

Sekuensing Fungi Patogen Berbasis Oxford Nanopore Technology (ONT) pada Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dari Desa Tawar Miko, Aceh Tengah

Sequencing of Pathogenic Fungi Based on Oxford Nanopore Technology (ONT) on Arabica Coffee Fruit Skin (Coffea arabica) from Tawar Miko Village, Central Aceh

Fauziyah, Syafrina Sari Lubis*

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry, Banda Aceh, Indonesia

*corresponding author, Email: syafrinasarilbs@ar-raniry.ac.id

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 20/11/2025

Disetujui : 25/12/2025

Abstract

Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) in Central Aceh is susceptible to coffee fruit rot (CFR) caused by a complex of fungal pathogens. This study aims to identify the diversity of pathogenic fungi on the skin of Arabica coffee berries with black rot symptoms from Tawar Miko Village, Central Aceh, using Oxford Nanopore Technology-based metabarcoding. Rotten coffee fruit samples were randomly taken, total DNA extraction, Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA marker gene amplification, and Oxford Nanopore sequencing were performed. Sequence data were analyzed bioinformatically to determine the taxonomic composition and calculate the diversity index. The analysis results identified 57 species with a total of 134,371 sequences belonging to 17 genera. Five phyla were detected with a dominance of Ascomycota (94.53%), followed by Unknown (5.40%), Zoopagomycota (0.04%), Bacillota (0.02%), and Actinomycota (0.01%). Ten major genera showed varying abundances, namely Kurtzmaniella (48.64%), Penicillium (45.59%), Unknown (5.40%), Brettanomyces (0.07%), Chlamydocillium (0.07%), Scolecobasidium (0.06%), Brunneoclavispora (0.02%), Coemansia (0.02%), Pandora (0.02%), and Other (0.11%). The three dominant species were Kurtzmaniella quercitrusa (48.60%), Penicillium crustosum (39.75%), and Penicillium coprobium (3.79%). The Shannon index (H') value of 1.17 indicated a low level of diversity with high dominance (Simpson's $D = 0.6$). These findings provide a basic overview of the pathogenic fungal community in Arabica coffee berry rot and have implications for the development of plant disease control strategies to improve coffee quality and safety in Central Aceh.

Key Words : coffee fruit rot, pathogenic fungi, sequencing, Oxford Nanopore Technology, ITS rDNA

Abstrak

Kopi arabika (*Coffea arabica* L.) di Aceh Tengah rentan terhadap penyakit busuk buah (*coffee fruit rot*/ CFR) yang disebabkan oleh kompleks patogen fungi. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keanekaragaman fungi patogen pada kulit buah kopi arabika bergejala busuk hitam dari Desa Tawar Miko, Aceh Tengah, menggunakan metabarcoding berbasis Oxford Nanopore Technology. Sampel buah kopi yang busuk diambil secara acak, dilakukan ekstraksi DNA total, amplifikasi gen penanda Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA, dan sekuensing Oxford Nanopore. Data sekuensing dianalisis secara bioinformatika untuk menentukan komposisi taksonomi dan menghitung indeks keanekaragaman. Hasil analisis mengidentifikasi 57 spesies dengan total 134.371 sekuens yang tergolong ke dalam 17 genus. Lima filum terdeteksi dengan dominasi Ascomycota (94,53%), diikuti oleh Unknown (5,40%), Zoopagomycota (0,04%), Bacillota (0,02%), dan Actinomycota (0,01%). Sepuluh genus utama menunjukkan kelimpahan yang bervariasi, yaitu Kurtzmaniella (48,64%), Penicillium (45,59%), Unknown (5,40%), Brettanomyces (0,07%), Chlamydocillium (0,07%), Scolecobasidium (0,06%), Brunneoclavispora (0,02%), Coemansia (0,02%), Pandora (0,02%), dan Other (0,11%). Tiga spesies dominan adalah Kurtzmaniella quercitrusa (48,60%), Penicillium crustosum (39,75%), dan Penicillium coprobium (3,79%). Nilai indeks Shannon (H') sebesar 1,17 menunjukkan tingkat keanekaragaman yang rendah dengan dominansi tinggi (Simpson $D = 0,6$). Temuan ini memberikan gambaran dasar komunitas fungi patogen pada busuk buah kopi arabika dan berimplikasi sebagai dasar pengembangan strategi pengendalian penyakit tanaman untuk meningkatkan mutu dan keamanan kopi di Aceh Tengah.

Kata kunci : busuk buah kopi, fungi patogen, sekuensing, Oxford Nanopore Technology, ITS rDNA

PENDAHULUAN

Kopi arabika (*Coffea arabica* L.) merupakan salah satu komoditas perkebunan bernilai ekonomi tinggi yang menjadi sumber pendapatan penting bagi negara-negara berkembang, termasuk Indonesia. Produksi kopi Indonesia mengalami pertumbuhan signifikan dengan rata-rata peningkatan 2,53% per tahun dari 1980 hingga 2019, dengan Amerika Serikat dan Jepang sebagai pasar ekspor terbesar mencapai USD 3,42 miliar dan USD 1,75 miliar pada periode 2000-2018 (Cen and Faisal, 2021). Takengon di Aceh Tengah yang terletak pada ketinggian 1.700 mdpl dikenal sebagai penghasil biji kopi arabika berkualitas premium berkat kondisi lingkungan yang mendukung. Namun, produktivitas kopi arabika di wilayah ini menghadapi ancaman serius dari penyakit busuk buah kopi (*coffee fruit rot*/CFR) yang ditandai dengan munculnya bercak hitam pada buah, pembusukan jaringan, dan penurunan drastis kualitas biji kopi yang berdampak langsung pada cita rasa, aroma, serta nilai jual produk (Caldwell et al., 2024).

Busuk buah kopi disebabkan oleh kompleks patogen fungi yang beragam, termasuk *Colletotrichum* sp. yang menyebabkan antraknosa dan *Fusarium* sp. yang menginduksi pembusukan jaringan internal serta memproduksi toksin seperti fusaric acid dan fumonisin (Caldwell et al., 2024; Munawaroh et al., 2021). Selain patogen primer, fungi toksigenik seperti *Aspergillus* dan *Penicillium* juga berpotensi menghasilkan mikotoksin yang mengancam keamanan pangan (Hlebová et al., 2022; Lu et al., 2022). Perkembangan penyakit ini sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tropis yang lembap dengan curah hujan tinggi, yang menciptakan lingkungan ideal bagi perkecambahan spora dan penetrasi patogen ke dalam jaringan buah (Ranjini et al., 2022; Tenea et al., 2025). Pemahaman komprehensif tentang struktur komunitas fungi pada kondisi ekologi spesifik sangat penting untuk mengembangkan strategi pengendalian penyakit yang efektif dan berkelanjutan.

Pendekatan metabarcoding berbasis sekuensing DNA metagenomik (Next-Generation Sekuensing/NGS) menawarkan solusi dengan memungkinkan analisis langsung materi genetik mikroorganisme tanpa proses kultivasi. Metode amplicon metagenomics yang menargetkan gen penanda Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA mampu mengidentifikasi keragaman fungi secara komprehensif, cepat, dan akurat, termasuk patogen primer, sekunder, saprofit, dan toksigenik yang berperan dalam proses pembusukan buah kopi (Nam et al., 2023). Hasil penelitian (Bradshaw et al., 2023) analisis terhadap materi genetik, dari 2.414 spesies jamur menunjukkan bahwa sekitar 641 spesies memiliki lebih dari satu salinan internal transcribed spacer (ITS), yang mengindikasikan adanya variasi intragenomik dalam studi berbasis sekuensing. Selain itu, beberapa penelitian yang menggunakan Oxford Nanopore Technology (ONT) mampu mendeteksi

berbagai jenis patogen tanaman seperti bakteri, fungi, virus, dan fitoplasma pada tanaman yang diinokulasi secara artifisial melalui pengurutan DNA atau RNA genomik (Chalupowicz et al., 2019).

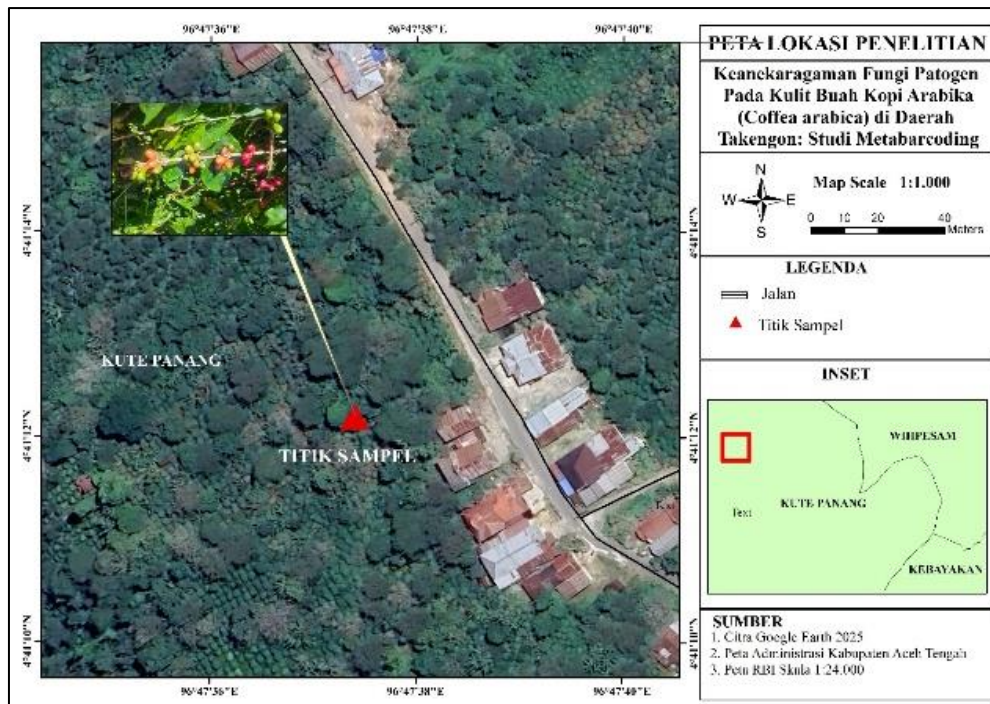
Oxford Nanopore Sekuensing, salah satu teknologi yang dapat digunakan untuk mendapatkan gambaran struktur komunitas fungi. Penelitian (Kerkhof, 2021) meninjau kesiapan Oxford Nanopore MinION dalam menganalisis komunitas mikroba kompleks dengan fokus pada aplikasi ekologi mikroba dan analisis gen 16S rRNA, serta menegaskan bahwa panjang bacaan (*long reads*) yang dihasilkan oleh teknologi ONT mampu meningkatkan resolusi taksonomi hingga tingkat spesies, dibandingkan metode Illumina yang umumnya terbatas pada tingkat genus. Sebaliknya, (Theologidis et al., 2023) mengembangkan pendekatan metabarcoding berbasis nanopore untuk identifikasi jamur endofitik dan fitopatogen pada tanaman zaitun (*Olea europaea*) dalam konteks diagnostik penyakit tanaman. Mereka menekankan bahwa kemampuan ONT untuk melakukan sekuensing in situ (langsung di lapangan) serta analisis data secara real-time memberikan keunggulan dalam penerapan diagnostik cepat penyakit tumbuhan. Secara konvensional, identifikasi fungi patogen dilakukan melalui metode kultur pada media Potato Dextrose Agar (PDA) dan pengamatan mikroskopis, namun metode ini memiliki keterbatasan karena hanya dapat mendeteksi mikroorganisme yang dapat tumbuh dalam kondisi laboratorium (*culturable microorganisms*), sementara sebagian besar mikroba bersifat unculturable atau tumbuh sangat lambat (Lusiana et al., 2022).

Hingga saat ini, data mengenai fungi patogen pada buah kopi arabika masih terbatas, untuk itu dilakukan analisis metabarcoding keanekaragaman fungi patogen pada buah kopi arabika (*Coffea arabica*) di desa Tawar Miko, Aceh Tengah menggunakan pendekatan metabarcoding. Melalui analisis ini, diharapkan dapat diperoleh pemahaman yang lebih mendalam mengenai komunitas fungi patogen penyebab busuk buah kopi serta data yang diperoleh dapat menjadi informasi dasar (*baseline data*) bagi penelitian lanjutan terkait fungi pada busuk hitam buah kopi arabika.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga Agustus 2025. Tahap pertama melakukan observasi langsung dengan pengambilan data di kawasan kebun kopi arabika (*Coffea arabica*) desa Tawar Miko, Aceh Tengah. Lokasi pengambilan sampel berada pada koordinat 4°41'12.2" LU dan 96°47'37.6" BT, dengan kondisi lingkungan berupa suhu 24°C dan kelembapan relatif 51%. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah GPS, botol sampel, sarung tangan, masker dan box sterofoam. Bahan yang



Gambar 1. Peta lokasi penelitian

digunakan dalam penelitian ini adalah Alkohol 70%, buah kopi arabika (*Coffea arabica*) yang terinfeksi busuk buah.

Pengambilan Sampel Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica*)

Pengambilan sampel dilakukan di Desa Tawar Miko, Aceh Tengah, pada buah kopi arabika yang menunjukkan gejala busuk hitam. Sampel diambil dari empat pohon kopi yang saling berdampingan untuk meminimalkan perbedaan kondisi lingkungan. Sebanyak 50 gram buah kopi busuk dikumpulkan yang dikumpulkan memiliki kriteria yaitu adanya bintik-bintik hitam pada kulit buah, tingkat kerusakan yang relatif seragam, serta kondisi buah yang masih utuh secara fisik. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril, disimpan dalam kondisi dingin, dan dikirim ke Laboratorium Integrated Genome Factory (IGF), Universitas Gadjah Mada, untuk analisis keanekaragaman fungi menggunakan sekuensing Oxford Nanopore. Dari setiap sampel, bagian bintik-bintik hitam pada kulit buah dikumpulkan 100-200 mg yang kemudian dilakukan proses ekstraksi DNA.

DNA Extraction and Quality Control

Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit dengan beberapa modifikasi untuk mengoptimalkan hasil dan kemurnian DNA jamur. Sebanyak 100–200 mg kulit biji kopi yang telah dihancurkan digunakan sebagai bahan awal, dengan proses penggerusan dilakukan dalam nitrogen cair untuk memastikan sel benar-benar terpecah. Tahap bead beating dilakukan selama 3 menit, dengan inkubasi di atas es selama 30 detik

setiap 1 menit guna mencegah pemanasan berlebih dan degradasi DNA. Konsentrasi DNA hasil ekstraksi diukur menggunakan Qubit Fluorometer dengan Equalbit 1× dsDNA HS Assay Kit untuk menilai kualitas dan kuantitas DNA. Sampel dinyatakan lulus uji kualitas (PASSED) karena memiliki konsentrasi DNA yang mencukupi untuk proses sekuensing, dengan nilai konsentrasi 8,68 ng/μL pada sampel Kopi Busuk.

PCR and Electrophoresis

Proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan menggunakan KOD One PCR Master Mix (TOYOBO) dengan setengah dari total volume reaksi standar, menggunakan Modul Opentrons Flex Thermocycler GEN2. Target amplifikasi adalah daerah ITS1–ITS4 dengan panjang bervariasi sekitar 400–800 bp. Proses PCR diulang empat kali menggunakan primer forward 5'-CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA-3' dan primer reverse 3'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-5'. Campuran akhir terdiri dari 11,5 μL ekstrak DNA, 12,5 μL master mix, 0,5 μL primer forward, dan 0,5 μL primer reverse. Protokol PCR mencakup satu siklus pra-denaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit, diikuti oleh 35 siklus denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 55°C selama 30 detik, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit, kemudian diakhiri dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Hasil amplifikasi diverifikasi melalui elektroforesis gel agarosa 1% (b/v) yang disiapkan dengan buffer TBE 1x dan Pewarna Gel Asam Nukleat Smobio (0,01% v/v) yang ditambahkan sebelum pencetakan. Elektroforesis dijalankan pada tegangan 100 V

selama 30 menit, dan visualisasi pita DNA pada sampel 104.A (Rotten Coffee) menunjukkan keberhasilan amplifikasi fragmen ITS target hingga ukuran yang diharapkan..

Sequencing-ITS

Sekuensing ITS dilakukan menggunakan metode amplicon sekuensing dengan barcoding pada sampel buah kopi. Proses sekuensing dilakukan satu kali menggunakan platform Oxford Nanopore Technology PromethION dengan Native Barcoding Kit SQK-NBD114-24, yang telah mengalami beberapa penyesuaian dari protokol ligasi standar. Proses basecalling dilakukan menggunakan Dorado basecall server v7.9.8 model dna_r10.4.1_e8.2_400bps_sup@v5.0.0, dengan nilai ambang kualitas (Q score) minimum 10, serta pemangkasan (*trimming*) adaptor dan barcode. Penyesuaian pada tahapan ligasi meliputi penggunaan 190 ng DNA input (setara 200 fmol untuk 1500 bp) dalam 12,5 µL air bebas nuklease (NFW), dilanjutkan dengan inkubasi end-prep pada suhu 20°C selama 30 menit dan 65°C selama 5 menit, tanpa tahap pemurnian end-prep. Barcode asli dari kit 96-barcode digunakan dengan inkubasi ligasi barcode pada suhu 37°C selama 20 menit dan pemurnian menggunakan etanol 80%. Protokol yang dioptimalkan ini menghasilkan ligasi barcode yang efisien dan kualitas pustaka amplicon yang tinggi untuk analisis sekuensing lanjutan.

Quality Check

Kualitas data hasil sekuensing nanopore diperiksa menggunakan NanoPlot (De Coster and Rademakers, 2023). Perangkat lunak ini menghasilkan berbagai grafik dan metrik statistik yang digunakan untuk menilai kinerja sekuensing, seperti distribusi panjang baca, skor kualitas baca, dan total hasil data. Visualisasi ini membantu memastikan bahwa data yang dihasilkan berkualitas tinggi dan sesuai untuk analisis lebih lanjut, termasuk klasifikasi taksonomi dan analisis keanekaragaman.

Secondary Analysis-Taxonomic Classification and Diversity

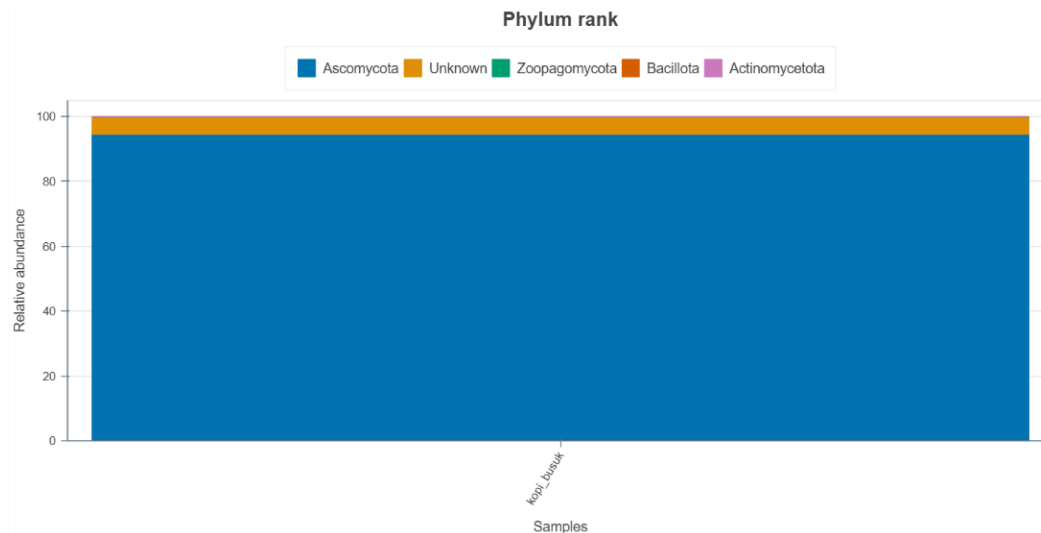
Analisis sekunder untuk klasifikasi taksonomi dan keanekaragaman dilakukan menggunakan platform EPI2ME, yang menyediakan berbagai alur kerja (*workflow*) terintegrasi untuk analisis data sekuensing nanopore. Workflow yang digunakan adalah EPI2ME wf-16S v1.4.0 dengan algoritma Kraken2 (Wood et al., 2019) serta basis data referensi ncbi_16s_18s_28s_ITS. Basis data ini mencakup sekuens penanda gen 16S, 18S, 28S, dan ITS yang merepresentasikan bakteri, arkea, dan fungi. Data

pembacaan (reads) difilter dengan panjang minimum 400 bp dan maksimum 1000 bp untuk memastikan bahwa hanya amplicon ITS yang dianalisis. Workflow ini menghasilkan beberapa keluaran utama, meliputi ringkasan jumlah pembacaan terfilter dan terklasifikasi, visualisasi taksonomi dalam bentuk bar plot, tabel kelimpahan, indeks keanekaragaman dan, serta informasi mengenai versi perangkat lunak dan parameter workflow yang digunakan selama analisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komunitas Jamur Patogen pada Biji Kopi Arabika

Berdasarkan hasil analisis metabarkoding, ditemukan lima filum dengan tingkat kelimpahan yang berbeda, yaitu Ascomycota (94,530%), *Unknown* (5,400%), Zoopagomycota (0,04%), Bacillota (0,02%), dan Actinomycota (0,01%). Komposisi ini menunjukkan bahwa komunitas mikroba pada buah kopi yang terinfeksi busuk hitam didominasi oleh jamur dari filum Ascomycota, sementara filum lainnya hanya memiliki proporsi yang sangat kecil. Kategori *Unknown* kemungkinan tidak terdeteksi secara spesifik karena beberapa faktor, seperti ketidaksesuaian primer ITS yang digunakan, dominasi DNA dari taksa tertentu, serta terbatasnya data referensi sekuens jamur tropis pada basis data global. Sementara itu, kategori *Other* mencakup genus-genus yang telah teridentifikasi namun memiliki kelimpahan yang sangat rendah, sehingga digabungkan ke dalam satu kelompok (Cruz et al., 2024). Menurut (Cruz et al., 2024) Ascomycota merupakan filum yang paling dominan untuk ditemukan pada kopi. Ascomycota juga memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi pada jaringan tanaman. Hasil serupa juga dikemukakan oleh (Peñuela-Martínez et al., 2023), bahwa filum Ascomycota memiliki sifat yang toleran terhadap kondisi pH rendah, kaya gula dan cocok dengan lingkungan mucilage. Filum Zoopagomycota terdeteksi dalam proporsi yang lebih kecil, dengan contoh spesies seperti *Pandora blunckii* dan *Coemansia umbellata*. *Pandora blunckii* dan *Coemansia umbellata* merupakan jamur entomopatogen bukan patogen tanaman pada biji kopi, jamur ini sering digunakan sebagai biocontrol hama tanaman (Hajek et al., 2024; L. Neal et al., 2021). Jamur entomopatogen adalah spesies jamur yang bersifat patogen terhadap serangga. Patogen jamur ini berperan penting dalam mengendalikan populasi serangga (Rajula et al., 2020). Keberadaan kedua jamur ini menunjukkan adanya interaksi antara serangga dan jaringan buah kopi yang terinfeksi.



Gambar 2. Barplot filum

Selain itu, pendekatan metabarcoding berbasis penanda ITS menggunakan ONT juga melaporkan bahwa metode ini memungkinkan terdeteksinya sekuens non-target akibat kompleksitas sampel dan keterbatasan spesifisitas primer (Bradshaw et al., 2023). Filum Bacillota adalah kelompok bakteri yang tahan terhadap kondisi lingkungan yang panas, radiasi, dan pH yang tidak menguntungkan bagi bakteri (Bale et al., 2025). Spesies yang ditemukan pada filum Bacillota yaitu *Megasphaera elsdenii* merupakan bakteri Gram-negative yang terdapat pada saluran pencernaan mamalia. Kelimpahan *Megasphaera elsdenii* meningkat pada hewan yang diberi makanan berbahan dasar biji-bijian karena kemampuannya memanfaatkan laktat (produk fermentasi gula), terutama pada pH rendah (Cabral and Weimer, 2024). Kehadiran spesies *Megasphaera elsdenii* merupakan proses dari pembusukan biji kopi dengan lingkungan mucilage yang kaya gula yang memungkinkan *Megasphaera elsdenii* berkembang. Sementara itu, filum Actinomycota juga muncul dalam jumlah yang sedikit, ditemukan spesies *Bifidobacterium pseudocatenulatum*. *Bifidobacterium pseudocatenulatum* adalah bakteri probiotik, Gram-positif, dan non-spora yang terdapat pada usus manusia (Chen et al., 2021; Chung The et al., 2021). Spesies *Bifidobacterium pseudocatenulatum* yang terdeteksi pada sampel biji kopi kemungkinan besar terjadinya kontaminasi pada saat pengambilan sampel.

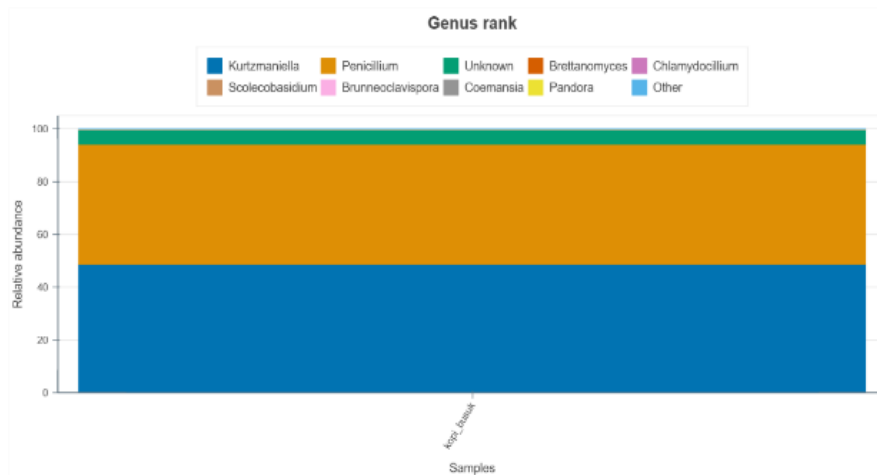
Distribusi sepuluh genus dominan

Sepuluh genus dominan dengan kelimpahan yang bervariasi, yaitu *Kurtzmaniella* (48,640%), *Penicillium* (45,590%), *Unknow* (5,400%), *Brettanomyces* (0,07%), *Chlamydocillium* (0,07%), *Scolecobasidium* (0,06%), *Brunneoclavispora* (0,02%), *Coemansia* (0,02%), *Pandora* (0,02%), dan *Other* (0,11%). Genus-genus yang muncul ini memiliki keterkaitan erat dengan kondisi ekologis buah kopi serta lingkungan tumbuhnya yang lembap

dan kaya bahan organik. Akan tetapi kemunculan genus-genus tersebut juga menunjukkan bahwa sumber kontaminasi fungi pada buah kopi tidak hanya berasal dari jaringan tanaman, tetapi juga dari udara, tanah, dan aktivitas biota di sekitar kebun.

Genus *Kurtzmaniella* merupakan kelompok ragi yang paling umum ditemukan pada substrat buah, bunga, dan lingkungan fermentatif alami. Beberapa spesies seperti *Kurtzmaniella quercitrusa* memiliki kemampuan beradaptasi terhadap lingkungan yang asam dan kaya gula (Liao et al., 2025). *Kurtzmaniella* juga mampu tumbuh pada substrat buah yang mengandung sukrosa tinggi serta bersifat osmotoleran (Lopes et al., 2019). Selain itu, *Brettanomyces* juga terdeteksi dalam jumlah relatif tinggi. Ragi ini dikenal luas dalam konteks fermentasi alami karena kemampuannya tumbuh pada kadar gula tinggi dan oksigen rendah (Lu et al., 2022). *Brettanomyces* dapat menghasilkan senyawa aromatik seperti *etil fenol* dan *etil guaiakol* yang terbentuk selama proses fermentasi. Kehadiran *Brettanomyces* pada buah kopi menunjukkan adanya aktivitas fermentatif mikroba alami, yang kemungkinan berasal dari interaksi antara buah kopi matang dan mikroorganisme di udara (Mitina et al., 2025).

Selain kedua genus tersebut *Penicillium* bersifat kosmopolitan dan dapat berperan sebagai pengurai bahan organik serta menghasilkan berbagai enzim hidrolitik (Luciano-Rosario et al., 2020). Selain itu, *Penicillium* mampu beradaptasi pada kondisi suhu dan kelembapan tinggi, menjadikannya fungi yang mudah tersebar di udara dan cepat mengkolonisasi permukaan buah (Díaz et al., 2020). Oleh karena itu, kemunculannya pada buah kopi yang busuk diduga berasal dari kontaminasi udara atau spora yang terbawa oleh peralatan panen dan media lingkungan di sekitar perkebunan (Shen et al., 2025). Sementara itu, genus *Chlamydocillium* merupakan jamur hifomiset saproba yang umum dijumpai pada tanah, serasah daun, serta bahan organik yang mengalami



Gambar 3. Proporsi genus utama

dekomposisi. Keberadaan *Chlamydocillium* pada sampel kopi mengindikasikan adanya kemungkinan kontaminasi spora yang berasal dari tanah, debu, atau partikel organik di sekitar area perkebunan (Valentini et al., 2024). Kontaminan alami yang berasal dari lingkungan juga berperan dalam keberadaan atau temuan *Chlamydocillium* pada buah kopi (Ochoa-Henriquez et al., 2024).

Tidak hanya itu, genus *Scolecobasidium* dikenal sebagai fungi berpigmen gelap (*melanized fungi*) yang memiliki daya tahan tinggi terhadap stres lingkungan (Wang et al., 2018). Spesies dalam genus ini sering ditemukan pada tanah lembap, dinding bangunan, dan substrat organik yang membusuk. menjelaskan *Scolecobasidium* bersifat kosmopolit dan dapat tumbuh pada jaringan tanaman mati. Kemunculannya pada buah kopi arabika dapat dihubungkan dengan sifat sporanya yang resisten terhadap radiasi ultraviolet dan fluktuasi suhu, sehingga mampu bertahan di permukaan buah hingga kondisi sesuai untuk tumbuh (Crous et al., 2024). Genus *Brunneoclavispora* umumnya ditemukan pada jaringan tumbuhan yang telah mati, terutama bambu dan kayu tropis.

Brunneoclavispora merupakan spesies yang bersifat saprofit tersebar luas di lingkungan tropis dengan vegetasi padat. Keberadaannya pada sampel kopi arabika kemungkinan berasal dari spora udara atau dari fragmen jaringan tumbuhan di sekitar lahan (Yang et al., 2022; Hyde et al., 2020).

Dominasi sepuluh spesies dominan

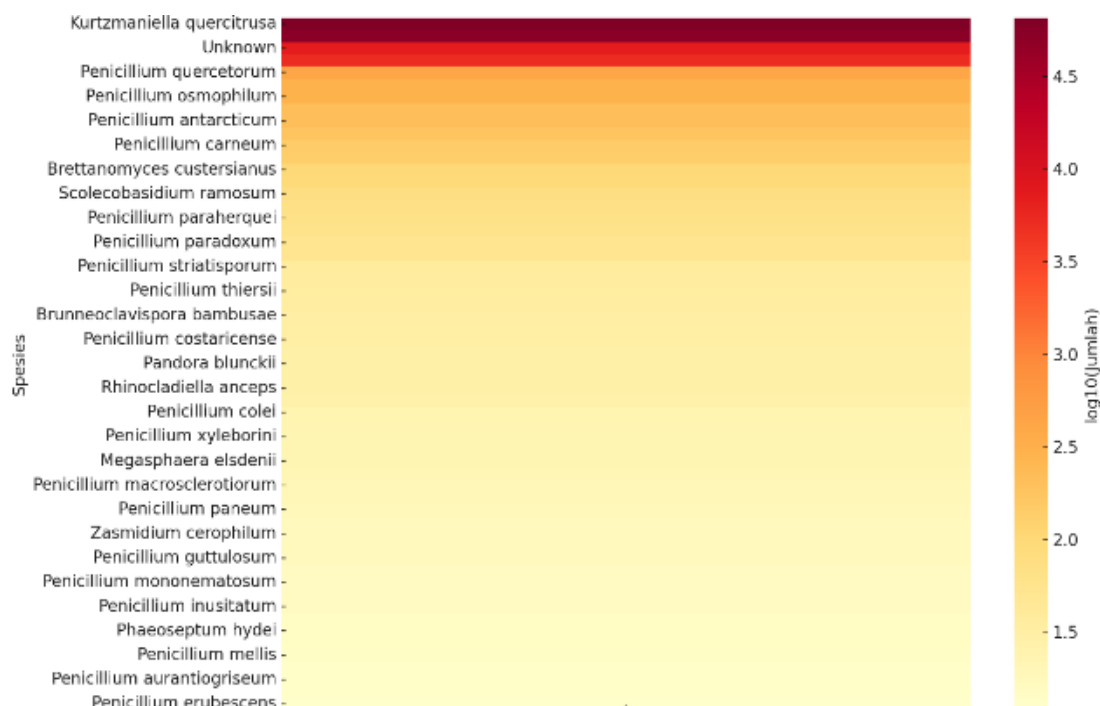
Sepuluh spesies utama yang paling dominan dan berkontribusi dalam proses pembusukan buah kopi. Analisis komposisi taksonomi menggunakan visualisasi heatmap (Gambar 4) mengungkap bahwa terdapat 57 spesies dengan total 134.371 sekuens yang terdiri dari teridentifikasi dalam 17 genus, komunitas fungi pada buah kopi busuk hitam memiliki struktur yang tidak seimbang dengan dominansi yang berbeda-beda dari sepuluh spesies utama yaitu *Kurtzmaniella quercitrusa* 48.600%, *Penicillium crustosum* 39.750%, *Penicillium coprobium* 3.790%, *Penicillium quercetorum* 0.320%,

Penicillium menorum 0.230%, *Penicillium osmophilum* 0.230%, *Penicillium skrjabini* 0.160%, *Penicillium antarcticum* 0.160%, *Other* 1.370%,

Kurtzmaniella quercitrusa mendominasi aktivitasnya yang tinggi pada fase awal ketika kondisi lingkungan seperti kelembapan, pH, dan fermentasi yang disebabkan oleh ketersediaan karbohidrat, polifenol, protein, dan gula untuk pertumbuhan jamur (Todhanakasem et al., 2024). Spesies *Kurtzmaniella quercitrusa* diketahui memiliki aktivitas antioksidan tertinggi serta berkontribusi terhadap peningkatan kompleksitas rasa dan intensitas warna. *Kurtzmaniella quercitrusa* juga berpotensi digunakan sebagai alternatif dalam produksi anggur stroberi berkualitas tinggi dengan aroma bunga yang khas (Wang et al., 2025).

Spesies *Penicillium crustosum* berpotensi menghasilkan mikotoksin yang dapat menurunkan kualitas biji kopi serta mengancam keamanan produk kopi pascapanen. Spesies *Penicillium crustosum* berperan sebagai agen sekunder dalam proses pembusukan buah kopi, dengan mempercepat degradasi jaringan setelah terjadinya infeksi awal oleh patogen (Caldwell et al., 2024; Hlebová et al., 2022). Selain itu, *Penicillium coprobium* ditemukan dengan proporsi lebih kecil yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan patulin, salah satu mikotoksin yang bersifat neurotoksik (Brand et al., 2019). Beberapa studi juga melaporkan bahwa *Penicillium coprobium* dapat memproduksi metabolit bioaktif pyripyropene A, senyawa yang memiliki aktivitas insektisida alami (Horikoshi et al., 2022). Kemunculan *Penicillium coprobium* pada buah kopi busuk dapat dikaitkan dengan kondisi jaringan yang sudah mengalami kerusakan lanjut, yang memungkinkan kolonisasi oleh fungi oportunistik toksigenik (Hlebová et al., 2022).

Spesies *Penicillium quercetorum*, *Penicillium menorum*, *Penicillium osmophilum*, dan *Penicillium antarcticum*, merupakan jamur saprofit tanah, pengurai bahan organik, dan merupakan bagian dari proses dekomposisi buah yang telah rusak atau terjadinya kontaminan lingkungan (Condé et al., 2025; Park et al., 2020).



Gambar 4. Distribusi kelimpahan antarspesies

Sementara itu, *Penicillium menonorum* sebagai penghasil enzim xilanase termotabil yang muncul pada buah rusak dan mampu mengurai hemiselulosa, serta mempercepat degradasi buah (Luong et al., 2023). Di sisi lain, *Penicillium osmophilum* dan *Penicillium antarcticum* mampu beradaptasi dengan kondisi lingkungan ekstrem serta kaya akan metabolit sekunder yang berperan dalam proses pembusukan buah kopi (Liang et al., 2024); Borkunov et al., 2025).

Berdasarkan hasil analisis tersebut, komunitas fungi pada buah kopi busuk hitam di Aceh Tengah didominasi oleh spesies yang bersifat fermentatif dan toksigenik, yang bersama-sama mempercepat proses degradasi jaringan. Temuan ini sejalan dengan pola yang terlihat pada hasil visualisasi heatmap (Gambar 4), di mana intensitas warna menunjukkan dominansi tinggi *Kurtzmanella quercitrusa* dan *Penicillium crustosum* dibandingkan spesies lainnya. Dominansi tersebut memberikan gambaran awal mengenai struktur komunitas mikroba yang terbentuk pada buah kopi busuk hitam, sehingga diperlukan analisis kuantitatif untuk mengetahui tingkat keanekaragaman dan pemerataan spesies secara lebih mendalam.

Indeks Keanekaragaman

Analisis lanjutan berupa indeks, dilakukan perhitungan indeks keanekaragaman menggunakan beberapa parameter, yaitu indeks Shannon-Wiener (H'), indeks Simpson (D), dan Inverse Simpson ($1/D$). Nilai-nilai ini memberikan informasi mengenai tingkat keanekaragaman, dominansi spesies, serta keseimbangan komunitas mikroba dalam sampel yang dianalisis.

Hasil perhitungan indeks keanekaragaman, nilai Shannon (H') sebesar 1,17 menunjukkan bahwa

komunitas mikroba pada buah kopi busuk hitam memiliki keanekaragaman yang rendah. Nilai ini berada di antara 1-3, yang mengindikasikan bahwa hanya sedikit spesies yang mendominasi, sedangkan spesies lain muncul dalam jumlah terbatas. Selanjutnya, nilai Simpson (D) sebesar 0,6 termasuk dalam kategori dominansi tinggi, karena nilai D mendekati 1. Hal ini menegaskan bahwa satu atau beberapa spesies mikroba memiliki proporsi yang jauh lebih besar dibandingkan spesies lainnya dalam komunitas tersebut. Sementara itu, nilai Inverse Simpson sebesar 1,66 juga menunjukkan tingkat dominansi yang rendah, karena masih berada pada rentang 1–2, yang menandakan rendahnya keragaman dan ketidakseimbangan antarspesies (Yuniari et al., 2025).

Tabel 1. Nilai Shannon, Simpson, Inverse

Indeks	Nilai	Interpretasi
Shannon (H')	1,17	Keanekaragaman sedang-rendah
Simpson (D)	0,6	Dominansi tinggi
Inverse Simpson ($1/D$)	1,66	Dominansi rendah

Berdasarkan indeks keanekaragaman, dapat disimpulkan bahwa pembusukan buah kopi dipengaruhi oleh dominasi beberapa mikroba, sementara mikroba lainnya hanya berperan kecil. Penelitian selanjutnya dapat dilakukan dengan menggabungkan hasil analisis keanekaragaman mikroba untuk memahami peran mikroba dalam proses pembusukan buah kopi. Selain itu, penelitian lanjutan perlu mengamati perubahan komunitas mikroba pada berbagai tingkat kematangan dan

tingkat kerusakan buah, serta pengaruh seperti kelembapan, suhu, dan penanganan pascapanen.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa, pendekatan metabarcoding berbasis Oxford Nanopore Technology dengan penanda ITS rDNA terbukti efektif dalam mengidentifikasi keragaman fungi patogen secara menyeluruh. Komunitas fungi pada buah kopi arabika (*Coffea arabica*) yang terinfeksi busuk hitam di Desa Tawar Miko, Aceh Tengah menunjukkan struktur komunitas yang sederhana dan tidak merata, dengan dominansi kuat oleh sebagian fungi. Kondisi ini menunjukkan bahwa proses pembusukan buah kopi dikendalikan oleh mikroba tertentu yang berperan utama dalam degradasi jaringan, sementara mikroorganisme lainnya hanya berkontribusi dalam jumlah terbatas. Nilai indeks keanekaragaman Shannon yang rendah serta indeks Simpson dan Inverse Simpson yang menunjukkan dominansi tinggi menegaskan bahwa hanya sedikit spesies yang mendominasi komunitas tersebut.

Ucapan Terima Kasih

Tim peneliti mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing. Terima kasih juga disampaikan kepada tim *Integrated Genome Factory* (IGF) Universitas Gadjah Mada atas bantuannya dalam mengidentifikasi keberagaman fungi pada buah kopi yang terinfeksi bercak hitam menggunakan analisis metabarcoding berbasis Oxford Nanopore Technology. Tim peneliti juga berterima kasih kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry atas dukungan akademik dan fasilitas yang diberikan.

DAFTAR REFERENSI

- Bale, N.J., Koenen, M., Ding, S., Sinninghe Damsté, J.S., 2025. N-glyceroyl alkylamine phosphoglycolipids dominate the lipidome of several *Bacillota* bacteria. *Syst Appl Microbiol* 48. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2025.126609>
- Borkunov, G. V., Kirichuk, N.N., Chausova, V.E., Popov, R.S., Zhuravleva, O.I., Chingizova, E.A., Yurchenko, E.A., Isaeva, M.P., Yurchenko, A.N., 2025. Differences in Metabolite Profiles and Bioactivities of Intra-Strain Variants of Marine Fungus *Penicillium antarcticum* KMM 4668. *Metabolites* 15. <https://doi.org/10.3390/metabo15020077>
- Bradshaw, M.J., Aime, M.C., Rokas, A., Maust, A., Moparthi, S., Jellings, K., Pane, A.M., Hendricks, D., Pandey, B., Li, Y., Pfister, D.H., 2023. Extensive intragenomic variation in the internal transcribed spacer region of fungi. *iScience* 26,pp.107317. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107317>
- Brand, B., Stoye, N.M., Guilherme, M.D.S., Nguyen, V.T.T., Baumgaertner, J.C., Schöffler, A., Thines, E., Endres, K., 2019. Identification of Patulin from *Penicillium coprobium* as a Toxin for Enteric Neurons. *Molecules* 24. <https://doi.org/10.3390/molecules24152776>
- Cabral, L. da S., Weimer, P.J., 2024. *Megasphaera elsdenii*: Its Role in Ruminant Nutrition and Its Potential Industrial Application for Organic Acid Biosynthesis. *Microorganisms*. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010219>
- Caldwell, M.Y., Mariño, Y.A., Medina, A.G., Serrato-Díaz, L.M., Bayman, P., 2024. Coffee fruit rot in Puerto Rico: distribution, ecology and associated fungi. *Eur J Plant Pathol* 168,pp.527–540. <https://doi.org/10.1007/s10658-023-02781-1>
- Cen, C.C., Faisal, E.N., 2021. Permintaan Kopi Indonesia. *Jurnal Riset Ilmu Ekonomi* 1,pp.108–119. <https://doi.org/10.23969/jrie.v1i3.20>
- Chalupowicz, L., Dombrovsky, A., Gaba, V., Luria, N., Reuven, M., Beerman, A., Lachman, O., Dror, O., Nissan, G., Manulis-Sasson, S., 2019. Diagnosis of plant diseases using the Nanopore sequencing platform. *Plant Pathol* 68,pp.229–238. <https://doi.org/10.1111/ppa.12957>
- Chen, J., Chen, X., Ho, C.L., 2021. Recent Development of Probiotic *Bifidobacteria* for Treating Human Diseases. *Front Bioeng Biotechnol* 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.770248>
- Chung The, H., Nguyen Ngoc Minh, C., Tran Thi Hong, C., Nguyen Thi Nguyen, T., Pike, L.J., Zellmer, C., Pham Duc, T., Tran, T.-A., Ha Thanh, T., Van, M.P., Thwaites, G.E., Rabaa, M.A., Hall, L.J., Baker, S., 2021. Exploring the Genomic Diversity and Antimicrobial Susceptibility of *Bifidobacterium pseudocatenulatum* in a Vietnamese Population. *Microbiol Spectr* 9. <https://doi.org/10.1128/Spectrum.00526-21>
- Condé, T.O., Ramos, D.O., Nogueira, P.T.S., Pereira, O.L., 2025. Inside out: New root endophytic *Penicillium* and *Talaromyces* species isolated from *Cattleya* orchids (Orchidaceae) in Brazil. *Fungal Syst Evol* 15,pp.179–200. <https://doi.org/10.3114/fuse.2025.15.08>
- Crous, P.W., Jurjević, Ž., Balashov, S., De la Peña-Lastra, S., 2024. Fungal Planet description sheets: 1614–1696. *Fungal Syst Evol* 13,pp.183–440. <https://doi.org/10.3114/fuse.2024.13.11>
- Cruz, D., Jaramillo-Riofrío, A., Herrera, P., Aguinsaca, R., Chamba, M., 2024. Fungal Diversity Detected by ITS-5.8S from *Coffea*

- arabica Leaves Infected by Rust (*Hemileia vastatrix*) in Southern Ecuador. *Diversity (Basel)* 16. <https://doi.org/10.3390/d16100633>
- De Coster, W., Rademakers, R., 2023. NanoPack2: population-scale evaluation of long-read sequencing data. *Bioinformatics* 39. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btad311>
- Díaz, M.A., Pereyra, M.M., Santander, F.F.S., Perez, M.F., Córdoba, J.M., Alhussein, M., Karlovsky, P., Dib, J.R., 2020. Protection of citrus fruits from postharvest infection with *Penicillium digitatum* and degradation of patulin by biocontrol yeast *Clavispora lusitaniae* 146. *Microorganisms* 8,pp.1–12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101477>
- Hajek, A.E., Gryganskyi, A.P., Gouli, S.Y., Bittner, T.D., Sullivan, C.F., Parker, B.L., 2024. Reassessing the Diversity of the Arthropod-Pathogenic Genus *Pandora* Batko (Entomophthoromycotina; Erynioideae). *Diversity (Basel)* 16. <https://doi.org/10.3390/d16100603>
- Hlebová, M., Uzsáková, V., Podhorská, L., Vešelenyiová, D., Mrkvová, M., Čuboň, J., Hleba, L., 2022. Mycobiota and Co-Occurrence of Mycotoxins in Green and Roasted Coffee Beans. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 11. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.5779>
- Horikoshi, R., Goto, K., Mitomi, M., Oyama, K., Hirose, T., Sunazuka, T., Omura, S., 2022. Afidopyropen, a novel insecticide originating from microbial secondary extracts. *Sci Rep* 12. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06729-z>
- Kerkhof, L.J., 2021. Is Oxford Nanopore sequencing ready for analyzing complex microbiomes? *FEMS Microbiol Ecol*. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab001>
- Liao, B., Chen, O., Zhang, H., Wang, W., Yi, L., Li, H., Zeng, K., 2025. Biocontrol yeast *Kurtzmaniella quercitrusa* BS-AY-S1 controls postharvest green mold of citrus fruit by producing metabolites with antifungal activity. *Biological Control* 200,pp.105667. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2024.105667>
- L. Neal, A., McLaren, T., Lourenço Campolino, M., Hughes, D., Marcos Coelho, A., Gomes de Paula Lana, U., Aparecida Gomes, E., Morais de Sousa, S., 2021. Crop type exerts greater influence upon rhizosphere phosphohydrolase gene abundance and phylogenetic diversity than phosphorus fertilization. *FEMS Microbiol Ecol* 97. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab033>
- Lopes, M.R., Santos, A.R.O., Moreira, J.D., Santa-Brígida, R., Martins, M.B., Pinto, F.O., Valente, P., Morais, P.B., Jacque, N., Grondin, C., Casaregola, S., Lachance, M.A., Rosa, C.A., 2019. *Kurtzmaniella hittingeri* f.a., sp. nov., isolated from rotting wood and fruits, and transfer of three *Candida* species to the genus *Kurtzmaniella* as new combinations. *Int J Syst Evol Microbiol* 69,pp.1504–1508. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003337>
- Lu, L., Tibpromma, S., Karunarathna, S.C., Jayawardena, R.S., Lumyong, S., Xu, J., Hyde, K.D., 2022. Comprehensive Review of Fungi on Coffee. *Pathogens*. <https://doi.org/10.3390/pathogens11040411>
- Luciano-Rosario, D., Keller, N.P., Jurick, W.M., 2020. *Penicillium expansum*: biology, omics, and management tools for a global postharvest pathogen causing blue mould of pome fruit. *Mol Plant Pathol* 21,pp.1391–1404. <https://doi.org/10.1111/mpp.12990>
- Luong, T.T.H., Po AIM, S., Tangthirasun, N., 2023. Isolation and Characterization of Xylanase from a Novel Strain, *Penicillium menonorum* SP10. 51,pp.239–245. <https://doi.org/10.1080/12298093.2023.2247221>
- Lusiana, S., Mukarlina, M., Zakiah, Z., 2022. Daya Hambat Isolat Jamur Rizosfer Tanaman Kopi (*Coffea* sp.) Terhadap Pertumbuhan Jamur Penyebab Busuk Buah Kopi (*Coffea* sp.). *J Bios Logos* 12,16. <https://doi.org/10.35799/jbl.v12i1.35872>
- Mitina, I., Grajdieru, C., Sturza, R., Mitin, V., Rubtov, S., Balanuta, A., Behta, E., Inci, F., Haciosmanoğlu, N., Zgardan, D., 2025. The *Brettanomyces bruxellensis* Contamination of Wines: A Case Study of Moldovan Micro-Winery. *Beverages* 11. <https://doi.org/10.3390/beverages11010003>
- Munawaroh, A.Z., Alfari, A.I., Diani, C.M., Desinta, R., Nurazizah, S., 2021. Penyakit yang Menyerang Buah Kopi (*Coffea* spp) Disease Affecting Cherry Coffee (*Coffea* spp). Prosiding SEMNAS BIO. Universitas Negeri Padang.
- Nam, N.N., Do, H.D.K., Loan Trinh, K.T., Lee, N.Y., 2023. Metagenomics: An Effective Approach for Exploring Microbial Diversity and Functions. *Foods*. <https://doi.org/10.3390/foods12112140>
- Ochoa-Henriquez, V.H., Faggioli, V., Gómez-Godínez, L.J., Rivarola, M., Cristancho, M., 2024. Colombian coffee (*Coffea arabica* L.) plantations: a taxonomic and functional survey of soil fungi. *Front Sustain Food Syst* 8. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2024.1345383>

- Peñuela-Martínez, A.E., Velasquez-Emiliani, A.V., Angel, C.A., 2023. Microbial Diversity Using a Metataxonomic Approach, Associated with Coffee Fermentation Processes in the Department of Quindío, Colombia. *Fermentation* 9,pp.343. <https://doi.org/10.3390/fermentation9040343>
- Rajula, J., Rahman, A., Krutmuang, P., 2020. Entomopathogenic fungi in Southeast Asia and Africa and their possible adoption in biological control. *Biological Control* 151,pp.104399. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104399>
- Ranjini, A.P., Giri, M.S., Machenahalli, S., Sudha, M., 2022. Management of coffee black rot disease caused by *Kolerogla Noxia* Donk. *J Mycopathol Res* 60,pp.565–569. <https://doi.org/10.57023/jmycr.60.4.2022.565>
- Shen, Y., Ma, N., Liu, S., Xu, G., Zhang, J., 2025. Mycotoxins and secondary metabolites from fruit postharvest pathogenic *Penicillium* species. *Food Chem* 488,pp.144880. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.144880>
- Tenea, G.N., Cifuentes, V., Reyes, P., Cevallos-Vallejos, M., 2025. Unveiling the Microbial Signatures of Arabica Coffee Cherries: Insights into Ripeness Specific Diversity, Functional Traits, and Implications for Quality and Safety. *Foods* 14. <https://doi.org/10.3390/foods14040614>
- Theologidis, I., Karamitros, T., Vichou, A.E., Kizis, D., 2023. Nanopore-Sequencing Metabarcoding for Identification of Phytopathogenic and Endophytic Fungi in Olive (*Olea europaea*) Twigs. *Journal of Fungi* 9. <https://doi.org/10.3390/jof9111119>
- Todhanakasem, T., Van Tai, N., Pornpukdeewattana, S., Charoenrat, T., Young, B.M., Wattanachaisaereekul, S., 2024. The Relationship between Microbial Communities in Coffee Fermentation and Aroma with Metabolite Attributes of Finished Products. *Foods* 13. <https://doi.org/10.3390/foods13152332>
- Valentini, B., Penna, M., Viazzo, M., Caprio, E., Casacci, L. Pietro, Barbero, F., Stefanini, I., 2024. Yeasts, arthropods, and environmental matrix: a triad to disentangle the multi-level definition of biodiversity. *Sci Rep* 14. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70327-4>
- Wang, R., Yang, B., Jia, S., Dai, Y., Lin, X., Ji, C., Chen, Y., 2025. The Antioxidant Capacity and Flavor Diversity of Strawberry Wine Are Improved Through Fermentation with the Indigenous Non-Saccharomyces Yeasts *Hanseniaspora uvarum* and *Kurtzmanella quercitrusa*. *Foods* 14. <https://doi.org/10.3390/foods14050886>
- Wang, X., Cai, W., Van Den Ende, A.H.G.G., Zhang, J., Xie, T., Xi, L., Li, X., Sun, J., De Hoog, S., 2018. Indoor wet cells as a habitat for melanized fungi, opportunistic pathogens on humans and other vertebrates. *Sci Rep* 8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26071-7>
- Wood, D.E., Lu, J., Langmead, B., 2019. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biol* 20,pp.257. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1891-0>
- Yang, E.F., Tibpromma, S., Karunarathna, S.C., Phookamsak, R., Xu, J.C., Zhao, Z.X., Karunanayake, C., Promputtha, I., 2022. Taxonomy and Phylogeny of Novel and Extant Taxa in Pleosporales Associated with *Mangifera indica* from Yunnan, China (Series I). *Journal of Fungi* 8. <https://doi.org/10.3390/jof8020152>
- Yuniari, S.H., Akbar Sandi Wijaya, Agus Fani Faisol, 2025. Mapping the Level of Macrobenthic Diversity to Evaluate Environmental and Ecosystem Disturbances. *Journal of Aquaculture Science* 10,pp.125–135. <https://doi.org/10.20473/joas.v10i2.77489>