# IDENTIFIKASI PENYEBAB PENYAKIT LAPUK AKAR DAN PANGKAL BATANG PADA TANAMAN TEBU Saccarhum officinarum L. DI PT. GUNUNG MADU PLANTATIONS

(Skripsi)

Oleh

Adi Damar Sasongko 1814191019



FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS LAMPUNG BANDAR LAMPUNG 2022

#### **ABSTRAK**

# IDENTIFIKASI PENYEBAB PENYAKIT LAPUK AKAR DAN PANGKAL BATANG PADA TANAMAN TEBU Saccarhum officinarum L. DI PT. GUNUNG MADU PLANTATIONS

#### Oleh

#### Adi Damar Sasongko

Penyakit lapuk akar dan pangkal batang (LAPB) merupakan penyakit yang cukup potensial menurunkan produksi tebu. Penyakit LAPB dapat menurunkan bobot batang, menurunkan rendemen, menyebabkan tanaman keprasan (*ratoon cane*) gagal tumbuh, dan mematikan tanaman. Di Taiwan dan Lampung penyakit LAPB disebabkan oleh jamur Xylaria cf. warburgii. Di Amerika Serikat, Puerto Rico, dan Sumatera Selatan penyakit LAPB disebabkan oleh jamur Xylaria arbuscula. Identifikasi penyebab penyakit penting dilakukan demi mendapatkan informasi mengenai penyebab penyakit. Tujuan penelitian adalah mengetahui identitas penyebab penyakit lapuk akar dan pangkal batang pada tanaman tebu di PT. Gunung Madu Plantations. Penelitian dilaksanakan dari Februari-Agustus 2022 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan PT. Gunung Madu Plantations, Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Hasil identifikasi morfologi dan molekuler menunjukkan bahwa identitas penyebab penyakit lapuk akar dan pangkal batang pada tanaman tebu di PT. Gunung Madu Plantations diduga spesies baru yang juga dapat menyebabkan penyakit lapuk akar dan pangkal batang tebu.

Kata Kunci: Morfologi, Molekuler, ITS, Taksonomi Xylaria sp.

# IDENTIFIKASI PENYEBAB PENYAKIT LAPUK AKAR DAN PANGKAL BATANG PADA TANAMAN TEBU Saccarhum officinarum L. DI PT. GUNUNG MADU PLANTATIONS

#### Oleh

# Adi Damar Sasongko

# Skripsi

# Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar SARJANA PERTANIAN

pada

Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung



FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS LAMPUNG BANDAR LAMPUNG 2022 Judul Skripsi

: IDENTIFIKASI PENYEBAB PENYAKIT LAPUK AKAR DAN PANGKAL BATANG PADA TANAMAN

TEBU SACCARHUM OFFICINARUM L. DI

PT. GUNUNG MADU PLANTATIONS

Nama Mahasiswa

: Adi Damar Sasongko

Nomor Pokok Mahasiswa : 1814191019

Jurusan

: Proteksi Tanaman

**Fakultas** 

: Pertanian

MENYETUJUI 1. Komisi Pembimbing

Dr. Tri Maryono/S. P., M. NIP. 198002082005011002

Ir. Solikhin, M. P. NIP. 196209071989031002

2. Ketua Jurusan Proteksi Tanaman

Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P. NIP. 198108152008122001

# **MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

Ketua

: Dr. Tri Maryono, S. P., M. Si.

S. P., WI. SI.

Sekretaris

: Ir. Solikhin, M. P.

Penguji

Bukan Pembimbing

: Prof. Dr. Ir. Cipta Ginting, M. Sc. ........

Dekan Fakultas Pertanian

Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP 1961 10201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 11 Agustus 2022

#### **SURAT PERNYATAAN**

Saya yang bertandatangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "IDENTIFIKASI PENYEBAB PENYAKIT LAPUK AKAR DAN PANGKAL BATANG PADA TANAMAN TEBU Saccarhum officinarum L. DI PT. GUNUNG MADU PLANTATIONS" merupakan hasil karya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 7 September 2022

Penulis

TEMPEL/ 8AJX992604363

> Adi Damar Sasongko NPM. 1814191019

#### **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Pacitan pada tanggal 24 Januari 2000. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Suparwo dan Ibu Jumiatin. Penulis telah menyelesaikan pendidikan di Taman Kanak-kanak (TK) di TK Kartika tahun 2006, Sekolah Dasar (SD) di SDN 1 Binakarya Utama tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPN 1 Putra Rumbia 2015, Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 2 Metro tahun 2018, dan pada tahun yang sama penulis diterima sebagai mahasiswa di Universitas Lampung dengan Program studi Proteksi Tanaman melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Restu Baru, Kecamatan Rumbia, Kabupaten Lampung Tengah pada periode I tahun 2021 dan Praktik Umum (PU) di PT Perkebunan Nusantara VII (PTPN 7) Unit Rejosari-Pematang Kiwah, di Natar pada tahun 2021. Selama menempuh pendidikan, penulis pernah menjadi Tutor Forum Ilmiah Mahasiswa (FILMA) dan asisten dosen mata kuliah Dasar-dasar Perlindungan Tanaman. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam kegiatan Himpunan Mahasiswa Proteksi Tanaman (HIMAPROTEKTA) sebagai anggota bidang pengembangan minat dan bakat tahun 2019/2020 dan Ketua bidang organisasi dan diklat anggota tahun 2021/2022. Selain itu penulis pun aktif dalam kegiatan Lembaga Studi Mahasiswa Pertanian (LS-MATA) sebagai anggota bidang penelitian dan pengembangan pertanian tahun 2019/2020 dan anggota bidang kewirausahaan 2021/2022.

#### **PERSEMBAHAN**

Puji syukur atas kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Identifikasi Penyebab Penyakit Lapuk Akar dan Pangkal Batang pada Tanaman Tebu Saccarhum Officinarum L. di PT. Gunung Madu Plantations".

Dengan penuh rasa syukur karya ini ku persembahkan sebagai ungkapan terima kasihku untuk:

- 1. Untuk kedua orang tua yang saya cintai dan sayangi yaitu Bapak Suparwo dan Ibu Jumiatin, yang senantiasa memberikan dukungan, kasih sayang, doa, dan motivasi tidak terhingga untuk penulis hingga dapat menyelesaikan pendidikan. Terimakasih karena telah menjadi tujuan akhir dari segala perjalanan.
- 2. Untuk kedua adikku Bayu Dwi Sasongko dan Asih Tri Astuti, yang senantiasa memberikan warna dihari-hariku dengan banyaknya emosi, semangat, dan dukungan yang diberikan setiap hari. Terimakasih telah menjadi penghibur bagi penulis.
- Teman-teman seperjuangan Proteksi Tanaman 2018, adik-adik angkatan 2019, 2020, 2021, dan 2022, serta Almamaterku tercinta Universitas Lampung tempat penulis menempuh studi.

#### **SANWACANA**

Puji syukur atas kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Identifikasi Penyebab Penyakit Lapuk Akar dan Pangkal Batang pada Tanaman Tebu Saccarhum Officinarum L. di PT. Gunung Madu Plantations". Adapun tujuan penulisan skripsi ini yaitu sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Pertanian di Universitas Lampung. Penulisan ini tidak terlepas dari bantuan semua pihak yang membimbing dan mendoakan. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu baik dalam pelaksanaan penelitian maupun dalam penulisan skripsi, khususnya kepada:

- Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- 2. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku Ketua Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- 3. Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si., selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, arahan, serta masukan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
- 4. Ir. Solikhin, M.P., selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, masukan serta saran selama penulis menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.
- 5. Prof. Dr. Ir. Cipta Ginting, M.Sc., selaku dosen pembahas yang telah memberikan ilmu, motivasi, semangat, nasihat, masukan, dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
- 6. Ir. Muhammad Nurdin, M.Si., selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing, memberikan motivasi, saran serta masukan kepada penulis selama perkuliahan.

- 7. PT. Gunung Madu Plantations yang telah memberikan objek dan fasilitas selama penulis menyelesaikan penelitian serta skripsi.
- 8. Kedua orang tua, Bapak Suparwo dan Ibu Jumiatin yang telah memberikan kasih sayang, dukungan secara moril maupun materiil, semangat, dan perhatian sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan dan menyelesaikan skripsi dengan baik.
- 9. Adik-adikku, Bayu Dwi Sasongko dan Asih Tri Astuti yang telah memberikan semangat dan menjadikan hari-hari penuh warna.
- 10. Kekasih, Anju Khairunnisa yang telah memberikan dukungan dan motivasi selama penulis menyelesaikan skripsi.
- 11. Rekan seperjuangan, Ari, Reja, Dani, Hendi, Santi, Alfira, Kamila, Riska, Aulia, Yara, Rohmi, Aini, Latifah, Kadek, Wayan, Malini, Ria M, Ike, Elsa, Dwi, dan Rosa yang telah setia menemani, memberikan dukungan dan motivasi selama penulis menyelesaikan skripsi.
- 12. Rekan-rekan Laboratorium Biotek, Mba Tari (Biya), Mba Yeyen (Momi), Bang Nando, Rahmi, Cindi, Lorina, Anggi, Umar, Mba Putu, Mba Safira, serta seluruh anggota laboratorium biotek atas bantuan dan kebersamaan selama penulis menyelesaikan penelitian serta skripsi.
- 13. Keluarga besar Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan PT. Gunung Madu Plantations, Pak Heru, Bu Wanti, Pak Wandi, Mba Sayu, Mas Iwan, Mas Ilyas, Om Firman, Pak Toni, Mas, Silvani dan semua pegawai yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, atas bimbingan, bantuan dan kebersamaan selama penulis menyelesaikan penelitian serta skripsi.
- 14. Teman-teman seperjuangan Proteksi Tanaman 2018 atas kerjasama, persahabatan, dan perjuangan bersama sejak awal perkuliahan.
- 15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu namanya, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.

Bandar Lampung, 7 September 2022

Adi Damar Sasongko NPM. 1814191019

# **DAFTAR ISI**

D	AFTAR GAMBAR	Halaman xiii
	PENDAHULUAN	
1.		
	1.1 Latar Belakang	
	1.2 Tujuan Penelitian	
	1.3 Kerangka Pemikiran	
	1.4 Hipotesis	
II	. TINJAUAN PUSTAKA	5
	2.1 Tebu (Saccharum officinarum L.)	5
	2.2 Penyakit Lapuk Akar dan Pangkal Batang (LAPB)	6
	2.3 Identifikasi Jamur	8
II	I.BAHAN DAN METODE	10
	3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
	3.2 Alat dan Bahan	10
	3.3 Pelaksanaan Penelitian	11
	3.3.1 Pengambilan Sampel Stroma Aseksual dan Seksual	11
	3.3.2 Perlakuan Sampel Tanaman Bergejala LAPB dan Stroma	. 11
	3.3.3 Pembuatan Media Potato Sucrose Agar (PSA)	. 11
	3.3.4 Pembuatan Media Oat Meal Agar (OA)	12
	3.3.5 Isolasi Jamur <i>Xylaria</i> sp	12
	3.3.6 Identifikasi Morfologi	12
	3.3.7 Identifikasi Molekuler	13
IV	/.HASIL DAN PEMBAHASAN	16
	4.1 Hasil	16
	4.1.1 Pengambilan Sampel Stroma Aseksual dan Seksual	16
	4.1.2 Identifikasi Morfologi	16
	4.1.3 Identifikasi Molekuler	
	4.2 Pembahasan	26

V. SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	

# DAFTAR GAMBAR

	ambar Stroma aseksual yang ditemukan di PT. GMP	<b>Halaman</b> 17
2.	Konidia stroma aseksual secara mikroskopis perbesaran (10 x 40)	. 18
3.	Stroma seksual yang ditemukan di PT. GMP	. 19
4.	<ul><li>Xylaria sp. dari tanaman tebu (a) Perithecia, (b) Askus,</li><li>(c) Ring Askus, dan (d) Askospora stroma seksual kelompok A</li></ul>	. 20
5.	Xylaria sp. dari tanaman tebu (a) Perithecia, (b) Askus, (c) Ring Askus, dan (d) Askospora stroma seksual kelompok B	. 21
6.	Xylaria sp. dari tanaman tebu (a) Perithecia, (b) Askus, (c) Ring Askus, dan (d) Askospora stroma seksual kelompok C	. 22
7.	Xylaria sp. dari tanaman tebu (a) Perithecia, (b) Askus, (c) Ring Askus, dan (d) Askospora stroma seksual kelompok D	. 23
8.	Koloni jamur <i>Xylaria</i> hasil isolasi dari stroma seksual	. 24
9.	Pohon filogenik hasil analisis sekuen primer ITS isolat KA, KB, KC, dan KD menggunakan metode <i>Neighbor Joining</i>	. 25

#### I. PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Tebu (*Sacharum officanarum* L.) adalah tanaman penting yang menjadi salah satu sumber kalori (Selvia dkk., 2015). Tebu juga merupakan sumber pemanis utama di dunia. Hampir 70% sumber bahan pemanis berasal dari tebu sedangkan sisanya berasal dari bit gula (Lubis dkk., 2015). Tebu merupakan bahan baku utama gula pasir yang menjadi salah satu kebutuhan pokok masyarakat Indonesia.

Sentra produksi utama perkebunan tebu di Indonesia terdapat di lima provinsi, yaitu Jawa Timur, Lampung, Jawa Tengah, Sumatera Selatan, dan Jawa Barat (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2020). Berdasarkan data Direktorat Jenderal Perkebunan (2020), Provinsi Lampung merupakan salah satu sentra produksi tebu nasional dengan menempati urutan kedua sebagai provinsi sentra produksi tebu dengan memberikan kontribusi sebesar 6,91%. Di Lampung terdapat banyak perkebunan tebu besar, yaitu PT. Gunung Madu Plantations, PT. Sugar Group Companies, PTPN 7 (PG Bungamayang), PT. Bumi Waras, dan PT. Pemuka Sakti Manis Indah. PT. Gunung Madu Plantations (GMP) merupakan perintis industri gula di Luar Jawa yang menerapkan pola perkebunan besar dengan mengintegrasikan perkebunan tebu dan unit pabrik gula (Tugiyono dkk., 2009).

Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) (2020), produksi gula nasional hanya 2,12 juta ton sedangkan konsumsi gula nasional mencapai 5,7 juta ton, dan ada kekurangan pasokan gula sebanyak 3,58 juta ton. Kekurangan pasokan gula tersebut dipenuhi dengan impor dari negara lain, terutama Thailand.

Penurunan produksi gula dapat disebabkan oleh berbagai faktor pembatas. Salah satu faktor pembatas yang dapat menurunkan produksi gula adalah penyakit tanaman.

Penyakit lapuk akar dan pangkal batang (LAPB) merupakan penyakit yang cukup potensial menurunkan produksi tebu (Yulianti, 2017). Penyakit LAPB tebu dapat menurunkan bobot batang, menurunkan rendemen, menyebabkan tanaman keprasan (*ratoon cane*) gagal tumbuh, dan mematikan tanaman (Maryono dkk., 2017). Di Lampung, keparahan penyakit 26% dapat menyebabkan penurunan hasil sampai 15% (Sitepu *et al.*, 2010). Di Taiwan, penyakit ini mengakibatkan kehilangan hasil sekitar 5% pada *plant cane* dan 30% atau lebih pada tanaman *ratoon* pertama (Fang and Lee, 1999).

Penyakit LAPB pada tanaman tebu disebabkan oleh patogen *Xylaria* sp. (Hersanti dan Sitepu, 2005). Fang *et al.* (1986) melaporkan di Taiwan penyakit LAPB disebabkan oleh jamur *Xylaria* cf. *warburgii*. Sitepu *et al.* (2010) melaporkan penyakit LAPB yang ada di Lampung dinyatakan mirip dengan *X.* cf. *warbugii* yang terdapat di Taiwan. Maryono *et al.* (2019) melaporkan di Sumatera Selatan penyakit LAPB disebabkan oleh jamur *Xylaria arbuscula*. Beberapa publikasi juga melaporkan bahwa penyakit LAPB yang terdapat di Amerika Serikat dan Puerto Rico disebabkan oleh spesies *X. arbuscula* (Fang and Lee, 2000).

Identifikasi patogen tanaman penting dilakukan karena informasi mengenai spesies penyebab suatu penyakit dapat digunakan sebagai dasar pengendalian penyakit tanaman (Ghanbarzadeh *et al.*, 2014). Identifikasi patogen dapat dilakukan secara konvensional dengan pendekatan morfologi maupun secara teknik molekuler dengan pendekatan DNA (*Deoksiribosa Nucleotid Acid*) (Kalman *et al.*, 2020). Pada penelitian ini identifikasi penyebab penyakit lapuk akar dan pangkal batang pada tebu dilakukan dengan pendekatan morfologi dan molekuler.

#### 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui identitas penyebab penyakit lapuk akar dan pangkal batang pada tanaman tebu di PT. Gunung Madu Plantations.

# 1.3 Kerangka Pemikiran

Identifikasi penting dilakukan untuk mendapatkan informasi dasar terkait suatu penyebab penyakit khususnya informasi spesiesnya. Hal ini diperlukan sebagai dasar pengendalian penyakit tanaman (Debbi *et al.*, 2018). Identifikasi penyebab penyakit dapat dilakukan dengan pendekatan morfologi dan atau molekuler. Identifikasi secara morfologi dilakukan dengan mengamati karakter morfologi penyebab penyakit, hal ini merupakan langkah pertama dan terpenting (Esfahani *et al.*, 2013). Identifikasi secara morfologi saja terkadang tidak cukup untuk menentukan spesies jamur yang memiliki variasi genetik yang tinggi. Maka dari itu perlu dilakukan identifikasi secara molekuler untuk mendapatkan informasi mengenai spesies suatu penyebab penyakit dengan lebih akurat (Esfahani *et al.*, 2013).

Selama ini, penyakit LAPB tebu dilaporkan disebabkan oleh *Xylaria* sp. (Hersanti dan Sitepu, 2005). Fang *et al.* (1986) melaporkan bahwa penyebab penyakit LAPB tebu di Taiwan mirip dengan jamur *Xylaria warburgii* pada buah Slonea, sehingga diberi nama *X.* cf. *warburgii*. Fang and Lee (2000) melaporkan bahwa penyakit LAPB yang terdapat di Amerika Serikat dan Puerto Rico disebabkan oleh spesies *X. arbuscula*. Di Sumatera Selatan, *X. arbuscula* dilaporkan sebagai patogen penyebab lapuk akar dan pangkal batang tebu (Maryono *et al.*, 2019).

Di Gunung Madu Plantations ada dua jenis stroma yang ditemukan. Pertama memiliki beberapa cabang dengan konidia putih berlimpah. Kedua memiliki tubuh berbuah seperti sosis, berstruktur tunggal tanpa cabang. Keduanya memiliki ciri-ciri stroma berwarna hitam pada bagian luar dan putih di dalam

(Sitepu *et al.*, 2010). Berdasarkan identifikasi morfologi, jamur tersebut teridentifikasi sebagai *Xylaria* sp. (Sitepu *et al.*, 2010). Identifikasi lebih lanjut dilakukakan dengan mengirimkan spesimen ke CABI (*Centre for Agriculture and Bioscience International*), Inggris. Dikatakan bahwa penyebab penyakit LAPB di GMP adalah spesies yang sama dengan patogen tebu yang di Taiwan yaitu *X. cf. warburgii* (Sitepu *et al.*, 2010).

Secara morfologi, *X. warburgii* berbeda dengan *X. arbuscula* berdasarkan karakteristik stroma. Stroma dari *X. warburgii* berbentuk filiform, tidak bercabang dan atau bercabang dan dicirikan dengan perithecia yang sepenuhnya menonjol keluar (Ju *et al.*, 2018). Sebaliknya, stroma *X. arbuscula* berbentuk oval, bersifat soliter, tidak bercabang dan atau bercabang dan dicirikan dengan perithecia yang sepenuhnya tenggelam (Dennis, 1956; Rogers and Samuels, 1986). Secara morfologi, stroma *X.* cf. *warburgii* yang berasosiasi dengan tebu di Taiwan dan di Lampung cenderung lebih mirip dengan jamur *X. arbuscula* yang berasosiasi dengan tebu di Sumatera Selatan dan berbeda dengan jamur *X. warburgii* yang berasosiasi dengan buah Slonea (Ju *et al.*, 2018).

# 1.4 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah disusun, hipotesis yang diajukan pada penelitian ini yaitu penyebab penyakit lapuk akar dan pangkal batang pada tanaman tebu di PT. Gunung Madu Plantations adalah *Xylaria arbuscula*.

#### II. TINJAUAN PUSTAKA

# 2.1 Tebu (Saccharum officinarum L.)

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman dari keluarga Graminae atau Poaceae (rumput-rumputan) yang banyak dijumpai didaerah tropis dan subtropis. Loganadhan *et al.* (2012) menyatakan bahwa tebu dapat menjadi salah satu tanaman yang dapat menyumbang perekonomian nasional dan sumber mata pencaharian bagi jutaan petani. Tebu termasuk tanaman yang telah dibudidayakan secara luas sejak lama hingga saat ini total luas perkebunan tebu di Indonesia yaitu 415,67 ribu hektar yang terdiri dari 43,3% Perkebunan Negara dan 56,7% Perkebunan Rakyat (BPS, 2019).

Tebu memiliki nama yang berbeda-beda disetiap negara seperti 'am-pëu (Kamboja), Zuckerrohr (Jerman), ganna (India), canna da zucchero (Italia), satokibi (Jepang), suikerriet (Belanda), tuma (Papua New Guinea), tubo/tubuh (Filipina), ka-thi (Thailand) dan lain-lain. Menurut United States Department of Agriculture (2018), klasifikasi tanaman tebu adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae

Genus

Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Subkelas : Commelinidae
Ordo : Cyperales
Familia : Poaceae

Spesies : Saccharum officinarum L.

: Saccharum

Akar tanaman tebu merupakan jenis akar serabut yang tidak panjang dan akar tumbuh dari cincin tunas anakan. Daun tebu memiliki bentuk seperti busur panah dan pita, membentuk selang-seling kanan dan kiri, seperti daun jagung yang memiliki pelepah dan tidak memiliki tangkai. Pertuulangan daun tebu yaitu sejajar dengan bagian tengah berlekuk. Tepi daun tebu membentuk gelombang serta memiliki bulu kecil yang keras (Indrawanto dkk., 2010).

Batang tebu berdiri tegak dan memiliki ruas-ruas dengan pembatas berupa bukubuku yang setiap buku terdapat mata tunasnya. Batang tanaman tebu berasal dari mata tunas yang berada dibawah tanah yang kemudian keluar dan berkembang membentuk rumpun. Satu rumpun batang tebu terdiri dari batang primer, sekunder dan tersier. Batang primer adalah tunas yang muncul pertama dari mata tunas yang ditanam. Tunas yang muncul dari batang primer disebut batang sekunder sedangkan batang yang muncul dari mata tunas batang sekunder disebut batang tersier. Tinggi batang tebu mencapai 2-5 m dengan diameter batang sekitar 3-5 cm (Indrawanto dkk., 2010; James, 2004). Tebu juga memiliki bunga yang membentuk untaian dengan panjang dapat mencapai 80 cm. Bunga tebu memiliki benangsari dan putik dengan dua kepala dan bakal biji. Buah tebu terlihat seperti padi dan memiliki satu biji (Indrawanto dkk., 2010).

#### 2.2 Penyakit Lapuk Akar dan Pangkal Batang (LAPB)

Penyakit lapuk akar dan pangkal batang (LAPB) merupakan penyakit yang penting pada budidaya tebu. LAPB merupakan salah satu penyakit penting yang menginfeksi tanaman tebu di Lampung dan Sumatera Selatan. Penyakit ini disebabkan oleh spesies dari genus *Xylaria*. Genus *Xylaria* Hill ex Schrank (Xylariales, Xylariaceae) adalah genus terbesar dalam famili Xylariaceae. Klasifikasi *Xylaria* sp. menurut Gerhardt *et al.* (2000):

Kingdom: Fungi

Filum : Ascomycota
Kelas : Pyrenomycetes
Ordo : Xylariales
Famili : Xylariaceae

Genus : *Xylaria* Spesies : *Xylaria* sp.

Penyakit ini memiliki gejala yang khas seperti pengeringan daun, layu daun, pembusukan akar dan batang, gejala garis hitam pada batang yang sakit, dan pertumbuhan *ratoons* yang terhambat (Maryono *et al.*, 2019). Gejala penyakit biasanya mulai terlihat pada tebu *Plant Cane* berumur 9 bulan atau lebih, namun pada tanaman ratoon gejala sudah terlihat pada tanaman yang berumur lebih muda. Di area yang endemik gejala terlihat lebih jelas ketika sudah fase lanjut, terlihat sebagai spot-spot pertanaman yang kuning dan kering (Yulianti, 2017). Tanda penyakit ini yaitu adanya stroma jamur yang akan muncul dari tanah sekitar tanaman sakit atau dari tunggul tanaman yang telah mati (Yulianti, 2017).

Penyakit LAPB dilaporkan disebabkan oleh jamur *Xylaria* sp. (Hsieh, 1980). *Xylaria* memiliki stroma aseksual dan seksual. Stroma aseksual berwarna hitam, berkelompok dan bercabang banyak, dan bagian ujungnya berwarna putih (Sitepu *et al.*, 2010). Stroma seksual berbentuk batang silindris dengan semakin meruncing keujungnya, tunggal, bertangkai pendek, berwarna hitam atau kecoklatan, dan tidak bercabang atau bercabang pada pangkalnya (Dennis, 1956; Rogers and Samuels, 1986). Adanya stroma merupakan salah satu ciri khas dari jamur *Xylaria* (Ma *et al.*, 2013; Srihanant *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2015).

Di dalam tanah, sebelum melakukan penetrasi dan infeksi inter dan intra sel akar jamur akan tumbuh memanjang paralel dengan akar, lalu membentuk bantalan infeksi (Fang and Lee, 1999). Infeksi jamur ke sistem perakaran menyebabkan jaringan rusak sehingga transportasi hara terhambat. Bagian atas tanaman (daun) akan terlihat kekuningan dan layu yang nantinya akan mengering. Tanaman akhirnya merana dan mati. Pada kondisi ini tanaman mudah dicabut karena perakaran dan batang bawah sudah membusuk berwarna coklat muda kemerahan (Yulianti, 2017).

Selama ini pengendalian penyakit LAPB yang sudah diterapkan adalah dengan menggunakan varietas tahan dan fungisida. Namun, penggunaan varietas tahan

belum mampu menekan keterjadian penyakit LAPB dan aplikasi fungisida untuk mengendalikan penyakit LAPB dikhawatirkan akan menyebabkan makin rendahnya keragaman dan populasi mikroba tanah sehingga keseimbangan ekosistem semakin terganggu. Selain itu, membutuhkan biaya yang mahal dan efektivitasnya yang masih rendah (Yulianti, 2017). Ada beberapa alternatif yang bisa ditempuh untuk mengendalikan secara terintegrasi dengan menggunakan sistem pengelolaan tanah, seperti perbaikan sistem budidaya melalui pengolahan tanah minimum, penambahan pupuk Silikon, solarisasi, dan pemberian bahan organik, termasuk vermikompos, yang diperkaya dengan antagonis (Yulianti, 2017).

#### 2.3 Identifikasi Jamur

Banyaknya jenis dari suatu organisme dikelompokan dan diidentifikasi kedalam kelompok yang dibedakan berdasarkan kelas, yang kemudian diperinci dalam jenis genus tertentu. Identifikasi dimaksudkan untuk mengetahui tingkat keberagaman suatu spesies yang ada di suatu ekosistem, dalam hal ini identifikasi membantu kita menentukan kekerabatan suatu organisme secara lebih spesifik sehingga proses identifikasi menjadi salah satu hal yang sangat penting dalam menentukan taksa dari suatu organisme guna kepentingan lebih lanjut (Rukmana, 2015).

Sebagian besar spesies jamur diidentifikasi berdasarkan morfologi. Menurut Geiser (2004) keragaman mikroskopik dapat digunakan untuk identifikasi karena hal tersebut menjadi salah satu karakter morfologi dari suatu jamur. Keragaan makroskopik yang umumnya diamati adalah warna, morfologi, serta koloni pada media padat dan keragaan mikroskopik yang di amati umunya askospora, askus, perithecia dan cincin ring askus (Maryono *et al.*, 2019). Keragaman makroskopik tidak menjadi satu-satunya cara pengamatan karakter morfologi suatu jamur, pengamatan mikroskopik juga dapat digunakan dalam identifikasi jamur. Karakter keragaan mikroskopik, diantaranya dapat diketahui dengan melihat bentuk sel, kisaran ukuran sel, tipe percabangan , bentuk pialid, warna spora, serta

bentuk konidia. Selain dengan identifikasi berdasarkan karakter morfologi, identifikasi jamur dengan metode konvensional juga dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai uji fisiologi dan biokimia, karena pada umumnya spesies jamur dapat dibedakan berdasarkan karakter fisiologi dan biokimia (Ciardo *et al.*, 2006).

Teknik identifikasi secara molekuler berkembang seiring dengan berkembangnya penemuan struktur DNA, sehingga metode ini akan mampu mengidentifikasi taksonomi suatu jamur dengan lebih akurat. Namun identifikasi molekuler ini merupakan langkah lebih lanjut yang memerlukan dana yang banyak dan teknologi yang mumpuni. Selain keragaan makroskopis dan mikroskopis, dapat pula diketahui jumlah pasangan basa dari beberapa isolat tersebut sebagai bahan identifikasi molekuler (Patantis dan Fawzya, 2009).

Identifikasi secara molekuler dilakukan dengan memanfaatkan teknologi PCR (*Polymerase Chain Reaction*). PCR merupakan suatu teknik yang melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda. Polimerase DNA digunakan untuk dapat memperpanjang primer (*extend primers*) dengan adanya dNTPS (dATP,dCTP,Dgtp dan dTTP) dan *buffer* yang sesuai (Yusuf, 2010).

Polimerase DNA dilakukan antara 20-40 siklus. Target DNA yang diinginkan (short "target" product) akan meningkat secara eksponensial setelah siklus keempat dan DNA non-target (long product) akan meningkat secara linear. Dalam proses PCR, terdapat beberapa tahapan yaitu pra denaturasi DNA, denaturasi DNA, penempelan primer (annealing), pemanjangan primer (extension) dan pemantapan (post-extension) (Handoyo dan Rudiretna, 2001). Keunggulan dari PCR terletak pada kecepatan, spesifitas dan sensivitasnya dalam mendeteksi suatu mikroorganisme, sehingga menjadikan teknik ini sebagai pilihan untuk mendiagnosis suatu mikroba dengan mengidentifikasi genom agen patogen (Hewajuli and Dharmayanti, 2014).

#### III. BAHAN DAN METODE

# 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Februari-Agustus 2022 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan PT. Gunung Madu Plantations, Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, autoklaf, mikroskop, *Laminar Air Flow* (LAF), *erlenmeyer*, bunsen, jarum ose, pinset, bor gabus 0,5 cm, kertas label, alat tulis, *microwave*, *magnetic stirrer*, plastik *wrapping*, tabung reaksi, *rotary mixer*, mikropipet 0-1000 µl, tip 0-1000 µl, *pcr tube* 100 µl, mesin PCR, elektroforesis, *Digi-doc imaging system*, aluminium foil, *water bath*, plastik tahan panas, gelas ukur, timbangan elektrik, dan kamera (*Hand Phone*).

Bahan yang digunakan adalah tanaman tebu bergejala LAPB, stroma seksual dan aseksual, media PSA (*Potato Sucrose Agar*), OA (*Oatmeal Agar*), lugol *iodine*, larutan NaOCl, akuades, alkohol 70%, CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) 2%, PCI (*phenol, chloroform, isoamyl alcohol*), CI (*chloroform,isoamyl alcohol*), air steril, *isopropanol, loading dye*, primer ITS1 dan ITS4, *buffer, buffer* TE, *EDTA*, dan *agarose* gel.

#### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.3.1 Pengambilan Sampel Stroma Aseksual dan Seksual

Sampel stroma diambil dari tujuh divisi yang ada di PT. Gunung Madu Plantations. Sampel diambil dari 5-8 kawasan yang mewakili setiap divisi. Pada setiap kawasan dipilih petak-petak yang memenuhi kategori serangan (serangan ringan dan serangan berat) dan titik pengambilan sampel terdiri dari 3 titik yang diambil secara diagonal.

#### 3.3.2 Perlakuan Sampel Tanaman Bergejala LAPB dan Stroma

Perlakuan sampel tanaman bergejala LAPB dan stroma dilakukan dengan cara yang berbeda. Perlakuan tanaman bergejala LAPB dilakukan di lapangan dan di laboratorium. Perlakukan di lapangan dilakukan dengan cara dipotong sampel tanaman bergejala dan dibersihkan, kemudian dimasukkan ke dalam plastik dan diberi label. Perlakuan di laboratorium dilakukan dengan cara mencuci sampel tanaman bergejala menggunakan air hingga bersih dan dikeringkan, kemudian disimpan di dalam gelas *beaker*. Perlakuan stroma dilakukan dengan cara memisahkan stroma dari tunggul maupun dari tanah, lalu dimasukkan ke dalam botol *container*, dan diberi label.

#### 3.3.3 Pembuatan Media *Potato Sucrose Agar* (PSA)

Langkah pertama pembuatan media PSA yaitu kentang dikupas lalu ditimbang sebanyak 200 g. Kentang tersebut dipotong dadu dan dimasukkan ke dalam gelas beaker yang berisi aquades 1000 ml, dan direbus sampai mendidih. Setelah itu, ekstrak kentang dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi agar sebanyak 20 g, sukrosa sebanyak 20 g, kemudian ditambah akuades sampai volumenya mencapai 1000 ml. Selanjutnya erlenmeyer tersebut ditutup dengan aluminium foil dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Erlenmeyer yang telah berisi media disterilkan di dalam autoklaf (suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15

menit). Setelah selesai media didiamkan sampai suhu kurang lebih 46 °C, kemudia media ditambahkan dengan asam laktat 1,4 ml dan dihomogenkan, kemudian dituang ke dalam cawan petri.

#### 3.3.4 Pembuatan Media *Oat Meal Agar* (OA)

Langkah pertama pembuatan media OA yaitu *Quaker Oat* dihancurkan hingga halus, kemudian ditimbang sebanyak 30 g dan dimasukkan ke dalam gelas *beaker* yang berisi aquades 1000 ml. Kemudian direbus sampai mendidih. Setelah itu, disaring dan dimasukkan ke ke dalam *erlenmeyer* yang telah berisi agar sebanyak 15 g, kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya *erlenmeyer* ditutup dengan *aluminium foil* dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. *Erlenmeyer* yang telah berisi media disterilkan di dalam autoklaf (suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit). Setelah selesai media didiamkan sampai suhu kurang lebih 46 °C, kemudia media ditambahkan dengan asam laktat 1,4 ml dan dihomogenkan, kemudian dituang ke dalam cawan petri.

#### 3.3.5 Isolasi Jamur *Xylaria* sp.

Jamur *Xylaria* diisolasi dari stroma dengan memotong bagian stroma sepanjang 0,1-0,3 cm. Kemudian disterilkan dengan perendaman dalam 2% *Natrium hipoklorit* (NaOCl) selama 5 menit diikuti dengan dua kali pembilasan menggunakan akuades. Selanjutnya, jaringan diambil dan diletakkan di tisu, kemudian dipindahkan ke media PSA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 3-5 hari (12 jam cahaya/gelap). Miselia yang tumbuh dari jaringan dipindahkan secara aseptik ke media *Oatmeal Agar* (OA) (Maryono *et al.*, 2019).

# 3.3.6 Identifikasi Morfologi

Identifikasi morfologi dilakukan dengan mengamati stroma aseksual, stroma seksual, koloni jamur pada media OA dan pengamatan menggunakan mikroskop

elektron (SEM). Pengamatan stroma aseksual secara makroskopis meliputi bentuk, ukuran, warna, dan secara mikroskopis meliputi bentuk konidia dan ukuran konidia. Pengamatan stroma seksual secara makroskopis meliputi bentuk, ukuran, warna, dan secara mikroskopis meliputi peritechia, askus, ring askus, dan askospora. Pengamatan koloni jamur pada media OA meliputi bentuk koloni, warna permukaan koloni, warna bawah koloni, dan ada tidaknya stroma aseksual. Hasil pengamatan morfologis dicocokkan dengan literatur yang relevan (Dennis, 1956; Fang *et al.*, 1986; Rogers and Samuels, 1986; Maryono *et al.*, 2019; dan Ju *et al.*, 2018).

# 3.3.7 Identifikasi Molekuler

Identifikasi secara molekuler diawali dengan ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, sekuensing dan penyusunan pohon filogenetik. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menumbuhkan jamur hasil isolasi pada media cair selama 7 hari. Selanjutnya DNA genom diekstraksi dengan metode CTAB (Sambrook *et al.*, 2001). Ekstraksi DNA dilakukan dengan memindahkan koloni jamur ke tabung sentrifugase dengan volume 10 ml kemudian disentrifuse selama 10 menit, suhu 21 °C, dengan kecepatan 14.000 rpm. Selanjutnya dibuang supernatan diambil pellet dan ditambahkan alkohol 70% sebanyak 500 μL disentrifuse kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit, supernatant dibuang dan pellet ditambahkan 1000 μL larutan buffer. Selanjutnya, pellet dan buffer dihomogenkan menggunakan *rotamixer* hingga homogen kemudian dimasukkan ke mortar dan dimasukkan kedalam lemari pendingin untuk diinkubasi selama 1-2 hari.

Pellet dan buffer yang berada di mortar kemudian digerus selama 15 menit lalu dipindahkan ke tube 1,5 ml dan ditambahkan 400 μL CTAB 2% kemudian di *waterbath* selama 1 jam pada suhu 65 °C. Selanjutnya, ditambahkan 500 μL PCI (*phenol, chloroform, isoamyl alcohol*) lalu disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Setelah disentrifus, diambil larutan supernatantnya sebanyak 500 μL lalu dipindahkan ke tabung mikrosentifus 1,5 ml yang baru dan

ditambahkan CI (*chloroform*, *isoamyl alcohol*) dengan perbandingan yang sama dengan volume larutan sebelumnya (1:1). Selanjutnya disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm.

Larutan supernatant diambil 400 μL lalu dipindahkan ke tabung mikrosentrifus 1,5 ml baru dan ditambahkan *isopropanol* dingin dengan volume yang sama lalu dihomogenkan. Kemudian larutan diinkubasi pada suhu -20 °C selama 20 menit dan disentrifus kembali selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm untuk mendapatkan pellet. Selanjutnya pellet ditambahkan 500 μL alcohol 70% lalu disentrifus kembali selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Supernatant dibuang dan pellet dikering anginkan selama 1-2 hari. Pellet yang telah dikering anginkan ditambahkan 20 μL buffer TE. Selanjutnya DNA genom dicek dengan elektroforesis pada *gel agarosa* 0,1%. Elektroforesis dilakukan selama 60 menit pada 55 volt. Hasil elektroforesis kemudian divisualisasikan menggunakan *Digi-Doc-Imaging System*.

Hasil ekstraksi DNA kemudian diamplifikasi dengan menggunakan primer *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Primer ITS digunakan karena urutan basa nukleotida dari ITS memiliki salinan yang konsisten dengan basa nukleotida dari genus *Xylaria* (White *et al.*, 1990). Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan 25 μL campuran reaksi yang mengandung 12,5 μL Red mix, 1 μL primer *forward*, 1 μL primer *reverse*, 1 μL DNA dan 9,5 μL air steril. Selanjutnya siklus amplifikasi dilakukan dengan beberapa tahap utama, yaitu *denaturasi*, *annealing*, *elongasi* dan *extension*.

Proses amplifikasi menggunakan primer ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') dan ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (White *et al.*, 1990). Dilakukan pada suhu 95 °C selama 5 menit untuk *predenaturasi* awal lalu diikuti oleh 35 siklus, *denaturasi* dilakukan pada 95 °C selama 1 menit, *annealing* pada 48 °C selama 1 menit, *extension* pada suhu 72 °C selama 1 menit dan *post-extension* pada suhu 72 °C selama 5 menit. Kemudian produk hasil PCR dielektroforesis pada *gel agarosa* 0,1% selama 60

menit pada 55 volt. Hasil elektroforesis kemudian divisualisasikan menggunakan *Digi-Doc-Imaging System*.

Hasil amplifikasi kemudian di sekuensing di PT. Genetika Science Indonesia. Hasil sekuensing kemudian disejajarkan (*alligment*) menggunakan absesi jamur *Xylaria* yang memiliki homologi tinggi diambil dari *gen bank* berdasarkan pustaka yang sudah terbit (Lee *et al.*, 2000; Hsieh *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2013; Hashemi *et al.*, 2015). Sebagai *out grup* akan digunakan *Hypoxylon fragiforme* (AY616689) lalu disejajarkan menggunakan program *CLUSTALW* (Tamura *et al.*, 2013). Hasil *alignment* kemudian dibandingkan dengan database NCBI dengan program *Basic Local Alignment Search Tool for Nucleotide Sequences (<i>BLASTN*). Pohon filogenetik disusun menggunakan *software* MEGA versi 6 dengan metode *Neighbor Joining* (NJ) dan *bootsrap* 1000 kali ulangan (Felsenstein, 1985). Penentuan spesies jamur hasil isolasi didasarkan pada spesies dengan kekerabatan terdekat pada pohon filogenetik yang diperoleh.

# V. SIMPULAN DAN SARAN

# 5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa identitas penyebab penyakit lapuk akar dan pangkal batang pada tanaman tebu di PT. Gunung Madu Plantations diduga spesies baru yang juga dapat menyebabkan penyakit lapuk akar dan pangkal batang tebu.

#### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan untuk memastikan identitas *Xylaria* yang ada di Gunung Madu Plantations perlu dilakukan identifikasi menggunakan primer lain.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Badan Pusat Statistik. 2019. *Statistik Tebu Indonesia*. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Badan Pusat Statistik. 2020. *Statistik Tebu Indonesia*. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Ciardo, D.E., Schar, G., Bottger, E. C., Altwegg, M., and Bosshard, P.P. 2006. Internal transcribed spacer sequencing versus biochemical profiling for identification of medically important yeasts. *Journal of Clinical Microbiology*. 44(1): 77-84.
- Debbi, A., Boureghda, H., Monte, E., and Hermosa, R. 2018. Distribution and genetic variability of *Fusarium oxysporum* associated with tomato diseases in Algeria and a biocontrol strategy with indigenous *Trichoderma* spp. *Frontiers in Microbiology*. 9: 1-11.
- Dennis, R.W.G. 1956. Some Xylarias of tropical America. *Kew Bulletin*. 11: 401-444.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2020. *Outlook Tebu*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Jakarta. http://epublikasi.setjen.pertanian.go.id/epublikasi/outlook/2020/OUTLOOK %20TEBU%202020/files/assets/basic-html/page81.htm.
- Esfahani, M., Shafgh, N., Rastegar, S., and Malekian, M. 2013. Genetical diversity analysis of Irani an *F. oxysporum* f.sp. melonis by PCR- RAPD marker. *The International Journal of Farming and Allied Sciences*. 23:1054-1059.
- Fang, J.G. and Lee, C.S. 1999. *Penetration and infection of sugarcane by Xylaria* cf. *warburgii*. Report of The Taiwan Sugar Research Institute. PP. 59-66.
- Fang, J.G. and Lee, C.S. 2000. *Root and basal stem rot*. A Guide to Sugarcane Diseases. Montpellier (FR): CIRAD-ISSCT. PP. 170-173.

- Fang, J.G., Hsieh, W.H., Hu, C.H., and Lee, C.S. 1986. Perfect state of root and basal stem rot of sugarcane. *Proceeding International Society Sugar Cane Technology*. 19: 370-374.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 39: 783-791.
- Garcia-Aroca, T., Price, P. P., Tomaso-Peterson, M., Allen, T. W., Wilkersond, T. H., Spurlock, T. N., Faskee, T. R., Bluhmf, B., Conner, K., Sikorag, E., Guyerh, R., Kelly, H., Squiers, B. M., and Doyle, V. P. 2021. *Xylaria necrophora*, sp. nov., is an emerging root-associated pathogen responsible for taproot decline of soybean in the southern United States. *Mycologia*. 113(2): 326-347.
- Geiser, D.M. 2004. A higher level phylogenetic clasification of the fungi. genetic variability of *Fusarium oxysporum* associated with tomato diseases in algeria and a biocontrol strategy with indigenous *Trichoderma* spp. *Frontiers in Microbiology*. 9: 1-11.
- Gerhardt, E., Ewaldvila, J., and Llimona, X. 2000. *Hongos de Espana y de Europa*. Omega. Barcelona.
- Ghanbarzadeh, B., Goltapeh, M., and Safaie, N. 2014. Identification of *Fusarium* species causing basal rot of onion in East Azarbajian Province, Iran and evaluation of their virulence on onion bulbs and seedlings. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 47(9): 1050-1062.
- Handoyo, D. dan Rudiretna, A. 2001. Prinsip umum dan pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Universitas Taman Siswa*. 9(1): 17-29.
- Hashemi, S. A., Zare, R., Khodaparast, S. A., and Elahinia, S. A. 2015. A new *Xylaria* species from Iran. *Mycologia Iranica*. 2(1): 1-10.
- Hersanti dan Sitepu, R. 2005. Identifikasi penyebab penyakit lapuk akar dan pangkal batang (LAPB) tebu di PT. Gunung Madu Plantations Lampung Tengah. *Jurnal Biotika*. 4(1): 24-27.
- Hewajuli, D. A. dan Dharmayanti. 2014. Perkembangan teknologi reverse transcriptase-polymerase chain reaction dalam mengidentifikasi genom avian influenza dan newcastle diseases. *Journal Veteriner*. 4(1): 16-29.
- Hsieh, W.H. 1980. Root and basal stem rot of sugarcane: A new disease caused by *Xylaria* sp. *Report of Taiwan Sugar Research Institute*. 87: 15-25.
- Hsieh, H.M., Lin, C. R., Fang, M. J., Rogers, J. D., Fournier, J., Lechat, C., and Ju, Y. M. 2010. Phylogenetic status of Xylaria subgenus Pseudoxylaria among taxa of the subfamily Xylarioideae (Xylariaceae) and phylogeny of the taxa involved in the subfamily. *Molecular Phylogenetics Evolution*.

- 54: 957-969.
- Huang, G., Wang, R., Guo, L., and Liu N. 2015. Three new species of *Xylaria* from China. *Mycotaxon*. 130: 299-304.
- Indrawanto, C., Purwono, Siswanto, Syakir, M., dan Rumini, W. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Tebu*. Eska Media. Jakarta.
- James, G. 2004. Sugarcane. Blackwell Publishing Company. Oxford OX4 2Dq, UK. Oxford.
- Ju ,Y.M. and Rogers, J.D. 1999. The Xylariaceae of Taiwan (*Excluding Anthostomella*). *Mycotaxon*. 73: 343–440.
- Ju, Y.M., Rogers, J. D., and Hsieh, H. M. 2018. *Xylaria* species associated with fallen fruits and seeds. *Mycologia*. 110: 1-58.
- Kalman, B., Abraham, D., Graph, S., Treves, P., Harel, M.Y., and Degani, O. 2020. Isolation and identification of *Fusarium* spp., the causal agents of onion (*Allium cepa*) basal rot in Northeastern Israel. *Biologi* (*Basel*). 9(4): 1-19.
- Ko, W. H. and Kunimoto, R. K. 1991. Quick decline of Macadamia trees: association with *Xylaria arbuscula*. *Plant Pathology* 40: 643-644.
- Lee, J. S., Ko, K. S., and Jung, H. S. 2000. Phylogenetic analysis of Xylaria based on nuclear ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 sequences. *FEMS Microbiology Letter*. 187: 89-93.
- Loganandhan. N. B., Gujja, V., Goud, V., and Natarajan, U. S. 2012. Sustainable Sugarcane Initative (SSI): A Methodology of More Mith Less. Sugar Tech.
- Lubis, M. M. R., Mawarni, L., dan Husni, Y. 2015. Respons pertumbuhan tebu (*Sacharum officinarum* L.) terhadap pengolahan tanah pada dua kondisi drainase. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. 3(1): 214-220.
- Ma, H.-X., Vasilyeva, L., and Li, Y. 2013. The genus *Xylaria* (Xylariaceae) in the South of China-6. A new Xylaria species based on morphological and molecular characters. *Phytotaxa*. 147: 48-54.
- Maryono, T., Widiastuti, A., dan Priyatmojo, A. 2017. Penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu di Sumatera Selatan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 13(2): 67-71.
- Maryono, T., Widiastuti, A., Murti, R. H., and Priyatmojo, A. 2019. Identification and characterization of the causal agent of sugarcane root And

- basal stem rot in South Sumatra, Indonesia. Sugar Tech. *Mycological research*. 3: 509-547.
- Patantis, G. dan Fawzya, N.Y. 2009. Teknik identifikasi mikroorganisme secara molekuler. *Squalen*. 4(2): 72-82.
- Rogers, J. D. and Samuels, G. J. 1986. Ascomycetes of New Zealand 8, Xylaria. *New Zealand Journal of Botany*. 24: 615-650.
- Rukmana, S. 2015. Perbandingan sekuens kapang *Trichoderma* sp. berdasarkan *Internal Transcribed Spacer* (ITS) rDNA dengan menggunakan database NCBI. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Sambrook, J., Maccallum, P., and Russell, D. 2001. *Molecular cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Press. New York.
- Selvia, I. N., Meiriani, dan Hasanah, Y. 2015. Keragaan bibit *Bud Chips* tebu (*Saccharum officinarum* L.) dengan perlakuan lama perendaman dan konsentrasi IAA. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. 3(2): 489-498.
- Sitepu, R., Sunaryo, K., Widyatmoko, and Purwoko, H. 2010. Root and Basal Stem Rot Disease of Sugarcane in Lampung, Indonesia. *Prosiding Kongress ke XXVII International Society of Sugar Cane Technologists*. 27: 1-6.
- Srihanant, N., Petcharat, V., and Vasilyeva, L. N. 2015. *Xylaria thailandica*-a new species from Southern Thailand. *Mycotaxon*. 130: 227-231.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30: 2725-2729.
- Tugiyono, Nurcahyani, N., Supriyanto, R., dan Kurniati, M. 2009. Biomonitoring pengolahan air limbah pabrik gula PT. Gunung Madu Plantation Lampung dengan analisis biomarker: indeks fisiologi dan perubahan histologi hati ikan nila (*Oreochromis niloticus* Linn). *J. Sains MIPA*. 15(1):42-50.
- United State Departement of Agriculture. 2018. *USDA National Nutrient Database for Standart Reference*. www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/.
- Whalley, A.J.S. 1996. The Xylariaceous way of life. *Mycological Research*. 100: 897-922.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. 1990. *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In PCR protocols: A guide to methods and applications*. Dalam: Innis, M., Gelfand, D., Sninsky, J., and White, T. J. Eds. 315-322. Academic Press. Florida.

Yulianti, T. 2017. Perkembangan penyakit lapuk akar dan pangkal batang tebu (*Xylaria warbugii*) di Sumatera dan strategi pengendaliannya. *Jurnal Perspektif.* 16(2): 122-133.

Yusuf, K.Z. 2010. Polymerase Chain Reaction (PCR). Saintek. 5(6): 1-6.