlberg, A. 2001. Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytologist*, 150, 555–562.
- Diédhiou, A. G., Selosse, M. A., Galiana, A., Diabaté, M., Dreyfus, B., Bâ, A. M., Béna, G. 2010. Multi-host ectomycorrhizal fungi are predominant in a Guinean tropical rainforest and shared between canopy trees and seedlings. *Environmental Microbiology*, 12(8), 2219–2232. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02183.x>
- Fleming, L. V. 1983. Succession of mycorrhizal fungi on birch: infection of seedlings planted around mature trees. *Plant and Soil*, 71(1–3), 263–267. <https://doi.org/10.1007/BF02182661>
- Garcia, K., Delaux, P., Cope, K. R., & An, J. 2015. Molecular signals required for the establishment and maintenance of ectomycorrhizal symbioses, 79–87.
- Gardes, M., & Bruns, T. D. 1996. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above- and below-ground views. *Canadian Journal of Botany*, 74(May 2016), 1572–1583. <https://doi.org/10.1139/b96-190>
- Grogan, P., Baar, J., & Bruns, T. D. 2000. Below-ground ectomycorrhizal community structure in a recently burned bishop pine forest. *Journal of Ecology*, 88(6), 1051–1062.
- Horton, T. R., & Bruns, T. D. 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: Peeking into the black-box. *Molecular Ecology*, 10(8), 1855–1871. <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01333.x>
- Ingleby, K., Thuy, L. T. T., Phong, N. T., & Mason, P. A. 2000. Ectomycorrhizal inoculum potential of soils from forest restoration sites in South Vietnam. *Journal of Tropical Forest Science*, 12(2), 418–422.
- Kaewgrajang, T., Sangwanit, U., Kodama, M., & Yamato, M. 2014. Ectomycorrhizal fungal communities of *Dipterocarpus alatus* seedlings introduced by soil inocula from a natural forest and a plantation. *Journal of Forest Research*, 19(2), 260–

267. <https://doi.org/10.1007/s10310-013-0408-z>
- Köljalg, U., Dahlberg, A., Taylor, A. F. S., Larsson, E., Hallenberg, N., Stenlid, J., & Jonsson, L. 2000. Diversity and abundance of resupinate theleporoid fungi as ectomycorrhizal symbionts in Swedish boreal forests. *Molecular Ecology*, 9(12), 1985–1996.
- Koljalg, U., Larsson, K. H., Abarenkov, K., Nilsson, R. H., Alexander, I. J., Eberhardt, U., Ursing, B. M. 2005. UNITE: A database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 166(3), 1063–1068. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01376.x>
- Kretzer, A. M., Luoma, D. L., Molina, R., & Spatafora, J. W. 2003. Taxonomy of the *Rhizopogon vinicolor* species complex based on analysis of ITS sequences and microsatellite loci. *Mycologia*, 95(3), 480–487. <https://doi.org/10.1080/15572536.2004.11833093>
- Lee, L. S., Alexander, I. J., & Watling, R. 1997. Ectomycorrhizas and putative ectomycorrhizal fungi of *Shorea leprosula* miq. (Dipterocarpaceae). *Mycorrhiza*, 7(2), 63–81. <https://doi.org/10.1007/s005720050165>
- Lee, S. S., & Alexander, I. J. 1996. The dynamics of ectomycorrhizal infection of *Shorea leprosula* seedlings in Malaysian rain forests. *New Phytologist*, 132(2), 297–305. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb01849.x>
- Lee, S. S., Patahayah, M., Chong, W. S., & Lapeyrie, F. 2008. Successful Ectomycorrhizal Inoculation of Two Dipterocarp Species With a Locally Isolated Fungus in Peninsular Malaysia. *Journal of Tropical Forest Science*, 20(4), 237–247.
- Lilleskov, E. A., & Bruns, T. D. 2005. Spore Dispersal of a Resupinate Ectomycorrhizal Fungus, *Tomentella sublilacina*, via Soil Food Webs. *Mycologia*, 97(4), 762–769.
- Matsuda, Y., Uesugi, T., Hsu, T., & Chen, C. 2017. Mycorrhizal fungi associated with Taiwanese *Pyrola morrisonensis* (Ericaceae) in a naturally regenerated forest. *Taiwania*, 62(4), 399–406. <https://doi.org/10.6165/tai.2017.62.399>.
- Peay, K. G., Garbelotto, M., & Bruns, T. D. 2010. Evidence of dispersal limitation in soil microorganisms: Isolation reduces species richness on mycorrhizal tree islands. *Ecology*, 91(12), 3631–3640. <https://doi.org/10.1890/09-2237.1>
- Peay, K. G., Russo, S. E., McGuire, K. L., Lim, Z., Chan, J. P., Tan, S., & Davies, S. J. 2015. Lack of host specificity leads to independent assortment of dipterocarps and ectomycorrhizal fungi across a soil fertility gradient. *Ecology Letters*. <https://doi.org/10.1111/ele.12459>
- Perry, D. A., Amaranthus, M. P., Borchers, J. G., Borchers, S. L., & Brainerd, R. E. 1989. Bootstrapping in Ecosystems. *BioScience*, 39(4), 230–237. <https://doi.org/10.2307/1311159>
- Phosri, C., Polme, S., Taylor, A. F. S., Koljalg, U., Suwannasai, N., & Tedersoo, L. 2012. Diversity and community composition of ectomycorrhizal fungi in a dry deciduous dipterocarp forest in Thailand. *Biodiversity*

- and Conservation*, 21(9), 2287–2298. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0250-1>
- Read, D. J., & Perez-Moreno, J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems - A journey towards relevance? *New Phytologist*, 157(3), 475–492. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00704.x>
- Richard, F., Millot, S., Gardes, M., & Selosse, M. A. 2005. Diversity and specificity of ectomycorrhizal fungi retrieved from an old-growth Mediterranean forest dominated by *Quercus ilex*. *New Phytologist*, 166(3), 1011–1023. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01382.x>
- Riviere, T., Diedhiou, A. G., Diabate, M., Senthilarasu, G., Natarajan, K., Verbeken, A., Ba, A. M. 2007. Genetic diversity of ectomycorrhizal Basidiomycetes from African and Indian tropical rain forests. *Mycorrhiza*, 17(5), 415–428. <https://doi.org/10.1007/s00572-007-0117-6>
- Roy, M., Watthana, S., Stier, A., Richard, F., Vessabutr, S., & Selosse, M.-A. 2009. Two mycoheterotrophic orchids from Thailand tropical dipterocarpacean forests associate with a broad diversity of ectomycorrhizal fungi. *BMC Biology*, 7, 51. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-7-51>
- Simard, S. W., Beiler, K. J., Bingham, M. A., Deslippe, J. R., Philip, L. J., & Teste, F. P. 2012. Mycorrhizal networks: Mechanisms, ecology and modelling. *Fungal Biology Reviews*, 26(1), 39–60. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2012.01.001>
- Sirikantaramas, S., Sugioka, N., Lee, S. S., Mohamed, L. A., Lee, H. S., & Szmidt, A. E. 2003. Molecular identification of ectomycorrhizal fungi associated with *Tropics*, 13.
- Smits, W. T. M. 1983. Dipterocarps and Mycorrhiza: An ecological adaptation and a factor in forest regeneration. *Flora Malesiana Bulletin*, 36, 3926–3937.
- Smits, W. T. M. 1994. *Dipterocarpaceae: mycorrhizae and regeneration*. Tropenbos Foundation. Retrieved from <http://www.cabdirect.org/abstracts/19946797862.html>
- Tata, M. 2008. *Mycorrhizae on dipterocarps in rubber agroforests (RAF) in Sumatra*. University of Utrecht. Retrieved from <http://igitur-archive.library.uu.nl/dissertations/2008-1203-201249/UUindex.html>
- Taylor, D.L., Bruns, T. D. 1999. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: minimal overlap between the mature forest and resistant propagule communities. *Molecular Ecology*, 8, 1837–1850.
- Tedersoo, L., Bahram, M., Ryberg, M., Otsing, E., Kõljalg, U., & Abarenkov, K. 2014. Global biogeography of the ectomycorrhizal /sebacina lineage (Fungi, Sebaciniales) as revealed from comparative phylogenetic analyses. *Molecular Ecology*, 23(16), 4168–4183. <https://doi.org/10.1111/mec.12849>
- Tedersoo, L., May, T. W., & Smith, M. E. 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: Global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza*, 20(4), 217–263. <https://doi.org/10.1007/s00572-009-0274-x>

- Tedersoo, L., Sadam, A., Zambrano, M., Valencia, R., & Bahram, M. 2010. Low diversity and high host preference of ectomycorrhizal fungi in western Amazonia, a neotropical biodiversity hotspot. *The ISME Journal*, 4(4), 465–471. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.131>
- Teste, F. P., Simard, S. W., & Durall, D. M. 2009. Role of mycorrhizal networks and tree proximity in ectomycorrhizal colonization of planted seedlings. *Fungal Ecology*, 2(1), 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2008.11.003>
- Watling, R., & Lee, L. S. 1995. Ectomycorrhizal fungi associated with members of the dipterocarpaceae in Peninsular Malaysia-I. *Journal of Tropical Forest Science*, 7(4), 657–669.
- Watling, R., Lee, S. S., & Turnbull, E. 2002. *Tropical Mycology Volume 1, Macromycetes: The Occurrence and Distribution of 3 Putative Ectomycorrhizal Basidiomycetes in a Regenerating South-east Asian Rainforest* (1st ed.).
- Yasman, I. 1995. *Dipterocarpaceae : Tree-Mycorrhizae-Seedling Connections*.
- Yuwa-Amornpitak, T., Vichitsoonthonkul, T., Tanticharoen, M., Cheevadhanarak, S., & Ratchadawong, S. 2006. Diversity of ectomycorrhizal fungi on dipterocarpaceae in Thailand. *Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.3923/jbs.2006.1059.1064>