

**KARAKTERISTIK MOLEKULER JAMUR TRICHODERMA YANG
DIISOLASI DARI RIZOSFER BEBERAPA VARIETAS PADI (*Oryza sativa* L.)
DI SUMATERA BARAT**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Sains



**Oleh:
WIDYA RUCHI
15032044/ 2015**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2019**

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

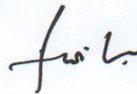
**KARAKTERISTIK MOLEKULER JAMUR TRICHODERMA YANG
DIISOLASI DARI RIZOSFER BEBERAPA VARIETAS PADI (*Oryza sativa*
L.) DI SUMATERA BARAT**

Nama : Widya Ruchi
NIM/TM : 15032044/2015
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, Februari 2019

Disetujui oleh:

Pembimbing



Dr. Dwi Hilda Putri, S. Si., M. Biomed
NIP. 19750815 200604 2 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

**Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Program Studi Biologi Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang**

Judul : Karakteristik Molekuler Jamur *Trichoderma* yang
Diisolasi dari Rizosfer Beberapa Varietas Padi (*Oryza
sativa* L.) di Sumatera Barat

Nama : Widya Ruchi

NIM/TM : 15032044/2015

Program Studi : Biologi

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

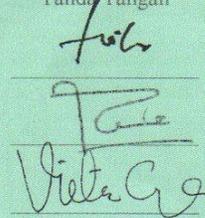
Padang, 11 Februari 2019

Tim Penguji

Nama

Tanda Tangan

1. Ketua : Dr. Dwi Hilda Putri, M. Biomed.
2. Anggota : Dr. Azwir Anhar, M.Si.
3. Anggota : Fitra Arya Dwi Nugraha, M. Si.



SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Widya Ruchi

NIM/TM : 15032044/2015

Program Studi : Biologi

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “Karakteristik Molekuler Jamur Trichoderma yang Diisolasi dari Rizosfer Beberapa Varietas Padi (*Oryza sativa* L.) di Sumatera Barat” adalah benar merupakan karya sendiri, bukan hasil plagiat dari karya orang lain.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggungjawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 11 Februari 2019

Diketahui oleh:

 Ketua Jurusan Biologi


Dr. Azwir Anhar, M.Si
NIP. 19561231 198803 1 009

Saya yang menyatakan,




Widya Ruchi
NIM. 15032044

ABSTRAK

Widya Ruchi : Karakteristik Molekuler Jamur Trichoderma yang Diisolasi dari Rizosfer Beberapa Varietas Padi (*Oryza sativa* L.) di Sumatera Barat

Trichoderma merupakan jamur saprofit tanah yang bersifat antagonis terhadap jamur patogen tanaman. Isolasi dan identifikasi morfologi yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya telah berhasil menemukan 10 isolat Trichoderma yang berasal dari rizosfer beberapa varietas padi di Sumatera Barat. Karakter morfologi belum bisa memberikan kepastian spesies yang akurat karena beberapa jamur memiliki ciri morfologi yang sama. Untuk mendapatkan hasil identifikasi yang baik, perlu diverifikasi dengan metode identifikasi molekuler. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan spesies Trichoderma serta hubungan kekerabatannya dengan jamur lain secara molekuler.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang dilaksanakan pada bulan Maret - November 2018 di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Laboratorium Mikrobiologi, dan Laboratorium Penelitian Terpadu, Jurusan Biologi FMIPA UNP. Uji molekuler dilakukan dengan mengamplifikasi sekuen gen 18S rRNA. Hasil amplifikasi digunakan sebagai *template* untuk reaksi sekuensing. Jenis Trichoderma ditentukan dengan metode BLAST-N pada situs NCBI. Hubungan kekerabatan ditentukan dengan mengkonstruksi pohon filogenetik menggunakan program MEGA 7.0.21.

Penelitian ini berhasil mengidentifikasi 4 jenis Trichoderma yaitu *T. harzianum*, *T. koningiopsis*, *T. minutisporum* dan *T. reesei*. Hubungan kekerabatan antara *T. harzianum* dan *T. koningiopsis* lebih dekat dibandingkan jenis Trichoderma lainnya, begitupun sebaliknya antara *T. minutisporum* dan *T. reesei*. Berdasarkan analisis filogenetik tidak ditemukan adanya pola tertentu yang menunjukkan Trichoderma mengelompok berdasarkan daerah asalnya.

Kata Kunci: Trichoderma, Rizosfer Padi, Identifikasi Molekuler, 18S rRNA.

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakteristik Molekuler Jamur *Trichoderma* yang Diisolasi dari Rizosfer Beberapa Varietas Padi (*Oryza sativa* L.) di Sumatera Barat”. Shalawat beserta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Bapak Dr. Azwir Anhar, S.Si, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNP sekaligus Dosen Penguji I yang telah memberikan kritikan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
2. Bapak Dr. Ramadhan Sumarmin, S.Si, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi yang telah banyak membantu dalam memotivasi perkuliahan dan penulisan skripsi.
3. Ibu Dr. Violita, S. Si., M. Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik (PA) yang selalu memberikan nasehat dan saran selama di Jurusan Biologi.

4. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S. Si., M. Biomed selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan waktu, fikiran dan tenaga untuk membimbing dalam melaksanakan kegiatan penelitian dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
5. Bapak Fitrah Arya Dwi Nugraha, S. Si., M. Si. selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritikan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
6. Seluruh Dosen Jurusan Biologi serta staf tata usaha yang telah memberikan kemudahan dalam proses penyelesaian skripsi ini.
7. Keluarga besar yang senantiasa memberikan doa serta dukungan.
8. Teman-teman Biologi 2015 yang selalu memberikan dukungan dan semangat.
9. Semua pihak yang telah ikut berpartisipasi dan memberikan bantuan baik secara moril maupun materiil demi lancarnya penulisan skripsi ini.

Semoga bantuan yang Bapak/Ibu serta rekan-rekan berikan bernilai ibadah dan mendapatkan pahala dari Allah SWT. Penulis berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat bagi setiap orang yang membacanya.

Padang, Februari 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Jamur Trichoderma.....	6
B. Rizosfer Padi.....	8
C. Kondisi Iklim Sumatera Barat	10
D. Teknik Identifikasi Jamur.....	12
E. Identifikasi Molekuler Menggunakan Sekuen Gen rDNA	16
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian	25
B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	25
C. Alat dan Bahan	25
D. Prosedur Penelitian	27
E. Teknik Analisis Data.....	32
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil.....	33
B. Pembahasan	40
BAB V. PENUTUP	
A. Kesimpulan.....	52
B. Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tinggi wilayah DPL kabupaten/kota di Sumatera Barat.....	12
2. Daftar nama isolat Trichoderma.....	26
3. Sekuen referensi gen 18S rRNA yang diperoleh dari situs NCBI	32
4. Panjang fragmen gen 18S rRNA isolat jamur Trichoderma utuh	35
5. Hasil BLAST gen 18S rRNA isolat Trichoderma.....	36
6. Persentase homologi urutan nukleotida isolat Trichoderma	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mikoparasit oleh <i>T. harzianum</i> . terhadap <i>R. solani</i>	7
2. Perbandingan pertumbuhan bibit padi dengan isolat <i>Trichoderma</i>	8
3. Analisis curah hujan dasarian II Bulan Mei 2018 Provinsi Sumatera Barat.....	11
4. Gambaran makroskopis dan mikroskopis <i>Trichoderma harzianum</i>	14
5. Skematik posisi primer NS1 dan NS8 pada daerah rDNA	18
6. Hasil elektroforesis produk PCR sekuen gen 18S rRNA.....	33
7. Hasil sekuensing sebagian fragmen DNA <i>Trichoderma</i>	34
8. Hasil <i>trimming</i> sebagian fragmen DNA <i>Trichoderma</i>	34
9. Pohon filogenetik sekuen gen 18S rRNA <i>Trichoderma</i>	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Sekuen Gen 18S rRNA utuh.....	60
2. Hasil BLAST-N Sekuen Gen 18S rRNA.....	71
3. Dokumentasi Penelitian	76

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman padi merupakan salah satu tanaman utama bidang pertanian. Padi menghasilkan beras yang merupakan bahan pangan pokok bagi sebagian besar penduduk Indonesia (Santika dan Rozakurniati, 2010). Sejalan dengan pertumbuhan penduduk, kebutuhan akan beras semakin meningkat, sehingga diperlukan upaya dalam meningkatkan hasil panen padi (Khairati dan Syahni, 2016).

Penemuan dan penggunaan pestisida sintetis telah berhasil mengantarkan sektor pertanian menuju terjadinya *green revolution*, yang ditandai dengan peningkatan hasil panen dan pendapatan petani secara signifikan (Tampudu dkk., 2010). Di sisi lain, penggunaan pestisida dapat berdampak negatif terhadap lingkungan bila pemakaiannya tidak sesuai dengan dosis yang ditentukan (Palupi dkk., 2013). Miller (2002) mengatakan bahwa penggunaan pestisida terus meningkat lebih dari 50 kali lipat semenjak tahun 1950. Kemudahan dalam memperoleh obat pertanian kimiawi serta kurangnya pengetahuan tentang efek yang ditimbulkan akibat pemakaian pestisida telah dikaitkan dengan penggunaan pestisida secara tidak terkontrol oleh masyarakat.

Salah satu cara untuk mengurangi penggunaan pestisida oleh petani adalah dengan mencari alternatif pengganti pestisida yang dapat membatasi populasi organisme pengganggu tumbuhan (OPT), serta memacu pertumbuhan tanaman. Sutariati dan Safuan (2012) berpendapat bahwa pengendalian hama secara hayati

menjadi solusi strategis yang lebih berorientasi pada pemanfaatan teknologi ramah lingkungan. Salah satu mikroorganisme dari kelompok jamur yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen hayati adalah genus *Trichoderma*. Jamur ini merupakan salah satu jamur yang hidup di rizosfer tanaman padi, yang bersifat antagonis terhadap jamur patogen tanaman (Berlian dkk., 2013). *Trichoderma* juga mampu berperan sebagai *Plant Growth Promoting Fungi* (PGPF) yang dapat memacu pertumbuhan tanaman termasuk tanaman padi (Vinale dkk., 2008).

Penelitian yang dilakukan oleh Sartika dkk. (2017), berhasil mengisolasi tiga jenis jamur dari rizosfer tanaman padi gogo varietas Silampung, Situ Bagendit dan Ketan Rancong Rolang di Kabupaten Pasaman Barat. Syahputra dkk. (2017) juga berhasil mengisolasi tujuh jenis jamur dari rizosfer tanaman padi sawah varietas Talang Surian, Sirandah Umbilin, Sirandah Bukik, Sirandah Batuampa, Remaja, Cisokan Unggul, dan Cisokan Balang di Kabupaten Solok. Hasil identifikasi morfologi menggunakan teknik makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa kesepuluh isolat ini merupakan genus *Trichoderma*.

Identifikasi jamur (khususnya *Trichoderma*), dengan mengamati karakter morfologi memiliki kelemahan karena beberapa jamur memiliki ciri morfologi yang sama. Kubicek dkk. (2003), menemukan 50% identifikasi *Trichoderma* tidak tepat jika hanya berdasarkan pengamatan morfologi. Untuk itu, diperlukan identifikasi alternatif dalam penentuan spesies *Trichoderma* secara akurat.

Teknik identifikasi secara molekuler dapat dilakukan untuk mengatasi masalah taksonomi jamur (Sandy dkk., 2016). Teknik ini didasarkan pada perbedaan atau

keunikan urutan basa nitrogen pada tiap-tiap individu dalam satu jenis. Teknik identifikasi molekuler yang sudah populer untuk fungi yaitu menggunakan analisis ribosomal DNA (rDNA). Ribosomal DNA adalah daerah penyandi genom untuk komponen RNA ribosom. Daerah ini memiliki sekuen DNA penyandi gen rDNA 18S, 5.8S dan 28S (Gomes dkk., 2002).

Penggunaan urutan gen 18S rRNA telah dikembangkan untuk melacak adanya urutan DNA spesifik dari jamur. Wilayah gen 18S rRNA terdiri dari daerah yang konservatif dan variabel sehingga sering digunakan untuk studi filogenetik (Iwen dan Rupp, 2002). Daerah dengan urutan basa konservatif dari organisme memiliki jarak kekerabatan tertentu sehingga berguna untuk mengkonstruksi pohon filogenetik universal. Sedangkan daerah dengan urutan basa yang variatif dapat digunakan untuk melacak keragaman dan menempatkan galur-galur dalam satu spesies (Stackebrandt, 1994).

Analisis sekuen gen 18S rRNA untuk mengidentifikasi jamur (khususnya *Trichoderma*) telah dilakukan oleh para peneliti sebelumnya. Singh dkk. (2014) berhasil mengidentifikasi spesies *Trichoderma atroviride* dari India menggunakan primer NS1 dan NS8. Wu dkk. (2003) juga berhasil mengidentifikasi beberapa spesies *Trichoderma* yang diperoleh dari Swedia, Denmark, dan Belanda menggunakan marker 18S rRNA. Penelitian terbaru dari Indonesia dilakukan oleh Trianto dkk. (2018) yang berhasil mengidentifikasi beberapa spesies *Trichoderma* dari Taman Nasional Karimunjawa dengan analisis gen 18S rRNA. Pita DNA yang

teramplifikasi, menggunakan pasangan primer NS1 dan NS8, memiliki ukuran sekitar 1800 bp (Uemura dkk., 2008).

Berdasarkan uraian di atas, maka untuk mendapatkan hasil identifikasi *Trichoderma* yang akurat perlu dilakukan identifikasi secara molekuler. Oleh karena itu, telah dilakukan penelitian dengan judul "Karakteristik Molekuler Jamur *Trichoderma* yang Diisolasi dari Rizosfer Beberapa Varietas Padi (*Oryza sativa* L.) di Sumatera Barat".

B. Rumusan Masalah

1. Apa saja jenis *Trichoderma* yang diisolasi dari rizosfer beberapa varietas padi (*Oryza sativa* L.) di Sumatera Barat?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan *Trichoderma* yang diisolasi dari rizosfer beberapa varietas padi (*Oryza sativa* L.) di Sumatera Barat?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui jenis *Trichoderma* yang diisolasi dari rizosfer beberapa varietas padi (*Oryza sativa* L.) di Sumatera Barat.
2. Untuk mengetahui hubungan kekerabatan *Trichoderma* yang diisolasi dari rizosfer beberapa varietas padi (*Oryza sativa* L.) di Sumatera Barat.

D. Manfaat Penelitian

1. Sumbangan bagi ilmu pengetahuan terutama di bidang molekuler.
2. Sebagai informasi dan bahan acuan awal untuk penelitian selanjutnya.

3. Menambah wawasan keilmuan dan pemahaman tentang identifikasi molekuler jamur dan analisis filogenetik jamur *Trichoderma*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

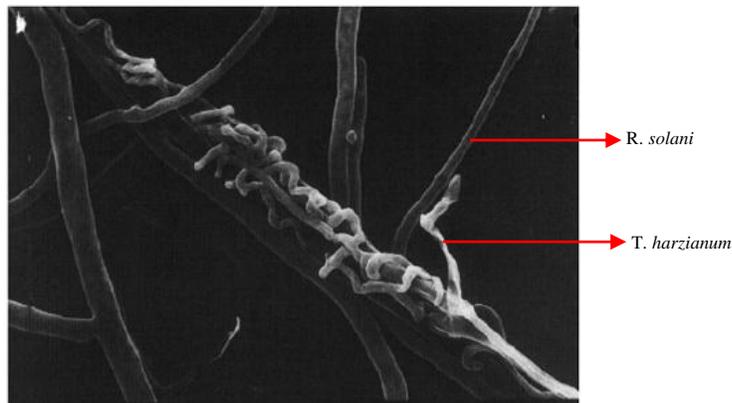
A. Jamur Trichoderma

Trichoderma adalah jenis kapang mikroskopis yang termasuk dalam kelas Deuteromycetes (Eveleigh, 1985). Deuteromycetes merupakan kelompok jamur yang belum diketahui siklus reproduksi seksualnya (Mckane dan Kandel, 1986). Trichoderma adalah salah satu kapang tanah yang tersebar luas, dan hampir dapat ditemui di setiap lahan pertanian dan perkebunan (Gandjar dan Mien, 1999). Menurut Harman (2000) klasifikasi *Trichoderma* sp. adalah sebagai berikut :

Kingdom : Fungi
Divisio : Deuteromycota
Classis : Deuteromycetes
Ordo : Moniliales
Familia : Moniliaceae
Genus : Trichoderma

Trichoderma adalah jamur saprofit tanah yang secara alami merupakan parasit dan menyerang banyak jenis jamur penyebab penyakit tanaman atau memiliki spektrum pengendalian yang luas. Dalam keadaan lingkungan yang kurang baik, miskin hara atau kekeringan, Trichoderma membentuk klamidospora sebagai propagul untuk bertahan dan berkembang kembali jika keadaan lingkungan sudah menguntungkan. Mekanisme pengendalian Trichoderma terhadap jamur patogen tumbuhan secara umum dibagi menjadi tiga macam, yaitu kompetisi terhadap tempat

tumbuh dan nutrisi, antibiosis, dan parasitisme (Baker dkk., 1974). *Trichoderma* diketahui mempunyai kemampuan mendegradasi dinding sel jamur inang. Howell (2003) mempelajari mekanisme molekuler enzim litik yang terlibat dalam aktivitas agen hayati *Trichoderma harzianum* dan menyatakan bahwa degradasi dinding sel jamur terutama disebabkan kitinase, glukonase dan protease. Jika hifa *Trichoderma* melekat dan melilit hifa jamur inang, maka hifa inang mengalami vakoulasi, lisis dan akhirnya hancur. Gambaran mikroskopis mikoparasit oleh *Trichoderma harzianum* terhadap *Rhizoctonia solani* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Mikoparasit oleh *T. harzianum*. terhadap *R. solani* (Howell, 2003).

Trichoderma juga merupakan salah satu jamur yang tergolong PGPF. *Plant growth promoting fungi* merupakan kelompok jamur yang bersifat tular tanah (*soil-borne fungi*) yang dapat diisolasi dari rizosfer tanaman. Jamur ini dapat menghasilkan zat pemacu pertumbuhan berupa *Indole Asetic Acid* (IAA), yang dapat meningkatkan penyerapan nutrisi dengan cara memperbanyak produksi rambut akar (Usha dan Padmavathi, 2013). Keberadaan jamur yang berperan sebagai PGPF telah dilaporkan dapat meningkatkan pertumbuhan dan hasil berbagai tanaman termasuk padi (Sartika

dkk., 2017). Pada penelitiannya, Sartika dkk. (2017) membandingkan pertumbuhan bibit padi yang diinduksi dengan isolat *Trichoderma* sp. KRT dengan bibit padi tanpa perlakuan (kontrol). Isolat *Trichoderma* sp. KRT diisolasi oleh Sartika dkk. (2017) dari rizosfer padi varietas Ketan Rancong Tolang. Perbedaan pertumbuhan bibit padi yang diinduksi dengan *Trichoderma* sp. KRT dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Perbandingan pertumbuhan bibit padi yang diinduksi dengan isolat *Trichoderma* sp. KRT dengan bibit padi tanpa perlakuan (kontrol) (Sartika dkk., 2017)

B. Rizosfer Padi

Rizosfer merupakan porsi tanah yang langsung dipengaruhi oleh akar tanaman. Batas rizosfer dimulai dari permukaan akar sampai batas dimana akar tidak lagi berpengaruh langsung terhadap kehidupan mikroba (Husen dan Saraswati, 2007). Rizosfer adalah habitat yang didominasi oleh tanaman dan bukan didominasi oleh tanah. Lingkungan rizosfer sangat dipengaruhi oleh akar tanaman, nutrisi yang tersedia, metabolisme tanaman, pH, oksigen, konsentrasi CO₂, tekanan osmosis, dan pengaruh permukaan tanah. Jumlah dan kesuburan populasi mikroorganisme di

daerah rizosfer tinggi karena adanya akumulasi sumber nutrisi yang dihasilkan dari sekresi akar dan akumulasi sumber nutrisi yang dihasilkan dari perombakan atau pengelupasan kulit akar (Yulipriyanto, 2010). Salah satu daerah rizosfer tanaman yang tinggi populasi mikroba adalah tanaman padi.

Berdasarkan tempat tumbuhnya dikenal 2 jenis padi, yaitu padi sawah dan padi gogo (Simanjuntak, 2005). Padi sawah biasanya ditanam di daerah dataran rendah yang memerlukan penggenangan, sedangkan padi gogo ditanam didataran tinggi pada lahan kering (Prihatman, 2008). Siregar (1981) menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan morfologis dan biologis antara padi sawah dan padi gogo, yang membedakan hanyalah tempat tumbuhnya (Siregar, 1981).

Tanaman padi merupakan produk pertanian utama Sumatera Barat. Terdapat dua jenis padi varietas lokal yang ada di Sumatera Barat, yakni padi varietas lokal unggul yang sudah dilepaskan dan varietas lokal yang belum dilepaskan kepada para petani oleh Balitbangtan. Varietas-varietas yang paling disukai masyarakat diantaranya IR-42, Batang Piaman dan Cisokan. Sedangkan, varietas padi lokal yang banyak digunakan di Sumatera Barat adalah Anak Daro, Kuriak Kusuik, Mundam, 1000 Gantang, Padi Putih, Randah Kuniang, Saganggam Panuah, Silih Baganti, 100 hari, 42C dan Pulut (Nurnayetti, 2013).

Perbedaan varietas padi mengindikasikan adanya variasi jenis mikroba (khususnya *Trichoderma*) di daerah rizosfernya. Hal ini terjadi karena masing-masing jenis tanah rizosfer mengandung berbagai macam mineral organik dan anorganik

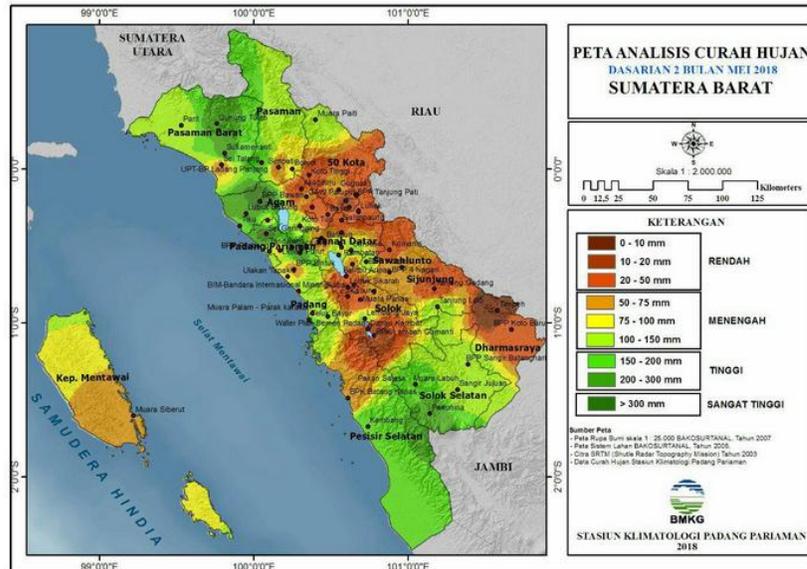
sehingga mempengaruhi jenis mikroba yang ada (Hastuti, 2009). Untuk itu perlu dilakukan identifikasi untuk menentukan jenis *Trichoderma* secara tepat.

C. Kondisi Iklim Sumatera Barat

Iklim dapat didefinisikan sebagai ukuran statistik cuaca untuk jangka waktu tertentu dan cuaca menyatakan status atmosfer pada sembarang waktu tertentu. Dua unsur utama iklim adalah suhu dan curah hujan. Indonesia sebagai daerah tropis ekuatorial mempunyai variasi suhu yang kecil, sementara variasi curah hujannya cukup besar. Oleh karena itu, curah hujan merupakan unsur iklim yang paling sering diamati dibandingkan dengan suhu (Hermawan, 2010).

1. Curah Hujan

Curah hujan di Sumatera Barat memiliki intensitas yang bervariasi. Pada Bulan Mei 2018, tingkat intensitas curah hujan tertinggi (> 150 mm) terjadi di wilayah Padang Pariaman (Sicincin, Tandikat, Sicaung), Pasaman Barat (Gunung Tuleh, Sukamenanti), Pasaman (Ladang Panjang, Pesisir Selatan (Kambang), Solok Selatan (Muara Labuh, Pekomia), Kota Padang (Teluk Bayur). Sementara dari hasil analisis wilayah yang mengalami intensitas curah hujan terendah (< 50 mm) terjadi di wilayah 50 Kota, Sijunjung, Dharmasraya, Tanah Datar, Solok dan sebagian kecil wilayah Agam (BMKG, 2018). Analisis curah hujan dasarian II Bulan Mei 2018 Provinsi Sumatera Barat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Analisis curah hujan dasarian II Bulan Mei 2018 Provinsi Sumatera Barat (BMKG, 2018)

2. Suhu

Suhu udara di permukaan bumi tidak seragam. Ketidaksamaan suhu udara sangat dipengaruhi oleh ketinggian tempat. Semakin tinggi suatu tempat dari permukaan bumi maka suhu udara akan semakin rendah. Penurunan suhu udara sekitar 0,6 setiap kenaikan tinggi tempat 100 meter di permukaan bumi (Purwantara, 2011).

Pada penelitian ini, *Trichoderma* di isolasi dari 2 daerah di Sumatera Barat yang berbeda ketinggian tempatnya dari permukaan laut. Kabupaten Solok merupakan wilayah dataran tinggi dengan ketinggian 1.006 mdpl. Sebaliknya, Kabupaten Pasaman Barat merupakan wilayah dataran pantai barat Sumatera dengan ketinggian 3 mdpl (BPS, 2017). Perbedaan ketinggian tempat setiap daerah di Sumatera Barat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Tinggi Wilayah di Atas Permukaan Laut (DPL) Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Sumatera Barat, 2017

<i>Kabupaten/Kota Regency/Municipality</i>	<i>Ibukota Kabupaten/Kota Capital of Regency/Municipality</i>	<i>Tinggi/Height (meter)</i>
(1)	(2)	(3)
<i>Kabupaten/Regency</i>		
1. Kep. Mentawai	Tua Pejat	2
2. Pesisir Selatan	Painan	5
3. Solok	Aro Suka	1 006
4. Sijunjung	Muaro Sijunjung	160
5. Tanah Datar	Batusangkar	460
6. Padang Pariaman	Parit Malintang	2
7. Agam	Lubuk Basung	102
8. Lima Puluh Kota	Sarilamak	513
9. Pasaman	Lubuk Sikaping	450
10. Solok Selatan	Padang Aro	350
11. Dharmasraya	Pulau Punjung	115
12. Pasaman Barat	Simpang Empat	3
<i>Kota/Municipality</i>		
1. Padang	Padang	2
2. Solok	Solok	390
3. Sawahlunto	Sawahlunto	262
4. Padang Panjang	Padang Panjang	780
5. Bukittinggi	Bukittinggi	927
6. Payakumbuh	Payakumbuh	513
7. Pariaman	Pariaman	2

D. Teknik Identifikasi Jamur

Identifikasi adalah membandingkan isolat yang belum diketahui dengan taksa yang sudah ada untuk menetapkan identitasnya. Identifikasi jamur merupakan salah satu tahap yang harus dilakukan dalam penelitian isolasi dan karakterisasi jamur. Penentuan jenis jamur yang tepat diperlukan untuk mempermudah dalam komunikasi ilmiah para ilmuwan. Identifikasi jamur diperlukan untuk melihat kemungkinan

ditemukannya jenis-jenis *Trichoderma* baru yang bisa menjadi sebuah temuan dan kebaruan besar dalam sebuah penelitian. Identifikasi jamur juga diperlukan untuk mengetahui adanya jamur patogen yang berhasil diisolasi (Barnett dan Hunter, 1998).

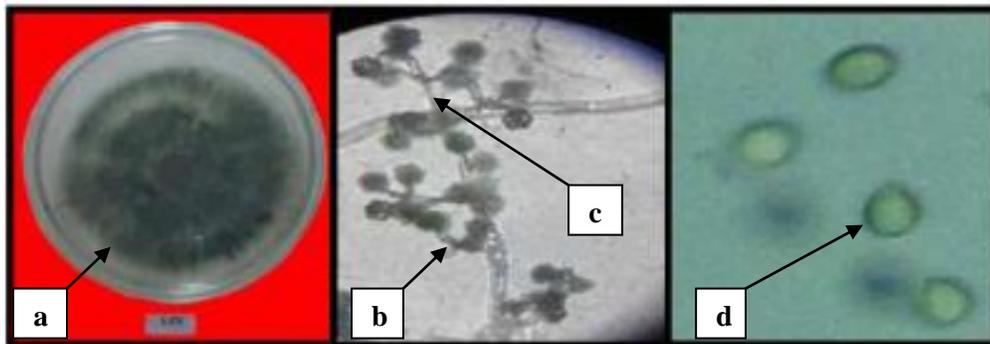
Identifikasi jamur dapat dilakukan secara konvensional dan molekuler. Identifikasi jamur secara konvensional dilakukan berdasarkan pengamatan makroskopis dan mikroskopis, fisiologi, serta biokimia. Identifikasi secara molekuler dapat berupa pendataan sekuen DNA yang akan diteliti.

1. Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis

Sebagian besar spesies kapang dideskripsikan secara konvensional berdasarkan morfologi. Salah satu karakter morfologi yang dapat digunakan untuk identifikasi kapang adalah penampakan makroskopis koloni (Kurtzman, 2003), diantaranya; warna, tekstur, keberadaan zonasi, *radial furrow*, dan *growing zone* koloni. Karakter mikroskopis kapang yang penting adalah ada tidaknya spora aseksual dan spora seksual, ukuran spora aseksual dan seksual, tipe *conidiogenous cell*, ada tidaknya septa pada hifa, dan ukuran lebar hifa (Pitt dkk., 2009).

Secara umum, setiap spesies *Trichoderma* memiliki kemiripan morfologi satu dengan yang lainnya sehingga agak sulit untuk dibedakan. *Trichoderma* mempunyai konidia yang berdinding halus, koloni mula-mula berwarna hialin, lalu menjadi putih kehijauan, dan selanjutnya menjadi hijau tua terutama pada bagian yang menunjukkan banyak terdapat konidia. Konidiofor dapat bercabang menyerupai piramida yaitu pada bagian bawah cabang lateral yang berulang-ulang, sedangkan

semakin keujung percabangan menjadi bertambah pendek. Fialid tampak langsing dan panjang terutama pada apeks dari cabang. Konidia berbentuk semi bulat hingga oval pendek (Hastuti, 2009). Gambaran maksroskopis dan mikroskopis *Trichoderma* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Gambaran maksroskopis dan mikroskopis *Trichoderma harzianum*; (a) koloni pada media PDA, (b) konidiofor, (c) fialid, dan (d) konidia (Gusnawaty dkk., 2013)

2. Uji Fisiologi dan Biokimia

Uji fisiologi dan biokimia merupakan cara konvensional yang juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi kapang (Ciardo dkk., 2006). Menurut Barnett dan Hunter (1998), uji fisiologi dan biokimia untuk mengidentifikasi kapang adalah berdasarkan kemampuan memfermentasi berbagai jenis gula, kemampuan kapang dalam mengasimilasi berbagai jenis karbon dan nitrogen, kebutuhan akan vitamin, pertumbuhan pada suhu tertentu, ketahanan terhadap antibiotik sikloheksimida, uji urease dan uji diazonium blue B. Untuk jamur berfilamen yang tidak terdiferensiasi dengan baik (seperti *Trichoderma*), metode ini sulit untuk dilakukan, memakan waktu, dan memberikan resolusi taksonomi yang tidak memadai (Guarro dkk., 1999).

3. Uji Molekuler

Dibandingkan dengan pengamatan morfologi maupun metode biokimia dan imunokimia, identifikasi berdasarkan profil genetik dianggap lebih akurat. Identifikasi ini tidak dipengaruhi oleh faktor internal seperti tahap pertumbuhan maupun faktor eksternal seperti lingkungan tempat tumbuh atau hidup (Dwiyitno, 2010). Untuk mengidentifikasi jamur secara molekuler ada beberapa metode umum yang dapat digunakan diantaranya adalah hibridisasi DNA, rasio persentase komposisi basa nitrogen, dan *Polymeration chain of Reaction* (PCR).

Teknik hibridisasi DNA digunakan untuk mengetahui kemungkinan spesies baru dalam suatu kelompok jamur dengan cara memastikan derajat kesamaan antara genom pada spesies yang berbeda. Teknik identifikasi jamur berdasarkan rasio persentase komposisi basa nitrogen dilakukan dengan mengkalkulasi G+C pada genom jamur. Teknik molekuler yang berbasis *Polymeration chain of Reaction* (PCR) dan sekuensing sangat banyak digunakan dalam identifikasi jamur saat ini. *Polymeration chain of Reaction* merupakan salah satu teknik molekuler berupa penggunaan penanda tertentu untuk mempelajari keanekaragaman genetik. Teknik ini melibatkan penempelan primer tertentu yang dirancang sesuai dengan kebutuhan. Tiap primer boleh jadi berbeda untuk menelaah keanekaragaman genetik pada kelompok yang berbeda. Teknik PCR juga merupakan bagian dari identifikasi molekuler dengan sekuensing. Perbedaan dan persamaan sekuen basa nitrogen pada materi genetik menjadi dasar kuat dalam menentukan jenis jamur. Derajat kesamaan

selanjutnya dianalisis dengan pohon filogenetik untuk melihat tingkat intraspecies dan interspecies (Dwiyitno, 2010).

E. Identifikasi Molekuler Menggunakan Sekuen Gen rDNA

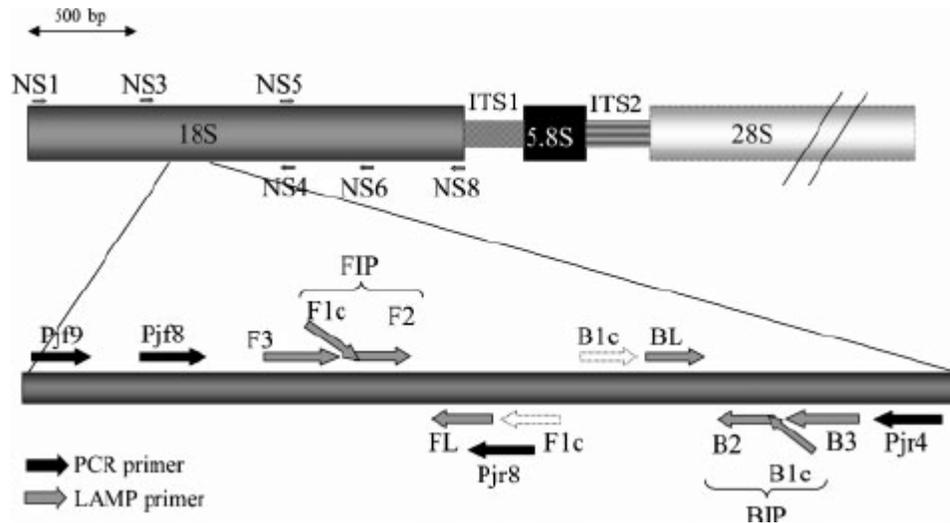
Seperti metode identifikasi genomik pada kebanyakan organisme, pada metode identifikasi jamur juga harus ditentukan fragmen DNA yang akan menjadi target identifikasi. Gen RNA ribosom (rRNA) merupakan gen target universal karena terdapat pada semua mikroorganisme serta memiliki profil filogeni yang spesifik. Perbandingan sekuen pada gen ini dapat digunakan sebagai karakter untuk identifikasi molekuler suatu organisme karena gen ini memiliki sekuen yang konservatif dan variabel. Beberapa ribosomal DNA yang digunakan untuk mengidentifikasi suatu organisme eukaryot hingga tingkat spesies diantaranya *small sub unit* (SSU) (18S), *internal transcribed spacer* (ITS), 5.8 S, *large sub unit* (LSU) (28S), 5S, dan *intergenic spacer* (IGS) ataupun menggunakan mikrotubulus, yakni melalui β -tubulin (Iwen dan Rupp, 2002).

Ada empat wilayah *spacer* yang ditranskripsikan di dalam kompleks gen rDNA jamur. Dua wilayah eksternal berada di wilayah non-kode IGS yaitu di ujung gen 18S dan 28S rDNA (ETS1 dan ETS2) dan dua wilayah internal berada diantara gen 5,8S rDNA (ITS1 dan ITS2). Kedua daerah ETS memuat sekuen yang konservatif namun tidak variabel sehingga tidak cocok digunakan untuk studi filogenetik. Di sisi lain, daerah ITS1 dan ITS2 menunjukkan urutan keragaman yang luas di antara kelompok-kelompok utama mikroorganisme eukariotik dan bahkan dalam spesies organisme

dari kelompok yang sama (Iwen dan Rupp, 2002). Namun, Wilayah ITS1 dan ITS2 terlalu variabel untuk memungkinkan penyelarasan di antara organisme yang tidak sangat erat hubungannya, dan karena itu, tidak cukup berguna untuk menghasilkan hasil yang kuat dalam analisis filogenetik (Hijri dkk., 1999).

Ketiga gen dalam kompleks rDNA telah digunakan dalam penelitian pada evaluasi molekuler jamur. Gen 5,8S berukuran pendek sekitar 160 bp dan sangat konservatif sehingga tidak sesuai untuk studi filogenetik dalam mengklasifikasikan jenis jamur. Gen 28S rDNA, yang berukuran sekitar 3400 bp, juga mengandung daerah yang konservatif dan variabel. Namun ukurannya yang panjang membatasi kegunaan wilayah ini untuk identifikasi spesies (Iwen dan Rupp, 2002). Wilayah gen 18S berukuran sekitar 1800 bp (tidak terlalu pendek dan tidak terlalu panjang) dengan gen yang konservatif dan variabel. Daerah dengan urutan basa konservatif dari organisme memiliki jarak kekerabatan tertentu sehingga berguna untuk mengkonstruksi pohon filogenetik universal. Sedangkan daerah dengan urutan basa yang variatif dapat digunakan untuk melacak keragaman dan menempatkan galur-galur dalam satu spesies (Stackebrandt, 1994). Iwen dan Rupp (2002) juga mengatakan bahwa urutan variasi dalam wilayah ini telah digunakan untuk menilai hubungan taksonomi dari kelompok utama organisme hidup dan untuk memisahkan genera dan spesies berdasarkan urutan polimorfisme. Untuk mengamplifikasi daerah 18S dapat digunakan beberapa jenis primer diantaranya yang paling umum digunakan NS1 sebagai primer *forward* dan NS8 sebagai primer *reverse* (Uemura dkk., 2008).

Skematik posisi primer NS1 dan NS8 pada daerah rDNA dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Skematik posisi primer NS1 dan NS8 pada daerah rDNA (panah). ITS = *internal transcribed spacers*, ETS = *external transcribed spacers*, IGS = *non-transcribed intergenic spacer* (Uemura dkk., 2008).

Dalam teknik analisis sekuen gen 18S rRNA dibutuhkan beberapa tahap, diantaranya :

1. Isolasi DNA Genom

Menurut Fatchiyah dkk. (2011), proses isolasi DNA dilakukan untuk memisahkan DNA jamur dari berbagai komponen sel yang lain, dengan cara memecahkan dinding sel. Pada saat melakukannya harus dijaga agar DNA tidak rusak dan didapatkan DNA dalam bentuk rantai yang panjang.

2. Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Teknik ini merupakan proses mengamplifikasi DNA secara *in vitro*. PCR dikatakan mengamplifikasi karena mempunyai siklus yang berulang-ulang. Pada umumnya siklus PCR sebanyak 35 kali (Dwiyitno, 2010). Teknik PCR menggunakan alat *Thermalcycler* dengan proses siklus meliputi denaturasi, *annealing* dan ekstensi (elongasi).

Siklus denaturasi adalah proses pemutusan ikatan hidrogen yang menyebabkan rantai untai ganda DNA menjadi rantai tunggal sehingga memudahkan untuk tahap selanjutnya. Suhu denaturasi yaitu 95 °C. Siklus *annealing* yaitu proses penempelan primer terhadap DNA target. Proses *annealing* juga tergantung pada panjang untai DNA, banyaknya kandungan GC, dan konsentrasi primer tersebut. Suhu yang dibutuhkan pada proses *annealing* yaitu 55-60 °C. Siklus akan diulang kembali dari proses denaturasi hingga *annealing* sebanyak 35 kali siklus. Tahap selanjutnya ekstensi (elongasi), merupakan proses pemanjangan untai baru DNA, dimulai dari posisi primer yang telah menempel di urutan basa nukleotida DNA target akan bergerak dari ujung 5' menuju ujung 3' dari untai tunggal DNA. Waktu yang dibutuhkan untuk satu kali reaksi elongasi tergantung pada panjang pendeknya ukuran DNA yang diinginkan sebagai produk amplifikasi. Setiap 1 kilobase (1000 bp) yang diamplifikasi memerlukan waktu 1 menit. Sedangkan, jika kurang dari 500 bp waktu yang dibutuhkan hanya 30 detik dan bila panjang DNA kisaran 500 bp tetapi kurang dari 1 kb diperlukan waktu 45 detik dan bila lebih dari 1 kb akan membutuhkan waktu 2 menit di setiap siklusnya.

Selain 3 jenis siklus tersebut, juga ada siklus denaturasi awal dan elongasi akhir. Denaturasi awal merupakan proses persiapan sebelum proses pemutusan ikatan hidrogen (denaturasi) yaitu untuk mengurangi tegangan untai DNA. Sedangkan siklus elongasi akhir yaitu proses merapikan kembali fragmen DNA (Fatchiyah dkk., 2011).

3. Elektroforesis

Prinsip elektroforesis adalah memisahkan molekul DNA berdasarkan berat molekulnya. Molekul yang berat akan bergerak lambat daripada molekul yang ringan. Pada baki elektroforesis terdapat dua kutub yaitu kutub negatif dan positif. DNA memiliki muatan negatif sehingga ditarik ke muatan positif. Komponen-komponen yang diperlukan diantaranya gel agarose yang berfungsi sebagai media yang diletakkan antara kutub katoda dan anoda pada baki elektroforesis. Agarose mempunyai pori-pori yang baik, sehingga memudahkan untuk memisahkan molekul DNA pada waktu elektroforesis. Besar kecilnya konsentrasi agarose tergantung pada besar atau kecilnya fragmen DNA yang dielektroforesis.

Loading dye berfungsi sebagai pewarna dan sekaligus memberatkan DNA karena *loading dye* mengandung sukrosa dan zat warna. Komposisi lainnya ada *Ethidium Bromide* (EtBr) sebagai penanda pita DNA pada waktu elektroforesis, karena EtBr mampu menyelip diantara nukleotida DNA. Terdapat juga *marker* yang berfungsi untuk memudahkan seseorang mengetahui berapa panjang fragmen DNA yang dielektroforesis (bp). *Marker* merupakan kumpulan potongan DNA yang sudah diketahui ukurannya (bp). Larutan yang digunakan untuk elektroforesis adalah larutan

Tris Asetat EDTA (TAE), berfungsi untuk penghantar listrik atau sebagai larutan elektrolit (Fatchiyah dkk., 2011).

4. Analisis Sekuen DNA

Analisis sekuens DNA yaitu menganalisa serta mengurutkan fragmen-fragmen DNA. Tahapan analisis sekuens DNA diantaranya :

a. Sekuensing DNA

Untuk mengetahui urutan basa nukleotida 18S rRNA, dilakukan proses sekuensing. Metode sekuensing telah ada sejak pertengahan 1970-an. Istilah sekuensing DNA mengacu pada metode untuk menentukan urutan nukleotida basa adenin, guanin, sitosin dan timin dalam molekul DNA. Saat ini metode yang digunakan adalah metode Sanger. Prinsip kerja dari metode Sanger yaitu menggunakan *dideoxynucleotide triphosphates* (ddNTPs) untuk menghentikan sintesis DNA. Sejumlah kecil ddNTPs mempunyai pewarna berfluoresen.

Hasil sekuensing berupa kromatogram (grafik). Hasil sekuensing yang baik ditunjukkan oleh puncak/ *pict* grafik kromatogramnya tinggi dan terpisah satu sama lain. Hasil sekuensing yang tidak bagus ditunjukkan oleh puncak/ *pict* kromatogram yang landai dan tidak terpisah satu sama lainnya (Munshi, 2012).

b. *Basic Local Alignment Search Tools Nucleotide (BLAST-N)*

Basic Local Alignment Search Tools Nucleotide merupakan *software* yang digunakan untuk menentukan homologi suatu urutan DNA atau asam amino dengan data yang ada di NCBI (data *GenBank*). *Software* ini memiliki beberapa pilihan menu

sesuai dengan analisis yang akan dikerjakan seperti *nucleotid* BLAST dan *protein* BLAST. Informasi dari hasil BLAST tersebut berupa *Score*, *Query Coverage*, *E-value* dan *Maximum identity*. *Score* adalah jumlah keselarasan semua segmen dari urutan database yang cocok dengan urutan nukleotida. Nilai skor menunjukkan keakuratan nilai penjajaran sekuens berupa nukleotida yang tidak diketahui dengan sekuens nukleotida yang terdapat di dalam *GenBank*. Semakin tinggi nilai skor yang diperoleh maka semakin tinggi tingkat homologi kedua sekuens. *Query coverage* adalah persentasi dari panjang nukleotida yang selaras dengan database yang terdapat pada *BLAST*. *Max identity* adalah nilai tertinggi dari persentasi identitas atau kecocokan antara sekuen *query* dengan sekuen *database* yang tersejajarkan. Nilai *E-value* merupakan nilai dugaan yang memberikan ukuran statistik yang signifikan terhadap kedua sekuen. Nilai *E-value* yang semakin tinggi menunjukkan tingkat homologi antara sekuens semakin rendah, sedangkan nilai *E-value* yang semakin rendah menunjukkan tingkat homologi antar sekuens semakin tinggi. Nilai *E-value* bernilai 0 (nol) menunjukkan bahwa kedua sekuens tersebut identik (Claverie dan Notredame, 2006).

c. Pohon Filogenetik

Filogenetik merupakan analisis dengan melihat sejarah evolusi populasi, sebagai alat untuk memahami proses biologis, menggambarkan hipotesis hubungan antar taksa (genus, spesies, individu) yang diilustrasikan sebagai pohon. Pohon filogenetik merupakan grafik dua dimensi yang menunjukkan hubungan antar

organisme berdasarkan data genetik dan lainnya yang dihasilkan melalui analisis filogenetika.

Filogenetika molekuler mengkombinasikan teknik biologi molekuler dengan statistik untuk merekonstruksi hubungan filogenetika. Paling sedikit, ada tiga tahap penting dalam analisis filogenetika molekuler, yaitu *sequence alignment*, rekonstruksi pohon filogenetika, dan evaluasi pohon filogenetika dengan uji statistik. Tujuan utama dari tahap *alignment* adalah untuk menentukan apakah satu sekuen DNA adalah homolog dengan yang lainnya. *Alignment* yang melibatkan dua sekuen yang homolog disebut *pairwise alignment*, sedangkan yang melibatkan banyak sekuen yang homolog disebut *multiple alignment*. Keberhasilan analisis filogenetika sangat tergantung kepada akurasi proses *alignment*. Saat ini, banyak program komputer tersedia secara gratis di internet untuk membantu proses *alignment*, misalnya ClustalW (Dharmayanti, 2011).

Secara umum metode rekonstruksi pohon filogenetik terdiri atas *distance methods* dan *character based methods* (Nei dan Kumar, 2000). Semua variasi nukleotida selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan beberapa program. Semua tahap untuk membangun pohon filogenetik ini sudah tersedia dalam satu set program, dengan berbagai macam versi, salah satunya adalah program MEGA (Dharmayanti, 2011). *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA) merupakan salah satu *software* yang digunakan secara umum karena kemudahan untuk menjalankan programnya, dan memiliki tiga macam metode rekonstruksi pohon

filogenetik seperti *neighbor joining*, *maximum parsimony*, dan *maximum likelihood* (Tamura dkk., 2011).

Neighbor joining merupakan metode yang sering digunakan dalam merekonstruksi pohon filogenetik. Menurut Dharmayanti (2011), metode *neighbor joining tree* memilih sekuen yang jika digabungkan akan memberikan estimasi terbaik dari panjang cabang yang paling dekat dan merefleksikan jarak yang nyata diantara sekuen. Saitou dan Mei (1998) juga menyatakan bahwa metode *neighbor joining* adalah metode yang paling cocok untuk memprediksi pohon dengan benar ketika panjang cabang dari pohon yang diketahui topologinya berubah dengan cara menstimulasi tingkat yang bervariasi dari perubahan evolusi.

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Dari hasil identifikasi molekuler kesepuluh isolat jamur didapatkan 4 jenis Trichoderma yaitu *T. harzianum*, *T. koningiopsis*, *T. minutisporum*, dan *T. reesei*.
2. Berdasarkan analisis hubungan kekerabatan, tidak ada pola tertentu yang menunjukkan Trichoderma mengelompok berdasarkan daerah asalnya.

B. Saran

Selain mengidentifikasi sekuen gen 18S rRNA, disarankan juga melakukan identifikasi molekuler daerah rDNA lainya (5,8S, 28S, dan ITS) sehingga dapat dibandingkan sekuen terbaik untuk identifikasi jenis dan analisis kekerabatan Trichoderma yang diisolasi dari rizosfer beberapa varietas padi.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. (2018). *Prakiraan Musim Hujan 2018/2019 di Indonesia*. Jakarta: BMKG, Stasiun Klimatologi Padang Pariaman.
- Badan Pusat Statistik. (2017). *Tinggi Wilayah di Atas Permukaan Laut (DPL) Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Sumatera Barat*. Solok: BPS Solok.
- Baker, K., Cook, R., dan James. (1974). *Biological Control of Plant Pathogens*. San Fransisco: WH Freeman and Company.
- Bangol, I., Momuat, L. I., dan Kumaunang, M. (2014). Barcode DNA Tumbuhan Pangi (*Pangium edule*) Berdasarkan Gen matK. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 3(2), 113-119.
- Barnett, H. L., dan Hunter, B. B. (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. USA: American Phytopathological Society (APS Press).
- Berlian, I., Budi, S., dan Hananto, H. (2013). Mekanisme Antagonisme *Trichoderma* spp. Terhadap Beberapa Patogen Tular Tanah. *Warta Perkaretan*, 32(2), 74-82.
- Ciardo, D., Schar, G., Bottger, E. C., Altwegg, M., dan 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.
- Claverie, J., dan Notredame, C. (2006). *Bioinformatics for Dummies*. Indianapolis: John Wiley & Sons.
- Dale, J. W., dan Park, S. F. (2010). *Molecular Genetics of Bacteria*. United Kingdom: John Wiley & Sons, Ltd.
- Dharmayanti. (2011). Filogenetika Molekuler Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi. *Wartazoa*, 21(1), 1-10.
- Dwiyitno, D. (2010). Identifikasi Bakteri Patogen pada Produk Perikanan dengan Teknik Molekuler. *Squalen*, 5(2), 67-77.
- Eveleigh, D. E. (1985). *Trichoderma*. Menlo Park, CA: The Benjamin Cummings Publishing Company Inc.

- Fatchiyah, A. E., Widyarti, S., dan Rahayu, S. (2011). *Analisis Biologi Molekuler*. Jakarta: Erlangga.
- Gandjar, I. R., Sjamsuridzal, W., dan Oetari, A. (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Gandjar, I. R., dan Mien, A. (1999). *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Glick, B. R., Pasternak, J. J., dan Patten, C. L. (2010). *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA*. Washington DC: ASM Press.
- Gomes, E. A., Maria, C. M. B., Everaldo, G. B., Arnaldo, C. A., dan Elza, F. (2002). Polymorphism in The Internal Transcribed Spacer (ITS) of The Ribosomal DNA of 26 Isolates of Ectomycorrhizal Fungi. *Genetics Molecular Biology*, 25(4), 477-483.
- Guarro, J. G., Josepa, S., dan Alberto, M. (1999). Developments in Fungal Taxonomy. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(3), 454-500.
- Gusnawaty, H., Asniah, T., dan Faulika. (2013). Uji Potensi *Trichoderma* Indigenous Sulawesi Tenggara sebagai Biofungisida terhadap *Phytophthora capsici* secara In-vitro. *Jurnal Agroteksos*, 3(3), 139-143.
- Hall, B. G. (2001). *Phylogenetic Trees Made Easy: A How To Manual for Molecular Biologists*. Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Inc.
- Handoyo, R., dan Rudiretna, A. (2001). General Principles and Implementation of Polymerase Chain Reaction. *Unitas*, 9(1), 17-29.
- Harman, G. E. (2000). Myths and Dogmas of Biocontrol Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant disease*, 84(4), 377-393.
- Hastuti, R. (2009). Isolasi dan Identifikasi Jamur Indigenous Rhizosfer Tanaman Kentang dari Lahan Pertanian Kentang Organik di Desa Pakis, Magelang. *Bioma*, 11(2), 45-53.
- Hermawan, E. (2010). Pengelompokan Pola Curah Hujan yang Terjadi di Beberapa Kawasan P. Sumatera Berbasis Hasil Analisis Teknik Spektal. *Jurnal Meteorologi dan Geofisika*, 11(2), 75-85.

- Hidayat, T., dan Adi, P. (2008). Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal AgroBiogen*, 4(1), 35-40.
- Hijri, M., Hosny, M., van Tuinen, D., dan Dulieu, H. (1999). Intraspecific ITS Polymorphism in *Scutellospora castanea* (Glomales, Zygomycota) Is Structured Within Multinucleate Spores. *Fungal Genetics and Biology*, 26(2), 141-151.
- Hillis, D. M., dan Bull, J. J. (1993). An Empirical Test Of Bootstrapping as A Method for Assessing Confidence In Phylogenetic Analyses. *Syst. Biol*, 42, 182-192.
- Holme, D. J., dan Hazel, P. (1998). *E-book: Analytical Biochemistry Third Edition*. England: Pearson Education.
- Howell, C. (2003). Mechanisms Employed by Trichoderma Species in The Biological Control of Plant Diseases: The History and Evolution of Current Concepts. *Plant Disease*, 87(1), 4-10.
- Husen, E., dan Saraswati, R. (2007). *Metode Analisis Biologi Tanah*. Bogor: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Indrawan, M. (2007). *Biologi Konservasi*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Iwen, P. C., dan Rupp, S. H. (2002). Utilization of The Internal Transcribed Spacer Regions as Molecular Targets to Detect and Identify Human Fungal Pathogens. *Medical Mycology*, 40(1), 87-109.
- Jamsari. (2007). *Bioteknologi Pemula (Prinsip Dasar dan Aplikasi Analisis Molekuler)*. Pekanbaru: UNRI Press.
- Khairati, R., dan Syahni, R. (2016). Respons Permintaan Pangan Terhadap Pertambahan Penduduk Di Sumatera Barat. *Jurnal Pembangunan Nagari*, 1(2), 18.
- Kshikhundo, R., dan Shayaletu, I. (2016). Bacterial Species Identification. *World News of Natural Sciences*, 3, 26-38.
- Kubicek, C. P., John, D., Irina, K. G., Cornelia, S., dan George. (2003). Genetic and Metabolic Diversity of Trichoderma: A Case Study on South-East Asian Isolates. *Fungal Genetics*, 38(3), 310-319.

- Kumar, S., Stecher, G., dan Tamura, K. (2016). *MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets*. London: Oxford University Press.
- Kurtzman, C. P. (2003). Phylogenetic Circumscription of *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* and Other Members of The *Saccharomycetaceae*, and The Proposal of The New Genera *Lachancea*, *Nakaseomyces*, *Naumovia*, *Vanderwaltozyma* and *Zygorulasporea*. *FEMS yeast research*, 4(3), 233-245.
- Li, Y. P., Yang, B. S., Wang, H., Zia, R. X., Wang, L., Zhang, Z. H., Qil, L., dan Liu, Y. Q. (2009). Mitochondrial DNA Analysis Reveals A Low Nucleotide Diversity of *Caligula japonica* in China. *Afr J Biotechnol*, 8(12), 2707-2712.
- McGill. (2012). *DNA Sequencing*. <http://www.sciencebiotech.net/tag/dna-sequencing>. Diakses 31 Januari 2019.
- Mckane, L., dan Kandel J. (1986). *Microbiology: Essentials and Applications Megraw*. New York: Hillbook Company.
- Miller, G. T. (2002). *Living in the Environment*. Belmont: Wadsworth Publishing Company.
- Moore-Landecker, E. (1996). *Fundamentals of The Fungi, Second Edition*. New Jersey: Prentice-Hall, Inc.
- Mount, D.W. (2001). *Phylogenetic Prediction*. In: *Bioinformatic, Sequence and Genome Analysis*. New York: Cold Spring Harbor laboratory.
- Munshi, A. (2012). *DNA Sequencing – Methods and Applications*. Rijeka, Croatia: InTech.
- Nei, M. dan Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York: Oxford University Press.
- Nugroho, T. T., Rambe, E., Dewi, A., Fitri, R. M., Sepryani, H., Restuhadi, F., dan Haryani, Y. (2013). Optimasi Isolasi dan Amplifikasi ITS DNA Ribosomal Fungi Karbolitik Isolat Zona Inti Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu. *Prosiding Semirata Universitas Lampung*, 407-412.
- Nurnayetti, A. (2013). Keunggulan Kompetitif Padi Sawah Varietas Lokal Di Sumatera Barat. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian*, 16(2), 102-110.

- Ostell, J. M., Wheelan, S. J., dan Kans, J. A. (2001). The NCBI Data Model. *Methods Biochem Anal*, 43, 19-43.
- Palupi, T., Ilyas, S., Machmud, M., dan Widajati, E. (2013). Coating Benih dengan Agen Hayati untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Padi. *J. Agron. Indones*, 41(3), 175-180.
- Pitt, J., Hocking, I., dan Ailsa, D. (2009). *The Ecology of Fungal Food Spoilage*. London: Springer.
- Purwantara, S. (2011). Studi Temperatur Udara Terkini di Wilayah di Jawa Tengah dan DIY. *Jurnal Informasi*, (2), 166-179.
- Rahalus, M., Kumaunang, M, Wuntu, A., dan Pontoh, J. (2015). Barcode DNA Edelweis (*Anaphalis javanica*) Berdasarkan Gen matK. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 4(2), 131-136.
- Saitou, N., dan Mei, M. (1998). The Neighbor Joining Method: A New Method for Constructing Phylogenetic Trees. *Mol. Biol. Evol*, 4, 406-425.
- Sandy, Y., Djauhari, Syamsuddin, S., dan Antok, W. (2016). Identifikasi Molekuler Jamur Antagonis *Trichoderma Harzianum* Diisolasi dari Tanah Pertanian Di Malang, Jawa Timur. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*, 3(3), 1-8.
- Santika, A., dan Rozakurniati. (2010). Teknik Evaluasi Mutu Beras dan Beras Merah pada Beberapa Galur Padi Gogo. *Buletin Teknik Pertanian*, 15(1), 1-5.
- Sartika, I., Azwir, A., dan Irdawati. (2017). Respon Tinggi Benih Padi Gogo Situ Bagendit (*Oryza sativa* L.) Terhadap Beberapa Asal Isolat *Trichoderma* spp. *Journal Biosains*, 1(2), 7.
- Singh, A., Shahid, M., dan Srivastava, M. F. (2014). Identification of *Trichoderma atroviride* TAU8/7445 Strain by Sequencing of 18S rRNA Gene. *Indian J. Agric. Biochem*, 27, 85-87.
- Stackebrandt, G. B. (1994). Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in The Present Species Definition in Bacteriology. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, 44(4), 846-849.
- Sutariati, G., dan Safuan, L. (2012). Perlakuan Benih dengan Rizobakteri Meningkatkan Mutu Benih dan Hasil Cabai (*Capsicum annum* L.). *J. Agron*, 40(2), 131-125.

- Swofford, D. L., Olsen, G. J., Waddell, P. J. dan Hills, D. M. (1996). *Phylogenetic inference. In: Molecular Systematics*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Syahputra, M. H., Azwir, A., dan Irdawati. (2017). Isolasi *Trichoderma* spp. dari Beberapa Rizosfer Tanaman Padi Asal Solok. *Journal Biosains*, 1(2), 9.
- Tampudu, S., Rahim, M. R., dan Russeng, S. S. dan (2010). Gambaran Kadar Cholinesterase Darah Petani Penyemprot Pestisida di Desa Minasa Baji Kab. Maros. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia Universitas Hasanuddin*, 6(2), 102-107.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., dan Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol*, 28(10), 2731-2739.
- Theobald, D. (2004). *Evidence for Macroevolution "Phylogenetic Primer"*. <http://www.talkorigins.org/faqs/comdesc/phylo.html>. Diakses 9 Desember 2018.
- Trianto, A., Sabdono, A., Rochaddi, B., Triningsih, D. W., dan Zilda, D. S. (2018). Identification Sponges-Associated Fungi from Karimunjawa National Park. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 116(1), 1-5.
- Ubaidillah, R., dan Sutrisno, H. (2009). *Pengantar Biosistemik: Teori dan Praktikum*. Jakarta: LIPI Press.
- Uemura, N., Makimura, K., Onozaki, M., Otsuka, Y., Shibuya, Y., Yazaki, H., Kikuchi, Y., Abe1, S., dan Kudoh, S. (2008). Development of A Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Diagnosing Pneumocystis Pneumonia. *Journal of Medical Microbiology*, 57, 50-57.
- Usha, S., dan Padmavathi, T. (2013). Effect of Plant Growth Promoting Microorganisms from Rhizosphere of *Piper nigrum* L. *J Pharm Bio Sci*, 4(1), 835-846.
- Vinale, F. S., Krishnapillai, G., Emilio, L. M., Roberta, W., Sheridan, L., dan Matteo. (2008). Trichoderma-Plant-Pathogen Interactions. *Soil Biology Biochemistry*, 40(1), 1-10.
- Wu, Z., Tsumura, Y., Blomquist, G., dan Wang, X. R. (2003). 18S rRNA Gene Variation Among Common Airborne Fungi, and Development of Specific

Oligonucleotide Probes for The Detection of Fungal Isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9), 5389-5397.

Yang, Z., dan Bruce, R. (2012). Molecular Phylogenetics: Principles and Practice. *Nature reviews genetics*, 13(5), 303.

Yulipriyanto, H. (2010). *Biologi Tanah dan Strategi Pengelolaannya*. Yogyakarta: Graha Ilmu.