

**IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN UJI EFEKTIVITAS
FUNGSI MIKORIZA ARBUSKULAR INDIGENOS
DENGAN BEBERAPA KONDISI MEDIA TANAM
DALAM MENINGKATKAN PERTUMBUHAN
BIBIT STEK LADA (*Piper nigrum* L.)**

(Tesis)

Oleh

**RAHMAT HIDAYAT
NPM 2224011002**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN UJI EFEKTIVITAS
FUNGSI MIKORIZA ARBUSKULAR INDIGENOS
DENGAN BEBERAPA KONDISI MEDIA TANAM
DALAM MENINGKATKAN PERTUMBUHAN
BIBIT STEK LADA (*Piper nigrum* L.)**

Oleh

RAHMAT HIDAYAT

Tesis

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER PERTANIAN**

Pada

**Program Studi Magister Agronomi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN UJI EFEKTIVITAS FUNGSI MIKORIZA ARBUSKULAR INDIGENOS DENGAN BEBERAPA KONDISI MEDIA TANAM DALAM MENINGKATKAN PERTUMBUHAN BIBIT STEK LADA (*Piper nigrum* L.)

Oleh

RAHMAT HIDAYAT

Rendahnya produktivitas lada (*Piper nigrum* L.) di Lampung akibat manajemen pembibitan yang kurang optimal dapat diatasi melalui pemanfaatan Fungi Mikoriza Arbuskular (FMA) indigenos. Karena keberhasilan simbiosis bergantung pada spesifisitas isolat dan lingkungan tumbuh, penelitian ini bertujuan mengidentifikasi spesies FMA rizosfer secara molekuler serta menguji efektivitasnya pada berbagai media tanam (organik dan anorganik) guna memacu pertumbuhan bibit lada yang unggul.

Penelitian ini dilaksanakan dalam dua tahap yaitu identifikasi molekuler dan uji efektivitas FMA. Tahap pertama meliputi identifikasi molekuler lima jenis FMA dominan (SP1-SP5) dari rizosfer lada asal Lampung Barat. Tahap kedua merupakan uji efektivitas FMA indigenos pada bibit stek lada menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 6 perlakuan yaitu M0 (tanah saja), M1 (tanah + bahan organik), M2 (tanah + pupuk anorganik), M3 (tanah + FMA), M4 (tanah + bahan organik + FMA), M5 (tanah + pupuk anorganik + FMA) yang diulang sebanyak 5 kali. Data pengamatan meliputi variabel pertumbuhan vegetatif dan persentase kolonisasi akar, yang selanjutnya dianalisis menggunakan sidik ragam dan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%.

Hasil identifikasi molekuler menunjukkan bahwa dari lima isolat (SP1–SP5) terdapat empat spesies FMA berhasil diidentifikasi: *Archaeospora leptoticha* (sekarang *Ambispora leptoticha*) (SP1), *Acaulospora spinosa* (SP2), *Glomeromycotina* sp. (SP3 dan SP5), dan *Entrophospora colombiana* (SP4). Sementara itu, pada percobaan efektivitas FMA, perlakuan media tanah + bahan organik + FMA berhasil meningkatkan sebagian besar variabel pertumbuhan bibit stek lada jika dibandingkan dengan kontrol. Sementara itu, perlakuan media tanah + pupuk anorganik + FMA menunjukkan pertumbuhan yang terhambat dan tingkat kolonisasi FMA yang rendah.

Kata kunci: bahan organik, FMA, lada, media tanam, molekuler, pupuk anorganik

ABSTRACT

MOLECULAR IDENTIFICATION AND EFFECTIVENESS OF INDIGENOUS ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI UNDER VARIOUS GROWTH MEDIA CONDITIONS IN ENHANCING THE GROWTH OF BLACK PEPPER (*Piper nigrum* L.) CUTTINGS

By

RAHMAT HIDAYAT

The low productivity of black pepper (*Piper nigrum* L.) in Lampung, often caused by suboptimal nursery management, can be addressed through the utilization of indigenous Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF). Given that symbiotic success depends on isolate specificity and the growing environment, this study aims to molecularly identify rhizosphere AMF species and evaluate their effectiveness in various planting media (organic and inorganic) to promote the growth of high-quality pepper seedlings. This research was conducted in two stages: molecular identification and an AMF effectiveness test. The first stage involved the molecular identification of five dominant AMF types (SP1–SP5) from the black pepper rhizosphere in West Lampung. The second stage tested the effectiveness of indigenous AMF on pepper cuttings using a Randomized Block Design (RBD) with six treatments: M0 (soil only), M1 (soil + organic matter), M2 (soil + inorganic fertilizer), M3 (soil + AMF), M4 (soil + organic matter + AMF), and M5 (soil + inorganic fertilizer + AMF), replicated five times. Observed data included vegetative growth variables and the percentage of root colonization, which were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) followed by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test at the 5% level. Molecular identification results showed that among the five isolates (SP1–SP5), four AMF species were successfully identified: *Archaeospora leptoticha* (currently *Ambispora leptoticha*) (SP1), *Acaulospora spinosa* (SP2), *Glomeromycotina* sp. (SP3 and SP5), and *Entrophospora colombiana* (SP4). In the effectiveness experiment, the treatment of soil + organic matter + AMF significantly increased most vegetative growth variables in pepper cuttings compared to the control. Conversely, the treatment of soil + inorganic fertilizer + AMF resulted in inhibited growth and low rates of AMF colonization.

Keywords: organic matter, AMF, black pepper, growth media, molecular, inorganic fertilizer.

Judul Tesis

: IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN UJI
EFEKTIVITAS FUNGI MIKORIZA
ARBUSKULAR INDIGENOS DENGAN
BEBERAPA KONDISI MEDIA TANAM
DALAM MENINGKATKAN
PERTUMBUHAN BIBIT STEK LADA
(*Piper nigrum* L.)

Nama Mahasiswa

: Rahmat Hidayat

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2224011002

Program Studi

: Magister Agronomi

Fakultas

: Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

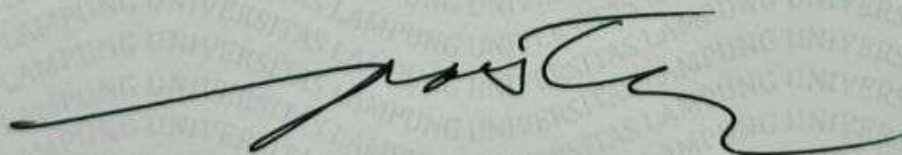


Prof. Ir. Maria Viva Rini, M.Agr.Sc., Ph.D.
NIP 196603041990122001



Prof. Dr. Ir. Rusdi Evizal, M.S.
NIP 196108261986031001

2. Ketua Program Studi Magister Agronomi



Prof. Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu, M.S.
NIP 196209281987031001

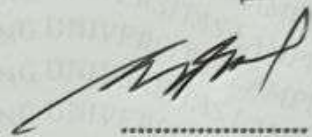
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

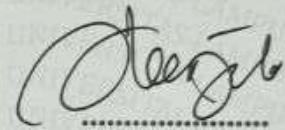
Ketua : Prof. Ir. Maria Viva Rini, M.Agr.Sc., Ph.D.



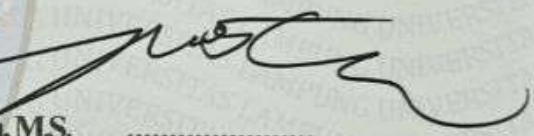
Sekretaris : Prof. Dr. Ir. Rusdi Evizal, M.S.



Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Ir. Agus Karyanto, M.Sc.



Prof. Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwi, M.S.

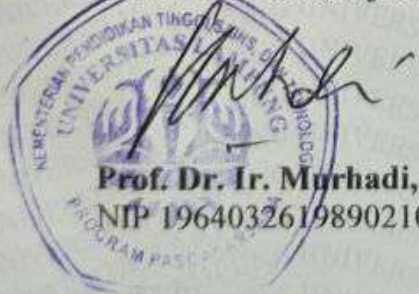


2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. F. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 196411181989021002

3. Direktur Pascasarjana Universitas Lampung



Prof. Dr. Ir. Murrhadi, M.Si.
NIP. 196403261989021001

Tanggal Lulus Ujian Tesis : 22 Desember 2025

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul **"IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN UJI EFEKTIVITAS FUNGI MIKORIZA ARBUSKULAR INDIGENOS DENGAN BEBERAPA KONDISI MEDIA TANAM DALAM MENINGKATKAN PERTUMBUHAN BIBIT STEK LADA (*Piper nigrum* L.)"** adalah hasil karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atas hasil karya orang lain dengan cara tidak sesuai dengan norma etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung.
2. Pembimbing penulis tesis ini berhak mempublikasi sebagian atau seluruh tesis ini pada jurnal dengan mencantumkan nama saya sebagai salah satu penulisnya.
3. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terbukti ketidakbenaran maka saya bersedia menerima akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 1 Januari 2026

Pembuat Pernyataan,



Rahmat Hidayat
NPM 2224011002

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Rahmat Hidayat dilahirkan di Sekincau, 9 September 1999, sebagai anak kedua dari pasangan Bapak Karmani dan Ibu Rosdianawati. Penulis memulai pendidikan pertamanya di Sekolah Dasar (SD) Negeri 1 Sukananti pada tahun 2006-2011. Kemudian, penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Way Tenong pada tahun 2012-2014. Selanjutnya, di Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Way Tenong pada tahun 2015-2017. Penulis menjadi mahasiswa Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2017-2021 melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Penulis lalu melanjutkan pendidikannya sebagai mahasiswa Magister Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung tahun 2022-2025. Selama menjadi mahasiswa pascasarjana, penulis pernah mengikuti kegiatan seperti penyuluhan pertanian bersama dosen-dosen Fakultas Pertanian Unila dan seminar internasional “ISSAAS-SEAPPRO 2022” di IPB University, Bogor.

"Ya Tuhanku sesungguhnya aku sangat memerlukan sesuatu kebaikan yang
Engkau turunkan kepadaku"
(Qs. Al-Qasas: 24)

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama
kesulitan ada kemudahan”
(QS. Al-Insyirah: 5-6).

“Bukan aku yang hebat, tapi do’a ibuku yang kuat”

SANWACANA

Puji Syukur penulis ucapkan kehadiran ALLAH SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya tesis ini dapat diselesaikan. Tesis dengan judul “Identifikasi Molekuler dan Uji Efektivitas Fungi Mikoriza Arbuskular Indigenos dengan Beberapa Kondisi Media Tanam dalam Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Stek Lada (*Piper nigrum* L.)” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Pertanian di Universitas Lampung. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Prof. Dr.Ir. Murhadi, M.Si. selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
3. Prof. Dr. Ir. Paul Benyamin Timotiwu, M.S., selaku Ketua Program Studi Magister Agronomi sekaligus penguji yang selalu memberikan masukan dan motivasi dalam menyelesaikan tesis ini.
4. Prof. Ir. Maria Viva Rini, M.Agr.Sc., Ph.D., selaku pembimbing pertama yang telah memberikan ide penelitian, ilmu yang bermanfaat, motivasi, arahan dan bimbingan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan tesis ini.
5. Prof. Dr. Ir. Rusdi Evizal, M.S., selaku Pembimbing kedua yang telah memberikan banyak masukan, motivasi, kritik dan saran dalam menyelesaikan tesis ini.
6. Dr. Ir. Agus Karyanto, M.Sc., selaku penguji yang telah memberikan banyak masukan dan motivasi dalam menyelesaikan tesis ini.
7. Seluruh dosen Program Studi Magister Agronomi atas semua ilmu yang telah diajarkan kepada penulis selama menjadi mahasiswa di Universitas Lampung.

8. Bapak Karmani, Ibu Rosdianawati, Ria Susanti, Tomi Tri Anggara, Tambang Sabarman, dan Khalisa Binar Fathina, serta keluarga besar penulis yang telah memberikan dukungan baik secara moral dan material kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini.
9. Puput azizah dan Rusdi Sion sebagai teman seperjuangan yang senantiasa mendukung penulis dalam melaksanakan penelitian dan menyelesaikan tesis ini.
10. Teman-teman seperjuangan Magister Agronomi angkatan 2022 yang selalu mendukung penulis.
11. Almamater tercinta dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian dan menyusun tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap semoga tesis ini dapat memberikan informasi bermanfaat bagi para pembaca. Penulis memohon maaf atas segala kekurangan dalam proses penyusunan tesis ini. Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis dengan balasan yang lebih baik.

Bandar lampung, 1 Januari 2026

Penulis,

Rahmat Hidayat

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	5
1.3 Manfaat Penelitian	5
1.4 Landasan Teori.....	5
1.5 Kerangka Pemikiran.....	10
1.6 Hipotesis.....	13
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	14
2.1 Tanaman Lada	14
2.2 Bahan Organik dalam Media Tanam Stek Lada	17
2.3 Fungi Mikoriza Arbuskular	18
2.4 Manfaat FMA bagi Tanaman	23
2.5 Metode Identifikasi FMA.....	24
2.6 Metode Isolasi DNA Mikoriza.....	25
2.7 Penggunaan DNA <i>Marker</i> dalam Identifikasi FMA.....	26
2.8 Penggunaan Primer dalam Identifikasi FMA.....	27
III. BAHAN DAN METODE	30
3.1 Percobaan I: Identifikasi FMA dari Rizosfer Tanaman Lada	30
3.1.1 Tempat dan Waktu Percobaan I	30
3.1.2 Alat dan bahan Percobaan I	30
3.1.3 Identifikasi FMA Secara Molekuler	31

3.2 Percobaan II: Uji Efektivitas FMA Indigenos dengan Beberapa Kondisi Media Tanam dalam Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Stek Lada.....	34
3.2.1 Waktu dan Tempat Percobaan II.....	34
3.2.2 Alat dan Bahan Percobaan II	34
3.2.3 Rancangan Percobaan II.....	35
3.2.4 Analisis Tanah.....	36
3.2.5 Pelaksanaan Percobaan II.....	36
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
4.1 Hasil	41
4.1.1 Hasil Identifikasi Molekuler FMA dari Rizosfer Tanaman Lada.....	41
4.1.2 Hasil Percobaan Uji Efektivitas FMA Indigenos dengan Beberapa Kondisi Media Tanam dalam Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Stek Lada.....	45
4.2 Pembahasan.....	52
V. SIMPULAN DAN SARAN	60
5.1 Simpulan	60
5.2 Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN.....	79

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil analisis tanah.....	36
2. Hasil identifikasi sampel DNA (SP1-SP5) di BLAST.....	43
3. Rekapitulasi <i>p-Value</i> dan koefisien keragaman beberapa variabel pengamatan uji efektivitas FMA indigenos dengan beberapa kondisi media tanam dalam meningkatkan pertumbuhan bibit stek lada	45
4. Pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap panjang tunas bibit stek lada umur 4 BST	46
5. Pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap luas daun dan kehijauan daun bibit stek lada umur 4 BST	47
6. Pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot daun bibit stek lada umur 4 BST.....	48
7. Pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot tajuk dan bobot akar pada bibit stek lada umur 4 BST	49
8. Pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot basah.....	50
9. Pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap kolonisasi FMA	51
10. Data pengamatan beberapa variabel pertumbuhan bibit stek lada umur 4 BST	88
11. Data pengamatan beberapa variabel pertumbuhan bibit stek lada umur 4 BST	89
12. Data pengamatan beberapa variabel pertumbuhan bibit stek lada umur 4 BST dan persentase kolonisasi FMA.....	90
13. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap jumlah daun stek lada umur 4 BST	91
14. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap diameter tunas stek lada umur 4 BST.....	91
15. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap panjang tunas stek lada umur 4 BST	91

16. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap nilai SPAD daun stek lada umur 4 BST	91
17. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot segar daun stek lada umur 4 BST	92
18. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot kering daun stek lada umur 4 BST	92
19. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap luas daun stek lada umur 4 BST	92
20. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap <i>specific leaf weight</i> stek lada umur 4 BST	92
21. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot segar tajuk stek lada umur 4 BST	93
22. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot kering tajuk stek lada umur 4 BST	93
23. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot segar akar stek lada umur 4 BST	93
24. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot kering akar stek lada umur 4 BST	93
25. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap volume akar stek lada umur 4 BST	94
26. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot segar total stek lada umur 4 BST	94
27. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap bobot kering total stek lada umur 4 BST	94
28. Analisis ragam pengaruh perlakuan berbagai jenis media tanam terhadap persentase kolonisasi FMA pada akar bibit stek lada umur 4 BST	94

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alur kerangka berpikir	12
2. Struktur FMA	19
3. Tata letak percobaan II.....	35
4. Visualisasi hasil elektroforesis produk PCR a) SP1, SP2, dan SP5; b) SP3; c) SP5.	41
5. Hasil konstruksi pohon filogenetik SP1-SP5.	42
6. Spora a) SP1 (<i>Archaeospora leptoticha</i> (<i>Ambispora leptoticha</i>)), b) SP1 dalam larutan Melzer.....	43
7. Spora a) SP2 (<i>Acaulospora spinosa</i>), b) SP2 dalam larutan Melzer	43
8. Spora a) SP3 (<i>Glomeromycotina</i> sp.), b) SP3 dalam larutan Melzer....	44
9. Spora a) SP4 (<i>Entrophospora colombiana</i>), b) SP4 dalam larutan Melzer.	44
10. Spora a) SP5 (<i>Glomeromycotina</i> sp.), b) SP5 dalam larutan Melzer..	44
11. Proses isolasi dan pembersihan spora FMA	80
12. Proses pemilihan spora untuk diekstraksi.	80
13. Proses PCR.....	80
14. Proses elektroforesis di agar <i>gel doc</i>	81
15. Proses peletakan gel ke <i>Digi-Doc-Imaging System</i>	81
16. Visualisasi pita DNA dengan DDS.	81
17. Penyortiran bibit stek lada ke ukuran yang seragam.....	82
18. Perendaman calon bibit stek lada dalam larutan IBA 1000 ppm.	82
19. Penyemaian bibit stek lada pada media pasir.....	82
20. Penyungkupan bibit stek lada dengan plastik.	83
21. Penyortiran bibit stek untuk <i>transplanting</i>	83
22. Pengaplikasian spora FMA komposit pada perlakuan.	83

23. Transplanting stek bibit lada dari media pasir ke media perlakuan. ...	84
24. Rangkaian proses pembongkaran bibit stek lada untuk pengamatan akhir.....	84
25. Penampilan bibit stek lada yang diberi perlakuan berbagai jenis media tanam pada Ulangan 1.	85
26. Penampilan bibit stek lada yang diberi perlakuan berbagai jenis media tanam pada Ulangan 2.	85
27. Penampilan bibit stek lada yang diberi perlakuan berbagai jenis media tanam pada Ulangan 3.	86
28. Penampilan bibit stek lada yang diberi perlakuan berbagai jenis media tanam pada Ulangan 4.	86
29. Penampilan bibit stek lada yang diberi perlakuan berbagai jenis media tanam pada Ulangan 5.	87

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lada (*Piper nigrum* L.) merupakan salah satu komoditas rempah yang memiliki peran penting terhadap pertumbuhan ekonomi di Indonesia. Lada banyak dimanfaatkan sebagai bahan rempah dan obat bagi kebanyakan orang. Sehingga, banyak negara-negara mengimpor lada untuk memenuhi kebutuhan tersebut. Data BPS (2024) menunjukkan bahwa ekspor lada hitam di Indonesia tahun 2015 sebanyak 33,44 ribu ton, namun di tahun 2024 ekspor lada hitam turun menjadi 28,76 ribu ton. Sementara itu, volume ekspor lada putih tertinggi dicapai pada tahun 2019 yaitu sekitar 30 ribu ton, namun kembali menurun pada tahun 2024 menjadi sekitar 20,70 ribu ton.

Perkebunan lada di Indonesia terbilang cukup luas yang tersebar di beberapa provinsi seperti Bangka Belitung, Lampung, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, dan Sumatera Selatan. Produktivitas lada di Indonesia berfluktuasi namun cenderung menurun dari tahun 2016-2025 dengan rata-rata penurunan sebesar 2,62% per tahun (DJP, 2025). Rata-rata produktivitas lada di Indonesia baik yang diusahakan oleh perkebunan rakyat maupun perkebunan besar swasta masih rendah yaitu kurang dari 1 ton/ha. Provinsi Lampung berkontribusi 20,71% terhadap total produksi lada di Indonesia (DJP, 2025). Oleh karena itu, budidaya lada di Lampung masih memiliki peluang untuk dikembangkan.

Rendahnya produktivitas lada dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya faktor budidaya yang berkaitan dengan pemeliharaan tanaman dan penyiapan media tanam saat pembibitan lada yang kurang memadai. Martin *et al.* (2015) menyatakan bahwa media tanam akan menentukan pertumbuhan dan perkembangan bibit lada. Safitri *et al.* (2022) menambahkan bahwa terdapat beberapa komposisi media tanam yang dapat digunakan untuk pembibitan lada

yaitu campuran antara tanah dan bahan organik seperti kompos, pupuk kandang, dan sekam. Gusta dan Same (2019) melaporkan bahwa campuran tanah, sekam bakar, dan pupuk anorganik seperti pupuk NPK juga dapat digunakan dalam media pembibitan lada.

Penggunaan bahan organik dalam media tanam diketahui dapat mendukung efektivitas mikroorganisme, memperbaiki struktur fisik media, dan menyediakan unsur hara (Nichols dan Halvorson, 2013). Penggunaan bahan organik sebagai campuran dalam media tanam pembibitan lada dapat mendukung pertumbuhan bibit lada. Martin *et al.* (2015) melaporkan bahwa penggunaan bahan organik dalam media tanam membantu meningkatkan tinggi tanaman, jumlah daun, dan bobot kering akar dari umur 60-120 hari setelah tanam (hst). Gerke (2022) menyatakan bahwa bahan organik yang telah terdekomposisi dapat mendukung ketersediaan unsur hara makro dan mikro seperti N, P, K, S, Cu, Fe, serta Zn yang diperlukan bagi pertumbuhan tanaman. Selain itu, bahan organik juga mendukung aktivitas mikroorganisme seperti fungi. Xu *et al.* (2018) menyatakan bahwa fungi akan membantu mendekomposisi bahan organik sehingga dapat menyuburkan tanah sebagai media tanam dan menyediakan unsur hara untuk pertumbuhan tanaman. Pratiwi *et al.* (2022) melaporkan bahwa kombinasi kompos (20%) dan zeolit dapat mendukung perkembangan spora fungi mikoriza arbuskular (FMA). Ferry *et al.* (2013) juga melaporkan bahwa kombinasi kompos eceng gondok atau kiambang 80% + 20% zeolit + 40 spora FMA/1 kg media dapat meningkatkan jumlah spora menjadi 115-170 spora/50 g media tanam pembibitan lada.

Mikoriza merupakan istilah yang digunakan untuk menyebut jenis fungi yang bersimbiosis dengan akar suatu tanaman yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman dan komposisi komunitas tanah dengan membantu penyerapan unsur hara serta air (Dighton, 2009). Nurmasiyah dan Khairuna (2017) melaporkan bahwa FMA merupakan salah satu jenis dari mikoriza yang dapat digunakan dalam mendukung pertumbuhan bibit stek lada. Nama “arbuskular” berasal dari ciri mikoriza ini yaitu memiliki struktur dalam jaringan akar tanaman yang disebut arbuskula (Dickson, 2004). FMA merupakan mikroorganisme tanah yang paling banyak tersebar di alam yang membentuk hubungan simbiosis dengan lebih dari 80% tanaman (Prasad *et al.*, 2017), kecuali beberapa famili tanaman seperti

Brassicaceae, *Amaranthaceae*, *Cruciferae*, *Caryophyllaceae*, *Chenopodiaceae*, *Juncaceae*, *Cyperaceae*, dan *Polygonaceae* (Brundrett, 2009). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa FMA juga ditemukan bersimbiosis dengan akar tanaman lada (Kumalawati *et al.*, 2015; Suryati, 2017).

Fungi mikoriza arbuskular yang bersimbiosis dengan akar tanaman lada dapat memberikan beberapa manfaat. Fungi mikoriza arbuskular hidup di area rizosfer akar lada akan membentuk hifa-hifa yang membantu penyerapan unsur hara dan air di dalam tanah. Thakur dan Shinde (2020) menambahkan bahwa penggunaan FMA dapat mencegah tanaman dari kekeringan. Selain itu, FMA juga berperan sebagai agensia pengendali hayati yang dapat menanggulangi keterjadian penyakit busuk pangkal batang pada lada yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici* Leonian (Nysanth *et al.*, 2022). Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian da Luz *et al.* (2016) yang menunjukkan bahwa tanaman lada yang bersimbiosis dengan FMA menghasilkan eksudat akar berupa α -Bisabolol yang berperan sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tanaman dapat membentuk ketahanan terhadap patogen tanah. Sementara itu, peran FMA terhadap peningkatan produksi lada secara langsung masih belum dilaporkan, namun dalam penelitian Nurmasiyah dan Khairuna (2017) menunjukkan bahwa aplikasi FMA pada lada dapat membantu penyerapan unsur hara P yang diperlukan untuk pertumbuhan dan produksi tanaman lada.

Hubungan simbiosis FMA dan tanaman inang akan bersifat spesifik, FMA hanya dapat bersimbiosis dengan inang yang sesuai (Souza, 2005). Tingkat efektivitas FMA dipengaruhi oleh jenis tanaman inang dan jenis mikoriza (Ijdo *et al.* 2011; Kumar *et al.* 2018; Melo *et al.* 2019). Nurhayati (2012) menyatakan bahwa efektivitas FMA akan tinggi jika diisolasi dan diinokulasikan ke jenis tanaman inang yang sama (indigenos), artinya mikoriza yang diisolasi dari rizosfer tanaman lada akan berpeluang lebih efektif jika diinokulasikan ke tanaman lada kembali. Oleh karena itu, diperlukan isolasi dan identifikasi untuk mengetahui jenis FMA secara spesifik yang bermanfaat bagi pertumbuhan tanaman lada.

Raja *et al.* (2017) melaporkan bahwa terdapat beberapa metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi FMA, mulai dari yang sederhana dengan

mengamati karakteristik spora hingga menggunakan metode molekuler dengan cara identifikasi basa DNA. Mengidentifikasi FMA dengan mengamati morfologi spora akan menemui kesulitan karena terdapat beberapa spora dengan karakteristik yang mirip. Oleh karena itu, penggunaan metode identifikasi basa DNA akan dapat membantu mengetahui jenis FMA dengan lebih akurat (Rini *et al.*, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa identifikasi FMA dari rizosfer lada secara molekuler perlu dilakukan.

Penggunaan pupuk anorganik juga diketahui dapat mempengaruhi efektivitas FMA. Kumalawati *et al.* (2015) melaporkan bahwa penggunaan pupuk NPK dengan dosis tinggi dapat menghambat pertumbuhan fungi dalam media tanam pembibitan lada. Hal ini juga ditunjukkan oleh hasil penelitian Nurmasiyah dan Khairuna (2017) yang melaporkan bahwa aplikasi 12,5 g FMA + 30 g NPK pada tanaman lada menunjukkan penyerapan hara yang lebih rendah yaitu 17,18 ppm dibandingkan dengan aplikasi 37,5 g FMA + 20 g NPK menunjukkan penyerapan hara P yang tinggi yaitu 213,33 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pupuk anorganik NPK dengan dosis yang tinggi dapat menghambat penyerapan hara P oleh FMA dalam media pembibitan lada.

Pengaplikasian FMA pada media tanam pembibitan lada memerlukan komposisi media yang sesuai. Penggunaan bahan organik dan FMA yang diisolasi dari rizosfer tanaman lada merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mendukung perkembangan FMA di rizosfer akar lada (Pratiwi *et al.*, 2022). Kombinasi keduanya diharapkan dapat memberikan respons terbaik untuk pertumbuhan stek lada. Penggunaan pupuk anorganik dalam media tanam juga perlu diketahui dampaknya terhadap efektivitas FMA dalam meningkatkan pertumbuhan bibit stek lada. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas FMA indigenos perlu dilakukan dengan menggunakan sampel spora FMA yang diisolasi dari rizosfer tanaman lada yang berasal dari penelitian Azzahra (2024) di perkebunan lada Lampung Barat. Identifikasi secara molekuler dan percobaan inokulasi pada tanaman lada dengan berbagai campuran media tanam juga perlu dilakukan. Berikut beberapa rumusan masalah berdasarkan latar belakang yang telah dijabarkan:

1. Spesies FMA apa saja yang terdapat di rizosfer lada?
2. Apakah FMA indigenos efektif dalam meningkatkan pertumbuhan bibit stek lada dalam media tanam yang berisi bahan organik dan pupuk anorganik?

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disampaikan maka tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui spesies FMA apa saja yang terdapat di rizosfer tanaman lada.
2. Mengetahui efektivitas FMA indigenos dalam meningkatkan pertumbuhan bibit stek lada dalam media tanam yang berisi bahan organik dan pupuk anorganik.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh apabila tujuan dalam penelitian ini tercapai antara lain:

1. Memberikan informasi tentang jenis FMA yang bermanfaat dalam mendukung pertumbuhan bibit stek lada.
2. Memberikan informasi tentang pengaruh bahan organik dan pupuk anorganik terhadap efektivitas FMA dalam meningkatkan pertumbuhan bibit stek lada.
3. Memberikan informasi yang diharapkan dapat menjadi acuan penelitian berikutnya tentang penggunaan bahan organik dan FMA untuk pertumbuhan tanaman lada.

1.4 Landasan Teori

Fungi mikoriza arbuskular diketahui dapat memberikan beberapa manfaat bagi tanaman sehingga banyak digunakan sebagai *biofertilizer* dalam kegiatan budidaya tanaman (Begum *et al.*, 2019a). Manfaat FMA terhadap tanaman inangnya dapat dilihat dari aktivitas simbiosis mutualisme dengan tanaman inang. Fungi mikoriza arbuskular memperoleh nutrisi dari fotosintat tanaman inang, selanjutnya FMA membantu penyerapan hara dan mineral bagi tanaman inang dari dalam tanah melalui hifa ekstrasradikal (Birhane *et al.*, 2012). Adanya simbiosis FMA dengan akar tanaman juga akan memperluas jangkauan serapan

air di dalam tanah, sehingga tanaman dapat terhindar dari kekeringan. Fungi mikoriza arbuskular membentuk vesikula, arbuskula, dan hifa di dalam akar, serta spora dan hifa di rizosfer. Pembentukan jaringan hifa oleh FMA dengan akar tanaman dapat memperluas akses akar di dalam area tanah (Bowles *et al.*, 2016).

Berdasarkan analisis morfologi dan molekuler diketahui bahwa FMA termasuk ke dalam filum *Glomeromycota*. Fungi dalam filum ini dikenal membentuk mikoriza arbuskula, dan sejauh ini terdapat 3 kelas, 5 ordo, 14 famili, 29 genus, dan 237 spesies telah dijelaskan (Oehl *et al.*, 2011; Redecker *et al.*, 2013). Awalnya pada tahun 1990, tanpa menggunakan teknologi molekuler, fungi yang membentuk mikoriza arbuskula diorganisir dalam tiga famili (*Acaulosporaceae*, *Gigasporaceae*, dan *Glomeraceae*) dan enam genus (*Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis*, dan *Scutellospora*) dalam satu ordo, *Glomerales* dari filum fungi *Zygomycota* (Morton dan Benny, 1990). Klasifikasi itu didasarkan pada morfologi spora dan karakteristik pembentukan spora (*acaulosporoid*, *entrophosporoid*, *gigasporoid*, *glomoid*, *radial-glomoid*, dan *scutellosporoid*). Sementara itu, perbedaan dalam struktur dinding spora digunakan pada tingkat spesies.

Fungi mikoriza arbuskular diketahui mampu bersimbiosis dengan hampir 90% spesies tanaman yang ada di dunia (Smith dan Read, 2008; Brundrett *et al.*, 2002). Fungi mikoriza arbuskular bersimbiosis secara obligat dengan tanaman inangnya. Aplikasi FMA terhadap tanaman inang indigenos juga berpengaruh terhadap efektivitas FMA tersebut. Nurhayati (2012) menyatakan bahwa efektivitas FMA akan tinggi jika diisolasi dan diinokulasikan ke jenis tanaman inang yang sama (indigenos). Akib *et al.* (2019) melaporkan bahwa aplikasi mikoriza *Acaulospora* sp. indigenos lebih efektif dalam meningkatkan pertumbuhan *Canavalia ensiformis* di lahan pasca tambang nikel dibandingkan dengan mikoriza *Acaulospora* sp. lainnya (eksogenos).

Proses simbiosis FMA dengan tanaman inangnya terjadi dalam beberapa tahapan. Pembentukan simbiosis dimulai dengan perkecambahan spora (Siqueira *et al.*, 1985a, b). Menurut Mosse (1959) dan Siqueira (1983) fase ini dianggap sebagai fase asimbiosis, karena perkecambahan spora tidak bergantung pada

tanaman inang. Kedua spesies FMA dan tanaman inang mulai saling menukar sinyal kimia dan molekuler (Siqueira *et al.*, 1985a,b; Lambais, 2006; Kiriacheck *et al.*, 2009). Ini merupakan fase pra-simbiosis dan keberhasilannya sangat tergantung pada dua kondisi: (1) sifat tanah (misalnya, pH, kelembaban, dan suhu), dan (2) tanaman inang (misalnya, eksudat akar, seperti flavonoid, dan CO₂) (Buee *et al.*, 2000; Besserer *et al.*, 2006, dan Zsögön *et al.*, 2008). Setelah terjadinya kontak fisik dengan permukaan akar, sel-sel hifa ekstraradikal berdiferensiasi menjadi sel-sel appresorium, dan fase Simbiosis dimulai (Brundrett, 2004; Ramos *et al.*, 2009a,b; Kiriacheck *et al.*, 2009). Setelah berada di dalam akar, FMA mampu mengembangkan hifa ekstraradikal dan intraradikal (Lanfranco *et al.*, 2005), namun ini sangat tergantung pada status nutrisi tanaman inang (Endre *et al.*, 2002; Madsen *et al.*, 2003; Radutoiu *et al.*, 2003).

Terdapat beberapa FMA yang telah diketahui bersimbiosis dengan akar tanaman lada. Akib *et al.* (2022) melaporkan bahwa terdapat tiga genus FMA yang bersimbiosis dengan akar tanaman lada yaitu genus *Acaulospora* sp, *Glomus* sp., dan *Gigaspora* sp. yang berasal dari area sekitar penambangan nikel Sorowako, Sulawesi Selatan. Suryati (2017) melaporkan hal serupa bahwa di area rizosfer tumbuhan lada dari lahan pasca tambang timah di Kabupaten Bangka Tengah juga ditemukan 3 genus FMA yaitu *Acaulospora* sp, *Glomus* sp., dan *Gigaspora* sp. *Glomus* ditemukan di sebagian besar lokasi penelitian tersebut. Beberapa FMA yang telah diidentifikasi tersebut hanya pada tingkat genus saja, sedangkan spesiesnya masih belum dilaporkan.

Efektivitas FMA terhadap tanaman inangnya dapat dilihat dari persentase kolonisasi. Semakin tinggi persentase kolonisasi FMA pada tanaman inangnya, menunjukkan bahwa simbiosis keduanya semakin baik. Kolonisasi FMA juga dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kandungan bahan organik dan unsur hara (Silvana *et al.*, 2018). Ferry *et al.* (2013) melaporkan bahwa penggunaan bahan organik dalam media tanam seperti kompos dengan kombinasi 60% kiambang + 40% zeolit memiliki persen kolonisasi FMA 37,5%, hal ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan media mengandung 100% zeolit yang hanya menunjukan 25% kolonisasi FMA. Sementara itu, Mullen dan Schmid (1993) melaporkan bahwa persentase kolonisasi FMA yang lebih tinggi terjadi ketika tanaman

mengakumulasi P. Nurmasiyah dan Khairuna (2017) melaporkan bahwa aplikasi 37,5 g FMA/polibag yang dikombinasikan dengan 10 g NPK/polibag dalam media pertumbuhan lada menunjukkan tingkat kolonisasi 90% dibandingkan dengan kontrol hanya 70%. Namun, peningkatan dosis P menjadi 30 g/polibag menyebabkan kolonisasi FMA menurun menjadi 76,67% (Nurmasiyah dan Khairuna, 2017).

Efektivitas FMA juga dapat dipengaruhi oleh penggunaan pupuk anorganik. Nurmasiyah dan Khairuna (2017) melaporkan bahwa aplikasi 12,5 g FMA/polibag yang dikombinasikan dengan 10 g NPK/polibag meningkatkan bobot kering akar lada dan penyerapan unsur P dalam media. Namun, dalam penelitian tersebut juga dilaporkan bahwa konsentrasi pupuk NPK berlebih akan menurunkan efektivitas FMA. Hal yang serupa juga dilaporkan oleh Kumalawati *et al.* (2015) yang menunjukkan bahwa aplikasi 100 g inokulan FMA *Glomus* sp. dan *Acaulospora* sp. serta aplikasi pupuk majemuk NPK 1 mg/l menghasilkan volume akar pada bibit lada sebesar 5,99 g dan jumlah spora sebanyak 208 unit, namun jika konsentrasi pupuk NPK ditingkatkan menjadi 2 mg/l menghasilkan volume akar pada bibit lada yang lebih ringan yaitu 4,98 g serta jumlah spora yang lebih sedikit yaitu 175 unit. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pupuk anorganik dengan dosis yang tinggi dapat menghambat aktivitas FMA. Oleh karena itu, penggunaan bahan campuran lain sebagai media tanam yang mendukung efektivitas FMA saat diaplikasikan ke perakaran bibit stek lada menjadi hal yang perlu diperhatikan, misalnya penggunaan bahan organik yang mendukung pertumbuhan FMA (Martin *et al.*, 2015).

Ketersediaan bahan organik yang cukup dapat mendukung aktivitas mikroorganisme di dalam tanah termasuk pertumbuhan dan perkembangan FMA (Martin *et al.*, 2015). Sumber bahan organik salah satunya dapat diperoleh dari kompos. Terdapat banyak jenis campuran kompos sebagai media tanam yang dapat mendukung perkembangan mikoriza. Ferry *et al.* (2013) melaporkan bahwa bahwa penggunaan kompos dengan kombinasi 80% kiambang + 20% zeolit berpengaruh nyata terhadap kolonisasi FMA pada media tanam budidaya lada perdu. Bahan kompos lainnya yang mengandung bahan organik tinggi juga dapat digunakan untuk mendukung efektivitas FMA. Kompos yang mengandung bahan

organik dapat memperbaiki sifat fisik seperti porositas, sifat kimia seperti penambahan unsur hara, dan sifat biologi yang mendukung pertumbuhan FMA (Xie *et al.*, 2014).

Kegiatan isolasi FMA dari rizosfer tanaman dilakukan menggunakan metode tertentu dengan tujuan untuk memisahkan FMA yang menguntungkan bagi tanaman. Metode yang biasa digunakan untuk isolasi FMA adalah penyaringan basah yaitu dengan membuat larutan supernatan FMA kemudian disaring dengan saringan dengan kerapatan tertentu (Suamba *et al.*, 2014). Spora FMA yang diisolasi dari rizosfer tanaman lada akan di-*trapping* dan diperbanyak dalam suatu komposisi media zeolit-tanah-zeolit (Brundrett *et al.*, 1996). FMA bersifat obligat sehingga memerlukan inang jika ingin diperbanyak (Muis *et al.*, 2016). Tanaman inang dapat menggunakan sorgum (*Sorghum bicolor*) atau jagung (*Zea mays*) (Simanungkalit, 2004). Kedua jenis tanaman tersebut dilaporkan cocok untuk memperbanyak FMA (Widiastuti, 2004). Hasil penelitian Muis *et al.* (2016) menunjukkan bahwa jagung dan sorgum merupakan tanaman inang terbaik yang mendukung kolonisasi FMA hingga 70%.

Identifikasi mikoriza dapat dilakukan dengan secara morfologi atau dapat secara molekuler dengan menganalisis DNA FMA. Dalam identifikasi secara morfologi, spora yang diamati karakteristiknya akan dibandingkan dengan pedoman identifikasi *International Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi* (INVAM) namun, identifikasi FMA tersebut masih terbatas dan memerlukan keahlian untuk menentukan klasifikasi FMA secara akurat, sebagai contoh pengamatan pada lapisan dinding spora yang sangat tipis memerlukan kondisi spora yang baik jika dipasang pada kaca objek, hal ini sulit dilakukan pada spora yang berukuran besar. Selain itu, kondisi spora dari lapang terkadang tidak lengkap akan menyulitkan identifikasi (Rini *et al.*, 2021). Oleh karena itu, metode lain yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi FMA dengan akurat yaitu dengan analisis DNA melalui *Nested Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk memperbanyak fragmen SSU rRNA diikuti dengan sekuensing dan konstruksi pohon filogenetik (Rini *et al.*, 2021).

Isolasi dan Identifikasi beberapa jenis FMA menggunakan metode pengamatan morfologi masih mengalami keterbatasan. Hal ini seperti dilaporkan oleh Kumalawati *et al.* (2015) yang menunjukkan terdapat dua genus FMA yaitu *Glomus* sp. dan *Acaulospora* sp. yang berasal dari rizosfer lada. Selain dua genus tersebut, Suryati (2017) juga melaporkan terdapat genus *Gigaspora* sp. yang telah diisolasi dari rizosfer tanaman lada. Beberapa FMA yang telah dilaporkan tersebut yang diketahui hanya terbatas pada tingkat genus. Rini *et al.* (2017a) melaporkan bahwa dari dua isolat *Glomus* yaitu MV 10 dan MV 27 yang diinokulasikan ke perakaran tanaman kelapa sawit menunjukkan respons yang berbeda terhadap pertumbuhan kelapa sawit. Meskipun kedua isolat berasal dari genus yang sama, *Glomus* Isolat MV 27 diketahui memberikan respons yang lebih baik terhadap pertumbuhan kelapa sawit dibandingkan dengan *Glomus* Isolat MV10. Oleh karena itu, identifikasi FMA hingga tingkat spesies diperlukan untuk mengetahui secara spesifik spesies FMA yang bermanfaat.

Identifikasi FMA menggunakan metode molekuler dengan isolat yang diperoleh dari rizosfer tanaman sawit (*Elaeis guineensis*) dan Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) telah dilakukan oleh Rini *et al.* (2021). Spora FMA diisolasi kemudian dilakukan ekstraksi DNA dilanjutkan dengan diamplifikasi pada *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR pertama menggunakan primer universal NS1 dan NS4, kemudian produk PCR pertama tersebut akan dijadikan cetakan DNA untuk PCR kedua. PCR kedua menggunakan primer AML1 dan AML2, produk PCR kedua tersebut akan dielektroforesis agarose. Tahap selanjutnya dilakukan sekuensing serta konstruksi pohon filogenetik sehingga diketahui spesies FMA yang diamati (Rini *et al.*, 2021). Identifikasi FMA dengan metode molekuler akan membantu mengetahui spesies FMA yang bersimbiosis dengan inangnya dengan lebih akurat, sehingga dapat diketahui jenis FMA yang dapat diinokulasikan kembali ke tanaman yang sama.

1.5 Kerangka Pemikiran

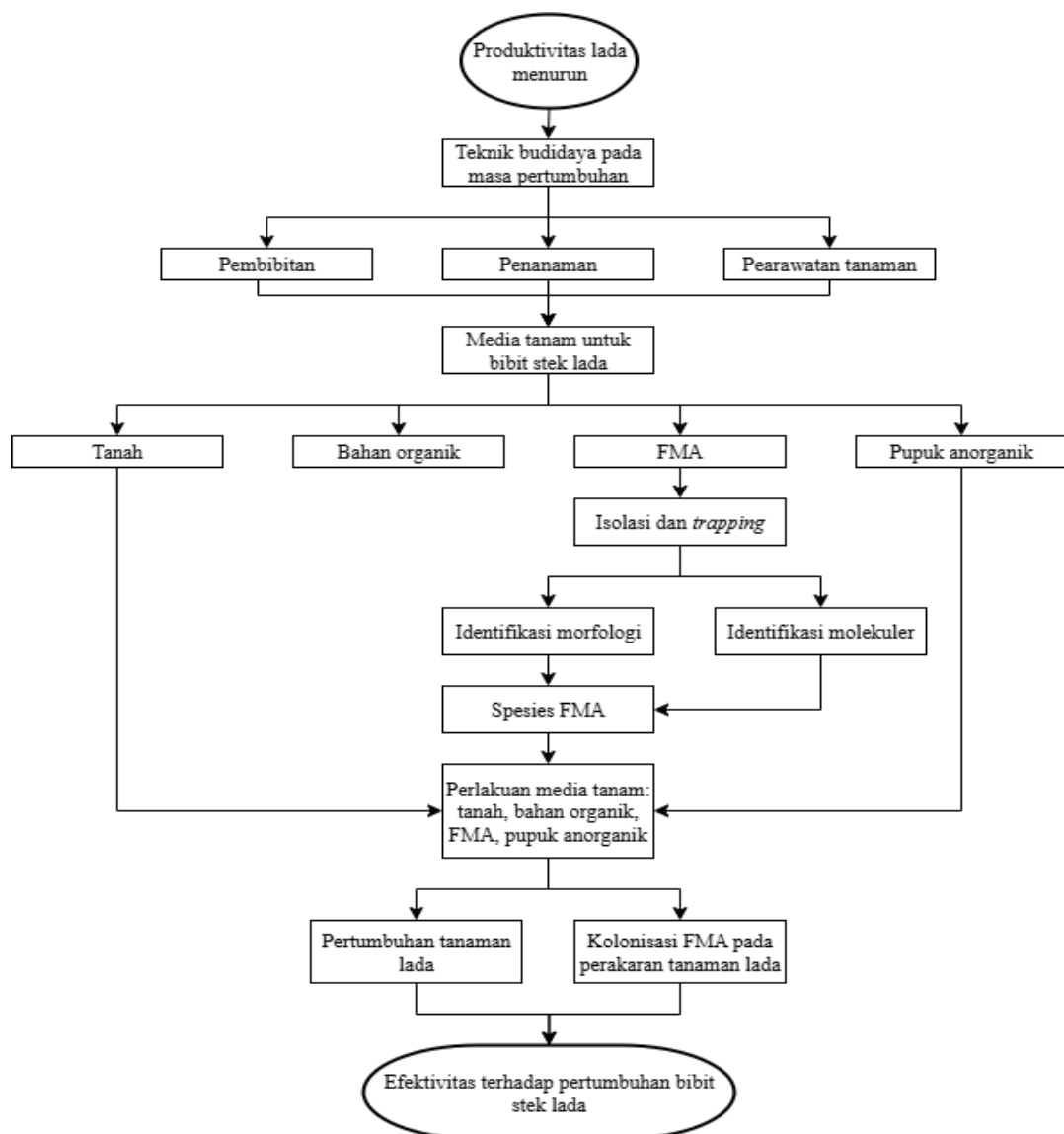
Penurunan produktivitas lada di Lampung dapat diakibatkan oleh berbagai faktor, salah satunya yaitu teknik budidaya. Media tanam merupakan salah satu komponen yang perlu diperhatikan dalam pembibitan lada sebagai bagian dari

teknik budidaya. Banyak komposisi media tanam yang dapat digunakan, seperti penambahan bahan organik, pupuk anorganik, dan aplikasi FMA yang masing-masing diketahui dapat mendukung pertumbuhan bibit stek lada. Oleh karena itu, perlu diketahui pengaruhnya terhadap pertumbuhan bibit stek lada. Untuk mengetahui spesies FMA yang sesuai untuk mendukung pertumbuhan bibit stek lada, maka diperlukan isolasi dan identifikasi FMA yang hidup di rizosfer lada.

Isolasi FMA pada beberapa jenis tanaman seperti sawit dan jarak sudah pernah dilakukan dengan metode penyaringan basah. Oleh karena itu, isolasi FMA yang bersimbiosis dengan akar tanaman lada dapat dilakukan dengan metode yang sama. Untuk memenuhi kebutuhan sampel maka spora FMA diperoleh dari penelitian Azzahra (2024) yang berasal dari perkebunan lada di Lampung Barat. Isolat FMA yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi spesiesnya dengan analisis molekuler basa DNA dari FMA. Dalam kegiatan identifikasi secara molekuler tersebut akan digunakan primer NS1 dan NS4 untuk *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pertama dan AML1 dan AML2 untuk PCR kedua. Penggunaan primer tersebut dapat dilakukan karena umum digunakan untuk menganalisis basa DNA dari beragam FMA. Fungi mikoriza arbuskular yang telah teridentifikasi secara molekuler akan diketahui spesiesnya dengan mencocokkan basa DNA yang dimiliki dengan pohon filogeni sehingga memudahkan untuk mengenali spesies FMA yang akan digunakan untuk percobaan inokulasi pada bibit stek lada. Fungi mikoriza arbuskular indigenos yang telah diidentifikasi spesiesnya selanjutnya digunakan untuk percobaan inokulasi pada akar bibit stek lada untuk melihat pengaruhnya terhadap pertumbuhan lada.

Diketahui bahwa penggunaan bahan organik sebagai campuran dalam media tanam dapat mendukung efektivitas FMA terhadap tanaman inangnya. Sementara itu, pengaplikasian pupuk anorganik dapat menghambat efektivitas FMA. Oleh karena itu, beberapa perlakuan akan diterapkan seperti penggunaan media tanah saja, tanah + pupuk anorganik, tanah + bahan organik, tanah + FMA, tanah + FMA + bahan organik, dan tanah + FMA + pupuk anorganik. Beberapa variabel pertumbuhan dan persentase kolonisasi FMA juga diamati untuk mengetahui keefektifan masing-masing perlakuan terhadap pertumbuhan bibit stek lada.

Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa penggunaan media yang berisi bahan organik + FMA dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman lada. Sebaliknya, penggunaan pupuk anorganik dengan dosis tertentu dapat menghambat perkembangan FMA sehingga mempengaruhi pertumbuhan tanaman lada. Kedua hal ini perlu dibuktikan dan dibandingkan untuk mengetahui efektivitas FMA dalam meningkatkan pertumbuhan bibit stek lada. Untuk lebih mengetahui kerangka berpikir dalam penelitian ini, alur kerangka pemikiran disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Alur kerangka berpikir

1.6 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah dijabarkan, hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Diketahui spesies FMA yang dapat diidentifikasi dari rizosfer tanaman lada yang berasal dari Lampung Barat melalui identifikasi secara molekuler.
2. Fungi mikoriza arbuskular indigenos dan bahan organik akan meningkatkan pertumbuhan bibit stek lada, sedangkan penggunaan pupuk anorganik dapat menekan efektivitas FMA.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Lada

Tanaman lada (*Piper nigrum* L.) merupakan tanaman rempah yang sangat dikenal masyarakat dunia bahkan lada disebut sebagai “raja rempah-rempah” karena pangsa perdagangannya yang sangat besar di pasar global (Srinivasan, 2007). Nama “lada” atau dalam Bahasa Inggris “*pepper*” berasal dari kata Sanskerta “*pippali*”, yang berarti “*berry*” (Kumar *et al.*, 2011). Terdapat dua jenis produk lada yang dikenal yaitu lada putih dan hitam, keduanya berbeda dalam waktu panen dan teknik pengolahannya. Lada putih diperoleh dari proses pengupasan kulit buah lada pada proses pascapanen, sedangkan lada hitam dihasilkan dengan mengeringkan buah lada hingga terbentuk kerutan dan warna menjadi hitam. Oleh karena itu, lada hitam mengandung kulit buahnya. Lada putih dan hitam memiliki penggunaan yang luas, seperti rempah-rempah, pengawet, insektisida, dan juga obat herbal (Wang *et al.*, 2017).

Lada memiliki nilai ekonomi yang tinggi, oleh sebab itu banyak petani membudidayakan tanaman ini. Salah satu tahapan penting dalam budidaya tanaman lada yaitu penyiapan bibit. Bibit tanaman lada dapat diperoleh dan diperbanyak melalui cara generatif (dari benih) atau dengan cara vegetatif (bagian selain benih). Perbanyak tanaman lada menggunakan cara vegetatif banyak dipakai karena dinilai lebih efisien, praktis, dan tanaman lada yang dihasilkan akan memiliki sifat yang sama dengan tanaman induknya. Salah satu cara perbanyak vegetatif tanaman lada yaitu melalui metode stek batang. Perbanyak lada dengan stek batang membutuhkan waktu kurang lebih dua bulan untuk pertumbuhan akar (Tarigan *et al.*, 2017). Bahan tanam berupa stek bibit lada banyak dibutuhkan petani untuk penanaman baru, rehabilitasi, penanaman ulang, dan penyulaman. Sementara itu, bahan tanam stek lada dapat

berasal dari sulur panjat, sulur gantung, sulur tanah, sulur buah, dan bibit lada sambung (Evizal dan Prasmatiw, 2019). Untuk memahami karakteristik lada lebih lanjut berikut adalah morfologi tanaman Lada menurut Suwanto (2013):

1. Akar

Tanaman lada pada awalnya memiliki akar tunggang, namun saat ini jenis akar tersebut tidak ditemukan pada tanaman lada. Perubahan ini disebabkan oleh metode perbanyakan lada yang menggunakan stek, sehingga hanya akar lateral yang ada. Akar ini terbentuk di setiap ruas batang utama dan cabang, masing-masing memiliki peran khusus dalam tanaman lada. Ada dua jenis akar yang dimiliki oleh tanaman lada: pertama, akar lateral yang terletak di bawah tanah dan berfungsi untuk menyerap unsur hara. Kedua, akar lekat yang tumbuh pada buku-buku sulur panjat dan berperan dalam menjaga tanaman agar melekat pada penegaknya.

2. Batang

Lada adalah tanaman tahunan yang merambat, termasuk dalam kategori tumbuhan berkeping dua (*dicotyledonae*) berdasarkan struktur jaringan pembuluhnya. Struktur pembuluh batangnya terdiri dari xilem (pembuluh kayu) dan floem (pembuluh tapis). Batang lada disebut sebagai "sulur," dan pada tanaman lada yang merambat, dapat dibagi menjadi tiga bagian berikut:

- a. Sulur panjat adalah batang utama atau cabang primer yang tumbuh vertikal dan melekat pada penyangga, pohon, atau tajuk. Sulur panjat ini tidak menghasilkan buah, tetapi dari sulur panjat ini tumbuh cabang-cabang sekunder atau sulur panjang.
- b. Sulur panjang atau sulur cabang sekunder adalah cabang yang berasal dari sulur panjat atau cabang primer. Sulur panjang ini memiliki dua jenis:
 - 1) Sulur cacing adalah sulur panjang yang tumbuh di bagian bawah batang utama yang sudah tua. Cabang ini tidak dapat menghasilkan buah secara langsung dan tidak mampu menghasilkan cabang berbuah.
 - 2) Sulur gantung adalah cabang yang tumbuh dari bagian atas batang utama yang masih muda. Sulur ini tidak menghasilkan buah langsung, tetapi seringkali menghasilkan cabang buah. Sulur ini sangat cocok untuk digunakan sebagai bibit. Sulur gantung merupakan jenis sulur

yang digunakan untuk menghasilkan buah lada. Sulur ini memiliki ciri-ciri yang membedakannya dari jenis sulur lainnya, yaitu tidak menjalar, memanjat, atau menempel pada ajir. Sulur panjat adalah jenis sulur yang memanjat pada ajir, dan biasanya bagian yang diambil adalah bagian ujungnya. Sulur ini memiliki ciri khas tumbuh secara vertikal dan memiliki akar yang menempel pada ajir. Sulur cacing adalah jenis sulur yang tumbuh di permukaan tanah dan cenderung menjalar di atas permukaan tanah. Namun, sulur ini dapat memanjat jika dibiasakan menempel pada ajir. Bagian dari sulur cacing yang biasanya digunakan sebagai bibit adalah bagian yang masih hidup

- 3) Sulur pendek atau cabang buah adalah cabang yang tumbuh dari sulur panjang. Cabang ini memiliki ukuran sedang, dengan ruas yang pendek, dan tidak memiliki akar pada nodusnya. Dari cabang ini akan tumbuh rangkaian bunga yang kemudian berkembang menjadi buah. Bibit yang berasal dari cabang buah ini akan menghasilkan lada dalam bentuk perdu atau dikenal sebagai lada perdu (Anggia dan Sutary, 2022).

3. Daun

Daun lada pada prinsipnya memiliki bentuk yang sederhana, tunggal, berbentuk oval yang meruncing di ujungnya, memiliki tangkai panjang sekitar 2-5 cm, dan membentuk alur di permukaannya. Daun lada memiliki ukuran sekitar 8-20 cm panjang dan 4-12 cm lebar, dengan 5-7 urat yang terlihat jelas, berwarna hijau tua, dan meruncing di bagian bawahnya.

4. Bunga

Bunga lada memiliki karakteristik sebagai bunga majemuk dalam bentuk malai atau untai (amentum). Malai ini menggantung ke bawah dengan panjang yang bervariasi, antara 3 hingga 25 cm. Malai tersebut tidak memiliki cabang dan hanya memiliki satu poros tunggal. Di sepanjang porosnya, terdapat lebih dari 150 kuntum bunga kecil. Bunga-bunga ini melekat langsung pada ibu tangkai tanpa adanya tangkai bunga yang terlihat dengan jelas. Susunan bunga-bunga ini bersifat spiral dan memiliki warna hijau muda hingga kekuningan. Panjang malai pada jenis Petaling mencapai sekitar 11 cm,

sedangkan pada jenis Chunuk sekitar 9 cm, dan yang terpendek terdapat pada jenis Merapin dengan panjang sekitar 2-6 cm.

5. Buah

Buah lada, yang juga disebut buah duduk, memiliki ciri-ciri dengan satu biji tunggal, berbentuk bulat atau sedikit memanjang dengan diameter sekitar 4-6 mm, memiliki daging buah, dan kulitnya awalnya berwarna hijau ketika masih muda, tetapi berubah menjadi merah saat matang sepenuhnya. Menurut Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian Lampung (2019) tanaman lada dapat tumbuh di wilayah tropis yang berada dalam kisaran lintang 20° LU hingga 20° LS. Wilayah ini ditandai dengan curah hujan yang mencapai 1.000-3.000 mm per tahun yang terdistribusi sepanjang tahun, memiliki sekitar 110-170 hari hujan per tahun, dan sekitar 110-170 hari musim kemarau. Pertumbuhan optimal tanaman lada terjadi saat kelembaban udara berkisar antara 63-98% selama musim hujan, dengan suhu maksimum sekitar 35°C dan suhu minimum sekitar 20°C. Tanaman lada dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian mulai dari 0 hingga 700 meter di atas permukaan laut dan mampu beradaptasi dengan berbagai jenis tanah, terutama tanah berpasir dan gembur yang memiliki ketersediaan unsur hara yang cukup, drainase yang baik, dan tingkat keasaman tanah (pH) berkisar antara 5,0-6,5.

2.2 Bahan Organik dalam Media Tanam Stek Lada

Bahan organik merupakan bahan yang berasal dari makhluk hidup. Bahan organik yang digunakan dalam campuran media tanam dapat berupa kompos, sisa-sisa tumbuhan, dan kotoran hewan ternak. Penggunaan bahan organik dalam media tanam berperan penting untuk mendukung perkembangan FMA (Nurbaity *et al.*, 2009). Dalam bahan organik terdapat kandungan asam humat dan juga asam fulfat. Asam humat telah dilaporkan berperan dalam mendukung perkembangan FMA (Nikbakht *et al.*, 2014).

Dalam pembibitan stek lada, media tanam yang digunakan dapat bervariasi. Penggunaan bahan organik seperti kompos berperan penting untuk pertumbuhan bibit lada. Ferry *et al.* (2013) melaporkan bahwa 80% kompos enceng gondok + 20% zeolit berpengaruh nyata terhadap jumlah spora mikoriza pada

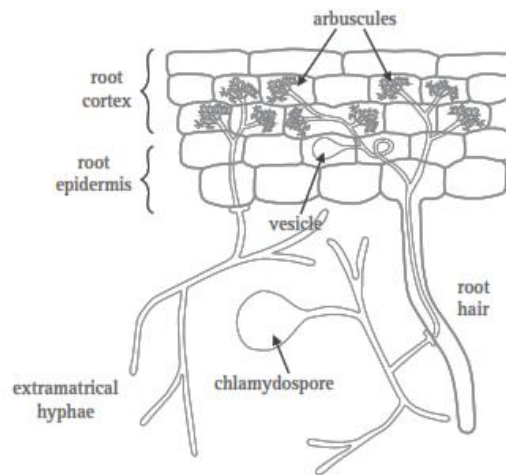
budidaya lada perdu. Martin *et al.* (2015) juga melaporkan bahwa campuran subsoil + pupuk kandang (2: 1), subsoil + pupuk kandang + pasir (2: 1: 1), topsoil saja, topsoil + pupuk kandang (2:1), topsoil + pupuk kandang + pasir (2:1:1) menunjukkan pertumbuhan yang baik pada stek lada, sehingga dapat digunakan dalam pembibitan stek lada. Penggunaan bahan organik dan FMA diharapkan dapat mendukung pertumbuhan bibit stek lada.

Gryndler *et al.* (2009) menyatakan bahwa perkembangan miselium dari FMA dipengaruhi oleh dekomposisi bahan organik baik melalui senyawa yang dilepaskan selama proses dekomposisi maupun melalui metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang terlibat dalam dekomposisi bahan organik. Bahan organik dan FMA adalah dua faktor alam yang memberikan atau mempengaruhi layanan ekosistem vital dalam sistem pertanian. Bahan organik tanah sering digunakan sebagai proksi untuk layanan tanah, karena dapat memediasi aliran layanan ekosistem tanah, dan sangat memengaruhi hampir semua sifat tanah. Contohnya termasuk stabilitas struktural tanah dan kapasitas menahan air (sifat fisik), kapasitas pertukaran kation dan regulasi pH (sifat kimia), serta pasokan nutrisi untuk komunitas mikroba (sifat biologi). Oleh karena itu, kandungan bahan organik tanah sering berkaitan positif dengan produksi tanaman.

2.3 Fungi Mikoriza Arbuskular

Mikoriza berasal dari bahasa Yunani "myces" yang berarti jamur atau fungi dan "rhiza" yang berarti akar, sehingga sering disebut sebagai fungi akar karena hidup dalam simbiosis dengan akar tanaman. Menurut Imas *et al.* (1989) ada tiga kelompok mikoriza yang dibedakan berdasarkan struktur tubuh dan metode infeksi fungi pada tanaman inang, yaitu ektomikoriza, endomikoriza, dan ektendomikoriza. Fungi mikoriza arbuskular termasuk dalam kategori endomikoriza (Rini *et al.*, 2017b). Nama "arbuskular" berasal dari struktur khas, yaitu arbuskula yang terbentuk di dalam sel korteks akar tanaman dan juga beberapa mikotalli yang terkolonisasi oleh FMA. Selain itu, vesikel penyimpanan yang terletak di dalam atau antara sel juga dianggap sebagai penanda simbiosis FMA. Namun, berbagai struktur intraradikal yang terbentuk oleh FMA dapat memiliki variasi yang cukup luas (Dickson, 2004). Struktur utama FMA terdiri

dari hifa intraradikal, hifa ekstraradikal, arbuskula, vesikula, sel auksiliari, dan spora (Moore *et al.*, 2011) (Gambar 2).



Gambar 2. Struktur FMA

1. Hifa intraradikal

Hifa intraradikal disebut juga hifa intramatrikal yang berada di dalam jaringan akar tanaman. Hifa ini terbentuk selama awal fase simbiotik dari sel appressorium dengan pertumbuhan yang terbatas (Kiriacheck *et al.*, 2009). Hifa intraradikal membentuk unit infeksi (kolonisasi), dan panjang hifa ditentukan oleh interaksi FMA dan akar tanaman inang (Ramos *et al.*, 2008a,b,c). Sel-sel hifa terdiri dari miselium koenositik, dinding sel, mitokondria, vakuola, kristal ergosterol, ribosom, inti, retikulum endoplasma, badan lipid, membran plasma, spitzenkörper, dan aparatus golgi (Cruz *et al.*, 2008). Hifa intraradikal berperan mentransfer nutrisi, metabolit, dan air dari luar ke korteks akar tanaman inang, dan menukar zat-zat tersebut dengan sumber daya energi, seperti heksosa (substrat yang sangat penting untuk nutrisi FMA) (Ramos *et al.*, 2008a,b,c). Setelah berada di dalam zona kortikal akar tanaman, hifa intraradikal dapat berdiferensiasi menjadi vesikel (misalnya, *Funneliformis mosseae*), arbuskula (misalnya, *Funneliformis mosseae*) atau spora (misalnya, *Rhizophagus intraradices*) (Berbara *et al.*, 2006; Al-Qarawi *et al.*, 2013).

2. Hifa ekstraradikal

Hifa ekstraradikal atau disebut juga hifa ekstramatrikal, terbentuk selama fase pra-simbiosis yaitu setelah pertukaran kimia dan molekuler antara simbion dari hifa sporofitik; atau setelah pembentukan kolonisasi mikoriza dari sel appressorium (Cruz *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 2009a). Hifa ekstraradikal memiliki pertumbuhan yang luas, mampu berkembang di luar zona rizosfer; namun, pertumbuhannya ditentukan oleh faktor tanah (misalnya, pH, dan ketersediaan P), dan pertumbuhan akar (Ramos *et al.*, 2008a,b,c; Kiriacheck *et al.*, 2009).

Sel hifa ekstraradikal mirip dengan sel hifa intraradikal dalam hal komposisi, dengan hanya satu perbedaan morfologis yaitu dinding sel hifa ekstraradikal lebih lebar dari sel hifa intraradikal (Cruz *et al.*, 2008). Sel hifa ekstraradikal dibagi menjadi tiga bentuk sesuai dengan fungsinya (infeksi, absorpsi, dan reproduksi). (1) Sel hifa ekstraradikal infeksi: setelah spora berkecambah, sel-sel ini dapat tumbuh dari tanah ke permukaan akar. (2) Sel hifa ekstraradikal absorptif: berasal dari sel appressorium, dan mampu meningkatkan serapan nutrisi dan meningkatkan pergerakan nutrisi dari sel hifa ekstraradikal ke tanaman inang melalui hifa intraradikal (Cruz *et al.*, 2008). (3) Sel hifa ekstraradikal reproduktif: Setelah kolonisasi, sel-sel hifa ekstraradikal reproduktif mampu menghasilkan spora baru di permukaan tanah (misalnya, *Glomus macrocarpum*), ke dalam tanah (misalnya, *Funneliformis caledonium*), sendirian (misalnya, *Gigaspora margarita*), dalam kelompok atau membentuk sporokarp (*Slerocystis coremioides*) dan sel bantu (misalnya, *Gigaspora* dan *Scutellospora*) (Berbara *et al.*, 2006; Schüßler dan Walker 2010; Redecker *et al.*, 2013).

3. Arbuskula

Arbuskula berasal dari hifa intraradikal dan terbentuk di dalam sel korteks akar. Arbuskula dapat terbentuk secara sporadis di sepanjang akar, tetapi dalam beberapa kasus, arbuskula dapat tumbuh hampir dari titik masuk infeksi (Schüßler dan Walker, 2010). Arbuskula dapat mengambil salah satu dari dua tipe pola kolonisasi: Arum (FMA *Linear*) - asosiasi mikoriza yang menyebar terutama melalui hifa antarseluler di akar; dan Paris (FMA *Coiling*) - asosiasi mikoriza yang menyebar terutama melalui gulungan hifa intraseluler di dalam akar (Brundrett, 2004). Pada dasarnya, struktur ini adalah haustoria yang berbentuk

bercabang rumit dan menyerupai pohon kecil, dan dianggap sebagai tempat pertukaran paling penting antara fungi dan tumbuhan inang (Sena *et al.*, 2004). Pembentukan arbuskula terjadi 2 hari setelah kolonisasi akar, yaitu selama fase simbiotik dan pertumbuhan hifa (Brundrett *et al.*, 1985), tetapi dalam *bioassay* tanaman inang, arbuskula memerlukan waktu yang lebih lama dibandingkan struktur lainnya (Walker, 1983). Karakteristik arbuskula yang khas adalah masa hidupnya yang terbatas, arbuskula mulai terdegradasi setelah beberapa hari, tetapi hifa dan vesikel dapat tetap berada di akar selama berbulan-bulan atau bahkan bertahun-tahun (Brundrett *et al.*, 1985).

4. Vesikel

Vesikel berasal dari hifa intraradikal di posisi terminal atau interkalasi, di antara sel-sel akar atau di dalamnya. Vesikel memiliki dinding tipis, terutama pada akar tua, dengan bentuk bulat, lonjong, lobus tidak teratur, atau kasar (misalnya, *Glomus*, *Pacispora*, *Acaulospora*, dan *Entrophospora*). Vesikel tidak terbentuk pada beberapa genus dari Ordo *Diversisporales*, seperti *Gigaspora* dan *Scutellospora*. Vesikel berperan dalam penyimpanan nutrisi, karena sel-selnya mengandung kadar lipid dan glikogen yang tinggi; tetapi dalam beberapa kasus, vesikel dapat mengambil fungsi reproduksi, karena vesikel dapat membentuk spora yang bertindak sebagai propagul (Berbara *et al.*, 2006). Proses pembentukan vesikel tergantung pada spesies FMA. Untuk beberapa spesies, pembentukan vesikel terjadi sangat awal setelah fase simbiotik terbentuk, sementara untuk yang lain terjadi pada saat yang sama dengan sporulasi, atau bahkan setelah terbentuknya arbuskula pertama (Dalpé *et al.*, 2005). Biasanya vesikel dapat tetap berada di dalam akar selama berbulan-bulan atau bertahun-tahun (misalnya, *Funneliformis*), dan jumlahnya meningkat secara signifikan setelah proliferasi. Schüßler (2000) melaporkan bahwa pada akar yang lebih tua (70-90 hari dalam kultur) dalam *bioassay* dengan tanaman inang, banyak ditemukan vesikel dan hifa intraradikal, tetapi sedikit arbuskula.

5. Sel-sel auksiliari

Sel-sel auksiliari terbentuk dari hifa ekstraradikal dan pembentukannya hanya terjadi pada beberapa spesies dari Order *Diversisporales* (Redecker *et al.*, 2013). Sel auksiliari memiliki dinding sel tipis dan dapat ditemukan sendiri atau

membentuk gugus di luar akar (Morton dan Benny, 1990). Sel auksiliari sering dihiasi oleh duri (misalnya *Gigaspora albida*) atau tonjolan (misalnya *Scutellospora pellucida*) (Schüßler *et al.*, 2001). Tidak ada penelitian yang melaporkan vesikel sebagai propagul, dengan demikian tidak memiliki fungsi reproduksi, tetapi menurut Morton dan Benny (1990) sel auksiliari memiliki fungsi nutrisi dan penyimpanan.

6. Spora

Spora dapat berasal dari hifa ekstraradikal, hifa intraradikal, atau vesikel (Ramos *et al.*, 2008a,b,c; Kiriacheck *et al.*, 2009). Spora adalah struktur sferis aseksual, dan merupakan unit survival utama yang dimiliki oleh FMA (Gerdemann dan Nicolson, 1963). Pembentukan spora dapat terjadi di permukaan tanah (misalnya, *Glomus*), di dalam tanah (misalnya, *Funneliformis*), akar (misalnya, *Rhizophagus*), sendirian (misalnya, *Gigaspora*), membentuk gugus (misalnya, *Diversispora*) dan sporokarp (misalnya, *Sclerocystis*) (Giovannetti *et al.*, 1999; Schüßler dan Walker, 2010; Redecker *et al.*, 2013). Biasanya spora FMA berkembang membentuk dinding tebal dengan lebih dari satu lapisan dan berfungsi sebagai propagul. Spora juga dapat terbungkus dalam peridium seperti pada spesies *Sclerocystis* (Schüßler *et al.*, 2001; Oehl *et al.*, 2008). Spora dapat bersifat tidak aktif secara metabolik atau aktif, dan status ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti kondisi abiotik atau biotik yang menguntungkan (Siqueira *et al.*, 1985a,b; Spain *et al.*, 2006). Spora FMA tersusun dari lipida, sitoplasma, dan banyak nukleus. Morfologi spora bervariasi antara spesies: spora FMA memiliki dinding tebal, banyak nukleus, mengasumsikan bentuk *globular*, *subglobular* atau tidak teratur, beberapa warna (transparan, putih, pucat, kuning, merah, merah muda, cokelat, atau gelap), dan ukuran (dari 22-1000 µm diameter) (Dalpé *et al.*, 2005; Souza, 2005; Goto dan Maia, 2006; Oehl *et al.*, 2008; Redecker *et al.*, 2013). Proses pembentukan spora FMA biasanya terjadi dalam 3-4 minggu setelah kolonisasi mikoriza dimulai (Berbara *et al.*, 2006). Dalam kondisi *bioassay* dengan tanaman inang, telah terbukti bahwa sporulasi berakhir dengan pertumbuhan akar (misalnya, *Acaulosporaceae* dan *Glomeraceae*). Spora FMA diasumsikan sebagai aktif, saat membentuk satu atau lebih tabung embrio (misalnya, spesies *Gigaspora*) (Smith *et al.*, 1985).

2.4 Manfaat FMA bagi Tanaman

FMA dapat ditemukan di sebagian besar habitat alami dan memberikan berbagai layanan ekologi penting, terutama dengan meningkatkan serapan hara bagi tanaman, menciptakan ketahanan tanaman terhadap cekaman, serta meningkatkan struktur dan kesuburan tanah yang bermanfaat bagi tanaman. FMA membantu tanaman inang untuk tumbuh dengan subur dalam kondisi yang penuh tekanan dengan memediasi serangkaian peristiwa komunikasi kompleks antara tanaman dan fungi yang mengakibatkan peningkatan laju fotosintesis dan sifat pertukaran gas lainnya serta peningkatan penyerapan air (Birhane *et al.*, 2012). Banyak laporan yang menjelaskan peningkatan ketahanan tanaman terhadap berbagai jenis cekaman seperti kekeringan, salinitas, herbivora, suhu, logam, dan penyakit akibat simbiosis dengan FMA (Rodriguez *et al.*, 2008; Ahanger *et al.*, 2014; Salam *et al.*, 2017).

Dampak positif yang dihasilkan oleh simbiosis antara FMA dan tanaman inang dapat terjadi dengan beberapa mekanisme. Pembentukan jaringan hifa oleh FMA dengan akar tanaman secara signifikan meningkatkan akses akar ke permukaan tanah yang luas, pori tanah yang berukuran meso-mikro dapat jangkau oleh hifa FMA sehingga memudahkan transpor hara dan air yang berperan dalam peningkatan pertumbuhan tanaman (Bowles *et al.*, 2016). FMA diketahui membantu meningkatkan serapan hara bagi tanaman dengan meningkatkan ketersediaan serta perpindahan berbagai hara ke dalam jaringan tanaman (Rouphael *et al.*, 2015). FMA juga memperbaiki kualitas tanah dengan memengaruhi struktur dan teksturnya, serta kesehatan tanaman (Zou *et al.*, 2016; Thirkell *et al.*, 2017). Hifa fungi dapat mempercepat proses dekomposisi materi organik tanah (Paterson *et al.*, 2016). Selain itu, FMA juga dapat memengaruhi fiksasi CO₂ atmosfer oleh tanaman inang dengan meningkatkan "efek penyerapan" dan pergerakan foto-asesor ke bagian akar. Sementara itu, mekanisme utama yang terkait dengan FMA dalam perlindungan tanaman terjadi secara tidak langsung seperti melalui peningkatan status nutrisi mineral tanaman (meningkatkan resistensi dan toleransi), perubahan dalam arsitektur akar (misalnya, peningkatan cabang lateral dan lignifikasi dinding sel), persaingan untuk situs infeksi, perubahan dalam rhizodeposisi (mengubah kemotaksis ke akar

oleh patogen), dan aktivasi respons pertahanan tanaman mengeluarkan eksudat akar yang antipatogen (Harrier dan Watson, 2004; de Luz *et al.*, 2016).

2.5 Metode Identifikasi FMA

Metode identifikasi morfologi pada fungi mikoriza arbuskular (FMA) dilakukan dengan mengamati karakter spora seperti bentuk, ukuran, warna, ornamen, serta reaksi terhadap pewarnaan tertentu (misal PVLG dan Melzer's *reagent*) menggunakan mikroskop. Kelebihan utama metode ini adalah kesederhanaan, biaya yang relatif rendah, dan kemampuannya untuk mengidentifikasi FMA hingga tingkat genus secara langsung dari tanah atau akar (Rini *et al.*, 2021; Susila *et al.*, 2022). Namun, metode morfologi memiliki keterbatasan dalam membedakan spesies yang berkerabat dekat, terutama jika spora mengalami degradasi, parasitasi, atau morfologi yang tumpang tindih antar taksa (Maússe-Sitoe dan Dames, 2024; Rini *et al.*, 2021). Selain itu, identifikasi sangat bergantung pada keahlian peneliti dan ketersediaan kunci identifikasi yang memadai, sehingga hasilnya bisa subjektif dan kurang konsisten antar laboratorium (Yurkov *et al.*, 2018; Sharma dan Buyer, 2015). Metode ini juga kurang efektif untuk mendeteksi FMA yang tidak membentuk spora atau yang jumlah sporanya sangat sedikit di lingkungan (Bidondo *et al.*, 2018; Susila *et al.*, 2022).

Metode identifikasi molekuler, terutama berbasis PCR dan sekuensing DNA (misal SSU, ITS, LSU), kini menjadi standar utama dalam studi keanekaragaman dan komunitas FMA. Kelebihan metode molekuler adalah kemampuannya mendeteksi FMA dari akar, tanah, atau spora tanpa harus menunggu pembentukan spora, serta memberikan resolusi taksonomi yang lebih tinggi hingga tingkat spesies (Sariasih *et al.*, 2023; Yurkov *et al.*, 2018; Rini *et al.*, 2021; Krüger *et al.*, 2009). Metode ini juga lebih objektif, dapat diotomatisasi, dan mampu mengidentifikasi taksa kriptik atau yang morfologinya mirip. Namun, kekurangannya meliputi biaya yang lebih tinggi, kebutuhan peralatan laboratorium khusus, serta ketergantungan pada database sekuens yang masih belum sepenuhnya lengkap untuk semua taksa FMA (Yurkov *et al.*, 2018; Kryukov *et al.*, 2020; Delavaux *et al.*, 2022). Selain itu, hasil identifikasi sangat

dipengaruhi oleh pemilihan primer, kualitas DNA, dan potensi kontaminasi dari organisme lain (Krüger *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2008; Delavaux *et al.*, 2022).

Secara umum, metode molekuler saat ini dianggap sebagai yang terbaik dan paling banyak digunakan dalam penelitian FMA karena keakuratannya yang tinggi dan kemampuannya mengatasi keterbatasan identifikasi morfologi (Sariasih *et al.*, 2023; Yurkov *et al.*, 2018; Rini *et al.*, 2021; Krüger *et al.*, 2009; Kryukov *et al.*, 2020). Namun, kombinasi kedua metode tetap direkomendasikan untuk memperoleh hasil identifikasi yang paling komprehensif dan valid, karena data morfologi dapat melengkapi dan memverifikasi hasil molekuler, terutama pada taksa yang belum terwakili di database sekuens (Rini *et al.*, 2021; Bidondo *et al.*, 2018; Kryukov *et al.*, 2020).

2.6 Metode Isolasi DNA Mikoriza

Isolasi DNA merupakan tahap awal dari serangkaian proses analisis molekuler, proses ini penting dilakukan karena proses ini bertujuan untuk mendapatkan DNA target yang dibutuhkan dalam proses selanjutnya khususnya pada proses PCR. Isolasi DNA bertujuan untuk memisahkan DNA dari materi lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat (Ruchi *et al.*, 2018). Ada beberapa metode yang digunakan dalam ekstraksi DNA yang tiap metode memiliki kelebihan maupun kekurangan sehingga pemilihan metode yang tepat dapat menentukan keberhasilan dalam proses analisis molekuler (Rawat *et al.*, 2016). Ada beberapa metode yang digunakan untuk ekstraksi DNA seperti metode boiling yang menggunakan suhu tinggi untuk merusak dinding sel dan inaktivasi enzim khususnya enzim DNase yang dapat merusak DNA. Metode lain yang umum dilakukan adalah dengan menggunakan kit komersial yang diproduksi untuk memudahkan dan mempercepat proses isolasi DNA. Selain kedua metode tersebut, ada metode Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) yang banyak digunakan dalam proses isolasi DNA tanaman (Donata, 2007), CTAB adalah detergen yang berfungsi untuk melisiskan dinding sel, denaturasi protein maupun memisahkan DNA dengan karbohidrat (Suprpto, 2003). Prinsip yang digunakan dalam metode ini menurut Habibah (2017) yaitu:

- a) Lisis sel yang merupakan tahapan untuk menghancurkan dinding sel yang menyebabkan seluruh isi sel akan keluar.
- b) Ekstraksi yaitu tahapan pemisahan DNA dari materi genetik maupun materi lain yang tidak dibutuhkan dalam proses analisis molekuler.
- c) Presipitasi yaitu tahapan pengendapan DNA
- d) Purifikasi yang merupakan tahapan pembersihan DNA dari kontaminan lain.

2.7 Penggunaan DNA *Marker* dalam Identifikasi FMA

Deoxyribonucleic acid marker adalah penanda genetik berupa perbedaan urutan DNA antar individu atau spesies yang digunakan untuk mengidentifikasi, membedakan, atau melacak sifat genetik tertentu. DNA marker tidak memengaruhi sifat yang diamati, melainkan berfungsi sebagai “bendera” yang menandai keberadaan gen atau sifat tertentu. *PCR-based DNA sequencing* merupakan metode utama dalam identifikasi dan analisis komunitas fungi, termasuk FMA. Tiga target utama pada DNA ribosom yang sering digunakan adalah *small subunit* (SSU/18S rRNA), *internal transcribed spacer* (ITS), dan *large subunit* (LSU/28S rRNA). SSU dikenal sangat konservatif sehingga cocok untuk identifikasi pada tingkat taksonomi tinggi dan survei komunitas secara luas. Kelebihan SSU adalah kemampuannya mendeteksi berbagai kelompok fungi dengan primer universal dan hasil yang stabil, namun kekurangannya terletak pada resolusi spesies yang rendah sehingga sulit membedakan spesies yang berkerabat dekat (Krüger *et al.*, 2009; Kohout *et al.*, 2014; Demirel, 2016). SSU juga cenderung kurang sensitif dalam mendeteksi taksa langka atau kriptik.

Internal transcribed spacer ITS merupakan region yang sangat variabel dan telah ditetapkan sebagai barcode utama untuk identifikasi fungi pada tingkat spesies. ITS memiliki keunggulan dalam membedakan spesies yang sangat mirip, sehingga sangat berguna untuk studi keanekaragaman dan identifikasi spesies baru. Namun, pada beberapa kelompok fungi seperti FMA, ITS dapat menimbulkan masalah seperti kesulitan dalam penyusunan sekuens (*alignment*), amplifikasi yang tidak konsisten, serta keterbatasan database referensi yang komprehensif (Kolaříková *et al.*, 2021; Vu *et al.*, 2018; Borman dan Johnson, 2021). Hal ini dapat menyebabkan identifikasi yang kurang akurat atau hilangnya

deteksi beberapa taksa dalam sampel lingkungan yang kompleks. Meski demikian, ITS tetap menjadi pilihan utama untuk identifikasi fungi secara umum karena resolusi spesiesnya yang tinggi (Borman dan Johnson, 2013; Taylor *et al.*, 2016).

Large subunit (LSU) menawarkan keseimbangan antara konservasi dan variabilitas, sehingga mampu memberikan resolusi yang baik pada tingkat genus hingga spesies. LSU semakin banyak digunakan karena pengembangan primer yang lebih spesifik dan database referensi yang terus berkembang, serta kemampuannya untuk analisis filogenetik yang lebih mendalam (Vu *et al.*, 2018; Mota-Gutierrez *et al.*, 2019; Asemaninejad *et al.*, 2016; Reynolds *et al.*, 2021). Kelebihan LSU adalah cakupan taksonomi yang luas dan hasil yang lebih stabil dibanding ITS pada beberapa kelompok fungi, namun kekurangannya adalah masih adanya keterbatasan dalam cakupan primer untuk semua filum fungi dan resolusi spesies yang sedikit di bawah ITS (Vu *et al.*, 2018; Demirel, 2016). LSU juga sangat berguna untuk penempatan filogenetik taksa yang belum teridentifikasi dengan baik menggunakan ITS (Tedersoo *et al.*, 2020; Reynolds *et al.*, 2021).

Secara umum, ITS adalah marker yang paling banyak digunakan dan dianggap terbaik untuk identifikasi fungi secara luas karena resolusi spesiesnya yang tinggi. Namun, untuk kelompok tertentu seperti FMA, kombinasi SSU, ITS, dan LSU terutama dengan teknologi *long-read sequencing* memberikan hasil identifikasi yang paling komprehensif dan akurat (Krüger *et al.*, 2009; Kolaříková *et al.*, 2021; Schlaeppi *et al.*, 2016; Asemaninejad *et al.*, 2016; Kohout *et al.*, 2014). Pendekatan integratif ini mampu meminimalkan bias dan meningkatkan ketepatan identifikasi, meskipun membutuhkan biaya dan analisis bioinformatika yang lebih kompleks.

2.8 Penggunaan Primer dalam Identifikasi FMA

Primer adalah sekuens pendek DNA atau RNA yang berfungsi sebagai titik awal bagi enzim DNA polimerase untuk memulai sintesis rantai DNA baru. Primer sangat penting dalam berbagai teknik biologi molekuler, terutama pada reaksi

rantai polimerase (PCR), karena tanpa primer, DNA polimerase tidak dapat memperbanyak DNA target. Primer PCR yang sering digunakan dalam identifikasi fungi mikoriza arbuskular (FMA) antara lain NS31/AM1, NS31/AML2, AML1/AML2, AMV4.5NF/AMDGR, serta kombinasi primer lain yang menargetkan gen SSU (18S rRNA), ITS, dan LSU (28S rRNA). Primer NS31/AM1 dan NS31/AML2 banyak digunakan karena memiliki cakupan yang luas terhadap kelompok *Glomeromycota* dan ukuran produk PCR yang sesuai untuk analisis sekuensing generasi lanjut. Primer AMV4.5NF/AMDGR juga menunjukkan performa baik dalam mendeteksi keragaman FMA, meskipun cenderung lebih selektif terhadap famili *Glomeraceae* dan dapat mengabaikan kelompok lain seperti *Ambisporaceae* dan *Claroideoglomeraceae* (Van Geel *et al.*, 2014). Sementara itu, primer SSUmCf/LSUmBr memiliki spesifisitas tinggi terhadap FMA, tetapi cenderung menghasilkan keragaman yang lebih rendah dan dapat melewatkan taksa langka (Jiang *et al.*, 2015; Xiang *et al.*, 2016). Pemilihan primer sangat mempengaruhi hasil profil komunitas FMA, sehingga kombinasi beberapa primer sering direkomendasikan untuk mendapatkan gambaran komunitas yang lebih komprehensif (Kohout *et al.*, 2014; Van Geel *et al.*, 2014; Xiang *et al.*, 2016).

Primer AML1 dan AML2 yang dikembangkan oleh Lee *et al.* (2008) merupakan salah satu primer spesifik FMA yang paling banyak digunakan saat ini. Primer ini menargetkan gen SSU rRNA dan dirancang untuk mengamplifikasi hampir semua kelompok FMA, kecuali *Archaeospora trappei*, serta memiliki spesifisitas tinggi sehingga meminimalkan amplifikasi DNA non-FMA (Lee *et al.*, 2008).

Keunggulan utama AML1/AML2 adalah cakupan taksonomi yang luas, spesifisitas tinggi, dan kemampuannya mendeteksi FMA langsung dari akar tanaman lapangan tanpa kontaminasi dari jamur lain atau tanaman inang (Lee *et al.*, 2008; Van Geel *et al.*, 2014). Namun, beberapa studi melaporkan bahwa primer ini masih memiliki keterbatasan dalam mendeteksi beberapa taksa langka dan dapat menghasilkan bias komunitas tergantung pada kondisi lingkungan dan metode PCR yang digunakan (Krüger *et al.*, 2009; Van Geel *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2015). Dibandingkan dengan primer lain, AML1/AML2 tetap menjadi pilihan utama karena keseimbangan antara cakupan, spesifisitas, dan kemudahan aplikasi,

meskipun penggunaan kombinasi primer seperti NS31/AML2 atau AMV4.5NF/AMDGR dapat meningkatkan deteksi keragaman FMA secara keseluruhan (Van Geel *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2015; Xiang *et al.*, 2016).

Secara keseluruhan, tidak ada satu primer yang benar-benar unggul untuk semua aplikasi, namun AML1/AML2 dan NS31/AML2 adalah yang paling banyak digunakan dan direkomendasikan untuk studi komunitas FMA karena performa dan spesifisitasnya yang tinggi. Kelebihan utama primer-primer ini adalah kemampuannya mendeteksi berbagai taksa FMA secara efisien dan kompatibel dengan teknologi sekuensing modern. Kekurangannya adalah potensi bias terhadap kelompok tertentu dan kemungkinan melewatkan taksa langka, sehingga hasil analisis komunitas sangat dipengaruhi oleh pemilihan primer (Van Geel *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2015; Xiang *et al.*, 2016). Oleh karena itu, penggunaan beberapa kombinasi primer dan validasi hasil dengan database referensi yang memadai sangat disarankan untuk mendapatkan gambaran komunitas FMA yang akurat dan representatif (Kohout *et al.*, 2014; Van Geel *et al.*, 2014; Xiang *et al.*, 2016).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Percobaan I: Identifikasi FMA dari Rizosfer Tanaman Lada

3.1.1 Tempat dan Waktu Percobaan I

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Produksi Perkebunan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada bulan November sampai Desember 2023.

3.1.2 Alat dan bahan Percobaan I

Alat yang digunakan diantaranya: pinset spora, cawan petri, kaca arloji, kaca preparat, cover glass, kamera, mikroskop stereo, mikroskop majemuk, dan saringan spora, *ultrasonic cleaner*, *microtube*, pipet mikro, tips, *sentrifuge*, mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*)/*Thermal Cycler*, *freezer*, *microwave*, dan alat elektroforesis. Sementara itu, bahan yang digunakan diantaranya spora FMA berasal dari penelitian Azzahra (2024) yang diambil dari kebun lada di Lampung Barat, larutan melzer, larutan *polyvinyl alcohol-lactic acid glycerol* (PVLG), akuades, sarung tangan, 0,05% Tween 20, akuades, Instagene Matrix (BIO-RAD), 2x MyTaq HS RedMix, *Forward Primer* NS 1 (GTAGTCATATGCTTGTCTC), *Reverse Primer* NS 4 (CTTCCGTCAATTCCTTTAAG) dan *Forward Primer* AML 1 (ATCAACTTTTCGATGGTAGGATAGA), *Reverse Primer* AML 2 (GAACCCAAACACTTTGGTTTCC), *marker DNA ladder* 1000 bp (Gencaid), agarose gel, Ethidium Bromide (EtBr), Tris-borat EDTA (TBE), dan DNA *loading dye*.

3.1.3 Identifikasi FMA Secara Molekuler

Spora FMA yang digunakan dalam Percobaan I ini berasal dari penelitian (Azzahra, 2024). Spora berasal dari tanah di rizosfer lada Varietas Jambi yang berasal dari kebun lada monokultur di Pekon Gunung Terang, Kecamatan Air Hitam, Kabupaten Lampung Barat. Sampel tanah kemudian di-*trapping* menggunakan media tanah-pasir-zeolit dengan tanaman inang jagung, sorgum, dan *Pueraria javanica* (tanaman legum). Spora dari hasil *trapping* telah diamati secara morfologi namun belum bisa dikategorikan dalam spesies tertentu. Oleh karena itu, 5 jenis FMA dominan digunakan untuk percobaan identifikasi secara molekuler untuk mengetahui spesiesnya untuk percobaan berikutnya. Pelaksanaan identifikasi FMA secara molekuler dalam penelitian ini terdiri dari beberapa tahap berikut.

a) Isolasi spora dan pembersihan FMA

Spesimen spora FMA diisolasi dengan metode tuang saring basah (Pacioni, 1992). Kemudian, sebanyak 10 unit spora dari masing-masing 5 jenis FMA yang terpilih dibersihkan dari segala kontaminan untuk menghindari kontaminasi DNA. Spora yang akan dibersihkan diletakkan di dalam cawan petri steril berukuran 6 cm yang sudah diisi dengan larutan 0,05% Tween 20 sebanyak 30 ml. Setelah itu, spora dimasukkan ke dalam *ultrasonic cleaner* selama 10 detik. Spora kemudian dipindahkan ke dalam larutan 0,05% Tween 20 yang baru sebanyak 30 ml dan diulang kembali proses *ultrasonic cleaner* selama 10 detik sebanyak tiga kali. Kemudian, spora dipindahkan ke dalam cawan yang berisi 30 ml akuades dan dimasukkan ke dalam *ultrasonic cleaner* selama 10 detik dan proses ini diulang sebanyak tiga kali (Brundrett *et al.*, 1996; Schwarzott dan Schüßler, 2001). Setelah proses selesai, dari 10 unit spora dipilih 1 spora terbaik dan tidak cacat dari masing-masing 5 jenis FMA untuk memastikan kemurnian sumber DNA yang akan diekstraksi.

b) Ekstraksi DNA

Proses pemisahan DNA spora FMA merupakan langkah penting dan pertama dalam analisis molekuler yang diperlukan untuk memperoleh DNA target yang akan digunakan pada proses amplifikasi dengan PCR. Untuk memudahkan proses

pemisahan DNA, digunakan kit Instagene Matrix (BIORAD) yang tersedia secara komersial. Langkah awal adalah mengeluarkan 1 spora dari masing-masing 5 jenis FMA dari *ultrasonic cleaner* dan menaruhnya di dalam *microtube* 0,2 ml steril. Kemudian, 20 µl Instagene Matrix (BIORAD) ditambahkan ke dalam masing-masing *microtube* yang berisi spora. Spora dihancurkan dengan menggunakan pipet tip steril yang telah dibakar ujungnya untuk mencegah kontaminasi. Sampel kemudian diproses dalam *Thermal Cycler*, dipanaskan pada suhu 56 °C selama 30 menit diikuti dengan 10 menit pada suhu 95 °C. Setelah itu, sampel diputar dengan kecepatan tinggi menggunakan *centrifuge* selama 5 detik. Supernatan sebanyak 15 µL diambil dan ditransfer ke tabung mikro steril baru untuk digunakan sebagai template dalam analisis DNA (Schwarzott dan Schübler, 2001; Redecker, 2020).

c) *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Untuk melakukan proses PCR pada spora FMA, digunakan dua pasang primer berbeda yaitu pasangan primer pertama *Forward Primer* NS 1 (GTAGTCATATGC TTGTCTC), dan *Reverse Primer* NS 4 (CTTCCGTCAATTCCTTTAAG) serta pasangan primer kedua adalah *Forward Primer* AML 1 (ATCAACTTTTCG ATGGTAGGATAGA), dan *Reverse Primer* AML 2 (GAACCCAAACACTTTGGTTTCC). Sebelum proses PCR dimulai, PCR master mix disiapkan terlebih dahulu untuk proses PCR dengan komposisi: air steril sebanyak 9 µl, 2x My Taq HS RedMix sebanyak 12,5 µl 10 M, *Forward Primer* (NS 1) sebanyak 1,25 µl, 10 HM *Reverse Primer* (NS 4) sebanyak 1,25 µl, dan DNA cetakan 1 µl dan dimasukkan ke dalam *microtube* 0,2 ml steril dengan total volume reaksi sebanyak 25 ml dan di spin down. Setelah selesai di-*spin down*, *microtube* dimasukkan ke dalam *Thermal Cycler* dan diatur tahap denaturasi awal selama 4 menit pada suhu 95°C. Kemudian proses amplifikasi DNA FMA menggunakan PCR dilakukan sebanyak 30 siklus dengan tahapan denaturasi awal selama 1 menit pada suhu 95°C, *annealing* atau penempelan primer selama 1 menit pada suhu 56°C, dan proses ekstensi atau pemanjangan untai DNA selama 1 menit pada suhu 72°C dan dilanjutkan proses pemanjangan akhir (*final extension*) pada suhu 72°C selama 5 menit. Produk PCR yang dihasilkan pada tahapan PCR ini selanjutnya digunakan untuk Nested PCR yaitu

dengan mengulangi tahapan yang sama dalam *Thermal Cycler* untuk memperbanyak DNA.

Proses PCR selanjutnya yaitu dengan menggunakan pasangan primer AML 1. AML 2 dan PCR *master mix* yang terdiri dari air steril sebanyak 9 μ l, 2x MyTaq HS RedMix sebanyak 12,5 μ l, 10 μ M *Forward Primer* (AML 1) sebanyak 1.25 μ l, 10 μ M *Reverse Primer* (AML 2) sebanyak 1,25 μ L dan DNA cetakan 1 μ L. DNA cetakan yang digunakan adalah produk PCR dari primer NS 1 dan NS 4 yang selanjutnya dimasukkan ke dalam *microtube* 0,2 ml baru yang steril dan dispin down. *Microtube* dimasukkan ke dalam *Thermal Cycler* dengan kondisi PCR diatur pada suhu 95°C selama 4 menit yang merupakan tahap denaturasi awal. Kemudian proses amplifikasi DNA FMA menggunakan PCR dilakukan sebanyak 30 siklus dengan tahapan denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit, *annealing* atau penempelan primer pada suhu 58°C selama 1 menit, dan proses ekstensi atau pemanjangan untai DNA pada suhu 72°C selama 1 menit dan dilanjutkan proses pemanjangan akhir (*final extension*) pada suhu 72°C selama 5 menit. Setelah selesai, *microtube* dikeluarkan dari *Thermal Cycler* dan dilakukan pengecekan hasil amplifikasi DNA dengan menggunakan elektroforesis.

d) Elektroforesis

Dalam tahapan elektroforesis, agarose gel disiapkan dengan komposisi 0,1 gram agarose +20 ml TBE lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian dipanaskan menggunakan microwave. Selanjutnya ditambahkan EtBr 1 μ L dan dikocok untuk menghomogenkan larutan. Larutan dituang ke dalam cetakan elektroforesis yang telah dipasang sisir dan ditunggu hingga gel agarose membeku. Setelah membeku perlahan sisir dicabut dari gel agarose. Gel agarose lalu dimasukkan ke dalam bak elektroforesis dan dimasukkan 3 μ l DNA *ladder* pada sumur pertama, kemudian 3 μ L produk PCR dicampurkan dengan 1 μ L *Loading Dye* menggunakan *micropipette*, dan dimasukkan ke sumur berikutnya. Setelah semua sampel dimasukkan ke masing-masing sumur, kabel dipasang untuk mengalirkan listrik dan alat elektroforesis dihidupkan yang diatur dengan tegangan 55 V selama 60 menit. Setelah selesai, alat elektroforesis dimatikan. Selanjutnya, gel agarose diambil dan dimasukkan ke dalam Gel Doc untuk pengamatan apakah ada pita yang terbentuk. Apabila terdapat pita DNA pada gel agarose, maka hal ini

menandakan proses amplifikasi DNA yang dilakukan telah berhasil. Selanjutnya, produk PCR tersebut dikirim ke perusahaan sekuensing untuk mengetahui sekuen basa dari produk PCR yang dihasilkan. Hasil sekuensing disejajarkan dengan sekuen basa FMA yang sudah terdata di *Gene Bank* sehingga diketahui spesies dari isolat FMA yang diidentifikasi.

e) Sekuensing dan Analisis Blast

Produk PCR yang telah dielektroforesis dikirim ke laboratorium penyedia jasa sekuensing dengan menggunakan metode 1" BASE. Perunutan sekuens dilakukan menggunakan software CodonCode Aligner, dan penyejajaran (*alignment*) sekuen dilakukan dengan menggunakan *software* MEGA X dengan program Clustal W, yang dilakukan secara manual. Selanjutnya data dianalisis menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*) pada database NCBI dengan memasukkan data sekuen setiap jenis ke dalam kolom yang terdapat pada laman web BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Tahap selanjutnya adalah mengidentifikasi dan memverifikasi persen kekerabatan suatu spesies. Konstruksi pohon filogeni dan jarak genetik dilakukan menggunakan program MEGA X. Pembuatan pohon filogeni dilakukan dengan metode Neighbor Joining (NJ).

3.2 Percobaan II: Uji Efektivitas FMA Indigenos dengan Beberapa Kondisi Media Tanam dalam Meningkatkan Pertumbuhan Bibit Stek Lada

3.2.1 Waktu dan Tempat Percobaan II

Penelitian ini dilaksanakan di Pekon Sukananti, Kecamatan Way Tenong, Kabupaten Lampung Barat (5°03'11.0"S 104°22'05.9"E) pada bulan September 2024 sampai dengan Januari 2025.

3.2.2 Alat dan Bahan Percobaan II

Alat-alat yang digunakan pada percobaan ini adalah timbangan, pot, *waterbath*, mikroskop majemuk, gunting, botol film, kaca preparat, dan *cover glass*. sementara itu, bahan-bahan yang digunakan pada percobaan ini adalah inokulum dari isolat FMA terpilih (10 g/tanaman hanya untuk perlakuan tertentu), bibit stek

lada Klon Natar 1, pasir, zeolit, polibeg, IBA, bahan organik (pupuk kompos), pupuk NPK (15:15:15), dan label.

3.2.3 Rancangan Percobaan II

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Kelompok dengan 6 perlakuan berupa kombinasi media tanam yaitu M0 (tanah saja), M1 (tanah + bahan organik), M2 (tanah + pupuk anorganik), M3 (tanah + FMA), M4 (tanah + bahan organik + FMA), M5 (tanah + pupuk anorganik + FMA) dengan 5 ulangan. Tata letak percobaan dapat dilihat pada Gambar 3.1 Setelah data penelitian diperoleh, maka dilakukan analisis data menggunakan aplikasi Rstudio (versi: 2024.12.1+563) yang meliputi uji normalitas menggunakan metode Shapiro Wilk, uji homogenitas menggunakan metode Levene yang dimodifikasi oleh O'Neill-Matthews, dan uji non-aditifitas menggunakan metode Tukey. Jika residu data normal dan ragam data homogen serta data bersifat menambah maka dilakukan analisis ragam. Jika dalam analisis ragam terdapat perbedaan yang nyata antarperlakuan maka perbedaan nilai tengah diuji dengan Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%.

Blok 1	Blok 2	Blok 3	Blok 4	Blok 5
M1	M3	M1	M0	M5
M4	M0	M2	M3	M2
M2	M1	M3	M5	M0
M0	M2	M5	M1	M3
M3	M4	M0	M4	M4
M5	M5	M4	M2	M1

U
↑

Keterangan :
M0 : Tanah
M1 : Tanah + Bahan Organik
M2 : Tanah + Pupuk Anorganik
M3 : Tanah + FMA
M4 : Tanah + Bahan Organik + FMA
M5 : Tanah + Pupuk Anorganik + FMA

Gambar 3. Tata letak percobaan II

3.2.4 Analisis Tanah

Sampel tanah diambil dari rizosfer tanaman lada pada kedalaman 20 cm secara acak pada 5 titik penggalian. Kemudian, masing-masing sampel tanah dengan volume yang sama dicampurkan menjadi sampel tanah komposit. Selanjutnya, dilakukan analisis sampel tanah komposit di Laboratorium Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung meliputi: pH, N-total, K-dd, P-tersedia, C-organik, dan tekstur tanah. Hasil analisis sampel tanah dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis tanah

Variabel	Nilai
pH	4,13
N-Total (%)	0,308
K-dd (me/100g)	0,66
P-tersedia (ppm P ₂ O ₅)	77,17
C-Organik (%)	2,83
Tekstur (lempung berliat)	
Liat (%)	31,60
Debu (%)	32,00
Pasir (%)	36,40

3.2.5 Pelaksanaan Percobaan II

Pelaksanaan percobaan II terdiri dari beberapa tahapan berikut:

1. Penyemaian bibit lada

Bahan tanam berupa stek lada sebanyak 30 stek dengan ukuran yang seragam (memiliki dua buku) diberi perlakuan perendaman dengan 1000 ppm IBA selama 30 menit untuk merangsang pengakaran. Selanjutnya, stek lada ditanam dalam wadah semai berisi media pasir yang telah disterilisasi. Kemudian, persemaian diberi sungkup selama 1 bulan dengan memperhatikan kecukupan airnya.

2. Penyiapan media tanam

Media tanam berupa tanah diambil dari lapisan *top soil* yang berasal dari kebun lada Pekon Gunung Terang, Kecamatan Air Hitam, Kabupaten Lampung Barat. Kombinasi media tanam pada perlakuan yang menggunakan tanah dan bahan organik adalah (2:1) yang dimasukkan ke dalam polibag ukuran 1 kg. Sementara

itu, jumlah spora FMA yang diinokulasikan di setiap perlakuan menggunakan inokulum FMA adalah 300 spora konsorsium/tanaman. Spora konsorsium diperoleh dari hasil *trapping* dari penelitian sebelumnya (Azzahra, 2024). Selanjutnya diambil media yang berisi spora sebagai inokulum hingga bobotnya mengandung 300 spora (10 g/perlakuan).

3. *Transplanting* bibit lada

Bibit lada yang telah ditanam dalam media pasir sebelumnya (umur 1 bulan setelah semai) diseleksi dan dikelompokkan berdasarkan ukuran atau tinggi bibit. Kemudian bibit dipindah tanam ke polibag ukuran 1 kg yang berisi media tanam baru sesuai perlakuan. Selanjutnya, bibit dicuci hingga bersih di air yang mengalir dan diulang sebanyak 3 kali, lalu dibilas dengan menggunakan air. Kemudian, inokulum yang mengandung 300 spora konsorsium FMA/tanaman akan diinokulasikan pada akar tanaman lada sesuai dengan perlakuan. Langkah berikutnya, bibit lada yang telah dipindah tanam ke polibeg dan diberi perlakuan sesuai percobaan disusun di tempat pembibitan yang telah disiapkan sebelumnya.

4. Perawatan tanaman

Perawatan tanaman meliputi penyiraman, pengendalian OPT, dan pemupukan. Tanaman disiram dengan air untuk mencukupi kebutuhan air bagi tanaman sesuai kondisi media tanam, apabila media tanam kering dapat disiram air dengan volume yang sama. Untuk pengendalian OPT seperti gulma dan hama dapat dilakukan dengan cara mekanis ataupun manual. Sementara itu, pemupukan hanya dilakukan pada perlakuan media yang menggunakan pupuk anorganik saja (perlakuan M2 dan M5). Pupuk yang digunakan yaitu NPK (15:15:15) dengan dosis 1,5 g/tanaman diberikan dua kali yaitu pada 2 MST (minggu setelah *transplanting*) dan 4 MST.

5. Variabel pengamatan

Variabel yang diamati pada Percobaan II ini adalah variabel pertumbuhan stek bibit lada dan kolonisasi FMA. Seluruh data diukur pada 4 bulan setelah *transplanting* (BST) meliputi panjang tunas, diameter tunas, jumlah daun, luas daun, bobot daun, *specific leaf weight*, bobot tajuk, bobot akar, bobot total,

volume akar, dan persentase kolonisasi FMA. Berikut uraian masing-masing variabel yang diamati:

- 1) Panjang tunas stek bibit lada (cm)
Panjang tunas stek bibit lada diukur dari pangkal tunas hingga pucuk titik tumbuh menggunakan meteran.
- 2) Diameter tunas stek bibit lada (mm)
Diameter tunas diukur pada 1 cm dari pangkal tunas menggunakan jangka sorong.
- 3) Jumlah daun (helai)
Jumlah daun yang dihitung yaitu daun yang telah membentuk struktur daun yang sempurna.
- 4) Luas daun (cm²)
Luas daun yang diukur yaitu dari seluruh daun yang telah membuka sempurna. Pengukuran luas daun dilakukan dengan menggunakan alat *leaf area meter*.
- 5) Kehijauan Daun (SPAD)
Tingkat kehijauan daun diukur pada daun ke-3 bibit stek tanaman lada yang sudah berumur 4 BST menggunakan alat pengukur klorofil SPAD-502.
- 6) Bobot daun (g)
Bobot daun merupakan bobot seluruh daun pada satu tanaman dan tidak termasuk batang. Bobot daun terdiri dari bobot basah dan bobot kering. Untuk menimbang bobot basah, daun dipisahkan dari batangnya kemudian ditimbang. Sementara itu, untuk bobot kering daun ditimbang setelah daun dikeringanginkan dan dioven dengan suhu 60°C hingga bobotnya konstan.
- 7) *Specific Leaf Weight* (SLW) (g/cm²)
Specific leaf weight dihitung setelah data tentang bobot kering dan luas daun diperoleh. Nilai SLW diperoleh dengan cara membagi bobot kering daun dengan luas daun.
- 8) Bobot tajuk (g)
Bobot tajuk merupakan bobot keseluruhan dari sistem tajuk termasuk daun dan batang. Bobot tajuk terdiri dari bobot basah dan bobot kering. Untuk menimbang bobot basah, bagian tajuk dari stek lada dipisahkan dari media

kemudian dibersihkan, selanjutnya ditimbang. Sementara itu, untuk bobot kering ditimbang setelah brangkasan dikeringanginkan dan dioven dengan suhu 60°C hingga bobotnya konstan.

9) Bobot akar (g)

Bobot akar terdiri dari bobot basah dan bobot kering akar. Untuk menimbang bobot basah, akar dari stek lada dipisahkan dari media kemudian dibersihkan, lalu akar dipisahkan dari batang stek lada dengan cara dipotong, kemudian ditimbang. Sementara itu, untuk bobot kering akar ditimbang setelah akar dikeringanginkan dan dioven dengan suhu 60°C hingga bobotnya konstan.

10) Volume akar (cm³)

Volume akar diukur dengan cara memotong pangkal batang dekat sistem perakaran, selanjutnya dibersihkan dengan hati-hati dari media menggunakan air. Kemudian, akar secara utuh dimasukkan ke dalam gelas ukur 250 mL yang berisi air sebanyak 500 ml. Volume akar diketahui dengan cara mengurangi volume air yang bertambah setelah akar dimasukkan ke dalam gelas ukur dengan volume air di gelas ukur awal.

11) Bobot total (g)

Bobot total terdiri dari bobot basah dan bobot kering. Bobot basah total merupakan penjumlahan dari seluruh komponen bobot basah (daun dan akar). Sementara itu, bobot kering total merupakan penjumlahan seluruh komponen bobot kering (daun dan akar).

12) Kolonisasi FMA (%)

Data yang diamati dari tanaman lada yang sudah diinokulasikan FMA adalah struktur yang terbentuk dari infeksi FMA pada akar tanaman lada. Akar yang terinfeksi ditandai dengan adanya struktur pembentuk mikoriza (hifa, *auxiliary cells*, vesikel, dan arbuskular) pada jaringan akar. Tahapan ini diawali dengan akar sekunder dan tersier diambil secara acak sebanyak 2 gram pada setiap perlakuan. Selanjutnya, akar dicuci bersih dan setelah bersih dimasukkan ke dalam botol film lalu diberi larutan KOH 10% sampai seluruh bagian akar terendam. Botol film yang berisi akar dikukus dalam *waterbath* dengan suhu 70°C selama 25 menit. Selanjutnya, larutan KOH di dalam botol film dibuang. Akar dimasukkan ke dalam botol film kembali lalu direndam

dalam larutan cuka (CH_3COOH) 5% (20 mL cuka + 80 mL akuades). Botol film yang berisi akar dikukus lagi dalam *waterbath* pada suhu 70°C selama 1 menit. Larutan CH_3COOH dalam botol film dibuang dan ditambahkan larutan tinta biru 5% (5 mL tinta + 95 mL akuades). Selanjutnya, dikukus kembali dalam *waterbath* pada suhu 70°C selama 15 menit. Setelah akar terwarnai, akar dibilas dengan akuades dan direndam dalam CH_3COOH 1% di dalam botol film. Untuk pengamatan, akar dipotong sepanjang 2 cm, kemudian diletakkan di atas kaca preparat dan diamati di bawah mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 kali. Akar yang terinfeksi ditandai dengan adanya minimal satu dari struktur internal FMA, yaitu hifa, *Auxiliary Cells*, arbuskular, vesikular, dan spora. Setelah semua sampel akar diamati dilanjutkan dengan menghitung persentase koloni menggunakan rumus:

$$\%Kolonisasi = \frac{\sum \text{akar terinfeksi}}{\sum \text{akar yang diamati}} \times 100\%$$

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan pembahasan yang telah dilakukan maka kesimpulan yang dapat diambil sebagai berikut:

1. Fungi mikoriza arbuskular indigenos yang diisolasi dari rizosfer tanaman lada di perkebunan lada Lampung Barat yang berhasil teridentifikasi secara molekuler ada 4 spesies yaitu: *Archaeospora leptoticha* (*Ambispora leptoticha*) (SP1), *Acaulospora spinosa* (SP2), *Glomeromycotina sp.* (SP3 dan SP5), dan *Entrophospora colombiana* (SP4).
2. Penggunaan FMA indigenos ditambah perlakuan media tanah dan bahan organik efektif meningkatkan beberapa variabel pertumbuhan bibit stek lada seperti jumlah daun, luas daun, bobot daun, bobot tajuk, bobot akar, bobot total, dan persentase kolonisasi FMA jika dibandingkan dengan kontrol. Sementara itu, perlakuan media tanah + pupuk anorganik + FMA menunjukkan pertumbuhan yang terhambat dan tingkat kolonisasi FMA yang rendah.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat dipertimbangkan apabila dilakukan penelitian serupa di masa depan diantaranya:

1. Melakukan penelitian efektivitas masing-masing FMA yang telah teridentifikasi, sehingga diketahui pengaruh masing-masing FMA terhadap pertumbuhan tanaman lada.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut tentang peran FMA terhadap pertumbuhan dan produktivitas tanaman lada di lapang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, R. A., dan Flayeh, H. M. 2024. Aerobic composting of organic waste, alternative and an efficient solid waste management solution. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*. 21(1):101–111.
- Akib, M. A., Mustari, K., Kuswinanti, T., Syaiful, S. A., Dangnga, M. S., dan Nuddin, A. 2019. Growth analysis of jack bean inoculated with *Acaulospora* sp. in nickel-contaminated soil. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*. 6(3):15–21.
- Akib, M. A., Nuddin, A., Prayudyaningsih, R., Kuswinanti, T., Syaiful, S. A., dan Antonius, S. 2022. Keragaman fungi mikoriza arbuskula pada pola tanam *Piper nigrum* yang berbeda di areal sekitar lahan tambang nikel. *Jurnal Biologi Indonesia*. 18(2):183–192.
- Al-Qarawi, A. A., Mridha, M. A. U., dan Dhar, P. P. 2013. Report of *Funneliformis mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. and Trappe from rangeland soil of Saudi Arabia. *Research Journal of Biotechnology*. 8(1):96–99.
- Amir, H., Gensous, S., Cavaloc, Y., dan Wantiez, L. 2021. Phosphorus fertilization of an ultramafic soil reduced effects of arbuscular mycorrhizal fungi but not mycorrhizal colonization. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 21:3544–3554.
- Anggia dan Sutary, W. O. I. 2022. Pengaruh jenis sulur dan jumlah ruas terhadap pertumbuhan bibit tanaman lada (*Piper nigrum* L.). *Media Agribisnis*. 6(2):195–205.
- Asemaninejad, A., Weerasuriya, N., Gloor, G., Lindo, Z., dan Thorn, R. 2016. New primers for discovering fungal diversity using nuclear large ribosomal DNA. *PLoS ONE*. 11:e0159043.
- Azzahra, S., Rini, M. V., Evizal, R., dan Karyanto, A. 2024. Study on the population and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Piper nigrum* in West Lampung Indonesia. *Journal of Tropical Mycorrhiza*. 3(2):79–86.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2024. Ekspor Lada Tahun 2024. <https://bps.go.id/>. Diakses pada tanggal 1 Januari 2026.

- Begum, N., Ahanger, M. A., Raza, S., Nazir, A., Orton, J. J., dan Ganai, M. A. 2019a. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in soil: an eco-friendly option for enhancing plant productivity and mitigating stress. Dalam: Naeem, M., Ansari, A. A., dan Gill, S. S. (Eds). *Plant Growth and Regulation*. Springer, Cham. Hal: 236.
- Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., Ahmed, N., dan Zhang, L. 2019b. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*. 10:1068.
- Benaffari, W., Boutasknit, A., Anli, M., Ait-El-Mokhtar, M., Ait-Rahou, Y., Ben-Laouane, R., Ahmed, B., Mitsui, T., Baslam, M., dan Meddich, A. 2022. The native arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost-based organic amendments enhance soil fertility, growth performance, and the drought stress tolerance of quinoa. *Plants*. 11(3):393.
- Berbara, R. L. L., Souza, F. A., dan Fonseca, H. M. A. C. 2006. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. Dalam: Fernandes, M. S. (Ed). *Nutrição Mineral de Plantas*. SBCS, Viçosa. Hal: 54–79.
- Beslemes, D., Tigka, E., Roussis, I., Kakabouki, I., Mavroeidis, A., dan Vlachostergios, D. 2023. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on nitrogen and phosphorus uptake efficiency and crop productivity of two-rowed barley under different crop production systems. *Plants*. 12(9):1908.
- Besserer, A., Puech-Pagès, V., Kiefer, P., Gomez-Roldan, V., Jauneau, A., Roy, S., Portais, J. C., Roux, C., Bécard, G., dan Sejalón-Delmas, N. 2006. Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biology*. 4:e226.
- Bhantana, P., Rana, M. S., Sun, X. C., Moussa, M. G., Saleem, M. H., Syaifudin, M., Shah, A., Poudel, A., Pun, A. B., Bhat, M. A., Mandal, D. K., Shah, S. R., Dong, Z., Tan, Q., dan Hu, C. 2021. Arbuscular mycorrhizal fungi and its major role in plant growth, zinc nutrition, phosphorous regulation and phytoremediation. *Symbiosis*. 84:19–37.
- Bidondo, L., Colombo, R., Recchi, M., Silvani, V., Périgola, M., Martínez, A., dan Godeas, A. 2018. Detection of arbuscular mycorrhizal fungi associated with pecan (*Carya illinoensis*) trees by molecular and morphological approaches. *MycoKeys*. 42:73–88.
- Bills, R. J., dan Morton, J. B. 2015. A combination of morphology and 28S rRNA gene sequences provide grouping and ranking criteria to merge eight into three *Ambispora* species (*Ambisporaceae*, *Glomeromycota*). *Mycorrhiza*. 25:485–498.

- Birhane, E., Sterck, F., Fetene, M., Bongers F., dan Kuyper, T. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance photosynthesis, water use efficiency, and growth of frankincense seedlings under pulsed water availability conditions. *Oecologia*. 169:895–904.
- Błaszowski, J., Jobim, K., Niezgoda, P., Meller, E., Malinowski, R., Milczarski, P., Zubek, S., Magurno, F., Casieri, L., Bierza, W., Purwin, C., dan Symanczik, S. 2021. New Glomeromycotan taxa, *Dominikia glomerocarpica* sp. nov. and *Epigeocarpum crypticum* gen. nov. et sp. nov. from Brazil, and *Silvaspora* gen. nov. from New Caledonia. *Frontiers in Microbiology*. 12:655910.
- Borman, A. M., dan Johnson, E. M. 2013. Sequence-based identification and classification of fungi. Dalam: Campbell, C. K., Johnson, E. M., dan Warnock, D. W. (Eds). *Identification of Pathogenic Fungi (Second Edition)*. CABI, Wallingford. Hal: 198–216.
- Bowles, T. M., Barrios-Masias F. H., Carlisle E. A., Cavagnaro T. R., dan Jackson L. E. 2016. Effects of arbuscular mycorrhizae on tomato yield, nutrient uptake, water relations, and soil carbon dynamics under deficit irrigation in field conditions. *Science of The Total Environment*. 566:1223–1234.
- Brady, N. C., dan Weil, R. R. 2008. *The Nature and Properties of Soils (14th ed.)*. Pearson Education, New Jersey.
- Brundrett, M. C. 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*. 154:275–304.
- Brundrett, M. C. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biological Reviews*. 79:473–495.
- Brundrett, M. C. 2008. Mycorrhizal Association: The Web Resource. <https://mycorrhizas.info/vam.html>. Diakses pada tanggal 4 April 2023.
- Brundrett, M. C. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*. 320:37–77.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Groe, T., dan Malajczuk, N. 1996. *Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture*. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- Brundrett, M. C., Piché, Y., dan Peterson, R. L. 1985. A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Canadian Journal of Botany*. 63:184–194.

- Buee, M., Rossignol, M., Jauneau, A., Ranjeva, R., dan Bécard, G. 2000. The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 13:693–698.
- Coombs, J., Hind, G., Leegood, R. C., Tieszen, L. L., dan Vonshak, A. 1987. Analytical techniques. Dalam: Coombs, J., Hall, D. O., Long, S. P., dan Scurlock, J. M. O. (Eds). *Techniques in Bioproducity and Photosynthesis 2nd ed*. Pergamon Press, Oxford.
- Corradi, N., Antunes, P. M., dan Magurno, F. 2025. A call for reform: implementing genome-based approaches for species classification in Glomeromycotina. *The New Phytologist*. 247:50–54.
- Cozzolino, V., Di Meo, V., Monda, H., Spaccini, R., dan Piccolo, A. 2016. The molecular characteristics of compost affect plant growth, arbuscular mycorrhizal fungi, and soil microbial community composition. *Biology and Fertility of Soils*. 52:15–29.
- Cruz, C., Correia, P., Ramos, A. C., Carvalho, L., Bago, A., dan Martins-Loução, M. A. 2008. Arbuscular mycorrhiza in physiological and morphological adaptations of Mediterranean plants. Dalam: Varma, A., dan Hock, B. (Eds). *Mycorrhiza: Biology, Genetics, Novel Endophytes and Biotechnology*. Springer, Berlin. Hal: 729–749.
- da Luz, S. F. M., de Mello, A. H., de A. Reis, L., de Lemos, O. F., Maia, J. G. S., Ramos, A. R., dan da Silva, J. K. R. 2016. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the essential oil composition and antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.). *International Journal of Applied Research in Natural Products*. 9(3):10–17.
- Dalpé, Y., Souza, F. A., dan Declerck, S. 2005. The life cycle of *Glomus* species in monoxenic culture. Dalam: Declerck, S., Strullu, D. G., dan Fortin, J. A. (Eds). *In Vitro Culture of Mycorrhizas*. Springer, Heidelberg. Hal: 49–71.¹²
- Delavaux, C., Ramos, R., Sturmer, S., dan Bever, J. 2022. Environmental identification of arbuscular mycorrhizal fungi using the LSU rDNA³ gene region⁴: an expanded database and improved pipeline. *Mycorrhiza*. 32:145–153.
- Delavaux, C. S., Smith-Ramesh, L. M., dan Kuebbing, S. E. 2017. Beyond nutrients: a meta-analysis of the diverse effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plants and soils. *Ecology*. 98(8):2111–2119.
- Demirel, R. 2016. Comparison of rDNA regions (ITS, LSU, and SSU) of some *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces* spp. *Turkish Journal of Botany*. 40:576–583.

- Dickson, S. 2004. The Arum-Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*. 161:187–200.
- Dighton, J. 2009. *Encyclopedia of Microbiology Third Edition-Mycorrhizae*. Academic Press, San Diego. Hal: 153–162.
- Direktorat Jendral Perkebunan (DJP). 2025. Outlook perkebunan komoditas lada tahun 2025. <https://www.pertanian.go.id/>. Diakses tanggal 1 Januari 2026.
- Donata, S. 2007. *Ciri-Ciri DNA Murni dan Penyebab Keberhasilan serta Kegagalan dalam PCR dan Elektroforesis*. Erlangga, Jakarta.
- Endre, G., Kereszt, A., Kevei, Z., Mihacea, S., Kalo, P., dan Kiss, G. B. 2002. A receptor kinase gene regulating symbiotic nodule development. *Nature*. 417:962–966.
- Evizal, R., dan Prasmatiwi, F. E. 2019. Agroteknologi perkebunan lada Lampung. Dalam: Sudarsono dan Erwanto (Eds). *Revitalisasi Lada Lampung sebagai Komoditas Warisan*. Aura CV. Anugrah Utama Raharja, Bandar Lampung.
- Fall, A. F., Nakabonge, G., Sekandi, J., Founoune-Mboup, H., Badji, A., Ndiaye, A., Ndiaye, M., Kyakuwa, P., Anyoni, O. G., Kabaseke, C., Ronoh, A. K., dan Ekwangu, J. 2023. Combined effects of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and NPK fertilizer on growth and yields of maize and soil nutrient availability. *Sustainability*. 15(3):2243.
- Ferry, Y., Towaha, J., dan Sasmita, R. R. K. D. 2013. Pemanfaatan kompos tanaman air sebagai pembawa inokulan mikoriza pada budidaya lada perdu di lahan bekas tambang timah. *Jurnal Littri*. 19(1):15–22.
- Gerdemann, J. W., dan Nicolson, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*. 46:235–244.
- Giovannetti, M., Azzolini, D., dan Citerinesi, A. S. 1999. Anastomosis formation and nuclear and protoplasmatic exchange in arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*. 65:5571–5575.
- Goto, B. T., dan Maia, L. C. 2006. Glomerospores: a new denomination for the spores of *Glomeromycota*, a group molecularly distinct from the *Zygomycota*. *Mycotaxon*. 96:129–132.
- Gryndler, M., Hršelová, H., Cajthaml, T., Havráňková, M., Řezáčová, V., Gryndlerová, H., dan Larsen, J. 2009. Influence of soil organic matter decomposition on arbuscular mycorrhizal fungi in terms of asymbiotic hyphal growth and root colonization. *Mycorrhiza*. 19(4):255–266.
- Gusta, A. R., dan Same, M. 2019. Upaya meningkatkan produksi tanaman lada perdu dengan aplikasi GA3 dan NPK mahkota. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 19(2):113–118.

- Habibah, A. L. 2017. Isolasi DNA *Chlorella* sp. dengan metode CTAB dan identifikasi sikuen 18S rRNA. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Hall, B. G. 2011. *Phylogenetic Trees Made Easy: A How-to Manual*. Sinauer Associates, Sunderland.
- Harrier, L. A., dan Watson, C. A. 2004. The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Management Science*. 60:149–157.
- Havlin, J. L., Tisdale, S. L., Nelson, W. L., dan Beaton, J. D. 2014. *Soil Fertility and Fertilizers: An Introduction to Nutrient Management (8th ed.)*. Pearson Education, New Jersey.
- Hillis, D. M., dan Bull, J. J. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biology*. 42(2):182–192.
- Ho, T. T., Tra, V. T., Le, T. H., Nguyen, N. K. Q., Tran, C. S., Nguyen, P. T., Vo, T. D. H., Thai, V. N., dan Bui, X. T. 2022. Compost to improve sustainable soil cultivation and crop productivity. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*. 6:100211.
- Ijdo, M., Cranenbrouck, S., dan Declerck, S. 2011. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future. *Mycorrhiza*. 21(1):1–16.
- Imas, T., Hadioetomo, R. S., Gunawan, A. W., dan Setiadi, Y. 1989. *Mikrobiologi Tanah Jilid II*. Pusat Antar Universitas dan LSI IPB, Bogor.
- Iswoyo, H., Ala, A., Sulhidayat, M., Dungga, N. E., Sjahril, R., dan Yassi, A. 2021. Growth response of pepper (*Piper nigrum* L.) seedlings to application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and NPK fertilizer. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 807(4):042057.
- Jiang, S., Shi, G., Mao, L., Pan, J., An, L., Liu, Y., dan Feng, H. 2015. Comparison of different PCR primers on detecting arbuscular mycorrhizal communities inside plant roots. *Acta Microbiologica Sinica*. 55(7):916–925.
- Johnson, N. C., Graham, J. H., dan Smith, F. A. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the phosphorus gradient. *Plant and Soil*. 196(2):263–273.
- Kaur, S., Campbell, B. J., dan Suseela, V. 2022. Root metabolome of plant-arbuscular mycorrhizal symbiosis mirrors the mutualistic or parasitic mycorrhizal phenotype. *The New Phytologist*. 234(6):2114–2129.

- Khaliq, A., Perveen, S., Alamer, K. H., Haq, M. A., Rafique, Z., Alsudays, I. M., Althobaiti, A. T., Saleh, M. A., Hussain, S., dan Attia, H. 2022. Arbuscular mycorrhizal fungi symbiosis to enhance plant–soil interaction. *Sustainability*. 14(13):7840.
- Kiers, E. T., dan West, S. A. 2015. Evolutionary biology: evolving new organisms via symbiosis. *Science*. 348(6233):392–394.
- Kiriacheck, S. G., Azevedo L. B. C., Peres, L. E. P., dan Lambais, M. R. 2009. Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 33:1–16.
- Kohout, P., Sudová, R., Janoušková, M., Čtvrtlíková, M., Hejda, M., Pánková, H., Slavíková, R., Štajerová, K., Vosátka, M., dan Sýkorová, Z. 2014. Comparison of commonly used primer sets for evaluating arbuscular mycorrhizal fungal communities: Is there a universal solution?. *Soil Biology & Biochemistry*. 68:482–493.
- Koide, R. T., dan Kabir, Z. 2000. Nutrient transfer from arbuscular mycorrhizal fungi to plants: mechanisms and limitations. *Mycorrhiza*. 10(1):1–13.
- Koide, R. T., dan Schreiner, R. P. 1992. Regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 43(1):557–581.
- Kolaříková, Z., Slavíková, R., Krüger, C., Krüger, M., dan Kohout, P. 2021. PacBio sequencing of *Glomeromycota* rDNA: a novel amplicon covering all widely used ribosomal barcoding regions and its applicability in taxonomy and ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *The New Phytologist*. 231(2):710–723.
- Krüger, M., Krüger, C., Walker, C., Stockinger, H., dan Schüßler, A. 2012. Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level. *The New Phytologist*. 193:970–984.
- Krüger, M., Stockinger, H., Krüger, C., dan Schüßler, A. 2009. DNA-based species level detection of *Glomeromycota*: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. *The New Phytologist*. 183(1):212–223.
- Kryukov, A., Gorbunova, A., Machs, E., Mikhaylova, Y., Rodionov, A., Zhurbenko, P., dan Yurkov, A. 2020. Perspectives of using Illumina MiSeq for identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 24:158–167.
- Kumalawati, Z., Kafrawi, dan Elfasila, I. 2015. Kelimpahan spora dua jenis cendawan mikoriza arbuskula pada rizosfer bibit lada (*Piper nigrum* L.) setelah aplikasi pupuk majemuk. *Jurnal Agrolantae*. 4(1):35–40.

- Kumar, S., Kamboj, J. S., dan Sharma, S. 2011. Overview for various aspects of the health benefits of *Piper longum* Linn. fruit. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*. 4:134–140.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., dan Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 35(6):1547–1549.
- Lambais, M. R. 2006. Unraveling the signaling and signal transduction mechanisms controlling arbuscular mycorrhiza development. *Scientia Agricola*. 63:405–413.
- Lanfranco, L., Novero, M., dan Bonfante, P. 2005. The mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* possesses a CuZn superoxide dismutase that is up-regulated during symbiosis with legume hosts. *Plant Physiology*. 137:1319–1330.
- Lee, J., Lee, J., Lee, S., dan Young, J. 2008. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Ecology*. 65(2):339–349.
- Leimona, M. V., dan Tawarati, D. 2018. Keanekaragaman fungi mikoriza arbuskula (FMA) pada berbagai penggunaan lahan di Kecamatan Pangkalan Kerinci. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 7(3):355–364.
- Lekberg, Y., Vasar, M., Bullington, L., Sepp, S., Antunes, P., Bunn, R., Larkin, B., dan Öpik, M. 2018. More bang for the buck? Can arbuscular mycorrhizal fungal communities be characterized adequately alongside other fungi using general fungal primers?. *The New Phytologist*. 220(4):971–976.
- Liu, X., Song, S., Guo, S., Wang, S., Zhang, S., dan Li, R. 2020. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus nutrition: a review. *Frontiers in Plant Science*. 11:551989.
- Madden, T. 2013. The BLAST sequence analysis tool. Dalam: *The NCBI Handbook (2nd ed.)*. National Center for Biotechnology Information (US), Bethesda, MD.
- Madsen, E. B., Madsen, L. H., Radutoiu, S., Olbryt, M., Rakwalska, M., Szczyglowski, K., Sato, S., Kaneko, T., Tabata, S., Sandal, N., dan Stougaard, J. 2003. A receptor kinase gene of the LysM type is involved in legume perception of rhizobial signals. *Nature*. 425:637–640.
- Marschner, H. 2012. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (3rd ed.)*. Academic Press, London.
- Martin, A. B., Same, M., dan Indrawati, W. 2015. Pengaruh media pembibitan pada pertumbuhan setek lada (*Piper nigrum* L.). *Jurnal Agro Industri Perkebunan*. 3(2):94–107.

- Maússe-Sitoe, S., dan Dames, J. 2024. Characterization of arbuscular mycorrhizal fungal species associating with *Zea mays*. *Frontiers in Plant Science*. 15:1345229.
- Melo, C. D., Walker, C., Krüger, C., Borges, P. A. V., Luna, S., Mendonça, D., Fonseca, H. M. A. C., dan Machado, A. C. 2019. Environmental factors driving arbuscular mycorrhizal fungal communities associated with endemic woody plant *Picconia azorica* on native forest of Azores. *Annals of Microbiology*. 69(13):1309–1327.
- Miransari, M. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi and uptake of nutrients. Dalam: Lichtfouse, E. (Ed). *Soil Microbiology and Sustainable Crop Production*. Springer, Dordrecht. Hal: 253–270.
- Mmonwuba, N. C., Agunwamba, J. C., Chisom, U. P., Francis, N. O., dan Victor, U. C. 2024. Composting of cow dung and food waste under aerobic conditions for the improvement of soil. *Asian Journal of Advanced Research and Reports*. 18(1):35–45.
- Morton, J. B., dan Benny, G. L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, *Glomales*, two new suborders, *Glomineae* and *Gigasporineae*, and two new families, *Acaulosporaceae* and *Gigasporaceae*, with an emendation of *Glomaceae*. *Mycotaxon*. 37:471–491.
- Morton, J. B., dan Redecker, D. 2001. Fungi, *Glomeromycota* (Arbuscular Mycorrhizae). Dalam: *Fungal Biology (4th ed.)*. Blackwell Science, Oxford.
- Morton, J. B., dan Redecker, D. 2001. Two new families of *Glomales*, *Archaeosporaceae* and *Paraglomaceae*, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia*. 93:181–195.
- Mosse, B. 1959. The regular germination of resting spores and some observations on the growth requirements of an *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Transactions of the British Mycological Society*. 42:274–286.
- Mota-Gutierrez, J., Ferrocino, I., Rantsiou, K., dan Cocolin, L. 2019. Metataxonomic comparison between internal transcribed spacer and 26S ribosomal large subunit (LSU) rDNA gene. *International Journal of Food Microbiology*. 290:132–140.
- Muis, R., Ghulamahdi, M., Melati, M., Purwono, dan Mansur, I. 2016. Diversity of arbuscular mycorrhiza fungi from trapping using different host plants. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR)*. 27(2):158–169.

- Mullen, R. B., dan Schmidt, S. K. 1993. Mycorrhizal infection, phosphorus uptake, and phenology in *Ranunculus adoneus*: implications for the functioning of mycorrhizae in alpine systems. *Oecologia*. 94(2):229–234.
- Munawaroh, S., Nurmauli, N., Sugiatno, S., dan Evizal, R. 2020. Pertumbuhan bibit lada (*Piper nigrum* L.) pada media pembibitan dan waktu aplikasi pupuk NPK. *Jurnal Galung Tropika*. 9(2):129–139.
- Munawaroh, U., Susilowati, S., Yulianto, M., Rosyida, D., Setyaningsih, A., dan Ayuningtyas, A. 2025. Robustness of soil phosphorus availability, nutrient dynamics, and shallot vegetative growth through arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation. *RSF Conference Series: Engineering and Technology*. 4(1):997.
- Nichols, K. A., dan Halvorson, J. J. 2013. Roles of biology, chemistry, and physics in soil macroaggregate formation and stabilization. *The Open Agriculture Journal*. 7:107–117.
- Nikbakht, A., Pessarakli, M., Maibodi, N. D. H., dan Kafi, M. 2014. Perennial ryegrass growth responses to mycorrhizal infection and humic acid treatments. *Agronomy Journal*. 106(2):285–595.
- Nurbaity, A., Herdiyanto, D., dan Mulyani, O. 2009. Pemanfaatan bahan organik pembawa inokulan fungi mikoriza arbuskula. *Jurnal Biologi XIII*. 1:7–11.
- Nurhayati. 2012. Pengaruh berbagai jenis tanaman inang dan beberapa jenis sumber inokulum terhadap infektivitas dan efektivitas mikoriza. *Jurnal Agrista*. 16(2):80–86.
- Nurmasyitah, dan Khairuna. 2017. Aplikasi pupuk NPK dan fungi mikoriza arbuskular (FMA) terhadap P-tersedia tanah, serapan P dan pertumbuhan bibit lada lokal Aceh pada media tanah inceptisols. *Jurnal Floratek*. 12(2):62–74.
- Nysanth, N. S., Divya, S., Nair, C. B., Anju, A. B., Praveena, R., dan Anith, K. N. 2022. Biological control of foot rot (*Phytophthora capsici* Leonian) disease in black pepper (*Piper nigrum* L.) with rhizospheric microorganisms. *Rhizosphere*. 23:100578.
- Oehl, F., de Souza, F. A., dan Sieverding, E. 2008. Revision of *Scutellospora* and description of five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza-forming Glomeromycetes. *Mycotaxon*. 106:311–360.
- Öpik, M., Zobel, M., Cantero, J. J., Davison, J., Facelli, J. M., Hiiesalu, I., dan Moora, M. 2013. Global patterns in the richness of arbuscular mycorrhizal fungi—the role of host plants, climate and soil. *Global Ecology and Biogeography*. 22(12):1345–1357.

- Pacioni, G. 1992. Wet sieving and decanting techniques for the extraction of spores of VA mycorrhizal fungi. Dalam: *Methods in Microbiology*. Academic Press Inc, San Diego. 24:317–322.
- Pan, S., Wang, Y., Qiu, Y., Chen, D., Zhang, L., Ye, C., Guo, H., Zhu, W., Chen, A., Xu, G., Zhang, Y., Bai, Y., dan Hu, S. 2020. Nitrogen-induced acidification, not N-nutrient, dominates suppressive N effects on arbuscular mycorrhizal fungi. *Global Change Biology*. 26(11):6568–6580.
- Pan, X., Li, H., Wu, J., Li, Q., Zhou, Y., dan Yang, P. 2025. Mycorrhiza inoculation and soil-available phosphorus modulate phosphorus acquisition strategies of alfalfa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 73(23):14265–14279.
- Peng, Z., Xing, Y., Wu, Y., Li, S., Jia, Y., Yang, H., dan Zhang, F. 2025. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance soybean phosphorus uptake and soil fertility under saline-alkaline stress. *Scientific Reports*. 15:15910.
- Perez-Lamarque, B., Öpik, M., Maliet, O., Afonso Silva, A. C., Selosse, M. A., dan Martos, F. 2022. Reevaluating the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi: the importance of markers and primers. *Molecular Ecology*. 31(14):3832–3849.
- Poorter, H., Niklas, K. J., Reich, P. B., Oleksyn, J., Poot, C., dan Mommer, L. 2012. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental effects. *New Phytologist*. 193(1):30–51.
- Prasad, R., Bhola, D., Akdi, K., Cruz, C., Sairam, K. V. S. S., Tuteja, N., dan Varma, A. 2017. Mycorrhiza-function, diversity, state of the art. Dalam: Varma, A., dan Prasad, R. (Eds). *Introduction to Mycorrhiza: Historical Development*. Springer International Publishing, India. Hal: 1–7.
- Pratiwi, M. A., Hifnalisa, H., dan Fikrinda, F. 2022. Pengaruh media perbanyakan berbasis bahan organik terhadap produksi inokulan fungi mikroriza arbuskula. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*. 7(2):696–704.
- Qin, M., Zhang, Q., Pan, J., Jiang, S., Liu, Y., Bahadur, A., Peng, Z., Yang, Y., dan Feng, H. 2020. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on soil enzyme activity is coupled with increased plant biomass. *European Journal of Soil Science*. 71:84–92.
- Radutoiu, S., Madsen, L. H., Madsen, E. B., Felle, H. H., Umehara, Y., Grønlund, M., Sato, S., Nakamura, Y., Tabata, S., Sandal, N., dan Stougaard, J. 2003. Plant recognition of symbiotic bacteria requires two LysM receptor-like kinases. *Nature*. 425:585–592.
- Raja, A. H., Miller, N. A., Pearce, J. C., dan Oberlies, H. N. 2017. Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. *Journal of Natural Products*. 80:756–770.

- Ramos, A. C., Façanha, A. R., dan Feijó, J. A. 2008a. Ion dynamics during the polarized growth of arbuscular mycorrhizal fungi: from presymbiosis to symbiosis. Dalam: Varma, A., dan Hock, B. (Eds). *Mycorrhiza: Biology, Genetics, Novel Endophytes and Biotechnology*. Springer, Berlin. Hal: 241–261.
- Ramos, A. C., Façanha, A. R., dan Feijó, J. A. 2008b. Proton (H⁺) flux signature for the presymbiotic development of the arbuscular mycorrhizal fungi. *The New Phytologist*. 178:177–188.
- Ramos, A. C., Lima, P. T., dan Feijó, J. A. 2008c. pH signature for the responses of arbuscular mycorrhizal fungi to external stimuli. *Plant Signaling & Behavior*. 3:1–3.
- Ramos, A. C., Lima, P. T., Dias, P. N., Kasuya, M. C. M., dan Feijó, J. A. 2009a. A pH signaling mechanism involved in the spatial distribution of calcium and anion fluxes in ectomycorrhizal roots. *The New Phytologist*. 181:448–462.
- Ramos, A. C., Martins, M. A., Okorokova-Façanha, A. L., Olivares, F. L., Okorokov, L. A., Sepúlveda, N., Feijó, J. A., dan Façanha, A. R. 2009b. Arbuscular mycorrhizal fungi induce differential activation of the plasma membrane and vacuolar H⁺ pumps in maize roots. *Mycorrhiza*. 19:69–80.
- Rawat, S. G., Joshi, G., Annapurna, D., Arunkumar, A. N., dan Karaba, K. N. 2016. Standardization of DNA extraction method from mature dried leaves and ISSR-PCR conditions for *Melia dubia* Cav. a fast growing multipurpose tree species. *American Journal of Plant Sciences*. 7:437–445.
- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S., Morton, J. B., dan Walker, C. 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). *Mycorrhiza*. 23:515–531.
- Requena, N., Serrano, E., Ocon, A., dan Breuninger, M. 2007. Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. *Phytochemistry*. 68:33–40.
- Reynolds, N., Jusino, M., Stajich, J., dan Smith, M. 2022. Understudied, underrepresented, and unknown: methodological biases that limit detection of early diverging fungi from environmental samples. *Molecular Ecology Resources*. 22(3):1065–1085.
- Richardson, A. D., Duigan, S. P., dan Berlyn, E. P. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist*. 153(1):185–194.
- Rini, M. V., Pertiwi, K. O., dan Saputra, H. 2017a. Seleksi lima isolat fungi mikoriza arbuskular untuk kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di pembibitan. *Jurnal Agrotek Tropika*. 5(3):138–143.

- Rini, M. V., Haqie, H. N., dan Saputra, H. 2017b. Respons pertumbuhan dan produksi padi varietas ciherang pada tiga dosis fungi mikoriza arbuskular dan dua sistem tanam. *Jurnal Agrotek Tropika*. 5(3):144–150.
- Rini, M. V., Yelli, F., Tambunan, D. L., dan Damayanti, I. 2021. Morphological and molecular identifications of three native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from the rhizosphere of *Elaeis guineensis* and *Jatropha curcas* in Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 22(11):4940–4947.
- Ruchi, W., Putri, H. D., Anhar, A., dan Farma, A. S. 2018. Comparison of three different DNA isolation methods to degradate the *Trichoderma* fungi cell wall. *Bioscience*. 2(1):50–59.
- Safitri, R., Parawangsa, A., dan Numba, S. 2022. Pengaruh komposisi media tanam dan pemberian pupuk organik terhadap pertumbuhan bibit tanaman lada (*Piper nigrum* L.). *Jurnal Agrotekmas*. 3(3):139–149.
- Sahur, A., Nasaruddin, dan Muthmainnah. 2020. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 486:012130.
- Sarathambal, C., Srinivasan, V., Jeevalatha, A., Sivaranjani, R., Alagupalamuthirsolai, M., Peeran, M. F., Sankar, M. E., George, P., dan Dilkush, F. 2024. Unravelling the synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost on improving plant growth, nutrient absorption, and secondary metabolite production in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 8:1412610.
- Sariasih, Y., Subandiyah, S., Widyaningsih, S., Khurshid, T., dan Mo, J. 2023. Identification and molecular detection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi colonized naturally in citrus roots in nurseries. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 24(11):6135–6142.
- Schlaeppli, K., Bender, S., Mascher, F., Russo, G., Patrignani, A., Camenzind, T., Hempel, S., Rillig, M., Heijden, M., dan Heijden, M. 2016. High-resolution community profiling of arbuscular mycorrhizal fungi. *The New Phytologist*. 212(3):780–791.
- Schüßler, A. 2000. *Glomus claroideum* forms an arbuscular mycorrhiza-like symbiosis with the hornwort *Anthoceros punctatus*. *Mycorrhiza*. 10:15–21.
- Schüßler, A., dan Walker, C. 2010. *The Glomeromycota: A Species List with New Families and New Genera*. The Royal Botanic Garden, Edinburgh.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., dan Walker, C. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research*. 105:1413–1421.

- Schwarzott, D., dan Schüßler, A. 2001. A simple and reliable method for SSU rRNA gene DNA extraction, amplification, and cloning from single AM fungal spores. *Mycorrhiza*. 10:203–207.
- Sena, J. O. A., Labate, C. A., dan Cardoso, E. J. B. N. 2004. Physiological characterization of growth depression in arbuscular mycorrhizal citrus seedlings under high P levels. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 28:827–832.
- Sharma, A., dan Chetani, R. 2017. A review on the effect of organic and chemical fertilizers on plants. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET)*. 5(2):677–680.
- Sharma, M., dan Buyer, J. 2015. Comparison of biochemical and microscopic methods for quantification of arbuscular mycorrhizal fungi in soil and roots. *Applied Soil Ecology*. 95:86–89.
- Sieverding, E. 1991. *Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems*. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, Eschborn.
- Silvana, V. M., Carlos, F. J., Lucía, A. C., Natalia, A., dan Marta, C. 2020. Colonization dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in *Ilex paraguariensis* crops: seasonality and influence of management practices. *Journal of King Saud University - Science*. 32(1):183–188.
- Simanungkalit, R. D. M. 2004. Teknologi cendawan mikoriza arbuskular: produksi inokulan dan pengawasan mutunya. Prosiding Seminar Mikoriza Teknologi dan Pemanfaatan Inokulan Endoektomikoriza untuk Pertanian, Perkebunan, dan Kehutanan. Universitas Padjadjaran, Bandung. Hal: 7–17.
- Siqueira, J. O. 1983. Nutritional and edaphic factors affecting spore germination, germ tube growth and root colonization of the arbuscular mycorrhizal fungi. (Dissertation). University of Florida, Gainesville.
- Siqueira, J. O., Bruce, B, dan Hubbell, D. H. 1985a. Inibição da germinação de esporos de fungos micorrízicos vesicular-arbuscular por substâncias voláteis produzidas por actinomicetos isolados d solo. Dalam: *III Reunião Brasileira sobre Micorrizas*. ESAL/FAEPE, Lavras.
- Siqueira, J. O., Sylvia, D., Gibson, J., dan Hubbel, D. 1985b. Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Microbiology*. 31:965–997.
- Smith, S. E., dan Read, D. J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London.

- Smith, S. E., St John, B. J., Smith, F. A., dan Nicholas, D. J. D. 1985. Activity of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in *Allium cepa* L. and *Trifolium subterraneum* L.: effect of mycorrhizal infection and phosphate nutrition. *New Phytologist*. 99:211–227.
- Soltis, P. S., Soltis, D. E., dan Chase, M. W. 1998. Discordance between molecules and morphology in angiosperm phylogeny. *Nature*. 392(6672):65–67.
- Souza, F. A. 2005. Biology, ecology and evolution of the family *Gigasporaceae*, arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). NIOO Thesis 42. University of Leiden, Leiden.
- Spain, J. L., Sieverding, E., dan Oehl, F. 2006. *Appendicispora*: a new genus in the arbuscular mycorrhizaforming Glomeromycetes, with a discussion of the genus *Archaeospora*. *Mycotaxon*. 97:163–182.
- Srinivasan, K. 2007. Black pepper and its pungent principle piperine: a review of diverse physiological effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 47(8):735–748.
- Su, S., Guo, R., Wang, Y., Yan, Y., Chu, Q., Cui, N., Zhang, Y., Zhang, L., Jiang, L., Shi, L., Guo, J., Gao, Y., Xing, F., dan Zhang, T. 2025. Nitrogen and phosphorus addition affected soil organic carbon storage and arbuscular mycorrhizal fungi contributions. *Journal of Environmental Management*. 393:126904.
- Suamba, I. W., Wirawan, I. G. P., dan Adiartayasa, W. 2014. Isolasi dan identifikasi fungi mikoriza arbuskular (FMA) secara mikroskopis pada rizosfer tanaman jeruk (*Citrus* sp.) di Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 3(4):201–208.
- Sulok, K. M. T. A., Haruna, A. O., Shang, C. Y., dan Mercer, Z. J. A. 2019. Leaf stomatal density and distribution in black pepper under field conditions. *Journal of Tropical Plant Physiology*. 11(1):24–31.
- Suprpto. 2003. *Genetics: The Continuity of Life 4th ed*. Wadsworth Publishing Company, London.
- Suryati, T. 2017. Studi fungi mikoriza arbuskula di lahan pasca tambang timah Kabupaten Bangka Tengah. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 18(1):45–53.
- Susila, E., Chan, S., Achmad, B., dan Maulina, F. 2022. Exploration and morphology identification of spores arbuscular mycorrhizal fungi from horticultural plantation. *Journal of Applied Agricultural Science and Technology*. 6(1):31–42.
- Suvendran, S., Acevedo, M., Smithers, B., Walker, S., dan Xu, P. 2025. Soil fertility and plant growth enhancement through compost treatments under varied irrigation conditions. *Agriculture*. 15(7):734.

- Sylvia, D. M., Fuhrmann, J. J., Hartel, P. G., dan Zuberer, D. A. 2005. *Principles and Applications of Soil Microbiology (2nd ed.)*. Pearson Education, New Jersey.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., dan Murphy, A. 2015. *Plant Physiology and Development (6th ed.)*. Sinauer Associates, Sunderland, CT.
- Tarigan, P. L., Nurbaiti, dan Yoseva, S. 2017. Pemberian ekstrak bawang merah sebagai zat pengatur tumbuh alami pada pertumbuhan setek lada (*Piper nigrum* L.). *JOM Faperta*. 4(1):1–11.
- Taylor, D., Walters, W., Lennon, N., Bochicchio, J., Krohn, A., Caporaso, J., dan Pennanen, T. 2016. Accurate estimation of fungal diversity and abundance through improved lineage-specific primers optimized for Illumina amplicon sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*. 82:7217–7226.
- Tedersoo, L., Anslan, S., Bahram, M., Kõljalg, U., dan Abarenkov, K. 2020. Identifying the ‘unidentified’ fungi: a global-scale long-read third-generation sequencing approach. *Fungal Diversity*. 103:273–293.
- Tennant, D. 1975. A test of a modified line intersect method of estimating root length. *Journal of Ecology*. 63(3):995–1001.
- Thakur, J., dan Shinde, B. P. 2020. Effect of water stress and AM fungi on the growth performance of pea plant. *International Journal of Applied Biology*. 4(1):36–43.
- Van Geel, M., Busschaert, P., Honnay, O., dan Lievens, B. 2014. Evaluation of six primer pairs targeting the nuclear rRNA operon for characterization of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities using 454 pyrosequencing. *Journal of Microbiological Methods*. 106:93–100.
- Victorino, Í. M., Voyron, S., Caser, M., Orgiazzi, A., Demasi, S., Berruti, A., Scariot, V., Bianciotto, V., dan Lumini, E. 2021. Metabarcoding of arbuscular mycorrhizal fungi: ITS vs. SSU markers to assess community structure in soil and roots. *Molecular Ecology Resources*. 21(3):758–773.
- Vu, D., Groenewald, M., Vries, M., Gehrman, T., Stielow, B., Eberhardt, U., Al-Hatmi, A., Groenewald, J., Cardinali, G., Houbraken, J., Boekhout, T., Crous, P., Crous, P., Robert, V., dan Verkley, G. 2019. Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. *Studies in Mycology*. 92:135–154.
- Walker, C. 1983. Taxonomic concepts in the *Endogonaceae*: spore wall concepts in species descriptions. *Mycotaxon*. 18:443–455.

- Wang, B., Zhang, Y., Huang, J., Dong, L., Li, T., dan Fu, X. 2017. Anti-inflammatory activity and chemical composition of dichloromethane extract from *Piper nigrum* and *P. longum* on permanent focal cerebral ischemia injury in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 27(3):369–374.
- Weatherley, P. E. 1950. Studies in the water relations of the cotton plant I. The field measurements of water deficit in leaves. *New Phytologist*. 49:81–97.
- Wahab, A., Muhammad, M., Munir, A., Abdi, G., Zaman, W., Ayaz, A., Khizar, C., dan Reddy, S. P. P. 2023. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in regulating growth, enhancing productivity, and potentially influencing ecosystems under abiotic and biotic stresses. *Plants*. 12(17):3102.
- Widiastuti, H. 2004. Biologi interaksi cendawan mikoriza arbuskula kelapa sawit pada tanah asam sebagai dasar pengembangan teknologi aplikasi dini. (Disertasi). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Wu, Y., Chen, C., dan Wang, G. 2024. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi improves plant biomass and nitrogen and phosphorus nutrients: a meta-analysis. *BMC Plant Biology*. 24:5638.
- Xiang, D., Chen, B., dan Li, H. 2016. Specificity and selectivity of arbuscular mycorrhizal fungal polymerase chain reaction primers in soil samples by clone library analyses. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*. 66:333–339.
- Xie, X., Weng, B., Cai, B., Dong, Y., dan Yan, C. 2014. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation and phosphorus supply on the growth and nutrient uptake of *Kandelia obovata* (Sheue, Liu & Yong) seedlings in autoclaved soil. *Applied Soil Ecology*. 75:162–171.
- Xu, J., Ma, Y., Liu, S., Song, S., Guo, H., Tang, J., Yong, J. W. H., dan Chen, X. 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi influence decomposition and the associated soil microbial community under different soil phosphorus availability. *Soil Biology and Biochemistry*. 120:181–190.
- Yang, W., Gu, S., Xin, Y., Bello, A., Sun, W., dan Xu, X. 2018. Compost addition enhanced hyphal growth and sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi without affecting their community composition in the soil. *Frontiers in Microbiology*. 9:169.
- Yelli, F., Rini, M. V., dan Damayanti, I. 2022. Optimasi volume buffer ekstraksi dalam mengisolasi DNA spesies mikoriza arbuskular untuk identifikasi secara molekuler. *Jurnal Agrotek Tropika*. 10(3):381–387.
- Yurkov, A., Kryukov, A., Gorbunova, A., Kojemyakov, A., Stepanova, G., Machs, E., Rodionov, A., dan Shishova, M. 2018. Molecular genetic identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecological Genetics*. 16(2):11–23.

- Zahra, F. 2022. Compost production for soil nutrition. *Open Access Journal of Waste Management & Xenobiotics*. 5(1):1–8.
- Zhang, M., Yang, M., Shi, Z., Gao, J., dan Wang, X. 2022. Biodiversity and variations of arbuscular mycorrhizal fungi associated with roots along elevations in Mt. Taibai of China. *Diversity*. 14:626.⁶
- Zsögön, A. A., Lambais, M. R., Benedito, V. A., Figueira, A. V. O., dan Perez, L. E. 2008. Reduced arbuscular mycorrhizal colonization in tomato ethylene mutants. *Scientia Agr⁷icola*. 65:259–267.