

**IDENTIFIKASI MORFOLOGI DAN MOLEKULER
PATOGEN YANG BERASOSIASI DENGAN PENYAKIT BERCAK DAUN
*Eucalyptus pellita***

SKRIPSI

**Disusun oleh:
Silvia Endrawati
061118035**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2023**

**IDENTIFIKASI MORFOLOGI DAN MOLEKULER
PATOGEN YANG BERASOSIASI DENGAN PENYAKIT BERCAK DAUN
*Eucalyptus pellita***

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) pada
Program Studi Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan

**Disusun oleh:
Silvia Endrawati
061118035**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Identifikasi Morfologi dan Molckuler Patogen yang Berasosiasi dengan Penyakit Bercak Daun *Eucalyptus pellita*

Nama : Silvia Endrwati

NPM : 061118035

Program Studi : Biologi

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui pada

Bogor, November 2023

Menyetujui,

Pembimbing Pendamping,



Dr. Neo Endra Lelana, M.Si
NIP. 1978 1106 2003 12 1 004

Pembimbing Utama,



Dra. Tri Saptari Haryani, M.Si
NIP. 1962 0318 1987 03 2 001

Mengetahui,

Dekan FMIPA
Universitas Pakuan



Ascep Deni, N.Kom., M.Sc., Ph.D.
NIK. 10997004090

Ketua Program Studi Biologi .
FMIPA Universitas Pakuan



Dra. Triastinurmiatiningih, M.Si
NIK. 10894029207

**PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI
SERTA PELIMPAHAN KEKAYAAN INTELEKTUAL DI UNIVERSITAS
PAKUAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Silvia Endrawati

NPM : 061118035

Judul Skripsi : Identifikasi Morfologi dan Molekuler Patogen yang Berasosiasi
dengan Penyakit Bercak Daun *Eucalyptus pellita*

Dengan ini saya menyatakan bahwa Skripsi di atas benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, November 2023



Silvia Endrawati
(061118035)

LEMBAR PERSEMBAHAN

Dengan segala puji syukur kepada Allah SWT dan atas dukungan, do'a dari orang tercinta, akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Oleh karena itu, dengan rasa bangga dan bahagia saya ucapkan rasa syukur dan terima kasih kepada :

1. Allah SWT karena hanya atas izin dan karunia-Nya maka skripsi ini dapat selesai pada tepat waktu.
2. Diriku sendiri Silvia Endrawati, S.Si yang telah berusaha, bertahan dan berhasil sampai dititik ini.
3. Papah tercinta Hendra Satibi yang telah memberikan dukungan serta do'a yang tiada henti untuk kesuksesan saya dan selalu menjadi panutan saya sampai kapanpun.
4. Mama tercinta Neneng Soliawati yang selalu mendo'akan serta mendukung dan mendengarkan keluh-kesah saya selama ini.
5. Adik saya tersayang Moch Rofiq Dzulkarnaen yang selalu memberi do'a serta semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
6. Keluarga Besar yang selalu memberi dukungan penuh semangat.
7. Dosen Pembimbing yaitu Ibu Dra. Tri Saptari Haryani, M.Si dan Bapak Dr. Neo Endra Lelana, M.Si yang telah membimbing saya selama proses penelitian, sidang hingga terselesaikan skripsi ini.
8. Ibu dan Bapak Dosen Biologi atas segala ilmu, dan pengalaman yang luar biasa selama perkuliahan, praktikum maupun di lapangan.
9. Moch Resha Yanwar Permana, S.E partner yang selalu menemani, membantu, mendengarkan, menghibur, dan meluangkan waktunya selama proses penelitian sampai skripsi ini selesai.
10. Sahabat terdekat saya yaitu member Blackjack (Siti Anisa Haryati, S.Si, Zahra Zenana, S.Si, Nessa Amelia, S.Si, Ulan Kurniawati, S.Si, Wanna Rosa Alawiah, S.Si, dan Hulwiya Malik, S.Si) yang selalu membantu, mendengarkan, dan memberi support semasa kuliah hingga lulus bersama.

11. Nuraliefah Khairani, S.Si teman seperjuangan sejak menyusun proposal hingga proses penelitian, stress bareng, bangkit kembali dan akhirnya lulus dan wisuda bersama.
12. Teman-teman Biologi 2018 yang sudah menemani masa-masa kuliahku hingga pada akhirnya mendapat gelar S.Si bersama.
13. Saudaraku Dwi Wahyuni Putri yang siap sedia menghibur, mendengarkan lika-liku kuliah hingga pembuatan skripsi ini, dan memberi semangat penuh.
14. Kucingku iteung yang selalu menjadi obat penghibur dikala sedang stres.
15. Sahabatku tersayang Ulfi Siti Mardianti yang selalu mendengar curhatan, keluh-kesah saya, dan terima kasih selalu sempat mengajak saya healing untuk mewartakan diri.

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Silvia Endrawati dilahirkan di Cianjur pada 30 Mei 2000, adalah anak pertama dari dua bersaudara, putri dari Bapak Hendra Satibi dan Ibu Neneng Soliawatie. Penulis memulai pendidikan formal di SDN Kebonpala dan lulus pada tahun 2012. Penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 1 Karangtengah dan lulus pada tahun 2015, kemudian melanjutkan pendidikan menengah umum di SMK Bunga Persada Cianjur dan lulus pada tahun 2018. Penulis kemudian menempuh pendidikan di Program Studi Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan sejak tahun 2018.

Selama menjalani pendidikan di Universitas Pakuan Bogor, penulis aktif di organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi *Heliathus* dan Badan Eksekutif Mahasiswa FMIPA. Kemudian melaksanakan Praktik Kerja Magang di Pusat Standardisasi Instrumen Pengelolaan Hutan Berkelanjutan (KLHK) pada tahun 2021. Sebagai syarat penyelesaian studi untuk meraih gelar Sarjana Sains (S.Si) dari Program Studi Biologi FMIPA Universitas Pakuan, penulis melaksanakan penelitian tugas akhir berjudul “Identifikasi Morfologi dan Molekuler Patogen yang Berasosiasi dengan Penyakit Bercak Daun *Eucalyptus pellita*”

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat, dan karunia-Nya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Tri Saptari Haryani, M.Si selaku pembimbing utama dari Program Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Pakuan, atas pemberian motivasi, bimbingan, dan arahan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi.
2. Bapak Dr. Neo Endra Lelana, M.Si selaku pembimbing pendamping dari Pusat Standardisasi Instrumen Pengelolaan Hutan Berkelanjutan, atas bimbingan dan bantuan teknis selama melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
3. Bapak Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan.
4. Ibu Dra. Triastinurmiatiningsih, M.Si. selaku ketua Program Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Pakuan.
5. Kedua orang tua, dan rekan-rekan yang senantiasa mendukung dan mendoakan penulis dalam penyelesaian studi.

Penulis menyadari berbagai kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun penulis berharap informasi ini dapat bermanfaat bagi pembaca secara umum, khususnya sebagai informasi ilmiah mengenai identifikasi morfologi dan molekuler patogen yang berasosiasi dengan penyakit bercak daun *Eucalyptus pellita*.

Bogor, November 2023.

Penulis

RINGKASAN

Silvia Endrawati 061118035. Identifikasi Morfologi dan Molekuler Patogen yang Berasosiasi dengan Penyakit Bercak Daun *Eucalyptus pellita*. Di bawah bimbingan Dra. Tri Saptari Haryani, M.Si dan Dr. Neo Endra Lelana, M.Si

Gejala penyakit yang sering ditemukan pada daun *Eucalyptus pellita* yaitu bercak daun. Pada penelitian ini identifikasi isolat cendawan dilakukan secara morfologi dan molekuler. Tujuan penelitian adalah mengisolasi patogen penyebab penyakit bercak daun pada *Eucalyptus pellita* dan mengidentifikasi patogen yang berasosiasi dengan daun *Eucalyptus pellita* secara morfologi dan molekuler. Pada pengamatan morfologi daun *Eucalyptus pellita* terdapat beberapa gejala yang teramati seperti adanya bercak berwarna coklat kehitaman dengan warna daun yang terkena penyakit berwarna kuning hingga kecoklatan. Identifikasi secara morfologi mampu memberikan gambaran karakter makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui jenis isolat sampai tingkat genus. Identifikasi secara molekuler dapat mengetahui jenis isolat sampai pada tingkatan spesies berdasarkan sekuens daerah Internal Transcribed Spacer-5.8S rDNA.

Hasil penelitian yang dilakukan yaitu ditemukan 4 genus cendawan yang menyebabkan penyakit bercak daun pada *Eucalyptus pellita* dengan karakter morfologi dan pengamatan mikroskopis. Dari hasil identifikasi yang diperoleh isolat cendawan menunjukkan penampakan yang berbeda pada setiap koloninya baik secara makroskopis maupun mikroskopis Cendawan yang diduga sebagai patogen yang menyebabkan penyakit bercak daun pada *Eucalyptus pellita*. Pada hasil penyejajaran dengan database di GenBank dilakukan menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), dan pohon filogenetik dikonstruksi menggunakan fragmen ITS.

SUMMARY

Silvia Endrawati 061118035. Morphological and Molecular Identification Pathogens Associated with *Eucalyptus pellita* Leaf Spot Disease. Supervised by Dra. Tri Saptari Haryani, M.Si and Dr. Neo Endra Lelana, M.Si

Disease symptoms that are often found on *Eucalyptus pellita* leaves are leaf blight, leaf spot, yellowing and drying of the leaves. In this study the identification of fungal isolates was carried out morphologically and molecularly. The aims of the study were to isolate the pathogens that cause leaf spot disease on *Eucalyptus pellita* and to identify the morphologically and molecularly associated pathogens with *Eucalyptus pellita* leaves. In observing the morphology of *Eucalyptus pellita* leaves, there were several observed symptoms, such as the presence of black-brown spots with the color of the leaves affected by the disease being yellow to brownish. Morphological identification is able to provide an overview of macroscopic and microscopic characters to determine the type of isolate down to the genus level. Molecular identification can determine the type of isolate to the species level based on the Internal Transcribed Spacer-5.8S rDNA region sequence.

The results of the research were found to be 4 genera of fungi that cause leaf spot disease on *Eucalyptus pellita* namely the genera *Fusarium*, *Cladosporium*, *Diaporthe*, and *Pestalotiopsis* with morphological characters and microscopic observations. From the identification results obtained, the fungal isolates showed a different appearance in each colony both macroscopically and microscopically. There are 8 codes of isolates indicating 4 genera including *Fusarium* including (isolate PT.A001, PT.A003, PT.B004), *Cladosporium* including isolates PT.A002, *Diaporthe* including isolates PT.B002, PT.B003, PT.K002, and *Pestalotiopsis* including isolate PT.E002 which is suspected as a pathogen that causes leaf spot disease on *Eucalyptus pellita*. The results of the alignment with the database at GenBank were carried out using the BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) program, and the phylogenetic tree was constructed using ITS fragments.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN KEKAYAAN INTELEKTUAL DI UNIVERSITAS PAKUAN	ii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iii
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan.....	2
1.3 Manfaat.....	2
1.4 Hipotesis	2
BAB II	
TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Biologi <i>Eucalyptus pellita</i>	3
2.2 Penyakit Pada <i>Eucalyptus pellita</i>	4
2.3 Identifikasi Morfologi dan Molekuler	7
BAB III BAHAN DAN METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.2.1 Alat	10

3.2.2 Bahan	10
3.3 Metode Kerja.....	11
3.3.1 Pengambilan sampel	11
3.3.2 Isolasi sampel.....	11
3.3.3 Inokulasi sampel	11
3.3.4 Identifikasi Morfologi.....	11
3.3.5 Identifikasi Molekuler.....	12
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1 Hasil Penelitian.....	15
4.2 Pembahasan	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1 Pohon <i>Eucalyptus pellita</i>	4
Gambar 2 Piramida Penyakit Tanaman.....	7
Gambar 3. Bagan Alur Penelitian	14
Gambar 4. Sampel Bercak 1.....	15
Gambar 5. Sampel Bercak 2.....	18
Gambar 6. Sampel Bercak 3.....	20
Gambar 7. Sampel Bercak 4.....	21
Gambar 8. Sampel bercak 5	22
Gambar 9. Hasil amplifikasi fragmen ITS dengan PCR yang dideteksi dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1% (b v-1). Marker 1 kb; 1–8 = isolat sampel bercak daun yang digunakan.....	26
Gambar 10. Pohon filogenetik yang dihasilkan dengan <i>maximum likelihood</i>	31
Gambar 11. Pohon filogenetik yang dihasilkan dengan <i>maximum likelihood</i>	32
Gambar 12. Pohon filogenetik yang dihasilkan dengan <i>maximum likelihood</i>	33
Gambar 13. Pohon filogenetik yang dihasilkan dengan <i>maximum likelihood</i>	34
Gambar 14. Mikroskopis <i>Fusarium</i>	38
Gambar 15. Mikroskopis <i>Cladosporium</i>	38
Gambar 16. Mikroskopis <i>Pestalotiopsis</i>	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Identifikasi Isolat Cendawan Sampel Bercak 1	16
Tabel 2. Identifikasi Isolat Cendawan Sampel Bercak 2	18
Tabel 3. Identifikasi Isolat Cendawan Sampel Bercak 3	20
Tabel 4. Identifikasi Isolat Cendawan Sampel Bercak 4	22
Tabel 5. Identifikasi Isolat Cendawan Sampel Bercak 5	23
Tabel 6. Laju Pertumbuhan Isolat Cendawan (cm/hari) pada Media PDA.....	25
Tabel 7. Kesejajaran sekuen fragmen ITS <i>Fusarium</i> isolat PT.A001.....	26
Tabel 8. Kesejajaran sekuen fragmen ITS <i>Fusarium</i> isolat PT.A003.....	27
Tabel 9. Kesejajaran sekuen fragmen ITS <i>Fusarium</i> isolat PT.B004.....	27
Tabel 10. Kesejajaran sekuen fragmen ITS <i>Cladosporium</i> isolat PT.A002	28
Tabel 11. Kesejajaran sekuen fragmen ITS <i>Diaporthe</i> isolat PT.B002.....	28
Tabel 12. Kesejajaran sekuen fragmen ITS <i>Diaporthe</i> isolat PT.B003.....	29
Tabel 13. Kesejajaran sekuen fragmen ITS <i>Diaporthe</i> isolat PT.K002.....	29
Tabel 14. Kesejajaran sekuen fragmen ITS <i>Diaporthe</i> isolat PT.M001	29
Tabel 15. Kesejajaran sekuen fragmen ITS <i>Pestalotiopsis</i> isolat PT.E002	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1 Inokulasi Sampel Cendawan	49
Lampiran 2 Identifikasi Morfologi Menggunakan Mikroskop	49
Lampiran 3 Ekstraksi DNA.....	50
Lampiran 4 Amplifikasi DNA cendawan dan Produk PCR.....	50
Lampiran 5 BLAST (<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>).....	52
Lampiran 6 Chromatogram.....	53
Lampiran 7 Pohon <i>Eucalyptus pellita</i> di KHDTK Parung Panjang, Bogor.....	53

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia kebutuhan kayu sebagai industri yang dipasok dari hutan alam sangat kurang, sehingga Departemen Kehutanan membuat kebijaksanaan untuk membangun Hutan Tanaman Industri (HTI) yang dapat menyediakan bahan baku industri secara berkelanjutan. *Eucalyptus pellita* F. Muell memiliki sifat yang mudah menyesuaikan diri dan kayunya mempunyai nilai ekonomi yang dipakai sebagai bahan pembuatan pulp dan kertas. Oleh karena itu jenis tanaman *E.pellita* tepat untuk dikembangkan sebagai HTI (Daryono dkk, 2012).

Penyakit tumbuhan adalah suatu perubahan atau penyimpangan dalam satu atau lebih bagian dari rangkaian proses fisiologi penggunaan energi yang mengakibatkan hilangnya koordinasi di dalam inang. Penyakit biotik adalah penyakit yang disebabkan oleh organisme yang disebut patogen. Sebagian besar patogen penyebab penyakit tumbuhan berupa cendawan, bakteri, virus, mikoplasma, alga, protozoa, tumbuhan tingkat tinggi dan nematoda. Dalam pengelolaan penyakit, langkah awal yang penting adalah identifikasi penyakit. Identifikasi penyakit dilakukan secara makroskopis yaitu penampakan luar tanaman yang sakit dan identifikasi secara mikroskopis yaitu dengan mengetahui patogen penyebab penyakit (Suharti dkk, 2013). Gejala penyakit merupakan respon dari tanaman akibat adanya serangan oleh patogen sehingga terjadi penyimpangan secara morfologi maupun fisiologi. Satu daun eukaliptus dapat berisi berbagai macam jenis gejala penyakit.

Gejala penyakit yang sering ditemukan pada daun *Eucalyptus pellita* yaitu hawar daun, bercak daun, daun menguning dan daun mengering. Penyakit bercak daun pada umumnya menyerang daun-daun bagian bawah kemudian menyebar pada daun bagian atas. Gejala bercak daun muncul pada daun, tangkai daun bahkan batang (Rabuansyah dkk, 2014). Penyakit bercak

daun bisa jadi belum menimbulkan kerugian secara ekonomis namun secara fisiologis menyebabkan kerugian besar pada tanaman karena merusak daun sehingga dapat menghambat proses fotosintesis dan bisa menyebabkan kematian pada bibit tanaman, dalam skala luas dapat menyebabkan gagal tanam (Anggraeni&Mindawati, 2011).

Pada penelitian ini identifikasi isolat cendawan dilakukan secara morfologi dan molekuler. Identifikasi secara morfologi mampu memberikan gambaran karakter makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui jenis isolat sampai tingkat genus. Kelemahan identifikasi morfologi terletak pada kesamaan beberapa karakter pada jenis jamur yang sebenarnya berbeda secara genetik, sehingga sulit. Oleh karena itu, perlu dilakukan identifikasi secara spesifik melalui pendekatan molekuler, identifikasi secara molekuler dapat mengetahui jenis isolat sampai pada tingkatan spesies dengan menggunakan teknologi sekuens atau urutan gen, dan secara molekuler jenis organisme dapat diketahui dengan membandingkan bagian kode genetik yang bersifat stabil dan khas (Fatchiyah dkk, 2011).

1.2 Tujuan

1. Mengisolasi patogen penyebab penyakit bercak daun pada *Eucalyptus pellita*.
2. Mengidentifikasi patogen yang berasosiasi dengan daun *Eucalyptus pellita* secara morfologi dan molekuler.

1.3 Manfaat

Manfaat penelitian ini memberikan informasi secara ilmiah mengenai penyakit bercak daun pada tanaman *Eucalyptus pellita* melalui identifikasi secara morfologi dan molekuler

1.4 Hipotesis

Patogen penyebab penyakit bercak daun pada *Eucalyptus pellita* dapat teridentifikasi secara morfologi dan molekuler.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *Eucalyptus pellita*

Eucalyptus pellita merupakan salah satu jenis tanaman dari family Myrtaceae yang mempunyai pertumbuhan yang cepat untuk program industri pulp. Genus *Eucalyptus* salah satu tanaman tropis yang terdiri kurang lebih 700 spesies. Pohon *E. pellita* memiliki tinggi hingga 40 meter dengan luas diameter batang 1 meter, bertunas baik, dan dapat berinteraksi dengan lingkungan sekitar (Utalenavar *et al*, 2013). *E. pellita* merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai bahan baku bagi industri pulp dan kertas di Indonesia. Salah satu jenis *Eucalyptus* sp. yang dikembangkan adalah jenis *Eucalyptus pellita* yang merupakan salah satu spesies endemik Indonesia yang tumbuh di Papua dengan ketinggian di atas 800 mdpl. Beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan HTI (Hutan Tanaman Industri) adalah tercapainya hasil produksi yang tinggi (Pamoengkas&Maharani, 2018).

Eucalyptus pellita merupakan jenis pohon sedang hingga besar, memiliki batang lurus dengan percabangan yang banyak pada tajuk mahkota pohon. Spesies ini beradaptasi pada lingkungan iklim tropis yang lembap dan subtropis dengan kondisi optimum 0 - 800 mdpl, curah hujan 1.080 - 3.550 mm dan suhu 19 - 27 °C (Clarke *et al*, 2014). *E. pellita* memiliki kulit pohon kasar dan berwarna coklat kemerahan. Daunnya berbentuk lanset hingga bulat telur memanjang dan bagian ujungnya runcing membentuk kait. Karakter *E. pellita* membuat spesies ini menarik untuk ditanam secara luas karena memiliki sifat pohon dengan laju pertumbuhan yang cepat, waktu rotasi pendek (5-6 tahun), produktivitas tinggi dan kemampuan beradaptasi terhadap berbagai lingkungan. Berdasarkan karakteristik tersebut *E. pellita* saat ini merupakan spesies utama yang digunakan dalam HTI di beberapa negara khususnya di Indonesia dan Asia Tenggara (Hung, 2014).



Gambar 1 Pohon *Eucalyptus pellita*

Sumber: Dokumentasi pribadi

Lokasi : Parung panjang, Bogor

2.2 Penyakit Pada *Eucalyptus pellita*

Konsep timbulnya gangguan pada tumbuhan sangat bervariasi, tergantung pada faktor pendukungnya. Faktor pendukung tersebut meliputi lingkungan yang sesuai, inang yang rentan dan juga dikarenakan oleh pengganggu (patogen) yang agresif (virulen). Sebutan lain dari patogen adalah mikroorganisme parasit. Umumnya hanya organisme yang sangat rentan yang dapat sakit, sementara sisanya jarang menjadi sakit. (Arsensi&Mardji, 2018).

Semua patogen pada umumnya berawal dari luar sel tubuh inangnya dengan rentang waktu tertentu (ekstraselular) saat mereka terpapar oleh mekanisme antibodi, artinya jika pertahanan tubuh alami dari tanaman inang tersebut kuat, maka tidak akan menimbulkan gejala penyakit seperti yang sering terlihat namun saat patogen memasuki fase intraselular yang tidak terjangkau oleh antibodi, menyebabkan timbulnya penyakit. Patogen juga merupakan salah satu organisme pengganggu tanaman yang dapat menyebabkan penurunan potensi hasil yang secara langsung karena

menimbulkan kerusakan fisik, gangguan fisiologi dan biokimia atau kompetisi hara terhadap tanaman budidaya. Oleh karena itu, pengendalian terhadap patogen ini sangat penting dalam perlindungan tanaman yang bertujuan untuk membudidayakan tanaman (Semangun, 2008 dalam Arsensi&Mardji, 2018).

Penyakit bercak daun ditandai dengan timbulnya bercak-bercak kecil yang tersebar secara acak. Dalam jangka waktu tertentu bercak tersebut akan semakin membesar sehingga mengakibatkan daun mengering (Nadila dkk, 2021). Serangan hama dan penyakit dapat terjadi pada benih, bibit dan tanaman di lapangan. Serangan hama dan penyakit yang menyerang persemaian dapat mengganggu pertumbuhan dan mengurangi kualitas bibit bahkan dapat menyebabkan kematian bibit (Azwin, 2022).

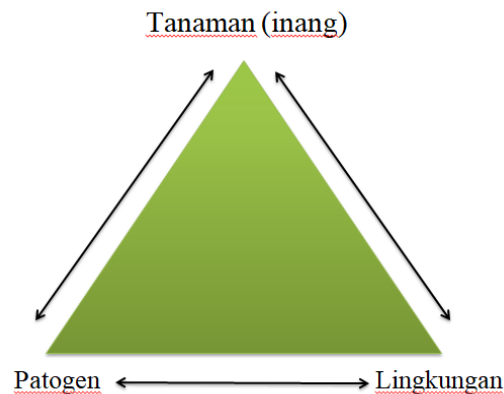
Tanaman Eukaliptus pada habitat aslinya merupakan tanaman inang yang sangat luas jangkauannya terserang patogen terutama pada bagian daun, tunas, dan batang. Old *et al.* 2003 menyatakan bahwa banyak jenis penyakit yang menyerang jenis-jenis Eukaliptus dari tingkat semai sampai pohon dan dari akar sampai daunnya, dan kebanyakan penyebabnya adalah dari jenis jamur. Tanaman yang terinfeksi bercak daun biasanya akan menjadi lemah sehingga akan memicu tanaman untuk memproduksi buah yang mengakibatkan menipisnya cadangan makanan yang terdapat pada akar yang diikuti kematian ranting bahkan tanaman itu sendiri juga mati (Hidayati dkk, 2020). Infeksi akan menyebabkan terganggunya sistem metabolisme tanaman di daun hingga mempengaruhi fotosintesis tanaman. Gangguan pada saat proses fotosintesis akan mempengaruhi penyediaan dan penyebaran nutrisi penting ke seluruh bagian tanaman (Hutajulu dkk, 2016).

Tanaman atau pohon disebut sakit apabila timbul gejala atau tanda kerusakan pada bagian tanaman. Bisa juga tanaman tersebut tumbuh secara tidak normal yang mengakibatkan produksinya mengalami kemunduran, bahkan mengalami kematian (Patty dkk, 2016). Penyakit dapat terjadi karena gangguan proses fisiologis tanaman (biji, bunga, buah, daun, pucuk, cabang, batang dan akar) sebagai akibat terganggunya fungsi atau bentuk jaringan

atau organ tanaman oleh penyebab penyakit. Upaya untuk mengidentifikasi penyakit yang disebabkan oleh factor biotik maupun abiotik sangat diperlukan untuk mengetahui teknik penanggulangan yang tepat untuk perbaikan kualitas tanaman, karena akibat serangan penyakit maka pertumbuhan dan perkembangan tegakan dapat terganggu, dengan demikian kualitas dan kuantitas tegakan akan menurun (Rahayu, 1999 *dalam* Mustafa, 2019).

Spesies eukaliptus endemik di Australia dan pulau-pulau tetangga seperti Papua dan Papua New Guinea, namun ditanam sebagai tanaman eksotik di banyak daerah tropis dan subtropis. Terlepas dari keberhasilan pertumbuhan yang telah ditunjukkan oleh eukaliptus, terdapat faktor pembatas berupa serangan patogen yang mungkin berasal dari lingkungan asli (native) atau lingkungan baru (introduced). Contoh patogen yang saat ini menjadi ancaman bagi eukaliptus termasuk penyakit karat *Puccinia psidii*, kanker batang *Chrysosporthe austroafricana* dan busuk akar *Phytophthora cinnamomi* (Wingfield *et al* . 2008). Ancaman patogen di HTI eukaliptus khususnya di Indonesia seperti penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum*, busuk akar *Ganoderma philipii* dan busuk batang *Ceratocystis fimbriata* (Mardai&Indrayadi, 2016).

Penyakit pada tumbuhan hanya terjadi pada suatu tempat jika terdapat tiga faktor, yaitu tumbuhan (inang) yang rentan, pathogen yang virulen, dan lingkungan yang sesuai. Penyakit tidak akan terjadi jika pathogen yang virulen bertemu dengan bagian tumbuhan yang rentan, tetapi lingkungan tidak mendukung perkembangan pathogen. Patogen mengadakan interaksi dengan tumbuhan inang dengan melakukan aksi, sedangkan tumbuhan inang mengadakan reaksi. Faktor lingkungan seperti kelembaban, suhu, sinar matahari, dan hara tanah ikut memengaruhi tumbuhan inang maupun pathogen. Jadi, ketiga factor yang telah disebutkan saling berinteraksi untuk menimbulkan suatu penyakit pada tumbuhan. Interaksi ini sering digambarkan sebagai “segitiga penyakit” (*diseases triangle*) (Chatrri, 2016).



Gambar 2 Piramida Penyakit Tanaman
Sumber : (Muslim, 2019)

2.3 Identifikasi Morfologi dan Molekuler

Identifikasi morfologi merupakan pengamatan karakter luar fisik dari suatu organisme. Identifikasi morfologi dilakukan untuk mengetahui identitas suatu organisme sampai pada tingkat genus. Identifikasi morfologi dilakukan dalam dua tahap yaitu identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi cendawan secara makroskopis yaitu mengamati ciri-ciri morfologi dari masing-masing koloni cendawan pada media PDA meliputi warna koloni permukaan atas, permukaan bawah, warna, dan zonasi, serta warna hifa, bentuk konidia dan spora untuk pengamatan mikroskopis. Identifikasi didasarkan pada kunci determinasi dalam *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi* (Barnett & Hunter, 1972; Jahra dkk, 2019).

Identifikasi secara molekuler dapat dilakukan dengan metode (*Polymerase Chain Reaction*) dan analisis sekuen nukleotida. Kedua metode tersebut banyak digunakan dalam proses identifikasi cendawan. Identifikasi molekuler dapat menggunakan primer universal ITS yang digunakan untuk mengamplifikasi DNA ribosomal dari segala spesies cendawan akan menghasilkan fragmen spesifik dengan ukuran 400 hingga 900 bp (Brasileiro *et al.* 2004). Analisis keberadaan jamur patogen berbasis DNA belum secara luas digunakan di laboratorium medik. Analisis berbasis DNA dapat diaplikasikan antara lain untuk mendeteksi jamur patogen (Donastin dkk,

2022). Analisis DNA memiliki efisiensi dan keakuratan yang tinggi sehingga dapat membantu dalam 2 identifikasi dan determinasi keragaman genetika suatu cendawan.

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan metode untuk amplifikasi potongan DNA secara *in vitro* pada daerah spesifik yang dibatasi oleh dua buah primer oligonukleotida. Teknik ini mampu memperbanyak sebuah urutan 105-106-kali lipat dari jumlah nanogram dari DNA template. Proses ini mirip dengan proses replikasi DNA secara *in vivo* yang bersifat semi konservatif. PCR ini dapat digunakan untuk amplifikasi urutan nukleotida, menentukan kondisi urutan nukleotida suatu DNA yang mengalami mutasi (Nurjannah, 2013 *dalam* Sinaga dkk, 2017). Identifikasi yang tepat untuk mengetahui spesies dan kekerabatannya yaitu analisis molekuler dengan menggunakan sekuens DNA ribosomal (rDNA) pada daerah ITS (Internal Transcribed Spacer) (Mulyatni dkk, 2011 *dalam* Rakhmana dkk, 2015). Daerah ITS (Internal Transcribed Spacer) merupakan daerah sekuens DNA yang tidak menyandikan protein fungsional dan berada di daerah RNA ribosom (rRNA). Daerah ini dapat digunakan sebagai penanda genetika karena memiliki variasi sekuens yang cukup tinggi bahkan dalam spesies yang sama, dan semua fungi memiliki ITS rDNA. Oleh karena itu, ITS banyak digunakan untuk analisis filogenetik, proses evolusi, dan penentuan identitas taksonomi (Purnamasari dkk, 2012 *dalam* Rakhmana dkk, 2015).

Pada percobaan yang dilakukan oleh Schoch *et al.* 2012 diusulkan ITS sebagai standar barcode untuk fungi. Mengingat usia kingdom fungi dan keragaman genetik, itu tidak mungkin bahwa sistem tunggal-penanda barcode akan mampu mengidentifikasi setiap spesimen atau hingga level spesies. Dari studi yang dilakukan oleh Schoch *et al.* 2012 juga menunjukkan bahwa ITS dan LSU (Large Subunit) sebagai barcode dan bahwa perbedaan dalam urutan ini berkorelasi dengan konsep-konsep spesies saat ini. Kombinasi dari urutan ITS dan LSU juga diterapkan dalam lingkungan sampling, dimana tandem

amplifikasi dapat memungkinkan identifikasi spesies simultan dengan ITS analisis filogenetik dengan LSU.

Daerah ITS digunakan sebagai target untuk menganalisis keanekaragaman cendawan dari sampel lingkungan dan juga digunakan sebagai penanda standar (standard marker) untuk barkoding DNA (Bellemain *et al.* 2010; Schoch *et al.* 2012). Daerah LSU banyak digunakan untuk pengujian filogenetik kultur dan sampel lingkungan (Lekberg *et al.* 2012; Weber *et al.* 2013). Daerah D2 dan D3 pada LSU merupakan daerah hipervariabel yang dapat memisahkan dalam tingkat genus (Liu *et al.* 2012). Analisis pada kedua daerah tersebut dilakukan untuk memperoleh hasil yang lebih akurat untuk menyelesaikan permasalahan taksonomi pada tingkat genus dan spesies.

Metode CTAB banyak digunakan untuk mengisolasi DNA tanaman dan cendawan. Oleh karena itu penggunaan bufer ekstraksi CTAB dalam metode Doyle dan Doyle didukung oleh (Stewart & Via, 1993 *dalam* Pangestika, 2015) bahwa bufer ekstraksi CTAB adalah salah satu senyawa yang dapat digunakan untuk mengendapkan protein dan senyawa makromolekul lain, seperti polisakarida. CTAB merupakan deterjen kationik yang berperan dalam solubilasi membran sel. CTAB termasuk surfaktan berekor panjang sehingga akan merubah konformasi DNA dari bentuk “random coil” menjadi bentuk “compact globule”, sehingga presipitasi DNA akan lebih efektif (Azmat *et al.* 2012). Beberapa kit isolasi DNA yang dijual di pasaran, pada umumnya fokus kepada isolasi DNA dari bakteri atau sel tumbuhan. Sedangkan jamur memiliki lapisan dinding sel yang terbuat dari kitin, berbentuk kaku, berlapis, dan struktur kompleks. Dinding sel jamur berfilamen terdiri dari selongsong mikrokristalin bagian dalam kitin [poli- β -(1 \rightarrow 4)-N-asetilglukosamin]. Struktur ini menyebabkan dinding sel jamur kompleks dan membuatnya tahan terhadap metode lisis yang umum digunakan dalam ekstraksi DNA jamur (Qiao *et al.* 2020).

BAB III

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan selama 3 bulan mulai dari bulan Mei-Juli 2022, dan tempat penelitian akan dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Hutan. Pusat Standardisasi Instrumen Pengelolaan Hutan Berkelanjutan, Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Jl. Gunung Batu No.5 Kotak Pos 165 Bogor 16610 Jawa Barat.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Gunting, jarum ose, bunsen, korek api, Laminar Air Flow (*Esco Air Stream*), pinset, sedotan, cover glass, pipet, mikroskop, mortar, PCR tube, mikrotube, mikropipet (*eppendorf*), inkubator (*Thermo scientific*), sentrifugasi, mesin PCR (*Arttik*), vortex (*Boceo Germany*), botol schott, cetakan agar dan sisir untuk sumur, mesin UV transilluminator Protein Simple (Alphalmager), elektroforesis (*Mupid exu*).

3.2.2 Bahan

Isolat cendawan *Eucalyptus pellita* (kode PT.A001 PT.A002, PT.A003, PT.B002, PT.B003, PT.B004, PT.E002, PT.K002, PT.M001), alkohol, chlorox, aquadest, tissue steril, sampel cendawan *Eucalyptus pellita*, media PDA (Potatoe Dextrose Agar) CTAB 2% (Cetryl trimethyl ammonium bromide), CI 24:1 (Chloroform Isoamyl alcohol), NaOAc, ethanol absolut, ethanol 70%, ddH₂O, aluminium foil, *Taq polymerase*, ITS = ITS1 dan ITS4 (*AIT biotrect*), DNA template, buffer TAE, agarose, SYBR safe DNA.

3.3 Metode Kerja

3.3.1 Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada tanaman *Eucalyptus pellita* yang terinfeksi penyakit bercak daun. Bagian tanaman yang diambil yaitu daun, yang merupakan koleksi dari Laboratorium Hama dan Penyakit Hutan.

3.3.2 Isolasi sampel

Tanaman yang sakit diambil dengan cara menggunting pada bagian daun yang terkena penyakit bercak, lalu diambil dengan menggunakan pinset, setelah itu dicuci dengan metode sterilisasi bertingkat menggunakan aquades, alkohol, clorox, alkohol, aquades, aquades masing-masing selama 5 detik, dan dikeringkan, kemudian diisolasi ke dalam cawan petri dengan media PDA (Potatoe Dextrose Agar).

3.3.3 Inokulasi sampel

Inokulasi sampel dengan ketentuan tidak mengalami kontaminasi lagi. Setelah 7 hari cendawan mulai tumbuh dan tidak terjadi kontaminasi. Maka dapat dilakukan identifikasi fungi dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x.

3.3.4 Identifikasi Morfologi

Cendawan yang telah berumur 7 hari di dalam cawan petri kemudian diambil menggunakan jarum ose steril, dan diletakan di atas objek glass yang ditambahkan dengan aquades kemudian ditutup dengan cover glass dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Pengamatan karakterisasi morfologi (bentuk koloni, bentuk tepi, bentuk elevasi, warna koloni permukaan atas dan permukaan bawah), pengamatan mikroskopis (bentuk konidia dan spora).

3.3.5 Identifikasi Molekuler

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan mengambil miselia isolat *E. pellita* kemudian masukan ke dalam mortar dan tambahkan CTAB 2% (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) yang berfungsi untuk merusak atau menghancurkan membran sel, kemudian gerus sampai halus, setelah itu di masukan ke dalam mikrotube, kemudian diinkubasi pada suhu 65 °C selama 2 jam. Setelah diinkubasi kemudian tambahkan CI 24:1 pada setiap mikrotube dan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit dengan suhu 15 °C. Setelah di sentrifugasi, diambil 500 µl supernatan dan tambahkan CI 24:1 kemudian disentrifugasi kembali dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit suhu 15 °C. Setelah itu ambil 500 µl supernatan dan tambahkan 50 µl NaOAc dan 1000 µl etanol absolut dan diamkan semalaman. Setelah itu sentrifugasi kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit suhu 15 °C, lalu ambil pelet dan cuci dengan ethanol 70% lalu dikeringkan. Setelah itu tambahkan ddH₂O 50 µl.

Amplifikasi dan Pengurutan DNA

Amplifikasi DNA cendawan menggunakan pasangan primer ITS-1F adalah (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'), ITS-4R adalah (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'), masing-masing 10 pmol primer ITS (ITS1, ITS4), enzim *Taq* DNA polimerase rekombinan 5µl, ddH₂O 3µl dan DNA template 1µl. Kemudian divortex agar tercampur. Amplifikasi didahului dengan denaturasi awal selama 5 menit pada 95 °C, dilanjutkan sebanyak 32 siklus melalui tiga tahapan meliputi denaturasi selama 1 menit pada 95 °C, penempelan primer (annealing) selama 1 menit pada 57,1 °C, ekstensi selama 1 menit pada 72 °C, pada tahap ekstensi akhir 72 °C selama 4 menit pada suhu 4 °C. Produk PCR yang dihasilkan selanjutnya divisualisasi dengan elektroforesis pada 0,2 gr gel agarose + 20 ml TAE yang diwarnai dengan SYBR®SAFE

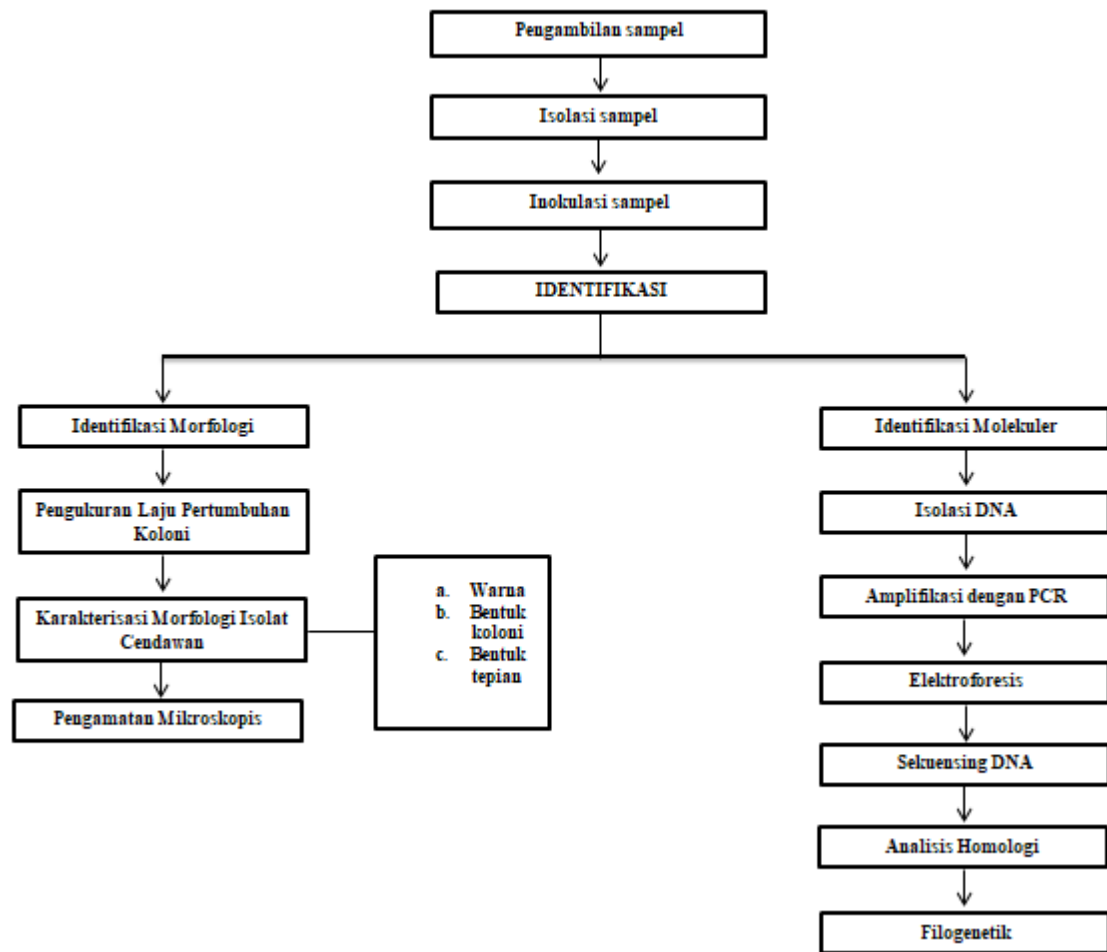
(Invitrogen) dalam bufer TAE 1× (40 mM Tris-asetat, 1 mM EDTA) pada tegangan 100 volt selama 30 menit. Produk amplifikasi selanjutnya dikirim ke 1 st BASE (Singapore) untuk diurutkan DNA nya (sekuensing).

Analisis homologi

Analisis homologi dilakukan untuk membandingkan sekuen nukleotida yang dihasilkan terhadap organisme lain pada database di GenBank. Analisis homologi dilakukan menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

Analisis filogenetik

Analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak MEGA versi 6.0 (Tamura *et al.*, 2013). Analisis filogenetik dilakukan terhadap empat patogen bercak daun *E. pellita* dari GenBank. Analisis multiple sequence alignment (MSA) dari ITS dilakukan menggunakan program Clustal Omega. Daerah-daerah yang non homolog dihilangkan dengan proram GBlocks versi 0.91b (Castresana, 2000). Analisis filogenetika menggunakan metode *maximum likelihood* dengan bootstrap sebanyak 1000 pengulangan menggunakan model Kimura 2-parameter.



Gambar 3. Bagan Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

a) Identifikasi Morfologi

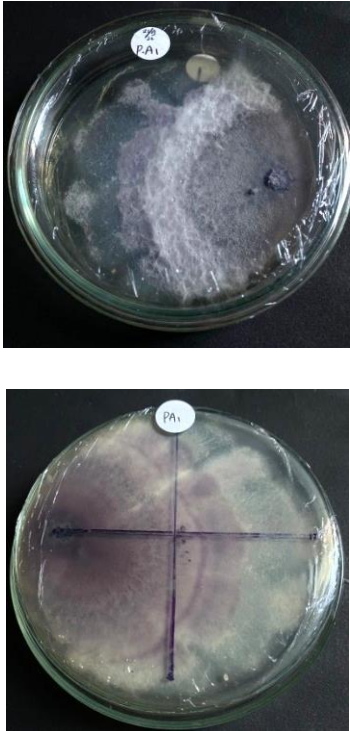

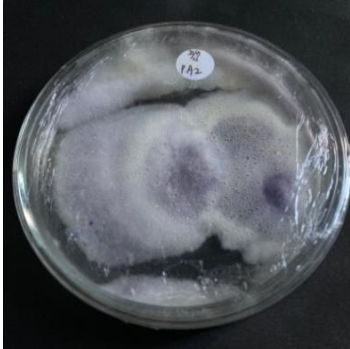
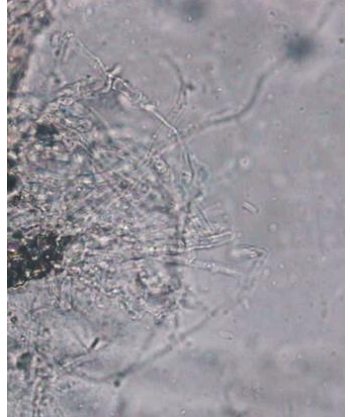
1. Sampel bercak 1

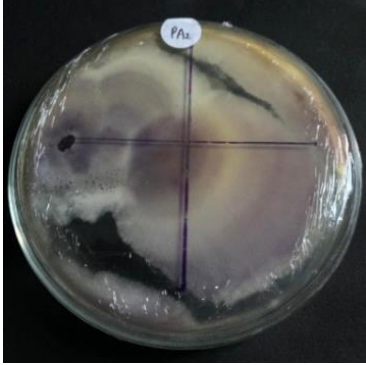
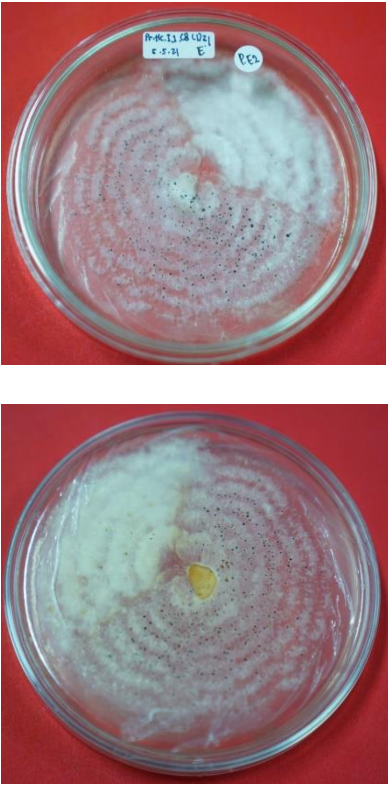



Gambar 4. Sampel Bercak 1

Pada gambar 4 sampel bercak 1 memiliki ciri-ciri bercak dengan bintik-bintik hitam yang menyebar, dan pada bagian belakang daun berubah menjadi hijau kekuning-kuningan. Dari hasil isolasi sampel daun didapatkan 3 isolat cendawan diantaranya kode PT.A001, PT.A002, dan PT.E002. Hasil identifikasi secara morfologi yaitu dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis terdapat beberapa patogen penyebab bercak daun (Tabel 1).

Tabel 1. Identifikasi Isolat Cendawan Sampel Bercak 1

Kode isolat	Genus	Makroskopis	Mikroskopis
PT. A001	<i>Fusarium</i>	 <p data-bbox="687 1285 1000 1323">(Sumber : Dok. Pribadi)</p>	 <p data-bbox="1075 1025 1390 1064">(Sumber : Dok. Pribadi)</p> <p data-bbox="1059 1084 1222 1122">Keterangan :</p> <ol data-bbox="1107 1144 1337 1211" style="list-style-type: none"> 1. Hifa bersekat 2. Makrokonidia
PT. A002	<i>Cladosporiu m</i>		 <p data-bbox="1075 1906 1390 1944">(Sumber : Dok. Pribadi)</p>

		 <p>(Sumber : Dok. Pribadi)</p>	<p>Keterangan :</p> <p>Hifa tidak bersekat</p>
<p>PT. E002</p>	<p><i>Pestalotiopsis</i> <i>is</i></p>	 <p>(Sumber : Dok. Pribadi)</p>	 <p>(Sumber : Dok. Pribadi)</p> <p>Keterangan :</p> <p>Konidia <i>Pestalotiopsis</i> dicirikan empat septa dan warna pigmen di median sel dengan 2-4 anggota sel.</p>


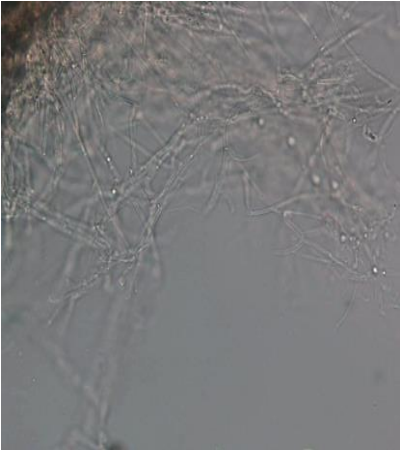
2. Sampel bercak 2


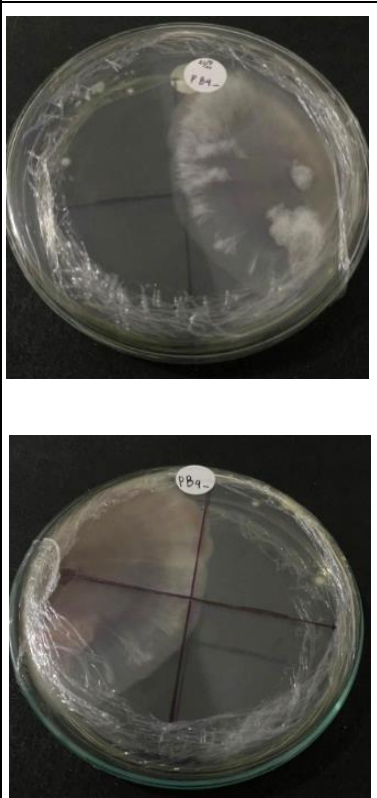



Gambar 5. Sampel Bercak 2

Pada gambar 5 sampel bercak 2 memiliki ciri-ciri bercak dengan bintik-bintik hitam yang menyebar, dan warna daun berubah menjadi hijau kekuning-kuningan. Dari hasil isolasi sampel daun didapatkan 2 isolat cendawan diantaranya kode PT.B003, dan PT.B004. Hasil identifikasi secara morfologi yaitu dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis terdapat beberapa patogen penyebab bercak daun (Tabel 2).

Tabel 2. Identifikasi Isolat Cendawan Sampel Bercak 2

Kode isolat	Genus	Makroskopis	Mikroskopis
PT. B003	<i>Diaporthe</i>		 (Sumber : Dok. Pribadi)

		 <p>(Sumber : Dok. Pribadi)</p>	<p>Keterangan :</p> <p>Hifa tidak bersekat</p>
<p>PT. B004</p>	<p><i>Fusarium</i></p>	 <p>(Sumber : Dok. Pribadi)</p>	 <p>(Sumber : Dok. Pribadi)</p> <p>Keterangan :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Hifa panjang bersekat 2. Makrokonidia


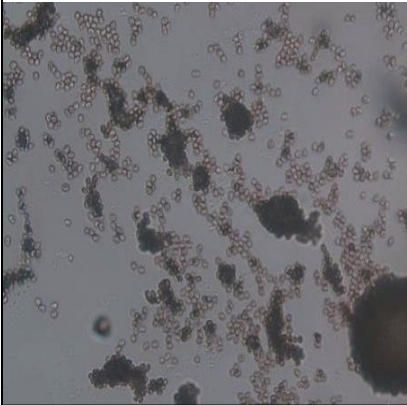
3. Sampel bercak 3

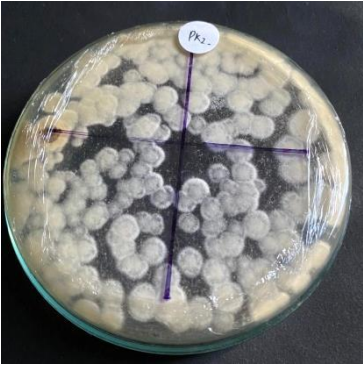


Gambar 6. Sampel Bercak 3

Pada gambar 6 sampel bercak 3 memiliki ciri-ciri bercak dengan bintik-bintik hitam yang menyebar dipangkal atas daun hingga warna daun berubah menjadi kuning disertai bintik hitam. Dari hasil isolasi sampel daun didapatkan isolat cendawan yaitu kode PT.K002. Hasil identifikasi secara morfologi yaitu dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis terdapat beberapa patogen penyebab bercak daun (Tabel 3).

Tabel 3. Identifikasi Isolat Cendawan Sampel Bercak 3

Kode isolat	Genus	Makroskopis	Mikroskopis
PT. K002	<i>Diaporthe</i>		 (Sumber : Dok. Pribadi) Keterangan :

		 <p>(Sumber : Dok. Pribadi)</p>	<p>Spora berbentuk oval</p>
--	--	--	-----------------------------

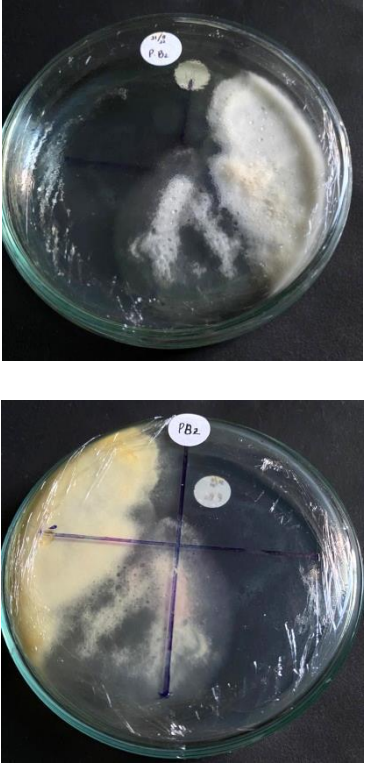
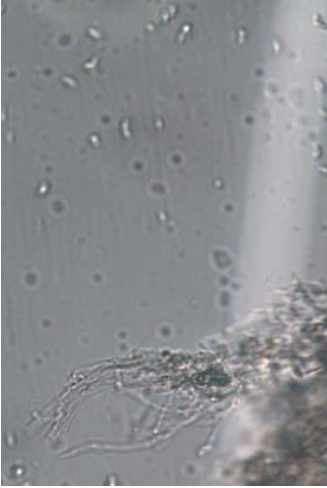
4. Sampel bercak 4



Gambar 7. Sampel Bercak 4

Pada gambar 7 sampel bercak 4 memiliki ciri-ciri bercak dengan bintik-bintik hitam yang menyebar, warna daun berubah menjadi hijau kekuning-kuningan disertai bintik hitam. Dari hasil isolasi sampel daun didapatkan isolat cendawan yaitu kode PT.B002. Hasil identifikasi secara morfologi yaitu dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis terdapat patogen penyebab bercak daun (Tabel 4).

Tabel 4. Identifikasi Isolat Cendawan Sampel Bercak 4

Kode isolat	Genus	Makroskopis	Mikroskopis
PT. B002	<i>Diaporthe</i>	 <p data-bbox="655 1317 975 1352">(Sumber : Dok. Pribadi)</p>	 <p data-bbox="1046 1016 1358 1052">(Sumber : Dok. Pribadi)</p> <p data-bbox="1038 1077 1206 1113">Keterangan :</p> <p data-bbox="1038 1137 1286 1173">Hifa tidak bersekat</p>

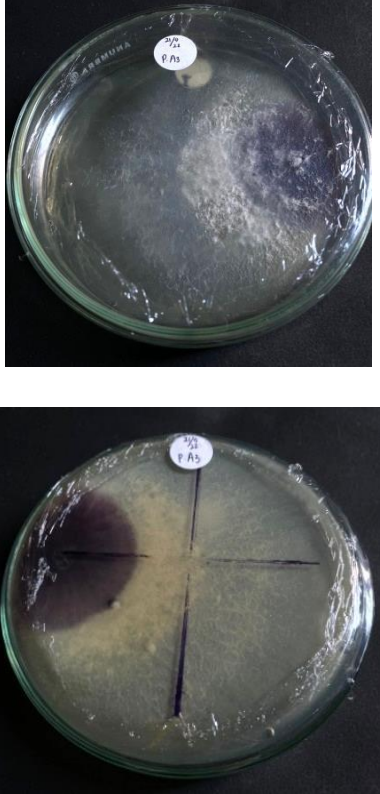
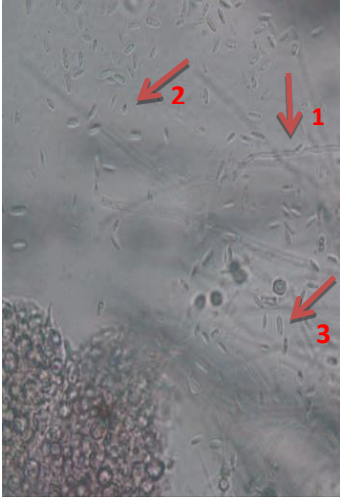
5. Sampel bercak 5

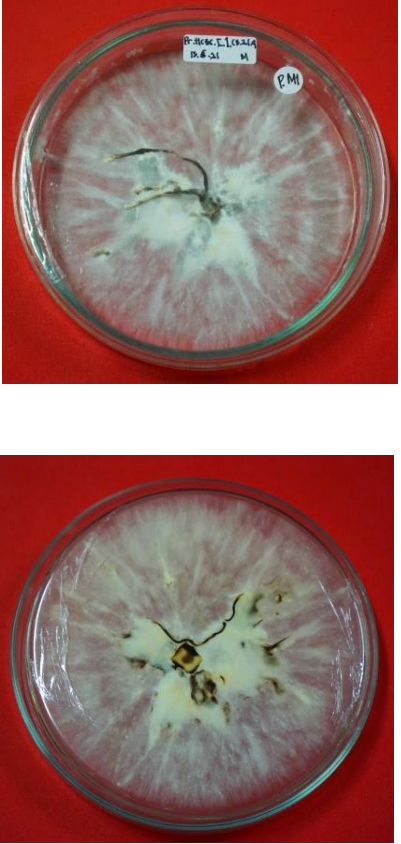



Gambar 8. Sampel bercak 5

Pada gambar 8 sampel bercak 5 memiliki ciri-ciri bercak dengan bintik-bintik hitam yang menyebar hingga warna daun berubah menjadi hijau kehitam-hitaman. Dari hasil isolasi sampel daun didapatkan isolat cendawan yaitu kode PT.A003, dan PT.M001. Hasil identifikasi secara morfologi yaitu dengan pengamatan makroskopis dan mikroskopis terdapat beberapa patogen penyebab bercak daun (Tabel 5).

Tabel 5. Identifikasi Isolat Cendawan Sampel Bercak 5

Kode isolat	Genus	Makroskopis	Mikroskopis
PT.A0 03	<i>Fusarium</i>	 <p data-bbox="639 1711 951 1744">(Sumber : Dok. Pribadi)</p>	 <p data-bbox="1066 1413 1382 1447">(Sumber : Dok. Pribadi)</p> <p data-bbox="1058 1473 1222 1507">Keterangan :</p> <ol data-bbox="1106 1532 1337 1637" style="list-style-type: none"> 1. Hifa bersekat 2. Mikrokonidia 3. Makrokonidia

<p>PT. M001</p>	<p><i>Diaporthe</i></p>	 <p>(Sumber : Dok. Pribadi)</p>	 <p>(Sumber : Dok. Pribadi) Keterangan : Konidia</p>
---------------------	-------------------------	--	---

Laju Pertumbuhan Koloni

Hasil pengamatan laju pertumbuhan koloni pada masing-masing isolat cendawan yang dilakukan setiap 2-3 hari sampai hari ke 14 setelah inokulasi. Isolat PT.A003, PT.B003, dan PT.M001 menunjukkan pertumbuhan koloni yang lebih cepat dibanding dengan isolat lainnya. Laju pertumbuhan koloni semua isolat cendawan dapat dilihat pada (Tabel 10). Pengamatan pada 14 hari setelah inokulasi, pada isolat PT.B002, PT.B004 menunjukkan laju pertumbuhan koloni yang relatif lebih lambat dari isolat lainnya.

Tabel 6. Laju Pertumbuhan Isolat Cendawan (cm/hari) pada Media PDA

Kode isolat	Hari ke 3 (cm)	Hari ke 5 (cm)	Hari ke 7 (cm)	Hari ke 9 (cm)	Hari ke 11 (cm)	Hari ke 14 (cm)
P. A1	1,9	2,8	3,7	4,6	5,6	8,5
PT.A002	1,8	2,8	3,6	4,4	5,3	8,4
PT.A003	2	3,3	4,3	5,1	7	8,7
PT.B002	1,2	2,7	3,5	4,3	5,8	6,6
PT.B003	2,6	3,8	4,7	5,9	6,7	8,8
PT.B004	1,5	2,2	2,8	3,4	4,2	5,5
PT.E002	1,2	2,7	3,4	4,1	5,3	8,5
PT.M001	1,7	3,1	4,4	5,2	6,4	8,7

b) Identifikasi Molekuler

1. Amplifikasi fragmen ITS

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan prosedur utama yang digunakan untuk mendeteksi infeksi patogen (Sabino *et al.* 2020). Amplifikasi DNA cendawan dengan teknik PCR sering kali menggunakan pasangan primer ITS1-ITS4 yang akan mengamplifikasi daerah ITS DNA ribosom (rDNA). DNA ribosom adalah daerah penyandi genom untuk komponen RNA (rRNA). Gen ini banyak digunakan dalam filogenetika, klasifikasi, dan identifikasi untuk cendawan karena bersifat keberadaannya yang universal, struktur sekuennya yang konservatif dan terdapat dalam jumlah banyak (Legiastuti & Aminingsih, 2012).

Hasil amplifikasi DNA yang dilakukan pada daerah target gen ITS memperoleh produk amplifikasi berukuran 500 bp yang dapat dilihat pada (Gambar 9).



Gambar 9. Hasil amplifikasi fragmen ITS dengan PCR yang dideteksi dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1% (b v-1). Marker 1 kb; 1–8 = isolat sampel bercak daun yang digunakan.

2. Pengurutan DNA dan analisis kesejajaran BLAST

Analisis kesejajaran sekuen nukleotida fragmen ITS dengan database di GenBank dilakukan menggunakan program BLAST (basic local alignment search tool).

Tabel 7. Kesejajaran sekuen fragmen ITS *Fusarium* isolat PT.A001

Deskripsi	Identities (%)	Query cover (%)	Accession
<i>Fusarium proliferatum</i> isolate c5	99.79%	100%	ON973801.1
<i>Fusarium oxysporum</i> isolate VrsCfo02	99.79%	100%	ON955054.1
<i>Fusarium fujikuroi</i> isolate KMSB7855	99.79%	100%	ON620342.1
<i>Fusarium verticillioides</i> strain CB334	99.79%	100%	ON417444.1
<i>Fusarium annulatum</i> culture NFCCI:2949	99.79%	100%	ON003572.1
<i>Fusarium concentricum</i> isolate Glinf037	99.79%	100%	OM995871.1
<i>Fusarium glycines</i> culture NFCCI:1788	99.79%	100%	OM837278.1

Hasil penyejajaran fragmen ITS dengan database di Genbank disajikan pada (Tabel 7). Hasil penyejajaran menunjukkan patogen bercak daun pada isolat PT.A001 mempunyai kemiripan 99% dengan *Fusarium proliferatum* isolate c5 (Q-cover=100%)

Tabel 8. Kesejajaran sekuen fragmen ITS *Fusarium* isolat PT.A003

Deskripsi	Identities (%)	Query cover (%)	Accession
-----------	----------------	-----------------	-----------

<i>Fusarium oxysporum</i> isolate N-61-2	100.00%	100%	MT560381.1
<i>Fusarium equiseti</i> isolate W_IASO2_2_24	100.00%	100%	MN452513.1
<i>Fusarium nirenbergiae</i> genomic DNA	100.00%	100%	OW987890.1
<i>Fusarium veterinarianium</i> genomic DNA	100.00%	100%	OW987710.1
<i>Fusarium odoratissimum</i> strain LC13763	100.00%	100%	MW016597.1

Hasil penyejajaran fragmen ITS dengan database di Genbank disajikan pada (Tabel 8) Hasil penyejajaran menunjukkan patogen bercak daun pada isolat PT. A003 mempunyai kemiripan 100% dengan *Fusarium oxysporum* isolate N-61-2 (Q-cover=100%).

Tabel 9. Kesejajaran sekuen fragmen ITS *Fusarium* isolat PT.B004

Deskripsi	Identities (%)	Query cover (%)	Accession
<i>Fusarium oxysporum</i> isolate N-61-2	100.00%	100%	MT560381.1
<i>Fusarium subglutinans</i> isolate 25	100.00%	100%	KY318486.1
<i>Fusarium veterinarianium</i> genomic DNA	100.00%	100%	OW987710.1
<i>Fusarium nirenbergiae</i> strain 9245	100.00%	100%	ON365710.1

Hasil penyejajaran fragmen ITS dengan database di Genbank disajikan pada (Tabel 9). Hasil penyejajaran menunjukkan patogen bercak daun pada isolat PT. B004 mempunyai kemiripan 100% dengan *Fusarium oxysporum* isolate N-61-2 (Q-cover=100%).

Tabel 10. Kesejajaran sekuen fragmen ITS *Cladosporium* isolat PT.A002

Deskripsi	Identities (%)	Query cover (%)	Accession
<i>Cladosporium tenuissimum</i> strain V-81	99.59%	100%	MT508793.1
<i>Cladosporium oxysporum</i> isolate SRG3	99.59%	100%	MK748311.1
<i>Cladosporium cladosporioides</i> strain HSX11#-10-1	99.59%	100%	MT367253.1

<i>Cladosporium kenpeggii</i> isolate L-619/2013	99.59%	100%	MN540262.1
<i>Cladosporium colombiae</i> isolate X2P3Tk2	99.59%	100%	ON920710.1
<i>Cladosporium caricinum</i> strain CCPc-3	99.59%	100%	MZ198356.1
<i>Cladosporium antarcticum</i> strain Y2HJRS71	99.59%	100%	MT322733.1

Hasil penyejajaran fragmen ITS dengan database di Genbank disajikan pada Tabel 10. Hasil penyejajaran menunjukkan patogen bercak daun pada isolat PT.A002 mempunyai kemiripan 99% dengan *Cladosporium tenuissimum* strain V-81 (Qcover=100%).

Tabel 11. Kesejajaran sekuen fragmen ITS *Diaporthe* isolat PT.B002

Deskripsi	Query cover (%)	Identities (%)	Accession
<i>Diaporthe endophytica</i> strain Tg57	99.00%	100%	MN148274.1
<i>Diaporthe phaseolorum</i> isolate TW9	99.00%	100%	MH930411.1
<i>Diaporthe aspalathi</i> isolate 1562	99.00%	100%	KX769842.1
<i>Diaporthe asparagi</i> strain FS474	99.00%	100%	MW800363.1
<i>Diaporthe sojae</i> isolate L2	99.00%	100%	MW228327.1
<i>Diaporthe fructicola</i> isolate XFKF-9-1	99.00%	100%	MW202971.1
<i>Diaporthe novem</i> strain CAA295	99.00%	99%	MT073342.1
<i>Diaporthe chromolaenae</i> culture MFLUCC:17-1422	98.98%	98%	MT214362.1
<i>Diaporthe masirevicii</i> voucher MFLUCC 17-1422	98.98%	98%	MH094275.1
<i>Diaporthe yunnanensis</i> CGMCC 3.18289	98.98%	98%	NR_152472.1
<i>Diaporthe longicolla</i> strain CMT38	99.18%	98%	JQ754027.1

Hasil penyejajaran fragmen ITS dengan database di Genbank disajikan pada (Tabel 11). Hasil penyejajaran menunjukkan patogen bercak daun pada isolat PT.B002 mempunyai kemiripan 99% dengan *Diaporthe endophytica* strain Tg57 (Qcover=100%).

Tabel 12. Kesejajaran sekuen fragmen ITS *Diaporthe* isolat PT.B003

Deskripsi	Identities (%)	Query cover (%)	Accession
<i>Diaporthe acutispora</i> isolate WZ-838	98.70%	100%	OP163784.1
<i>Diaporthe hongkongensis</i> isolate 8MR-Vald	97.96%	100%	KX343142.1
<i>Diaporthe eucalyptorum</i> voucher LRL	97.39%	100%	MH371250.1

Hasil penyandingan fragmen ITS dengan database di Genbank disajikan pada (Tabel 12). Hasil penyandingan menunjukkan patogen bercak daun pada isolat PT.B003 mempunyai kemiripan 98% dengan *Diaporthe acutispora* isolate WZ-838 (Qcover=100%).

Tabel 13. Kesejajaran sekuen fragmen ITS *Diaporthe* isolat PT.K002

Deskripsi	Query cover (%)	Identities (%)	Accession
<i>Diaporthe phaseolorum</i> strain E99382	99.81%	100%	AY577815.1
<i>Diaporthe ueckerae</i> isolate LEQZ02	99.62%	100%	ON075781.1
<i>Diaporthe miriciae</i> strain A7-P	99.61%	97%	MH220211.1

Hasil penyandingan fragmen ITS dengan database di Genbank disajikan pada (Tabel 13). Hasil penyandingan menunjukkan patogen bercak daun pada isolat PT.K002 mempunyai kemiripan 98% dengan *Diaporthe phaseolorum* strain E99382 (Qcover=100%).

Tabel 14. Kesejajaran sekuen fragmen ITS *Diaporthe* isolat PT.M001

Deskripsi	Query cover (%)	Identities (%)	Accession
<i>Diaporthe phaseolorum</i> strain E99382	99.63%	100%	AY577815.1
<i>Diaporthe ueckerae</i> strain LMDM-1598	99.44%	100%	OL981188.1
<i>Diaporthe miriciae</i> strain A7-P	99.43%	97%	MH220211.1

Hasil penyandingan fragmen ITS dengan database di Genbank disajikan pada (Tabel 14). Hasil penyandingan menunjukkan patogen bercak daun pada isolat PT.M001 mempunyai kemiripan 99% dengan *Diaporthe phaseolorum* strain E99382 (Qcover=100%).

Tabel 15. Kesejajaran sekuen fragmen ITS *Pestalotiopsis* isolat PT.E002

Deskripsi	Identities (%)	Query cover (%)	Accession
<i>Pestalotiopsis mangiferae</i> isolate MX06-17-LBPE	100.00%	100%	MH179308.1
<i>Pestalotiopsis clavispora</i> isolate ZJ12	100.00%	100%	EU196753.1

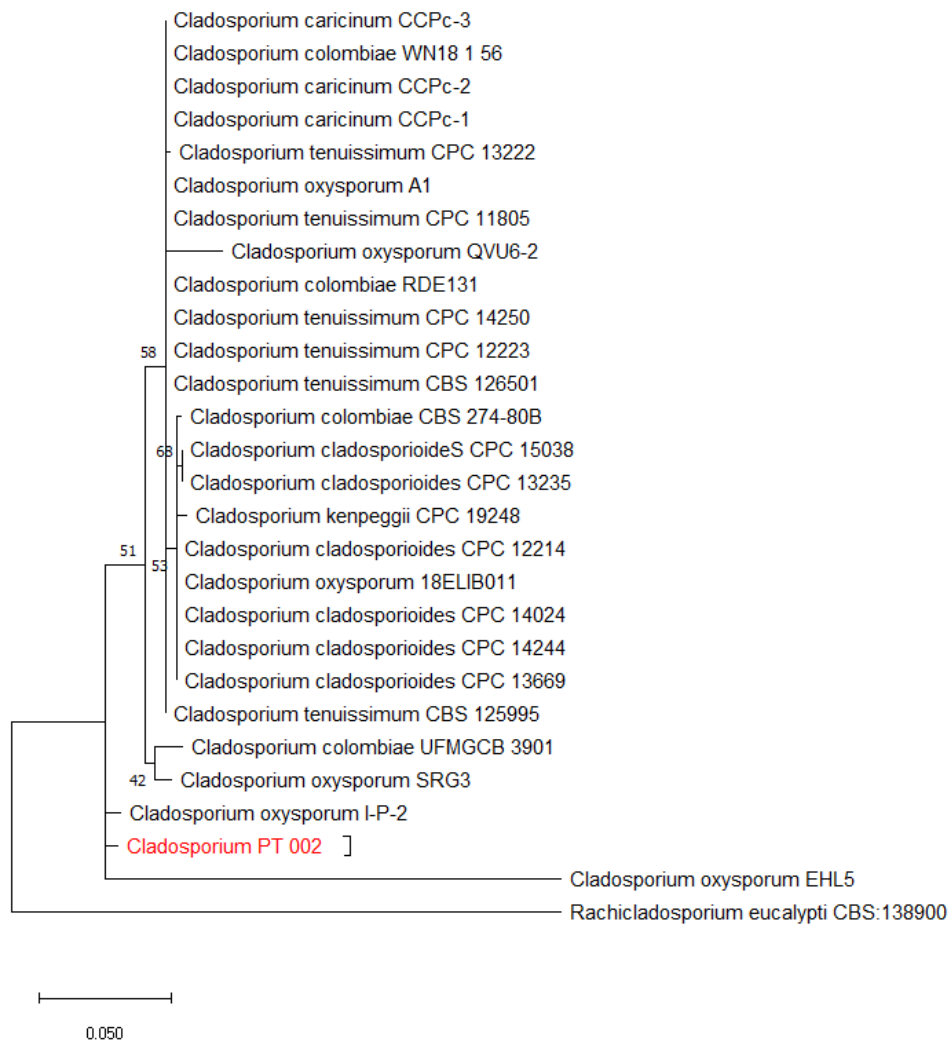
<i>Pestalotiopsis maculans</i> strain 18S003	100.00%	99%	MN611096.1
<i>Pestalotiopsis microspora</i> isolate 31	100.00%	99%	MK120574.1

Hasil penyejajaran fragmen ITS dengan database di Genbank disajikan pada (Tabel 15). Hasil penyejajaran menunjukkan patogen bercak daun pada isolat PT. E002 mempunyai kemiripan 100% dengan *Pestalotiopsis mangiferae* isolate MX06-17-LBPE (Qcover=100%), *Pestalotiopsis clavispora* isolate ZJ12 (Qcover=100%).

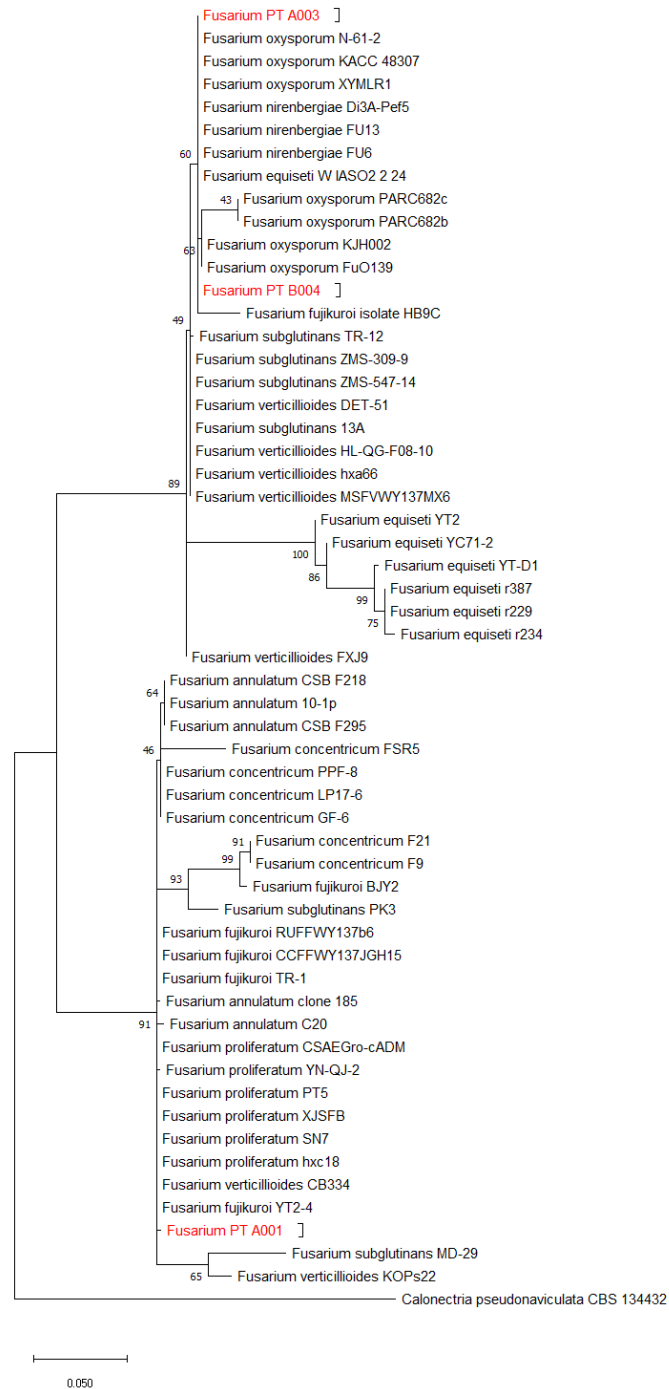
3. Filogenetik patogen bercak daun pada *E.pellita*

Pohon filogenetik dikonstruksi menggunakan fragmen ITS. Konstruksi pohon filogenetik bertujuan untuk melihat kekerabatan antara organisme sampel berdasarkan hubungan evolusionermya dengan sekuen organisme pembanding yang berasal dari situs NCBI. Pohon filogenetik yang dikonstruksi menggunakan sekuen organisme pembanding yang diambil dari hasil BLAST pada situs NCBI.

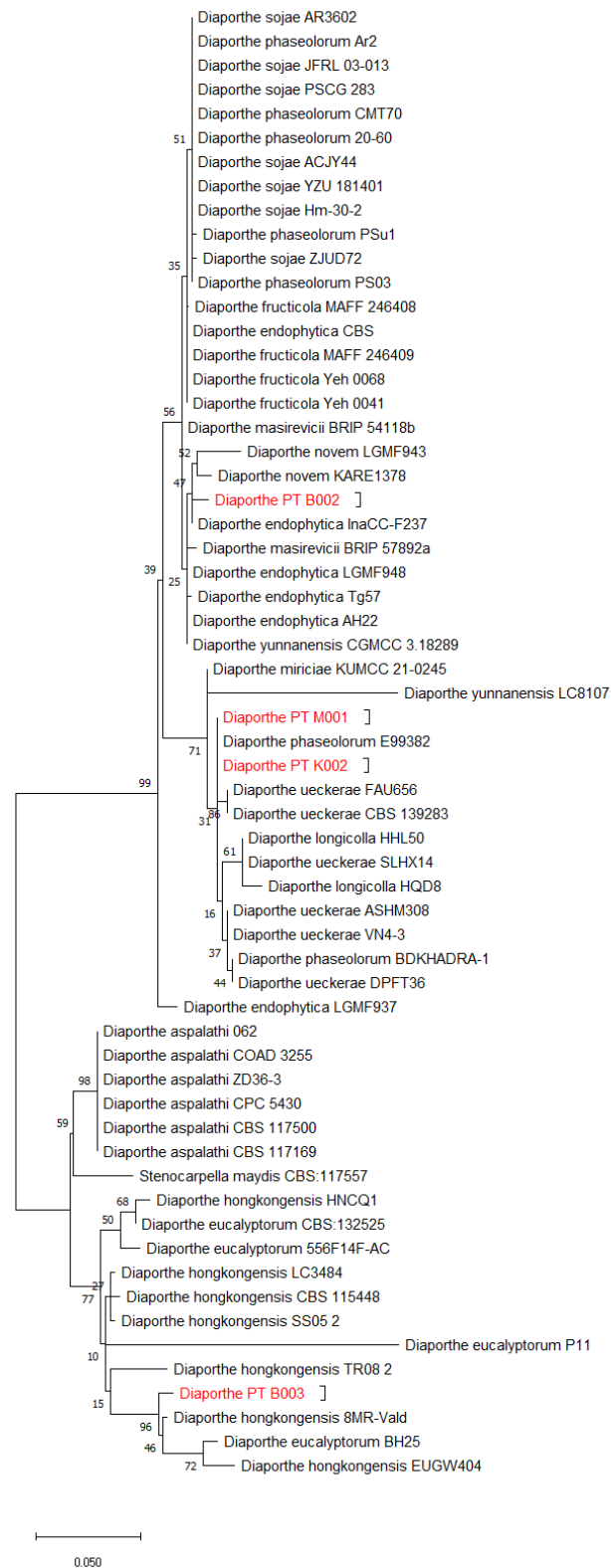
Metode *maximum likelihood* menggunakan kalkulasi untuk menemukan pohon yang mempunyai hitungan variasi terbaik dalam set sekuen. Metode ini mirip dengan metode *maximum parsimony* dalam analisis yang dibentuk pada masing-masing kolom dalam multiple sequence alignment. Model Kimura-2 dipilih dalam pembuatan filogenetik untuk mengetahui kesamaan antar sekuens serta memiliki kelebihan cepat dan mudah untuk menganalisis sekelompok sekuens (Bhambri&Gupta, 2012). Analisis metode *maximum likelihood* menggunakan model Kimura-2 merekonstruksi kekerabatan antar spesies berdasarkan panjang garis cabang. Panjang garis yang berbeda menunjukkan tingkat evolusi masing-masing spesies (Fitmawati dkk, 2013).



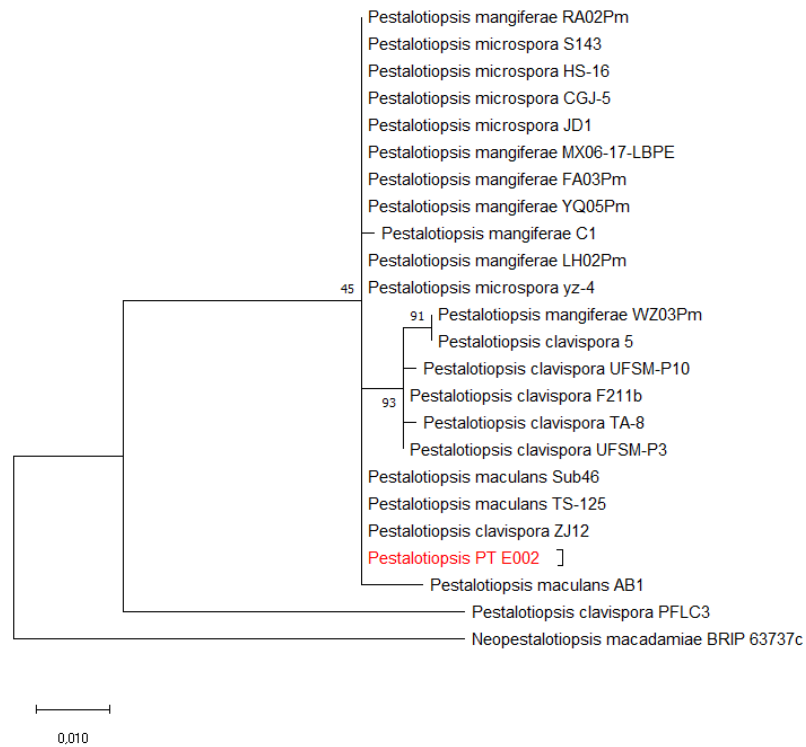
Gambar 10. Pohon filogenetik yang dihasilkan dengan *maximum likelihood*



Gambar 11. Pohon filogenetik yang dihasilkan dengan *maximum likelihood*



Gambar 12. Pohon filogenetik yang dihasilkan dengan *maximum likelihood*



Gambar 13. Pohon filogenetik yang dihasilkan dengan *maximum likelihood*

4.2 Pembahasan

a. Identifikasi Morfologi

Identifikasi morfologi cendawan patogen penyebab penyakit bercak daun pada *Eucalyptus pellita* dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk koloni cendawan, warna permukaan koloni cendawan, dan warna bawah koloni cendawan (Gandjar *et al*, 1999 dalam Dwi, 2020). Pengamatan secara mikroskopis dilanjutkan dengan pengamatan terhadap miselia, spora, ada tidaknya sekat pada hifa dari cendawan patogen penyebab penyakit di bawah mikroskop, kemudian disesuaikan dengan buku identifikasi cendawan (Barnett&Hunter, 2006). Dari hasil identifikasi yang diperoleh isolat cendawan *Eucalyptus pellita* menunjukkan penampakan yang berbeda pada setiap koloninya baik secara makroskopis maupun mikroskopis.

Pada (gambar 4) sampel bercak 1 memiliki ciri-ciri bercak dengan bintik-bintik hitam yang menyebar, dan pada bagian belakang daun berubah menjadi hijau kekuning-kuningan. Hasil identifikasi morfologi diperoleh patogen penyebab bercak daun kode PT.A001 yaitu genus *Fusarium* memiliki ciri makroskopis berupa warna bagian atas koloni yaitu putih dan ditengah terdapat bercak ungu dengan warna bagian dasar koloni putih, bentuk tepi koloni bulat, permukaan koloni halus dan rata serta miselium tipis, pola pertumbuhan menyebar dan cukup lambat. Ciri mikroskopis memiliki konidia yaitu berupa makrokonidia yang bening, berbentuk bulan sabit yang ujung agak membengkok, mempunyai 4 sel serta septum lebih dari 2 (phragmospora), dan hifa bersekat. Pada kode PT.A002 yaitu *Cladosporium* yaitu memiliki ciri makroskopis berupa warna bagian atas koloni yaitu putih dan ditengah terdapat bercak ungu dengan warna bagian dasar koloni putih seperti kapas, bentuk tepi koloni bulat, permukaan koloni halus dan rata serta miselium tebal, pola pertumbuhan menyebar. Ciri mikroskopis hifa tidak bersekat. Kode PT.E002 yaitu genus *Pestalotiopsis* yaitu memiliki ciri makroskopis berupa warna bagian atas koloni yaitu putih dan ditengah terdapat bercak ungu dengan warna bagian dasar koloni putih seperti kapas, bentuk tepi koloni bulat, permukaan koloni halus dan rata serta miselium tebal, pola pertumbuhan menyebar. Ciri mikroskopis konidia *Pestalotiopsis* dicirikan memiliki empat septa dan warna pigmen di median sel dengan 2-4 anggota sel.

Pada (gambar 5) sampel bercak 2 memiliki ciri-ciri bercak dengan bintik-bintik hitam yang menyebar, dan warna daun berubah menjadi hijau kekuning-kuningan. Hasil identifikasi morfologi diperoleh patogen penyebab bercak daun pada kode PT.B003 yaitu genus *Diaporthe* memiliki ciri makroskopis berupa warna koloni berwarna putih, pada permukaan bawah koloni berwarna putih kekuningan berbentuk serat kapas agak tebal, pertumbuhan koloni rata, tepi koloni rata. Ciri mikroskopis yaitu terdapat hifa tidak bersekat. Kode PT.B004 yaitu genus

Fusarium memiliki ciri makroskopis berupa warna bagian atas koloni yaitu putih dan ditengah terdapat bercak ungu dengan warna bagian dasar koloni putih, bentuk tepi koloni bulat, permukaan koloni halus dan rata serta miselium tipis, pola pertumbuhan menyebar dan cukup lambat. Ciri mikroskopis memiliki konidia yaitu berupa makrokonidia yang bening, berbentuk bulan sabit yang ujung agak membengkok, mempunyai 4 sel dan hifa bersekat.

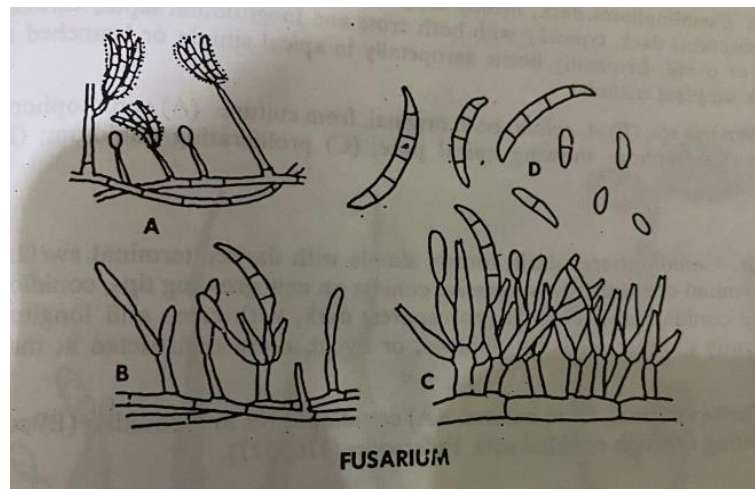
Pada (gambar 6) sampel bercak 3 memiliki ciri-ciri bercak dengan bintik-bintik hitam yang menyebar dipangkal atas daun hingga warna daun berubah menjadi kuning disertai bintik hitam. Hasil identifikasi morfologi diperoleh patogen penyebab bercak daun pada kode PT.K002 yaitu genus *Diaporthe* memiliki ciri makroskopis berupa warna koloni berwarna putih keabu-abuan, pada permukaan bawah koloni berwarna putih, pertumbuhan menyebar cepat, spora berwarna hitam menyebar. Ciri mikroskopis spora berbentuk oval.

Pada (gambar 7) sampel bercak 4 memiliki ciri-ciri bercak dengan bintik-bintik hitam yang menyebar, warna daun berubah menjadi hijau kekuning-kuningan disertai bintik hitam. Dari hasil isolasi sampel daun didapatkan isolat cendawan yaitu kode PT.B002 yang memiliki ciri makroskopis berupa warna koloni berwarna putih, pada permukaan bawah koloni berwarna putih kekuningan seperti kapas, tipis dengan warna bagian dasar koloni putih, bentuk tepi koloni bulat, permukaan koloni halus dan rata serta miselium tipis, pola pertumbuhan menyebar dan cukup lambat. Ciri mikroskopis hifa tidak bersekat.

Pada (gambar 8) sampel bercak 5 memiliki ciri-ciri bercak dengan bintik-bintik hitam yang menyebar hingga warna daun berubah menjadi hijau kehitam-hitaman. Hasil identifikasi morfologi diperoleh patogen penyebab bercak daun pada kode PT.A003 yaitu genus *Fusarium* memiliki ciri memiliki ciri makroskopis berupa warna bagian atas koloni yaitu putih dan ditengah terdapat bercak ungu dengan warna bagian dasar koloni

putih, bentuk tepi koloni bulat, permukaan koloni halus dan rata serta miselium tipis, pola pertumbuhan menyebar dan cukup lambat. Ciri mikroskopis memiliki konidia yaitu berupa makrokonidia yang bening, berbentuk bulan sabit yang ujung agak membengkok, mempunyai 4 sel dan hifa bersekat. Kode PT.M001 yaitu genus *Diaporthe* memiliki ciri makroskopis berupa warna koloni putih, pertumbuhan menyebar, bentuk tepi koloni filamen atau seperti benang, ciri mikroskopis yaitu terdapat konidia.

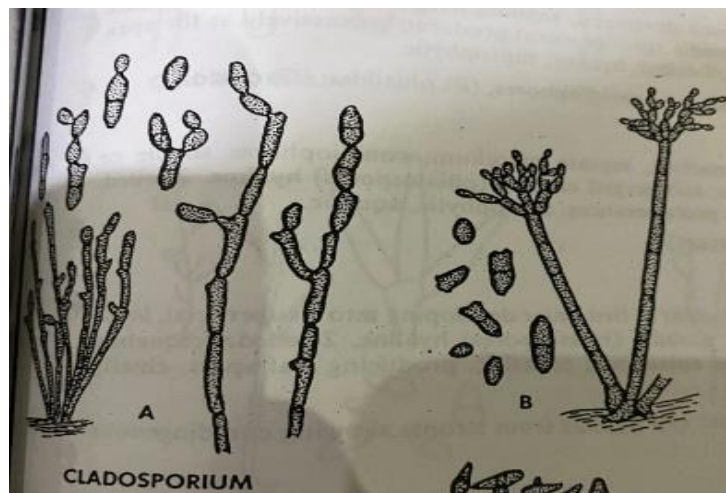
Penyebaran patogen *Fusarium* dapat melalui kontak langsung sesama inang, angin, air, dan tanah yang telah terinfeksi. Menurut (Rahayu *et al*, 2015), suhu dan kelembaban optimum *Fusarium* adalah sebesar 30° C dan 90%. Pencegahan dan pengendaliannya yaitu dengan menggunakan biopestisida, musuh alami, dan pemusnahan inang yang terinfeksi. Hasil pengamatan karakteristik morfologi isolat secara makroskopis dan mikroskopis dicocokkan dengan buku *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi* (Barnett&Hunter, 1998) menunjukkan tingkat similaritas atau kedekatan dengan genus *Fusarium*, yaitu memiliki miselium yang luas dan seperti kapas dalam kultur. Miselium berwarna merah jambu, ungu, atau kuning. Konidiofor bervariasi, ramping dan sederhana atau pendek, bercabang tidak beraturan. Mikrokonidia bersel 1 bulat telur atau lonjong. Makrokonidia bersel 2-3 lonjong atau sedikit melengkung. *Fusarium* spp. dimasukkan ke dalam famili Tuberculariaceae karena di alam jamur ini membentuk tubuh buah pembentuk konidium yang disebut sporodokium. *Fusarium* spp. membentuk tiga tipe spora aseksual yaitu mikrokonidium, makrokonidium dan klamidospora. Genus ini memiliki banyak spesies, di antaranya yang memiliki kisaran inang yang luas ialah *Fusarium oxysporum*.



Gambar 14. Mikroskopis *Fusarium*

Sumber : Barnett&Hunter, 1998

Cladosporium sp. membutuhkan kondisi cuaca yang sejuk dan lembab untuk pertumbuhan yang hidup, sporulasi, pelepasan spora, perkecambahan dan perkembangan penyakit. Jamur ini aktif pada suhu rendah dan kelembaban tinggi.

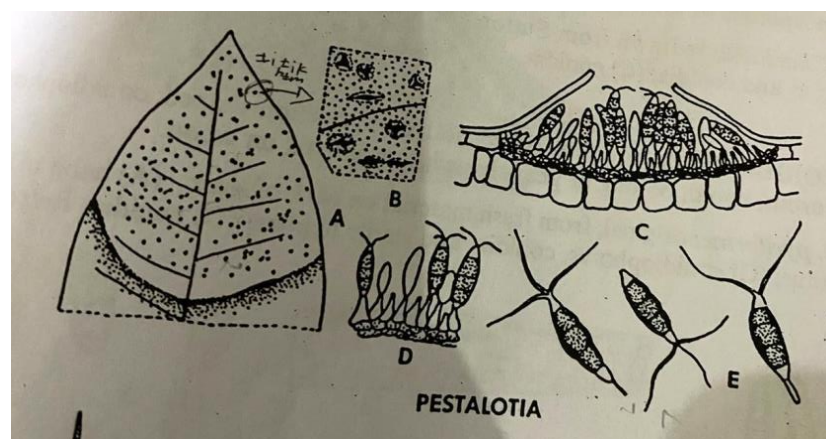


Gambar 15. Mikroskopis *Cladosporium*

Sumber : Barnett&Hunter, 1998

Cendawan *Pestalotiopsis* merupakan cendawan penyebab penyakit bercak (Hidayah dan Anggraeni 2015). Faktor yang mempengaruhi perkembangan *Pestalotiopsis* adalah suhu dan kelembaban tanah. Suhu optimum cendawan berkisar 25°C-30°C dan kelembabannya sekitar 90%.

Tindakan pencegahan terhadap serangan patogen *Pestalotiopsis* sebaiknya dilakukan sejak dini. Teknik pengendalian patogen *Pestalotiopsis* yang umum dilakukan menurut Rahayu, 1999 dalam Herliyana, 2020 yaitu sanitasi area pertanaman, mencabut dan membakar tanaman yang sakit, dan bila perlu dilakukan penyemprotan fungisida. Hasil pengamatan karakteristik morfologi isolat PT.E002 secara makroskopis dan mikroskopis dicocokkan dengan buku *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi* (Barnett & Hunter, 1998) menunjukkan tingkat similaritas atau kedekatan dengan *Pestalotiopsis*. Memiliki konidia bersel 4-5 dan hialin, sel ujung runcing. *Pestalotiopsis* memiliki sebaran yang luas dan banyak dilaporkan sebagai jamur atau cendawan penyebab penyakit bercak daun pada berbagai tanaman baik tanaman pertanian, kehutanan, ornamental ataupun bunga dan buah-buahan diantaranya yaitu *Eucalyptus pellita* (Arsensi, Lahjie, Simarankir, & Mardji, 2016).



Gambar 16. Mikroskopis *Pestalotiopsis*

Sumber : Barnett&Hunter, 1998

b. Identifikasi Molekuler

Identifikasi molekuler dilakukan menggunakan wilayah Internal Transcribed Spacer (ITS) ribosomal DNA (rDNA). Isolasi DNA dan amplifikasi PCR pada daerah ITS rDNA merupakan tahap awal yang perlu dilakukan dalam identifikasi molekuler. Sikuens DNA pada daerah ITS rDNA berevolusi lebih cepat dibandingkan daerah gen lainnya sehingga

akan bervariasi pada setiap spesies (White et al. 1990). Hal ini akan mempermudah dalam identifikasi spesies dengan membandingkan tingkat kemiripan (homologi) sikuens DNA daerah ITS yang dimiliki suatu cedawan dengan cedawan lainnya. Hasil sikuensing dari 7 isolat yang dianalisis menggunakan primer universal menunjukkan bahwa pada penelitian ditemukan 9 jenis *Fusarium* diantaranya *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium nirenbergiae*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium fujikuro*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium annulatum*, *Fusarium concentricum*. Ditemukan sebanyak 12 jenis *Cladosporium* diantaranya *Cladosporium tenuissimum*, *Cladosporium oxysporum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium kenpeggii*, *Cladosporium colombiae*, *Cladosporium caricinum*, *Cladosporium antarcticum*, *Cladosporium tenuissimum*, *Cladosporium oxysporum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium kenpeggii*, *Cladosporium colombiae*.

Ditemukan sebanyak 15 jenis *Diaporthe* diantaranya *Diaporthe endophytica*, *Diaporthe phaseolorum*, *Diaporthe aspalathi*, *Diaporthe asparagi*, *Diaporthe sojiae*, *Diaporthe fructicola*, *Diaporthe novem*, *Diaporthe chromolaenae*, *Diaporthe masirevicii*, *Diaporthe yunnanensis*, *Diaporthe longicolla*, *Diaporthe acutispora*, *Diaporthe hongkongensis*, *Diaporthe eucalyptorum*, *Diaporthe ueckerae*. Ditemukan 4 jenis *Pestalotiopsis* diantaranya *Pestalotiopsis mangiferae*, *Pestalotiopsis clavisporea*, *Pestalotiopsis maculans*, *Pestalotiopsis microspora*.

Hasil analisis pohon filogenetik isolat PT. A002 berkerabat dekat dengan cabang *Cladosporium oxysporum* dengan nilai bootstrap 51% (Gambar 10). Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan bahwa isolat A003 berkerabat dekat dengan *Fusarium oxysporum*, *Fusarium nirenbergiae* dan dilanjut PT B004 berkerabat dekat dengan *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum* dengan nilai bootstrap 60%, dan PT. A001 berkerabat dekat dengan *Fusarium fujikuroi*, *Fusarium annulatum*, *Fusarium proliferatum*, dan *Fusarium verticillioides* nilai bootstrap 91%

(Gambar 11). Hasil analisis pohon filogenetik isolat PT. B002 memiliki nilai bootstrap 47% dengan kekerabatan terdekat *Diaporthe endophytica*, isolat PT. M001 memiliki nilai bootstrap 86% dengan kekerabatan terdekat *Diporthe phaselorum* dan disusul oleh isolat PT. K002, isolat PT. B003 memiliki nilai bootstrap 15% dengan kekerabatan terdekat *Diaporthe hongkongensis* senilai 95%, setelah disamakan dengan filogenetik *Diaporthe eucalyptorum* memiliki nilai bootstrap 46% berkerabat dengan dengan *Diaporthe hongkongensis* EUGW404 senilai 72% (Gambar 12). Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan bahwa isolat PT E002 berkerabat dekat dengan beberapa cendawan diantaranya *Pestalotiopsis maculans*, *Pestalotiopsis clavispora* dengan nilai bootstrap 45% (Gambar 13).

Dalam rekonstruksi pohon filogenetika, data molekuler lebih banyak dipakai karena dianggap lebih stabil dalam proses evolusi dibandingkan dengan data morfologi. Pohon filogenetika dapat berakar (rooted) atau tidak berakar (unrooted), tergantung metode analisis yang dipergunakan. Akar pada pohon menggambarkan titik percabangan pertama atau asal masing-masing populasi dengan asumsi bahwa laju evolusi berjalan konstan (NEI, 1987). Pola percabangan pohon dibentuk berdasarkan jarak matrik antar pasangan populasi yang dapat menggambarkan fusi genetik yang terjadi pada kelompok tersebut (WEISS, 1995). Panjang cabang menggambarkan jumlah substitusi basa yang dapat berupa polimorfisme DNA atau haplotipe. Metode pengolahan data yang digunakan harus sesuai dengan set data yang ada, agar dapat menghasilkan pola percabangan (topologi) serta panjang cabang yang benar (Cavalli-Sforza, 1997). Analisis filogenetika sekuen asam amino dan protein biasanya akan menjadi wilayah yang penting dalam analisis sekuen. Selain itu, dalam filogenetika dapat menganalisis perubahan yang terjadi dalam evolusi organisme yang berbeda. Berdasarkan analisis, sekuen yang mempunyai kedekatan dapat diidentifikasi dengan menempati cabang yang bertetangga pada pohon. Ketika keluarga gen ditemukan dalam organisme atau

kelompok organisme, hubungan filogenetika diantara gen dapat memprediksikan kemungkinan yang satu mempunyai fungsi yang ekuivalen. Prediksi fungsi ini dapat diuji dengan eksperimen genetik. Analisis filogenetika juga digunakan untuk mengikuti perubahan yang terjadi secara cepat yang mampu mengubah suatu spesies.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan dapat disimpulkan:

- a Hasil identifikasi morfologi ditemukan patogen penyebab bercak daun pada *Eucalyptus pellita* diantaranya yaitu genus *Fusarium*, genus *Cladosporium*, genus *Diaporthe*, dan genus *Pestalotiopsis*.
- b Hasil identifikasi dengan penyejajaran database di GenBank menggunakan program BLAST, dan hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan bahwa isolat PT. A002 berkerabat dekat dengan cabang *Cladosporium oxysporum* dengan nilai bootstrap 51%,
- c PT. A003 berkerabat dekat dengan *Fusarium oxysporum* dan dilanjut PT. B004 berkerabat dekat dengan *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum* nilai bootstrap 60%, dan PT. A001 berkerabat dekat dengan *Fusarium fujikuroi*, *Fusarium annulatum*, *Fusarium proliferatum*, dan *Fusarium verticillioides* nilai bootstrap 91%, PT. B002 nilai bootstrap 47% dengan kekerabatan terdekat *Diaporthe endophytica*.
- d PT. M001 nilai bootstrap 86% dengan kekerabatan terdekat *Diaporthe phaselorum* dan disusul oleh PT. K002, PT. B003 nilai bootstrap 15% berkerabat terdekat *Diaporthe hongkongensis* senilai 95%, setelah disamakan dengan filogenetik *Diaporthe eucalyptorum* nilai bootstrap 46% berkerabat dengan *Diaporthe hongkongensis* senilai 72%, PT. E002 berkerabat dekat dengan *Pestalotiopsis maculans*, *Pestalotiopsis clavispora* nilai bootstrap 45%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan disarankan dapat dilanjutkan dengan uji postulat Koch dan uji patogenitas yang menyebabkan bercak daun pada *Eucalyptus pellita* yang telah teridentifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Azwin., Suhesti, E., Ervayenri. 2022. Analisis Tingkat Kerusakan Serangan Hama dan Penyakit Dipersemaian BPDASHL Indragiri Rokan Pekanbaru. *Wahana Forestra: Jurnal Kehutanan*. Vol. 17 No. 1 Januari 2022.
- Andrawina, D,A,G., Wirya, S,A,N,G., Suniti, W,N., Suputra, W,P,I. 2022. Identifikasi Penyebab Penyakit Bercak Daun *Mycosphaerella* pada Tanaman Stroberi (*Fragaria* sp.) di Bali dan Potensi Pengendaliannya dengan Jamur Antagonis secara In Vitro. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. Vol. 11, No. 2, April 2022
- Arsensi, Iin., & Mardji, Djumali. 2018. Identifikasi Patogen Penyebab Busuk Batang Pada Bibit *Eucalyptus pellita* di Persemaian. *Ulin – J Hut Trop* 2(1): 21-25.
- Anggraeni, I., & Mindawati, N. (2011). Serangan Hama dan Penyakit pada Gmelina (*Gmelina arborea* Roxb.) di Hutan Rakyat. *Tekno Hutan Tanaman*, 2(2), 85–91.
- Azmat MA, Khan IA, Cheema HMN, Rajwana IA, Khan AS, Khan AA. 2012. Extraction of DNA suitable for PCR amplification from mature leaves of *Mangifera indica* L. *J Biomed & Biotechnol*. 13(4): 239–243.
- Barnett, H.I., & Hunter, B. 1998. *Illustrated generd of imperfect fungi*. Fourth Edistion. St. Paul, Monnesota: APS Press. *The American Phytopathological Society*.
- Bhambri, P., & Gupta, O. P. (2012). Development of phylogenetic tree based on Kimura's Method. Proceedings of 2012 2nd IEEE International Conference on Parallel, Distributed and Grid Computing, PDGC 2012, 1–3. <https://doi.org/10.1109/PDGC.2012.6449910>
- Brasileiro BT, Coimbra MR, Morais MA, Oliveira NT. 2004. Genetic variability within *Fusarium solani* specie as revealed by PCR-fingerprinting based on pcr markers. *Brazilian J Microbiol*. 35(3). <https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000200006>
- Castresana J. 2000. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Mol Biol Evol*. 17: 540–552.
- Clarke, P. 2014. *Discovering Aboriginal Plant Use: The Journeys of an Australian Anthropologist*. Rosenberg Publishing Pty Ltd., Australia, A.
- CAVALLI-SFORZA, L.L. 1997. Genes, Peoples and Languages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 94(15): 7719 – 7724.
- Chatri, Moralita. Pengantar Ilmu Penyakit Tanaman. 1 Nov 2016 – 244. <https://books.google.co.id/books?id=TXxXDwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=id#v=onepage&q&f=false>

- Daryono, S.B., Koeswardani, A.C., Sunarti, S. 2012. Karakter Kromosom Ekaliptus (*Eucalyptus pellita* F. Muell.) Hasil Induksi Ekstrak Etanolik Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don.). *Seminar Nasional Agroforestri III*, 29 Mei 2012.
- Donastin, A., Koentjoro, P.M., Hidayat, T.M., Prasetyo, N.E. 2022. Perbandingan Tiga Metode Isolasi DNA *Aspergillus niger* Comparison of Three DNA Isolation Methods of *Aspergillus Niger*. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*. 9(1): 69-78 (Maret 2022).
- Fatchiyah, E.L., Arumingtyas S., Widyarti, & Rahayu, S. 2011. Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis. Jakarta. Penerbit Erlangga.
- Fitmawati, A., Suwita, N., & Sofiyanti, H. (2013). Eksplorasi dan Karakterisasi Keanekaragaman Plasma Nutfah Mangga (Mangifera) di Sumatera Tengah. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*, 307–312.
- Herliyana, N.E., Sakbani, L., Herdiyeni, Y., Munif, A. 2020. Identifikasi Cendawan Patogen Penyebab Penyakit Pada Daun Jabon Merah (*Anthocephalus macrophyllus* (ROXB.) HAVIL). *Jurnal Silviculture Tropika* Vol. 11 No. 03, Desember 2020, Hal 154-162
- Hidayati, N., Nurrohmah, H.S., & Ardhanay, F. 2020. Isolasi Identifikasi dan Karakterisasi Penyebab Penyakit Bercak Daun Pada Semai Pinus di Perum Perhutani BKPH Purworejo. KPH Kedu Selatan. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. Vol. 14 No. 1, Juni 2020, p.21-32
- Hidayatia, N., Nurrohmana, H.S., Revina, F. 2020. Isolasi Dan Identifikasi Patogen Yang Menyerang Benih Sengon, Gmelina, Mahoni Dan Tisuk. *ANR Conference Series* 03 (2020)
- Hung TD, Jeremy T, Brawner, Meder R, David J, Lee, Southerton S, Thinh HH, Dieters MJ. 2014. Estimates of genetic parameters for growth and wood properties in *Eucalyptus pellita* F. Muell. to support tree breeding in Vietnam. *Ann Forest Sci*. 72 (2): 205–217. doi: 10.1007/s13595-014-0426-9.
- Hutajulu, E.F., Annab, N., Siregar, M,B,E. 2016. Uji Infeksi *Cylindrocladium* sp pada Tiga Klon Hibrid *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus pellita*. *Peronema Forestry Science Journal*. Vol. 04 No. 03, Hal 148-158.
- Jahra, Ilmi, N., Rahim, I., 2019. Karakterisasi Morfologi Cendawan *Colletotrichum* Pada Rhizosfer Tanaman Cabe. *Prosiding Seminar Nasional 2019. Sinergitas Multidisiplin Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*, vol. 2, 2019, ISSN: 2622-0520.
- Jeewon R, Lew ECY, Simpson JA, Hodgkiss IJ, Hyde KD. 2003. Phylogenetic significance of morphological characters in the taxonomy of *Pestalotiopsis* species. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27 : 372–383.

- Legiastuti, S, T., Aminingsih, T. 2012. Identifikasi Cendawan Endofit Menggunakan Teknik Polynerase Chain Reaction. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. Vol. 08 No. 02, Hal 31-36.
- Liu K-L, Porras-Alvaro A, Kuske CR, Eichorst SA, Xie G. 2012. Accurate, rapid taxonomic classification of fungal large-subunit rRNA genes. *Appl Environ Microbiol* 78:1523-1533.
- Maharachchikumbura SSN, Hyde KD, Groenewald JZ, Crous PW. 2014. *Pestalotiopsis* revisited. *Studies in Mycology* 79 : 121-186.
- Mardai, Indrayadi H. 2016. Pengenalan dan Pengendalian Hama dan Penyakit di Plantation, *Ed. ke-3. Perawang: Sinarmas Forestry*.
- Mustafa, N, W., Wattimena, C, Larumahina, F., 2019. Identifikasi Jenis Penyakit Pada Tanaman Jati (*Tectona grandis* Linn. F) Pada Hutan Tanaman Rakyat Dusun Telaga Kodok Provinsi Maluku. *Jurnal Hutan Tropis*. Vol. 7 No. 2 Juli 2019.
- Muslim, Ahmad. 2019. Pengendalian Hayati Patogen Tanaman dengan Mikroorganisme Antagonis. UPT. Penerbit dan Percetakan Universitas Sriwijaya 2019
- Nadila, F., Fitriani., Ridwan. 2021. Jenis Penyakit pada Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guinensis* Jacq.) dan Teknik Pengendaliannya di PT Perkebunan Nusantara I Kebun Baru Afdeling Vi Kota Langsa. *Jurnal Biologica Samudra*. Vol. 3 No. 2: 133-140.
- NEI, M. 1987. *Molecular Genetics*. Columbia University New York Press.
- Old KM, Cristovao CS. 2003. A rust epidemic of the coffee shade tree (*Paraserianthes falcataria*) in East Timor. *ACIAR Proc* 13:139–145.
- O'Donnell K, Kistler H C, Cigelnik E, Ploetz R C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sci.*95(5):2044-2049
- Pamoengkas, Prijanto dan Maharani, L,P. 2018. Manajemen Tempat Tumbuh Pada Tanaman *Eucalyptus pellita* DI PT. Perawang Sukses Perkasa Industri, Distrik Lipat Kain, RIAU. *Jurnal Silvikultur Tropika* Vol. 09 No. 02, Agustus 2018, Hal 79-84.
- Pangestia, Y., Budiharjo, A., Kusumaningrum, P,H. 2015. Analisis Filogenetik *Curcuma zedoaria* (Temu Putih) Berdasarkan Gen Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Biologi*, Volume 4 No 4, Oktober 2015 Hal. 8-13
- Patty, J., Uruila, C., 2016. Diagnosis Jenis Penyakit Tanaman Jati (*Tectona grandis*) Pada Area Hutan Tanaman Desa Hatusua Kecamatan Kairatu Kabupaten Seram Bagian Barat. *Jurnal Hutan Pulau-pulau Kecil*. Vol. 1 No. 2: 136-142.

- Qiao, Z., H. Liu, G.S. Noh, B. Koo, Q. Zou, K. Yun, Y. O. Jang, S. H. Kim, Y. Shin. 2020. A Simple and Rapid Fungal DNA Isolation Assay Based on ZnO Nanoparticles for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis. *Micromachines* (Basel). 11(5): 515-520.
- Rakhmana, S., Saryini., Titania, T., Nugroho. 2015. Ekstraksi dan Amplifikasi ITS Rdna Isolat Fungi Endoft LBKURCC67 Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). *JOM FMIPA*. Vol. 2 No. 1 Februari 2015
- Rahayu D, Rahayu WP, Lioe HN, Herawati D, Broto W, Ambarwati S. 2015. Pengaruh suhu dan kelembaban terhadap pertumbuhan *Fusarium verticillioides* BIO 957 dan produksi Fumonisin B1. *AGRITECH*. 35(2):156-163
- Rabuansyah, B., Iskandar, & Suryatini, R. (2014). Masa inkubasi penyakit karat daun dan tingkat kerusakan pada bibit perupuk (*Lophopetalum multinervium*) di persemaian PT. INHUTANI II Mandor. *Jurnal Hutan Lestari*, 2(3), 394– 400. Rabuansyah, B., Iskandar, & Suryatini, R. (2014). Masa inkubasi penyakit karat daun dan tingkat kerusakan pada bibit perupuk (*Lophopetalum multinervium*) di persemaian PT. INHUTANI II Mandor. *Jurnal Hutan Lestari*, 2(3), 394– 400.
- Rustam, E., Yuniarti, N., Suharti, T. 2013. Identifikasi dan Teknik Pengendalian Hama dan Penyakit Benih Pulai (*Alstonia scholaris*). *Jurnal Perbenihan Tanaman Hutan*. Vol.1 No.2, Desember 2013 : 111-120
- Sabino, R., H. Simoes, C. Verissimo, 2020. Molecular Detection of *Aspergillus*: Application of a Real-Time PCR Multiplex Assay in Tissue Samples. *Journal of Fungi*. 6(11): 2–7.
- Suharti, T., Kurniaty, R. 2013. Inventarisasi Penyakit Daun Pada Bibit Di Stasiun Penelitian Nagrak. *Jurnal Perbenihan Tanaman Hutan*. Vol. 1 No. 1, Agustus 2013 : 51-59
- Sugiarta, D., Sudiarta, P,I., Suniti, W,N., Suputra, W,P,I. 2021. Identifikasi Jamur Patogen Penyebab Penyakit Layu Pucuk pada Tanaman *Adenium* spp. di Kota Denpasar dan Potensi Pengendaliannya dengan Jamur Antagonis. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. Vol. 10, No. 3, Juli 2021
- Schoch, L, C., Seifert, A, K., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, L, J., Levesque, A, C., Chen, W., and Fungal Barcoding Consortium. 2012. Nuclear Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) Region as a universal DNA barcode marker for fungi. *PNAS*. Vol. 109 No. 16 : 6241-6246.
- Sinaga, A., Putri, P, A, L., Bangun, K, M., 2017. Analisis Pola Pita Andaliman (*Zanthoxylum Acanthopodium* D.C) Berdasarkan Primer OPD 03, OPD 20, OPC 07, OPM 20, OPN 09. *Jurnal Agroekoteknologi FP USU*. Vol.5.No.1, Januari 2017 (8): 55- 64

- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., 2013. Gao YH, Sun W., Su YY, Cai L., 2014. Tiga spesies baru *Phomopsis* di Cagar Alam Gutianshan di Tiongkok. *Kemajuan Logis Myco* 13: 111-121. MEGA6: Analisis Genetika Evolusioner Molekuler versi 6.0. *Biologi Molekuler dan Evolusi* 30: 2725-2729
- Utalenavar S. M., Vamadevaiah H., Ramana P., Katageri I. and Sridevi O. 2013. Studies on oil content and foliage yield of *Eucalyptus pellita* in agro climatic zone-9. *Karnataka J. Agric. Sci.* 26(1):144-146.
- Widyastuti SM, Sumardi, Harjono. 2005. *Patologi Hutan*. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.
- Weber CF, Vilgays R, Kuske CR. 2013. Changes in fungal community composition in response to elevated atmospheric CO₂ and nitrogen fertilization varies with soil horizon. *Front Microbiol* 4:1-14. doi: 10.3389/micb.2013.00078.
- WEISS, K.M. 1995. *Genetic variation and human diseases: Principles and evolution approaches*. Cambridge University Press, Cambridge. 354 p.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Inokulasi Sampel Cendawan



Lampiran 2 Identifikasi Morfologi Menggunakan Mikroskop

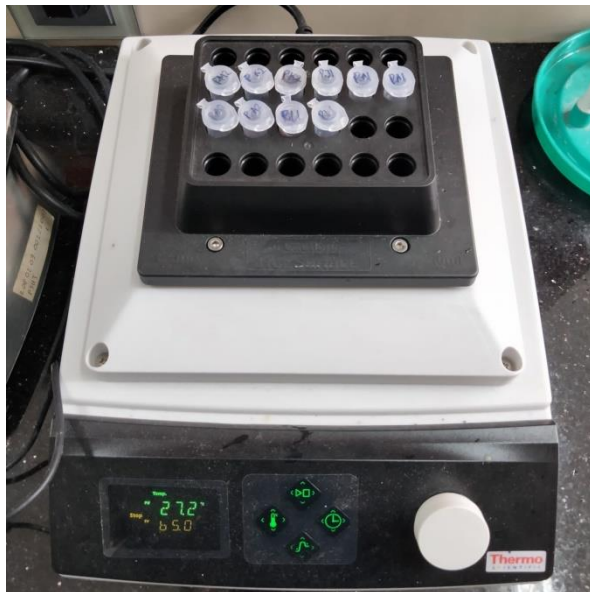


Lampiran 3 Ekstraksi DNA



Lampiran 4 Amplifikasi DNA cendawan dan Produk PCR





Lampiran 5 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

The screenshot displays the NCBI BLAST search results for query RID-G1XEAN3K013. The interface includes a search summary, a filter results section, and a table of sequences producing significant alignments.

Search Summary:

- Job Title: 1st_BASE_4570807_P_A1_ITS1
- RID: G1XEAN3K013 (Search expires on 08-21 22:55 pm)
- Program: BLASTN
- Database: nt
- Query ID: Icl|Query_12553
- Description: 1st_BASE_4570807_P_A1_ITS1
- Molecule type: dna
- Query Length: 480

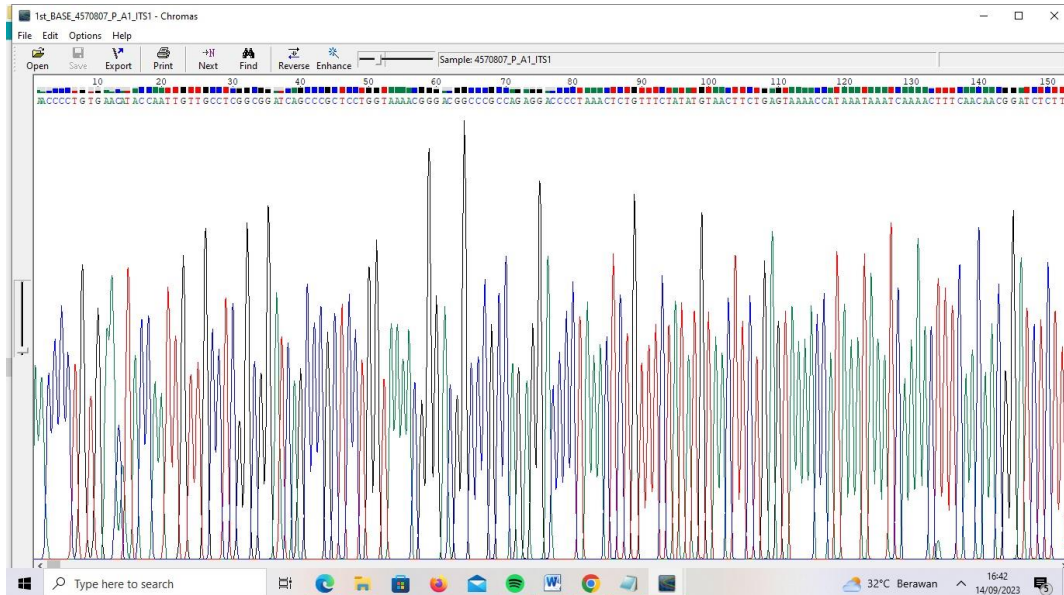
Filter Results:

- Organism: only top 20 will appear (exclude)
- Percent Identity: [] to []
- E value: [] to []
- Query Coverage: [] to []

Sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Fusarium proliferatum isolate c5 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer 1...	Fusarium prolifer...	881	881	100%	0.0	99.79%	558	ON973801.1
<input type="checkbox"/> Fusarium sp. isolate SL2.2 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal t...	Fusarium sp.	881	881	100%	0.0	99.79%	527	ON955282.1
<input checked="" type="checkbox"/> Fusarium oxysporum isolate VrsCfo02 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene a...	Fusarium oxyspo...	881	881	100%	0.0	99.79%	528	ON955054.1
<input type="checkbox"/> Fusarium oxysporum isolate VrsCfo01 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene a...	Fusarium oxyspo...	881	881	100%	0.0	99.79%	538	ON955053.1
<input type="checkbox"/> Fusarium oxysporum f. sp. lentis isolate Fol19 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA...	Fusarium oxyspo...	881	881	100%	0.0	99.79%	524	ON951605.1
<input type="checkbox"/> Fusarium oxysporum f. sp. lentis isolate Fol10 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA...	Fusarium oxyspo...	881	1036	100%	0.0	99.79%	669	ON951596.1
<input type="checkbox"/> Fusarium oxysporum f. sp. lentis isolate Fol1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA g...	Fusarium oxyspo...	881	881	100%	0.0	99.79%	528	ON951589.1
<input type="checkbox"/> Fusarium proliferatum isolate XP3S-1ee small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed...	Fusarium prolifer...	881	881	100%	0.0	99.79%	559	ON927093.1
<input type="checkbox"/> Fusarium proliferatum isolate X2P4HFo internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene...	Fusarium prolifer...	881	881	100%	0.0	99.79%	537	ON912068.1
<input type="checkbox"/> Fusarium proliferatum strain QHAM internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and...	Fusarium prolifer...	881	881	100%	0.0	99.79%	524	ON776889.1
<input type="checkbox"/> Fusarium proliferatum isolate C7 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed spacer...	Fusarium prolifer...	881	881	100%	0.0	99.79%	574	ON738484.1
<input type="checkbox"/> Fusarium sp. isolate F1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal tran...	Fusarium sp.	881	881	100%	0.0	99.79%	489	ON678058.1
<input type="checkbox"/> Fusarium proliferatum isolate AVIDPF-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene...	Fusarium prolifer...	881	881	100%	0.0	99.79%	536	ON624343.1
<input checked="" type="checkbox"/> Fusarium fujikuroi isolate KMSB7855 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene an...	Fusarium fujikuroi	881	881	100%	0.0	99.79%	514	ON620342.1
<input type="checkbox"/> Fusarium proliferatum isolate LSZWY4 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence, internal transcribed s...	Fusarium prolifer...	881	881	100%	0.0	99.79%	558	ON614218.1

Lampiran 6 Chromatogram



Lampiran 7 Pohon *Eucalyptus pellita* di KHDTK Parung Panjang, Bogor

