



ISOLASI DAN IDENTIFIKASI CENDAWAN TERBAWA BENIH *Acacia crassicarpa* A. Cunn. Ex Benth**Era Kurniati¹, Delita Zul², Budi Tjahyono³**¹Program Magister Ilmu Pertanian, Pascasarjana Universitas Riau,
Pekanbaru, Riau Indonesia²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau,
Pekanbaru, Riau Indonesia³Fakultas Pertanian Universitas Riau, Pekanbaru, Riau Indonesia
Email:erakurniati06@gmail.com**ABSTRAK**

*Penyakit yang disebabkan oleh cendawan pada benih *Acacia crassicarpa* (Akasia) sangat berpotensi menimbulkan kerusakan pada bibit dan dapat terbawa benih. Bentuk kerusakan karena serangan patogen sangat bervariasi, bergantung pada jenis patogen, benih dan faktor lingkungan. Oleh karena itu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk isolasi dan identifikasi patogen terbawa benih Akasia. Benih yang digunakan sebagai sumber isolat yaitu benih yang disimpan di Dry Cold Storage (DCS) dengan tahun panen benih 2012, 2015 dan 2016. Isolasi cendawan dari benih dilakukan dengan meletakkan benih di atas medium Peptone PCNB Agar (PPA) dan dipurifikasi pada medium Potato Sucrose Agar (PSA). Karakterisasi secara mikroskopik menunjukkan bahwa cendawan yang diisolasi terdiri dari 4 genus, yaitu *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium* dan *Fusarium*. Isolat yang secara mikroskopis termasuk genus *Fusarium* diidentifikasi secara molekuler berdasarkan Internal Transcribed Spacer (ITS). Hasil BLAST menunjukkan bahwa sekuen (ITS) isolat 2012 dan 2016 dengan ukuran 570-580 bp memiliki kemiripan paling dekat dengan cendawan kelompok *Fusarium* sp. Nilai max identity isolat uji sebesar 88,87% (isolat 2012) dan 87,55% (isolat 2016). Hasil uji patogenisitas cendawan *Fusarium* sp. secara *in vitro* menunjukkan bahwa tidak ada gejala nekrosis yang muncul selama pengamatan. Dapat disimpulkan bahwa *Fusarium* yang diisolasi diduga tidak bersifat patogen.*

Kata kunci : benih, cendawan, *Fusarium*, ITS, isolasi *Acacia crassicarpa*

ABSTRACT

Disease caused by fungi on the seeds of *Acacia crassicarpa* (*Acacia*) has the potential to cause damage to the seeds and can be carried by the seeds. The form of damage due to pathogen attack varies, depending on the type of pathogen, seeds and environmental factors. Therefore a study was conducted aimed at isolating and identifying pathogens carried by *Acacia* seeds. Seeds used as sources of isolates are seeds stored in DCS with the 2012, 2015 and 2016 seed harvest years. Isolation of fungi from seeds was done by placing the seeds on PPA agar medium and purifying them on PSA medical. Microscopic characterization showed that the isolated fungi consisted of 4 genera, namely *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium* and *Fusarium*. Isolates microscopically belonging to the genus *Fusarium* were identified molecularly based on Internal Transcribed Spacers (ITS). BLAST results showed that the sequences (ITS) of 2012 and 2016 isolates with a size of 570-580 bp had the closest similarity to the fungus of the *Fusarium* sp. Max identity value of test isolates was 88.87% (2012 isolates) and 87.55% (2016 isolates). The results of the pathogenicity test of *Fusarium* sp. *in vitro* shows that no symptoms of necrosis appear during observation. It can be concluded that the isolated *Fusarium* was not suspected to be pathogenic.

Key words : seeds, fungus, *Fusarium*, ITS, isolation of *Acacia crassicarpa*

1. PENDAHULUAN

Kebutuhan kayu untuk industri kertas dan *pulp* semakin meningkat. Lebih dari 60% atau sekitar 17 miliar kubik kayu ditebang setiap tahun di seluruh dunia yang digunakan untuk kertas dan *pulp* (Lauren, 2014). Akan tetapi peningkatan kebutuhan bahan baku ini tidak diimbangi dengan peningkatan produktivitas tanaman hutan sebagai bahan utamanya. Untuk memenuhi kebutuhan kayu dalam waktu yang tidak lama dan tersedia sepanjang tahun, *Acacia crassicarpa* (*Akasia*) merupakan jenis tanaman yang prospektif untuk dikembangkan di hutan tanaman industri. Salah satu kunci keberhasilan membangun hutan tanaman adalah

penggunaan benih sehat dan mempunyai daya simpan yang lama. Benih dikatakan sehat jika benih tersebut bebas dari patogen, baik itu bakteri, cendawan, virus maupun nematoda.

Budidaya tanaman Akasia sering mengalami serangan patogen, baik ditanam maupun diperbanyak secara kultur jaringan, yang merupakan perbanyakan secara *in-vitro* (Heriansyah, 2019) terutama dari kelompok cendawan. Penyakit yang disebabkan oleh cendawan, antara lain: penyakit rebah kecambah (*damping-off*) yang disebabkan oleh *Fusarium* sp., *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., penyakit layu *Fusarium* disebabkan oleh *Fusarium* sp., penyakit keriting daun (*leaf curl*

disease) disebabkan oleh *Passalora perflexa*, penyakit cacar daun disebabkan oleh *Atelocauda digitata*, dan penyakit bercak daun disebabkan oleh *Cylindrocladium* sp. (Mardai dan Indrayadi, 2007). Penyakit layu pada tanaman *Acacia nilotica* disebabkan oleh *F. oxysporum* (Kapoor *et al.*, 2004)

Berdasarkan hasil penelitian Darma dan Sumrahadi (2001) melaporkan bahwa fungi yang berasosiasi dengan benih Akasia sesaat setelah panen yaitu: *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., dan *Rhizopus* sp.

Semua patogen tersebut dapat terbawa oleh benih. Penyakit terbawa oleh benih (*seed borne disease*) adalah penyakit yang disebabkan oleh patogen yang terbawa di permukaan, di dalam atau bersama benih. Embaby dan Abdel-Galil (2006) menyatakan bahwa inokulasi patogen *Aspergillus flavus* dan *F. oxysporum* pada benih *legum* dan *cowpea* dapat menurunkan perkecambahannya pada kisaran 43,2% - 62,2%.

Penyakit yang disebabkan oleh cendawan pada bibit Akasia sangat berpotensi menimbulkan masalah serius dan dapat menimbulkan kerusakan pada berbagai tingkatan umur bibit. Belum diketahui secara pasti apakah cendawan dapat bertahan hidup pada benih Akasia yang disimpan pada jangka waktu tertentu. Untuk itu perlu dilakukan studi lebih lanjut untuk isolasi dan identifikasi cendawan terbawa benih Akasia

baik secara mikroskopik maupun molekuler.

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu metode enzimatik untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu dengan cara *in vitro*. Salah satu kelebihan dari metode PCR yaitu reaksi ini dapat dilakukan dengan menggunakan komponen dalam jumlah sedikit (Yuwono, 2006). Tidak hanya dimanfaatkan untuk identifikasi penyakit, PCR juga dimanfaatkan untuk identifikasi varietas yang tahan terhadap lingkungan tertentu misalnya kekeringan (Oktavianti *et al.*, 2019)

2. METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium *Plant Protection* PT Arara Abadi dari Bulan Desember 2016 sampai Juni 2017.

Isolasi dan Identifikasi Cendawan.

Cendawan diisolasi dari benih Akasia nomor *seed lot* AC12260AA6 tahun 2012, AC15016AA5 tahun 2015, AC16130AA6 tahun 2016 yang disimpan di *Dry Cold Storage* (DCS). Benih diambil secara acak sebanyak 15 gram untuk masing-masing tahun penyimpanan. Benih diletakkan di atas medium agar *Peptone PCNB Agar* (PPA) dan diinkubasi pada suhu ruang hingga cendawan tumbuh. Cendawan yang tumbuh dipurifikasi di medium *Potato Sucrosa Agar* (PSA).

Kultur murni cendawan selanjutnya diidentifikasi secara mikroskopik (Fadhilah, 2007) dan

secara molekuler menggunakan primer universal yaitu ITS 1 F- CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A-, dan ITS 4 R- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC. DNA isolat yang akan diidentifikasi secara molekuler diekstraksi dan dipurifikasi menggunakan Presto™ Mini gDNA Yeast Kit. PCR dilakukan menggunakan mesin *Applied Biosystems Thermal Cycler Version 2.09* dengan tahapan (Joko *et al.*, 2011) dengan sedikit modifikasi: denaturasi 1 dengan suhu tinggi 94°C, selama 5 menit. Denaturasi 2 pada suhu 94°C selama 1 menit. Tahap *annealing* membutuhkan suhu 55°C selama 1 menit. Tahap elongasi (polimerisasi) membutuhkan suhu 72 °C selama 7 menit. Ketiga tahap tersebut terjadi sebanyak 24 siklus. Produk amplifikasi PCR dianalisis berdasarkan hasil visualisasi pita DNA yang didapat dari proses elektroforesis.

Uji Patogenisitas.

Uji patogenisitas dilakukan untuk mengetahui apakah cendawan yang teridentifikasi termasuk kelompok patogen atau non patogen. Daun Akasia yang berumur 75 hari dicuci dengan air mengalir lalu digunting segi empat. Selanjutnya daun disterilisasi dengan cara direndam dalam larutan clorox 10% selama 30 menit, kemudian dicelup selama 5 detik dalam alkohol 10% dan dibilas dengan akuades steril.

Sampel daun diletakkan di dalam cawan petri yang berisi medium PSA padat sebanyak 1 potong per cawan. Sampel daun diinkubasi selama 3 hari untuk

memastikan daun dan media yang digunakan benar-benar steril. Sampel daun ditusuk dengan jarum steril sebanyak 3 tusukan per daun, kemudian koloni yang diduga *Fusarium* ditempelkan pada bagian tusukan yang telah dibuat sebelumnya. Selanjutnya potongan daun diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari dan diamati (Khaterine *et al.*, 2015).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi Cendawan Terbawa Benih Akasia secara Mikroskopik

Cendawan yang berhasil diidentifikasi dari benih Akasia terdiri dari 4 genus yaitu *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*, dan *Fusarium* (Tabel 1). Cendawan yang berhasil diisolasi disajikan pada Gambar 1 dan 2.

Menurut Watanabe (2002), *Aspergillus* sp. mempunyai ciri morfologi berupa konidiofornya hialin, simpel atau tidak bercabang, terkadang berinding tebal. Cendawan *Rhizopus* sp. mempunyai ciri morfologi berupa sporangiofornya tegak, tunggal atau bercabang, berwarna kekuning-kuningan atau coklat gelap, mempunyai rizoid yang terhubung dengan sporangiofor, dan juga mengandung spora. Sporanya berbentuk bulat, berwarna coklat tua sampai hitam, berduri, bentuknya menjadi *sub globose* setelah matang, dan mempunyai kolumella yang berwarna coklat.

Hasil penelitian Fadhilah (2007) menunjukkan bahwa jumlah koloni fungi yang berasosiasi dengan benih Mahoni

setelah disimpan (276 koloni) lebih banyak daripada sewaktu masih di pohon (130 koloni). Fungi yang teridentifikasi pada benih yang masih di pohon yaitu *Cladosporium* sp. (persen infeksi=PI 11,75%), *Botryodiplodia theobromae* (PI 14,25%) dan *Aspergillus* sp. (PI 6,50%) dengan total persen infeksi sebesar 32,50%. Sedangkan pada benih setelah di simpan yaitu *Cladosporium* sp. (PI 14,50%), *B. Theobromae* (PI 11,75%), *Aspergillus* sp. (PI 26,25%) dan *Rhizopus* sp. (PI 4,50%) dengan total persen infeksi sebesar 69,00%.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian Putri *et al.*, (2010) bahwa cendawan yang dominan menginfeksi benih Mahoni pada kondisi simpan 12 bulan adalah *Aspergillus* sp. dengan kisaran intensitas

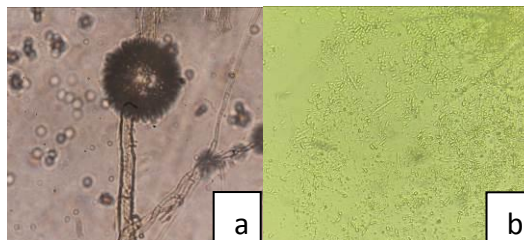
serangan 24-97% dan *Fusarium* sp dengan persen infeksi (PI) 1-33,5%. Tingkat infeksi patogen dipengaruhi oleh faktor internal seperti jumlah mikotoksin, tingkat toksisitas, sifat fisiologis.

Efek toksisitas dari setiap cendawan patogen dapat mempengaruhi mutu fisik dan fisiologis benih. Mutu fisik benih menjadi tidak normal dan mutu fisiologis dapat menurunkan viabilitas dan vigor benih maupun bibit kakao (Baharudin *et al.*, 2013). *A. flavus* dan *A. niger* bersifat toksik dan cepat merusak benih, serta mampu menyebabkan busuk benih *Brassicaceae* (Khan *et al.*, 2006). Infeksi *Fusarium* pada benih dapat menurunkan viabilitas benih. Toksin yang dihasilkan yaitu asam fusarik (Mukarlina, 2010)

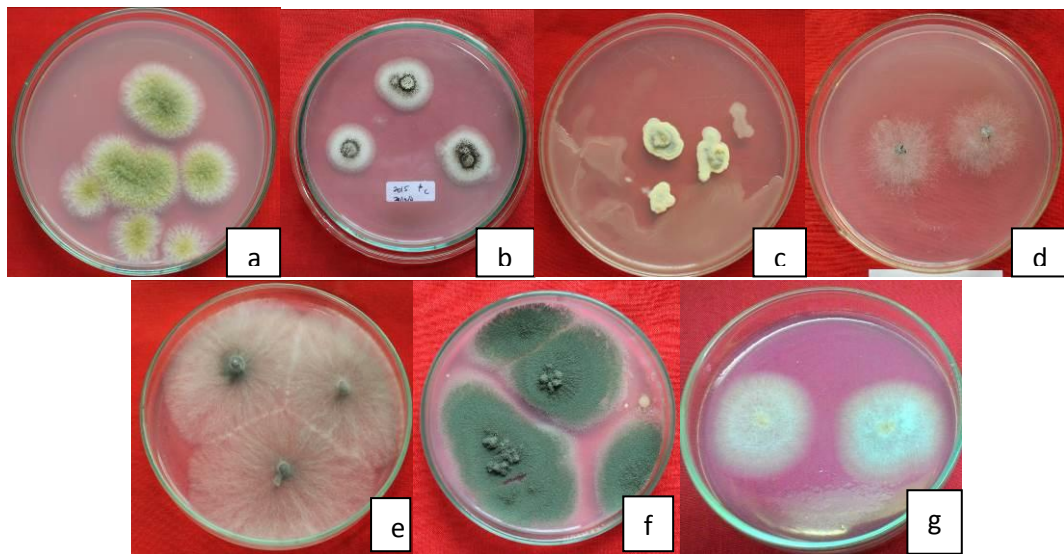
Tabel 1. Jenis cendawan yang berasosiasi dengan benih Akasia setelah penyimpanan di ruang simpan DCS

No	Jenis Cendawan	Tahun Panen Benih		
		2012	2015	2016
1	<i>Aspergillus fumigatus</i>	+	+	+
2	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+
3	<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+
4	<i>Aspergillus clavatus</i>	+	+	+
5	<i>Rhizopus</i> sp.	+	+	+
6	<i>Penicillium</i> sp.	+	+	+
7	<i>Fusarium</i> sp.	+	-	+

Keterangan : (+) = Teridentifikasi, (-) = Tidak Teridentifikasi



Gambar 1. Gambar mikroskopik *Aspergillus* sp. (a) dan *Fusarium* sp.(b)



Gambar 2. a: *Aspergillus flavus*, b: *Aspergillus niger*, c: *Penicillium*, d: *Rhizopus*, e: *Aspergillus clavatus*, f: *Aspergillus fumigatus*, g: *Fusarium* sp

Identifikasi cendawan secara Molekuler

Identifikasi secara molekuler dilakukan untuk cendawan yang secara mikroskopis diketahui adalah *Fusarium*. Marka molekuler yang dapat digunakan untuk studi taksonomi dan filogenetik pada tingkat spesies salah satunya adalah marka molekul ITS (Kress *et al.*, 2005). Sekuen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) merupakan sekuen DNA yang digunakan untuk mengidentifikasi isolat cendawan berdasarkan tingkat homologi sekuen DNA karena bersifat spesifik pada organisme eukariot.

Informasi urutan basa yang diperoleh dari sekuensing kemudian diperbaiki dengan menggunakan program *Bioedit*. Koreksi ini dilakukan untuk menghilangkan urutan basa yang tidak diperlukan dan memperbaiki urutan basa sehingga dapat

dianalisis menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST> untuk dibandingkan dengan database yang ada.

Hasil BLAST menunjukkan bahwa sekuen (ITS) isolat 2012 dan 2016 dengan ukuran 570-580 bp memiliki kemiripan paling dekat dengan cendawan *Fusarium fujikuroi* strain CBS 221.76 (Tabel 2). Nilai *E-value* isolat uji bernilai $1e-176$ (2012) dan $4e-170$ (2016) yang artinya tingkat homologi antar urutan rendah. Nilai *max identity* isolat uji sebesar 88,87% (2012) dan 87,55% (2016). Nilai antara 89-93% menunjukkan famili yang berbeda menurut Drancourt (2000), Kwasna (2008). Menurut Janda dan Abbott (2007) jika homologi mempunyai persentase mendekati 100% atau diatas 97% dapat dikonfirmasi sebagai suatu spesies tetapi sebaliknya jika

homologinya lebih kecil dari 97% kemungkinan isolat tersebut adalah novel spesies atau spesies belum dapat dikonfirmasi (Tabel 2).

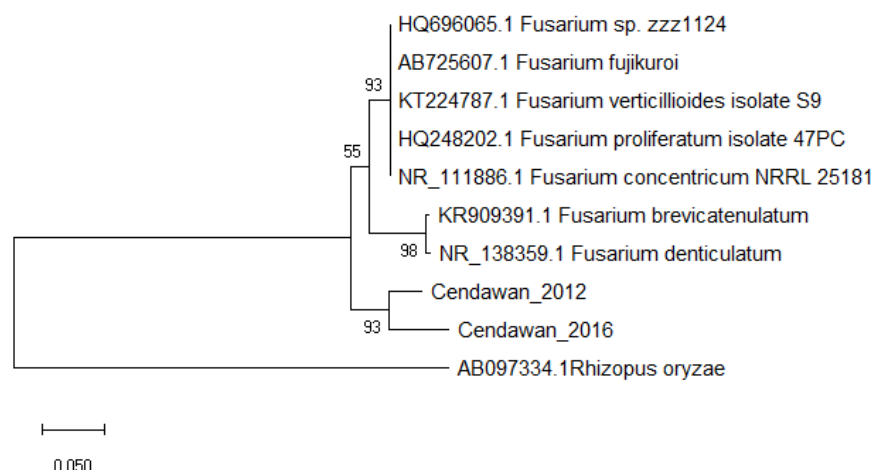
Analisis filogenetik menunjukkan bahwa Isolat 2012 dan 2016 memiliki kekerabatan yang dekat dengan nilai *bootstrap* 93 (Gambar 3). Nilai tersebut memperlihatkan cukup tingginya tingkat kepercayaan terhadap cabang yang terbentuk. Berdasarkan analisis filogenetik (Gambar 3) menunjukkan bahwa isolat uji (2012 dan 2016) memiliki kedekatan dengan genus *Fusarium* sp. dengan nilai *bootstrap* 55. Menurut Gegory (2008) jika nilai *bootstrap* dari masing-masing topologi menunjukkan hasil lebih dari 50 maka dapat dinyatakan bahwa hasil topologi tersebut benar.

Semakin besar nilai *bootstrap*, maka semakin tinggi pula tingkat kepercayaan topologi pohon hasil rekonstruksi tersebut (Nei dan Kumar, 2000) Nilai *bootstrap* kurang dari 70 maka peluang terjadinya susunan percabangan sangat tinggi, sehingga ketika dilakukan analisis pohon filogenetik yang berbentuk masih dapat berubah-ubah (Simpson, 2006). Skala 0,05 menunjukkan jarak evolusi pada panjang cabang.

Analisis berdasarkan jarak genetik menunjukkan bahwa cendawan isolat 2012 dan 2016 merupakan spesies yang belum dapat dikonfirmasi sama dengan *Fusarium fujikuroi* yang ada pada *database* (Tabel 3).

Tabel 2. Hasil pensejajaran berganda BLAST (NCBI) isolat uji cendawan

Isolat	Cendawan	No Akses	Score	Query Cover	E-value	Max Identity
2012	<i>F. fujikuroi</i>	AB725607	627	86%	1e-176	88,87%
2016			604	88%	4e-170	87,55%



Gambar 3. Pohon filogenik isolat 2012 dan 2016

Hal ini ditunjukkan dengan jarak genetik isolat uji sebesar

0,086 (2012) dan 0,107 (2016) yang artinya sekuen gen dari

cendawan isolat 2012 dan 2016 mengalami mutasi. Nilai ini menunjukkan bahwa dari 1000 pasang basa, terdapat 86 pasang basa yang berbeda atau memiliki sekitar 8,6% sekuen divergen

(2012). Nilai 0,107 menunjukkan bahwa dari 1000 pasang basa terdapat 107 pasang basa yang berbeda atau memiliki 10,7% sekuen divergen untuk isolat 2016.

Tabel 3. Estimasi jarak genetik yang menunjukkan jarak genetik antara isolat 2012 dan 2016 dengan kerabat terdekat dan kelompok pembanding.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
2	0,075									
3	0,086	0,107								
4	0,086	0,107	0,000							
5	0,086	0,107	0,000	0,000						
6	0,086	0,107	0,000	0,000	0,000					
7	0,086	0,107	0,000	0,000	0,000	0,000				
8	0,141	0,153	0,064	0,064	0,064	0,064	0,064			
9	0,144	0,156	0,067	0,067	0,067	0,067	0,067	0,007		
10	0,670	0,701	0,652	0,652	0,652	0,652	0,652	0,669	0,660	

Keterangan:

1:2012

2:2016

3:HQ248202.1 *F. proliferatum*

4: KT224787.1 *F. verticillioides*

5: HQ696065.1 *F. sp. zzz1124*

6: AB725607.1 *F. fujikuroi*

7: NR111886.1 *F. NRRL 25181*

8:KR909391.1 *F.brevicatenulatum*

9: NR138359.1 *F. denticulatum*

10: *Rhizopus oryzae*

Patogenisitas *Fusarium* sp. secara *in vitro*.

Metode uji petogenisitas dilakukan secara *in vitro* dengan tujuan untuk mendapatkan informasi yang lebih cepat. Metode ini mengadopsi metode Khaterine *et al.*, (2015). Metode ini belum pernah dilakukan pada tanaman Akasia. Hasil uji patogenisitas *Fusarium* secara *in vitro* diperoleh bahwa tidak ada gejala nekrosis yang muncul pada daun Akasia baik dari koloni yang diduga *Fusarium* tahun 2012 maupun tahun 2016. Hasil pengujian patogenisitas disajikan pada Gambar 4.

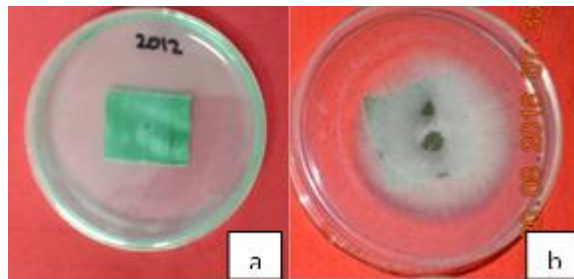
Berdasarkan hasil pengamatan hingga hari ke-7 setelah inokulasi diperoleh bahwa

daun Akasia tidak menunjukkan gejala nekrosis atau kerusakan pada daun. Dua hal yang dapat disimpulkan dari hasil pengujian ini, yaitu 1) diduga *Fusarium* hasil isolasi benih Tahun 2012 dan 2016 bukan merupakan cendawan patogen (non-patogen), 2) metode *in vitro* yang diterapkan pada pengujian patogenisitas *Fusarium* belum tepat digunakan untuk tanaman Akasia.

Cendawan *Fusarium* tidak semuanya bersifat patogen namun ada juga yang bersifat non-patogen. Sejalan dengan hasil penelitian Widodo *et al.*, (2008) yang menemukan 173 isolat *Fusarium* non-patogen dari tanah dan umbi bawang bombay

yang terserang penyakit di Hokaido, Jepang. Bao *et al.*, (2002) juga menemukan 21 strain *Fusarium* bersifat non-patogen yang diisolasi dari akar tanaman tomat. Penelitian ini juga mendukung hasil penelitian Sari (2018) uji penapisan dari 17 isolat *Fusarium* didapat 8 isolat *Fusarium* non-patogen yaitu 0123C, 0124C, 0125C, 0129C, 0132C, 0136C, 0137C dan 0141C, serta didapat isolat *Fusarium* patogen yaitu 0148C. Hasil uji keefektifan pengendalian penyakit didapat 2 isolat *Fusarium* non-patogen terbaik yang secara efektif mengendalikan penyakit layu *Fusarium* yaitu isolat 0124C dan 0141C pada semua parameter (Sari, 2018).

Mekanisme cendawan *Fusarium* menyerang tanaman yaitu spora yang berada di tanah terinfeksi akan masuk melalui lentisel akar, kemudian berkembang dengan cepat dan berkecambah menghasilkan miselium. Miselium kemudian akan melakukan penetrasi ke dalam pembuluh xilem melewati noktah lalu menghasilkan mikrokonidium. Spora yang terbentuk akan terbawa ke atas oleh aliran zat cair di dalam jaringan pembuluh xilem dan terhenti pada dinding sel jaringan pembuluh xilem. Spora tersebut akan berkecambah dan membentuk miselium sehingga menghambat aliran zat cair (Semangun, 2000).



Gambar 4. Hasil uji patogenisitas *Fusarium* isolasi benih Tahun 2012, a) pengamatan hari ke-2 setelah inokulasi, b) pengamatan hari ke-5 setelah inokulasi

SIMPULAN

Tujuh isolat cendawan berhasil diisolasi dari benih Akasia. Secara morfologi diidentifikasi sebagai *Aspergillus flavus*, *Apergillus niger*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus fumigatus*, dan *Fusarium* sp. *Fusarium* hasil isolasi bersifat non patogen, karena secara *in vitro* menunjukkan tidak ada gejala nekrosis yang muncul setelah inokulasi pada tanaman Akasia. Identifikasi dengan PCR menunjukkan bahwa cendawan hasil isolasi dari benih Akasia tahun 2012 dan 2016 memiliki kedekatan dengan kelompok *Fusarium* sp. dengan tingkat homologi data di *genbank* 88,87% (2012) dan 87,55% (2016).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Laboratorium *Plant Protection Departmen* dan staff PT Arara Abadi yang telah menyediakan tempat penelitian dan sudah banyak membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- Baharudin, A. Purwantara, S. Ilyas dan M.R. Suhartanto. 2013. Patogenisitas Beberapa Isolat Cendawan Terbawa Benih Kakao Hibrida. *Jurnal Littri* 19(1). Hal 1-7.
- Bao JR, Deborah RF, Nichole RO, George L, Peter VB. 2002. Genetic Analysis of Pathogenic and Non-Pathogenic *Fusarium oxysporum* from Tomato Plants. *Canadian Journal of Botanical* 80:271-9.
- Darma, I G. K. T dan Sumrahadi, A . 2001. Fungi yang Berasosiasi dengan Benih *Acacia crassicarpa* Sesaat Setelah Panen dan Setelah Penyimpanan. *Jurnal Manajemen Hutan Tropika* Vol. VII No. 2 : 1-6
- Drancourt M., Bollet C., Carlouz A., Martelin R, Gayral JP., and Raoult D. 2000. 16S-Ribosomal DNA Sequence Analysis of a Large Collection of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. p. 3623-3630
- Embaby, E.M. and M.M Abdel – Galil. 2006. Seed Borne Fungi And Mycotoxins Associated with Some Legume Seeds in Egypt. *Journal of Applied Sciences Research*. 2(11):1064-1071
- Fadhilah, D. 2007. Identifikasi Fungi yang Berasosiasi dengan Benih Mahoni (*Swietenia macrophylla* King) Sewaktu masih Di Pohon dan Setelah Di Simpan. [Skripsi]. IPB. Bogor.
- Gegory, T. R. 2008. Understanding Evolutionary Trees. *Evo Edu Outreach* (1): 121–137.
- Heriansyah, P. (2019). Multiplikasi Embrio Somatis Tanaman Anggrek (*Dendrobium* Sp) Dengan Pemberian Kinetin

- Dan Sukrosa Secara In-Vitro. *Jurnal Ilmiah Pertanian*, 15(2), 67–78. doi:10.31849/jip.v15i2.1974
- Janda, M.J., and Abbot, S.L. 2007. 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Piftalls. *Journal clinic Microbiol.* 45 (9): 2761-2764.
- Joko, T. Nanda, K. dan Sedyo, H. 2011. Optimasi Metode PCR untuk Deteksi *Pectobacterium carotovorum*, Penyebab Penyakit Busuk Lunak Anggrek. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* Vol. 17 No. 2:54-59.
- Kwasna H, Bateman GL, Ward E, 2008. Determining Species Diversity of Microfungal Communities in Forest Tree Roots by Pure-Culture Isolation and DNA Sequencing. *Applied Soil Ecology* 40:44-56
- Kapoor, S. Harsh, N. S.K. and Sharma, S. K. 2004. A New Wilt Disease of *Acacia nilotica* Caused by *Fusarium oxysporum*. *Journal of Tropical Forest Science.* 16 (4): 453-462.
- Katherine dan Rina S. K. 2015. Identifikasi dan Uji Patogenesisitas *Fusarium* spp. Penyebab Penyakit Busuk Pucuk pada Anggrek Bulan (*Phalaenopsis* sp). Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi 2015. Malang.
- Khan T, Mustafa G, Zaher-ud-Din. 2006. In-vitro Chemical Control of *Aspergillus flavus* Causing Seed Rot of Crops of Family *Brassicaceae* [abstract]. *Pak J Sci Ind Res.* 49(6):431–433.
- Kress WJ, Liu AZ, Newman M, Li Qj. 2005. The Molecular Phylogeny of *Alpinia* (Zingiberaceae): A complex and polyphyletic genus of gingers. *American Journal of Botany* 92: 167-178.
- Lauren. 2014. Facts about paper: The Impact of Consumption. US. Tersedia pada <http://www.thepaperlessproject.com/facts-about-paper-the-impact-of-consumption/>. Diakses 8 Maret 2017.
- Mardai dan Indrayadi, H. 2007. Pedoman Pengenalan Pengendalian Hama Penyakit *Acacia* dan *Eucalyptus* di Nursery. Divisi Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Perawang.
- Mukarlina, Siti Khotimah dan Reny Rianti., 2010. Uji Antagonis *Trichoderma harzianum* Terhadap *Fusarium* spp. Penyebab Penyakit Layu Pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum*) Secara In Vitro. Skripsi. Universitas Tanjung pura.
- Nei, M and S. Kumar. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, Inc., Oxford: xiv.

- Oktavianti, R. Maizar. Rosmaina. 2019. Aplikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Menggunakan Primer Spesifik untuk Mendeteksi Cabai yang Toleran terhadap Kekeringan. *Jurnal Agronomi Tanaman Tropika*. Vol. 1 No. 2. 49-66
<https://doi.org/10.36378/juatika.v1i2.176>
- Putri, K.P. Yulianti, B. dan Tati S. 2010. Tingkat Serangan Cendawan terhadap Benih Mahoni (*Swietenia macrophylla* King) pada Berbagai Kondisi dan Waktu Simpan. *Jurnal Tekno Hutan Tanaman*. Vol 4 (1): 1-6
- Sari, F W. 2018. Pengendalian Penyakit Layu Fusarium pada *Acacia carssicarpa* A. Cunn. Ex Benth. Menggunakan Jamur *Fusarium* Non Patogen. Skripsi. Universitas Riau. Riau.
- Semangun, Haryono. 2000. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gadjah Mada University. Yogyakarta
- Simpson, M.G. 2006. Plant Systematics. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Watanabe T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. Ed ke-2 . Florida (US) :CRC Press LLC.
- Widodo, Kondo N, Kobayashi K, Ogoshi A. 2008. Vegetative Compatibility Groups Within *Fusarium oxysporum* f.sp. cepae in Hokaido-Japan. *Microbiology Indonesia* 2(1):39