

# LAPORAN

BANTUAN PENELITIAN TRANSFORMATIF/PENGABDIAN BERBASIS RISET (BPMPT-PTPBR)



**APLIKASI FORMULA INOKULAN BARU UNTUK PEMBENTUKAN GUBAL  
TANAMAN GAHARU DI CIJERUK, BOGOR, YANG TERGABUNG DALAM  
KOMUNITAS PETANI GAHARU TANAMAN RAKYAT INDONESIA (PEGATRI)  
CABANG JAWA BARAT – BANTEN**

**Ketua Tim: Megga Ratnasari Pikoli (UIN Syarif Hidayatullah Jakarta)**

**Anggota: 1. Suhendra (PEGATRI Jawa Barat – Banten)**

**2. Baihaki Ulma (Kelompok Studi Genom UIN)**

**3. Dinda Ikhwati (Kelompok Studi Genom UIN)**

**DIREKTORAT PENDIDIKAN TINGGI KEAGAMAAN ISLAM**

**DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN ISLAM**

**KEMENTERIAN AGAMA RI**

**TAHUN 2018**

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil ‘Aalamiin, puji syukur yang tak terhingga kehadiran Allah Subhanahu Wata’ala, yang atas rahmat dan anugerahNya, kami selaku tim peneliti dapat menyelesaikan laporan ini. Sholawat dan salam kami haturkan kepada Rosulullah Sholallaahu ‘alaihi wasallam, yang telah membawa risalah Islam sehingga kegiatan kita terarah menuju ridho Ilahi. Kegiatan pengabdian masyarakat berbasis riset ini bertujuan terutama untuk memberikan manfaat bagi masyarakat, terutama komunitas Petani Gaharu Tanaman Rakyat Indonesia (PEGATRI) Cabang Jawa Barat – Banten, dalam bentuk inokulan pembentuk gubal gaharu. Alhamdulillah, tim peneliti UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, yang didukung oleh PEGATRI, telah menghasilkan inokulan dari ekstrak mikroalga dan fungi yang telah dicoba di pohon gaharu, dengan kualitas yang menjanjikan. Namun verifikasi hasil masih perlu dilakukan, karena adanya kendala waktu yang singkat dalam pengamatan gubal dari kegiatan ini. Oleh karena itu, kegiatan pengabdian masyarakat ini semestinya tidak berhenti sampai selesainya laporan ini saja, tetapi semoga inokulan dapat dicoba diaplikasikan di pohon gaharu yang lain ataupun di lokasi lain, sehingga manfaatnya dapat dirasakan lebih luas dan meyakinkan.

Keberhasilan maupun tantangan yang kami hadapi selama menyelenggarakan kegiatan ini adalah atas izin Allah Subhanahu Wata’ala. Sudah sepatutnya kami bersyukur dengan mentadaburi ayat-ayatNya, yang salah satunya diungkapkan dalam Al-quran Surat Al-An’am ayat 95: *Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. (Yang memiliki sifat-sifat) demikian ialah Allah, maka mengapa kamu masih berpaling?*

Tim peneliti mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah banyak berperan besar dalam penyelenggaraan kegiatan ini, yaitu:

1. Direktorat Jenderal Pendidikan Islam Kementerian Agama Republik Indonesia
2. Dekan FST UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
3. Petani Gaharu Tanaman Rakyat Indonesia (PEGATRI) Cabang Jawa Barat – Banten
4. Bapak H. Bambang Sudarto selaku pemilik kebun dan tanaman gaharu di Cijeruk
5. Bapak Deni sebagai pembantu pekerjaan di lapangan
6. Kelompok Studi GENOM Prodi Biologi FST UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

Tim peneliti juga menyampaikan permohonan maaf kepada pihak-pihak yang terkait dengan kegiatan ini, apabila terdapat kekeliruan dan hal-hal yang kurang berkenan. Semoga apa yang telah dilaksanakan dari kegiatan ini memberikan manfaat yang lebih besar pada masa mendatang, serta selalu mendapat ridho dari Allah Subhanahu Wata’ala, Aamiin.

Ciputat, 18 Desember 2018

Tim Peneliti

# DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
Latar Belakang .....	1
Permasalahan.....	3
Tujuan .....	3
Signifikansi .....	3
BAB II KAJIAN TEORI.....	4
BAB III METODE PENELITIAN DAN PELAKSANAAN PENGABDIAN .....	5
Definisi Operasional.....	6
Gambaran Kegiatan.....	6
Pelaksanaan Penelitian Laboratorium .....	7
Isolasi fungi.....	9
Ekstraksi mikroalga.....	9
Uji antagonisme.....	9
Identifikasi fungi .....	9
Pembuatan ekstrak gaharu.....	10
Produksi komponen inokulan .....	10
Analisis kimia gubal.....	10
Analisis data .....	11
Pelaksanaan Penelitian Lapangan.....	11
Injeksi inokulan .....	11
Pengamatan pembentukan gubal .....	11
Diseminasi Hasil Penelitian.....	12
BAB IV HASIL DARI KEGIATAN .....	12
Hasil Penelitian Laboratorium.....	13
Hasil isolasi fungi.....	13
Hasil uji antagonisme .....	13
Ketahanan fungi terhadap pH medium .....	14
Hasil perbanyak inokulan dalam ekstrak gaharu .....	15
Hasil identifikasi fungi .....	15

Hasil Penelitian Lapangan.....	17
Hasil pengukuran gubal.....	17
Pertambahan ukuran gubal .....	19
Wangi gubal .....	19
Hasil analisis senyawa dalam gubal .....	20
Workshop untuk Diseminasi Hasil Penelitian .....	20
Follow Up.....	21
BAB V PENUTUP.....	22
Kesimpulan .....	22
Rekomendasi .....	22
DAFTAR PUSTAKA .....	23
LAMPIRAN.....	<b>3Error! Bookmark not defined.</b>

## BAB I PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Gaharu merupakan tumbuhan tropis yang memiliki banyak manfaat, terutama pada bagian getah membeku dari batang, yang biasanya disebut sebagai gubal. Komposisi kimia dalam gubal gaharu memberikan manfaat tersendiri, antara lain sebagai parfum, obat batuk, anti bakteri, anti jamur, dan insektisida (Waluyo *et al.*, 2011). Bahan ini memberi efek obat penenang, karminatif, dan anti-emetik, dan juga sebagai dupa untuk upacara keagamaan (Zhang *et al.*, 2012). Dalam Islam sendiri, wangi dari pembakaran kayu gaharu merupakan sunnah Rosulullah sholallahu ‘alaihi wassallam yang menyukai wewangian. Di antara hadits yang mendukung hal ini adalah: Dari Abi Hurairah radliyalahu 'anh, bahwa Rosulullah sholallahu ‘alaihi wassallam bersabda, "Golongan penghuni surga yang pertama kali masuk surga adalah berbentuk rupa bulan pada malam bulan purnama, ... (sampai ucapan beliau) ..., nyala perdupaan mereka adalah gaharu; Imam Abul Yaman berkata, maksudnya adalah kayu gaharu" (HR. Imam Bukhari). Hingga saat ini, gaharu digunakan sebagai pewangi di Masjidil Haram dan Masjid Nabawi.

Gaharu sebenarnya merupakan istilah untuk tumbuhan yang menghasilkan resin aromatik berbau wangi, yang bukan hanya dari satu jenis tumbuhan. Di Indonesia gaharu terutama berasal dari tumbuhan *Aquilaria malaccensis*, *A. microcarpa*, *A. filaria*, dan *Gyrinops verstegii* (Rahayu, 2010); genus lainnya, seperti *Gonystylus*, *Wikstroemea*, *Dalbergia*, dan *Excocaria* (Suharti *et al.*, 2011); dan *Aetoxylon* (Rasool dan Muhamed, 2016). Pemerintah Indonesia telah memulai ekspor kayu gaharu yang bernilai tinggi ini sejak tahun 1990-an, dengan tujuan Arab Saudi, Uni Emirat Arab, Taiwan, Singapura, Hongkong, Amerika, dan Eropa; dan sejak 2011 ke Cina (Tempo.co, 2011).

Gubal gaharu terbentuk sebagai respon infeksi oleh perlakuan fisik, fungi, ataupun serangga, baik secara alami maupun diinduksi dengan sengaja, sehingga fitoaleksin terbentuk sebagai pertahanan diri tumbuhan. Kebutuhan pasar yang tinggi dan lahan yang semakin terbatas menyebabkan harga gaharu meningkat dan menghasilkan eksploitasi yang berakibat menurunnya populasi di alam. Meskipun telah dimasukkan ke dalam tumbuhan yang dilindungi (Blanchette, 2006), penebangan ilegal gaharu di hutan yang merusak lingkungan tetap terjadi, bahkan meningkat (Rasool dan Muhamed, 2016). Oleh karena itu, penanaman gaharu dan panen gubal yang dihasilkan dari proses induksi yang disengaja merupakan salah satu solusi untuk menghindari eksploitasi liar. Potensi ekspor dan harga yang tinggi telah

memancing petani atau pemilik tanah untuk menanam gaharu, meskipun panennya baru akan dirasakan bertahun-tahun kemudian. Kementerian Kehutanan telah melakukan pengumpulan data penanaman gaharu secara nasional, sebesar lebih dari 2,2 juta batang pohon yang tersebar di 29 provinsi pada tahun 2011 (Siran, 2011), yang diduga saat ini jumlah penanam telah bertambah.

Berbagai inokulan telah diproduksi dan dijual, baik dari hasil riset maupun coba-coba tanpa dasar ilmiah. Inokulan bisa berisi bahan hidup, seperti jamur *Fusarium* dan *Acremonium*, dan bahan-bahan kimia, seperti asam salisilat, jasmonat, metil jasmonat, etilen, hidrogen peroksida dan superoksida radikal (Murtaip, 2010; Rahayu, 2010; Carolina, 2016). Ada pula inokulan yang dirahasiakan kandungannya karena terkait hak paten (Zhang *et al.*, 2012). Inokulan yang diklaim dapat menginduksi pembentukan gubal banyak ditawarkan dengan harga yang cukup tinggi, yaitu dalam ratusan ribu hingga jutaan rupiah. Selain itu, terdapat ketidakpastian kualitas gubal yang dihasilkan, yaitu belum memuaskan seperti yang diperoleh di hutan. Demikianlah kendala yang diungkapkan oleh petani gaharu yang tergabung dalam komunitas Petani Gaharu Tanaman Rakyat Indonesia (PEGATRI). Beberapa waktu yang lalu perwakilan PEGATRI Cabang Jawa Barat – Banten mendatangi peneliti dan menawarkan kerjasama untuk menghadirkan solusi bagi permasalahan tersebut. Diperlukan formula inokulan baru yang lebih baik daripada yang pernah diterapkan.

Peneliti dari UIN Syarif Hidayatullah Jakarta memiliki koleksi mikroalga dari hasil riset tahun 2017. Terdapat 78 isolat mikroalga yang diperoleh dari eksplorasi di Situ Gintung dan Situ Pamulang, Tangerang Selatan. Berdasarkan penelitian pendahuluan, ekstrak mikroalga dari 4 spesies telah diketahui memiliki efek antibiosis, sehingga diduga dapat digunakan sebagai induser dalam pembentukan gubal gaharu. Ekstrak mikroalga dapat diaplikasikan secara tunggal atau dikombinasikan dengan fungi *Fusarium* sp. yang biasa digunakan sebagai inokulan pembentuk gubal. Inilah yang dimaksud sebagai formula inokulan baru yang akan dicobakan pada pohon gaharu. Sementara itu, PEGATRI Cabang Jawa Barat – Banten yang beranggota 70 orang petani memiliki modal berupa 100-1000 pohon gaharu per petani, dengan usia pohon 2-8 tahun, yang siap untuk menerima aplikasi inokulan. Pohon gaharu yang mereka miliki adalah dari jenis *A. malaccensis*, yang merupakan jenis utama penghasil gubal (Waluyo *et al.*, 2011) dan paling sering dieksploitasi (Premalatha dan Kalra, 2013). Dengan diadakannya pengabdian berbasis riset ini, diharapkan kedua belah pihak, yaitu peneliti dan petani gaharu, memperoleh manfaat bersama, khususnya peneliti berkesempatan untuk memberikan solusi bagi permasalahan di masyarakat.

## **Permasalahan**

1. Apakah formula inokulan yang diproduksi oleh peneliti UIN Syarif Hidayatullah Jakarta dapat menginduksi pembentukan gubal?
2. Manakah formula inokulan yang paling baik menghasilkan gubal pada tanaman gaharu di Cijeruk, Bogor?
3. Bagaimana kualitas gubal dari inokulan yang diaplikasikan?

## **Tujuan**

Karakteristik tanaman, termasuk tanaman gaharu, tergantung pada kondisi lingkungan biotik dan abiotik tempat ia ditumbuhkan, seperti tanah, iklim, dan mikroorganisme yang berasosiasi. Keberadaan mikroorganisme yang diberikan dapat memberikan respon pada tanaman. Oleh karena itu, kegiatan ini bertujuan menguji kecocokan formula inokulan baru pada tanaman gaharu di Cijeruk, Bogor, dengan harapan petani gaharu yang tergabung dalam Komunitas Petani Gaharu Tanaman Rakyat Indonesia (PEGATRI) Cabang Jawa Barat – Banten dapat memperoleh manfaat berupa terbentuknya gubal yang lebih berkualitas dibandingkan dengan menggunakan inokulan lain.

## **Signifikansi**

Formula inokulan yang diaplikasikan di kebun gaharu di sekitar Cijeruk, Bogor, diharapkan dapat meningkatkan pembentukan gubal pada tanaman gaharu setempat dan menggalakkan para petani untuk menanam lebih banyak bibit gaharu karena memperoleh kepastian inokulan. Upaya ini dengan sendirinya akan mengurangi pencarian gubal di hutan dan mencegah pengrusakan tanaman secara sia-sia. Formula inokulan ini nantinya juga dapat dicoba di lingkungan lain, misalnya di lokasi lain milik anggota komunitas PEGATRI. Proses hulu dan percobaan di lapangan mengenai formula inokulan ini merupakan sumbangan bagi penerapan ilmu pengetahuan dan teknologi yang berpotensi untuk dipublikasikan di jurnal nasional atau internasional. Selain itu, formula inokulan baru yang hasilnya terukur dan produksinya *repeatable* berpotensi didaftarkan sebagai hak paten yang menambah hak kekayaan intelektual institusi yang menaunginya.

## BAB II KAJIAN TEORI

Komposisi kimia dalam gaharu mengandung 24 senyawa fenol (Waluyo *et al.*, 2011) atau 15 macam minyak esensial (Zhang *et al.*, 2012) yang penting sebagai bidang pengobatan dan kosmetika. Gaharu memiliki bentuk padat atau semipadat (kental) dan tidak larut dalam air. Seperti banyak spesies pohon kayu lunak, resin gaharu disekresikan ke dalam jaringan induk. Namun, di *Aquilaria*, bundel sel floem diproduksi di seluruh xilem serta di lapisan eksternal ke xilem. Hal ini berbeda dengan angiosperma yang menghasilkan sel-sel floem yang tumbuh keluar dari lingkaran kambium. Semula pembentukan gubal diduga hanya terjadi pada batang utama, namun belakangan diketahui gubal terbentuk pula pada daerah akar dan percabangan, dalam waktu yang lebih lambat. (Rasool dan Mohamed, 2016). Tetesan kecoklatan yang mengandung zat resin telah terdeteksi di floem, termasuk sel parenkim dan pembuluh, di wilayah xilem batang yang mengandung gaharu. Jaringan tersebut bertanggung jawab dalam memproduksi, menyimpan, dan mendistribusikan konstituen gaharu ke daerah-daerah yang terkena dampak karena pohon mempertahankan diri terhadap berbagai musuh dan kerusakan. Sebelumnya diperkirakan hanya pohon-pohon tua yang menghasilkan getah damar. Bukti baru telah muncul bahwa bahkan pohon *Aquilaria* remaja memiliki struktur ini dan mampu menghasilkan gaharu ketika diinduksi (Mohamed *et al.*, 2014b).

Kerusakan fisik menyebabkan pohon menjadi lemah dan rentan terhadap infeksi oleh fungi. Dalam beberapa hari, sedikit perubahan warna akan terlihat di sekitar luka, berupa warna yang lebih gelap daripada warna kayu yang putih. Zona gelap akhirnya menjadi lebih besar dan menandakan kehadiran gubal. Secara alami, kerusakan disebabkan oleh serangga, yang diikuti oleh infeksi. Fungi merupakan agen penginfeksi utama yang masuk ke host melalui luka. Sistem pertahanan inang bereaksi dengan memproduksi senyawa gaharu untuk melawan patogen. Isolasi fungi secara langsung, mikroskopi, kloning, dan sekuensing DNA telah mengungkapkan bahwa daerah di dalam dan di sekitar zona gubal terdapat berbagai macam fungi. Di antara mereka adalah anggota genera *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cunninghamella*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Lasiodiplodia*, *Penicillium*, *Pythium*, *Trichoderma* (Rahayu, 2010; Premalatha dan Kalra, 2013; Mohamed *et al.*, 2014a), dan banyak lainnya. Setelah banyak dipelajari, para pemulia tanaman ini meniru apa yang terjadi di alam, yaitu menginduksi dengan sengaja dengan perlukaan dan menginokulasi dengan fungi.

Hasil analisis molekuler dengan qPCR menunjukkan ada 3 jenis fungi yang dominan, yaitu *Cunninghamella bainieri*, *Fusarium solani*, dan *Lasiodiplodia theobromae*. Kelimpahan



mereka menurun seiring waktu sejak perlukaan pohon, yaitu paling tinggi beberapa jam setelah infeksi hingga paling rendah setelah beberapa bulan (Mohamed *et al.*, 2014b). Akumulasi senyawa gaharu di titik perlukaan menyebabkan penurunan kelimpahan fungi, yang konsisten dengan perannya sebagai respon pertahanan (Rasool dan Mohamed, 2016).

Selain fungi, mikroorganisme yang pernah digunakan sebagai induser adalah bakteri. Chhipa dan Kausik (2017) mengisolasi bakteri dan fungi dari pohon *A. malaccensis* dan tanah di sekitarnya. *Bacillus* merupakan genus yang dominan dari kelompok bakteri. Inokulan yang terdiri dari bakteri *Pantoea dispersa* dan fungi *Penicillium polonicum* menunjukkan produksi tertinggi dibandingkan dengan isolat lainnya dalam menghasilkan senyawa resin agarospirol. Namun demikian, penggunaan inokulan fungi tampaknya lebih populer daripada bakteri; diduga karena kesinambungan dan umur hidup yang lebih panjang dari fungi.

Induser yang pernah dicoba tidak hanya berupa mikroorganisme, melainkan juga induser kimiawi. Zhang *et al.* (2012) mengklaim dapat memproduksi gubal berkualitas tinggi setelah *A. sinensis* diinjeksi dengan inokulan kimia, yang komposisinya tidak dibuka terhadap publik karena telah memperoleh hak paten. Namun demikian, terdapat kecemasan bagi konsumen terhadap penggunaan induser kimia, yaitu mengenai dampaknya bagi lingkungan dan kesehatan. Penggunaan istilah bahan kimia sendiri sebenarnya mengandung debat yang belum selesai karena di satu pihak, semua bahan dari sumber apapun merupakan bahan kimia, walaupun diekstrak dan dipurifikasi dari sumber alami.

Alga merupakan organisme fotosintetik yang pada umumnya tumbuh di permukaan perairan maupun permukaan tanah. Belum banyak informasi yang menyebutkan peran alga sebagai induser bagi tumbuhan. Salah satu publikasi yang tersedia adalah *Ulva* dan *Laminaria*, genus alga coklat yang memiliki polisakarida yang khas. Polisakarida alga tersebut meliputi karagenan, fukan, laminarian, dan ulvan, diketahui mampu menginduksi berbagai macam tumbuhan untuk menahan tekanan biotik dan abiotik, terutama terhadap serangan patogen (Stadnik dan Freitas, 2014). Sementara itu, sepengetahuan peneliti, publikasi mengenai penggunaan ekstrak mikroalga sebagai induser pembentukan gubal gaharu belum ada. Oleh karena itu, peluang kebaruan penelitian mengenai peran ekstrak mikroalga sebagai induser sangatlah tinggi dan patut dicoba, terutama menggunakan mikroalga lokal.

### **BAB III METODE PENELITIAN DAN PELAKSANAAN PENGABDIAN**

## **Definisi Operasional**

Definisi operasional penelitian menjelaskan istilah-istilah yang digunakan dalam penelitian ini agar tercapai kesepakatan dalam pemahamannya. Formula inokulan adalah bahan berupa fungi dan/atau ekstrak mikroalga dalam aquades, baik dalam bentuk tunggal atau dalam kombinasi, yang akan diinjeksikan ke dalam batang gaharu, untuk menginduksi pembentukan gubal. Indikatornya adalah bahan yang diinjeksikan dapat menginduksi pembentukan gubal. Jumlah koloni fungi adalah jumlah kumpulan hifa fungi yang membentuk satu kesatuan gundukan pada permukaan media agar. Pada uji antagonisme, fungi ditumbuhkan dengan adanya ekstrak mikroalga, kemudian koloni fungi dihitung dan dibandingkan dengan jumlah koloni fungi tanpa adanya ekstrak mikroalga. Indikatornya adalah bentuk pertumbuhan (struktur cembung) yang berwarna putih-krem pada permukaan media agar setelah 1-3 hari sejak ditanam. Jumlah koloni fungi akibat adanya ekstrak mikroalga yang mendekati jumlah koloni tanpa adanya ekstrak mikroalga menunjukkan tidak adanya antagonisme. Gubal adalah resin yang mengering yang berwarna lebih gelap, yaitu merah muda, coklat, sampai hitam, pada batang yang diinokulasi. Luas gubal adalah luas area pada batang gaharu yang memiliki warna lebih gelap daripada warna korteks batang lainnya. Warna gubal adalah: kualitas warna yang terbentuk setelah 1-6 bulan injeksi. Indikatornya adalah area di sekitar titik injeksi yang lebih gelap dibandingkan dengan warna batang di sekitarnya. Wangi gubal adalah aroma yang tercium dari pembakaran sampel batang gaharu.

## **Gambaran Kegiatan**

Pendekatan yang dilakukan merupakan Penelitian Bersama Komunitas (PBK), yaitu pihak UIN bekerjasama dengan Komunitas Petani Gaharu Tanaman Rakyat Indonesia (PEGATRI) Cabang Jawa Barat – Banten. Pihak universitas merupakan peneliti/dosen bidang mikrobiologi yang dibantu oleh beberapa mahasiswa yang tergabung dalam Kelompok Studi Generation of Microbiology and Molecular (GENOM). Sementara itu, pihak PEGATRI diwakili oleh anggota dan pemilik kebun gaharu di Kampung Panghegar Tajurhalang, Cijeruk, Kabupaten Bogor. Pembuatan dan perbanyakkan formula inokulan dilakukan oleh pihak UIN Jakarta di Pusat Laboratorium Terpadu (PLT), sedangkan pengumpulan data pembentukan gubal secara kualitatif dilakukan oleh petani di kebun. Pemeriksaan gubal dan analisis data dilakukan oleh pihak UIN Jakarta.

Kegiatan dimulai dengan penelitian laboratorium, yaitu mengambil sampel tanah sebagai sumber isolasi, mengisolasi dan mengidentifikasi fungi, dan memperbanyaknya

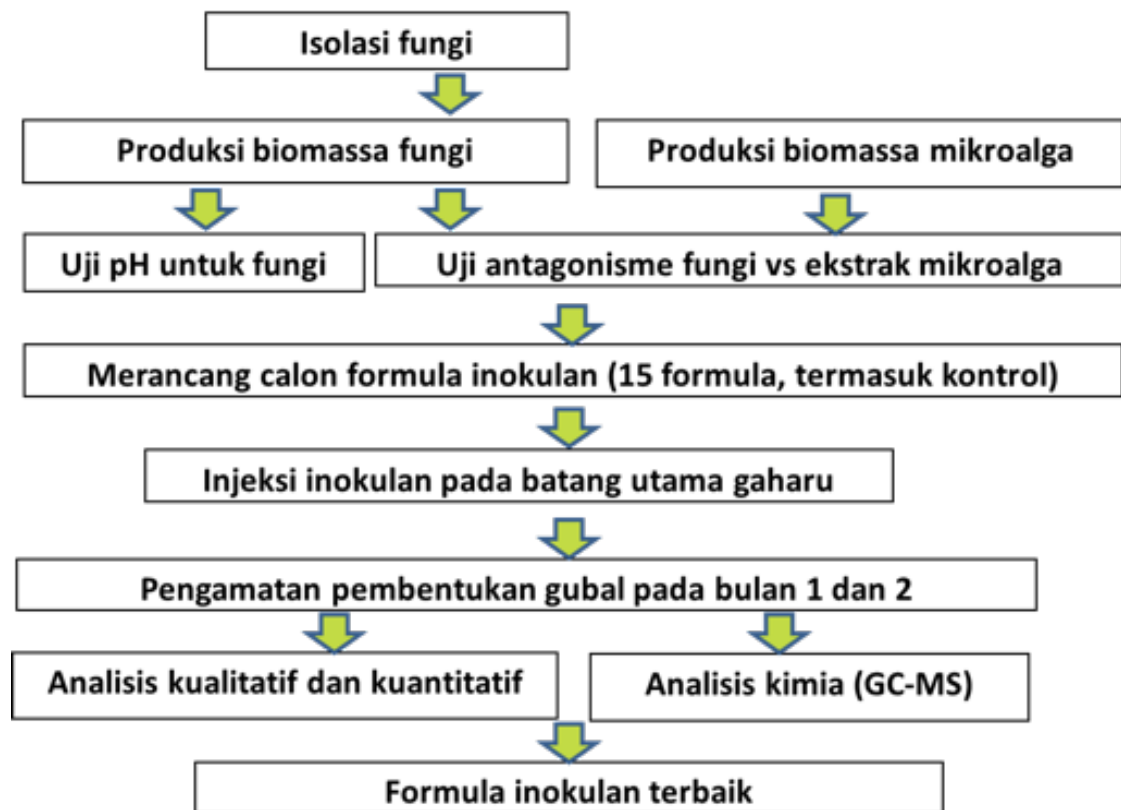
sebagai inokulan. Demikian pula pada mikroalga, sebagai bahan inokulan, didahului dengan perbanyakan, dan dilanjutkan dengan ekstraksi sel-selnya. Kegiatan selanjutnya adalah penelitian lapangan. Sebenarnya kegiatan di lapangan dimulai sejak survey dan sampling tanah di kebun. Setelah inokulan fungi dan ekstrak mikroalga diperoleh, kegiatan lapangan dilakukan dengan menginokulasi inokulan pada pohon gaharu. Selanjutnya pengamatan pembentukan gubal dilakukan pada 1 dan 2 bulan setelah inokulasi.

Kegiatan berikutnya adalah diseminasi hasil penelitian lab dan lapangan kepada anggota PEGATRI. Kegiatan ini berbentuk workshop, dengan mengundang anggota PEGATRI dan narasumber ahli di bidang gaharu. Pada kesempatan tersebut, hasil penelitian berupa inokulan baru beserta hasil ujiannya diperkenalkan kepada komunitas PEGATRI dan didiskusikan bersama para praktisi. Pemberian bibit dilakukan pula kepada anggota PEGATRI, yang ditujukan untuk menambah rangsangan dalam menanam dan menambah koleksi pohon gaharu di kebun mereka.

### **Pelaksanaan Penelitian Laboratorium**

Tahapan penelitian didahului dengan penelitian di laboratorium, yaitu untuk memperoleh komponen inokulan dari sumber inokulan. Secara garis besar, tahap penelitian di laboratorium dapat dilihat pada Gambar 1.

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental yang mencoba 15 macam formula inokulan termasuk kontrol positif (inokulan lain) dan kontrol negatif, seperti yang dapat dilihat pada Tabel 1. Formula merupakan induser berupa isolat fungi dan ekstrak mikroalga koleksi UIN, baik secara tunggal maupun dalam kombinasi. Diambil 4 macam isolat fungi yang akan digunakan dalam formula, dengan kode F1 dan F2. Sementara itu, isolat mikroalga yang akan diformulasikan adalah 1 macam, tetapi divariasikan menjadi satu bagian ekstrak (M1) dan setengah bagian (M1-0,5). Definisi operasional penelitian dapat dilihat pada Tabel 2, yang kemudian dilanjutkan dengan detail prosedur yang akan ditempuh.



Gambar 1. Diagram alur penelitian

Tabel 1. Formula inokulan yang diuji

Komponen inokulan	Kode formula inokulan															
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	
Fungi SP1	√				√	√	√				√	K-	K+			
Fungi SP2		√			√			√	√		√					
Fungi SP3-1			√			√		√		√	√					
Fungi SP3-2				√			√		√	√	√					
M1															√	
M1-0,5																√

Keterangan: √ = komponen yang diikutsertakan.

M1 = ekstrak mikroalga, dengan M1-0,5 merupakan setengah volume.

K- = kontrol negatif (aquades steril)

K+ = kontrol positif (inokulan Pegatri)

## **Isolasi fungi**

Fungi diisolasi dari sampel tanah lokal yang berada di bawah perakaran tanaman gaharu berusia  $\pm 7$  tahun yang ditanam di Cijeruk. Sampel tanah diambil dari 3 titik dalam bentuk bongkahan, kemudian dicampur menjadi sampel komposit. Tiga sampel komposit berasal dari 3 pohon yang berbeda. Di laboratorium, 1 gram sampel komposit diencerkan dalam 9 ml aquades steril secara bertingkat, kemudian diinokulasi 1 ml ke permukaan agar dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC). Setelah 3 hari diinkubasi pada suhu 30°C, koloni-koloni yang terpisah diinokulasi pada medium potato dextrose agar (PDA). Selanjutnya dilakukan pemurnian pada agar miring PDA.

## **Ekstraksi mikroalga**

Biomassa mikroalga diperbanyak dalam medium cair BG-11 yang terdiri atas 14 macam mineral, yang diinkubasi pada pencahayaan alami matahari. Perbanyak mikroalga menghasilkan biomassa kering 0,5 g per 100 ml medium. Kemudian biomassa mikroalga digerus dan diberi pelarut 3 ml metanol sambil dipanaskan selama 30 menit pada suhu 70°C. Prosedur lengkapnya dijelaskan dalam naskah yang sedang disusun untuk dipublikasi.

## **Uji antagonisme**

Sebelum diaplikasikan sebagai inokulan, ekstrak mikroalga dan fungi perlu diuji antagonisme. Pengujian ini bertujuan memilih kombinasi yang tidak berinteraksi negatif agar fungi nantinya bisa tumbuh dan bukan malah tereliminasi oleh adanya ekstrak mikroalga. Pengujian dilakukan pada volume mikroliter, yaitu satu pelet fungi dihancurkan dalam microtube dengan tusuk gigi steril, diberi ekstrak mikroalga 35  $\mu$ l, lalu disebar pada plat PDA, dan diinkubasi selama 3 jam pada suhu ruang. Sebagai kontrol, kultur fungi tidak diberi ekstrak mikroalga dan diinkubasi pada kondisi yang sama dengan perlakuan. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan dibandingkan dengan kontrol. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali untuk setiap perlakuan.

## **Identifikasi fungi**

Isolat-isolat fungi diidentifikasi secara molekular menggunakan teknik polymerase chain reaction (PCR) dan sekuensing DNA agar dapat memenuhi kualifikasi hasil yang dapat dipublikasi secara internasional. Primer PCR yang digunakan adalah pasangan primer ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') dan ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'),

dengan panjang produk sekitar 560 pasang basa (White *et al.*, 1990). Ekstraksi DNA menggunakan kit ekstraksi. Analisis sekuensing dijasakan pada MacroGen Inc., Singapore.

### **Pembuatan ekstrak gaharu**

Ekstrak gaharu digunakan untuk pengayaan dan pengondisian pertumbuhan fungi agar nantinya lebih tahan pada kondisi lingkungan kimiawi di dalam batang gaharu. Batang gaharu dikeringkan, dicacah dengan blender, dan ditempatkan dalam labu erlenmeyer. Aquades ditambahkan sebanyak volume cacahan batang dan didiamkan selama 3 hari. Larutan yang telah berwarna kecoklatan dipisahkan dari ampas batang. Ekstrak-air batang gaharu selanjutnya ditambahkan ke dalam larutan potato dextrose broth (PDB) sebanyak 4% dan 8% (v/v) dan disterilisasi dengan autoklaf.

### **Produksi komponen inokulan**

Komponen inokulan terdiri dari isolat fungi dan ekstrak mikroalga. Setiap isolat yang telah dimurnikan pada medium potato dextrose agar diperbanyak pada medium potato dextrose broth yang diberi 4% (v/v) atau 8% (v/v) ekstrak-air batang gaharu sebagai enrichment. Kultur diinkubasi pada suhu ruang sambil digoyang selama 3 hari. Pertumbuhan fungi dalam kedua medium berbeda konsentrasi ekstrak tersebut diamati secara kualitatif. Sementara itu, ekstrak mikroalga disiapkan, seperti yang telah dijelaskan. Selanjutnya fungi dan ekstrak ini dijadikan sebagai inokulan tunggal atau dikombinasikan seperti pada Tabel 1.

### **Analisis kimia gubal**

Pada bulan kedua sejak injeksi inokulan, gubal dari setiap perlakuan dicuplik dengan cara dikikis dari setiap titik injeksi, untuk kemudian dibawa ke laboratorium. Sampel gubal dihaluskan dengan blender dan diekstraksi dengan pelarut metanol selama 3 hari sambil digoyang dengan shaker. Pelarut dikurangi dengan cara dikeringkan dalam oven 40°C selama 3 jam. Kemudian larutan yang tersisa didekantasi ke dalam microtube dan dipindahkan sebanyak 300 ul ke dalam microvial. Macam kandungan minyak esensial di dalam ekstrak diketahui dari analisis ekstrak dengan alat GC-MS milik Pusat Laboratorium Terpadu UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, mengikuti kondisi yang diberikan oleh Jong *et al.* (2014).

## Analisis data

Data berupa jumlah koloni fungi dari hasil uji antagonisme, serta luas, warna, dan wangi gubal yang terbentuk, dianalisis secara deskriptif. Sementara itu, hasil GC-MS disajikan dalam tabel yang berisi macam komponen dan persentasenya (Jong *et al.*, 2014).

## Pelaksanaan Penelitian Lapangan

### Injeksi inokulan

Batang utama pohon gaharu yang berusia minimal 7 tahun dilubangi dengan bor kayu berdiameter 6 mm. Lingkar pohon adalah sekitar 60 cm. Kedalaman lubang adalah 8 cm, dengan kemiringan 15 derajat. Setiap lingkar pohon ditandai 4 titik bor, yang berselaing dengan lingkar di atas atau bawahnya. Jarak horizontal antar titik adalah 15 cm. Inokulan diinjeksi dengan volume 3 ml, kemudian ditutup dengan selotip plastik. Injeksi dilakukan pada 2 pohon, dengan jumlah 45 lubang per pohon. Lingkar terbawah berjarak 50 cm dari permukaan tanah. Nomor titik ditandai dengan paku payung yang ditulis dan ditancapkan di dekat lubang bor.

### Pengamatan pembentukan gubal

Pengamatan gubal dilakukan sebanyak 2 kali, yaitu pada bulan pertama dan kedua sejak diinjeksi. Kulit pohon di sekitar lubang injeksi dikupas sedalam 2 cm, dan gubal yang terbentuk diamati secara visual dengan melihat pembentukan warna coklat di sekitar lubang injeksi, diukur panjang vertikal dan horizontalnya, dan didokumentasi dengan kamera. Setelah selesai pengamatan pada bulan pertama, kulit batang dibiarkan terbuka dan mengering.

**Tabel 2. Penilaian organoleptik wangi gubal yang dibakar**

Kualitas wangi	Score
tidak wangi	0
wangi halus	1
wangi sama dengan gaharu standar	2
wangi lebih kuat	3
wangi lebih kuat lagi	4

Pada bulan kedua, gubal kembali diamati, diukur dan didokumentasikan. Setelah itu, sampel gubal dikupas sedalam  $\pm 2-3$  mm dan dikering-anginkan. Gubal kering dibakar dengan pemantik api, dan asap yang keluar setelahnya dibaui. Lima orang responden yang sebagian

besar belum pernah mencium wangi gubal menilai wangi dari sampel gubal lalu memberi skor dengan kriteria seperti pada Tabel 2. Standar wangi gubal yang digunakan berasal dari Papua.

### **Diseminasi Hasil Penelitian**

Hasil penelitian yang telah diperoleh, yaitu berupa data kemampuan inokulan dalam membentuk gubal diinformasikan kepada anggota PEGATRI Jawa Barat – Banten dalam bentuk workshop.

## **BAB IV HASIL DARI KEGIATAN**



## Hasil Penelitian Laboratorium

### Hasil isolasi fungi

Isolat fungi yang diperoleh dari 3 sampel tanah di sekitar pohon gaharu adalah 18 isolat, berdasarkan perbedaan morfologi koloni. Namun tidak seluruh isolat dicoba untuk diproses lebih lanjut sebagai inokulan. Kemudian dilakukan pengamatan koloni, untuk memperoleh perwakilan dari ketiga sampel tanah sumber isolasinya. Berdasarkan besar koloni dan kemantapan pertumbuhannya, seperti besarnya koloni pada DRBC agar, dipilih 3 isolat fungi yang akan menjadi kandidat inokulan. Kandidat yang terpilih adalah dengan kode SP1, SP2, SP3-1 dan SP3-2, dengan morfologi koloni seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2.

**GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE**

### **Gambar 2. Penampakan koloni fungi hasil isolasi pada DRBC agar berumur 3 hari**

Untuk menjadi kandidat inokulan, isolat fungi harus diuji terlebih dahulu. Pada tahap awal dilakukan pemurnian pada agar PDA. Prosedur ini telah lazim dilakukan dalam mikrobiologi. Meskipun pada penerapannya nanti di lapangan fungi akan berhadapan dengan lingkungan alami yang tidak aseptis, pada pengujian laboratorium diperlukan kultur murni atau tunggal. Hal ini dimaksudkan agar pada saat pengujian, hanya isolat fungi yang murni, bukan kontaminannya, yang menunjukkan gejala-gejala yang diamati. Tahap awal pemurnian isolat, yaitu ditumbuhkannya fungi dengan metode *streak* pada permukaan medium PDA dapat dilihat pada Gambar 3.

**GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE**

**Gambar 3. Penampakan koloni fungi saat pemurnian pada PDA berumur 3 hari.** Dua plat atas dari kiri ke kanan adalah SP1 dan SP2; dua plat di bawah dari kiri ke kanan adalah SP3-1 dan SP3-2.

### Hasil uji antagonisme

Pada rancangan penelitian telah diungkapkan rencana penelitian untuk membuat inokulan yang merupakan kombinasi dari fungi dan ekstrak mikroalga. Sebelum hal itu dilakukan, perlu diuji terlebih dahulu, apakah fungi sebagai inokulan hidup yang akan diterapkan mampu menghadapi kondisi adanya ekstrak mikroalga. Pertumbuhan fungi diamati secara kualitatif pada media PDA yang diberi ekstrak mikroalga dan dibandingkan dengan kontrol, yaitu yang tidak mendapat tambahan ekstrak mikroalga. Hasilnya menunjukkan bahwa keempat isolat fungi tidak dapat tumbuh dengan adanya ekstrak mikroalga, seperti yang dapat

dilihat pada Gambar 4. Sementara itu, fungi kontrol menunjukkan adanya pertumbuhan koloni yang subur. Dengan demikian, tidak mungkin untuk membuat kombinasi fungi dan ekstrak mikroalga sebagai inokulan.

### GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE

**Gambar 4. Penampakan koloni fungi saat uji antagonisme dengan ekstrak mikroalga, pada media PDA berumur 3 hari.** Dua plat atas dari kiri ke kanan adalah SP1 dan SP2; dua plat di bawah dari kiri ke kanan adalah SP3-1 dan SP3-2. Plat kontrol dari keempat isolat diletakkan pada bagian kiri.

#### Ketahanan fungi terhadap pH medium

Pada umumnya inokulan gaharu yang diaplikasikan oleh banyak peneliti atau praktisi adalah berbentuk cairan masam atau pH rendah. Oleh karena itu, keempat isolat fungi diperiksa kemampuannya dalam beberapa pH , yaitu 4,5, 5 dan 5,5. Kondisi masam dibuat dengan penambahan cuka masak pada medium PDB hingga tercapai pH yang diinginkan. Biomassa yang dihasilkan ditimbang setelah dikeringkan. Hasilnya, seperti yang dapat dilihat pada Tabel 3. Dengan menggunakan isolat-isolat SP1 dan SP2 sebagai wakil dari keempat isolat kandidat, biomassa fungi menunjukkan berat yang tidak berbeda signifikan dengan kontrol. Kontrol merupakan biomassa fungi pada medium PDB yang tidak diatur pHnya, atau memiliki pH sekitar 6. Hasil ini menunjukkan bahwa isolat-isolat ini dapat bertahan dalam kondisi masam dan dapat digunakan sebagai kandidat inokulan.

**Tabel 3. Berat biomassa isolat fungi pada medium yang berbeda pH**

Isolat	Perlakuan	Rata-rata (gram)	St.deviasi ( $\pm$ gram)
SP1	pH 4.5	0.1500	0.0316
	pH 5.0	0.0794	0.0690
	pH 5.5	0.1096	0.0864
	Kontrol	0.1452	
SP2	pH 4.5	0.3365	0.0478
	pH 5.0	0.3564	0.0663
	pH 5.5	0.4195	0.0142
	Kontrol	0.3729	

### Hasil perbanyakan inokulan dalam ekstrak gaharu

Inokulan fungi nantinya harus dapat bertahan dalam kondisi lingkungan di dalam batang gaharu. Oleh karena itu, dilakukan pengujian atau pengayaan menggunakan medium PDB yang diberi ekstrak gaharu, yaitu 4% dan 6%. Setelah dikocok selama 5 hari, tampak terdapat pembentukan pelet fungi di dalam medium (Gambar 5). Secara kualitatif, pelet yang terbentuk lebih banyak pada medium dengan 4% gaharu daripada yang dengan 8%. Hal ini menunjukkan bahwa jika penambahan ekstrak terlalu tinggi, akan menekan pertumbuhan fungi. Oleh karena itu, konsentrasi ekstrak gaharu yang ditambahkan nantinya dalam inokulan cukup 4% ataupun kurang daripada itu, asalkan fungi yang diproduksi sebagai inokulan teradaptasi pada lingkungan berupa gaharu. Selanjutnya pertumbuhan fungi dilanjutkan untuk kemudian dihaluskan dengan blender dan menjadi inokulan yang diinokulasi ke pohon gaharu.

### GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE

**Gambar 5. Penampakan pelet fungi saat uji pertumbuhan dalam medium ekstrak gaharu.** Dua labu erlenmeyer atas dari kiri ke kanan adalah SP1 dan SP2; dua labu erlenmeyer di bawah dari kiri ke kanan adalah SP3-1 dan SP3-2.

### Hasil identifikasi fungi

Isolat fungi diidentifikasi secara molekuler dengan melakukan analisis sekuen DNA pada *internal transcribed spacer* (ITS). Hasil identifikasi setelah dicocokkan dengan data DNA di genbank dapat dilihat pada Tabel 4. Tidak ada satupun dari keempat isolat yang merupakan *Fusarium*, fungi yang sering disebut dalam berbagai literatur merupakan fungi pembentuk gubal. Namun demikian bukan berarti *Fusarium* tidak ada di antara 18 isolat yang diperoleh; prosedur seleksi yang menyebabkan keempat isolat menjadi terpilih untuk dicoba sebagai inokulan pada penelitian kali ini. *Aspergillus* dan *Penicillium* telah dilaporkan berasosiasi dengan gubal gaharu (Rahayu, 2010; Premalatha dan Kalra, 2013; Mohamed et al., 2014a).

Hubungan kekerabatan di antara keempat fungi dapat dilihat pada Gambar 6. Pohon filogenetik itu menggunakan metode maximum likelihood dengan bootstrap 1000 kali. Isolat-isolat SP3-1 dan SP3-2 merupakan isolat yang sama, *Aspergillus stromatoides*, berdasarkan sekuen ITS. Meskipun demikian, morfologi koloni yang berbeda (Gambar 2 dan Gambar 3) menunjukkan bahwa kedua isolat merupakan varietas atau strain yang berbeda dari spesies *Aspergillus stromatoides*.

### Tabel 4. Rekap hasil identifikasi isolat fungi

Kode	Hasil blast terdekat	Max score	Total score	Query cover	E value	Identity (similarity)	Query length
SP1	<i>Aspergillus tritici</i> CBS 266.81 (KP987088.1)	1037	1037	100%	0	99%	567
SP2	<i>Penicillium rubidurum</i> NRRL 6033 TYPE material (NR_121243.1)	1007	1007	100%	0	100%	550
SP3-1	<i>Aspergillus stromatoides</i> NRRL 4519 TYPE material (NR_137454.1)	996	996	100%	0	100%	539
SP3-2	<i>Aspergillus stromatoides</i> NRRL 4519 TYPE material (NR_137454.1)	889	889	100%	0	100%	481

Semua isolat menunjukkan query cover 100% dari sekuen yang diperoleh. Hal ini menunjukkan seluruh sekuen ITS yang diamplifikasi dengan ITS1/ITS4 dapat dibandingkan secara lengkap dengan sekuen referensi di genbank. Semua isolat menunjukkan similaritas yang tinggi dengan sekuen referensi, terutama isolat-isolat SP2, SP3-1 dan SP3-2 memiliki similaritas 100% dengan sekuen referensi yang merupakan type material. Hal ini menunjukkan bahwa identitas yang diketahui tersebut dapat dipercaya.

Hasil identifikasi tersebut dikonfirmasi dengan pohon filogenetik yang menunjukkan hubungan kekerabatan keempat isolat yang dekat dengan sekuen-sekuen referensi (Gambar 6). Nilai bootstrap yang tinggi, yaitu 81% pada clade SP-1 bersama *Aspergillus tritici* CBS 266.81 (KP987088.1), 76% pada clade SP-2 bersama *Penicillium rubidurum* NRRL 6033 TYPE material (NR\_121243.1), dan 72% pada clade SP3-1, SP3-2, bersama *Aspergillus stromatoides* NRRL 4519 TYPE material (NR\_137454.1), meyakinkan identitas yang kuat pada keempat isolat. Selain itu, hal tersebut dikonfirmasi dengan terpisahnya keempat isolat dari spesies-spesies referensi lainnya.

**GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE**

### **Gambar 6. Pohon filogenetik keempat isolat fungi**

Sepengetahuan peneliti dan dari hasil penelusuran, belum ada literatur atau hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan mengenai isolat-isolat *Aspergillus tritici*, *Penicillium rubidurum* dan *Aspergillus stromatoides* yang terkait tumbuhan gaharu. Hal ini memberikan peluang bagi penelitian pengembangan selanjutnya mengenai peran fungi tersebut dalam

pembentukan gubal gaharu, dan ketiga spesies berpeluang dikembangkan sebagai strain baru fungi yang digunakan sebagai inokulan pembentuk gubal gaharu.

## **Hasil Penelitian Lapangan**

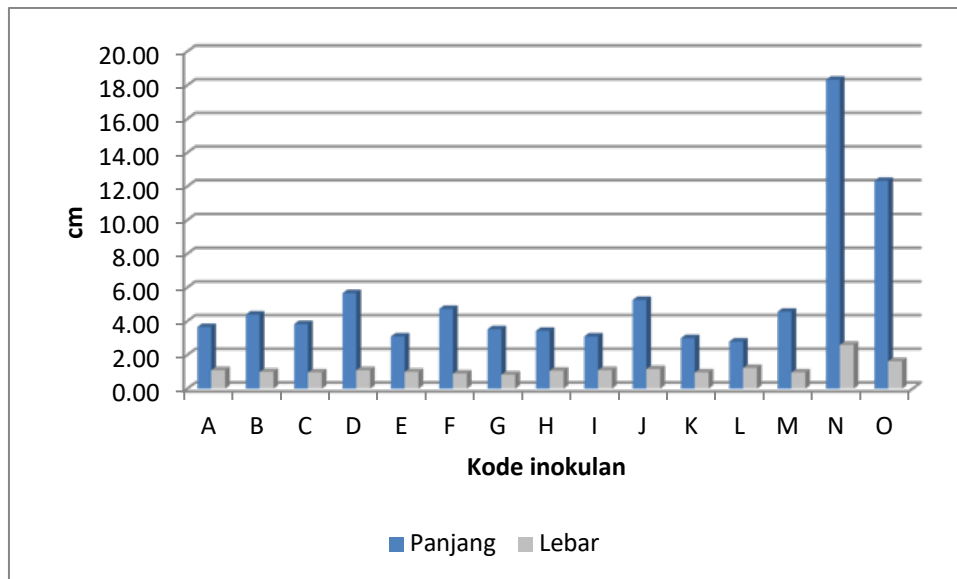
### **Hasil pengukuran gubal**

Satu bulan setelah inokulasi pada batang pohon gubal, dan dilakukan pengelupasan kulit batang, terdapat perubahan warna koteks batang menjadi lebih gelap di sekitar lubang inokulasi. Hal ini menunjukkan terjadi pembentukan gubal akibat adanya respon gaharu terhadap inokulasi. Warna yang terbentuk bisa hitam dan coklat. Gambar 7 menyajikan contoh penampakan gubal gaharu yang diwakili oleh inokulan kontrol positif dan inokulan ekstrak mikroalga. Pada Gambar 7 (tiga di bawah) dapat dilihat bahwa inokulan ekstrak mikroalga menunjukkan perubahan warna yang meluas, dengan warna kecoklatan. Sementara itu, pada Gambar 7 (tiga di atas) dapat dilihat warna hitam yang terbentuk dari inokulan yang diproduksi oleh PEGATRI, kontrol kontrol positif. Inokulan produksi PEGATRI digunakan sebagai kontrol karena telah terbukti mampu membentuk gubal wangi pada individu pohon gaharu yang lain.

### **GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE**

**Gambar 7. Penampakan gubal gaharu.** Tiga gambar di atas adalah dari inokulan ekstrak mikroalga (perlakuan N); tiga gambar di bawah adalah dari inokulan kontrol positif (perlakuan M).

Pembentukan gubal juga dikuantifikasi berupa pengukuran panjang vertikal dan horizontal, yang hasilnya dapat dilihat pada Gambar 8 dan 9. Hasilnya menunjukkan keunggulan inokulan ekstrak mikroalga dengan konsentrasi penuh, dibandingkan dengan inokulan kontrol positif dan inokulan yang diformulasikan dari isolat-isolat fungi.



**Gambar 8. Hasil pengukuran gubal gaharu pada pohon 1 pada bulan pertama**

**GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE**

**Gambar 9. Hasil pengukuran gubal gaharu pada pohon 2 pada bulan pertama**

**GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE**

**Gambar 10. Hasil pengukuran gubal gaharu pada pohon 1 pada bulan kedua**

Hasil yang mirip terjadi pada bulan kedua, yaitu inokulan ekstrak mikroalga paling unggul (Gambar 10 dan 11). Namun demikian, dapat dilihat bahwa penambahan dimensi gubal terjadi pesat pula dari inokulan fungi, terutama pelakuan H pada pohon 1 dan I pada pohon 2. Hal ini menunjukkan bahwa isolat SP2 merupakan isolat paling potensial dibandingkan isolat lainnya.

**GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE**

**Gambar 11. Hasil pengukuran gubal gaharu pada pohon 2 pada bulan kedua**

Penjelasan ilmiah dari respon yang diberikan oleh inokulan berisi ekstrak mikroalga dijelaskan berikut ini. Ekstrak mikroalga yang digunakan, yang diperoleh dari penelitian sebelumnya, diketahui mengandung linolenic acid, yaitu suatu polyunsaturated fatty acid (C18 n-3) (Pikoli et al., 2017). Sementara itu, salah satu molekul yang memperantarai respon pertahanan tumbuhan adalah jasmonic acid (asam jasmonat), yang telah dibuktikan mampu

membentuk gubal gaharu (Yunita, 2009). Molekul ini disintesis dari linolenic acid yang dilepaskan dari membran sel tumbuhan, yang kemudian melalui beberapa tahap transformasi hingga jasmonic acid tersimpan di dalam peroxisome tumbuhan. Jasmonic acid berperan penting dalam jalur biosintesis sesquiterpene, yaitu kelompok senyawa yang menimbulkan bau wangi pada gaharu (Hong-Xu et al., 2016). Dengan demikian, komponen dalam ekstrak mikroalga yang berperan membentuk wangi pada gubal gaharu pada penelitian ini adalah linolenic acid.

### **Pertambahan ukuran gubal**

Untuk memperjelas bagaimana peran inokulan dari semua perlakuan, telah dihitung pertambahan kali lipat dimensi gubal dari bulan pertama ke kedua (Gambar 12). Hasilnya menunjukkan bahwa inokulan ekstrak mikroalga bertambah tidak sepesat inokulan fungi, terutama perlakuan fungi E dan H, yang diperankan oleh SP2. Hasil ini memperjelas isolat SP2 sebagai kandidat yang potensial inokulan gaharu.

**GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE**

### **Gambar 12. Pertambahan dimensi gubal dari bulan pertama ke kedua**

### **Wangi gubal**

Hasil pembauan wangi gubal menunjukkan inokulan ekstrak mikroalga merupakan yang potensial, meskipun dari hasil pertambahan dimensi gubal tidak setinggi dari inokulan fungi (Gambar 13). Hasil ini menunjukkan bahwa kuantifikasi gubal dapat menambah segi ekonomi gubal hanya jika disertai dengan kualitas wangi yang baik pula. Score wangi yang melebihi angka rata-rata 2 menunjukkan potensi wangi gubal ini lebih tajam daripada gubal standar. Sementara itu, warna gubal tidak selalu berbanding lurus dengan wangi gubal. Hal ini diketahui dari warna gubal yang terbentuk dari formula N dan O (ekstrak mikroalga) yang memiliki wangi dengan score tinggi tapi warnanya tidak segelap warna gubal dari inokulan lain. Demikian pula gubal yang terbentuk dari inokulan formula G (kombinasi *Aspergillus tritici* SP1 dan *Aspergillus stromatoides* SP3-2), berwarna coklat atau kurang gelap dibandingkan dengan kontrol positif (formula M atau inokulan PEGATRI), namun memiliki score wangi yang menyerupai kontrol positif.

**GAMBAR-GAMBAR DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE**

### Gambar 13. Score wangi gubal dari inokulan yang berbeda

#### Hasil analisis senyawa dalam gubal

Gubal yang diperoleh telah diperiksa kandungan senyawa kimianya. Namun demikian, tidak banyak senyawa yang terdeteksi dari analisis GC-MS, seperti yang terdapat dalam minyak gubal yang dijadikan sebagai standar. Hal ini dapat disebabkan kurangnya sampel gubal yang diekstraksi, sehingga tidak cukup untuk dianalisis, atau kurangnya waktu sampai terbentuk senyawa yang cukup banyak untuk dapat diekstrak. Sayatan sampel gubal yang diperoleh pada waktu 2 bulan setelah inokulasi hanya menghasilkan sekitar 2 gram. Oleh karena itu, pemeriksaan gubal seharusnya dilakukan pada waktu minimal 6 bulan setelah inokulasi, yang rendemen gubal yang diperoleh lebih banyak.

Tabel 5 menunjukkan nama-nama senyawa yang terdeteksi dari sampel gubal hasil inokulan N (ekstrak mikroalga). Dari ketiga senyawa yang terdeteksi, hanya 1, yaitu verrucarol, yang dikenal sebagai pembentuk wangi. Dari penelitian Gao et al. (2014) diketahui bahwa verrucarol merupakan salah satu dari 22 metabolit utama dalam gubal gaharu, yang terdeteksi dari 37 sampel gubal gaharu baik yang diinokulasi secara artifisial maupun alami; yang dengan demikian, verrucarol dianggap sebagai metabolit penanda (marker) dari gubal gaharu. Meskipun terdapat keterbatasan dari hasil GC-MS dari sampel gubal, terdeteksinya verrucarol menunjukkan bahwa setidaknya salah satu inokulan yang diaplikasikan, yaitu formula N, terverifikasi mampu memberikan kualitas gubal yang menjanjikan untuk dikembangkan.

**Tabel 5. Senyawa-senyawa yang terdeteksi dari gubal hasil inokulan formula N**

Peak#	R.Time	Area	Area%	Name
1	17.919	537538	27.18	1-(4-ETHYLPHENYL)-3-(4-IODOANILINO)-3-(4-METHOXYPHENYL)-1-PROPANONE
2	35.225	849229	42.95	Naphtho[1,2-b]furan-2-one, 2,3,3a,4,5,5a,6,7,9a,9b-decahydro-3,5a,9-trimethyl-7,9a-peroxy-
3	35.673	590594	29.87	Verrucarol
		1977361	100.00	

#### Workshop untuk Diseminasi Hasil Penelitian

Hasil penelitian telah dipaparkan dalam acara workshop. Judul workshop adalah Memberdayakan Petani dengan Teknologi Inokulasi Gaharu, yang diselenggarakan pada tanggal 24 November 2018 di Saung Cijeruk, Bogor. Acara ini juga menghadirkan pakar gaharu yang telah berkecimpung selama 30 tahun dalam penelitian gaharu, yaitu Prof. Erdi Santoso, dari Kementerian Kehutanan. Beliau membagikan ilmunya berupa teknologi inokulasi



gaharu. Selain itu, narasumber praktisi juga dihadirkan, yaitu Ir. Ramzi Salim, yang merupakan wakil ketua Dewan Atsiri Nasional. Beliau membagikan pengalaman mengenai kualitas dan perdagangan minyak gaharu, serta berbagai tips mengenai kualitas gubal. Selanjutnya, pemaparan diberikan oleh ketua tim peneliti dari UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, yang memaparkan kandidat inokulan baru yang merupakan hasil penelitian dari proyek ini. Acara dilanjutkan dengan diskusi mengenai cara membuat inokulan sendiri, yang dibagi oleh ketua PEGATRI. Pada akhir acara, sebagai bagian dari pengabdian masyarakat dari proyek ini, dibagikan sekitar 600 bibit tanaman gaharu dari jenis *Aquilaria malaccensis*, yang dilakukan secara simbolik dari ketua peneliti kepada ketua PEGATRI, untuk kemudian dibagikan kepada anggota PEGATRI dan yang hadir pada acara tersebut. Laporan lengkap kegiatan workshop dapat dilihat pada lampiran dari laporan ini.

Dari pemaparan pembicara dan diskusi yang dilakukan pada acara workshop, setidaknya ada 4 hal yang direkomendasikan:

1. Kualitas inokulan baru yang diinginkan adalah yang menjamin kepastian pembentukan gubal
2. Dibutuhkan penelitian untuk memperoleh tanaman gaharu yang unggul dan perbanyakannya
3. Diperlukan kerjasama yang berlanjut antara praktisi, anggota PEGATRI, dan akademisi
4. Diperlukan dukungan universitas bagi penerapan regulasi tataniaga gaharu dan gubalnya di Indonesia
5. Terdapat ketertarikan dari anggota PEGATRI yang hadir untuk mencobakan inokulan baru untuk diinokulasi pada pohon milik mereka.

### **Follow Up**

Hasil penelitian ini membutuhkan keberlanjutan, setidaknya dalam hal berikut ini:

1. Melanjutkan pemeriksaan kualitas inokulan dalam membentuk gubal
2. Melanjutkan penelitian untuk mengoptimasi isolat fungi dan ekstrak mikroalga yang menjadi kandidat inokulan
3. Mencoba fungi lain (14 isolat) yang terisolasi dari penelitian ini namun belum diuji
4. Melanjutkan kerjasama dengan PEGATRI untuk memverifikasi atau mengadakan ulangan pada pohon lain dan mencobakan inokulasi pada pohon gaharu di kebun lain

## BAB V PENUTUP

### Kesimpulan

1. Keempat isolat fungi dan ekstrak mikroalga yang diformulasikan ke dalam 13 macam formula dapat menginduksi pembentukan gubal.
2. Formula yang paling menjanjikan dari segi penambahan dimensi gubal, adalah E dan H, yang diperankan oleh isolat fungi *Penicillium rubidurum* SP2. Namun demikian, dari score wangi gubal, formula yang paling menjanjikan adalah G (kombinasi *Aspergillus tritici* SP1 dan *Aspergillus stromatoides* SP3-2), serta formula N dan O yang berisi ekstrak mikroalga.
3. Kualitas wangi gubal yang dihasilkan dari formula tersebut (Kesimpulan 2) kurang lebih sama dengan wangi gubal standar, berdasarkan score wangi.

### Rekomendasi

Rekomendasi yang diajukan adalah melanjutkan kerjasama penelitian dan pengabdian masyarakat dengan PEGATRI untuk memverifikasi atau mengadakan ulangan pada pohon lain ataupun mencobakan inokulasi pada pohon gaharu di kebun lain. Ketertarikan anggota PEGATRI yang lain untuk mencoba inokulan ini perlu disambut dan ditindaklanjuti. Selain itu, terdapat 14 isolat fungi lagi yang dapat diuji-cobakan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Blanchette, R. A. (2006). *Sustainable agarwood production in aquilaria trees*. Retrieved from <http://forestpathology.cfans.umn.edu/agarwood.htm>.
- Carolina, D. A. (2016). Induksi pembentukan gaharu menggunakan berbagai media tanam dan cendawan *Acremonium* sp. dan *Fusarium* sp. pada *Aquilaria crassna*. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 2(1).
- Chhipa, H., & Kaushik, N. (2017). Fungal and bacterial diversity isolated from *Aquilaria malaccensis* tree and soil, induces agarospirol formation within 3 months after artificial infection. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1286.
- Gao, X., Xie, M., Liu, S., Guo, X., Chen, X., Zhong, Z., ... & Zhang, W. (2014). Chromatographic fingerprint analysis of metabolites in natural and artificial agarwood using gas chromatography–mass spectrometry combined with chemometric methods. *Journal of Chromatography B*, 967, 264-273.
- Hamim, Rahayu, G., & Rosita, R. (2009). Efektivitas pemberian metil jasmonat secara berulang dalam meningkatkan deposit senyawa terpenoid pohon gaharu (*Aquilaria crassna*). In *Menuju Produksi Gaharu Secara Lestari Kumpulan Makalah Seminar Nasional I Gaharu*; Bogor, 12 Nov 2009.
- Jong, P. L., Tsan, P., & Mohamed, R. (2014). Gas chromatography-mass spectrometry analysis of agarwood extracts from mature and juvenile *Aquilaria malaccensis*. *Int J Agric Biol*, 16(3), 644-648.
- Mohamed, R., Jong, P. L., & Irdayu, I. N. (2014a). Succession patterns of fungi associated to wound-induced agarwood in wild *Aquilaria malaccensis* revealed from quantitative PCR assay. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(9), 2427-2436.
- Mohamed, R., Jong, P. L., & Kamziah, A. K. (2014b). Fungal inoculation induces agarwood in young *Aquilaria malaccensis* trees in the nursery. *Journal of Forestry Research*, 25(1), 201-204.
- Murtaip (2010). Induction of agarwood formation by combination of *Acremonium* and chemical treatments. Master's Thesis. Institut Pertanian Bogor.
- Pikoli, M. R., Sari, A. F., & Solihah, N. A. 2017. Lipid-producing microalgae and cyanobacteria from Situ Gintung and Situ Pamulang and their potential for biodiesel feedstock. Laporan Hasil Penelitian. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

- Premalatha K., Kalra A. (2013). Molecular phylogenetic identification of endophytic fungi isolated from resinous and healthy wood of *Aquilaria malaccensis*. A red listed and highly exploited medicinal tree. *Fungal Ecol.* 6:205–11.
- Rahayu, G. (2010). Fragrance formation in *Aquilaria* spp. shoot culture induced by *Acremonium* sp. *Microbiology Indonesia*, 4(2), 55-59.
- Rasool, S., & Mohamed, R. (2016). Understanding agarwood formation and its challenges. In *Agarwood* (pp. 39-56). Springer, Singapore.
- Siran, S. A. (2011). The developing of database regarding the potency of gaharu-yielding trees in Indonesia. In M. Turjaman (Ed.). *Proceeding of gaharu workshop: Bioinduction technology*. R & D Centre for Forest Conservation and Rehabilitation, Forestry Research and Development Agency (Forda), Ministry of Forestry, Indonesia.
- Stadnik, M. J., & Freitas, M. B. D. (2014). Algal polysaccharides as source of plant resistance inducers. *Tropical Plant Pathology*, 39(2), 111-118.
- Suharti, S., Pratiwi, Santosa, E., & Turjaman, M. (2011). Feasibility of gaharu inoculation business at different stem diameter and period of inoculation. In M. Turjaman (Ed.). *Proceeding of gaharu workshop: Bioinduction technology*. R & D Centre for Forest Conservation and Rehabilitation, Forestry Research and Development Agency (Forda), Ministry of Forestry, Indonesia.
- Tempo.co. (2011). *Indonesia mulai ekspor komoditi gaharu ke Cina tahun ini*. Retrieved from <https://bisnis.tempo.co/read/319869/indonesia-mulai-ekspor-komoditi-gaharu-ke-cina-tahun-ini>.
- Van Wyk, P. S., Scholtz D. J. , & Los, O. (1986). A selective medium for the isolation of *Fusarium* spp. from soil debris. *Phytophylactica*, 18(2), 67-70.
- Waluyo, T. K., Novriyanti, E., Pari G., & Santoso E. (2011). Chemical composition of gaharu products that result from inducement. In M. Turjaman (Ed.). *Proceeding of gaharu workshop: Bioinduction technology*. R & D Centre for Forest Conservation and Rehabilitation, Forestry Research and Development Agency (Forda), Ministry of Forestry, Indonesia.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: a guide to methods and applications. (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds). Academic Press, New York, USA: 315–322.

- Xu, Y. H., Liao, Y. C., Zhang, Z., Liu, J., Sun, P. W., Gao, Z. H., ... & Wei, J. H. (2016). Jasmonic acid is a crucial signal transducer in heat shock induced sesquiterpene formation in *Aquilaria sinensis*. *Scientific reports*, 6, 21843.
- Yunita, L. (2009). Effectivity of *Acremonium* sp. and methyl jasmonate to improve agarwood quality of *Aquilaria microcarpa*. Master's Thesis. Institut Pertanian Bogor.
- Zhang, X. L., Liu, Y. Y., Wei, J. H., Yang, Y., Zhang, Z., Huang, J. Q., ... & Liu, Y. J. (2012). Production of high-quality agarwood in *Aquilaria sinensis* trees via whole-tree agarwood-induction technology. *Chinese Chemical Letters*, 23(6), 727-730.

LAMPIRAN-LAMPIRAN DIHAPUS UNTUK MENGURANGI UKURAN FILE