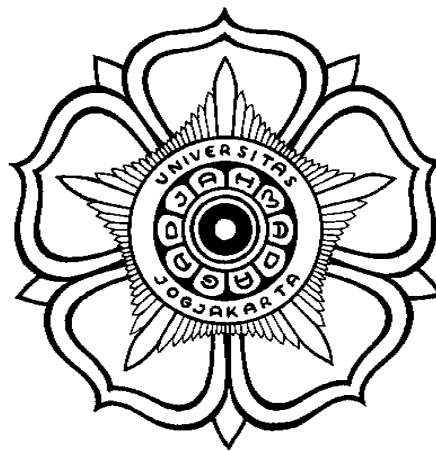


**EFEKTIVITAS INOKULASI JAMUR MIKORIZA
ARBUSKULA PADA *HOME-FIELD ADVANTAGE* TANAMAN
TEBU**

Tesis
untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana S-2

Program Studi Bioteknologi



diajukan oleh
Arini Hidayati Jamil
NIM. 20/467719/PMU/10325

kepada
SEKOLAH PASCA SARJANA
UNIVERSITAS GADJAH MADA
YOGYAKARTA
2023



UNIVERSITAS GADJAH MADA
SEKOLAH PASCASARJANA

Jl. Teknik Utara, Pogung, Yogyakarta, Telp.:(0274) 564239, 544975, 555881
Fax.: (0274) 564239, 547861; Laman: pasca.ugm.ac.id, E-mail: sps@ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN
Nomor: 738/UN1/SPs.1.1/AKM/KM/2023

Dengan ini Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada menerangkan bahwa mahasiswa di bawah ini:

Nama : Arini Hidayati Jamil

NIM : 20/467719/PMU/10325

Program Studi : Magister Bioteknologi

Judul Karya Akhir : Efektivitas Inokulasi Jamur Mikoriza Arbuskula pada *Home-Field Advantage* Tanaman Tebu

Tanggal Ujian : 18 Januari 2023

Tanggal Yudisium: 31 Januari 2023

Ketua Sidang : Dr. Dini Wahyu Kartika Sari, S.Pi., M.Si.

Pembimbing : 1. Ir. Jaka Widada, M.P., Ph.D.

2. M. Saifur Rohman, S.P., M.Si., Ph.D.

Penguji : 1. Dr. Dini Wahyu Kartika Sari, S.Pi., M.Si.

2. Dr. Yekti Asih Purwestri, S.Si., M.Si.

Telah mendapatkan persetujuan dari para pembimbing dan penguji tesis sehingga dinyatakan telah menyelesaikan revisi final pada tanggal 27 Januari 2023.

Surat Keterangan ini dibuat dan berlaku pada masa tanggap darurat covid-19 dan dapat dipergunakan sebagai pengganti lembar pengesahan dan persetujuan karya tulis akhir sebagai syarat yudisium atau wisuda pada Program Pascasarjana (Magister).

Demikian surat keterangan ini dikeluarkan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

31 Januari 2023

Wakil Dekan Bidang Akademik,
Kemahasiswaan, dan Kerja Sama

Dr. Widyanto Dwi Nugroho, S.Hut., M.Agr. *AL*
NIP: 197804192002121004

HALAMAN PERNYATAAN
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Arini Hidayati Jamil
NIM : 20/467719/PMU/10325
Tahun Terdaftar : 2020
Program Studi : Bioteknologi
Fakultas/Sekolah : Sekolah Pascasarjana

menyatakan bahwa dalam dokumen ilmiah Tesis ini tidak terdapat bagian karya ilmiah lain yang telah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu lembaga Pendidikan Tinggi, dan juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang/lembaga lain, kecuali yang secara lengkap dalam daftar pustaka.

Dengan demikian saya menyatakan bahwa dokumen ilmiah ini bebas dari unsur-unsur plagiasi dan apabila dokumen ilmiah Tesis ini di kemudian hari terbukti merupakan plagiasi dari hasil karya penulis lain dan/atau dengan sengaja mengajukan karya atau pendapat yang merupakan hasil karya penulis lain, maka penulis bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.

Yogyakarta, 18 Januari 2023



Arini Hidayati Jamil

20/467719/PMU/10325

PRAKATA

Penelitian dan penyusunan naskah tesis ini merupakan salah satu syarat untuk mendapatkan derajat Strata 2 dalam bidang Bioteknologi. Kesempatan ini juga sekaligus memberi ruang bagi penulis untuk mempelajari dan berpikir tentang hal-hal baru serta memperluas jejaring sosial untuk masa depan. Penulis berharap penelitian ini bermanfaat baik bagi diri penulis sendiri sebagai bekal dalam mengabdikan di dunia pertanian, serta untuk penelitian pertanian secara umum.

Penelitian tesis ini mempelajari hubungan adaptasi lokal antara tanaman, tanah, dan mikroorganisme di dalam tanah serta kaitannya dengan kolonisasi mikoriza dan pertumbuhan tanaman. Harapan besar dari penelitian ini di masa mendatang adalah menjadi salah satu acuan untuk mengembangkan pertanian yang ramah lingkungan dan berkelanjutan. Bab I menjabarkan latar belakang dan tujuan dilaksanakannya penelitian. Bab II menjelaskan dasar teori dan penelitian terkait. Bab III menjelaskan metode penelitian dijalankan. Bab IV membahas hasil yang diperoleh beserta diskusinya. Bab V merupakan kesimpulan dan rekomendasi yang dihasilkan berdasarkan penelitian.

Penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing dan penguji, serta semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini. Semoga naskah tesis ini memberikan manfaat bagi pembaca dan perkembangan ilmu pengetahuan. Aamiin. Terima kasih.

Yogyakarta, Januari 2023

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Halaman Pernyataan	iii
Prakata	iv
Daftar Isi	v
Daftar Gambar	vii
Daftar Lampiran	ix
Intisari dan <i>Abstract</i>	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. <i>Home-Field Advantage</i> antara Tanah, Tanaman, dan Jamur Mikoriza Arbuskula	4
2.2. Keragaman Mikrobioma Tanah dan Tanaman Tebu	5
2.3. Keberadaan Mikoriza Arbuskular dalam Mikrobioma Rizosfer	7
2.4. Gangguan dalam Ekosistem Tanah	8
2.5. Keragaman Komunitas Mikroorganisme	12
2.6. <i>Glomalin Related Soil Protein</i>	13
2.7. Varietas Tebu AAS Agribun	14
2.8. Hipotesis	15
III. METODE PENELITIAN	16
3.1. Bahan Penelitian.....	16
3.2. Rancangan Penelitian	18
3.3. Cara Kerja	18
3.4. Analisis Data	24
3.5. Alur Penelitian	26

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1. Keragaman Komunitas Bakteri Endofit Akar Tebu	27
4.2. Kolonisasi Mikoriza pada Akar Tebu	30
4.3. Karakter Kimia Tanah	32
4.4. Kapasitas Tukar Kation Akar	36
4.5. Biomasa Tanaman Tebu.....	37
4.6. Komposisi dan Peran Komunitas Bakteri Endofit Akar Tebu dalam Kolonisasi Mikoriza dan Pertumbuhan Tanaman	40
V. KESIMPULAN DAN REKOMENDASI	53
5.1. Kesimpulan	53
5.2. Rekomendasi	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	67
UCAPAN TERIMA KASIH	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Contoh definisi kuantitatif resistansi dan resiliensi dalam ekologi	9
Gambar 2. Lokasi pengambilan tanah tebu (<i>home</i>) dan tanah jarak pagar (<i>away</i>)	16
Gambar 3. Alur penelitian dalam penelitian Efektivitas Inokulasi Jamur Mikoriza Arbuskula pada <i>Home-Field Advantage</i> Tanaman Tebu	26
Gambar 4. Perubahan indeks Shannon komunitas bakteri endofit akar tebu AAS Agribun umur 15 MST berdasarkan pola pita DNA yang terbentuk pada <i>Ribosomal Intergenic Spacer Analysis</i> akibat perlakuan inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah <i>home</i> dan <i>away</i> dalam kondisi <i>normal</i> maupun <i>disturbed</i>	27
Gambar 5. Analisis pengelompokkan (<i>clustering analysis</i>) berdasarkan persentase kesamaan <i>Ribosomal Intergenic Spacer</i> (RIS) komunitas bakteri endofit akar tebu AAS Agribun umur 15 MST pada tanah <i>home</i> dan <i>away</i> dengan kondisi <i>normal</i> dan <i>away</i> serta <i>inoculated</i> dan <i>uninoculated</i> dengan JMA	28
Gambar 6. Akar yang terkolonisasi mikoriza dan akar tanpa kolonisasi mikoriza pada tanaman tebu AAS Agribun umur 15 MST	30
Gambar 7. Persentase kolonisasi mikoriza pada akar tanaman tebu varietas AAS Agribun umur 15 MST akibat perlakuan inokulasi JMA pada tanah <i>home</i> dan <i>away</i> dalam kondisi <i>normal</i> maupun <i>disturbed</i>	31
Gambar 8. Kadar EE-GRSP dan T-GRSP tanah rizosfer tanaman tebu AAS Agribun umur 15 MST akibat perlakuan inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah <i>home</i> dan <i>away</i> dalam kondisi <i>normal</i> maupun <i>disturbed</i>	34

Gambar 9. Kapasitas Tukar Kation (KTK) akar tanaman tebu AAS Agribun pada umur 15 MST akibat perlakuan inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah <i>home</i> dan <i>away</i> dalam kondisi <i>normal</i> maupun <i>disturbed</i>	37
Gambar 10. Biomasa tanaman tebu (tajuk dan akar) AAS Agribun pada umur 15 MST akibat perlakuan inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah <i>home</i> dan <i>away</i> dalam kondisi <i>normal</i> maupun <i>disturbed</i>	39
Gambar 11. Kelimpahan relatif tingkat filum komunitas bakteri endofit akar tebu AAS Agribun umur 15 MST berdasarkan analisis urutan basa gen 16S rRNA. Tebu ditanam pada tanah <i>home</i> dengan kondisi <i>normal</i> dan <i>disturbed</i> yang <i>inoculated</i> dan <i>uninoculated</i> dengan JMA	41
Gambar 12. Kelimpahan relatif tingkat genus komunitas bakteri endofit akar tebu AAS Agribun umur 15 MST berdasarkan analisis urutan basa gen 16S rRNA. Tebu ditanam pada tanah <i>home</i> dengan kondisi <i>normal</i> dan <i>disturbed</i> yang <i>inoculated</i> dan <i>uninoculated</i> dengan JMA	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Visualisasi pita DNA pada analisis <i>Ribosomal Intergenic Spacer Analysis</i> (RISA)	67
Lampiran 2. Analisis pengelompokan (<i>clustering analysis</i>) berdasarkan hasil RISA pada seluruh sampel akar	68
Lampiran 3. Perubahan karakter kimia tanah rizosfer tanaman tebu akibat inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah <i>home</i> dan <i>away</i> dalam kondisi <i>normal</i> dan <i>disturbed</i>	69
Lampiran 4. Tabel kelimpahan relatif tingkat genus keragaman komunitas bakteri endofit akar tebu pada tanah <i>home-normal</i> dan <i>home-disturbed</i> yang diinokulasi (<i>inoculated</i>) dan tanpa inokulasi (<i>uninoculated</i>) jamur mikoriza arbuskula	70

INTISARI

EFEKTIVITAS INOKULASI JAMUR MIKORIZA ARBUSKULA PADA *HOME-FIELD ADVANTAGE* TANAMAN TEBU

Arini Hidayati Jamil
20/467719/PMU/10325

Tanaman yang tumbuh dalam kondisi tanah *home-field advantage* diperkirakan akan memiliki pertumbuhan yang lebih baik dibanding tanah asing. Simbiosis mikoriza arbuskula dapat menjadi penanda ideal adaptasi lokal tanah dan tanaman tersebut. Peran mikroorganisme tanah dalam adaptasi tersebut dapat diketahui dengan membandingkan fungsi yang diperoleh dari mikrobioma dalam kondisi normal dan terganggu. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas inokulasi jamur mikoriza arbuskula dalam *home-field advantage* tanaman tebu dan untuk mengetahui komposisi komunitas bakteri endofit akar tebu yang berperan dalam kolonisasi mikoriza dan pertumbuhan tanaman tebu.

Benih varietas tebu AAS Agribun ditanam pada tanah regosol dari lahan dengan riwayat penggunaan yang berbeda (*home* dan *away*) dan kondisi mikrobioma yang berbeda (*normal* dan *disturbed*). Setiap kondisi tanah diberikan perlakuan dengan dan tanpa inokulasi (*inoculated* dan *uninoculated*) jamur mikoriza vesikula arbuskula. Analisis keragaman komunitas bakteri endofit akar dilakukan berdasarkan gen *Ribosomal Intergenic Spacer*. Parameter yang diamati meliputi kolonisasi mikoriza, karakter kimia tanah, kapasitas tukar kation akar, dan biomasa tanaman. *Amplicon sequencing* gen 16S rRNA dilakukan untuk mengetahui komposisi komunitas bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah dengan *home-field advantage* lebih efektif meningkatkan kolonisasi mikoriza, KTK akar, dan berat kering akar tebu dibanding tanah asing (*away*). Kolonisasi mikoriza yang tinggi didukung oleh komunitas bakteri pendukung kolonisasi yaitu *Promicromonospora*, *Ensifer*, *Actinomadura*, *Streptomyces*, *Actinoplanes*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Lysobacter*, dan *Rhizobium*. Peningkatan pertumbuhan tanaman tebu didukung peningkatan kelimpahan relatif genus *Streptomyces*, *Ensifer*, *Lysobacter*, dan kelompok *Rhizobium*.

Kata kunci: *home-field advantage*, tebu, kolonisasi mikoriza, *amplicon sequencing*

ABSTRACT

THE EFFECTIVITY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI INOCULATION ON HOME-FIELD ADVANTAGE OF SUGARCANE PLANT

Arini Hidayati Jamil
20/467719/PMU/10325

Growing a plant in home-field advantage soil conditions is estimated to get better growth compared to in foreign soil. Arbuscular mycorrhiza symbiosis was a good sign of the soil-plant local adaptation. The role of soil microorganisms on the adaptation could be determined by comparing the function given by indigenous and disturbed microbiomes. The objective of this study was to analyze the effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation in sugarcane home-field advantage and to discover the composition of bacterial communities that play a role in mycorrhizal colonization and plant growth.

Budsets of AAS Agribun sugarcane variety were planted on Regosol soil from different land use (home and away) and different microbiome conditions (normal and disturbed). Each of the soil conditions was AMF inoculated and uninoculated. The bacterial diversity of root endophyte was analyzed according to Ribosomal Intergenic Spacer genes. Mycorrhizal colonization, soil chemical properties, root cation exchange capacity, and plant biomass were determined and analyzed. Amplicon sequencing of 16S rRNA genes was carried out to determine the composition of bacterial communities.

Mycorrhizal inoculation on home-field advantage soil was more effective compared to foreign soils to increase the mycorrhizal colonization, root cation exchange capacity, and dry weight of sugarcane root. High mycorrhizal colonization was supported by mycorrhiza helper bacteria including *Promicromonospora*, *Ensifer*, *Actinomadura*, *Streptomyces*, *Actinoplanes*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Lysobacter*, and *Rhizobium*. The enhancement of sugarcane growth following the increase of the relative abundance of *Streptomyces*, *Ensifer*, *Lysobacter*, and *Rhizobium* group.

Keywords: home-field advantage, sugarcane, mycorrhizal colonization, amplicon sequencing

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tanaman diperkirakan akan mampu tumbuh lebih baik pada lingkungan yang telah teradaptasi secara lokal dibandingkan lingkungan asing. Kondisi lingkungan tersebut meliputi lingkungan biotik dan abiotik. Adaptasi lokal tanaman terhadap mikroorganisme tanah sebagai lingkungan biotik menjadi sangat penting karena asosiasi tanaman dan mikroorganisme tanah dapat mempengaruhi kesehatan tanaman (Rúa *et al.*, 2016). Fenomena keuntungan yang diperoleh tanaman yang ditumbuhkan dalam tanah yang telah teradaptasi lokal dapat disebut sebagai *home-field advantage* (HFA) (Fanin *et al.*, 2021; Rúa *et al.*, 2016).

Mikoriza Vesikula Arbuskula, atau lebih dikenal sebagai mikoriza arbuskula, merupakan simbiosis penting antara tanaman dan jamur tanah obligat simbiotik dari filum *Glomeromycota* (Brundrett *et al.*, 1996; Frey-Klett *et al.*, 2007). Simbiosis tersebut memungkinkan tanaman memperoleh nutrisi lebih banyak dari dalam tanah sehingga mempengaruhi fenotip dan kesehatan tanaman. Simbiosis ini dapat bersifat mutualistik maupun parasitik (Garrido *et al.*, 2010; Johnson *et al.*, 1997), namun penelitian-penelitian di bidang pertanian lebih banyak menemukan dan mempelajari efek positifnya terhadap tanaman.

Menurut Rúa *et al.* (2016), simbiosis mikoriza arbuskula dapat menjadi penanda ideal dalam mempelajari adaptasi lokal tanaman terhadap tanah. Berdasarkan hasil meta-analisis pada 139 artikel dalam penelitian tersebut, apabila

tanah dan tanaman telah beradaptasi (*sympatric*) namun jamur mikoriza arbuskula (JMA) merupakan *allopatric*, maka pengaruh inokulasi JMA akan lebih besar dibanding apabila ketiga komponen bersifat *allopatric*. Pemahaman mengenai pola adaptasi lokal dapat menjadi dasar untuk penerapan manajemen habitat dan mendukung kehidupan spesies tertentu.

Beberapa penelitian mengemukakan peran penting tanah yang telah teradaptasi atau HFA terhadap tanaman dalam family *Poaceae*, terutama pada tahap awal pertumbuhan tanaman. Penelitian Zhang *et al.* (2022) menemukan beberapa benih *Stipa breviflora* (tanaman rumput-rumputan) memiliki ketahanan hidup benih semai yang lebih tinggi ketika ditanam pada tanah aslinya (*home soil*) dibanding bukan *home soil*. *Andropogon gerardii* yang ditumbuhkan dalam *home soil* dan diinokulasi JMA yang telah beradaptasi lokal menghasilkan hifa ekstraradikal dan menyimpan karbon lebih banyak dibanding ketika ditanam pada tanah bukan *home soil* (Johnson *et al.*, 2010). Penelitian oleh Wang *et al.* (2019) juga menemukan tanaman jagung yang ditumbuhkan pada *home soil* mempunyai hifa mikoriza yang lebih panjang.

Fungsi atau peran mikroorganisme tanah baik *home soil* maupun bukan *home soil* dapat berubah karena adanya gangguan (Kandeler, 2007). Peneliti dapat mempelajari kontribusi mikrobioma dan mengidentifikasi kandidat potensial yang berperan dalam fungsi tertentu dengan membandingkan fungsi yang diperoleh dari tanah dengan mikrobioma dalam kondisi normal dan yang terganggu (Ossowicki *et al.*, 2021).

Tebu merupakan salah satu komoditas penting karena terkait dengan program pemerintah untuk swasembada gula. Berbagai penelitian telah dilakukan guna peningkatan produktivitas tebu. Namun demikian, penelitian mengenai fenomena HFA dalam tanaman tebu terkait efektivitas inokulasi JMA dan peran komunitas bakteri di dalamnya belum diteliti.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Menganalisis efektivitas inokulasi jamur mikoriza arbuskula terhadap kolonisasi mikoriza dan pertumbuhan tanaman tebu dalam *home-field advantage*.
2. Mengetahui komposisi komunitas bakteri endofit akar tebu yang berperan dalam kolonisasi mikoriza dan pertumbuhan tanaman tebu.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Home-Field Advantage* antara Tanah, Tanaman, dan Jamur Mikoriza

Arbuskula

Home-Field Advantage (HFA) merupakan istilah dalam dunia olahraga yang diadaptasi menjadi sebuah teori dalam ekologi. HFA mengacu pada kondisi atlet yang mampu bermain lebih baik ketika di “kandang” sendiri dibanding di “kandang” asing karena lebih menguasai tempat (Fanin *et al.*, 2021). Sebagian besar peneliti ekologi menggunakan istilah HFA untuk menggambarkan peran komunitas mikroorganisme tanah yang mampu mendekomposisi dengan lebih baik materi organik tanaman yang berasal dari tanaman yang tumbuh di atas tanah tersebut (Ayres *et al.*, 2009; Fanin *et al.*, 2021; Veen *et al.*, 2015; Zhuang *et al.*, 2022), namun Rúa *et al.* (2016) menggunakan HFA untuk menggambarkan adaptasi lokal antara tanah, tanaman, dan mikoriza.

Tanah tempat tanaman maupun jamur mikoriza berasal menjadi penting untuk memperkirakan efek inokulasi jamur mikoriza terhadap biomasa tanaman. Inokulasi JMA pada tanah dan tanaman yang telah beradaptasi lokal (*sympatric*) akan menghasilkan efek yang lebih besar dibanding ketika ketiga komponen masih asing (*allopatric*). Apabila inokulasi JMA pada jamur dan tanah yang *sympatric* namun tanaman *allopatric* menghasilkan efek yang tidak berbeda dibanding ketiga komponen *allopatric* maka dapat dikatakan terjadi maladaptasi jamur terhadap tanah. Hal tersebut mengacu pada prediksi adaptasi jamur terhadap tanaman

maupun tanah tidak dipengaruhi oleh asal jamur, namun secara signifikan dipengaruhi oleh kompleksitas inokulum jamur (Rúa et al., 2016).

2.2. Keragaman Mikrobioma Tanah dan Tanaman Tebu

Tanah sebagai media tumbuh bagi tanaman juga merupakan habitat bagi jutaan mikroorganisme yang membentuk suatu komunitas yang dikenal sebagai mikrobioma (Ray et al., 2020). Komposisi mikrobioma tanah sangat bervariasi dalam taksonomi maupun gen fungsional karena dipengaruhi oleh tipe tanah, taksonomi tanaman, kultivar, fase pertumbuhan tanaman, keberadaan simbiosis mikoriza, serta pupuk yang diberikan (Bahram et al., 2020; Cesarano et al., 2017; Gryndler et al., 2018; Hao et al., 2021; Lei et al., 2019; Schlemper et al., 2017). Selain itu, mikroorganisme tanah juga merupakan sumber mikroorganisme bagi tubuh tanaman (de Souza et al., 2016).

Lei et al. (2019) mengkaji perbedaan komunitas bakteri pada mikrobioma rizosfer tanaman *Artemisia argyi*, *Ageratum conyzoides*, *Erigeron annuus*, *Bidens biternata*, *Euphorbia hirta* dan *Viola japonica* yang hidup pada suatu kawasan yang sama. Rizosfer keenam spesies tersebut ditemukan memiliki mikrobioma inti dan komunitas ordo bakteri yang hampir sama, namun komposisi dan kelimpahan OTU di dalamnya berbeda secara signifikan. Menurut Bakker et al. (2014), komunitas mikroorganisme dari suatu mikrobioma akan mengalami perubahan pola interaksi ketika mereka hidup pada lingkungan rizosfer tanaman yang berbeda.

Penelitian keragaman mikrobioma bagian-bagian tanaman tebu oleh de Souza et al. (2016) memperoleh bahwa rizosfer, endofit akar, dan tajuk muda

mempunyai keragaman OTU tertinggi dibanding endofit maupun eksofit batang dan daun. Berdasarkan penelitian tersebut, pada tingkat family, *Hyphomicrobiaceae*, *Cytophagaceae*, dan *Sianobacteraceae* ditemukan lebih melimpah di dalam endofit akar tebu, sementara *Chthoniobacteraceae*, *Hyphomicrobiaceae*, atau *Rhodospirillaceae* melimpah di dalam rizosfer tebu. Dong *et al.* (2018) dalam penelitiannya menemukan kelimpahan tertinggi komunitas bakteri akar tebu pada tingkat genus diantaranya *Saccharibacteria*, *Ensifer*, *Streptomyces*, *Devosia*, *Lentzea*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Ohtaekwangia*, *Arthrobacter*, *Stenotrophomonas*, *Acidovorax*, *Bacillus*, *Gp6*, *Streptophyta*, *Luteolibacter*, *Sphingomonas*, *Nocardioides*, *Bosea*, dan *Pelomonas*. Sementara itu, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Candidatus*, *Saccharibacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, dan *Acidobacteria* mendominasi pada tingkat filum. Menurut de Souza *et al.* (2016), bakteri maupun jamur dalam tanaman tebu tersebut diperkirakan berasal dari tanah di area pertanaman karena 90% OTU yang ditemukan dalam akar, daun, dan batang juga ditemukan dalam tanah non-rizosfer.

Berdasarkan penelitian Armanhi *et al.* (2018), beberapa anggota komunitas bakteri tanaman tebu yang ditemukan dalam jumlah besar di dalam organ tebu, dapat dikulturkan secara *in vitro* dan mampu tumbuh dalam jumlah besar. Anggota komunitas bakteri tersebut yaitu anggota dari famili *Rhizobiaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Burkholderiaceae*, dan *Enterobacteriaceae*. Komunitas bakteri tanaman tebu yang dapat dikulturkan secara *in vitro* mencakup 15,9% mikrobioma inti rizosfer dan 61,6-65,3% mikrobioma inti endofit batang.

2.3. Keberadaan Mikoriza Arbuskular dalam Mikrobioma Rizosfer

Mikoriza merupakan bentuk simbiosis antara jamur tanah dengan akar tanaman. Anggota dari simbiosis ini adalah kingdom jamur dan sebagian besar tanaman vaskular (Harley & Smith., 1983 dalam Brundrett et al., 1996). Tipe mikoriza yang paling banyak terjadi adalah endomikoriza vesikula arbuskula atau lebih dikenal sebagai mikoriza arbuskula. Anggota jamur mikoriza arbuskula adalah filum *Glomeromycota*. Simbiosis mikoriza arbuskula ditandai dengan keberadaan arbuskula, *coils*, dan hifa di dalam akar terinfeksi. Selain itu, terdapat tipe ektomikoriza dengan anggota jamur *Basidiomycetes* dan *Ascomycetes* (Frey-Klett et al., 2007). Kedua belah pihak mempunyai peran dan mendapatkan keuntungan dari simbiosis mikoriza. Hifa jamur mikoriza berperan membantu akar dalam menyerap air dan unsur hara untuk tanaman, sementara tanaman menyediakan tempat hidup dan karbon untuk jamur (Harley & Smith., 1983 dalam Brundrett et al., 1996).

Beberapa genus mikoriza yang telah ditemukan berada di lahan tebu diantaranya *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*, dan *Sclerocystis* (Kumalawati et al., 2014). Sementara itu, genus dan spesies jamur mikoriza arbuskula yang telah digunakan untuk diaplikasikan pada tanaman tebu adalah *Funneliformis mosseae* (Juntahum et al., 2020), *Glomus* sp., *Funneliformis* sp., *Acaulaspora* sp., *Gigaspora* sp., dan *Scutellospora* sp. (Sulistiono et al., 2017).

Keberadaan mikoriza dalam suatu mikrobioma rizosfer diketahui mampu mengubah kelimpahan relatif suatu OTU. Berdasarkan penelitian Bahram et al. (2020), rizosfer tanaman dengan asosiasi mikoriza arbuskula mempunyai

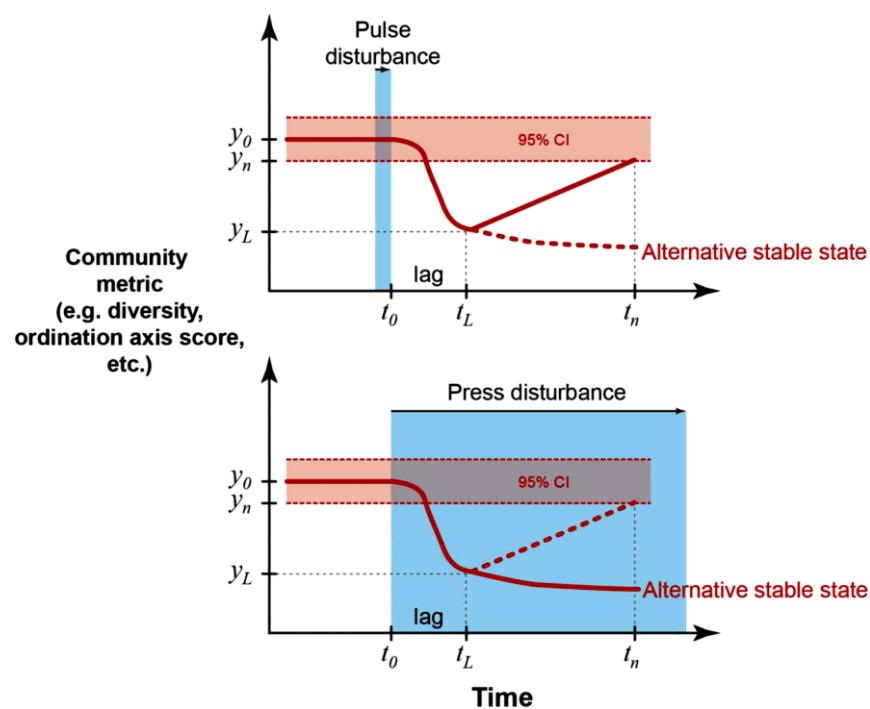
keragaman mikrobioma yang berbeda dengan rizosfer tanaman dengan asosiasi ektomikoriza. Sebagai contoh dalam penelitian Hao *et al.* (2021), keberadaan mikoriza arbuskular mengubah struktur mikrobioma rizosfer tanaman jagung yang tumbuh pada cekaman logam berat Lanthanum. Keberadaan mikoriza arbuskular tersebut meningkatkan kelimpahan bakteri *Planomicrobium*, *Lysobacter*, *Saccharothrix*, *Agrococcus*, *Microbacterium*, *Streptomyces*, dan jamur *Penicillium* yang membantu tanaman tahan cekaman Lanthanum dan meningkatkan pertumbuhan tanaman.

2.4. Gangguan dalam Ekosistem Tanah

Interaksi mikroorganisme dalam suatu sistem tanah yang kompleks merupakan faktor penting kesuburan tanah dan kesehatan tanaman (Ossowicki *et al.*, 2021). Fungsi atau peran mikroorganisme tanah dapat berubah karena adanya gangguan alami seperti kebakaran, erosi, banjir, tanah longsor, dan aktivitas hewan, atau manajemen tanah seperti pemupukan, aplikasi pestisida, olah tanah, rotasi tanaman, dan penambangan (Kandeler, 2007). *Disturbance* atau gangguan dalam suatu ekosistem diartikan sebagai sebuah proses yang menyebabkan hilangnya spesies atau taxa lain yang dominan secara kompetitif (Morris & Blackwood, 2007).

Ekosistem yang sangat terganggu, seperti lahan pertanian, biasanya didominasi oleh bakteri, sementara jamur lebih mendominasi pada lingkungan tanah dengan aerasi baik dan sedikit terganggu seperti padang rumput, lahan pertanian dengan sedikit olah tanah, dan hutan. Sukseksi suatu komunitas tanaman juga menyebabkan perubahan siklus nutrisi karena terjadi perubahan kualitas dan

kuantitas materi organik dari tubuh tanaman yang masuk ke dalam tanah maupun perubahan kebutuhan nutrisi tanaman dan mikroorganisme tanah (Horwath, 2007). Mengembalikan kondisi tanah dengan sedikit gangguan akan meningkatkan jumlah bakteri dan jamur serta aktivitas enzim dehydrogenase yang menjadi penanda aktivitas biologi (Smith & Collins, 2007).



Gambar 1. Contoh definisi kuantitatif resistansi dan resiliensi dalam ekologi menurut Shade *et al.* (2012). y_0 menunjukkan nilai rerata parameter tertentu komunitas mikroorganisme dengan variasi temporal diilustrasikan pada tingkat kepercayaan 95%. t_0 menunjukkan dimulai atau berakhirnya gangguan. Perubahan parameter ditunjukkan dengan $y_0 - y_L$ setelah jeda waktu $t_L - t_0$. y_n merupakan nilai parameter pada waktu t_n .

Respons suatu ekosistem terhadap adanya gangguan yang dialaminya dapat berupa *resistant* maupun *resilient*. *Resistant* terjadi apabila suatu ekosistem tidak berubah banyak setelah terjadi gangguan, sementara *resilient* terjadi ketika

suatu ekosistem berubah namun dapat kembali seperti kondisi sebelum terjadi gangguan dalam jangka waktu tertentu (Morris & Blackwood, 2007). Resistansi dan resiliensi dapat digambarkan dan dihitung secara kuantitatif seperti digambarkan pada Gambar 1. Berdasarkan ilustrasi pada Gambar 1, parameter tertentu dalam ekologi dikatakan telah kembali seperti semula (*recovered*) apabila secara statistik nilainya tidak berbeda dengan kondisi sebelum adanya gangguan. Namun demikian, parameter tersebut dapat pula berubah dalam kesetimbangan baru yang dapat terjadi karena tekanan gangguan secara terus menerus. Oleh karena itu, perbandingan ekosistem harus mempertimbangkan macam gangguan yang terjadi. Resistansi dan resiliensi terhadap normalisasi rerata dan variansi nilai parameter sebelum adanya gangguan harus mempertimbangkan durasi, intensitas, dan frekuensi gangguan (Shade et al., 2012).

Resiliensi mikrobioma tanah dapat terjadi ketika gangguan terjadi dalam jangka waktu pendek dan penyebab gangguan tidak mampu bertahan dalam ekosistem baru, seperti aplikasi bahan organik dan anorganik dalam kajian Lourenço *et al.* (2018). Penelitian tersebut menemukan bahwa aplikasi vinase dan pupuk nitrogen pada lahan pertanian tebu mengubah mikrobioma tanah. Namun demikian, mikrobioma tanah kembali seperti semula setelah 31 hari.

Gangguan perubahan suhu terhadap mikrobioma tanah telah mendapat perhatian para peneliti. Berdasarkan penelitian Dove *et al.* (2021), kebakaran hutan mengubah keragaman alfa mikrobioma pada tanah rizosfer maupun non rizosfer yang selanjutnya mengubah keragaman dan komposisi mikrobioma tanaman. Penelitian lain oleh Nuland et al. (2020) menemukan bahwa pemanasan yang terjadi

di bawah tanah dan kerusakan kanopi hutan beriklim transisi sedang-subarktik menyebabkan perubahan struktur, komposisi, dan fungsi komunitas mikroorganisme di tanah. Pemanasan mempengaruhi enzim tanah yang terlibat dalam proses hidrolitik dan pembebasan oksidatif karbon dari bahan organik dan dinding sel tumbuhan.

Penelitian untuk mendemonstrasikan gangguan komunitas mikroorganisme tanah biasanya dilakukan pada kondisi steril atau semi steril sehingga tercipta kondisi tanpa keberadaan mikrobioma tanah secara utuh. Kondisi tersebut menyebabkan hilangnya fungsi pemacu pertumbuhan dan perlindungan terhadap patogen, meskipun sterilisasi dianggap sebagai cara kasar yang hanya menghidupkan dan mematikan kondisi tanah (Ossowicki et al., 2021).

Sterilisasi tanah dalam sebuah penelitian memiliki berbagai macam metode yang digunakan dan berbagai pengaruh terhadap hasil penelitian. Hu *et al.* (2020) menelusuri 300 artikel ilmiah terkait mikoriza yang dipublikasikan selama 15 tahun. Beberapa metode yang ditemukan adalah autoklaf, pemanasan, iradiasi, dan formaldehida. Penelusuran tersebut memperoleh bahwa sebesar 62,7 % peneliti menggunakan metode autoklaf untuk mensterilkan tanah. Selain menghilangkan atau mengubah komunitas mikroorganisme tanah, sterilisasi tanah juga dapat mengubah kadar unsur hara dalam tanah (Hu *et al.*, 2020) serta serapan unsur hara (Miransari *et al.*, 2009) dan logam berat pada tanaman (Yazici *et al.*, 2021).

2.5. Keragaman Komunitas Mikroorganisme

Salah satu aspek fundamental dalam kajian ekologi adalah keragaman makhluk hidup di dalamnya. Berbagai metode telah dikembangkan untuk menjabarkan keragaman suatu komunitas dan merekam efeknya terhadap kesehatan dan fungsi suatu ekosistem (Willis, 2019). Keragaman komunitas biasanya dianalisis sebagai keragaman alfa (α -diversity), keragaman beta (β -diversity), dan keragaman gamma (γ -diversity) (Sepkoski, 1988).

Keragaman alfa menggambarkan struktur keragaman komunitas dalam suatu habitat atau intra-komunitas. Keragaman alfa mencakup keseragaman/*evenness* (distribusi kelimpahan kelompok), kekayaan/*richness* (jumlah kelompok taksonomi), atau keduanya (Thukral, 2017; Willis, 2019). Kekayaan spesies (*species richness*) dihitung berdasarkan jumlah individu pada setiap sampel atau area dan jumlah spesies di dalamnya. Semakin tinggi indeks *richness* menggambarkan semakin banyak jumlah spesies di dalamnya. Sementara itu, indeks *evenness* akan mempunyai nilai yang lebih tinggi apabila setiap spesies mempunyai jumlah individu yang seimbang (Thukral, 2017).

Indeks Shannon (Shannon-Wiener Index) merupakan salah satu indeks untuk menggambarkan kekayaan spesies. Indeks Shannon dikenalkan oleh C.E. Shannon (Shannon, 1948) yang pada awalnya dikembangkan untuk sistem komunikasi berdasarkan teori informasi yang pesannya dapat ditransmisikan menggunakan kode biner. Menurut Nagendra (2002), indeks Shannon direkomendasikan untuk manajemen lansekap berdasarkan kerangka ekologi

karena sensitif pada kehadiran suatu spesies. Persamaan untuk menghitung indeks Shannon adalah (Schloss, 2019):

$$H_{shannon} = - \sum_{i=1}^{S_{obs}} \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N} \quad (1)$$

Ket: S_{obs} = jumlah spesies (atau tingkatan taksonomi lain) yang diamati
 n_i = jumlah individu dalam spesies i
 N = jumlah total individu dalam suatu komunitas

Beberapa indeks selain indeks Shannon yang dapat digunakan untuk menggambarkan keragaman dalam suatu habitat diantaranya adalah Simpson index of diversity, Biodiversity index, Margalef's index, Odum's index, Menhinick's indeks, Fisher's, Berger-Parker Dominance index, dan Chao index (Thukral, 2017).

2.6. Glomalin Related Soil Protein

Menurut Wright & Upadhyaya (1996), glomalin merupakan suatu senyawa glikoprotein yang disekresikan oleh mikoriza arbuskular dan berperan dalam stabilisasi tanah. Namun demikian, penelitian terkini menyebut glomalin sebagai *glomalin related soil protein* (GRSP) karena pada kenyataannya merupakan campuran substansi yang juga mengandung protein, lipida, humat, senyawa anorganik, serta senyawa-senyawa yang bukan berasal dari mikoriza (Gillespie *et al.*, 2011).

Terdapat dua macam glomalin yaitu *easily extractable* (EE-GRSP) dan *total* (T-GRSP) yang dapat dibedakan berdasarkan metode ekstraksinya. Metode yang banyak digunakan untuk mengukur kadar glomalin tanah adalah ekstraksi dalam larutan sodium sitrat dan diukur secara spektrofotometri menggunakan pereaksi Bradford dan standar protein albumin serum sapi (Bovine Serum

Albumin/BSA) (Wright & Upadhyaya, 1996). Pengukuran kadar glomalin juga dapat dilakukan menggunakan teknik Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) yang dinilai lebih cepat dan ramah lingkungan (Rotter *et al.*, 2017; Zbíral *et al.*, 2017).

GRSP di dalam tanah berfungsi mendukung pembentukan agregat makro tanah (Chen *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2017), indikator deposisi karbon tanah (Adame *et al.*, 2012), indikator aktivitas biologi tanah (Gałązka *et al.*, 2017), dan juga disebut sebagai kantong penyimpanan nitrogen tanah (Meng *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian Meng *et al.* (2020), inokulasi mikoriza *R. intraradices*, *D. epigea*, dan *P. occultum* secara signifikan meningkatkan kadar N akar (41,7-49,1%) dan daun (8,1-13,6%), kadar N tanah (20-40%), kadar EE-GRSP (33-44%), dan kadar T-GRSP (31-54%). T-GRSP dalam penelitian tersebut memiliki kadar N 0,16 mg/g dan EE-GRSP sebesar 0,10 mg/g sehingga T-GRSP diperhitungkan menyumbang 18,1% sementara EE-GRSP menyumbang 15,6% total N tanah. Menurut Rotter *et al.*, (2017), T-GRSP dikombinasikan dengan T-GRSP/SOC berpotensi untuk mengetahui perubahan kualitatif perubahan bahan organik tanah yang berhubungan dengan peningkatan nitrogen reaktif.

2.7. Varietas Tebu AAS Agribun

Varietas tebu AAS Agribun yang dimiliki oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian merupakan hasil induksi mutasi Varietas Bululawang (BL) menggunakan *ethyl methan sulfonat*. AAS Agribun dilepas pada tahun 2018 dengan SK Menteri Pertanian Nomor 62/Kpts/KB.010/2/2018. Beberapa sifat Varietas BL yang diturunkan pada Varietas AAS Agribun adalah warna batang,

lapisan lilin, tipe kemasakan, dan peka terhadap penggerek pucuk dan batang. Perbaikan sifat Varietas BL terjadi pada kecepatan perkecambahan, produktivitas, rendemen, dan hablur.

2.8. Hipotesis

1. Inokulasi jamur mikoriza arbuskula lebih efektif meningkatkan kolonisasi mikoriza dan pertumbuhan tanaman tebu pada kondisi *home-field advantage*.
2. Komposisi komunitas bakteri tertentu mempengaruhi tingkat kolonisasi mikoriza dan pertumbuhan tanaman tebu.

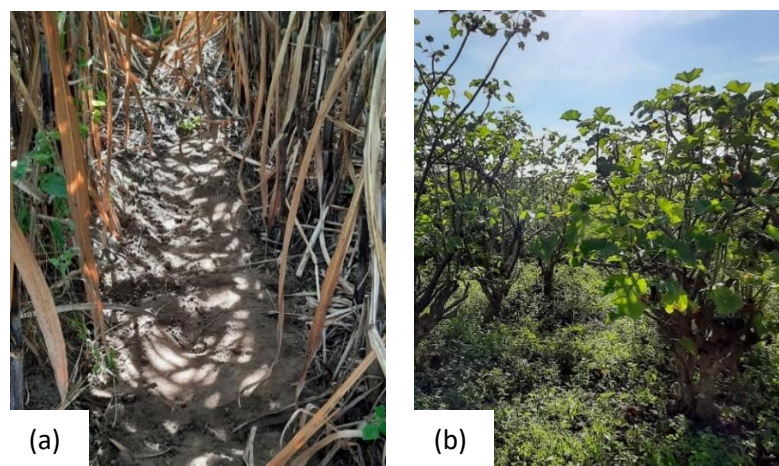
BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Bahan Penelitian

3.1.1. Tanah

Tanah yang digunakan untuk penanaman tebu adalah tanah Regosol yang berasal dari Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian (IP2TP) Asembagus yang berada di Desa Banyuputih, Kecamatan Banyuputih, Kabupaten Situbondo, Jawa Timur dengan posisi garis lintang 7°39-43 LS dan posisi garis bujur 114°121 BT serta ketinggian 5,5 m dpl. Tanah diambil dari lahan dengan riwayat penggunaan yang berbeda, yaitu tanah lahan pertanaman tebu (*home*) monokultur yang telah ditanami tebu selama 4 tahun dengan pengolahan tanah optimal dan lahan yang telah ditanami jarak pagar (*Jatropha curcas*) (*away*) selama 15 tahun dan pada saat pengambilan tanah banyak ditumbuhi rumput liar karena telah beberapa bulan tanpa olah tanah (Gambar 2).



Gambar 2. Lokasi pengambilan (a) tanah tebu (*home*) dan (b) tanah jarak pagar (*away*).

Setengah dari masing-masing tanah *home* dan *away* disteril (*disturbed*) dan setengahnya tidak disteril (*normal*). Sterilisasi bertujuan untuk mengganggu habitat mikroorganisme dalam tanah tersebut. Sterilisasi dilakukan dengan autoklaf selama 60 menit pada suhu 121°C sebanyak dua kali dalam dua hari berturut-turut. Karakter kimia tanah yang digunakan seperti disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Karakter kimia tanah *home* dan *away* sebelum dan setelah adanya gangguan atau sterilisasi.

Kondisi tanah		EE- GRSP	T- GRSP	N total	P tersedia	KTK	C org	pH
		mg/g	mg/g	%	ppm	cmol+/kg	%	
<i>Home</i>	<i>Normal</i>	0,03	0,88	0,10	44,85	9,75	1,56	7,17
	<i>Disturbed</i>	0,60	0,69	0,09	55,29	11,83	1,96	7,18
<i>Away</i>	<i>Normal</i>	0,21	1,60	0,10	51,31	12,86	2,00	7,28
	<i>Disturbed</i>	0,75	1,35	0,09	60,98	12,35	1,25	7,58

3.1.2. Inokulum jamur mikoriza arbuskula

Inokulum jamur mikoriza arbuskula (JMA) berupa spora jamur dan akar yang terinfeksi mikoriza dengan medium pembawa zeolit. Perlakuan inokulasi JMA berupa pemberian inokulan sebanyak 10 gram/tanaman dan tanpa inokulasi.

3.1.3. Benih tebu

Benih tebu varietas AAS Agribun diperoleh dari kebun benih IP2TP Asembagus. Benih tebu berupa budset mata tunas diambil dari batang tebu. Budset kemudian dipanaskan dengan metode *Hot Water Treatment* (HWT), yaitu dengan merendamnya pada air bersuhu 52°C selama 30 menit untuk mensterilkan benih dari penyakit terbawa benih.

3.2. Rancangan Penelitian

Penanaman tebu dilakukan dalam rumah kaca di Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat, Desa Kepuharjo, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Penelitian ini terdiri dari 4 kombinasi kondisi tanah yaitu *home-normal*, *home-disturbed*, *away-normal*, dan *away-disturbed*. Setiap kondisi tanah terdiri dari sepasang perlakuan *inoculated* dan *uninoculated* dengan masing-masing 3 ulangan. Tata letak tanaman berdasarkan prinsip Rancangan Acak Lengkap.

3.3. Cara kerja

3.4.1. Penanaman dan perawatan tanaman tebu

Polibag diisi dengan 5 kg tanah. Lima buah budset tebu ditanam pada masing-masing polibag. Inokulum mikoriza ditanam di bawah benih tebu pada saat tanam. Polibag berisi benih tebu ditutup menggunakan kantong plastik hitam untuk mendukung perkecambahan benih selama dua minggu pertama. Tanaman dijarangkan dengan menyisakan satu tanaman tiap polibag yang mempunyai pertumbuhan paling baik setelah berumur 3 minggu. Pupuk sintetis yang diberikan sebanyak sepertiga rekomendasi 200 kg N/ha, 100 kg P/ha, and 200 kg K/ha. Pupuk nitrogen dalam bentuk ZA (20% N) diberikan sebanyak 833 mg/polibag, pupuk fosfat diberikan dalam bentuk batuan fosfat (28% P₂O₅) sebanyak 30 mg/polibag, dan pupuk kalium dalam bentuk KCl (60% K) sebanyak 278 mg/polibag pada umur satu minggu setelah tanam. Penyiraman tanaman dilakukan 2-3 kali per minggu dengan jumlah yang sama untuk setiap polibag. Tanaman tebu disemprot dengan

akarisida Samite 135 EC (PT Tanindo Intertraco, Indonesia) pada umur 2 bulan setelah tanam sebanyak 1 ml/1 L air untuk mengontrol serangan tungau.

3.4.2. Panen dan penanganan sampel tanaman dan tanah

Tanaman tebu dipanen pada umur 15 minggu setelah tanam. Akar dicuci menggunakan air kran untuk menghilangkan tanah yang menempel, selanjutnya ditiriskan dan ditimbang berat basahanya. Sebagian akar dipisahkan untuk ekstraksi DNA, pengukuran kolonisasi mikoriza, dan kapasitas tukar kation dengan disimpan pada lemari pembeku (*freezer*) bersuhu -15°C hingga digunakan. Tajuk dan sisa akar dikeringkan dalam oven bersuhu 70°C hingga beratnya konstan untuk perhitungan berat kering tajuk dan akar.

3.4.3. Ekstraksi DNA

Akar yang digunakan sebagai sampel ekstraksi DNA merupakan akar muda yang berwarna putih yang mengindikasikan pertumbuhan aktif. Sampel akar yang diambil adalah kurang dari 5 cm dari ujung akar. Sterilisasi permukaan akar untuk menghilangkan mikroorganisme pada permukaan akar dilakukan dengan mencuci akar pada aquades steril, dicelupkan dalam 75% alkohol, 1% NaClO, dan dicuci kembali menggunakan aquades steril (Dong *et al.*, 2018). Setelah ditiriskan dalam kertas saring steril, akar tebu digerus dalam nitrogen cair menggunakan mortar hingga berbentuk serbuk. DNA akar diekstrak menggunakan FavorPrep™ Plant Genomic DNA Extraction Mini Kit (FAVORGEN Biotech Corp) dan dilakukan berdasarkan metode yang tercantum pada produk. Kualitas DNA

diverifikasi dengan elektroforesis pada 1% gel agarose (Joko et al., 2012) dalam 1x TBE (Tris-borate-EDTA), dalam kondisi 100 V selama 30 menit. Kuantitas dan kualitas DNA juga diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 230, 260, dan 280 nm menggunakan MN-913A Maestro NanoPro DNA RNA Protein Quantification Spectrophotometer.

3.4.4. Analisis keragaman genetik komunitas bakteri endofit akar

Analisis keragaman komunitas bakteri endofit akar tebu dilakukan berdasarkan gen *Ribosomal Intergenic Spacer* (RISA). Amplifikasi DNA untuk RISA menggunakan primer universal S926F (5'-CTYAAAKGAATTGACGC-3') dan L189R (5'-TCATGAGATGYTTMARTTC-3') (Yu & Mohn, 2001). Larutan reaksi PCR berisi 1 µl ekstrak DNA (10 ng), 1 µl masing-masing primer, 12,5 µl KOD One™ PCR Master Mix (Merck, Germany), dan *Nuclease Free Water* 9,5 µl sehingga total volume 25 µl. Amplifikasi DNA menggunakan *thermal cycler* (Bio Rad T100). Kondisi PCR terdiri dari predenaturasi pada suhu 94°C selama 2 menit, diikuti oleh 35 siklus denaturasi pada suhu 98°C selama 10 menit, penempelan pada suhu 47°C selama 30 detik, dan pemanjangan pada suhu 68 °C selama 1 menit. Setelah 35 siklus, pemanjangan akhir selama 7 menit pada suhu 68°C. Hasil amplifikasi dideteksi dengan elektroforesis pada 2,5% gel agarose (Vivantis, USA) dalam 1x TBE (Tris-borate-EDTA) menggunakan pewarna GelRed^(R) (Biotium) selama 4 jam, 50V. Hasil elektroforesis divisualisasi menggunakan GelDoc Wealtec KETA dan diamati pola pita DNA masing-masing sampel.

3.4.5. Penghitungan kolonisasi mikoriza pada akar

Pengamatan kolonisasi mikoriza pada akar dilakukan dengan metode pewarnaan akar. Pewarnaan akar dilakukan pada akar-akar muda yang telah dipotong 1 cm dan dicuci dengan aquades hingga bersih dari sisa tanah (Hao *et al.*, 2021). Selanjutnya potongan akar direbus dalam larutan 10% KOH selama 10 menit pada suhu 90°C untuk membersihkan akar. Potongan akar dicuci dengan aquades kemudian diputihkan dan diasamkan pada 1 N HCl. Pewarnaan akar dilakukan dengan merebus potongan akar dalam 0,05% trypan blue dalam larutan laktogliserol (asam laktat : gliserol : aquades = 1:1:1) selama 5 menit (Brundrett *et al.*, 1996). Potongan akar yang telah diwarnai disimpan dalam laktogliserol hingga pengamatan dilakukan. Pengamatan adanya infeksi mikoriza dilakukan di bawah mikroskop perbesaran 100x pada 100 potongan akar dari masing-masing sampel berdasarkan metode *slide* ± dalam Giovannetti & Mosse (1980). Kolonisasi mikoriza pada akar ditandai dengan keberadaan hifa, vesikula, dan arbuskula. Kolonisasi mikoriza dihitung berdasarkan rumus:

$$\frac{\text{jumlah akar terinfeksi}}{\text{jumlah akar yang diamati}} \times 100\% \quad (2)$$

3.4.6. Pengukuran kadar *glomalin related soil protein* (GRSP) dan karakter kimia tanah

Pengukuran kadar glomalin tanah yang mencakup EE-GRSP dan T-GRSP dilakukan berdasarkan metode Wright & Upadhyaya (1996). EE-GRSP diperoleh dengan mengekstrak satu gram tanah kering yang telah diayak. Tanah tersebut disuspensikan dalam 20 mM sitrat sebanyak 8 ml, pH 7,0 dan diautoklaf pada suhu

121°C selama 30 menit. Selanjutnya suspensi tanah disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan supernatannya. T-GRSP diperoleh dengan pengulangan ekstraksi dari satu gram tanah kering yang telah diayak dalam 50 mM sitrat sebanyak 8 ml pH 8,0 diautoklaf pada suhu 121°C selama 60 menit. Setiap selesai proses autoklaf, suspensi tanah disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, dan supernatan dikumpulkan. Siklus ekstraksi dilakukan hingga tidak ada warna merah kecoklatan pada supernatan yang menandakan keberadaan glomalin. Ekstrak dari setiap siklus tersebut dikumpulkan dan dihomogenkan. Masing-masing ekstrak EE-GRSP dan T-GRSP disentrifugasi dengan kecepatan 9000 rpm selama 5 menit untuk menghilangkan partikel tanah yang tersisa dan dianalisis. Protein dalam supernatan dianalisis menggunakan reagen Bio Rad Protein assay dengan standar serum albumin sapi (Gałazka *et al.*, 2017).

Pengujian kimia tanah lainnya dilakukan di Laboratorium Balai Penelitian Aneka Kacang dan Umbi (Terakreditasi KAN). Parameter yang diuji meliputi nitrogen total (Kjeldahl), P tersedia (P-Olsen/P₂O₅), kapasitas tukar kation (NH₄OAc pH 7,0), dan C organik (Walkley & Black). pH tanah (H₂O) diukur menggunakan elektroda gelas di Laboratorium Terpadu Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat berdasarkan metode Balittanah (2009).

3.4.7. Pengukuran kapasitas tukar kation (KTK) akar

Akar dicuci hingga bersih dengan air mengalir. Akar dikeringkan pada suhu 80°C hingga kering oven, dihaluskan, dan disaring dengan ukuran lubang

saringan 0,7-1,0 mm. Sebanyak 200 mg serbuk akar dimasukkan dalam gelas piala dan dibasahi menggunakan beberapa tetes akuades supaya pada tahap selanjutnya akar tidak mengapung. Akar yang telah dibasahi ditambahkan 200 ml 0,01 N HCl dan diaduk selama 5 menit. Selanjutnya suspensi disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan dibilas menggunakan akuades hingga bebas klorida untuk menghilangkan asam, ditandai dengan air bilasan yang keluar dari kertas saring mempunyai pH 7 (diuji kertas lakmus). Bagian bawah kertas saring dilubangi dan serbuk akar dibilas dengan 200 ml 1 N KCl (pH 7,0) sehingga serbuk akar tersuspensi dan tertampung dalam gelas piala. pH larutan suspensi akar dan KCl diukur dan selanjutnya dititrasi menggunakan 0,01 N KOH hingga mencapai pH 7,0 kembali. KTK akar dihitung per 100 g berat kering akar dengan satuan meq (mili equivalen) (Crooke, 1964). KTK akar dihitung berdasarkan rumus:

$$\frac{\text{volume titran (KOH) (ml)} \times 0.01 \text{ N}}{\text{BK akar (g)}} \times 100 \quad (3)$$

3.4.8. Amplicon sequencing gen 16S rRNA

DNA genom akar tebu dari perlakuan kondisi tanah *home* dibaca urutan basanya dengan metode *Next Generation Sequencing* (NGS) oleh Novogene, Singapura. Analisis komposisi komunitas bakteri dilakukan berdasarkan gen 16S rRNA. Gen 16S rRNA bakteri diamplifikasi menggunakan primer 341F (CCTAYGGGRBGCASCAG) and 806R (GGACTACNNGGGTATCTAAT) yang menarget daerah V3-V4. Produk PCR yang dipilih mempunyai panjang 400-450 bp berdasarkan hasil elektroforesis gel agarose 2%. Setelah pemurnian produk PCR

dan penyusunan *library*, dilakukan pembacaan urutan basa dengan platform Illumina NovaSeq 6000 yang menghasilkan 250 bp *paired-end reads*.

3.4. Analisis Data

3.4.1. Analisis keragaman komunitas bakteri

Analisis keragaman alfa (α -diversity) yaitu indeks Shannon komunitas bakteri dihitung berdasarkan pola pita DNA yang terbentuk dari hasil RISA. Setiap satu pita yang terbentuk dianggap sebagai satu OTU (*Operational Taxonomic Unit*) (Srivastava et al., 2016). Penghitungan dilakukan menggunakan R studio dengan “vegan” *package* (Oksanen et al., 2022). Pengaruh inokulasi JMA dibanding tanpa inokulasi dianalisis dengan uji t independen (*independent t-test*) pada perangkat lunak R Studio dengan “ggpubr” *package* (Kassambara, 2020). Pola pita tersebut juga dijadikan dasar pembuatan dendrogram menggunakan metode *unweighted pair group of arithmetic average* (UPGMA) dalam perangkat lunak NTSyS PC 2.11a.

3.4.2. Analisis data agronomi dan kimia tanah

Analisis hasil pengamatan parameter BK tajuk, BK akar, tingkat kolonisasi mikoriza, KTK akar, dan karakter kimia tanah dilakukan dengan uji t independen (*independent t-test*) untuk mengetahui pengaruh perlakuan inokulasi JMA dibanding tanpa inokulasi. Analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak R Studio dengan “ggpubr” *package* (Kassambara, 2020). *Boxplot* disusun

menggunakan “ggplot2” (Wickham, 2016) dan “tidyverse” *package* (Wickham *et al.*, 2019).

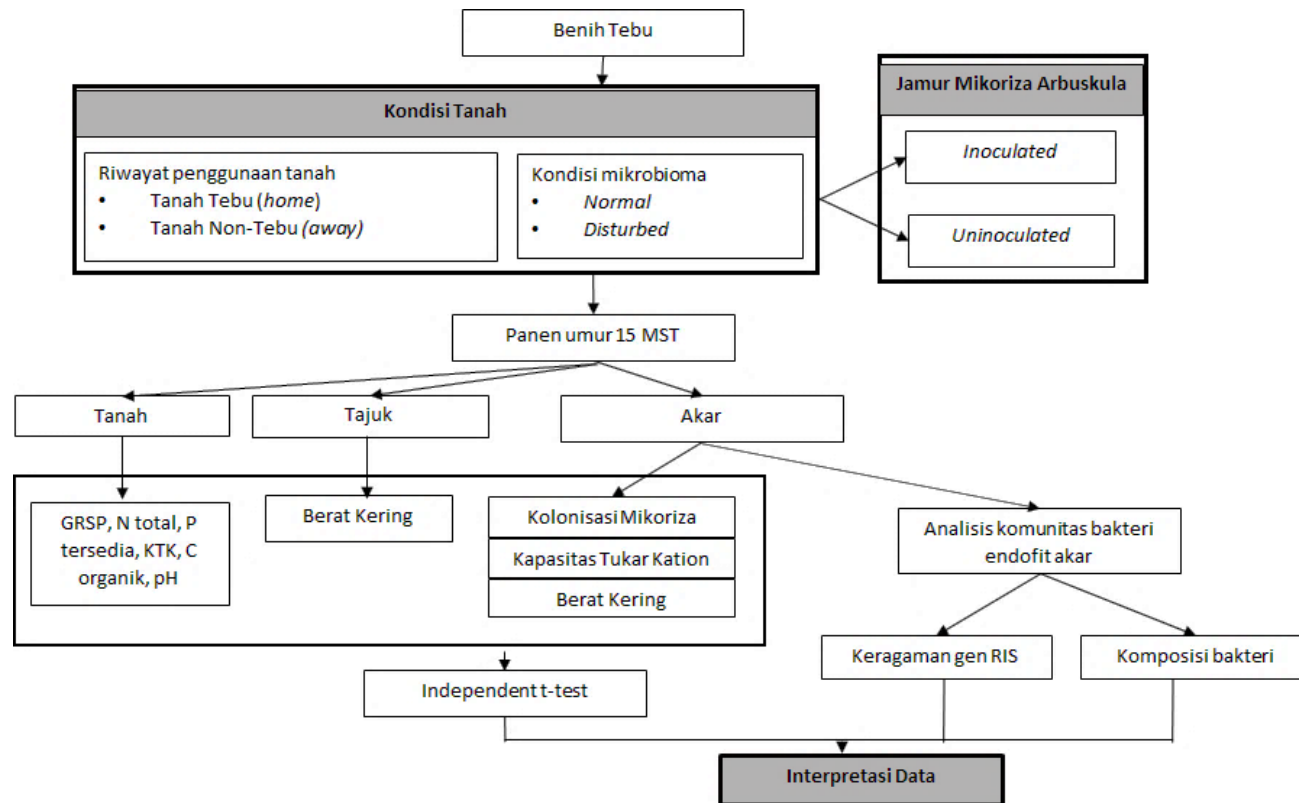
3.4.3. Analisis metagenome komunitas bakteri

Hasil pembacaan urutan basa gen 16S rRNA dalam bentuk *paired-end reads* selanjutnya dianalisis bioinformatika untuk menghasilkan informasi mengenai keragaman komunitas bakteri. Setelah penghapusan *sequence* primer dan barcode, *paired-end reads* digabungkan menggunakan FLASH V1.2.7 berdasarkan hasil pembacaan yang tumpang-tindih dari arah yang berlawanan pada fragmen DNA yang sama. Hasil penggabungan tersebut menghasilkan *raw tags*. *Quality filtering* pada *raw tags* dilakukan menggunakan QIIME V1.7.0 untuk menghasilkan *high-quality clean tags*. *Tags* dibandingkan dengan database referensi (Gold Database) menggunakan algoritma UCHIME untuk mendeteksi keberadaan *chimera*. *Chimera* dihilangkan untuk menghasilkan *Effective Tags*.

Pengelompokkan *Operational Taxonomic Unit* (OTU) didasarkan pada kesamaan *sequence* $\geq 97\%$ menggunakan perangkat lunak Uparse v7.0.1001. Anotasi taksonomi dilakukan menggunakan database GreenGene berdasarkan algoritma RDP *classifier* versi 2.2. Penjajaran urutan basa dilakukan secara *multiple* menggunakan perangkat lunak MUSCLE versi 3.8.31 untuk mengetahui hubungan OTU yang berbeda. OTU yang terdeteksi sebagai mitokondria dan kloroplas dihilangkan. Penghitungan dan pembuatan histogram kelimpahan relatif menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel*.

3.5. Alur Penelitian

Alur penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



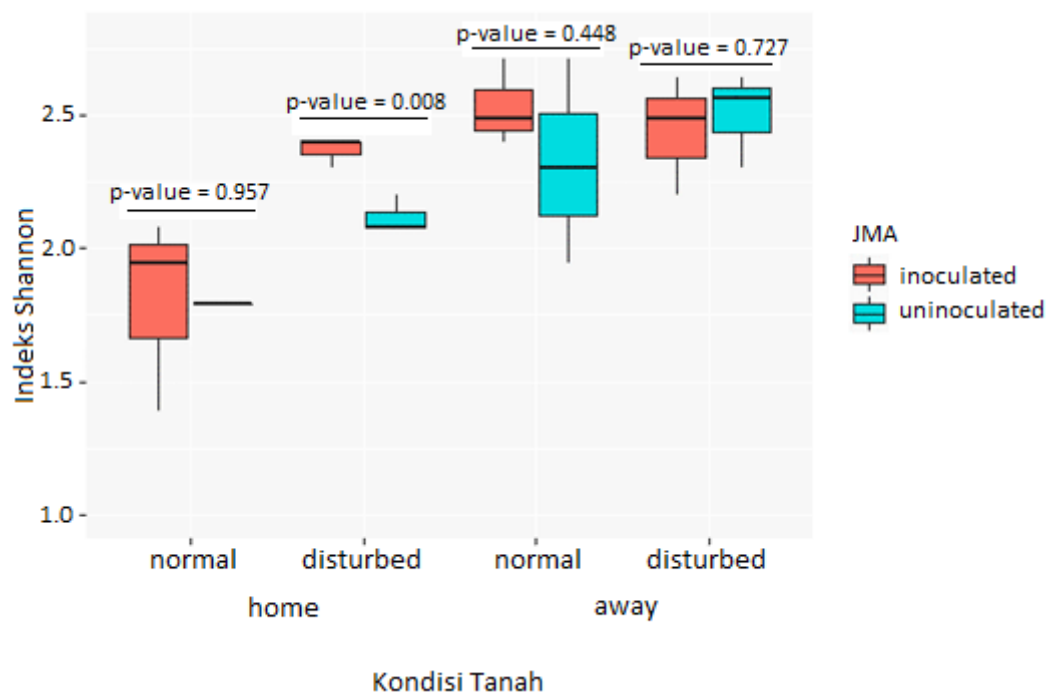
Gambar 3. Alur penelitian dalam penelitian Efektivitas Inokulasi Jamur Mikoriza Arbuskula pada *Home-Field Advantage* Tanaman Tebu

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

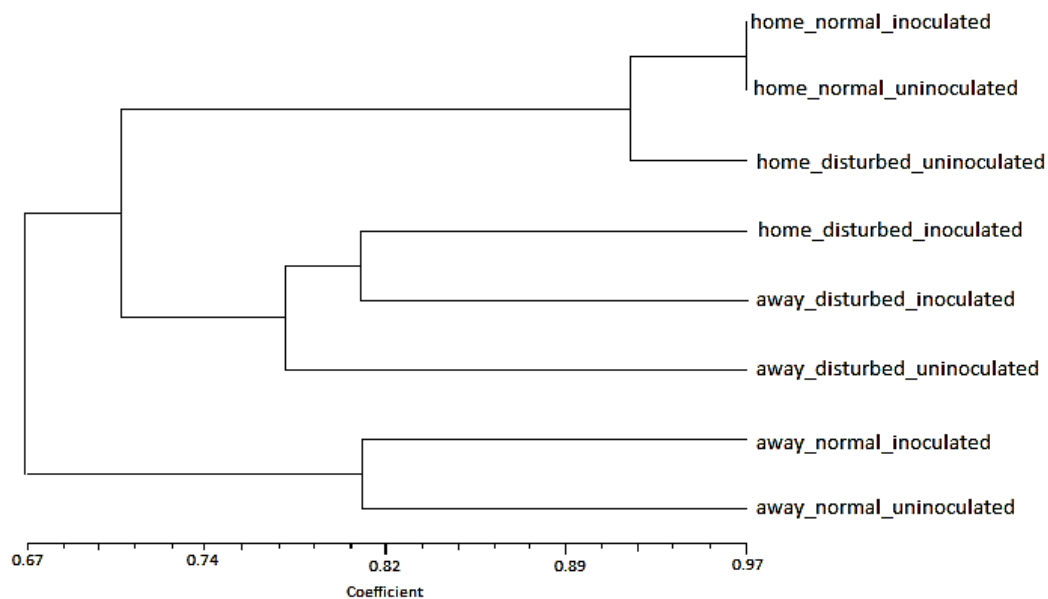
4.1. Keragaman Komunitas Bakteri Endofit Akar Tebu

Mikroorganisme endofit akar menempati bagian dalam atau endosfer akar mempunyai lingkungan yang lebih terlindungi, seragam, dan kaya nutrisi dibanding lingkungan yang dekat dengan tanah (Liu *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian de Souza *et al.* (2016), bakteri endofit tebu diperkirakan berasal dari tanah di area pertanaman karena kemiripan 90% OTU dalam kedua lingkungan tersebut sehingga penelitian ini berfokus mengkaji keragaman dan komposisi bakteri endofit akar.



Gambar 4. Perubahan indeks Shannon komunitas bakteri endofit akar tebu AAS Agribun umur 15 MST berdasarkan pola pita DNA yang terbentuk pada *Ribosomal Intergenic Spacer Analysis* akibat perlakuan inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah *home* dan *away* dalam kondisi *normal* maupun *disturbed*. p-value berdasarkan independent t test, 2 tail, $n = 3$.

Keragaman genetik komunitas bakteri endofit akar tebu digambarkan pada pola pita DNA yang terbentuk dari hasil amplifikasi gen *Ribosomal Intergenic Spacer* (RIS) seperti disajikan dalam Lampiran 1. Gambar 4 menunjukkan keragaman alfa berdasarkan hasil RISA dan perubahannya akibat inokulasi JMA. Semakin tinggi nilai indeks Shannon menunjukkan semakin tinggi keragaman DNA gen RIS bakteri di dalamnya, sementara semakin rendah nilai p-value menunjukkan semakin tinggi perubahan yang terjadi. Analisis pengelompokkan berdasarkan hasil RISA ditunjukkan secara lengkap pada Lampiran 2 dan secara ringkas setiap perlakuan pada Gambar 5.



Gambar 5. Analisis pengelompokkan (*clustering analysis*) berdasarkan persentase kesamaan gen *Ribosomal Intergenic Spacer* (RIS) komunitas bakteri endofit akar tebu AAS Agribun umur 15 MST pada tanah *home* dan *away* dengan kondisi *normal* dan *away* serta *inoculated* dan *uninoculated* dengan JMA.

Berdasarkan analisis keragaman alfa, hampir tidak terjadi perubahan keragaman alfa ($p\text{-value} = 0,957$) akibat inokulasi JMA pada tanah *home-normal*.

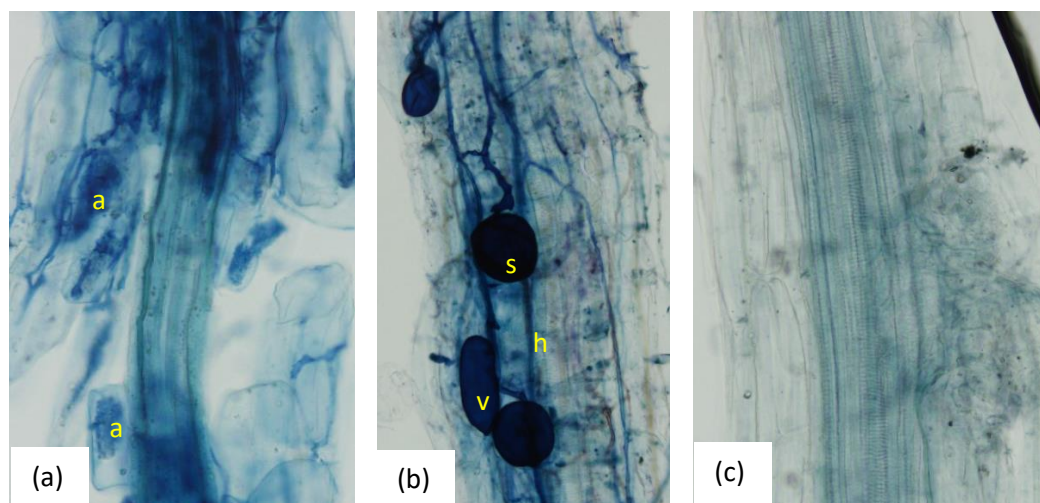
Analisis pengelompokan (*clustering analysis*) pada tanah *home-normal* juga menunjukkan bahwa derajat kesamaan antara perlakuan yang diinokulasi JMA (*inoculated*) dan tanpa inokulasi (*uninoculated*) mencapai 97%. Perubahan keragaman yang lebih besar akibat inokulasi JMA terjadi pada tanah *away-normal* dengan derajat kesamaan 81% dan $p\text{-value} = 0,448$. Hal tersebut menunjukkan bahwa ketika mikoriza hadir dalam suatu lingkungan, komunitas bakteri lebih stabil pada tanah dan tanaman yang *sympatric* atau *home soil*.

Tanah *disturbed* atau yang telah terganggu yang diinokulasi JMA pada tanah *home* dan *away* mengelompok pada cabang yang sama dan memiliki derajat kesamaan 81%. Hal tersebut menunjukkan bahwa gangguan dalam mikrobioma tanah mengubah komunitas bakteri dengan membentuk komunitas bakteri endofit akar yang relatif serupa dengan adanya inokulasi JMA. Perubahan keragaman alfa pada tanah *home-disturbed* sangat signifikan ($p\text{-value} = 0,008$) sementara pada tanah *away-disturbed* tidak signifikan ($p\text{-value} = 0,727$). Meskipun demikian, perlakuan *uninoculated* dan *inoculated* pada tanah *disturbed* memiliki komunitas bakteri dengan derajat kesamaan yang rendah dibanding tanah normal, baik pada tanah *home* (70,8%) maupun *away* (78%).

Derajat kesamaan terendah diperoleh pada perlakuan tanah *home* dan *away* yang dalam kondisi *normal* (67%). Hal ini menunjukkan besarnya perbedaan komunitas bakteri pada kedua riwayat penggunaan tanah tersebut. Keragaman alfa tanah *away* lebih tinggi dibanding tanah *home*. Hal tersebut diperkirakan karena komunitas bakteri pada tanah *home* hanya dihuni oleh komunitas bakteri yang telah sesuai dengan habitat endosfer tebu sehingga memiliki keragaman yang rendah.

4.2. Kolonisasi Mikoriza pada Akar Tebu

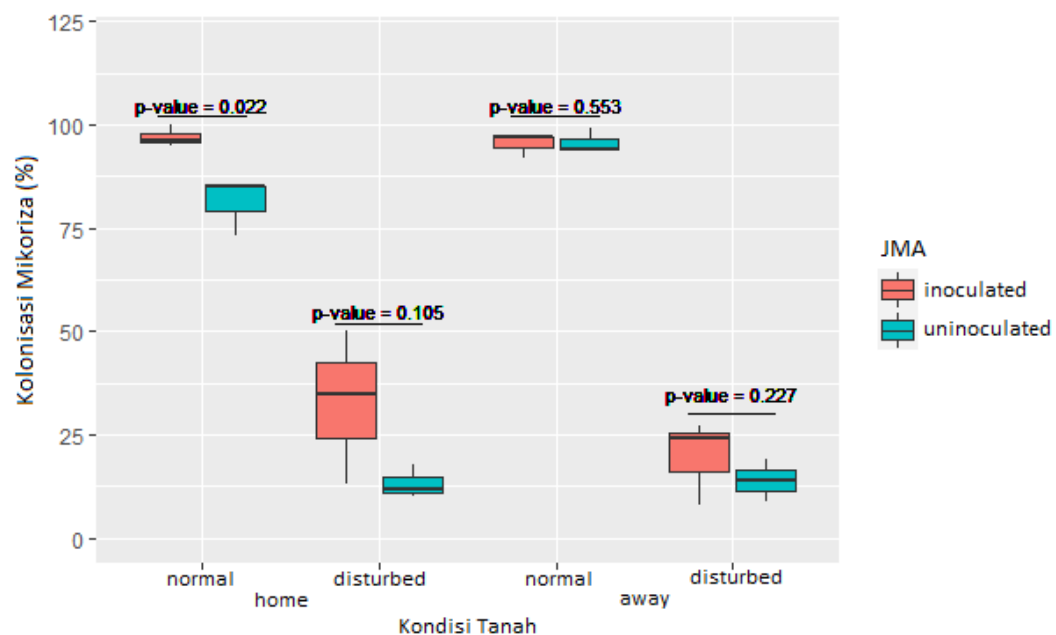
Terbentuknya simbiosis antara jamur mikoriza dan akar tanaman ditandai dengan keberadaan hifa, arbuskula, dan vesikula pada jaringan akar tanaman seperti pada Gambar 6. Kolonisasi mikoriza pada akar tebu dalam penelitian ini sangat dipengaruhi oleh perubahan komposisi mikrobioma tanah akibat adanya gangguan (*disturbance*), baik pada tanah *home* maupun *away* (Gambar 7). Rata-rata persentase kolonisasi mikoriza pada tanah *normal* berkisar 81,00-97,00%, sementara pada tanah *disturbed* hanya 13,33-32,67%.



Gambar 6. (a, b) Akar yang terkolonisasi mikoriza dan (c) akar tanpa kolonisasi mikoriza pada tanaman tebu AAS Agribun umur 15 MST. a: arbuskula, h: hifa, v: vesikula, s: spora.

Pengaruh inokulasi JMA lebih nyata pada tanah *home* dibanding *away*. Peningkatan kolonisasi mikoriza pada tanah *home* akibat inokulasi mempunyai tingkat kepercayaan 97,8% ($p\text{-value} = 0,022$) pada tanah *normal* dan 89,5% ($p\text{-value} = 0,105$) pada tanah *disturbed*. Sementara pada tanah *away*, tingkat kepercayaan peningkatan kolonisasi hanya 44,7% ($p\text{-value} = 0,553$) dan 77,3% ($p\text{-value} = 0,105$) pada tanah *disturbed*.

value = 0,227). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kolonisasi mikoriza dari JMA yang *allopatric* dapat terjadi lebih optimal pada tanah dan tanaman yang bersifat *sympatric* dan menandakan fenomena *Home-Field Advantage* (HFA) seperti yang dikemukakan oleh Rúa *et al.* (2016) dan Wang *et al.* (2019).



Gambar 7. Persentase kolonisasi mikoriza pada akar tanaman tebu varietas AAS Agribun umur 15 MST akibat perlakuan inokulasi JMA pada tanah *home* dan *away* dalam kondisi *normal* maupun *disturbed*. p-value berdasarkan independent t test, 1 tail, $n = 3$.

Inokulasi JMA pada tanah *normal* menghasilkan kolonisasi mikoriza pada akar tebu dengan kisaran 95,33-97,00%. Tanah *normal* masih dapat menghasilkan kolonisasi mikoriza pada akar meskipun tanpa inokulasi karena terdapat mikoriza indigenous tanah. Ditemukan sebanyak 12 spora/100 g tanah pada tanah *home*, sementara pada tanah *away* terdapat lebih banyak spora JMA, yaitu sebanyak 23 spora/100 g tanah. Oleh karena itu pada perlakuan tanpa inokulasi, tanah *away* menghasilkan kolonisasi mikoriza lebih tinggi dibanding tanah *home*.

Inokulasi JMA hanya mampu menghasilkan kolonisasi sebesar 19,67-32,67% pada tanah *disturbed*. Kolonisasi mikoriza yang lebih rendah pada tanah yang disteril (*disturbed*) juga diperoleh pada penelitian terdahulu (Aggangan *et al.*, 2019; Hu *et al.*, 2020; Oruru *et al.*, 2018). Keragaman alfa yang lebih tinggi pada tanah *disturbed* tidak menghasilkan efek yang positif terhadap kolonisasi mikoriza.

Tanah *disturbed* dan tanpa inokulasi masih mampu menghasilkan kolonisasi mikoriza meskipun hanya 13,33-14,00% (Gambar 7). Hal tersebut menandakan bahwa gangguan akibat sterilisasi autoklaf selama dua jam tidak menghilangkan seluruh inokulum mikoriza indigenous tanah. Berdasarkan penelitian Hu *et al.* (2020), sterilisasi tanah baik menggunakan panas (180°C) maupun autoklaf (120°C, 0,1 MPa) ditemukan menurunkan secara signifikan viabilitas dan perkecambahan spora mikoriza yang ada di dalamnya. Rusaknya struktur komunitas mikroorganisme serta menurunnya viabilitas dan perkecambahan spora diperkirakan menyebabkan tanah *disturbed* dan tanpa inokulasi menghasilkan kolonisasi mikoriza paling rendah.

Penelitian Aggangan *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa besarnya kolonisasi mikoriza tidak selalu berhubungan dengan pertumbuhan tanaman. Menurut Battini *et al.* (2017), hubungan antara tanaman, mikoriza, dan bakteri mikorizosfer sangat kompleks dan dapat memperoleh hasil yang berbeda.

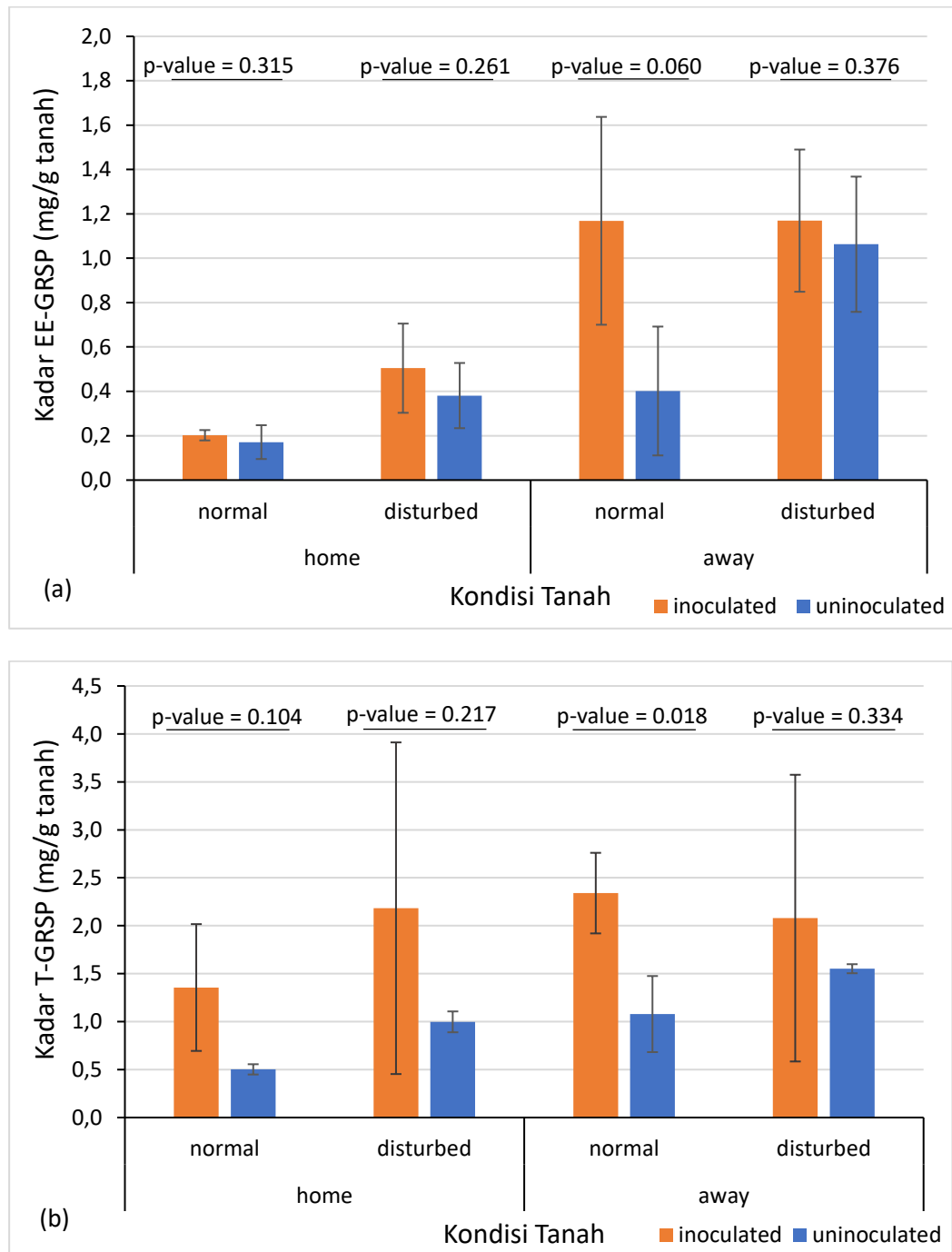
4.3. Karakter Kimia Tanah

Karakter kimia tanah yang diuji dalam penelitian ini meliputi N total, P tersedia, C organik, kapasitas tukar kation (KTK), pH, dan GRSP (*Glomalin*

Related Soil Protein). Inokulasi JMA tidak berpengaruh signifikan terhadap perubahan karakter kimia tanah, kecuali GRSP (Lampiran 3). Meskipun tidak signifikan, kadar N total dan C organik pada tanah dengan perlakuan inokulasi JMA menunjukkan nilai yang lebih kecil dibanding tanpa inokulasi. Perubahan kadar P tersedia, KTK, dan pH tanah akibat inokulasi JMA mempunyai pengaruh berbeda pada tanah *normal* dan *disturbed*.

Glomalin yang diukur dalam penelitian ini meliputi glomalin mudah terekstrak (EE-GRSP) dan glomalin total (T-GRSP). Perubahan kadar GRSP akibat inokulasi JMA pada berbagai perlakuan disajikan pada Gambar 8. Kadar EE-GRSP maupun T-GRSP sebelum tanam tanah *away* lebih tinggi dibanding tanah *home*. Kadar EE-GRSP awal pada tanah *home-normal* hanya 0,03 mg/g kemudian meningkat menjadi rata-rata 0,19 mg/g setelah digunakan untuk penelitian, sementara tanah *away-normal* mempunyai kadar awal EE-GRSP 0,21 mg/g dan meningkat menjadi 0,79 mg/g (Tabel 1 dan Gambar 8a).

Kadar EE-GRSP yang lebih tinggi pada tanah tanpa dan sedikit pengolahan juga diperoleh pada penelitian Gałazka *et al.* (2017). Tanah *away* berasal dari tanah pertanaman jarak pagar dengan sedikit olah tanah yang ditandai dengan pertumbuhan rumput liar. Pengolahan tanah dapat menjadi penyebab rusaknya jamur mikoriza di dalam tanah karena kadar glomalin berkaitan erat dengan kolonisasi mikoriza (Chen *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2017). Hasil ini juga diperkuat dengan data kolonisasi mikoriza pada perlakuan tanpa inokulasi menunjukkan hasil lebih tinggi pada tanah pertanaman jarak pagar (tanah *away*) (Gambar 7).



Gambar 8. Kadar (a) EE-GRSP dan (b) T-GRSP tanah rizosfer tanaman tebu AAS Agribun umur 15 MST akibat perlakuan inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah *home* dan *away* dalam kondisi *normal* maupun *disturbed*. Diagram batang menunjukkan nilai rata-rata $\pm$ standar deviasi ($n = 3$). p-value berdasarkan independent t test, 1 tail.

Gangguan berupa sterilisasi menghasilkan kadar EE-GRSP yang lebih tinggi dibanding tanah *normal*. Kadar EE-GRSP tanah awal sebelum penelitian meningkat 20 kali lipat pada tanah *home* dan 2,6 kali lipat pada tanah *away* akibat sterilisasi (Tabel 1). Suhu dan tekanan yang tinggi menyebabkan glomalin tanah lebih tersedia pada tanah dengan perlakuan sterilisasi, meskipun tingkat kolonisasi mikoriza lebih rendah (Gambar 7).

Inokulasi JMA meningkatkan kadar EE-GRSP pada seluruh perlakuan (Gambar 8a). Peningkatan tertinggi kadar EE-GRSP akibat inokulasi JMA terjadi pada perlakuan tanah *away-normal* ($p\text{-value} = 0,06$). Berbeda dengan penelitian yang menemukan bahwa kadar glomalin dalam tanah berkorelasi positif dengan kolonisasi mikoriza arbuskular (Chen *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2017), dalam penelitian ini peningkatan kolonisasi mikoriza pada tanah *home* secara signifikan tidak diikuti oleh kenaikan kadar EE-GRSP maupun T-GRSP yang signifikan. Sebaliknya, tanah *away-normal* yang diinokulasi JMA mengalami kenaikan kadar EE-GRSP dan T-GRSP secara signifikan meskipun tanpa kenaikan signifikan dalam persentase kolonisasi mikoriza. Hal tersebut mungkin terjadi karena kadar GRSP yang terukur termasuk diantaranya senyawa-senyawa yang bukan berasal dari mikoriza seperti yang dikemukakan oleh Gillespie *et al.* (2011).

Inokulasi JMA juga meningkatkan kadar T-GRSP pada semua perlakuan. Peningkatan kadar T-GRSP terbesar terjadi pada perlakuan tanah *away-normal* ($p\text{-value} = 0,018$) yang diikuti oleh tanah *home-normal* ($p\text{-value} = 0,104$), tanah *home-disturbed* ($p\text{-value} = 0,217$), dan tanah *away-disturbed* ($p\text{-value} = 0,334$). Peningkatan kadar T-GRSP sebanyak 1,12-1,15 kali pada perlakuan yang

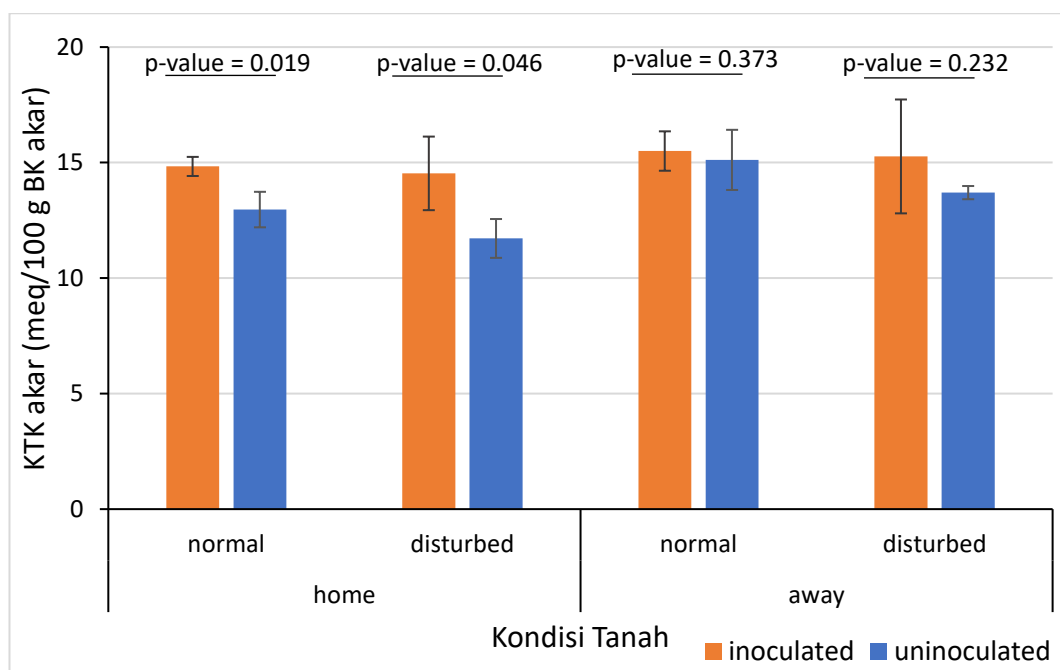
diinokulasi mikoriza dibanding tanpa inokulasi juga terjadi pada penelitian Chen *et al.* (2020).

Peningkatan berat biomasa tanaman akibat inokulasi mikoriza pada semua perlakuan dapat dikaitkan dengan kadar GRSP yang lebih tinggi. Penelitian Chi *et al.* (2018) menemukan bahwa aplikasi EE-GRSP pada tanaman jeruk mampu meningkatkan pertumbuhan dan biomasa tanaman. Secara umum, EE-GRSP yang diaplikasikan meningkatkan laju fotosintesis, potensial air daun, laju transpirasi, konsentrasi CO₂ interseluler, dan konduktansi stomata. Aplikasi EE-GRSP mampu menurunkan suhu daun serta meningkatkan konsentrasi asam absisat, asam indolasetat, dan metal jasmonat pada daun dalam kondisi cekaman kekeringan dibandingkan tanpa aplikasi. Meng *et al.* (2020) juga berpendapat bahwa T-GRSP menjadi indikator tingginya aktivitas mikoriza

4.4. Kapasitas Tukar Kation Akar

Kapasitas Tukar Kation (KTK) akar menggambarkan kemampuan akar dalam menyerap nutrisi dari tanah (Mitsui & Ueda, 1963). Berdasarkan penelitian Manzoor *et al.* (2022) dan Mahanta *et al.* (2018), kapasitas tukar kation (KTK) akar berkorelasi positif dengan serapan N, P, dan K biomasa. Peningkatan serapan nutrisi tersebut pada akhirnya meningkatkan berat kering biomasa tanaman serta hasil panen pada kedua penelitian tersebut. N dan P merupakan unsur-unsur yang paling banyak ditemukan dalam molekul biologi penyusun sel makhluk hidup (Lodish *et al.*, 2005).

Nilai KTK akar tebu dalam penelitian ini seperti ditunjukkan pada Gambar 9. Peningkatan KTK akar akibat inokulasi JMA terjadi secara signifikan pada tanah *home* (p -value = 0,019 dan 0,046), namun tidak signifikan pada tanah *away* (p -value = 0,373 dan 0,232). Peningkatan KTK akar tersebut sejalan dengan peningkatan tingkat kolonisasi mikoriza pada akar tebu.



Gambar 9. Kapasitas Tukar Kation (KTK) akar tanaman tebu AAS Agribun pada umur 15 MST akibat perlakuan inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah *home* dan *away* dalam kondisi *normal* maupun *disturbed*. Diagram batang menunjukkan nilai rata-rata $\pm$ standar deviasi ($n = 3$). p -value berdasarkan independent t test, 1 tail.

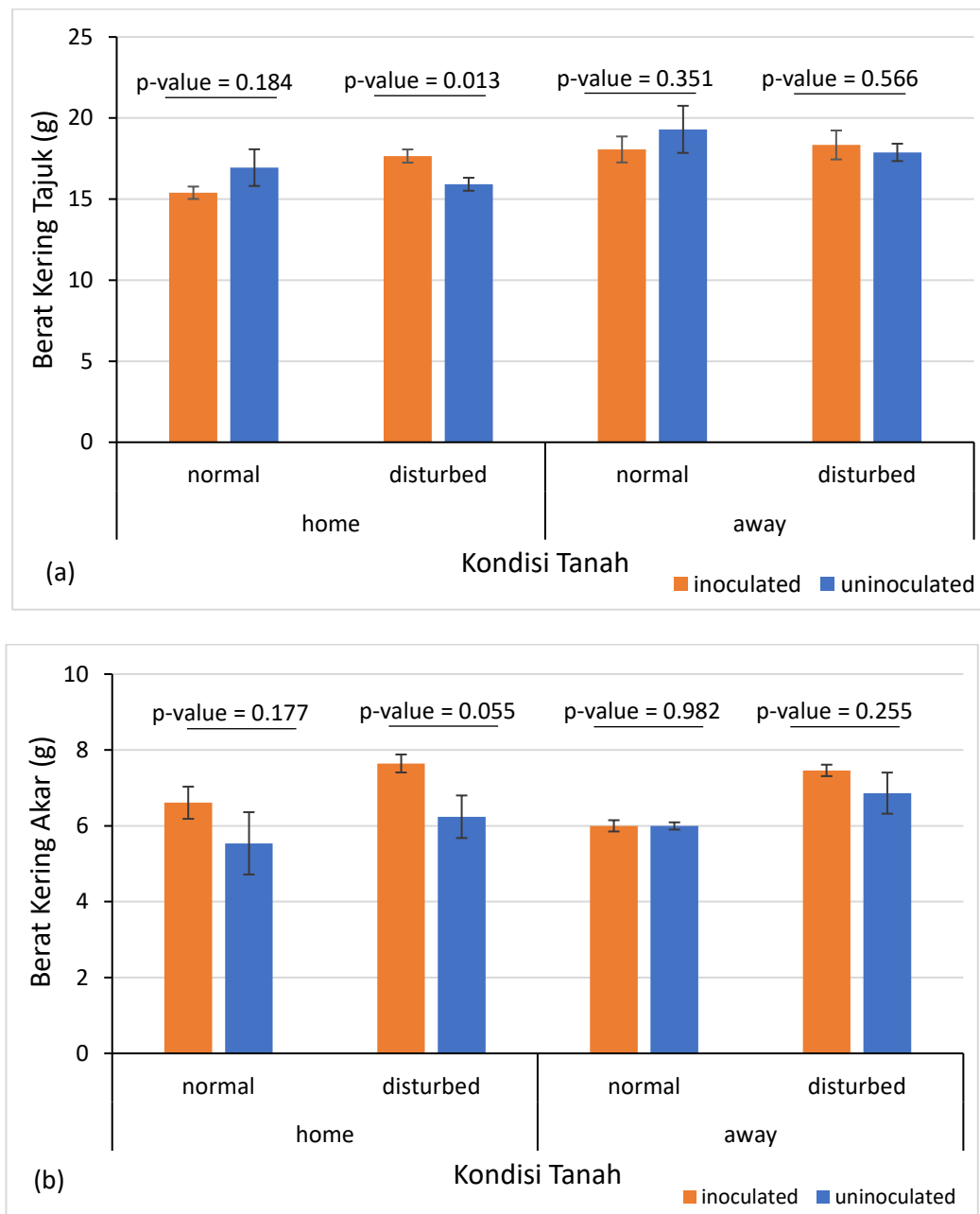
Peningkatan KTK akar pada tanaman yang diinokulasi mikoriza juga ditemukan pada penelitian Mahanta *et al.* (2018) dan Adillah *et al.* (2022). Selain kolonisasi mikoriza, KTK akar juga dipengaruhi diantaranya oleh salinitas (Adillah *et al.*, 2022), jenis tanah (Kusumawati *et al.*, 2022), nutrisi dalam tanah (Srivastava

and Srivastava, 1992), genetik atau kultivar, serta umur tanaman (Nabila *et al.*, 2015; Rajan & Anandhan, 2016).

4.5. Biomasa Tanaman Tebu

Efektivitas inokulasi JMA terhadap biomasa tebu disajikan pada Gambar 10. Berdasarkan nilai p-value, inokulasi JMA pada tanah *home* menghasilkan perubahan biomasa yang lebih besar dibanding pada tanah *away*. Inokulasi JMA pada tanah *disturbed* secara signifikan meningkatkan berat kering tajuk dan akar dibanding tanpa inokulasi (p-value = 0,013 dan 0,055) pada tanah *home* dan tidak signifikan pada tanah *away* (p-value = 0,566 dan 0,255). Berbeda halnya pada tanah *normal*, perlakuan inokulasi jamur mikoriza menghasilkan efek yang berbeda.

Perlakuan *inoculated* menghasilkan berat kering tajuk yang lebih rendah dibanding perlakuan *uninoculated* pada tanah *normal*, baik pada tanah *home* maupun *away* (Gambar 10a). Hasil tersebut mengindikasikan adanya efek negatif pada tajuk tanaman akibat keberadaan mikoriza. Garrido *et al.* (2010) berpendapat bahwa pada tingkat kolonisasi yang tinggi, mikoriza dapat mempunyai efek parasit karena adanya kompetisi nutrisi (seperti nitrogen dan karbon) antara koloni mikoriza dan tanaman yang kemudian menginduksi kerusakan daun. Menurut Johnson, Graham and Smith (1997), simbiosis mikoriza dapat menjadi bersifat parasit apabila *cost* yang dibutuhkan lebih besar dibanding manfaat yang diperoleh. Hal tersebut terjadi dalam penelitian ini pada tingkat kolonisasi mikoriza yang tinggi, yaitu lebih dari 95%.



Gambar 10. Biomasa tanaman tebu ((a) tajuk, (b) akar) AAS Agribun pada umur 15 MST akibat perlakuan inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah *home* dan *away* dalam kondisi *normal* maupun *disturbed*. Diagram batang menunjukkan nilai rata-rata $\pm$ standar deviasi ($n = 3$). p-value berdasarkan independent t test, 2 tail.

Sejalan dengan pendapat Garrido *et al.* (2010) dan hasil penelitian ini, penelitian Wang *et al.* (2018) menemukan bahwa aplikasi benomyl mengurangi

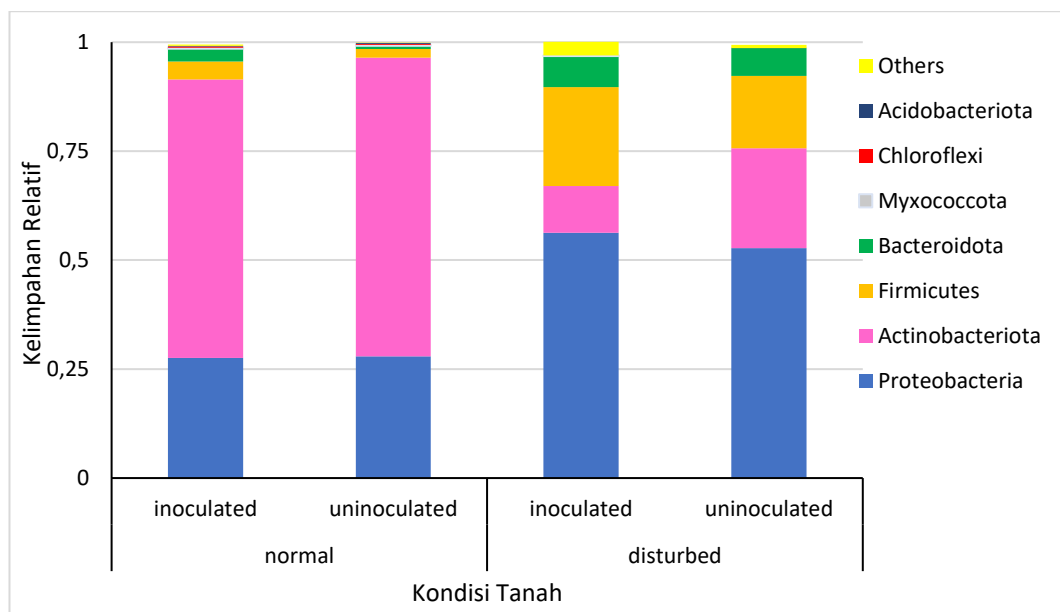
tingkat kolonisasi mikoriza yang pada akhirnya meningkatkan berat biji jagung yang ditanam pada tanah defisiensi nitrogen. Hal serupa juga terjadi pada simbiosis ektomikoriza. Panjang daun dan berat kering tajuk *Eucalyptus tetrodonta* ditemukan meningkat dengan perlakuan fumigasi metil bromida dan pemutusan hifa, yang secara signifikan menurunkan tingkat kolonisasi mikoriza. Namun demikian, kedua perlakuan tersebut tidak mempengaruhi berat kering akar (Janos *et al.*, 2013).

Inokulasi JMA meningkatkan BK akar pada seluruh perlakuan. Peningkatan BK akar pada tanah *home* (p-value = 0,177 dan 0,055) lebih tinggi dibanding tanah *away* (p-value = 0,982 dan 0,255). Peningkatan berat kering akar akibat inokulasi JMA juga diperoleh pada tanaman rumput-rumputan *Andropogon gerardi* pada penelitian Gryndler *et al.* (2018). Berdasarkan penelitian Galindo-castañeda *et al.* (2019) pada tanaman jagung hibrida, kolonisasi mikoriza menyebabkan *aerenchyma lacunae* melebar dan memperbesar diameter akar. Inokulasi JMA juga ditemukan meningkatkan total panjang akar pada tanaman jeruk (Meng *et al.*, 2020).

Berdasarkan data perubahan karakter kimia tanah dan KTK akar akibat inokulasi JMA dan kolonisasi mikoriza, peningkatan berat biomasa tanaman terjadi seiring dengan peningkatan KTK akar. Peningkatan kolonisasi mikoriza dan KTK akar serta perubahan berat kering biomasa terjadi lebih besar pada tanah *home* dibanding *away*. Hal tersebut menunjukkan adanya potensi adaptasi lokal tanaman terhadap tanah (Rúa *et al.*, 2016) dan terjadi fenomena *home-field advantage*.

4.6. Komposisi dan Peran Komunitas Bakteri Endofit Akar Tebu dalam Kolonisasi Mikoriza dan Pertumbuhan Tanaman

Analisis urutan basa gen 16S rRNA hanya dilakukan pada perlakuan tanah *home* karena telah dianggap mewakili peran komposisi komunitas bakteri terhadap kolonisasi mikoriza maupun pertumbuhan tanaman tebu. Perubahan tingkat kolonisasi mikoriza akibat inokulasi JMA jauh lebih besar pada tanah *home* dibanding *away*. Berdasarkan analisis metagenome pada keempat sampel, diperoleh 135.266 *tag* yang terbagi dalam 1.010 OTU bakteri.



Gambar 11. Kelimpahan relatif tingkat filum komunitas bakteri endofit akar tebu AAS Agribun umur 15 MST berdasarkan analisis urutan basa gen 16S rRNA. Tebu ditanam pada tanah *home* dengan kondisi *normal* dan *disturbed* yang *inoculated* dan *uninoculated* dengan JMA.

Kelimpahan relatif tingkat filum komunitas bakteri endofit akar tebu yang ditanam pada tanah *home* disajikan dalam Gambar 11. Berdasarkan hasil analisis urutan basa gen 16S rRNA, komunitas bakteri endofit akar tebu filum

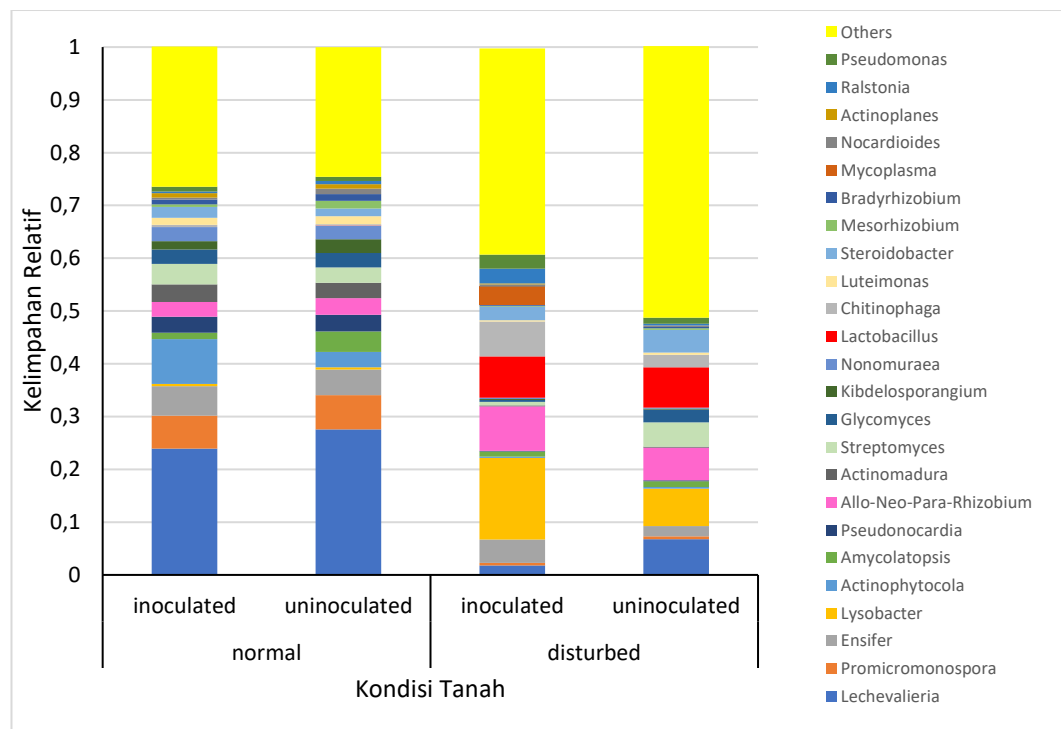
Proteobacteria, *Actinobacteriota*, *Firmicutes*, dan *Bacteroidota* mendominasi lebih dari 95% kelimpahan relatif. Genus dengan kelimpahan relatif yang mendominasi pada filum-filum tersebut disajikan dalam Lampiran 4. Endosfer akar tebu dalam penelitian ini juga dihuni oleh filum *Myxococcota*, *Chloroflexi*, *Acidobacteriota*, *Verrucomicrobiota*, dan beberapa filum lain dengan kelimpahan relatif yang sangat kecil.

Filum *Actinobacteriota* mendominasi 63,9% dan 68,6% komunitas bakteri endofit akar tebu pada tanah *home-normal* berturut-turut pada perlakuan inokulasi dan tanpa inokulasi JMA. Kelimpahan *Actinobacteriota* tersebut jauh lebih besar dibanding pada perlakuan tanah *disturbed* yaitu 10,7% pada perlakuan inokulasi dan 22,9% pada perlakuan tanpa inokulasi. Berbanding terbalik dengan filum *Proteobacteria* yang mendominasi pada perlakuan tanah *disturbed* dengan kelimpahan relatif 56,2% dan 52,7% sementara pada tanah *normal* hanya 27,5% dan 27,9%.

Filum *Firmicutes* dan *Bacteroidota* jauh lebih banyak ditemukan pada tanah *disturbed*. *Firmicutes* bahkan mempunyai kelimpahan relatif terbesar kedua setelah *Proteobacteria*, yaitu 22,7% pada perlakuan inokulasi. Pada tanah *normal*, *Firmicutes* juga ditemukan lebih besar pada perlakuan inokulasi dibanding tanpa inokulasi. Kelimpahan relatif filum *Bacteroidota* pada tanah *disturbed* berkisar 6,4-7,17%.

Kelimpahan relatif filum *Proteobacteria* dan *Firmicutes* yang lebih tinggi pada tanah yang disteril (*disturbed*) juga diperoleh pada penelitian Li *et al.* (2019). *Firmicutes*, *Proteobacteria*, dan *Bacteroidota* dapat pula ditemukan pada proses

pengomposan yang terjadi pada kondisi suhu tinggi (Gavande *et al.*, 2021; Moreno *et al.*, 2021). Menurut Filippidou *et al.* (2016), *Firmicutes* merupakan filum yang mampu bertahan pada kondisi ekstrim karena kemampuannya dalam membentuk endospora.



Gambar 12. Kelimpahan relatif tingkat genus komunitas bakteri endofit akar tebu AAS Agribun umur 15 MST berdasarkan analisis urutan basa gen 16S rRNA. Tebu ditanam pada tanah *home* dengan kondisi *normal* dan *disturbed* yang *inoculated* dan *uninoculated* dengan JMA.

Perubahan komposisi dan kelimpahan relatif pada tingkat genus komunitas bakteri endofit akar tebu akibat gangguan sterilisasi tanah terjadi secara signifikan (Gambar 12). Tanah *normal* didominasi oleh genus *Lechevalieria*, kemudian diikuti oleh *Promicromonospora*, *Ensifer*, dan *Actinophytocola*. Genus-genus lain dengan kelimpahan relatif cukup besar antara 0,26-3,90% diantaranya adalah *Amycolatopsis*, *Pseudonocardia*, kelompok *Rhizobium*, *Actinomadura*,

Streptomyces, *Glycomyces*, *Kibdelosporangium*, *Luteimonas*, *Steroidobacter*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Actinoplanes*, *Ralstonia*, dan *Pseudomonas*. Sementara itu, komunitas bakteri endofit akar tebu pada tanah *home-disturbed* didominasi oleh *Lysobacter*, kelompok *Rhizobium*, dan *Lactobacillus*. Tanah *disturbed* dan diinokulasi JMA mempunyai kelimpahan relatif genus *Ensifer*, *Chitinophaga*, *Mycoplasma*, *Ralstonia*, dan *Pseudomonas* yang lebih tinggi dibanding tanpa inokulasi. Sebaliknya, genus *Lechevalieria*, *Streptomyces*, *Glycomyces*, dan *Steroidobacter* lebih tinggi kelimpahan relatifnya pada perlakuan tanpa inokulasi.

Perubahan komposisi komunitas bakteri yang dideteksi pada endosfer akar telah sangat berpengaruh pada tingkat kolonisasi mikoriza pada akar tebu. Beberapa genus bakteri telah diketahui berperan membantu pembentukan simbiosis mikoriza (*Mychorrization helper bacteria*) maupun membantu fungsi simbiosis mikoriza yang telah ada (*Mychorriza helper bacteria*), keduanya disingkat sebagai MHB (Sangwan & Prasanna, 2022). Meskipun peran sebagian genus telah diketahui, namun menurut de Souza *et al.* (2016) peran sebagian besar keragaman bakteri yang teridentifikasi pada kajian mikrobioma tanaman tebu belum dieksplorasi.

Berdasarkan studi literatur, genus-genus dengan kelimpahan relatif tinggi dalam penelitian ini dapat dikelompokkan menjadi 1) mendukung pembentukan kolonisasi mikoriza dan sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rizhobacteria*), 2) PGPR membantu peran mikoriza, 3) bakteri endofit akar yang bersifat netral terhadap mikoriza, dan 4) menghambat proses kolonisasi mikoriza.

4.6.1. Mendukung pembentukan kolonisasi mikoriza dan sebagai PGPR

Actinobacteriota merupakan filum yang mendominasi pada perlakuan tanah *normal* yang menghasilkan kolonisasi mikoriza lebih tinggi dibanding tanah *disturbed*. Banyak genus dari *Actinobacteriota* yang mampu berperan membantu pembentukan mikoriza maupun berasosiasi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman bermikoriza. Berdasarkan penelitian Long *et al.* (2008) dan Agnolucci *et al.* (2015), *Actinobacteriota* merupakan filum yang mendominasi komunitas bakteri yang berasosiasi dan ditemukan pada semua permukaan spora mikoriza diteliti. Beberapa genus yang ditemukan dalam kedua penelitian tersebut yaitu *Streptomyces*, *Amycolatopsis*, *Pseudonocardia*, *Arthrobacter*, *Propionibacterium*.

Streptomyces merupakan genus dari filum *Actinobacteriota* yang paling banyak ditemukan berperan positif pada kolonisasi mikoriza. Inokulasi JMA bersama dengan *Streptomyces* menghasilkan pembentukan mikoriza, panjang akar terkolonisasi dan perkecambahan spora yang lebih tinggi, serta mendukung pertumbuhan miselium dibanding inokulasi JMA saja (Battini *et al.*, 2017; Chaiya *et al.*, 2021; Franco-Correa *et al.*, 2010; Raveau *et al.*, 2020). Menurut Battini *et al.*, (2017), *Streptomyces* berperan memfasilitasi penyerapan P oleh hifa mikoriza dari tanah yang tidak terdapat akar tanaman sehingga menghasilkan pertumbuhan tanaman yang lebih baik. Mekanisme lain ditemukan dari strain *Streptomyces* dalam penelitian Chaiya *et al.* (2021) yang diisolasi dari spora JMA mampu menghasilkan endoglucanase (salah satu enzim selulase). Berdasarkan penelitian Gryndler *et al.* (2002), selulosa yang diinkubasi dalam tanah dalam waktu lama meningkatkan jumlah spora mikoriza. Bakteri penghasil enzim selulase

mendegradasi material tanaman sehingga menyediakan nutrisi bagi mikroorganisme di sekitarnya.

Promicromonospora dan *Actinoplanes* ditemukan berkorelasi positif dengan pembentukan mikoriza dan berat kering tanaman *Salvia sclarea* (Raveau *et al.*, 2020). Genus *Promicromonospora* dan *Actinoplanes* juga dikenal sebagai rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman (PGPR) (Kang *et al.*, 2012; Raveau *et al.*, 2020). *Promicromonospora* mampu menghasilkan hormon giberelin dan berpotensi sebagai pelarut fosfat serta mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat (Kang *et al.*, 2012).

Beberapa strain spesies *Actinomadura keratinilytica* mempunyai kemampuan selulolitik dan amilolitik (Setyaningsih *et al.*, 2019; Syafitri *et al.*, 2019), sementara *A. oligospora* mempunyai kemampuan melarutkan fosfat (Putri *et al.*, 2018).

Proteobacteria merupakan filum yang mendominasi pada tanah *disturbed* dengan tingkat kolonisasi mikoriza lebih rendah dibanding tanah *normal*. Namun demikian, banyak genus anggota filum *Proteobacteria* yang membantu mikoriza dan mempunyai kelimpahan relatif lebih tinggi pada tanah *normal*. Seperti halnya dalam penelitian ini, penelitian Wang *et al.* (2021) juga menemukan genus *Ensifer* atau *Sinorhizobium* mempunyai kelimpahan lebih tinggi pada tanaman terkolonisasi mikoriza dibanding tanpa kolonisasi. *Ensifer* banyak dimanfaatkan sebagai PGPR karena kemampuannya menghasilkan indol asam asetat (IAA), mineralisasi fitat, dan pelarutan fosfat (Battini *et al.*, 2016). Penelitian Velásquez *et al.* (2020) menemukan bahwa aplikasi jamur mikoriza *Funneliformis mosseae*

IN101 bersama dengan *E. meliloti* TSA41 menghasilkan kolonisasi mikoriza lebih tinggi dibanding inokulasi tunggal *F. mosseae* IN101 pada tanaman anggur. Battini *et al.*, (2017) juga mengungkap bahwa penambahan *E. meliloti* TSA41 meningkatkan panjang akar yang terkolonisasi dan kepadatan panjang hifa secara signifikan dibanding hanya inokulasi JMA.

Genus-genus bakteri tersebut di atas memiliki kelimpahan relatif lebih tinggi pada tanah *normal* yang terkolonisasi mikoriza lebih tinggi dibanding tanah *disturbed*. Namun demikian, beberapa genus yang ditemukan dengan kelimpahan relatif lebih tinggi pada tanah *disturbed* juga berperan dalam pembentukan mikoriza yaitu *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Lysobacter* dan *Rhizobium*.

Pseudomonas dikenal sebagai bakteri pelarut fosfat. P dalam bentuk tersedia selanjutnya dapat diserap oleh hifa mikoriza. Keberadaan beberapa strain *Pseudomonas* spp. bersama komunitas mikroorganisme asli juga mampu meningkatkan kolonisasi mikoriza *Rhizophagus irregularis* pada akar kentang (Ordoñez *et al.*, 2016).

Salah satu anggota genus *Lysobacter* yaitu *L. soli* ditemukan berasosiasi dengan spora jamur mikoriza arbuskula *Glomus mosseae*. *L. soli* tersebut mampu menghasilkan IAA, hidroksamat, dan siderofor serta meningkatkan pertumbuhan kecambah kacang hijau (Lasudee *et al.*, 2017). Roesti *et al.* (2005) menemukan *Lysobacter*, *Pseudomonas*, *Cellvibrio*, dan *Chondromyces* pada spora *G. geosporum* dan *G. constrictum*. Bakteri-bakteri pendegradasi biopolimer tersebut diperkirakan memperoleh makanan dari bagian terluar lapisan spora yang menyebabkan lapisan spora terkelupas sehingga proses pematangan dan

perkecambahan spora menjadi lebih mudah. *Lysobacter* juga dikenal sebagai penghasil berbagai produk bioaktif terutama peptida kompleks dan turunan asam amino yang mempunyai potensi sebagai antibiotik (Xie *et al.*, 2012) sehingga berbagai spesies *Lysobacter* disebut sebagai kandidat kontrol biologi pada pengendalian penyakit tanaman dan nematoda (Hayward *et al.*, 2010).

Penelitian Bidondo *et al.* (2016) menemukan bahwa *Rhizobium etli*, *Bacillus megatrium*, *Bacillus* sp. bersama dengan *Azospirillum* sp., dan *Paenibacillus rhizosphaerae* secara signifikan meningkatkan perkecambahan dan pembentukan miselium dari propagul mikoriza *Rhizophagus intraradices*. *R. etli* juga meningkatkan persentase kolonisasi, jumlah spora yang terbentuk, dan panjang miselium ekstraradikal.

Ralstonia, terutama *R. solanacearum* dikenal sebagai bakteri patogen pada genus tanaman *Solanum* dan memanfaatkan mikoriza vesikular arbuskular sebagai pengendali alaminya (Aguk *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2021). Namun demikian, hasil penelitian Kataoka & Futai (2009) menemukan bahwa salah satu spesies *Ralstonia* mampu meningkatkan pertumbuhan hifa dan pembentukan ektomikoriza *Suillus granulatus* pada tanaman *Pinus thunbergii*.

4.6.2. PGPR membantu peran mikoriza

Beberapa genus diketahui tidak meningkatkan kolonisasi mikoriza namun kelimpahannya meningkat pada tanaman bermikoriza. Genus-genus bakteri tersebut diantaranya dikenal sebagai rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman (*Plant Growth Promoting Rhizobacteri*/PGPR). PGPR menyediakan nutrisi baik

untuk tanaman maupun jamur mikoriza sehingga aplikasi PGPR bersama JMA mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dibandingkan inokulasi tunggal. Beberapa genus bakteri yang kelimpahannya meningkat seiring dengan adanya kolonisasi mikoriza namun belum diketahui perannya, setidaknya menandakan bahwa bakteri tersebut tidak bersifat antagonis terhadap mikoriza. *Amycolatopsis*, *Pseudonocardia*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Nonomuraea*, dan *Kibdelosporangium* dalam penelitian ini ditemukan lebih melimpah pada tanah *normal*. Sementara itu, *Steroidobacter* lebih melimpah pada perlakuan tanah *disturbed* dan *Glycomyces* ditemukan dengan kelimpahan yang hampir sama pada perlakuan tanah *normal* dan *disturbed* tanpa inokulasi.

Berdasarkan penelitian Chaiya *et al.* (2021), inokulasi *Amycolaptosis* bersama dengan jamur mikoriza tidak meningkatkan kolonisasi mikoriza bahkan menurunkan jumlah spora mikoriza. Namun demikian, inokulasi keduanya mampu meningkatkan pertumbuhan dan biomasa tanaman dibandingkan inokulasi tunggal. *Amycolaptosis* mampu menghasilkan IAA, siderofor, dan endoglucanase.

Steroidobacter, *Pseudonocardia*, *Nitratireductor*, dan tiga anggota *Phylobacteriaceae* bersama dengan JMA *Rhizophagus* ditemukan menjadi mikrobioma inti tanaman *Welwitschia mirabilis* dan diperkirakan bersinergi untuk mendukung kehidupan tanaman tersebut (Valverde *et al.*, 2016). Meskipun demikian, *Steroidobacter* dan *Lysobacter* ditemukan pula berasosiasi pada dua spesies *Marchantia* yaitu *M. paleacea* yang bersimbiosis mikoriza dan *M. polymorpha* yang tidak bersimbiosis mikoriza (Alcaraz *et al.*, 2018).

Peran sebagai PGPR yang meningkatkan pertumbuhan tanaman diantaranya juga dilakukan oleh genus *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Nonomuraea*, dan *Kibdelosporangium*. Berdasarkan penelitian de Souza *et al.* (2016), ordo *Rhizobiales* ditemukan dalam jumlah besar dengan kelimpahan relatif lebih kurang 10% dalam endofit akar tebu. Anggota ordo *Rhizobiales* dengan kelimpahan relatif yang cukup besar dalam penelitian ini diantaranya *Bradyrhizobium* dan *Mesorhizobium*. Kedua genus tersebut dikenal sebagai bakteri penambat nitrogen dan pemacu pertumbuhan tanaman (Laranjo *et al.*, 2014). *Nonomuraea endophytica* dan *Kibdelosporangium aridum* diketahui mampu menghasilkan ACC deaminase sehingga meningkatkan BK bibit, panjang akar, dan luas daun pada bibit jarak pagar (Qin *et al.*, 2015). Penelitian Cao *et al.* (2018) menemukan kelimpahan relatif *Glycomyces* dan *Nonomuraea* dalam tanah kompartemen tanaman jagung untuk degradasi oxytetracycline meningkat dengan inokulasi mikoriza dibandingkan tanpa inokulasi.

4.6.3. Bakteri endofit akar yang bersifat netral terhadap mikoriza

Beberapa genus dengan kelimpahan cukup tinggi diperkirakan bersifat netral atau belum diketahui sifatnya terhadap mikoriza yaitu *Lechevalieria*, *Actinophytocola*, dan *Luteimonas*. *Lechevalieria* mendominasi lebih dari 24% komunitas bakteri endofit tebu pada perlakuan tanah *normal*, namun peran genus tersebut belum banyak diteliti. Berdasarkan penelitian Wang *et al.* (2020), *Lechevalieria* merupakan genus yang banyak menghuni daerah endofit akar dan rizosfer tanaman kucai (*Allium tuberosum*). *Actinophytocola* merupakan genus

yang mempunyai aktivitas antimikroba dengan kategori moderat hingga kuat (Chaouch *et al.*, 2018; Zin *et al.*, 2019). Hasil penelitian Gu *et al.* (2020) menyebutkan bahwa *Luteimonas* berkorelasi negatif dengan pertumbuhan tanaman tomat dan disebut sebagai taksa kunci yang menentukan pertumbuhan tanaman. *Luteimonas* juga berperan sebagai denitrifier yang mereduksi NO_2^- menjadi N_2O yang biasa ditemukan dalam proses pengomposan (Zhong *et al.*, 2020) sehingga *Luteimonas* ditemukan cukup melimpah diperkirakan karena terjadi proses pengomposan daun tebu yang jatuh ke tanah.

4.6.4. Menghambat proses kolonisasi mikoriza

Beberapa genus dengan kelimpahan relatif lebih tinggi pada tanah *disturbed* dalam penelitian ini yaitu *Lactobacillus*, *Nocardioides*, *Chitinophaga* dan *Mycoplasma*. Keempat genus tersebut juga ditemukan memiliki kelimpahan lebih tinggi pada tanaman tanpa mikoriza dalam beberapa literatur. *Lactobacillus*, *Nocardioides*, dan *Chitinophagaceae* ditemukan dengan kelimpahan relatif yang secara signifikan lebih tinggi pada tanah supresif mikoriza (AMF-suppressive) dibanding kondusif mikoriza (AMF-conducive) dalam penelitian Svenningsen *et al.* (2018). *Chitinophaga* yang merupakan anggota family *Chitinophagaceae* merupakan salah satu genus endofit akar tebu dengan kelimpahan yang cukup tinggi (de Souza *et al.*, 2016). Endobakteri terkait *Mycoplasma* (*Mycoplasma* related-endobacteria) diperkirakan bersifat antagonis terhadap mikoriza berdasarkan teori evolusi (Toomer *et al.*, 2015).

Filum *Firmicutes* yang didominasi oleh *Lactobacillus* dan *Mycoplasma* serta filum *Bacteroidota* yang didominasi oleh *Chitinophaga* mempunyai kelimpahan relatif jauh lebih besar pada tanah *disturbed* dibandingkan tanah *normal*. Oleh karena itu, pada tingkat filum, dominasi *Firmicutes* dan *Bacteroidota* yang mencapai 23,04% hingga 29,87% pada tanah *disturbed* menghasilkan kolonisasi mikoriza yang secara signifikan lebih rendah dibanding tanah *normal*.

Peningkatan biomasa tanaman yang diinokulasi JMA juga dapat disebabkan oleh peningkatan kelimpahan relatif bakteri-bakteri yang berperan sebagai PGPR. Peningkatan biomasa terjadi lebih besar pada tanah *disturbed* dibanding tanah *normal*. Inokulasi JMA pada tanah *normal* hanya meningkatkan kelimpahan relatif *Streptomyces*, sementara itu pada tanah *disturbed*, peningkatan kelimpahan relatif PGPR terjadi pada *Ensifer*, *Lysobacter*, dan kelompok *Rhizobium* (*Allorhizobium*, *Neorhizobium*, *Pararhizobium*, *Rhizobium*). Peran sebagai PGPR tersebut diantaranya memfasilitasi penyerapan P (Battini *et al.*, 2017), menghasilkan indol asam asetat (IAA), mineralisasi fitat, pelarutan fosfat (Battini *et al.*, 2016), menghasilkan hidroksamat, siderofor (Lasudee *et al.*, 2017), dan menambat nitrogen (Guerra *et al.*, 2021).

BAB V

KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

5.1. Kesimpulan

Beberapa kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah dengan *home-field advantage* lebih efektif meningkatkan kolonisasi mikoriza, KTK akar, dan berat kering akar tebu dibanding tanah *away* atau asing, baik pada kondisi tanah *normal* maupun *disturbed*.
2. Kolonisasi mikoriza yang tinggi didukung oleh kelimpahan relatif yang tinggi genus bakteri pendukung kolonisasi mikoriza yaitu genus *Promicromonospora*, *Ensifer*, *Amycolatopsis*, *Streptomyces*, *Actinoplanes*, *Pseudomonas*, *Lysobacter*, dan *Rhizobium* sementara kolonisasi mikoriza yang rendah mempunyai kelimpahan relatif tinggi pada genus bakteri penghambat kolonisasi mikoriza yaitu *Lactobacillus*, *Nocardioides*, *Chitinophaga*, dan *Mycoplasma*. Peningkatan pertumbuhan tanaman tebu didukung peningkatan kelimpahan genus PGPR *Streptomyces*, *Ensifer*, *Lysobacter*, dan kelompok *Rhizobium*.

5.2. Rekomendasi

Rekomendasi yang dapat penulis berikan berdasarkan penelitian ini adalah:

1. Tanah dengan riwayat tanaman yang sama (*home soil*) dan tanpa patogen tular tanah sebaiknya digunakan sebagai media persemaian tanaman yang diinokulasi jamur mikoriza arbuskula supaya mendapatkan tingkat kolonisasi mikoriza yang lebih tinggi.
2. Apabila tanpa inokulasi jamur mikoriza, sebaiknya media tanam berasal dari tanah dengan keragaman tanaman yang tinggi dan sedikit olah tanah yang menandakan tanah subur dan mikoriza di dalamnya tidak terganggu.
3. Inokulum jamur mikoriza arbuskula sebaiknya berasal dari dan/atau diperbanyak menggunakan tanaman dan riwayat tanah yang sama dengan tanaman yang dituju untuk meningkatkan efisiensi inokulasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adame, M. F., Wright, S. F., Grinham, A., Lobb, K., Reymond, C. E., & Lovelock, C. E. (2012). Terrestrial-marine connectivity: Patterns of terrestrial soil carbon deposition in coastal sediments determined by analysis of glomalin related soil protein. *Limnology and Oceanography*, 57(5), 1492–1502. <https://doi.org/10.4319/lo.2012.57.5.1492>
- Adillah, A., Widada, J., & Kurniasih, B. (2022). Root Growth and Yield of Rice Plant Associated with Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Under Salt Stress Root Growth and Yield of Rice Plant Associated with Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis Under Salt Stress. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, 985. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/985/1/012021>
- Aggangan, N. S., Cortes, A. D., & Rea, C. E. (2019). Growth response of cacao (*Theobroma cacao* L.) plant as affected by bamboo biochar and arbuscular mycorrhizal fungi in sterilized and unsterilized soil. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22(July), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101347>
- Agnolucci, M., Battini, F., Cristani, C., & Giovannetti, M. (2015). Diverse bacterial communities are recruited on spores of different arbuscular mycorrhizal fungal isolates. *Biology and Fertility of Soils*, 51(3), 379–389. <https://doi.org/10.1007/s00374-014-0989-5>
- Aguk, J. A., Karanja, N., Schulte-Geldermann, E., Bruns, C., Kinyua, Z., & Parker, M. (2018). Control of bacterial wilt (*Ralstoniasolanacearum*) in potato (*Solanum tuberosum*) using rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza fungi. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 18(2), 13371–13387. <https://doi.org/10.18697/ajfand.82.16905>
- Alcaraz, L. D., Peimbert, M., Barajas, H. R., Dorantes-Acosta, A. E., Bowman, J. L., & Arteaga-Vázquez, M. A. (2018). Marchantia liverworts as a proxy to plants' basal microbiomes. *Scientific Reports*, 8(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31168-0>
- Armanhi, J. S. L., de Souza, R. S. C., Damasceno, N. B., de Araujo, L. M., Imperial, J., & Arruda, P. (2018). A Community-Based Culture Collection for Targeting Novel Plant Growth- Promoting Bacteria from the Sugarcane Microbiome A Community-Based Culture Collection for Targeting Novel Plant Growth- Promoting Bacteria from the Sugarcane Microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 8(January), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02191>
- Ayres, E., Steltzer, H., Simmons, B. L., Simpson, R. T., Steinweg, J. M., Wallenstein, M. D., Mellor, N., Parton, W. J., Moore, J. C., & Wall, D. H. (2009). Home-field advantage accelerates leaf litter decomposition in forests. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(3), 606–610. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.12.022>

- Bahram, M., Netherway, T., Hildebrand, F., Pritsch, K., Drenkhan, R., Loit, K., Anslan, S., Bork, P., & Tedersoo, L. (2020). Plant nutrient-acquisition strategies drive topsoil microbiome structure and function. *New Phytologist*, 227(4), 1189–1199. <https://doi.org/10.1111/nph.16598>
- Bakker, M. G., Schlatter, D. C., Otto-Hanson, L., & Kinkel, L. L. (2014). Diffuse symbioses: roles of plant–plant, plant–microbe and microbe–microbe interactions in structuring the soil microbiome. *Molecular Ecology*, 23, 1571–1583. <https://doi.org/10.1111/mec.12571>
- Battini, F., Cristani, C., Giovannetti, M., & Agnolucci, M. (2016). Multifunctionality and diversity of culturable bacterial communities strictly associated with spores of the plant beneficial symbiont *Rhizophagus intraradices*. *Microbiol. Res.*, February(183), 68–79. <https://doi.org/doi:10.1016/j.micres.2015.11.012>.
- Battini, F., Grønlund, M., Agnolucci, M., Giovannetti, M., & Jakobsen, I. (2017). Facilitation of phosphorus uptake in maize plants by mycorrhizosphere bacteria. *Scientific Reports*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04959-0>
- Bidondo, L. F., Colombo, R., Bompadre, J., Benavides, M., Scorza, V., Silvani, V., Pérgola, M., & Godeas, A. (2016). Cultivable bacteria associated with infective propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. Implications for mycorrhizal activity. *Applied Soil Ecology*, 105, 86–90. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.04.013>
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). *Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture*. ACIAR Monograph.
- Cao, J., Wang, C., Dou, Z., Liu, M., & Ji, D. (2018). Hyphospheric impacts of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungus on soil bacterial community to promote oxytetracycline degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 341, 346–354. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.07.038>
- Cesarano, G., De Filippis, F., La Stora, A., Scala, F., & Bonanomi, G. (2017). Organic amendment type and application frequency affect crop yields, soil fertility and microbiome composition. *Applied Soil Ecology*, 120(December 2016), 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.08.017>
- Chaiya, L., Kumla, J., Suwannarach, N., Kiatsiriroat, T., & Lumyong, S. (2021). Isolation, characterization, and efficacy of actinobacteria associated with arbuscular mycorrhizal spores in promoting plant growth of chili (*Capsicum flutescens* L.). *Microorganisms*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061274>
- Chaouch, F. C., Bouznada, K., Bouras, N., Meklat, A., Tata, S., Mokrane, S., Florence, M., Spröer, C., Klenk, H., & Sabaou, N. (2018). Planomonospora, Saccharothrix and Actinophytocola Genera in Saharan Soils of Algeria: Isolation, Taxonomic Identification and Antagonistic Properties. *J Microbiol*

- Biotech Food Sci*, 7(5), 505–510.
<https://doi.org/10.15414/jmbfs.2018.7.5.505-510>
- Chen, W., Meng, P., Feng, H., & Wang, C. (2020). Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and Physiological Performance of *Catalpa bungei*. *Forests*, 11(1117), 1–39.
- Chi, G. G., Srivastava, A. K., & Wu, Q. S. (2018). Exogenous easily extractable glomalin-related soil protein improves drought tolerance of trifoliate orange. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64(10), 1341–1350.
<https://doi.org/10.1080/03650340.2018.1432854>
- Crooke, W. M. (1964). The measurement of the Cation-Exchange Capacity of plant roots. *Plant and Soil*, 21(1), 43–49.
- de Souza, R. S. C., Okura, V. K., Armanhi, J. S. L., Jorrín, B., Lozano, N., da Silva, M. J., González-guerrero, M., de Araújo, L. M., Verza, N. C., Bagheri, H. C., Imperial, J., & Arruda, P. (2016). Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome. *Scientific Reports*, June.
<https://doi.org/10.1038/srep28774>
- Dong, M., Yang, Z., Cheng, G., Peng, L., Xu, Q., & Xu, J. (2018). Diversity of the Bacterial Microbiome in the Roots of Four *Saccharum* Species: *S. spontaneum*, *S. robustum*, *S. barberi*, and *S. officinarum*. *Frontiers in Microbiology*, 9(267).
- Dove, N. C., Klingeman, D. M., Carrell, A. A., Cregger, M. A., & Christopher, W. (2021). Fire alters plant microbiome assembly patterns : integrating the plant and soil microbial response to disturbance. *New Phytologist*, 230, 2433–2446.
<https://doi.org/10.1111/nph.17248>
- Fanin, N., Lin, D., Freschet, G. T., Keiser, A. D., Augusto, L., Wardle, D. A., & Veen, G. F. (Ciska). (2021). Home-field advantage of litter decomposition from the phyllosphere to the soil. *New Phytologist*, 231, 1353–1358.
<https://doi.org/doi:10.1111/nph.17475>
- Filippidou, S., Wunderlin, T., Junier, T., Jeanneret, N., Dorador, C., Molina, V., Johnson, D. R., & Junier, P. (2016). A combination of extreme environmental conditions favor the prevalence of endospore-forming firmicutes. *Frontiers in Microbiology*, 7(NOV), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01707>
- Franco-Correa, M., Quintana, A., Duque, C., Suarez, C., Rodríguez, M. X., & Barea, J. M. (2010). Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Applied Soil Ecology*, 45(3), 209–217. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.04.007>
- Frey-Klett, P., Garbaye, J., & Tarkka, M. (2007). The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytologist*, 176, 22–36.
- Gałazka, A., Gawryjolek, K., Grządziel, J., & Księżak, J. (2017). Effect of different agricultural management practices on soil biological parameters including

- glomalin fraction. *Plant Soil Environ.*, 63(7), 300–306. <https://doi.org/10.17221/207/2017-PSE>
- Galindo-castañeda, T., Brown, K. M., Kuldau, G. A., Roth, G. W., Wenner, N. G., Ray, S., Schneider, H., & Lynch, J. P. (2019). Root cortical anatomy is associated with differential pathogenic and symbiotic fungal colonization in maize. *Plant, Cell and Environment*, 42(11), 2999–3014. <https://doi.org/10.1111/pce.13615>
- Garrido, E., Bennett, A. E., Fornoni, J., & Strauss, S. Y. (2010). The dark side of the mycorrhiza. *Plant Signaling and Behavior*, 5(8), 1019–1021. <https://doi.org/10.4161/psb.5.8.12292>
- Gavande, P. V., Basak, A., Sen, S., Lepcha, K., Murmu, N., Rai, V., Mazumdar, D., Saha, S. P., Das, V., & Ghosh, S. (2021). Functional characterization of thermotolerant microbial consortium for lignocellulolytic enzymes with central role of Firmicutes in rice straw depolymerization. *Scientific Reports*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82163-x>
- Gillespie, A. W., Farrell, R. E., Walley, F. L., Ross, A. R. S., Leinweber, P., Eckhardt, K. U., Regier, T. Z., & Blyth, R. I. R. (2011). Glomalin-related soil protein contains non-mycorrhizal-related heat-stable proteins, lipids and humic materials. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(4), 766–777. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.12.010>
- Giovannetti, M., & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84, 489–500.
- Gryndler, M., Šmilauer, P., Püschel, D., Bukovská, P., Hršelová, H., Hujšlová, M., Gryndlerová, H., Beskid, O., Konvalinková, T., & Jansa, J. (2018). Appropriate nonmycorrhizal controls in arbuscular mycorrhiza research: a microbiome perspective. *Mycorrhiza*, 28(5–6), 435–450. <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0844-x>
- Gryndler, M., Vosátka, M., Hršelová, H., Chvátalová, I., & Jansa, J. (2002). Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and cellulose in growth substrate. *Applied Soil Ecology*, 19(3), 279–288. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(02\)00004-5](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00004-5)
- Gu, Y., Dong, K., Geisen, S., Yang, W., Yan, Y., Gu, D., Liu, N., Borisjuk, N., Luo, Y., & Friman, V. (2020). The effect of microbial inoculant origin on the rhizosphere bacterial community composition and plant. *Plant Soil*, 452, 105–117.
- Guerra, V. A., Beule, L., Mackowiak, C. L., Dubeux, J. C. B., Blount, A. R. S., Wang, X. B., Rowland, D. L., & Liao, H. L. (2021). Soil bacterial community response to rhizoma peanut incorporation into Florida pastures. *Journal of Environmental Quality*, 51(1), 55–65. <https://doi.org/10.1002/jeq2.20307>

- Hao, L., Zhang, Z., Hao, B., Diao, F., Zhang, J., Bao, Z., & Guo, W. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi alter microbiome structure of rhizosphere soil to enhance maize tolerance to La. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 212. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111996>
- Hayward, A. C., Fegan, N., Fegan, M., & Stirling, G. R. (2010). *Stenotrophomonas* and *Lysobacter*: Ubiquitous plant-associated gamma-proteobacteria of developing significance in applied microbiology. *Journal of Applied Microbiology*, 108(3), 756–770. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04471.x>
- Horwath, W. (2007). Carbon Cycling and Formation of Soil Organic Matter. In E. A. Paul (Ed.), *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry* (Third, pp. 303–340). Elsevier Inc.
- Hu, W., Wei, S., Chen, H., & Tang, M. (2020). Effect of Sterilization on Arbuscular Mycorrhizal Fungal Activity and Soil Nutrient Status. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20, 684–689. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s42729-019-00156-2>
- Janos, D. P., Scott, J., Aristizábal, C., & Bowman, D. M. J. S. (2013). Arbuscular-Mycorrhizal Networks Inhibit *Eucalyptus tetrodonta* Seedlings in Rain Forest Soil Microcosms. *PLoS ONE*, 8(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057716>
- Johnson, B. Y. N. C., Graham, J. H., & Smith, F. A. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*, 135, 575–585.
- Johnson, N. C., Wilson, G. W. T., Bowker, M. A., Wilson, J. A., & Miller, R. M. (2010). Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(5), 2093–2098. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906710107>
- Joko, T., Koentjoro, M. P., Somowiyarjo, S., Rohman, M. S., Liana, A., & Ogawa, N. (2012). Response of rhizobacterial communities in watermelon to infection with cucumber green mottle mosaic virus as revealed by cultivation-dependent RISA. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45(15), 1810–1818. <https://doi.org/10.1080/03235408.2012.707526>
- Juntahum, S., Jongrunklang, N., Kaewpradit, W., Lumyong, S., & Boonlue, S. (2020). Impact of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and Productivity of Sugarcane Under Field Conditions. *Sugar Tech*, 22(3), 451–459. <https://doi.org/10.1007/s12355-019-00784-z>
- Kandeler, E. (2007). Physiological and Biochemical Methods for Studying Soil Biota and Their Function. In Eldor A. Paul (Ed.), *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry* (Third, pp. 53–84). Elsevier Inc.

- Kang, S. M., Khan, A. L., Hamayun, M., Hussain, J., Joo, G. J., You, Y. H., Kim, J. G., & Lee, I. J. (2012). Gibberellin-producing *Promicromonospora* sp. SE188 improves *Solanum lycopersicum* plant growth and influences endogenous plant hormones. *Journal of Microbiology*, 50(6), 902–909. <https://doi.org/10.1007/s12275-012-2273-4>
- Kassambara, A. (2020). *ggpubr: “ggplot2” Based Publication Ready Plots*. <https://cran.r-project.org/package=ggpubr>
- Kataoka, R., & Futai, K. (2009). A new mycorrhizal helper bacterium, *Ralstonia* species, in the ectomycorrhizal symbiosis between *Pinus thunbergii* and *Suillus granulatus*. *Biology and Fertility of Soils*, 45(3), 315–320. <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0340-0>
- Kumalawati, Z., Musa, Y., Amin, N., Asrul, L., & Ridwan, I. (2014). Exploration Of Arbuscular Mycorrhizal Fungi From Sugarcane Rhizosphere In South Sulawesi. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 3(1), 2013–2015.
- Kusumawati, A., Hanudin, E., Purwanto, B. H., & Nurudin, M. (2022). Root traits of sugarcane cultivated by monoculture system in three orders of soil. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci*, 1005. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1005/1/012002>
- Laranjo, M., Alexandre, A., & Oliveira, S. (2014). Legume growth-promoting rhizobia: An overview on the *Mesorhizobium* genus. *Microbiological Research*, 169(1), 2–17. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.012>
- Lasudee, K., Tokuyama, S., Lumyong, S., & Pathom-Aree, W. (2017). Mycorrhizal spores associated *Lysobacter soli* and its plant growth promoting activity. *Chiang Mai Journal of Science*, 44(1), 94–101.
- Lei, S., Xu, X., Cheng, Z., Xiong, J., Ma, R., Zhang, L., Yang, X., Zhu, Y., Zhang, B., & Tian, B. (2019). Analysis of the community composition and bacterial diversity of the rhizosphere microbiome across different plant taxa. *MicrobiologyOpen*, 8(6), 1–10. <https://doi.org/10.1002/mbo3.762>
- Li, K., DiLegge, M. J., Minas, I. S., Hamm, A., Manter, D., & Vivanco, J. M. (2019). Soil sterilization leads to re-colonization of a healthier rhizosphere microbiome. *Rhizosphere*, 12(September), 100176. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2019.100176>
- Li, M., Hou, S., Wang, J., Hu, J., & Lin, X. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungus suppresses tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) *Ralstonia* wilt via establishing a soil–plant integrated defense system. *Journal of Soils and Sediments*, 21(11), 3607–3619. <https://doi.org/10.1007/s11368-021-03016-8>
- Liu, H., Carvalhais, L. C., Schenk, P. M., & Dennis, P. G. (2017). Effects of jasmonic acid signalling on the wheat microbiome differ between body sites.

- Scientific Reports*, 7(41766), 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep41766>
- Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P., Kaiser, C. A., Krieger, M., Scott, M. P., Zipursky, & Darnell. (2005). *Molecular Cell Biology 5th Edition* (5th ed.). W.H. Freeman and Co.
- Long, L., Zhu, H., Yao, Q., & Ai, Y. (2008). Analysis of bacterial communities associated with spores of *Gigaspora margarita* and *Gigaspora rosea*. *Plant and Soil*, 310(1–2), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9611-7>
- Lourenço, K. S., Suleiman, A. K. A., Pijl, A., van Veen, J. A., Cantarella, H., & Kuramae, E. E. (2018). Resilience of the resident soil microbiome to organic and inorganic amendment disturbances and to temporary bacterial invasion. *Microbiome*, 6(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0525-1>
- Mahanta, D., Rai, R. K., Dhar, S., Varghese, E., Raja, A., & Purakayastha, T. J. (2018). Modification of root properties with phosphate solubilizing bacteria and arbuscular mycorrhiza to reduce rock phosphate application in soybean-wheat cropping system. *Ecological Engineering*, 111(November 2017), 31–43. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.11.008>
- Manzoor, M., Ma, L., Ni, K., & Ruan, J. (2022). Effect of Integrated Use of Rapeseed Cake, Biochar and Chemical Fertilizers on Root Growth, Nutrients Use Efficiency and Productivity of Tea. *Agronomy*, 12(1823), 1–25.
- Meng, L. L., He, J. D., Zou, Y. N., Wu, Q. S., & Kuča, K. (2020). Mycorrhiza-released glomalin-related soil protein fractions contribute to soil total nitrogen in trifoliate orange. *Plant, Soil and Environment*, 66(4), 183–189. <https://doi.org/10.17221/100/2020-PSE>
- Miransari, M., Bahrami, H. A., Rejali, F., & Malakouti, M. J. (2009). Effects of arbuscular mycorrhiza, soil sterilization, and soil compaction on wheat (*Triticum aestivum* L.) nutrients uptake. *Soil & Tillage Research*, 104, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.still.2008.11.006>
- Mitsui, S., & Ueda, M. (1963). Cation Exchange Capacity of Crop Roots in Relation with Ion Uptake. *Soil Science and Plant Nutrition*, 9(1), 6–12. <https://doi.org/DOI:10.1080/00380768.1963.10431020>
- Moreno, J., López-González, J. A., Arcos-Nievas, M. A., Suárez-Estrella, F., Jurado, M. M., Estrella-González, M. J., & López, M. J. (2021). Revisiting the succession of microbial populations throughout composting: A matter of thermotolerance. *Science of the Total Environment*, 773, 145587. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145587>
- Morris, S. J., & Blackwood, C. B. (2007). The Ecology of Soil Organisms. In Eldor A. Paul (Ed.), *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry* (Third, pp. 195–230). Elsevier Inc.
- Nabila, E. K., Rayya, M. S. A., & El-Sheikh, M. H. (2015). Effect of olive cultivar on growth parameters , mineral constituents and cation – exchange capacity of

- fibrous roots. *International Journal of ChemTech Research*, 8(10), 27–32.
- Nagendra, H. (2002). Opposite trends in response for the Shannon and Simpson indices of landscape diversity. *Applied Geography*, 22(2), 175–186.
- Oksanen, J., Simpson, G. L., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., Caceres, M. De, ... Weedon, J. (2022). *vegan: Community Ecology Package. R package version 2.6-2*. <https://cran.r-project.org/package=vegan>
- Ordoñez, Y. M., Fernandez, B. R., Lara, L. S., Rodriguez, A., Uribe-Vélez, D., & Sanders, I. R. (2016). Bacteria with Phosphate Solubilizing Capacity Alter Mycorrhizal Fungal Growth Both Inside and Outside the Root and in the Presence of Native Microbial Communities. *PloS ONE*, 11(6), 1–11.
- Oruru, M. B., Njeru, E. M., Pasquet, R., & Runo, S. (2018). Response of a wild-type and modern cowpea cultivars to arbuscular mycorrhizal inoculation in sterilized and non-sterilized soil. *Journal of Plant Nutrition*, 41(1), 90–101. <https://doi.org/10.1080/01904167.2017.1381728>
- Ossowicki, A., Raaijmakers, J. M., & Garbeva, P. (2021). Disentangling soil microbiome functions by perturbation. *Environmental Microbiology Reports*, 13(5), 582–590. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12989>
- Putri, A. L., Lisdiyanti, P., & Kusmiati, M. (2018). Identifikasi Aktinomisetes Sedimen Air Tawar Mamasa, Sulawesi Barat Dan Aktivitasnya Sebagai Antibakteri Dan Pelarut Fosfat. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 5(2), 139. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v5i2.2953>
- Qin, S., Miao, Q., Feng, W. W., Wang, Y., Zhu, X., Xing, K., & Jiang, J. H. (2015). Biodiversity and plant growth promoting traits of culturable endophytic actinobacteria associated with *Jatropha curcas* L. growing in Panxi dry-hot valley soil. *Applied Soil Ecology*, 93, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.04.004>
- Rajan, J., & Anandhan, S. V. (2016). Rhizosphere Influence of nitrogen and potassium on root nutrient and root CEC of different tea cultivars (*Camellia sinensis*, *C. assamica* and *C. assamica* spp. *Lasiocalyx*). *Rhizosphere*, 1, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2016.07.004>
- Raveau, R., Fontaine, J., Hijri, M., & Lounès-Hadj Sahraoui, A. (2020). The Aromatic Plant Clary Sage Shaped Bacterial Communities in the Roots and in the Trace Element-Contaminated Soil More Than Mycorrhizal Inoculation – A Two-Year Monitoring Field Trial. *Frontiers in Microbiology*, 11(December), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.586050>
- Ray, P., Lakshmanan, V., Labbé, J. L., & Craven, K. D. (2020). *Microbe to microbiome: A paradigm shift in the application of microorganisms for sustainable agriculture*. 11(December), 1–15.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.622926>

- Roesti, D., Ineichen, K., Braissant, O., Redecker, D., Wiemken, A., & Aragno, M. (2005). Bacteria associated with spores of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus geosporum* and *Glomus constrictum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11), 6673–6679. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.6673-6679.2005>
- Rotter, P., Maly, S., Sa'n'ka, O., & Kala, T. (2017). *Is glomalin an appropriate indicator of forest soil reactive nitrogen status?* 1–11. <https://doi.org/10.1002/jpln.201700046>
- Rúa, M. A., Antoninka, A., Antunes, P. M., Chaudhary, V. B., Gehring, C., Lamit, L. J., Piculell, B. J., Bever, J. D., Zabinski, C., Meadow, J. F., Lajeunesse, M. J., Milligan, B. G., Karst, J., & Hoeksema, J. D. (2016). Home-field advantage? evidence of local adaptation among plants, soil, and arbuscular mycorrhizal fungi through meta-analysis. *BMC Evolutionary Biology*, 16(122), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0698-9>
- Sangwan, S., & Prasanna, R. (2022). Mycorrhizae Helper Bacteria: Unlocking Their Potential as Bioenhancers of Plant – Arbuscular Mycorrhizal Fungal Associations. *Microbial Ecology*, 84, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01831-7>
- Schlemper, T. R., Leite, M. F. A., Lucheta, A. R., Shimels, M., Bouwmeester, H. J., van Veen, J. A., & Kuramae, E. E. (2017). Rhizobacterial community structure differences among sorghum cultivars in different growth stages and soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(8), 1–11. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix096>
- Schloss, P. D. (2019). *Shannon*. <https://mothur.org/wiki/shannon/>
- Sepkoski, J. J. (1988). Alpha, beta, or gamma: Where does all the diversity go? *Paleobiology*, 14(3), 221–234.
- Setyaningsih, P. P., Ningsih, F., Rachmania, M. K., Syafitri, W. A., Sari, D. C. A. F., Yabe, S., Yokota, A., Oetari, A., & Sjamsuridzal, W. (2019). Cellulolytic enzyme-producing thermophilic Actinobacteria isolated from the soil of cislok geysers, West Java, Indonesia. *Biodiversitas*, 20(11), 3134–3141. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d201105>
- Shade, A., Peter, H., Allison, S. D., Baho, D. L., Berga, M., Bürgmann, H., Huber, D. H., Langenheder, S., Lennon, J. T., Martiny, J. B. H., Matulich, K. L., Schmidt, T. M., & Handelsman, J. (2012). Fundamentals of microbial community resistance and resilience. *Frontiers in Microbiology*, 3(DEC), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00417>
- Shannon, C. E. (1948). A Mathematical Theory of Communication. *Bell System Technical Journal*, 27(4), 623–656. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb00917.x>

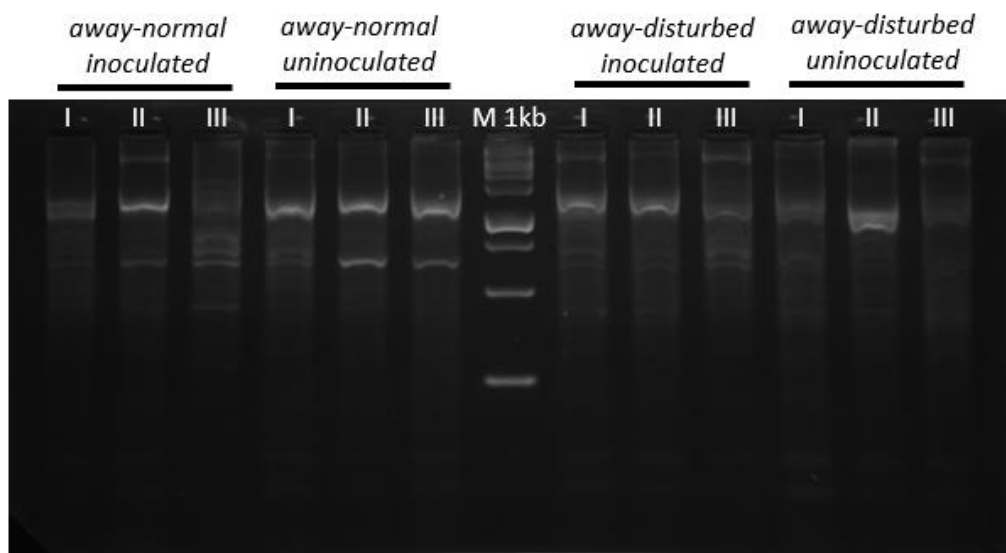
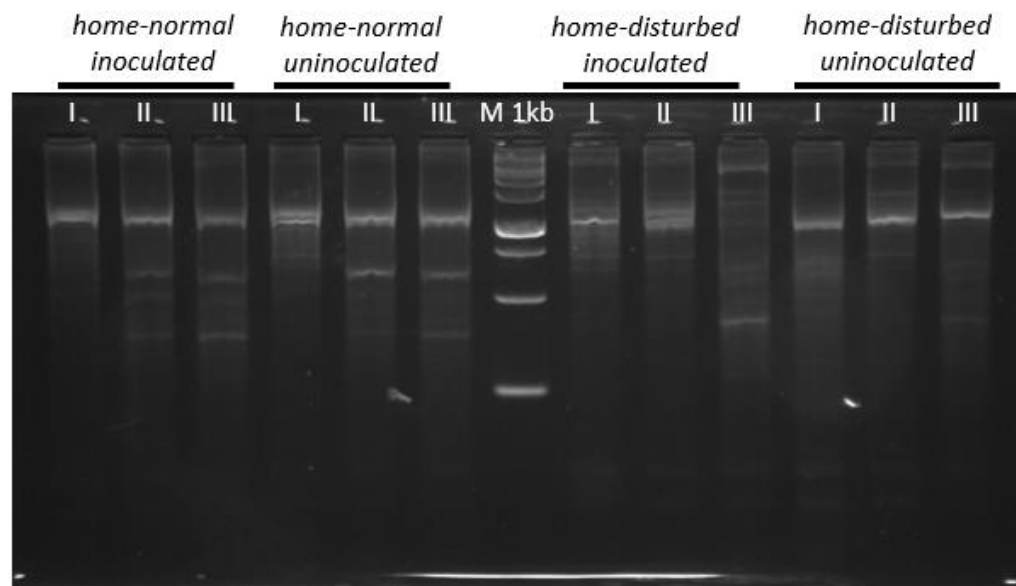
- Smith, J. L., & Collins, H. P. (2007). Management of Organisms and Their Processes in Soils. In E. A. Paul (Ed.), *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry* (Third, pp. 471–502). Elsevier Inc.
- Srivastava, A. K., & Srivastava, O. P. (1992). Cation-exchange capacity of roots in relation to response of fertilizer nutrients in salt-affected soil. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 63(3), 200–204.
- Srivastava, M., Kaushik, M. S., & Mishra, A. K. (2016). Linking the Physicochemical Properties with the Abundance and Diversity of Rhizospheric Bacterial Population Inhabiting Paddy Soil Based on a Concerted Multivariate Analysis of PCR-DGGE and. *Geomicrobiology Journal*, 33(10), 894–905. <https://doi.org/10.1080/01490451.2015.1127298>
- Sulistiono, W., Taryono, Yudono, P., & Irham. (2017). Sugarcane roots dynamics inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi on dry land. *Journal of Agronomy*, 16(3), 101–114. <https://doi.org/10.3923/ja.2017.101.114>
- Svenningsen, N. B., Watts-Williams, S. J., Joner, E. J., Battini, F., Efthymiou, A., Cruz-Paredes, C., Nybroe, O., & Jakobsen, I. (2018). Suppression of the activity of arbuscular mycorrhizal fungi by the soil microbiota. *ISME Journal*, 12(5), 1296–1307. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0059-3>
- Syafitri, W. A., Ningsih, F., Setyaningsih, P. P., Rachmania, M. K., Sari, D. C. A. F., Yabe, S., Yokota, A., Oetari, A., & Sjamsuridzal, W. (2019). Screening for amylolytic activity and characterization of thermophilic Actinobacteria isolated from a geothermal area in West Java, Indonesia. *Biodiversitas*, 20(7), 1929–1938. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200720>
- Thukral, A. K. (2017). A review on measurement of Alpha diversity in biology. *Agricultural Research Journal*, 54(1), 1–10. <https://doi.org/10.5958/2395-146X.2017.00001.1>
- Toomer, K. H., Chen, X., Naito, M., Mondo, S. J., Bakker, H. C. den, VanKuren, N. W., Lekberg, Y., Morton, J. B., & Pawlowska, T. E. (2015). Molecular evolution patterns reveal life history features of mycoplasma-related endobacteria associated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Molecular Ecology*, 24(13), 3485–3500. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/mec.13250>
- Valverde, A., De Maayer, P., Oberholster, T., Henschel, J., Louw, M. K., & Cowan, D. (2016). Specific microbial communities associate with the rhizosphere of *Welwitschia mirabilis*, a living fossil. *PLoS ONE*, 11(4), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153353>
- van Nuland, M. E., Smith, D. P., Bhatnagar, J. M., Stefanski, A., Hobbie, S. E., Reich, P. B., & Peay, K. G. (2020). Warming and disturbance alter soil microbiome diversity and function in a northern forest ecotone. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(7), 1–13. <https://doi.org/10.1093/FEMSEC/FIAA108>

- Veen, G. F., Sundqvist, M. K., & Wardle, D. A. (2015). Environmental factors and traits that drive plant litter decomposition do not determine home-field advantage effects. *Functional Ecology*, 29(7), 981–991. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12421>
- Velásquez, A., Vega-Celedón, P., Fiaschi, G., Agnolucci, M., Avio, L., Giovannetti, M., D’Onofrio, C., & Seeger, M. (2020). Responses of *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon roots to the arbuscular mycorrhizal fungus *Funneliformis mosseae* and the plant growth-promoting rhizobacterium *Ensifer meliloti* include changes in volatile organic compounds. *Mycorrhiza*, 30(1), 161–170. <https://doi.org/10.1007/s00572-020-00933-3>
- Wang, X., Feng, H., Wang, Y., Wang, M., Xie, X., & Chang, H. (2021). Mycorrhizal symbiosis modulates the rhizosphere microbiota to promote rhizobia – legume symbiosis. *Molecular Plant*, 14, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.12.002>
- Wang, X. X., Hoffland, E., Mommer, L., Feng, G., & Kuyper, T. W. (2019). Maize varieties can strengthen positive plant-soil feedback through beneficial arbuscular mycorrhizal fungal mutualists. *Mycorrhiza*, 29, 251–261. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00885-3>
- Wang, X. X., Wang, X., Sun, Y., Cheng, Y., Liu, S., Chen, X., Feng, G., & Kuyper, T. W. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi negatively affect nitrogen acquisition and grain yield of maize in a N deficient soil. *Frontiers in Microbiology*, 9(MAR), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00418>
- Wang, Y., Wang, C., Gu, Y., Wang, P., Song, W., Ma, J., & Yang, X. (2020). The variability of bacterial communities in both the endosphere and ectosphere of different niches in Chinese chives (*Allium tuberosum*). *PLoS ONE*, 15(1), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227671>
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag.
- Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L., François, R., Grolemund, G., Hayes, A., Henry, L., Hester, J., Kuhn, M., Pedersen, T., Miller, E., Bache, S., Müller, K., Ooms, J., Robinson, D., Seidel, D., Spinu, V., ... Yutani, H. (2019). Welcome to the tidyverse. *Journal of Open Source Software*, 4(43), 1686. doi: 10.21105/joss.01686
- Willis, A. D. (2019). Rarefaction , Alpha Diversity , and Statistics. *Frontiers in Microbiology*, 10(October). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02407>
- Wright, S. F., & Upadhyaya, A. (1996). Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hypphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science*, 161(9), 575–586.
- Xie, Y., Wright, S., Shen, Y., & Du, L. (2012). Bioactive natural products from *Lysobacter*. *Natural Product Reports*, 29(11), 1277–1287.

<https://doi.org/10.1039/c2np20064c>

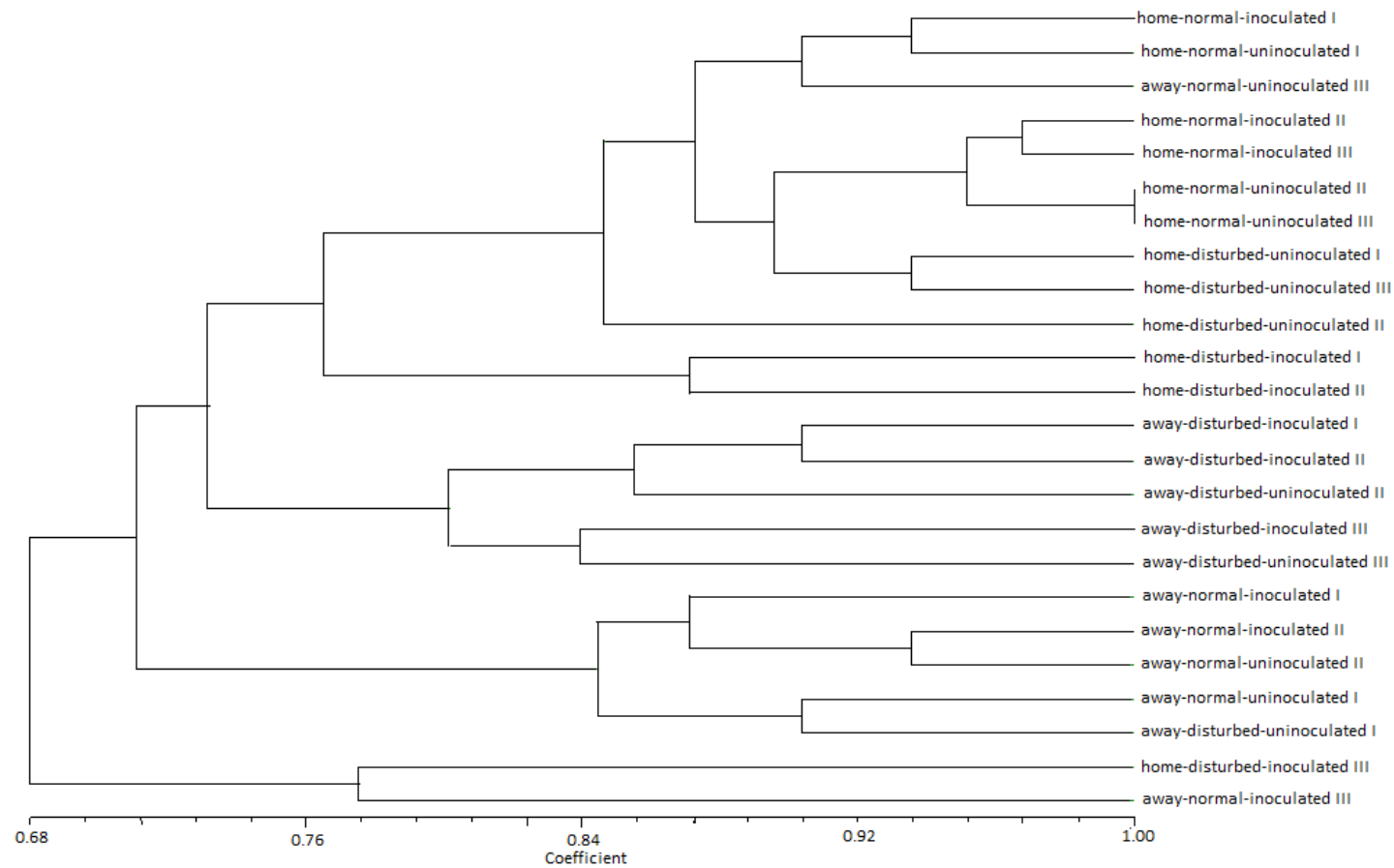
- Yang, Y., He, C., Huang, L., Ban, Y., & Tang, M. (2017). The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on glomalin-related soil protein distribution, aggregate stability and their relationships with soil properties at different soil depths in lead-zinc contaminated area. *PLoS ONE*, 12(8).
- Yazici, M. A., Asif, M., Tutus, Y., Ortas, I., Ozturk, L., Lambers, H., & Cakmak, I. (2021). Reduced root mycorrhizal colonization as affected by phosphorus fertilization is responsible for high cadmium accumulation in wheat. *Plant Soil*, 468, 19–35.
- Yu, Z., & Mohn, W. W. (2001). Bacterial Diversity and Community Structure in an Aerated Lagoon Revealed Bacterial Diversity and Community Structure in an Aerated Lagoon Revealed by Ribosomal Intergenic Spacer Analyses and 16S Ribosomal DNA Sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*, April, 1565–1574. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.4.1565>
- Zbiral, J., Čižmár, D., Malý, S., & Obdržálková, E. (2017). Determination of glomalin in agriculture and forest soils by near-infrared spectroscopy. *Plant Soil Environ.*, 63(5), 226–230. <https://doi.org/10.17221/181/2017-PSE>
- Zhang, Z., Zheng, J., & Guang, Y. (2022). Soil mediated local adaptation at the early-life stages of *Stipa breviflora* is context dependent. *Plant and Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05814-6>
- Zhong, X., Zeng, Y., Wang, S., Sun, Z., Tang, Y., & Kida, K. (2020). Bioresource Technology Insight into the microbiology of nitrogen cycle in the dairy manure composting process revealed by combining high-throughput sequencing and quantitative PCR. *Bioresource Technology*, 301(January), 122760. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122760>
- Zhuang, L., Schnepf, A., Unger, K., Liang, Z., & Bol, R. (2022). Home-Field Advantage of Litter Decomposition Faded 8 Years after Spruce Forest Clearcutting in Western Germany. *Soil Systems*, 6(1), 1–14. <https://doi.org/10.3390/soilsystems6010026>
- Zin, N. H. M., Abidin, Z. A. Z., Malek, N. A., Azizan, N. H., & Darnis, D. S. (2019). Isolation and Structural Characterization of Secondary Metabolites from *Actinophytocola* sp. K4-08 Rare Actinomycete with Potential Biosynthetic Capability. *International Journal of Allied Health Sciences*, 3(3), 815.

Lampiran 1

Visualisasi pita DNA pada *Ribosomal Intergenic Spacer Analysis* (RISA)

Lampiran 2

Analisis pengelompokkan (*clustering analysis*) berdasarkan hasil RISA pada seluruh sampel akar



Lampiran 3

Perubahan karakter kimia tanah rizosfer tanaman tebu akibat inokulasi jamur mikoriza arbuskula pada tanah *home* dan *away* dalam kondisi *normal* dan *disturbed*

Kondisi Tanah			N total		P tersedia		KTK		C organik		pH	
			%	p-value	ppm	p-value	cmol+/ kg	p-value	%	p-value		p-value
Home	Normal	Inoculated	0,08	0,116	43,30	0,486	10,44	0,295	1,20	0,508	7,22	0,072
		Uninoculated	0,09		46,67		12,53		1,33		7,11	
	Disturbed	Inoculated	0,08	0,417	52,53	0,560	13,68	0,432	1,33	0,707	7,25	0,279
		Uninoculated	0,09		49,85		10,46		1,43		7,34	
Away	Normal	Inoculated	0,09	1,000	55,39	0,463	12,01	0,626	1,42	0,437	7,15	0,678
		Uninoculated	0,09		58,08		12,75		1,62		7,13	
	Disturbed	Inoculated	0,08	0,189	55,60	0,510	12,54	0,279	1,64	0,954	7,20	0,912
		Uninoculated	0,10		53,56		11,31		1,62		7,20	

Keterangan: p-value berdasarkan independent t-test, 2 tail.

Lampiran 4

Tabel kelimpahan relatif tingkat genus keragaman komunitas bakteri endofit akar tebu pada tanah *home-normal* dan *home-disturbed* yang diinokulasi (*inoculated*) dan tanpa inokulasi (*uninoculated*) jamur mikoriza arbuskula

Filum	Genus	<i>normal inoculated</i>	<i>normal uninoculated</i>	<i>disturbed inoculated</i>	<i>disturbed uninoculated</i>
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Lechevalieria</i>	0,2392	0,2758	0,0177	0,0678
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Promicromonospora</i>	0,0624	0,0647	0,0052	0,0053
<i>Proteobacteria</i>	<i>Ensifer</i>	0,0562	0,0485	0,0438	0,0193
<i>Proteobacteria</i>	<i>Lysobacter</i>	0,0043	0,0041	0,1548	0,0714
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Actinophytocola</i>	0,0848	0,0294	0,0025	0,0030
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Amycolatopsis</i>	0,0119	0,0390	0,0095	0,0107
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Pseudonocardia</i>	0,0303	0,0314	0,0015	0,0020
<i>Proteobacteria</i>	<i>Allorhizobium- Neorhizobium- Pararhizobium- Rhizobium</i>	0,0282	0,0313	0,0844	0,0617
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Actinomadura</i>	0,0329	0,0294	0,0018	0,0017
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Streptomyces</i>	0,0388	0,0292	0,0067	0,0460
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Glycomyces</i>	0,0279	0,0269	0,0037	0,0243
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Kibdelosporangium</i>	0,0157	0,0260	0,0016	0,0021
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Nonomuraea</i>	0,0267	0,0260	0,0023	0,0018
<i>Firmicutes</i>	<i>Lactobacillus</i>	2,5E-0,8	0,0004	0,0785	0,0763
<i>Bacteroidota</i>	<i>Chitinophaga</i>	0,0039	0,0022	0,0661	0,0238
<i>Proteobacteria</i>	<i>Luteimonas</i>	0,0138	0,0152	0,0022	0,0038
<i>Proteobacteria</i>	<i>Steroidobacter</i>	0,0202	0,0149	0,0257	0,0436
<i>Proteobacteria</i>	<i>Mesorhizobium</i>	0,0049	0,0144	0,0013	0,0025
<i>Proteobacteria</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	0,0094	0,0127	0,0014	0,0024
<i>Firmicutes</i>	<i>Mycoplasma</i>	0,0000	0,0000	0,0356	0,0000
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Nocardioides</i>	0,0034	0,0101	0,0043	0,0035
<i>Actinobacteriota</i>	<i>Actinoplanes</i>	0,0087	0,0087	0,0016	1,2E-0,7
<i>Proteobacteria</i>	<i>Ralstonia</i>	0,0026	0,0059	0,0279	0,0027
<i>Proteobacteria</i>	<i>Pseudomonas</i>	0,0093	0,0082	0,0268	0,0118
	Others	0,2656	0,2454	0,3902	0,5144

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan naskah tesis ini. Dalam menjalankan penelitian dan penyusunan naskah ini, penulis mendapatkan banyak bantuan, dukungan, dan doa dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga kepada:

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (yang bertransformasi menjadi Badan Standardisasi Instrumen Pertanian pada saat tesis ini disusun) atas kesempatan tugas belajar dan biaya pendidikan yang diberikan,
2. Bapak Ir. Jaka Widada, M.P., Ph.D. selaku pembimbing utama tesis atas ide, arahan, bimbingan, dan kesabaran selama membimbing penulis,
3. Bapak Muhammad Saifur Rohman, S.P., M.Si., M.Eng., Ph.D. selaku pembimbing pendamping atas koreksi, arahan, dan masukan dalam penelitian dan penyusunan naskah,
4. Ibu Dr. Dini Wahyu Kartika Sari, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Prodi Bioteknologi dan Ketua Penguji atas saran dan masukan untuk penulis,
5. Ibu Dr. Yekti Asih Purwestri, S.Si., M.Si., selaku Penguji atas koreksi, saran, dan masukan untuk penulis,
6. Ibu Dr. Sesanti Basuki dan Mba Dr. Tantri Dyah A.A. atas bantuan pemikiran dan teknis pekerjaan biomolekuler. Mba Indah, Tria, Dewi, Eriz, dan Dinda atas bantuan teknis di rumah kaca dan laboratorium,
7. Suami tercinta, Mas Edy Purnomo, atas dukungan moril dan doa selama menjalani perkuliahan,
8. Bapak H. Jamiludin dan Ibu Hj. Siti Ngafifah selaku orang tua penulis atas doa dan dukungan tanpa henti. Bapak Sulkan dan Ibu Anik Sudiyah atas doa-doa yang selalu mengalir,
9. Idsa Bela dan Irham Luthfi, serta teman-teman Gamma-20 atas bantuan, keceriaan, dan semangatnya selama bersama-sama berjuang menempuh perkuliahan hingga selesai,
10. Laboran dan staf Prodi Bioteknologi, serta seluruh pihak yang telah membantu yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu.

Penulis tidak dapat membalas kebaikan seluruh pihak yang telah membantu, selain doa semoga Allah SWT membalas kebaikan dengan yang jauh lebih baik. Aamiin.