

**IDENTIFIKASI MOLEKULER FUNGI MIKORIZA ARBUSKULA ASAL DARI
RIZOSFER KAKAO (*Theobroma cacao* L.) PADA SISTEM MONOKULTUR DAN
AGROFORESTRY**

**MOLECULAR IDENTIFICATION OF MYCORRHIZAL FUNGI ARBUSCULA
ORIGINATING FROM COCOA (*Theobroma cacao* L.) RHIZOSPHERE ON
MONOCULTURE AND AGROFORESTRY SYSTEMS**

BOBY AGY WIJAYA

TESIS

**Untuk memenuhi salahsatu syarat
Guna memperoleh gelar Magister Pertanian
pada Program Studi Ilmu Pertanian Program Magister**



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU PERTANIAN
PASCASARJANA
UNIVERSITAS TADULAKO
PALU
2025**

**IDENTIFIKASI MOLEKULER FUNGI MIKORIZA ARBUSKULA ASAL DARI
RIZOSFER KAKAO (*Theobroma cacao* L.) PADA SISTEM MONOKULTUR DAN
AGROFORESTRY**

**MOLECULAR IDENTIFICATION OF MYCORRHIZAL FUNGI ARBUSCULA
ORIGINATING FROM COCOA (*Theobroma cacao* L.) RHIZOSPHERE ON
MONOCULTURE AND AGROFORESTRY SYSTEMS**

**Oleh:
BOBY AGY WIJAYA
E 202 21 020**

TESIS

**Untuk memenuhi salahsatu syarat
Guna memperoleh gelar Magister Pertanian
pada Program Studi Ilmu Pertanian Program Magister**



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU PERTANIAN
PASCASARJANA
UNIVERSITAS TADULAKO
PALU
2025**

PENGESAHAN

IDENTIFIKASI MOLEKULER FUNGI MIKORIZA ARBUSKULAR ASAL RIZOSFER KAKAO (*Theobroma cacao* L.) PADA SISTEM MONOKULTUR DAN AGROFORESTRI

Oleh

Boby Agy Wijaya
Stb. E20221020

TESIS

Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Guna Memperoleh Gelar Magister Pertanian
Program Studi Magister Ilmu Pertanian,

Telah disetujui oleh Tim Pembimbing pada Tanggal
Seperti tertera di bawah ini,-

Palu, 11 Juli 2025

(Dr.Sc.Agr. Ir. Henry N. Barus, M.Sc.)
Ketua Tim Pembimbing

(Nur Edy, SP., MP., Ph.D.)
Anggota Tim Pembimbing

Mengetahui,

(Prof. Dr. Ir. Adam Malik, M.Sc., IPU., ASEAN Eng.)
Direktur Pascasarjana
Universitas Tadulako

(Dr. Ir. Rostiati dg Rahmatu, MP.)
Koordinator Program Studi
Magister Ilmu Pertanian

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Karya tulis saya, Tesis ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana, magister, dan/atau doktor), baik di Universitas Tadulako maupun di perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku diperguruan tinggi ini.

Palu, Juli 2025
Yang membuat pernyataan,



(Boby Agy Wijaya)
No. Stb: E20221020

ABSTRAK

Boby Agy Wijaya, Identifikasi Molekuler Fungi Mikoriza Arbuskula Asal Dari Rizosfer Kakao (*Theobroma cacao* L.) Pada Sistem Monokultur Dan Agroforestry. (Dibimbing Oleh Henry Novero Barus dan Nur Edy).

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan komoditas unggulan yang memiliki nilai ekonomi penting di Indonesia. Salah satu pendekatan yang dapat mendukung budidaya kakao berkelanjutan adalah melalui pemanfaatan fungi mikoriza arbuskula (FMA), yang diketahui mampu meningkatkan efisiensi penyerapan hara serta ketahanan tanaman terhadap cekaman lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies FMA yang terdapat pada rizosfer tanaman kakao yang dibudidayakan dalam sistem monokultur dan agroforestry, serta membandingkan tingkat keanekaragamannya pada kedua sistem tersebut. Metode yang digunakan meliputi pengambilan sampel tanah dan akar secara purposive sampling di Desa Bobo Kecamatan Palolo Kabupaten Sigi, Sulawesi Tengah. Identifikasi molekuler dilakukan menggunakan metode sekuensing berbasis nanopore pada lokus Internal Transcribed Spacer (ITS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sistem agroforestry memiliki nilai indeks keanekaragaman Shannon-Wiener (H') sebesar 1,831, lebih tinggi dibandingkan dengan sistem monokultur yang hanya mencapai nilai 1,333. Sebanyak sembilan spesies FMA berhasil diidentifikasi pada sistem agroforestry, di antaranya *Rhizophagus intraradices*, *Glomus gregaria*, *Acaulospora reticulata*, dan *Diversispora xanthium*. Sementara itu, sistem monokultur didominasi oleh satu spesies utama, yaitu *Acaulospora reticulata*. Temuan ini menunjukkan bahwa praktik agroforestry berkontribusi terhadap meningkatnya keanekaragaman mikoriza pada tanah perkebunan kakao, yang secara ekologis dapat mendukung keberlanjutan sistem produksi.

Kata kunci: Kakao, Fungi Mikoriza Arbuskula, Agroforestry, Monokultur, Identifikasi Molekuler, PCR (Polymerase Chain Reaction), Sequencing Nanopore

ABSTRACT

Boby Agy Wijaya, Molecular Identification of Mycorrhizal Arbusculus Fungi from Cocoa Rhizosphere (*Theobroma cacao* L.) in Monoculture and Agroforestry System. (Supervised by Henry Novero Barus and Nur Edy).

Cocoa plants (*Theobroma cacao* L.) are a leading commodity that has important economic value in Indonesia. One approach that can support sustainable cocoa cultivation is through the use of mycorrhizal arbuscular fungi (FMA), which are known to increase nutrient absorption efficiency and plant resistance to environmental stresses. This study aims to identify FMA species found in the rhizosphere of cocoa plants cultivated in monoculture and agroforestry systems, and compare the levels of diversity in both systems. The method used included purposive sampling of soil and roots in Bobo Village, Palolo District, Sigi Regency, Central Sulawesi. Molecular identification was carried out using a nanopore-based sequencing method at the Internal Transcribed Spacer (ITS) locus. The results showed that the agroforestry system had a Shannon-Wiener diversity index (H') value of 1.831, higher than the monoculture system which only reached a value of 1.333. A total of nine FMA species were successfully identified in the agroforestry system, identified as many as 9 main FMA species, namely *Glomus* mycorrhizal symbiont of *Marchantia foliacea*, *Rhizophagus intraradices*, *Acaulospora reticulata*, *Glomus gregaria*, *Glomus geosporum*, *Rhizophagus irregularis*, *Acaulospora lacunosa*, *Diversispora xanthium*, and *Claroideoglomus emiratium*. Meanwhile, in monoculture system, only 4 main species were identified, namely *Acaulospora reticulata*, *Glomus gregaria*, *Glomus* mycorrhizal symbiont of *Marchantia foliacea*, and *Rhizophagus intraradices*. These findings suggest that agroforestry practices contribute to increased mycorrhizal diversity in cocoa plantation soils, which can ecologically support the sustainability of production systems.

Keywords: Cocoa, Arbuscular Mycorrhizal Fungi, Agroforestry, Monoculture, Molecular Identification, PCR (Polymerase Chain Reaction), Nanopore Sequencing

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Penulis memanjatkan puji syukur alhamdulillah atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan hasil penelitian ini dengan judul “**Identifikasi Molekuler Fungi Mikoriza Arbuskula Asal Dari Rizosfer Kakao (*Theobroma cacao* L.) Pada Sistem Monokultur Dan Agroforestry**”. Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Pertanian pada Prodi Ilmu Pertanian (M.P) Pascasarjana Universitas Tadulako.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah mengarahkan dan membimbing penulis dalam penyelesaian tesis ini terutama kepada Bapak **Dr.sc.agr. Ir. Henry Novero Barus, M.Sc.** sebagai pembimbing utama dan Bapak **Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D.** sebagai pembimbing anggota tim pembimbing.

Terima kasih dan penghargaan yang sama penulis sampaikan pula kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Amar, S.T., M.T, IPU., ASEAN Eng, selaku Rektor Universitas Tadulako,
2. Dr. Ir. Adam Malik, M.Sc., IPU., ASEAN Eng, selaku Direktur Pascasarjana Universitas Tadulako,
3. Dr. Samsurizal M. Suleman, M.Si, selaku Wakil Direktur Bidang Akademik dan Kemahasiswaan Program Pascasarjana Universitas Tadulako,

4. Prof. Dr. Ir.Sri Anjar Lasmini, MP., selaku Wakil Direktur Bidang Umum Program Pascasarjana Universitas Tadulako,
5. Dr. Ir. Rostiati dg Rahmatu, M.P., Ketua Program Studi Magister Ilmu Pertanian Program Pascasarjana Universitas Tadulako,
6. Prof. Dr. Ir. Mahfudz, MP. dan Dr. Ir. Muhd. Nur Sangaji, DEA. yang telah memberikan saran-saran dalam penyelesaian tesis ini.
7. Staf Program Pascasarjana Universitas Tadulako yang telah banyak memberikan bantuan dalam penyelesaian administrasi,
8. Bapak dan Ibu Dosen Program Pascasarjana Universitas Tadulako yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan dalam penyelesaian studi,
9. Calon istri saya, Fitriana, S.Ars. yang telah memberikan dukungan baik moril maupun materiil selama perkuliahan hingga selesai.
10. Laboran dan tim Laboratorium Proteksi Tanaman, Kak Nova Alvianita P., S.P., M.P. dan Kak Zulfadli, S.P., M.P. yang sudah sangat baik membantu segala sesuatu saat penelitian.
11. Teman-teman Pascasarjana IIP Kelas B dan teman-teman Kelas Konsentrasi Ilmu Tanaman Angkatan 2021 yang telah menyayangi dan memberikan warna baru kepada penulis selama masa perkuliahan.
12. Untuk Teman-teman kerja saya di CV. ASA CORALINDO RESOURCES khususnya direktur Julham, S.Pd yang telah memberi dukungan moril dan materi

13. Serta untuk teman-teman terbaik saya yang banyak membantu selama penelitian, Nurahmat Prabowo, S.P., dan Asmila, S.P., M.P. Semoga Allah membalas kebaikan kalian.

Akhirnya dengan rasa syukur yang tulus dan penuh haru penulis persembahkan tesis ini kepada Ayahanda kandung saya **Ruby Rusmedian**, Ibu kandung saya **Ramlah Madjid, S.Pi.** dan ayah sambung saya **Ahyar Tauhid, S.H.** yang telah memberikan rasa kasih sayang, membesarkan, mendidik, dan tak lupa pula penulis sampaikan terima kasih kepada Adik kandung saya **Caroline Risky Putri, S.K.M** yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada kakaknya. Tak lupa pula penulis sampaikan terima kasih banyak kepada semua orang yang selalu mengajarkan penulis untuk bisa belajar menghargai diri sendiri dalam setiap proses kehidupan.

Palu, Juli 2025

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	
HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGESAHAN.....	i
PERNYATAAN.....	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS	
2.1 Penelitian Terdahulu.....	6
2.2 Kajian Pustaka	14
2.2.1 Fungi Mikoriza Arbuskula.....	14
2.2.1.1 Peran FMA dalam pertanian.....	15
2.2.2 Tanaman Kakao (<i>Theobroma cacao L.</i>)	16
2.2.2.1 Perkebunan Kakao Monokultur dan Agroforestry	16
2.2.3 Simbiosis Fungi Mikoriza Arbuskula dan Tanaman Kakao..	18
2.2.4 PCR (Polimerase Chain Reaction)	19
2.2.4.1 Sequencing Nanopore	20
2.3 Kerangka Pemikiran	22
 BAB 3 METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	25
3.2 Bahan dan Alat	25
3.3 Sumber Sampel Mikoriza	26
3.4 Desain Penelitian	26
3.4.1 Pengambilan Sampel dan Ekstraksi DNA Mikoriza.....	27
3.5 Metode Analisis Data	23
 BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil	33
4.1.1 Hasil Amplifikasi Mikoriza Arbuskula dengan PCR.....	33
4.1.2 Hasil Sequencing nanopore DNA	34
4.1.4 indeks Keanekaragaman.....	36

4.2 Pembahasan	37
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	
DOKUMENTASI	
BIODATA PENULIS	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bagan Kerangka Pemikiran.....	24
Gambar 2. Gambar 2. Visualisasi hasil amplifikasi DNA isolate mikoriza di lahan monokultur dan agroforestri kakao, (M= Marker, 1= Agroforestry, 2=Monokultur)	33
Gambar 3. Persentase Hasil Identifikasi Jenis Spesies Mikoriza Pada Lahan Monokultur.....	34
Gambar 4. Persentase Hasil Identifikasi Jenis Spesies Mikoriza Pada Lahan Agroforestry	35
Gambar 5. Jenis Mkoriza yang dapat hidup di sistem monokultur dan agroforestry	35

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Indeks Keanekaragaman Mikoriza Pada Lahan Pertanian Monokultur Kakao	36
Tabel 2. Indeks Keanekaragaman Mikoriza Pada Lahan Pertanian Agroforestry Kakao	36

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kakao (*Theobroma cacao* L.) memiliki peranan penting dalam perekonomian Indonesia, yang merupakan salah satu produsen kakao terbesar di dunia. Permintaan global terhadap produk kakao terus meningkat, sehingga penting untuk mengembangkan strategi budidaya yang berkelanjutan guna meningkatkan hasil dan kualitas produksi. Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah pemanfaatan fungi Mikoriza Arbuskula (FMA), yang dikenal dapat memperbaiki kesehatan tanah dan mendukung pertumbuhan tanaman melalui simbiosis.

FMA merupakan fungi yang membentuk hubungan simbiosis dengan akar tanaman, yang dapat meningkatkan penyerapan nutrisi, terutama fosfor, serta memperbaiki ketahanan tanaman terhadap stres biotik dan abiotik (Smith & Read, 2008). Penelitian menunjukkan bahwa FMA dapat berperan dalam meningkatkan produktivitas tanaman dalam berbagai sistem budidaya (Pérez-de-Mora *et al.*, 2015). Dalam konteks kakao, keberadaan FAM di rizosfer sangat penting, mengingat tanaman ini memerlukan nutrisi yang cukup untuk tumbuh optimal.

Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) bisa ditemukan hampir pada semua ekosistem, termasuk pada lahan argoforestry, hutan primer dan sekunder, bahkan pada lahan kritis seperti lahan bekas tambang emas (Riko Prasetyo, 2019), lahan bekas tambang nikel (Akib, M.A., 2018) lahan saline-alkaline (Yunhui Zhou *et al.*, 2022). Secara khusus, 80% akar tanaman berasosiasi dengan jamur mikoriza (Sufaati S, dkk., 2011). Meskipun begitu, ragam dan jenis komposisi FMA memiliki tingkat keanekaragaman yang sangat tinggi dan dipengaruhi oleh sifat-

sifat tanaman serta faktor-faktor lingkungan seperti suhu, pH tanah, kelembapan tanah, kadar fosfor dan nitrogen, dan juga kandungan logam berat dalam tanah (Daniels dan Trappe 1980).

Sistem budidaya monokultur dan agroforestry memiliki dampak yang berbeda terhadap keberagaman mikroorganisme di rizosfer. Monokultur sering kali menyebabkan penurunan keanekaragaman hayati, yang dapat berdampak negatif pada kesehatan tanah dan produktivitas tanaman (Tilman *et al.*, 2002). Sebaliknya, agroforestry cenderung meningkatkan keanekaragaman spesies mikroorganisme, termasuk FMA, yang dapat berkontribusi pada keseimbangan ekosistem (Liu *et al.*, 2020). Oleh karena itu, eksplorasi dan identifikasi FMA pada kedua sistem budidaya kakao ini sangat penting untuk memahami potensi mereka dalam meningkatkan keberlanjutan pertanian kakao.

Identifikasi mikoriza merupakan langkah awal yang diperlukan dalam eksplorasi dan pemanfaatan mikoriza lokal untuk memperluas peranannya terhadap pertumbuhan tanaman (Eka Sukmawaty, 2016). Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi dan mengidentifikasi keanekaragaman fungi arbuskula mikoriza pada rizosfer tanaman kakao yang ditanam secara monokultur dan agroforestry. Melalui pemahaman yang lebih dalam tentang perbedaan keanekaragaman dan peran FAM dalam kedua sistem ini, diharapkan dapat diperoleh strategi pengelolaan yang lebih efektif untuk mendukung produktivitas dan kesehatan tanah dalam budidaya kakao. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap praktik pertanian yang berkelanjutan dan menambah

informasi keragaman molekuler Mikoriza di sekitar rizosfer perkebunan kakao monokultur dan agroforestry.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang dijelaskan diatas maka, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

- 1 Bagaimana hasil identifikasi molekuler spesies fungi mikoriza arbuskula (FMA) pada rizosfer tanaman kakao yang dibudidayakan dalam sistem monokultur dan argoforestry?
- 2 Apa perbedaan spesies FMA yang teridentifikasi secara molekuler antara sistem budidaya monokultur dan agroforestry?
- 3 Bagaimana keanekaragaman fungi mikoriza arbuskula (FMA) yang terdapat pada rizosfer tanaman kakao yang ditanam secara monokultur dibandingkan dengan agroforestry?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies fungi mikoriza arbuskula (FMA) yang terdapat pada rizosfer tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) menggunakan pendekatan molekuler pada dua sistem budidaya yang berbeda, yaitu sistem monokultur dan agroforestry. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk membandingkan keanekaragaman spesies FMA antara kedua sistem tersebut serta mengevaluasi perbedaan struktur komunitas FMA yang terasosiasi dengan tanaman kakao di lingkungan budidaya yang berbeda.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat secara ilmiah maupun praktis. Secara ilmiah, penelitian ini dapat memperkaya pengetahuan tentang keragaman dan identifikasi spesifik fungi mikoriza arbuskula (FMA) pada

sistem budidaya kakao yang berbeda, serta menjadi referensi dalam studi ekologi mikroorganisme tanah dan hubungan simbiosis mikoriza. Secara praktis, informasi mengenai spesies FMA yang dominan pada masing-masing sistem budidaya dapat dimanfaatkan sebagai dasar dalam pengembangan biofertilizer alami untuk meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman kakao. Selain itu, penelitian ini juga memberikan kontribusi dalam upaya konservasi biodiversitas mikroba tanah serta mendukung penerapan sistem pertanian yang berkelanjutan dan ramah lingkungan, khususnya melalui pengelolaan sistem agroforestry yang adaptif terhadap perubahan lingkungan.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penelitian Terdahulu

Ni Kadek Sintya Dewi, Gede Putu Wirawan, dan Made Sritamin (2014).

Identifikasi Mikoriza Arbuskula Secara Mikroskopis pada Rhizosfer Beberapa Jenis Rumput-rumputan dan Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) bertujuan untuk mengidentifikasi jenis mikoriza arbuskula yang ditemukan pada rizosfer beberapa jenis rumput-rumputan serta tanaman kakao. Metode penelitian yang digunakan adalah eksplorasi dengan teknik pengambilan sampel secara purposive sampling, di mana sampel tanah dan akar diambil dari rhizosfer rumput-rumputan dan tanaman kakao di area yang telah ditentukan. Tahapan penelitian meliputi pengambilan sampel, isolasi, dan identifikasi morfologi spora mikoriza arbuskula menggunakan teknik mikroskopis untuk mengamati karakteristik dan jumlah spora yang ditemukan. Untuk metode analisis data, para peneliti menggunakan analisis deskriptif berdasarkan pengamatan mikroskopis terhadap spora mikoriza yang telah diisolasi. Spora yang ditemukan kemudian diidentifikasi secara morfologis untuk menentukan genus dan tipe spora yang ada. Hasil penelitian menunjukkan bahwa spora mikoriza yang ditemukan pada rizosfer tanaman kakao berasal dari genus *Glomus*, dengan dua tipe spora. Selain itu, pada rumput-rumputan seperti alang-alang ditemukan spora dari genus *Glomus* dengan dua tipe spora, pada rumput bahia ditemukan genus *Acaulospora* dan *Gigaspora*, pada rumput gajah ditemukan tiga tipe spora dari genus *Glomus*, serta pada teki ditemukan genus *Gigaspora* dan dua tipe spora dari genus *Glomus*. Penelitian ini berhasil mengidentifikasi variasi

mikoriza arbuskula pada beberapa jenis tanaman, baik rumput maupun kakao. Perbedaan dengan penelitian ini adalah identifikasi fungi mikoriza arbuskula dilakukan secara mikroskopis, yang berfokus pada pengamatan morfologi spora melalui isolasi dan analisis visual menggunakan mikroskop. Metode ini mengandalkan karakteristik fisik spora untuk menentukan genus dan jenis fungi yang ada. Hasilnya terbatas pada identifikasi genus mikoriza berdasarkan bentuk spora, seperti *Glomus*, *Acaulospora*, dan *Gigaspora*, yang ditemukan pada berbagai jenis tanaman termasuk kakao. Rencana penelitian tesis yang menggunakan metode sequencing Nanopore menerapkan pendekatan molekuler untuk identifikasi. Teknologi Nanopore memungkinkan analisis yang lebih mendalam dan akurat karena mengidentifikasi fungi berdasarkan DNA mereka. Metode ini dapat mendeteksi lebih banyak variasi dan spesies fungi, termasuk yang tidak dapat diidentifikasi secara morfologis, serta memberikan informasi lebih mendetail tentang keragaman genetik fungi di rizosfer kakao. Hasil yang diharapkan dari metode ini jauh lebih presisi, mencakup tidak hanya identifikasi genus tetapi juga spesies fungi, serta memberikan gambaran yang lebih lengkap tentang jenis mikoriza di tanah perkebunan kakao.

Edy, N., Zakaria, E.K., Lakani, I., dan Hasriyanti. (2015). *Forest Conversion into Cacao Agroforestry and Cacao Plantation Change the Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi* (Konversi Hutan Menjadi Agroforestri Kakao dan Perkebunan Kakao Mengubah Keragaman Cendawan Mikoriza Arbuskula) bertujuan untuk meneliti dampak konversi hutan menjadi agroforestri kakao dan perkebunan kakao terhadap keragaman cendawan mikoriza arbuskula (FMA).

Metode penelitian yang digunakan adalah eksplorasi, dengan teknik pengambilan sampel menggunakan *purposive sampling*. Pengambilan sampel dilakukan dari berbagai jenis lahan, termasuk lahan hutan, agroforestri kakao, dan perkebunan kakao monospesifik. Tahapan dalam penelitian ini meliputi pengambilan sampel tanah, isolasi spora, dan identifikasi cendawan mikoriza arbuskula. Sampel yang diambil kemudian dianalisis untuk mengetahui komposisi dan keragaman cendawan mikoriza arbuskula di setiap sistem penggunaan lahan. Metode analisis data yang digunakan meliputi analisis statistik untuk membandingkan keragaman spora dan kekayaan spesies FMA antara lahan hutan, agroforestri kakao, dan perkebunan kakao. Identifikasi mikoriza menggunakan metode filter tuang basah dan disentrifugasi, mengidentifikasi karakteristik dan menghitung jumlah spora dengan mikroskop, keanekaragaman jenis mikoriza dihitung menggunakan persamaan indeks Shannon (H'), Indeks simpson (D), dan Indeks Dominasi. Data mengenai jumlah, jenis, serta keragaman spesies FMA dianalisis untuk memahami bagaimana perubahan sistem lahan mempengaruhi komposisi fungi tersebut. Ditemukan 9.209 spora FMA yang dikumpulkan, jenis yang ditemukan adalah *Glomus* sp, *Gigaspora* sp., *Scutellospora* sp, *Acaulospora* sp, dan beberapa FMA yang tidak teridentifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keragaman FMA dipengaruhi oleh sistem penggunaan lahan. Kekayaan spesies dan keragaman spora FMA lebih tinggi pada perkebunan kakao monospesifik yang merupakan jenis perkebunan kakao yang hanya menanam satu jenis atau spesies tanaman kakao tertentu, dibandingkan agroforestri kakao yang menggabungkan tanaman kakao dengan berbagai tanaman lain dalam satu lahan. Penelitian ini juga menemukan

bahwa sistem agroforestri cenderung mempertahankan lebih banyak keragaman tumbuhan, yang pada gilirannya mempengaruhi keragaman fungi di tanah. Kesimpulannya, konversi hutan menjadi sistem perkebunan dan agroforestri mengubah keragaman fungi mikoriza arbuskula, dengan peningkatan keragaman fungsional di lahan pertanian monokultur kakao. Perbedaan dengan penelitian ini adalah Penelitian oleh N. Edy, dkk berfokus pada perubahan keragaman Fungi mikoriza arbuskula (FMA) akibat konversi hutan menjadi agroforestri kakao dan perkebunan kakao monokultur. Penelitian tersebut menggunakan metode pengamatan morfologi dengan isolasi dan identifikasi spora secara visual untuk menentukan keragaman FMA. Pendekatan ini memberikan informasi terbatas, hanya pada tingkat genus, serta berfokus pada perbedaan lahan hutan dan agroforestri kakao dalam kaitannya dengan keragaman spora. Rencana penelitian ini yang menggunakan metode sequencing Nanopore dengan pendekatan molekuler. Metode ini memungkinkan identifikasi DNA dari FMA secara mendalam, sehingga tidak hanya mengidentifikasi fungi pada tingkat genus, tetapi juga pada tingkat spesies dengan presisi lebih tinggi. Teknik Sequencing Nanopore dapat mendeteksi lebih banyak jenis fungi, termasuk spesies yang mungkin tidak dapat diamati secara morfologis melalui metode tradisional. Selain itu, penelitian ini juga mampu menganalisis keragaman genetik fungi mikoriza, yang memberikan gambaran lebih lengkap tentang komunitas mikoriza di tanah perkebunan kakao.

Parwi, B. Pudjiasmanto, D. Purnomo, dan V.R. Cahyani (2017). *Diversity of Arbuscular Mycorrhiza in the Rhizosphere of Cajeput in Agroforestry System with Different Fertilizer Management of Maize* (Keanekaragaman mikoriza

arbuskula di rizosfer Cajeput dalam sistem agroforestri dengan pengelolaan pemupukan jagung yang berbeda) bertujuan untuk mengeksplorasi keanekaragaman mikoriza arbuskula di rizosfer tanaman kayu putih (Cajeput) dalam sistem agroforestri yang menerapkan berbagai pengelolaan pemupukan jagung. Metode penelitian yang digunakan adalah observasi eksperimental dengan tiga faktor perlakuan pemupukan yang berbeda. Penelitian ini meliputi beberapa tahapan, termasuk pengambilan sampel dari rizosfer tanaman kayu putih, pengumpulan akar dan tanah, serta perkiraan infeksi mikoriza melalui analisis morfologi akar. Selanjutnya, dilakukan isolasi dan identifikasi terhadap fungi mikoriza arbuskula yang ditemukan. Untuk analisis data, para peneliti menggunakan statistik deskriptif dan analisis varians untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan pemupukan terhadap tingkat infeksi mikoriza dan keanekaragaman spesies. Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi mikoriza arbuskula tertinggi terjadi pada plot dengan perlakuan tertentu, yaitu AM3, dengan tingkat kolonisasi berkisar antara 32,64% hingga 63,33%. Delapan spesies mikoriza arbuskula berhasil diidentifikasi, dengan dominasi spesies dari genus *Glomus*, serta satu spesies dari genus *Acaulospora* dan dua spesies dari genus *Gigaspora*. Penelitian ini menyoroti pentingnya pengelolaan pemupukan dalam meningkatkan infeksi mikoriza arbuskula dan keragaman spesies di sistem agroforestri, yang pada akhirnya dapat berkontribusi pada kesehatan dan produktivitas tanaman. Perbedaan penelitian oleh Pudjiasmanto, P.B. dkk., (2017) mengenai keanekaragaman mikoriza arbuskula di rizosfer tanaman kayu putih dengan penelitian ini adalah penelitian ini menggunakan metode identifikasi mikro yaitu sequencing Nanopore,

serta pendekatan analisis yang digunakan. Penelitian oleh Parwi, dkk berfokus pada pengaruh pengelolaan pemupukan eksperimental jagung terhadap keanekaragaman mikoriza arbuskula di dengan pendekatan observasional dan analisis morfologi untuk mengidentifikasi spesies mikoriza. Metode ini membatasi identifikasi pada tingkat genus dan hanya mengungkapkan informasi yang bersifat deskriptif mengenai infeksi mikoriza. Sedangkan penelitian ini yang menggunakan sequencing Nanopore mengambil pendekatan molekuler yang lebih akurat, memungkinkan identifikasi Mikoriza pada tingkat spesies dengan akurasi yang lebih tinggi. Metode ini juga dapat mendeteksi berbagai spesies fungi yang mungkin tidak teridentifikasi melalui pengamatan morfologi, serta memberikan wawasan lebih dalam mengenai keragaman genetik mikoriza.

Angela Pacheco Flores de Valgaz, Jaime Naranjo-Moran, Guillermo Reyes Roman, Javier Oviedo-Anchundia, Maria Ratti Torres dan Milton Barcos-Arias (2022). *Discovering the Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associated with Two Cultivation Practices of Theobroma cacao, South Sulawesi* bertujuan untuk mengeksplorasi keragaman fungi mikoriza arbuskula yang terasosiasi dengan dua praktik budidaya kakao yang berbeda, yaitu budidaya konvensional dan organik di Sulawesi Selatan. Metode penelitian yang digunakan melibatkan pengambilan sampel tanah dari area pertanian kakao yang menerapkan kedua praktik tersebut. Sampel tanah kemudian dianalisis untuk mengidentifikasi keberadaan fungi mikoriza. Proses analisis dilakukan dengan teknik isolasi spora dari tanah, diikuti dengan identifikasi morfologis menggunakan mikroskop untuk menentukan jenis dan karakteristik spora mikoriza. Metode analisis data, peneliti

menggunakan analisis statistik untuk membandingkan keragaman dan komposisi fungi mikoriza antara kedua praktik budidaya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan dalam keragaman dan komposisi fungi mikoriza arbuskula antara praktik budidaya konvensional dan organik. Praktik organik cenderung mendukung keberagaman spesies yang lebih tinggi, dipengaruhi oleh kondisi fisik dan kimia tanah seperti pH dan kandungan bahan organik. Perbedaan dengan penelitian ini adalah metode identifikasi, dan pendekatan analisis yang digunakan. Penelitian oleh de Valgaz, A.P.F., *et al* (2022) berfokus pada perbandingan dua praktik budidaya kakao konvensional dan organik dalam konteks keragaman fungi mikoriza arbuskula. Penelitian tersebut menggunakan isolasi dan identifikasi morfologis untuk mengidentifikasi spesies, yang memberikan informasi terbatas pada tingkat genus dan spesies berdasarkan morfologi spora. Sedangkan penelitian ini menggunakan metode sequencing Nanopore bertujuan untuk melakukan eksplorasi dan identifikasi jenis fungi mikoriza arbuskula dengan pendekatan molekuler yang lebih akurat.

Indra Yuliyanto, Bambang Utoyo, dan Dewi Riniarti (2016). Karakteristik Cendawan Mikoriza Arbuskula (CMA) pada Beberapa Rhizosfer Tanaman Perkebunan bertujuan untuk mengeksplorasi keberadaan dan karakteristik fungi mikoriza arbuskula di rizosfer berbagai tanaman perkebunan. Metode penelitian yang digunakan dalam studi ini adalah metode deskripsi dengan teknik observasi. Pengambilan sampel tanah dari rizosfer beberapa jenis tanaman perkebunan, termasuk kelapa sawit, karet, kakao, dan kopi, tanah yang diperoleh diolah untuk mengisolasi cendawan mikoriza arbuskula, fungi yang terisolasi diidentifikasi

menggunakan metode mikroskopis untuk menganalisis karakteristik morfologinya, pengukuran keanekaragaman dilakukan dengan menghitung jumlah spora yang ditemukan serta mengidentifikasi genus dan spesies yang ada. Hasil yang diperoleh dari identifikasi dan pengukuran keanekaragaman CMA dianalisis untuk mengidentifikasi hubungan antara jenis tanaman perkebunan dan keberadaan CMA. Perbedaan penelitian ini adalah penelitian mencakup beberapa jenis tanaman perkebunan, seperti kelapa sawit, karet, kakao, dan kopi, sementara rencana tesis lebih terfokus pada tanaman kakao secara khusus. metode identifikasi yang digunakan juga berbeda penelitian sebelumnya hanya menggunakan teknik mikroskopis untuk mengidentifikasi morfologi CMA, sedangkan rencana tesis akan menggunakan metode identifikasi molekuler dengan teknik sequencing Nanopore.

2.2 Tinjauan Pustaka

2.2.1 Fungi Mikoriza Arbuskula

Fungi Mikoriza Arbuskula merupakan jamur yang berasosiasi dengan hampir 90% tumbuhan darat (Brundrett, 2004). FMA umumnya dikenal dengan sebutan jamur tanah karena berhabitat di dalam tanah dan berada di area perakaran tanaman (rizosfer). FMA bersimbiosis mutualisme dengan tumbuhan terutama pada bagian akar tumbuhan tersebut. Selain itu, mikoriza arbuskular dapat ditemukan menempati hampir semua lahan di berbagai ekosistem yang berbeda (Yang *et al.*, 2009).

Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) adalah jenis yang paling umum ditemukan, dimana fungi dari genus seperti *Glomus* membentuk struktur arbuskula di dalam sel akar, meningkatkan penyerapan nutrisi, terutama fosfor, dan memperkuat ketahanan tanaman terhadap stres (Smith & Read, 2008). Di sisi lain, Fungi Ektomikoriza (ECM) membentuk jaringan hifa di luar akar dan membungkusnya dengan mantel, umumnya ditemukan pada tanaman kayu, membantu dalam penyerapan air dan nutrisi (Agerer, 2001). Fungi ini memiliki kemampuan untuk membentuk jaringan hifa yang luas di dalam tanah, yang memungkinkan mereka untuk menjangkau sumber nutrisi yang tidak dapat diakses oleh akar tanaman (Miller *et al.*, 1996). Struktur arbuskul yang terbentuk dalam sel akar merupakan tempat pertukaran nutrisi antara fungi dan tanaman (Jakobsen *et al.*, 2005).

2.2.1.1 Peran FMA dalam pertanian

FMA memiliki peran yang penting dalam meningkatkan kesuburan tanah. Penelitian menunjukkan bahwa fungi ini dapat meningkatkan penyerapan unsur hara seperti fosfor dan nitrogen, serta meningkatkan kadar bahan organik di dalam tanah (Lehmann *et al.*, 2011). FMA juga dapat meningkatkan kemampuan toleransi tumbuhan pada kondisi yang kurang menguntungkan seperti toleran terhadap kekeringan (Abdelmoneim *et al.*, 2013), toleran terhadap salinitas (Porras-Soriano *et al.*, 2009), toleran terhadap penyakit (Sikes, 2010), toleran terhadap toksisitas logam berat seperti tembaga (Cu) (Ambrosini *et al.*, 2015), timbal (Pb) (Yang *et al.*, 2016) dan merkuri (Hg) (Yu *et al.*, 2010). Selain itu, mikoriza arbuskula juga berkontribusi terhadap stabilitas struktur tanah, yang dapat mengurangi erosi dan meningkatkan kapasitas retensi air (Rillig, 2004).

Simbiosis dengan FMA dapat memberikan banyak manfaat bagi tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.). Penelitian menunjukkan bahwa inokulasi tanaman kakao dengan FMA dapat meningkatkan pertumbuhan, kesehatan, dan hasil produksi (Siqueira *et al.*, 2001). Selain itu FMA juga dapat meningkatkan ketahanan tanaman kakao terhadap penyakit dan stres lingkungan, seperti kekeringan dan salinitas (Osorio *et al.*, 2015).

2.2.2 Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) adalah tanaman tropis yang termasuk dalam keluarga Sterculiaceae. Morfologi tanaman ini terdiri dari batang yang tegak, bercabang, dan memiliki daun berbentuk elips atau oval dengan tepi yang halus. Daun berwarna hijau tua dan dapat mencapai panjang 20-30 cm. Bunga kakao muncul langsung dari batang dan cabang-cabang tua (*kauliflor*), berwarna putih hingga merah muda, dan menjadi sumber buah kakao. Buah kakao berbentuk lonjong, berukuran sekitar 15-30 cm, dengan kulit yang keras dan berwarna kuning, hijau, atau ungu tergantung varietasnya. Di dalam buah terdapat biji kakao yang dikelilingi oleh pulp manis, yang merupakan bagian yang penting dalam proses fermentasi dan produksi coklat (Hernandez, 2015).

2.2.2.1 Perkebunan Kakao Monokultur dan Agroforestry

Perkebunan kakao monokultur adalah sistem pertanian dimana hanya satu jenis tanaman kakao yang ditanam di suatu area. Sistem ini seringkali dipilih karena kemudahan dalam pengelolaan, seperti pemupukan, pengendalian hama, dan panen yang lebih efisien. Namun, meskipun dapat menghasilkan hasil yang tinggi dalam jangka pendek, perkebunan monokultur memiliki beberapa kelemahan. Salah satunya adalah peningkatan risiko penyakit dan hama, karena keragaman genetik yang rendah membuat tanaman lebih rentan terhadap serangan. Selain itu, penggunaan pupuk dan pestisida yang berlebihan pada

sistem ini dapat menyebabkan kerusakan lingkungan, seperti penurunan kualitas tanah dan pencemaran air (Morris *et al.*, 2016).

Sebaliknya, perkebunan kakao agroforestry melibatkan penanaman kakao bersama dengan berbagai tanaman lain, baik tanaman musiman maupun tahunan. Sistem ini mendukung keanekaragaman hayati dan dapat meningkatkan kesehatan ekosistem secara keseluruhan. Dengan menanam beberapa jenis tanaman, risiko kerugian akibat serangan hama dan penyakit dapat diminimalisir, karena keberagaman spesies menciptakan kondisi yang lebih stabil. Selain itu, tanaman pendamping dapat membantu dalam penyediaan nutrisi, pengendalian gulma, dan peningkatan kelembaban tanah. Sistem agroforestry juga berpotensi meningkatkan pendapatan petani dengan memungkinkan mereka untuk memanfaatkan hasil dari beberapa tanaman sekaligus (Santiago *et al.*, 2018).

Dapat dibandingkan antara kedua sistem tersebut bahwa meskipun monokultur dapat memberikan hasil yang lebih tinggi dalam jangka pendek, agroforestry menawarkan keuntungan jangka panjang dalam hal keberlanjutan dan ketahanan terhadap perubahan iklim serta serangan hama. Pemilihan sistem perkebunan yang tepat harus mempertimbangkan kondisi lokal, kebutuhan ekonomi, dan tujuan jangka panjang dari para petani. Dengan pendekatan yang berkelanjutan, pengembangan perkebunan kakao dapat memberikan manfaat ekonomi sekaligus menjaga kesehatan lingkungan.

2.2.3 Simbiosis Fungi Mikoriza Arbuskula dan Tanaman Kakao

Interaksi antara FMA dan tanaman melibatkan hubungan yang saling menguntungkan. FMA membentuk struktur di dalam akar tanaman, seperti arbuskula dan vesikula, yang meningkatkan kemampuan tanaman dalam menyerap nutrisi dari tanah. Dalam proses ini, fungi mikoriza membantu dalam penyerapan elemen penting seperti fosfor, nitrogen, dan air. Sebagai imbalannya, tanaman menyediakan karbohidrat dan senyawa organik yang diperlukan oleh mikoriza untuk pertumbuhannya. Interaksi ini tidak hanya meningkatkan kesehatan dan pertumbuhan tanaman, tetapi juga meningkatkan ketahanan tanaman terhadap stres lingkungan, seperti kekeringan dan kondisi tanah yang buruk (Smith & Read, 2008).

Mikoriza memiliki banyak manfaat bagi tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.), antara lain meningkatkan penyerapan nutrisi, khususnya fosfor, yang penting untuk pertumbuhan akar dan pembungaan. Selain itu, mikoriza juga berkontribusi dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit dan hama dengan memperkuat sistem pertahanan tanaman. Penelitian menunjukkan bahwa tanaman kakao yang terkolonisasi oleh mikoriza dapat memiliki hasil yang lebih tinggi dan kualitas biji yang lebih baik dibandingkan dengan tanaman tanpa mikoriza. Sebagai contoh, penelitian oleh Thomas *et al.*, (2018) mengindikasikan bahwa kakao yang berinteraksi dengan mikoriza arbuskula menunjukkan peningkatan produksi hingga 30% dibandingkan dengan yang tidak terkolonisasi. Selain itu, mikoriza juga dapat membantu dalam memperbaiki struktur tanah dan

meningkatkan kemampuan retensi air, yang sangat penting dalam kondisi iklim tropis (Vega *et al.*, 2017; Ruiz *et al.*, 2019). Melalui interaksi ini, mikoriza tidak hanya meningkatkan pertumbuhan tanaman, tetapi juga berkontribusi pada kesehatan ekosistem secara keseluruhan.

2.2.4 PCR (Polimerase Chain Reaction)

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu teknik penting dalam biologi molekuler yang berfungsi untuk memperbanyak potongan DNA secara *in vitro*. Metode ini diperkenalkan oleh Kary Mullis pada tahun 1983 dan sejak itu menjadi alat yang sangat andal untuk amplifikasi DNA spesifik dalam jumlah besar dalam waktu singkat (Mullis & Faloona, 1987). Dalam konteks identifikasi fungi mikoriza arbuskula (FMA), PCR sangat berguna untuk memperbanyak wilayah DNA target yang sebelumnya telah diekstraksi dari akar atau tanah, terutama pada bagian Internal Transcribed Spacer (ITS) dan subunit besar ribosom (LSU), yang kerap digunakan sebagai penanda molekuler jamur (White *et al.*, 1990; Redecker *et al.*, 2003).

Proses PCR memerlukan beberapa komponen utama, seperti DNA polymerase tahan panas (umumnya Taq polymerase), sepasang primer spesifik, dNTP sebagai bahan dasar sintesis, buffer, dan template DNA. Teknik ini berlangsung melalui tiga tahap berulang, yaitu denaturasi untuk memisahkan untai ganda DNA, annealing untuk melekatkan primer pada untai target, dan ekstensi di mana enzim akan memperpanjang rantai DNA. Tahapan ini dilakukan selama 25 hingga 35 siklus untuk menghasilkan salinan DNA dalam jumlah besar (Lorenz, 2012).

Pada penelitian FMA, penggunaan primer WANDA dan AML2 cukup umum karena primer ini secara khusus menargetkan DNA fungi mikoriza dari kelompok Glomeromycota (Kajihara *et al.*, 2022) Untuk meningkatkan keakuratan dan sensitivitas, pendekatan *nested PCR* sering diterapkan, yakni menggunakan dua set primer secara bertahap untuk meminimalkan kemungkinan amplifikasi non-spesifik (Santos *et al.*, 2006).

Dalam penelitian ini, penerapan PCR bertujuan untuk memverifikasi keberhasilan isolasi DNA sekaligus menjadi tahap awal sebelum dilakukan analisis sekuens dan identifikasi taksonomi melalui basis data bioinformatika. Produk PCR yang sukses biasanya ditandai dengan pita DNA berukuran 700–800 bp pada gel elektroforesis, yang mengindikasikan bahwa sekuens target berhasil diperbanyak (Yelli *et al.*, 2022).

2.2.4.1 Sequencing Nanopore

Teknologi sekuensing berbasis nanopore merupakan inovasi penting dalam bidang genetika molekuler modern yang memungkinkan pembacaan langsung urutan basa DNA atau RNA tanpa melalui proses sintesis. Teknologi ini dikembangkan oleh Oxford Nanopore Technologies dan termasuk dalam kategori metode sekuensing generasi ketiga, yang memiliki keunggulan dalam membaca fragmen DNA berukuran sangat panjang secara cepat dan efisien. Dengan ukuran perangkat yang ringkas serta kemampuan kerja secara real-time, metode ini menjadi sangat fleksibel untuk berbagai aplikasi, termasuk penelitian ekologi mikroba tanah (Jain *et al.*, 2016).

Dalam praktiknya, molekul DNA dilewatkan melalui saluran mikroskopis berbasis protein (nanopore) yang tertanam dalam membran buatan. Saat nukleotida melewati saluran tersebut, terjadi perubahan arus listrik yang dapat ditangkap dan diterjemahkan menjadi urutan basa DNA. Keunggulan metode ini terletak pada kemampuannya membaca rantai DNA panjang secara langsung (*long-read sequencing*), yang sangat bermanfaat untuk mengenali organisme yang sulit dideteksi dengan metode konvensional berbasis *short-read* (Bayega *et al.*, 2021).

Dalam konteks studi fungi mikoriza arbuskula (FMA), terutama yang hidup di zona akar tanaman kakao, sekuensing nanopore memungkinkan identifikasi spesies secara lebih rinci dan menyeluruh. Wilayah DNA seperti Internal Transcribed Spacer (ITS) dan Large Subunit (LSU) kerap menjadi target karena memiliki variasi genetik yang tinggi antar spesies fungi, sehingga sangat ideal untuk analisis taksonomi. Kemampuan teknologi ini dalam membaca seluruh wilayah target tanpa terfragmentasi membuatnya efektif dalam mengidentifikasi komunitas mikoriza dari lingkungan tanah yang kompleks, seperti sistem agroforestry dan monokultur kakao (Schoch *et al.*, 2012).

Walaupun awalnya dihadapkan pada tantangan akurasi, perkembangan teknologi dan perangkat lunak pendukung seperti *MinKNOW*, *Guppy*, dan pipeline bioinformatika berbasis Linux telah memperbaiki kualitas data secara signifikan. Oleh karena itu,

penggunaan nanopore dalam studi molekuler komunitas FMA bukan hanya memungkinkan deteksi spesies dengan presisi lebih tinggi, tetapi juga membuka peluang untuk eksplorasi biodiversitas jamur tanah secara lebih efisien dalam sistem pertanian tropis yang kompleks seperti kakao (Karst *et al.*, 2021).

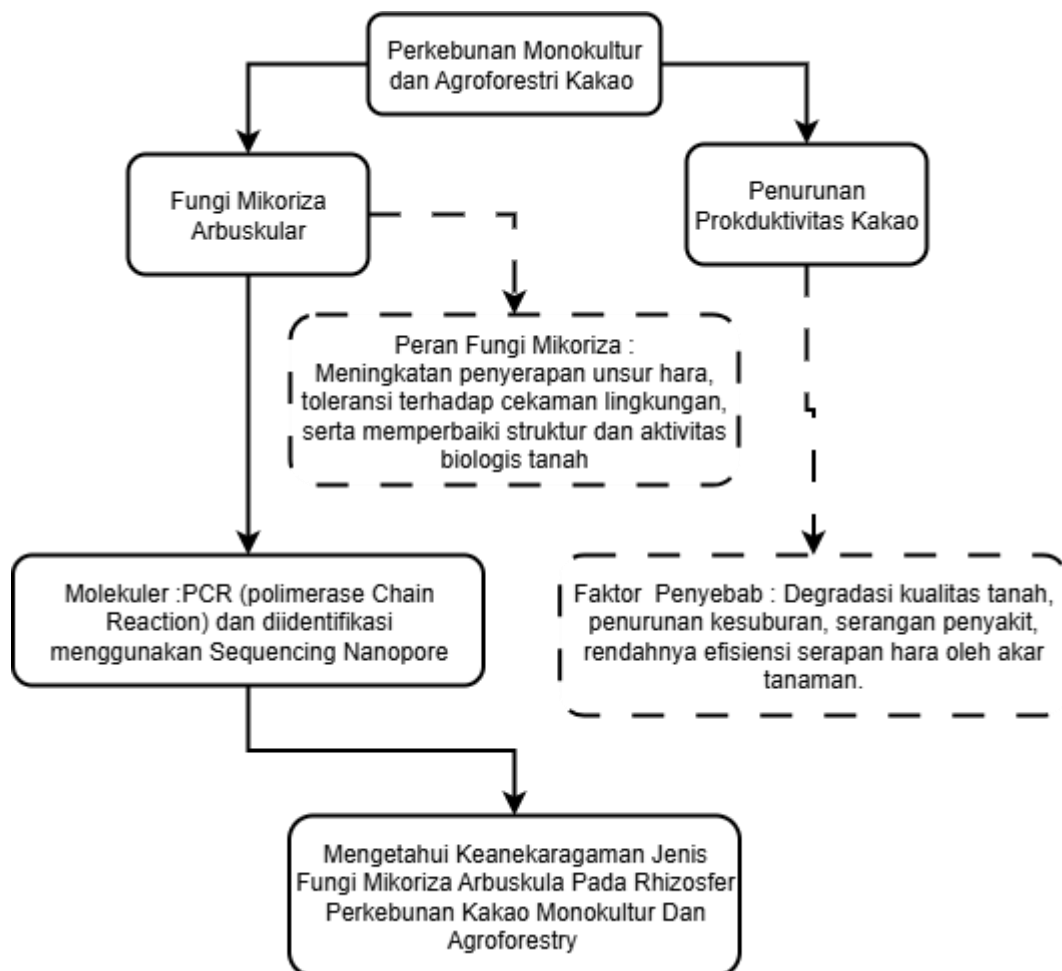
2.3 Kerangka pemikiran

Produktivitas tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) dalam beberapa tahun terakhir mengalami penurunan di berbagai daerah sentra produksi. Penurunan ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, seperti degradasi kualitas tanah, penurunan kesuburan, serangan penyakit, serta rendahnya efisiensi serapan hara oleh akar tanaman. Salah satu gejala yang sering dijumpai adalah menurunnya kesehatan akar dan lemahnya pertumbuhan vegetatif, yang mengindikasikan kurang optimalnya interaksi antara tanaman dan mikroorganisme tanah.

Keberadaan dan keanekaragaman fungi mikoriza arbuskula (FMA) diketahui berperan penting dalam mendukung pertumbuhan tanaman melalui peningkatan penyerapan unsur hara, toleransi terhadap cekaman lingkungan, serta memperbaiki struktur dan aktivitas biologis tanah. FMA hidup bersimbiosis dengan akar tanaman dan membantu menyerap fosfor serta mineral lainnya dari tanah, yang sangat penting bagi tanaman kakao.

Salah satu faktor yang dapat memengaruhi komunitas FMA adalah sistem budidaya yang diterapkan. Sistem agroforestry yang lebih kompleks dan beragam secara hayati diduga mampu mendukung keanekaragaman FMA yang lebih tinggi

dibandingkan sistem monokultur yang cenderung homogen. Oleh karena itu, penting untuk mengidentifikasi spesies FMA yang hidup pada rizosfer tanaman kakao di kedua sistem tersebut dengan menggunakan metode *next-generation sequencing* (NGS) berbasis platform Nanopore.



Gambar 1. Bagan Kerangka Pemikiran

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari 2025 – Juni 2025, pengambilan sampel dilakukan di Desa Bobo Kecamatan Palolo Kabupaten Sigi, Sulawesi Tengah. Sedangkan untuk analisis laboratorium dilakukan di Laboratorium Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Tadulako dan dilanjutkan di Laboratorium Genomika Indonesia PT. Genomik Solidaritas Indonesia, Jakarta.

3.2 Alat dan Bahan

Beberapa alat utama yang digunakan meliputi *soil core* berdiameter (5x20cm), meteran, plastik zip, spidol, PH meter tanah alat GPS (Global Positioning System) untuk menentukan titik koordinat pengambilan sampel, pipet mikro, mortar dan alu untuk menghaluskan atau menghomogenkan tanah dan mikrotube untuk proses isolasi dan ekstraksi DNA, sentrifuge serta Thermal Cycler untuk proses amplifikasi DNA menggunakan metode PCR. Selain itu, digunakan juga gel electrophoresis unit dan gel documentation system (gel doc) untuk visualisasi hasil amplifikasi DNA. Proses sekuensing DNA dilakukan dengan menggunakan platform Nanopore, yang mampu membaca sekuens DNA secara paralel dalam jumlah besar.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari sampel tanah dan akar tanaman kakao dari dua sistem budidaya (monokultur dan agroforestry), serta berbagai reagen laboratorium seperti larutan Tween-20, InstaGen Matrix

(BIO-RAD), MyTaq™ Mix (Bioline), primer forward dan reverse (WANDA dan AML-2), buffer TBE, agarosa gel, DNA ladder 100 bp, loading dye, dan SybrGreen. Semua bahan dan reagen digunakan sesuai protokol standar dalam prosedur ekstraksi, amplifikasi, dan visualisasi DNA.

3.3 Sumber Sampel Mikoriza

Lokasi Penelitian dilakukan di perkebunan monokultur dan agroforestry kakao dengan ketinggian ± 500 mdpl, titik lokasi diambil dengan menggunakan GPS (Global Positioning System). Pengambilan sampel tanah dilakukan pada setiap kawasan di rizosfer tanaman kakao. Sebelum pengambilan sampel utama, dilakukan uji pendahuluan dengan mengambil sampel akar dari 3 tanaman kakao pada jarak 1 m, 1,5 m, dan 2 m dari batang, hingga ditemukan tanah akar halus yang akan dikoleksi. Setelah pengujian, dihitung rata-rata jarak dari batang ke akar halus yang paling banyak ditemukan. Jarak rata-rata ini kemudian digunakan untuk mengambil sampel secara konsisten, diikuti dengan penggalian tanah pada kedalaman 0-20 cm dari permukaan tanah. Setelah penggalian, sampel tanah sebanyak 200 g diambil dengan 9 kali pengulangan pada masing-masing kawasan. Setiap sampel tanah dimasukkan ke dalam kantong plastik berbeda dan diberi label sesuai dengan lokasi pengambilannya.

3.4 Desain Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif eksploratif dengan pengambilan sampel secara purposive sampling untuk pengambilan sampel tanah yaitu pengambilan sampel tanah yang lokasinya ditentukan berdasarkan pertimbangan peneliti. Penelitian ini dilakukan dengan dua

tahap yaitu Pengambilan sampel di lapangan dan analisis laboratorium. Kegiatan di lapangan yaitu melakukan pengambilan sampel tanah pada rizosfer tanaman kakao yang dilakukan di perkebunan monokultur dan agroforestry kakao, kemudian kegiatan di laboratorium yaitu sampel tanah digunakan untuk identifikasi molekuler menggunakan metode sequencing nanopore.

3.4.1 Pengambilan Sampel dan Ekstraksi DNA Mikoriza

1) Ekstraksi DNA Langsung (Soil Grinding / Bead-Beating)

Untuk identifikasi fungi mikoriza arbuskula (FMA), ekstraksi DNA dilakukan langsung dari tanah tanpa perlu isolasi spora terlebih dahulu. Proses dimulai dengan mengambil sekitar 0,5–1 gram tanah kering, kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikro (1,5–2 mL) yang berisi manik-manik kecil (beads). Setelah itu, ditambahkan larutan buffer khusus untuk melisiskan sel (biasanya mengandung fosfat pH 8,0) dan bahan kimia seperti fenol:kloroform:isoamil alkohol agar sel mikoriza pecah dan DNA-nya keluar.

Tabung kemudian dikocok kuat menggunakan vortex atau alat bead-beater selama beberapa menit untuk menghancurkan jaringan tanah dan sel-sel jamur mikoriza. Setelah itu, tabung disentrifugasi dengan kecepatan tinggi untuk memisahkan cairan dari partikel tanah. Fase atas (supernatan) yang mengandung DNA diambil dan bisa dimurnikan lagi dengan tambahan pelarut organik atau langsung dipresipitasi menggunakan alkohol dingin (etanol 70% atau isopropanol).

DNA hasil ekstraksi kemudian dikeringkan dan dilarutkan kembali dalam air steril atau larutan TE (Tris-EDTA). DNA ini kemudian disiapkan untuk proses PCR guna mengidentifikasi spesies mikoriza yang terkandung dalam sampel tanah.

2) Amplifikasi DNA dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

DNA yang telah diekstraksi kemudian diperbanyak menggunakan pasangan primer WANDA (Kajihara *et al.*, 2022) sebagai primer forward dan AML-2 sebagai primer reverse pada alat PCR. Primer ini digunakan untuk memperbanyak bagian dari subunit besar ribosom pada organisme eukariotik. Reagen yang diperlukan dalam proses PCR disiapkan dalam bentuk master mix untuk memastikan semua sampel mendapatkan perlakuan reagen yang seragam. Komposisi bahan dalam PCR mix terdiri dari: MyTaq™ Mix (Bioline) sebanyak 12,5 µL, primer forward (NS-1) sebanyak 1,25 µL (10 µM), primer reverse (NS-4) sebanyak 1,25 µL (10 µM), ddH₂O steril sebanyak 9 µL, dan DNA template sebanyak 1 µL, sehingga total volume reaksi menjadi 25 µL. Semua bahan dimasukkan ke dalam tabung mikro berukuran 0,2 mL, kemudian disentrifugasi (spin down) dan ditempatkan ke dalam alat Thermal Cycler. Proses PCR dilakukan dengan pengaturan suhu sebagai berikut: denaturasi awal pada 95°C selama 4 menit, diikuti dengan 32 siklus yang terdiri dari denaturasi pada 95°C selama 1 menit, annealing pada 50°C selama 1 menit, dan ekstensi pada 72°C selama 1 menit, lalu diakhiri dengan ekstensi akhir pada 72°C selama 5 menit. Selanjutnya, dilakukan PCR nested, yaitu produk dari PCR pertama digunakan kembali sebagai cetakan

DNA untuk PCR kedua dengan menggunakan primer AML-1 dan AML-2 (Yelli et al., 2022).

Primer ini menargetkan bagian subunit besar ribosom pada organisme eukariot. Komposisi PCR mix yang digunakan adalah sebagai berikut: MyTaq™ Mix (Bioline) sebanyak 12,5 µL, primer forward (AML-1) sebanyak 1,25 µL (10 mM), primer reverse (AML-2) sebanyak 1,25 µL (10 mM), ddH₂O steril sebanyak 9 µL, dan DNA template sebanyak 1 µL, dengan total volume reaksi sebesar 25 µL. Proses amplifikasi PCR diawali dengan satu siklus denaturasi awal selama 3 menit pada suhu 94°C, dilanjutkan dengan 30 siklus denaturasi selama 1 menit pada suhu 94°C, annealing pada suhu 50°C selama 1 menit, ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit, dan diakhiri dengan satu siklus ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit (Yelli F., *et al.*, 2022).

3) Visualisasi DNA dengan gel Electrophoresis

Fragmen DNA hasil amplifikasi dianalisis menggunakan metode elektroforesis (Scientific Company, Del Mar, California). Teknik elektroforesis dimanfaatkan untuk memisahkan molekul DNA atau protein berdasarkan medan listrik. Proses ini menggunakan gel agarosa 1% (Lonza, Rockland, USA) yang dilarutkan dalam buffer TBE (Tris-HCl, asam borat, EDTA) 1× (Lonza, Rockland, USA) dan dijalankan dengan tegangan 120 Volt DC selama beberapa tahap waktu (15 menit, 10 menit, 5 menit, 5 menit). Untuk mengukur fragmen DNA, digunakan penanda DNA ladder 100 bp (Bioline) sebanyak 3 µL. Sampel disiapkan dengan mencampurkan 10 µL

DNA, 1 μ L loading dye (Qiagen, Jerman), dan 1 μ L Sybrgreen (Lonza, Rockland, USA), kemudian dimasukkan ke dalam sumur gel sebanyak 7 μ L dan ditempatkan di sisi kutub negatif. Ketika arus listrik dialirkan menggunakan buffer yang sesuai, DNA akan bergerak menuju kutub positif. Kecepatan pergerakan DNA dalam medan listrik berbanding terbalik dengan ukuran atau massa DNA (Yusuf et al., 2014). Hasil dari elektroforesis kemudian divisualisasikan menggunakan alat gel documentation (gel doc) (Uvitec Cambridge, Inggris).

4) Sequencing DNA dengan Oxford Nanopore (Metode Rapid Sequencing DNA V14 – Barcoding (SQK-RBK114.24))

Tahap awal dimulai dengan isolasi DNA genomik dari sampel tanah tanaman kakao yang telah diisolasi dan purifikasi. DNA yang diperoleh dievaluasi kualitas dan kuantitasnya menggunakan *Nanodrop* dan *Qubit Fluorometer*. Sampel DNA kemudian diproses menggunakan kit *Rapid Barcoding V14*, yang bekerja dengan prinsip tagmentasi berbasis transposase, di mana enzim transposase secara simultan memotong dan menempelkan barcode pada fragmen DNA. Proses ini menggantikan tahapan end-repair dan ligasi adaptor yang umum pada metode konvensional, sehingga secara signifikan mempercepat waktu preparasi pustaka.

Setelah tahap barcoding selesai, DNA dari masing-masing sampel dicampur dalam satu tabung (*pooling*) secara proporsional, kemudian ditambahkan *Rapid Adapter* (RAP) yang memungkinkan DNA dikenali oleh nanopore untuk proses sekuensing. Campuran pustaka yang telah selesai

disiapkan kemudian di-load ke dalam *flow cell tipe R10.4.1* dan dijalankan menggunakan alat MinION Mk1C.

Proses sekuensing dikontrol melalui perangkat lunak MinKNOW, sedangkan proses basecalling dan pemisahan data berdasarkan barcode (*demultiplexing*) dilakukan menggunakan perangkat lunak Guppy dan EPI2ME. Hasil sekuensing berupa data mentah dalam format FASTQ selanjutnya digunakan untuk proses identifikasi spesies fungi mikoriza menggunakan analisis bioinformatika berbasis BLAST dan klasifikasi taksonomi.

5) Penentuan Species dari Hasil Sequencing Nanopore

Setelah diperoleh hasil sekuensing DNA dalam format FASTQ dari platform Nanopore, data terlebih dahulu dikonversi ke format FASTA untuk keperluan analisis komparatif berbasis sekuens. Selanjutnya dilakukan basecalling, yaitu proses konversi sinyal listrik menjadi urutan basa DNA. Proses ini biasanya dilakukan dengan perangkat lunak seperti Guppy. Setelah itu, dilakukan analisis bioinformatika lanjutan, yang meliputi quality control (misalnya dengan NanoPlot), penyaringan data, penyusunan kembali urutan (assembly), pencocokan dengan referensi (alignment), hingga klasifikasi taksonomi atau anotasi gen.

Spesies yang memiliki nilai identitas tinggi ($\geq 97\%$) dan nilai E-value mendekati nol dianggap sebagai kandidat utama. BLAST juga memberikan informasi tambahan seperti lokasi gen, skor kecocokan, dan afiliasi taksonomi dari spesies yang sesuai. Dalam konteks analisis jamur mikoriza,

digunakan sekuens penanda seperti ITS (Internal Transcribed Spacer) karena bagian ini diketahui memiliki tingkat variabilitas genetik yang tinggi antar spesies, menjadikannya sangat efektif untuk identifikasi dan klasifikasi jamur (Altschul *et al.*, 1990; Schoch *et al.*, 2012).

3.5 Metode Analisis Data

1. Indeks Keanekaragaman

Data hasil pengamatan molekuler kemudian dianalisis secara kuantitatif diukur Indeks Keanekaragaman. Indeks Keanekaragaman diukur dengan menggunakan rumus Shanon-Wiener:

$$H' = - \sum (P_i \ln P_i)$$

Keterangan:

H' = Indeks Keanekaragaman

$P_i = n_i/N$, perbandingan antara jumlah individu spesies ke-I dengan jumlah total

n_i = Jumlah Individu jenis Ke-i

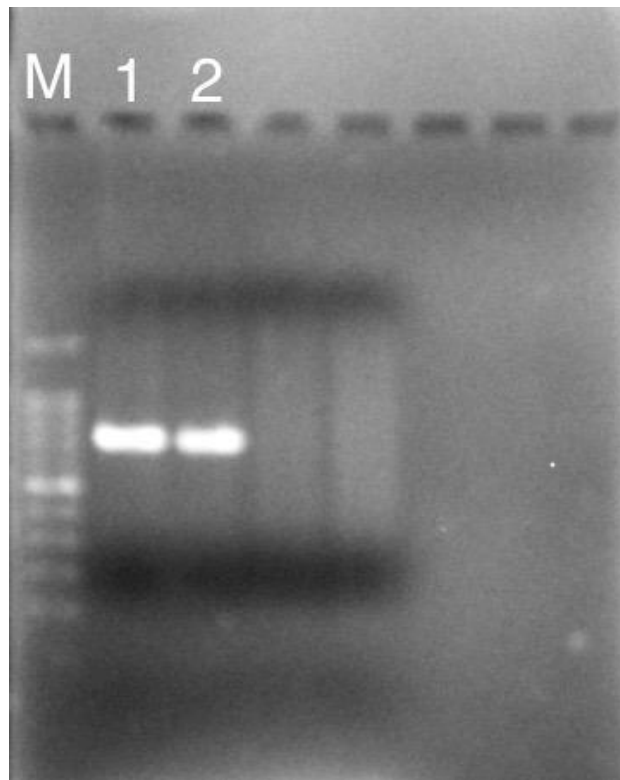
N = Jumlah Total Individu

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Hasil Amplifikasi Mikoriza Arbuskula dengan PCR

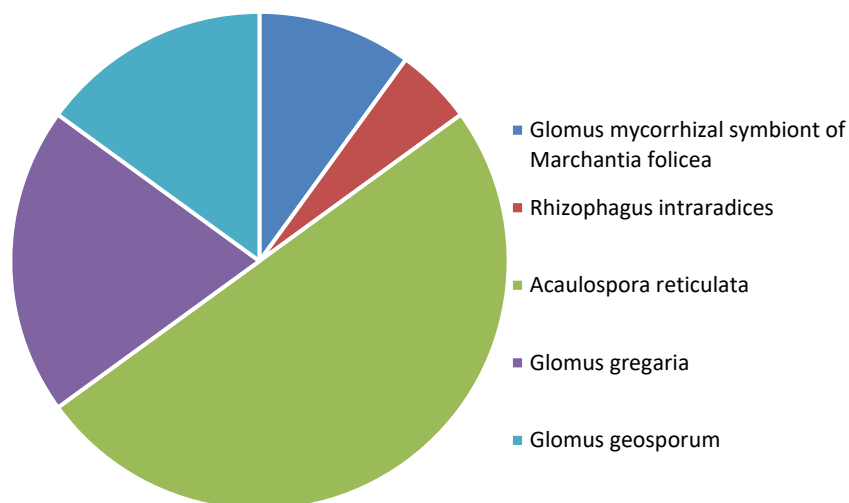
Berdasarkan hasil implifikasi mikoriza di lahan monokultur dan agroforestri kakao dengan menggunakan primer Wanda (*forward*) dan AML-2 (*Reverse*) mampu mendeteksi mikoriza yang berada di lahan monokultur dan agroforestri kakao dengan amplikom berukuran antara 700-800 bp masing masing disajikan pada gambar.



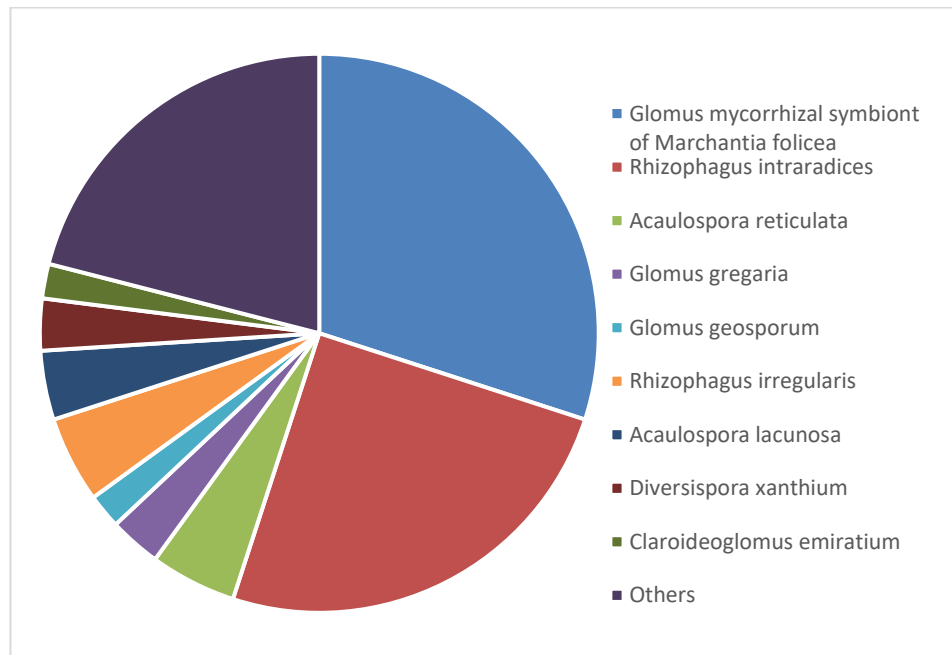
Gambar 2. Visualisasi hasil amplifikasi DNA isolate mikoriza di lahan monokultur dan agroforestri kakao, (M= Marker, 1= Agroforestry, 2=Monokultur).

4.1.2 Hasil Sequencing Nanopore DNA

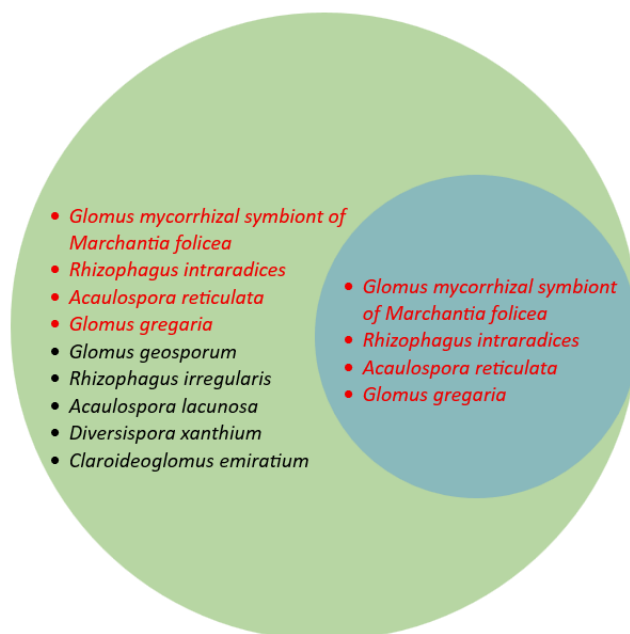
Hasil identifikasi jenis spesies mikoriza hasil dari BLAST NCBI dari hasil sequencing yang terdapat dalam sampel lingkungan disajikan dalam bentuk diagram pie untuk menggambarkan proporsi relatif masing-masing spesies. Diagram tersebut menunjukkan bahwa spesies *Rhizophagus intraradices*, *Rhizophagus irregularis*, *Acaulospora reticulata*, *Acaulospora lacunosa*, *Glomus gregaria*, *Glomus geosporum*, *Diversispora xanthium*, dan *Claroideoglomus emiratium*. Hasil identifikasi disajikan pada gambar berikut.



Gambar 3. Persentase Hasil Identifikasi Jenis Spesies Mikoriza Pada Lahan Monokultur



Gambar 4. Persentase Hasil Identifikasi Jenis Spesies Mikoriza Pada Lahan Agroforestry



Gambar 4. Jenis Mkoriza yang dapat hidup di sistem monokultur dan agroforestry

4.1.4 Indeks Keanekaragaman

Hasil Perhitungan Indeks Keanekaragaman jenis spesies FMA disajikan pada tabel berikut:

Tabel 1. Indeks Keanekaragaman Mikoriza Pada Lahan Pertanian Monokultur

Kakao

No.	Spesies	Σ	ni/N	$\ln ni/N$	H'
1	<i>Glomus mycorrhizal symbiont of Marchantia folicea</i>	10	0,1	-2,303	0,230
2	<i>Rhizophagus intraradices</i>	5	0,05	-2,996	0,150
3	<i>Acaulospora reticulata</i>	50	0,5	-0,693	0,347
4	<i>Glomus gregaria</i>	20	0,2	-1,609	0,322
5	Others	15	0,15	-1,897	0,285
		100	1	-9,498	1,333

Tabel 2. Indeks Keanekaragaman Mikoriza Pada Lahan Pertanian Agroforestry

Kakao

No.	Spesies	Σ	ni/N	$\ln ni/N$	H'
1	<i>Glomus mycorrhizal symbiont of Marchantia folicea</i>	30	0,3	-1,204	0,361
2	<i>Rhizophagus intraradices</i>	25	0,25	-1,386	0,347
3	<i>Acaulospora reticulata</i>	5	0,05	-2,996	0,150
4	<i>Glomus gregaria</i>	3	0,03	-3,507	0,105
5	<i>Glomus geosporum</i>	2	0,02	-3,912	0,078
6	<i>Rhizophagus irregularis</i>	5	0,05	-2,996	0,150
7	<i>Acaulospora lacunosa</i>	4	0,04	-3,219	0,129
8	<i>Diversispora xanthium</i>	3	0,03	-3,507	0,105
9	<i>Claroideoglomus emiratium</i>	2	0,02	-3,912	0,078
10	Others	21	0,21	-1,561	0,328
		100	1	-28,198	1,831

4.2 Pembahasan

Produktivitas tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) dalam beberapa tahun terakhir mengalami penurunan di berbagai daerah sentra produksi. Penurunan ini dapat disebabkan oleh berbagai faktor, seperti degradasi kualitas tanah, penurunan kesuburan, serangan penyakit, serta rendahnya efisiensi serapan hara oleh akar tanaman. Salah satu gejala yang sering dijumpai adalah menurunnya kesehatan akar dan lemahnya pertumbuhan vegetatif, yang mengindikasikan kurang optimalnya interaksi antara tanaman dan mikroorganisme tanah.

Keberadaan dan keanekaragaman fungi mikoriza arbuskula (FMA) diketahui berperan penting dalam mendukung pertumbuhan tanaman melalui peningkatan penyerapan unsur hara, toleransi terhadap cekaman lingkungan, serta memperbaiki struktur dan aktivitas biologis tanah. FMA hidup bersimbiosis dengan akar tanaman dan membantu menyerap fosfor serta mineral lainnya dari tanah, yang sangat penting bagi tanaman kakao.

Keanekaragaman mikoriza arbuskular (FMA) dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan seperti iklim, jenis tanah, dan tanaman yang tumbuh di suatu tempat. Setiap lokasi memiliki kondisi tanah dan cuaca yang berbeda, sehingga spesies mikoriza yang tumbuh di sana juga bisa berbeda-beda (Öpik *et al.*, 2006). Selain itu, daerah di sekitar akar tanaman yang disebut rizosfer juga sangat penting. Di wilayah ini, akar tanaman mengeluarkan senyawa-senyawa yang menjadi makanan bagi mikroorganisme termasuk mikoriza. Karena itu, jenis tanaman dan zat yang dikeluarkan dari akarnya ikut menentukan jenis mikoriza yang bisa hidup

dan berkembang (Smith & Read, 2008). Penelitian menunjukkan bahwa keberagaman mikoriza bisa sangat berbeda meskipun lokasinya berdekatan, tergantung kondisi tanah dan gangguan manusia seperti pembajakan atau penggunaan pupuk kimia. Tanah alami atau lahan dengan banyak jenis tanaman (seperti sistem agroforestry) biasanya memiliki lebih banyak jenis mikoriza dibandingkan lahan pertanian yang hanya ditanami satu jenis tanaman (monokultur) (Helgason *et al.*, 1998; Jansa *et al.*, 2002). Dengan kata lain, lokasi tumbuh dan lingkungan sekitar akar tanaman sangat menentukan banyaknya jenis mikoriza yang bisa ditemukan dalam tanah.

Mikoriza arbuskular (FMA) adalah jenis jamur tanah yang bersimbiosis secara mutualisme dengan akar tanaman, termasuk tanaman kakao (*Theobroma cacao*). Salah satu genus FMA yang paling umum dan banyak diteliti adalah *Glomus*. Genus ini dikenal luas karena kemampuannya membentuk hubungan simbiotik dengan berbagai jenis tanaman inang, terutama pada tanah-tanah tropis dan subtropis.

Jamur *Glomus* hidup di dalam dan di sekitar akar tanaman, membentuk struktur khusus seperti arbuskula dan vesikula di dalam jaringan akar. Arbuskula berfungsi sebagai tempat pertukaran nutrisi antara jamur dan tanaman. Dalam hubungan ini, jamur membantu tanaman menyerap unsur hara penting, terutama fosfor (P), yang sulit tersedia di dalam tanah. Sebagai imbalannya, tanaman memberikan senyawa karbon hasil fotosintesis sebagai sumber energi bagi jamur (Smith & Read, 2008). Pada tanaman kakao, keberadaan *Glomus* memberikan banyak manfaat, khususnya dalam meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan

tanaman terhadap cekaman lingkungan. Penelitian menunjukkan bahwa inokulasi kakao dengan *Glomus* dapat meningkatkan penyerapan fosfor, nitrogen, dan beberapa unsur mikro lainnya, sehingga mempercepat pertumbuhan bibit dan meningkatkan kualitas tanaman (Siqueira *et al.*, 1991). Selain itu, *Glomus* juga terbukti meningkatkan ketahanan kakao terhadap kekeringan dan gangguan organisme patogen melalui perbaikan struktur akar dan peningkatan sistem ketahanan tanaman. Lingkungan tumbuh kakao yang berada di bawah naungan dengan kelembaban tinggi juga menjadi habitat yang ideal bagi pertumbuhan FMA, terutama *Glomus*. Oleh karena itu, pengelolaan tanah dan keragaman tanaman di sekitar kakao sangat mempengaruhi keberadaan dan efektivitas simbiosis *Glomus*. Secara keseluruhan, mikoriza dari genus *Glomus* memiliki peran penting dalam mendukung pertumbuhan dan produktivitas tanaman kakao melalui peningkatan serapan nutrisi, daya tahan terhadap stres, serta perbaikan kualitas tanah.

Penggunaan teknologi Oxford Nanopore dalam penelitian ini dipilih berdasarkan keunggulannya dalam membaca sekuens DNA secara langsung, cepat, dan berukuran panjang (*long-read sequencing*). Identifikasi molekuler terhadap komunitas fungi mikoriza arbuskula (FMA) sangat bergantung pada kemampuan metode sekuensing untuk membaca fragmen DNA dari daerah konservatif dan variabel seperti *Internal Transcribed Spacer* (ITS) yang merupakan penanda umum dalam taksonomi fungi.

Berdasarkan amplifikasi PCR didapatkan bahwa pita DNA berada diantara 700-800 bp. Berhasilnya proses amplifikasi DNA menandakan bahwa tahapan isolasi DNA sudah berhasil dilakukan. Hasil PCR dapat dipengaruhi oleh proses

PCR yang berlangsung, adapun produk PCR yang dihasilkan mengandung banyak DNA yang tidak spesifik serta memiliki ukuran yang bervariasi dan pita DNA tampak samar pada agarose gel, kondisi ini dikatakan bahwa terjadi gangguan pada PCR yang telah dilaksanakan, bahkan kadang bisa juga tidak terbentuk pita sama sekali (Lorenz, 2012).

Hasil identifikasi molekuler terhadap spesies fungi mikoriza arbuskula (FMA) yang diperoleh dari rizosfer tanaman kakao menunjukkan perbedaan yang nyata antara sistem budidaya monokultur dan agroforestry, baik dari segi komposisi spesies maupun tingkat keanekaragaman.

Pada sistem agroforestry, teridentifikasi sebanyak 9 spesies utama FMA, yaitu *Glomus mycorrhizal symbiont of Marchantia foliacea*, *Rhizophagus intraradices*, *Acaulospora reticulata*, *Glomus gregaria*, *Glomus geosporum*, *Rhizophagus irregularis*, *Acaulospora lacunosa*, *Diversispora xanthium*, dan *Claroideoglomus emiratium*, ditambah kelompok spesies lain yang digolongkan sebagai “others”. Spesies yang paling dominan dalam sistem ini adalah *Glomus mycorrhizal symbiont of Marchantia foliacea* (30%) dan *Rhizophagus intraradices* (25%). Nilai indeks keanekaragaman Shannon-Wiener (H') yang diperoleh sebesar **1,831**, mengindikasikan tingkat keanekaragaman yang tinggi dan distribusi spesies yang relatif merata.

Sebaliknya, pada sistem monokultur hanya teridentifikasi 4 spesies utama, yaitu *Acaulospora reticulata*, *Glomus gregaria*, *Glomus mycorrhizal symbiont of Marchantia foliacea*, dan *Rhizophagus intraradices*. Spesies yang mendominasi dalam sistem ini adalah *Acaulospora reticulata* dengan proporsi yang sangat tinggi,

yaitu sebesar 50% dari total individu yang diamati. Nilai indeks keanekaragaman Shannon-Wiener (H') yang diperoleh dalam sistem monokultur adalah sebesar **1,333**, menunjukkan tingkat keanekaragaman yang lebih rendah dibandingkan dengan sistem agroforestry.

Kehadiran yang melimpah dari genus *Glomus* dan *Acaulospora* dalam komunitas fungi mikoriza arbuskula (FMA) pada berbagai sistem budidaya, termasuk rizosfer tanaman kakao, dapat dijelaskan oleh beberapa faktor ekologis dan biologis yang khas dari kedua genus ini. Salah satu faktor utama adalah jangkauan inang yang luas. Baik *Glomus* maupun *Acaulospora* mampu membentuk asosiasi simbiosis dengan beragam jenis tanaman, baik tanaman budidaya maupun tanaman liar, sehingga memungkinkan mereka untuk bertahan dan berkembang dalam berbagai kondisi ekosistem. Selain itu, kedua genus ini dikenal memiliki kemampuan sporulasi yang tinggi, artinya mereka dapat memproduksi spora dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif cepat dibandingkan genus FMA lainnya. Hal ini memberikan keunggulan kompetitif dalam kolonisasi akar tanaman dan penyebaran di lingkungan tanah. Kemampuan mereka untuk beradaptasi di berbagai tipe tanah dan kondisi lingkungan, seperti perbedaan pH, ketersediaan air, dan kadar nutrisi, juga menjadi alasan dominasi mereka dalam banyak komunitas FMA, termasuk pada lahan monokultur maupun agroforestry.

Jenis mikoriza arbuskular (AMF) yang ditemukan dalam sistem agroforestry lebih beragam dibandingkan dengan yang ada pada sistem monokultur. Dalam penelitian, ditemukan bahwa jenis seperti *Glomus mycorrhizal symbiont of Marchantia foliacea*, *Rhizophagus intraradices*, *Acaulospora reticulata*, dan

Glomus gregaria dapat hidup di kedua sistem, sementara *Glomus geosporum*, *Rhizophagus irregularis*, *Acaulospora lacunosa*, *Diversispora xanthium*, dan *Claroideoglomus emiratium* hanya ditemukan di sistem agroforestry. Keempat jenis mikoriza yang mampu bertahan di kedua sistem merupakan jenis yang bersifat generalis dan memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap berbagai jenis tanaman inang dan kondisi tanah yang berbeda. Jenis ini juga dikenal menghasilkan spora dalam jumlah besar dan cepat membentuk koloni pada akar tanaman, sehingga mampu bertahan pada sistem yang lebih sederhana dan homogen seperti monokultur (Smith & Read, 2008; Öpik et al., 2006).

Sebaliknya, jenis-jenis mikoriza yang hanya ditemukan pada sistem agroforestry cenderung memiliki kebutuhan ekologis yang lebih spesifik. Agroforestry, dengan struktur vegetasi yang lebih kompleks dan keanekaragaman tanaman yang tinggi, menyediakan lingkungan mikro yang lebih stabil dan mendukung keberlangsungan mikoriza yang sensitif terhadap stres lingkungan dan gangguan antropogenik (Schroth & Sinclair, 2003; Banerjee *et al.*, 2016). Selain itu, sistem agroforestry menyediakan eksudat akar dari berbagai spesies tanaman yang dapat menunjang pertumbuhan mikoriza yang bersifat spesifik terhadap inang (van der Heijden *et al.*, 1998). Hal ini menjelaskan mengapa sistem agroforestry mampu mendukung keanekaragaman mikoriza yang lebih tinggi dibandingkan sistem monokultur.

Perbedaan ini menunjukkan bahwa sistem agroforestry cenderung mendukung komunitas FMA yang lebih kompleks dan beragam. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh keberagaman jenis tanaman, struktur tajuk,

dan mikrohabitat yang dihasilkan dalam sistem agroforestry, yang mampu menciptakan kondisi lingkungan lebih stabil dan ramah bagi pertumbuhan berbagai jenis fungi mikoriza (Schroth & Sinclair, 2003; Berruti *et al.*, 2016). Sementara itu, homogenitas tanaman dan aktivitas pertanian intensif dalam sistem monokultur berpotensi menekan keanekaragaman FMA, sehingga hanya spesies tertentu yang mampu bertahan dan mendominasi (van der Heijden *et al.*, 1998; Jansa *et al.*, 2003).

Dengan demikian, hasil ini memperkuat pemahaman bahwa diversitas mikoriza sangat dipengaruhi oleh sistem budidaya yang diterapkan, dan bahwa sistem agroforestry dapat menjadi pendekatan yang lebih berkelanjutan dalam pelestarian mikroba tanah dan peningkatan produktivitas tanaman kakao melalui simbiosis mikoriza.

BAB V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa :

- 1 Identifikasi molekuler terhadap fungi mikoriza arbuskula (FMA) berhasil dilakukan menggunakan metode sekuensing Nanopore pada lokus ITS, yang menghasilkan data spesies FMA pada rizosfer tanaman kakao dalam dua sistem budidaya yang berbeda, yaitu monokultur dan agroforestry.
- 2 Terdapat perbedaan yang nyata dalam komposisi dan jumlah spesies FMA antara sistem monokultur dan agroforestry. Sistem agroforestry menunjukkan komunitas FMA yang lebih beragam, dengan sembilan spesies utama yang berhasil diidentifikasi, di antaranya *Rhizophagus intraradices*, *Glomus gregaria*, *Acaulospora reticulata*, dan *Diversispora xanthium*. Sementara itu, sistem monokultur hanya menunjukkan empat spesies utama, yang didominasi oleh *Acaulospora reticulata* (50%).
- 3 Indeks keanekaragaman Shannon-Wiener (H') menunjukkan bahwa agroforestry memiliki keanekaragaman yang lebih tinggi ($H' = 1,831$) dibandingkan dengan monokultur ($H' = 1,333$). Hal ini menunjukkan bahwa praktik agroforestry lebih mendukung keragaman dan keseimbangan komunitas mikoriza dalam tanah.
- 4 Temuan ini menunjukkan bahwa sistem agroforestry lebih menguntungkan secara ekologis, karena tidak hanya meningkatkan keberagaman spesies mikoriza, tetapi juga berpotensi meningkatkan kesuburan tanah, penyerapan hara, dan ketahanan tanaman kakao terhadap cekaman lingkungan.

5.2 Saran

Penelitian lanjutan disarankan dilakukan untuk menguji efektivitas masing-masing spesies FMA yang teridentifikasi terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kakao melalui uji lapangan dan greenhouse, termasuk dampaknya terhadap serapan hara dan ketahanan terhadap penyakit untuk menunjang pertanian berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelmoneim, T. S., Salama, H. S., & Attia, H. M. (2013). Mycorrhizal fungi: Key players in improving drought tolerance in plants. *African Journal of Microbiology Research*, 7(20), 2233–2242. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1331>
- Agerer, R. (2001). Exploration of ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 11(5), 285–308. <https://doi.org/10.1007/s005720100138>
- Akib, M. A. (2018). Keberadaan fungi mikoriza pada lahan bekas tambang nikel. *Jurnal Lingkungan dan Bencana*, 3(1), 45–56.
- Ambrosini, V. G., Huber, D. M., & Bisch, P. M. (2015). The role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant tolerance to heavy metals. *Soil Biology and Biochemistry*, 90, 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.07.017>
- Banerjee, S., Walder, F., Büchi, L., Meyer, M., Held, A. Y., Gättinger, A., ... & van der Heijden, M. G. A. (2016). Agricultural intensification reduces microbial network complexity and the abundance of keystone taxa in roots. *Nature Ecology & Evolution*, 3(7), 163–172.
- Berruti, A., Lumini, E., Balestrini, R., & Bianciotto, V. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: Let's benefit from past successes. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1559. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01559>
- Brundrett, M. C. (2004). Diversity and classification of mycorrhizal associations. In *Mycorrhizal Associations* (pp. 25-70). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012524121-2/50004-7>

- Brundrett, M. C., Bougher, N. L., Dell, B., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). *Working with mycorrhizas in forestry and agriculture*. Australian Centre for International Agricultural Research.
- Daniels, B. A., & Trappe, J. M. (1980). Factors affecting the distribution of mycorrhizal fungi. *Mycologia*, 72(4), 747–758.
- de Valgaz, A. P. F., Naranjo-Moran, J., Reyes Roman, G., Oviedo-Anchundia, J., Ratti Torres, M., & Barcos-Arias, M. (2022). Discovering the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with two cultivation practices of *Theobroma cacao*, South Sulawesi. *Journal of Mycology*, 14(3), 199–207.
- Dewi, N. K. K., Wirawan, G. P., & Sritamin, M. (2014). Identifikasi mikoriza arbuskula secara mikroskopis pada rhizosfer beberapa jenis rumput-rumputan dan tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Penelitian Perkebunan*.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1), 11–15.
- Edy, N., Zakaria, E. K., Lakani, I., & Hasriyanti. (2015). Forest conversion into cacao agroforestry and cacao plantation change the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Jurnal Ekologi Pertanian*, 10(2), 123–130.
- Eka Sukmawaty, M. (2016). Peran mikoriza dalam pertumbuhan tanaman: Identifikasi dan pemanfaatan mikoriza lokal. *Jurnal Pertanian Berkelanjutan*, 4(2), 89–97.
- Helgason, T., Daniell, T. J., Husband, R., Fitter, A. H., & Young, J. P. W. (1998). Ploughing up the wood-wide web? *Nature*, 394, 431.

- Hernandez, M. (2015). Cocoa production and its impact on the economy of tropical countries. *Journal of Agricultural Sciences*, 3(2), 123–134.
<https://doi.org/10.1007/s11356-010-0371-3>
- Jakobsen, I., Abbott, L. K., & Robson, A. D. (2005). External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 15(3), 191–200.
<https://doi.org/10.1007/s00572-004-0322-6>
- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I. R., & Frossard, E. (2002). Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza*, 12, 225–234.
- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I. R., & Frossard, E. (2003). Impact of agricultural management on arbuscular mycorrhizal fungi in soils of contrasting crop-rotation history. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 100(2–3), 273–282. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(03\)00184-0](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(03)00184-0)
- Kajihara, Y., Ezawa, T., & Masuya, H. (2022). Development and evaluation of WANDA–AML2 primers for arbuscular mycorrhizal fungi community analyses. *Mycoscience*, 63(2), 75–84.
<https://doi.org/10.1016/j.myc.2021.11.004>
- Krüger, M., Krüger, C., Walker, C., Stockinger, H., & Schüßler, A. (2012). Phylogenetic reference data for systematics and phylogeny of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum Glomeromycota. *New Phytologist*, 193(4), 970–984. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03962.x>

- Lehmann, J., Rillig, M. C., Thies, J. E., Masiello, C. A., & Hockaday, W. C. (2011). Biochar effects on soil biota – A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(9), 1812–1836. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.05.012>
- Liu, Z., Wu, Y., & Zhang, S. (2020). Effects of cropping systems on soil microbial diversity in agroecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 148, 107845. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107845>
- Lorenz, T. C. (2012). Polymerase chain reaction: Basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *Journal of Visualized Experiments*, (63), e3998. <https://doi.org/10.3791/3998>
- Mullis, K., & Faloona, F. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155, 335–350.
- Öpik, M., Moora, M., Liira, J., & Zobel, M. (2006). Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *Journal of Ecology*, 94, 778–790.
- Osorio, N. L., Paredes, L. A., & Rincón, J. (2015). The role of arbuscular mycorrhizal fungi in cocoa (*Theobroma cacao* L.) health: A review. *Scientia Horticulturae*, 197, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.019>
- Oxford Nanopore Technologies. (2023). SQK-RBK114.24 / SQK-RBK114.96 Rapid Barcoding Kit v14 – Protocol. <https://nanoporetech.com/>
- Pérez-de-Mora, A., et al. (2015). Mycorrhizal fungi as a tool for enhancing plant productivity in different agricultural systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 204, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.02.018>

- Redecker, D., Hijri, M., Wiemken, A., & Sanders, I. R. (2003). Glomus intraradices: Evidence for a species complex. *Mycological Research*, 107(5), 552–560.
- Redecker, D., Thierfelder, H., & Werner, D. (1997). Detection of arbuscular mycorrhizal fungi by nested PCR using primers specific for amplifying DNA from Glomales. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(10), 4344–4350.
- Rillig, M. C. (2004). Arbuscular mycorrhizae and soil structure. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(6), 907–917. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.11.009>
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular cloning: A laboratory manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Santos, J. C., Leal, M. C., Santos, S. N., & Cassman, N. A. (2006). Nested PCR detection of arbuscular mycorrhizal fungi from environmental samples. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37(4), 476–480.
- Schroth, G., & Sinclair, F. L. (Eds.). (2003). *Trees, crops and soil fertility: Concepts and research methods*. CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9780851995936.0000>
- Schroth, G., & Sinclair, F. L. (Eds.). (2003). *Trees, Crops and Soil Fertility: Concepts and Research Methods*. CABI Publishing.
- Sereika, M., et al. (2022). Oxford Nanopore R10.4 long-read sequencing enables near-perfect bacterial genomes. bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2022.02.08.479525>

- Siqueira, J. O., Saggin Jr., O. J., & Silva, M. L. (1991). Mycorrhizal inoculation and phosphorus fertilization in cacao seedlings. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, **15**, 49–54.
- Siqueira, J. O., Silva, C. A., & Nascimento, A. R. (2001). Arbuscular mycorrhizal fungi and their potential for improving growth and yield of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Mycorrhiza*, *11*(2), 75–80. <https://doi.org/10.1007/s005720100126>
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis* (3rd ed.). Academic Press.
- Van der Heijden, M. G. A., Boller, T., Wiemken, A., & Sanders, I. R. (1998). Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology*, *79*(6), 2082–2091.
- Van der Heijden, M. G. A., Klironomos, J. N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., & Sanders, I. R. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, *396*(6706), 69–72. <https://doi.org/10.1038/23932>
- Vierheilig, H., Coughlan, A. P., Wyss, U., & Piché, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(12), 5004–5007.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications* (pp. 315–322). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>

- Yang, J., Hodge, A., & Jones, L. (2009). Mycorrhizal fungal species affect plant growth and nutrient uptake in a soil-based system. *Mycorrhiza*, 19(5), 379–387. <https://doi.org/10.1007/s00572-009-0254-2>
- Yang, J., Zhang, J., & Zhang, Y. (2016). Heavy metal tolerance of arbuscular mycorrhizal fungi in contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(7), 6481–6492. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5972-1>

LAMPIRAN

1. Hasil Sequensing Nanopore (urutan psang basa DNA)

>Glomus mycorrhizal symbiont of Marchantia folicea, partial sequence

ATCAACTTTCGATGGTAGGATAGAGGCCTACCATGGTGGTAACGGGTA
ACGGGGTGTAGGGCACGACACCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCT
ACCACATCCAAGGATGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCCGAC
ACGGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATACAGGGTTCTTTTGGATCT
TGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCTCTTAACGAGGAACAATTGG
AGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATAGCG
TATATTAAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTGGGCCT
GGCTGGGTGGTCTTGCCGAAAGGTAAGCACTGCTCTGGTCGGGTCTTT
CCTTCTGGGGAACCAGCGTGCTCTTAATTGAGTGCGTTGGGGATCCAG
GACTTTTACTTTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCTTACGCTTG
AATACATTAGCATGGAATAATAGAATAGGACTTTGGTTCTATTTTGTG
GTTTCTAGGATCGATGTAATGATTAATAGGGATAGTTGGGGGCATTAG
TATTCAATTGTCAGAGGTGAAATTCTTGGATTTATTGAAGACTAACTAC
TGCGAAAGCATTTGCCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTT
AGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTA
TGCCGACTAGGGATCGGATGATGTTAATTTTTTAATGACTCATTCGGCG
CCTTACGGGAAACCAAAGTGTTTGGGTTC

>Rhizophagus intraradices, clone GAMF1254

AGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAAGTTGTTGC
AGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAACTTCAGGCCTGGCTGGACGGTCCGCC

CTCTGGGTGAGCACTGTCTGTGGTCGGGTCCTACCTTCTGGCGAAGCG
GCATGGCCTTAACCGGCCGTGGCGGGGAACCAGGACCTTTTACTGTGA
AAAAATTAGAGTGTTCAAAGCAGGCACGCGCTTGAATACATTAGCATG
GAATAATGGAATAGGACAATGGTTCTATTTGTTGGTTTCTAGGACCGT
TGTAATGATTAATAGGGATAGTTGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAG
AGGTGAAATTCTTGGATTTATTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTT
GCCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAG
ACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAATAACGATGCCGACCAGGG
ATCCGGGGTCGTCCTATGGATGACTCCCCGGGCACCTTAGG

>*Acaulospora reticulata*, partial sequence

GGCCTACCATGGTGGTAACGGGTAAACGGGGTGTTAGGGCACGACACC
GGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACATCCAAGGATGGCAGCAG
GCGCGCAAATTACCCAATCCCGACACGGGGAGGTAGTGACAATAAAT
AACAATACGGGTCCTTTTCGGGTCTCGTAATTGGAATGAGTACAATTTA
AATCTCTTAACGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAAGTTGTTGCAGTTAAA
AAGCTCGTAGTTGAATTTTGGACCTGGCCGAGCGGTCTTGCCGCAAGG
TAAGCACTGCTGTTGGTCGAGTCTTTCCTTCTGGGGAACCAGCGTGCTC
TTAGCTGGGTGCGCTGGGGATCCAGGACTTTTACTTTGAAAAAATTAG
AGTGTTTAAAGCAGGCTTGCGCTTGAATACATTAGCATGGAATAATAG
AATAGGACTTTGGTTCTATTTTGTGTTGGTTTCTAGGACCGAAGTAATGAT
TAATAGGGATAGTTGGGGGCATTAGTATTTAATTGTCAGAGGTGAAAT

TCTTGGATTTATTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTTGCCAAGGAT
GTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGAT
ACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGATGAT
GTTAATTTTTTAATGACTCATTCGGCGCCTTACG

>Glomus gregaria, partial sequence

TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGTAATTCCAGCTCCAAT
AGCGTATATTAAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTTGTTGAATTTTAG
CCCTGGCTAGGCGGTTTCGCCTTTGGTTGATACTGCTCTGGCTGGGGTTC
ACCTTCTGGTGAGCCAGTATGCGCTTTATTGCAGTGTACTGGGGAACC
AGGACTTTTACCTTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCATATGCT
TGAATATATTAGCATGGAATAATAGAATAGGACTTTGGTTCTATTTTGT
TGTTTTCTAGGACCGAAGTAATGATTAATAGGGATAGTTGGGGGCATT
AGTATTTAATTGTCAGAGGTGAAATTCTTGGATTTATGAAAGACTAAC
TTCTGCGAAAGCATTTGCCAAGGATGTTTTCATTAATCAAGAACGAAA
GTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAA
CTATGCCGACTAGGGATCGGACGAGCTACTTTTTCTGACTCGTTCGGC
GCCTTACGGGAAAC

> Glomus geosporum, partial sequence

ATCAACTTTCGATGGTAGGATAGAGGCCTACCATGGTGGTAACGGGTA
ACGGGGTGTTAGGGCACGACACCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCT
ACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCCGAC

ACGGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAACACAGGGCTCTTTTGGGTCT
TGTTATTGGAATGAGTACAATTTAAATCTCTTAACGAGGAACAATTGG
AGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATAGCG
TATATTAAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTGGGCCT
GGCTGGGTGGTCTTGCCGCAAGGTAAGCACTGCTCTGGTCGGACCTTT
CCTTCTGGGGAACCTGCGTGCTCTTAATTGGGTGCGCAGGGGATCCAG
GACTTTTACTTTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCTTACGCTTG
AATACATTAGCATGGAATAATAGAATAGGACATCCGATTCTATTTTGT
TGGTTTCTAGGATCGATGTAATGATTAATAGGGATAGTTGGGGGCATT
AGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATTCTTGGATTTATTGAAGACTAAC
TACTGCGAAAGCATTTGCCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAA
GTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAA
CTATGCCGACTAGGGATCGGATGATGTTAATTTTTTAATGACTCATTCG
GCGCCTTACGGGAAACCAAAGTGTTTGGGTTC

> *Rhizophagus irregularis*, partial sequence

TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAAT
AGCGTATATTAAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTCTG
GCCTTGGCCGGGCGGTCCTGCCTTACGGTAGGTACTGCTTGGGCCGGG
GTTTTCTTCTGGTGAGACGGCATGCTCTTCGCTGGGTGTGTCGGGGAA
CCAGGACTTTTACTTTGAAAAAATTAGAGTGTTCAAAGCAGGCAATCC
GCTCGAATACATTAGCATGGAATAATAGAATAGGACCCTGGTTCTATT
TTGTTGGTTTCTAGGACCGAGGTAATGATTAATAGGGATAGTTGGGGG

CATTAGTATTTAATTGTCAGAGGTGAAATTCTTGGATTTATGAAAGACT
AACTTCTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACG
AAAGTTGGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAAGTAT
AACTATGCCGACTAGGGATCGGACGATGTTATCTATTGACTCGTTCG
GCGCCTTACGGGAAAC

> *Acaulospora lacunosa*, partial sequence

AGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAAGTTGTTGC
AGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTGGGCCGGGCTGGGCGGTCTCGC
TGAAAGGTGAGCACTGTTTGGTCTGGCCTCTCCTTCTGGTAAACCACC
GTGCTCTTAAGTGGGTGCGATGGGGAACCAGGACTTTTACTTTGAAAA
AATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCTAACGCTTGAATACATTAGCATGGAA
TAATGAAATAGGACGACGATCCTATTTTGTGTTGGTTTCTAGGACTGACG
TAATGATTAATAGGGATAGTTGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAG
GTGAAATTCTTGGATTTATTGAAGACTGACTACTGCGAAAGCATTGTC
CAAGGATGTTTTTCATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGAC
GATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGAT
CGGATGATGTTAATTTTATAATGACTCA

> *Diversispora xanthium*, complete sequence

ATTAAATCAGTTATAGTTTATTTGATAGTGCCTTACTACTTGGATAACC
GTGGTAATTCTAGAGCTAATACATGCAAAAAATCTCGACTTCTGGAAG
GGATGTATTTATTAGATAAAGACCAATAGCTACTTCGGTAGTTTCCTTG

GTGAATCATGATGACTTTTCGGATCGCACGGCCTTGCGCTGGCGATGG
TTCATTCAAATTTCTGCCCTATCAACTTTCGATGGTAGGATAGAGGCCT
ACCATGGTTTTAACGGGTAACGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAG
GAAGCCTGAGAAACGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGC
AAATTACCCAATCCCGACACGGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAAT
ACAGGGCCTTTCAGGTCTTGTAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCCC
TTAGCGAGGAACAATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGT
AATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCT
CGTAGTTGAATTTTGGGCCTGGTCGGGCGGTCCGCCGTAAGGTGAGTA
CTGTCATTGTGCCGGGTCTCTTCTTCTGGTGAGCTAGTGTGCTCTTTATT
GGGTGCATTAGGGAACCAGGACTATTACCTTGAAAAAATTAGAGTGTT
TAAAGCGGGCATTGCTTGAATACATTAGCATGGAATAATGAAATAGG
ACGGACGGTTCTATTTTGTGTTATGGGACCACCGTAATGATTAATA
GGGATAGTTGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATTCTTG
GATTTATTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTGCCAAGGATGTTTT
CATTAAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCG
TCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGAATCGGGCGATGTTA
TTTTAATGACTCGCTCGGCACCTTATGGGAAACCAAAGTTTTTGGGTTC
CGGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAA
GGGCACCACCAGGGGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGG
AAAACCTCACCAGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGAGAGCT
CTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGA
GTGATTTGTCTGGTTAATTCCGATAACGAACGAGACCTTAACCTGCTA

AATAGCTAGGCAGCTCATTGAGCGGTCGTCAGCTTCTTAGAGGGACTG
TTGTGCTATTAGCCAACGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATG
CCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGATGAAGTCAACG
AGTAAATTTTCCTTGGCCGGAAGGTCTGGGTAATCTTTTGAAACTTCAT
CGTGCTGGGGATAGAGCATTGCAACTATTGCTCTTCAACGAGGAATCC
CTAGTAAGCGTGAGTCATTAGCTCGCGTTGA

> Claroideoglomus emiratium, partial sequence

AGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTAAAGTTGTTGC
AGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAACTTTAGGCCTGGCTGGCCGGTCGGCC
TTCTGGTCTGTACTGGTCTGGCTGGGTCTTTCCTTCTGGCGAGCCGTCA
TGCTCTTCATTGCGTGTGGCGGGGAACCAGAACTTTTACCTTGAAAAA
ATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCTTGTGCTTGAATACATTAGCATGGAAT
AATGGAATAGGACTCTGGTTCTATTTTGTTGGTTTCTAGGATTGACGTA
ATGATTAATAGGGATAGTTGGGGGCATTAGTATTCAATTGTCAGAGGT
GAAATTCTTGGATTTATTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTTGCCA
AGGATGTTTTTATTAATCAAGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGAT
CAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATCGG
ATGATGTTAATTTTAAATGTACTCATTTCGGCGT

>MZ480736.1 Uncultured Glomeromycotina clone CHTACBSHOTU0986 small
subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAAT
AGCGTATATTAAAGTTGTTGTGGTTAAAAAGCTCGTAGTTGAATTTTA
GCCTTGGCTGGGCGGTCCTGCCATTTGGTCGGTACTGTTTGGCTGGGGT
TCACCTTCTGGTGAGACGGCATGCTCTTCACTGGGTGTGTCGGGGAAC
CAGGACTTTTACTTTGAAAAAATTAGAGTGTTTAAAGCAGGCATTCGC
TTGAATACATTAGCATGGAATAATAGAATAGGACTTTGGTTCTATTTTG
TTGGTCTCTAGGACCGAGGTAATGATTAATAGGGATAGTTGGGGGCAT
TAGTATTCAATTGTCAGAGGTGAAATTCTTGGATTTATTGAAGACTAA
CTACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGATGTTTTTATTAATCAGGAACGAA
AGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAA
ACTATGCCGACTAGGGATCGGACGATGTTATTTTTTGACTCGTTCGGCG
CCTTACGGGAAAC

2. Dokumentasi



Pengambilan Sampel Tanah



Persiapan sampel untuk analisis PCR



Analisis PCR



Analisis PCR mengukur konsentrasi DNA menggunakan nanophotometer

BIODATA PENULIS



Penulis bernama lengkap Bobby Agy Wijaya, lahir di Bekasi pada tanggal 4 september 1998 merupakan anak pertama dari dua bersaudara. Penulis lahir dari pasangan suami istri Ruby Rusmedian dan Ir. Ramlah Madjid. Penulis sekarang bertempat tinggal di BTN Griya Nalu Blok B No. 22 Tolitoli.

Penulis menyelesaikan pendidikan SDN 1 Tambun pada tahun 2010, MTsN Tambun pada tahun 2013, SMA Negeri 2 Tolitoli pada tahun 2016, dan S1 Universitas Tadulako Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi pada tahun 2020. Selama kuliah S1, penulis aktif di organisasi TP Al-Ishlah FMIPA UNTAD sebagai pengurus bidang dakwah periode 2017, TP Al-Ishlah sebagai sekertaris umum periode 2018, TP Al-Ishlah sebagai dewan penasehat periode 2019, dan HMB FMIPA UNTAD sebagai pengurus bidang kesekretariatan periode 2018. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Biologi Umum (2017-2019), Biologi Sel dan Molekuler (2018), Genetika Umum (2018), Ekologi Tumbuhan (2018) Struktur Perkembangan Tumbuhan II (2018), dan Fisiologi Tumbuhan (2019). Selain itu, penulis berkesempatan untuk melakukan PKL (magang) di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) dibawah bimbingan Peni Lestari, M.Si. pada Tahun 2020-2021 Penulis bekerja sebagai tenaga kerja honorer di Dinas Ketahanan Pangan Daerah Kabupaten Tolitoli dan pada tahun 2023-sekarang penulis bekerja sebagai freelancer dan juga Tenaga Ahli Biologi di CV. ASA Coralindo Resources.