

PEMETAAN KEBERADAAN CENDAWAN PATOGEN TULAR TANAH *Rhizoctonia solani* DAN *Phytophthora nicotianae* DI LAHAN TANAMAN TEMBAKAU PADA ENAM KABUPATEN DI JAWA TIMUR

*The Soil Borne Pathogen Mapping of Fungus *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora nicotianae* in Tobacco in Plant Lands at Six Regency in East Java*

Anshori¹, Abdul Majid^{1*}, Hardian Susilo Addy¹

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember
Jalan Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto, Jember 68121

*E-mail: Majidhpt@gmail.com

ABSTRACT

Soil borne fungal pathogen is one type of pathogen that infects tobacco plants and can reduce productivity of tobacco plant. Some of soil borne fungal pathogens such as *Rhizoctonia solani* can causes the disease (*damping off*) in tobacco plant. Besides that, *Phytophthora nicotianae* is also one of important pathogens that can cause black shank disease in tobacco plant. Based on the disruption caused by the soil borne fungal pathogens, it would require an early detection to determine the existence of such soil borne fungal pathogens in a land in an area. Early detection can be performed using a molecular tool such as *Polymerase Chain Reaction* (PCR) as a rapid method for detecting the presence of soil borne fungal pathogens. Eighteen soil samples that were tested have known to have different fungal infestation and variations levels. The highest level of infestation was on the three areas in Probolinggo, while the variation in the average level of each region had the same variation level of fungus. The process of DNA amplification by PCR were performed to *R. solani* fungus and were known that DNA bands successfully amplified from samples in Tanjung rejo, Tutul, Selomukti and Maskuning wetan. While for fungi *P. nicotianae* amplified DNA bands in the lane area Kabat and Sumber anyar.

Keywords: mapping; Mapping; Soil borne pathogen; *R. solani*; *P. nicotianae*; PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

ABSTRAK

Cendawan patogen tular tanah merupakan salah satu jenis patogen yang menginfeksi tanaman tembakau dan dapat menurunkan produktivitas tanaman tembakau. Beberapa cendawan patogen tular tanah seperti cendawan *Rhizoctonia solani* dapat menyerang yang menyebabkan penyakit (*damping off*) pada tanaman tembakau. Selain itu cendawan *Phytophthora nicotianae* juga merupakan salah satu patogen penting yang dapat menyebabkan penyakit lanas pada tanaman tembakau. Berdasarkan adanya gangguan yang disebabkan oleh cendawan patogen tular tanah tersebut, maka diperlukan suatu deteksi dini untuk mengetahui keberadaan cendawan patogen tular tanah tersebut pada suatu lahan di suatu daerah. Deteksi dini dapat dilakukan dengan menggunakan pendekatan secara molekuler dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sebagai suatu metode cepat untuk mendeteksi keberadaan cendawan patogen tular tanah. Delapan belas sampel tanah yang diujikan diketahui mempunyai tingkat infestasi dan variasi yang berbeda-beda. Tingkat infestasi tertinggi terdapat pada tiga daerah di Kabupaten Probolinggo, sedangkan pada tingkat variasi rata-rata setiap daerah mempunyai tingkat variasi cendawan yang sama. Proses amplifikasi DNA dengan PCR yang dilakukan untuk cendawan *R. solani* diketahui pita DNA teramplifikasi pada lane daerah Tanjung rejo, Tutul, Selomukti dan Maskuning wetan. Sedangkan untuk cendawan *P. nicotianae* pita DNA teramplifikasi pada lane daerah Kabat dan Sumber anyar.

Kata kunci: Pemetaan; Patogen Tular Tanah; *R. solani*; *P. nicotianae*; PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

How to cite: Anshori., A. Majid and H. S., Addy. 2015. Pemetaan Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah *Rhizoctonia solani* dan *Phytophthora nicotianae*. Di Lahan Tembakau pada Enam Kabupaten di Jawa Timur. Berkala Ilmiah Pertanian 1(1): xx-xx

PENDAHULUAN

Tanaman tembakau mempunyai arti penting terhadap peningkatan devisa negara Indonesia dari sektor pertaniannya (Hasan dan Darwano, 2013). Besar kecilnya suatu hasil produksi tanaman tembakau dapat dipengaruhi oleh gangguan patogen yang dapat mengganggu pertumbuhan tanaman tembakau tersebut. Salah satunya yaitu patogen tular tanah (Nurhayati 2013). Salah satu patogen tular tanah dari jenis cendawan yang dapat menginfeksi tanaman tembakau yaitu *Phytophthora nicotianae*. Biasanya cendawan *P. nicotianae* ini rentan menginfeksi dan menyerang tanaman tembakau pada stadia bibit (Sullivan, 2005). Cendawan *P. nicotianae* dapat berkembang baik pada tanah bersuhu 20 °C dengan keadaan tanah yang lembab. Keadaan seperti itu akan mempengaruhi perkembangan perkembangan cendawan *P. nicotianae* tersebut (Hidayah dan Djajadi 2009). Selain cendawan *P. nicotianae* tersebut, cendawan patogen tular tanah jenis yang lain yang dapat menginfeksi tanaman tembakau adalah cendawan *Rhizoctonia solani* yang menyebabkan penyakit rebah kecambah (*damping off*) pada tanaman tembakau. Cendawan *R. solani* dapat

bertahan hidup di dalam tanah atau pada sisa – sisa tanaman yang tertinggal dalam bentuk hifa atau sklerotia dan bersifat sebagai parasit fakultatif. Selama cendawan tersebut masih belum menemukan tanaman inangnya, maka cendawan tersebut akan hidup sebagai saprofit (Sumartini, 2011).

Berdasarkan permasalahan yang disebabkan oleh beberapa cendawan patogen tular tanah (*Soilborne Pathogen*) tersebut, diperlukan suatu upaya pendeteksian dini untuk menentukan strategi pengendalian yang tepat (Badan Karantina Pertanian, 2008). Menurut Handoyo dan Rudiretna (2001) salah satu bentuk pendeteksian dini patogen tular tanah dapat dilakukan dengan menggunakan metode biologi molekuler yaitu teknik *Polymerase Chain Reacton* (PCR). PCR digunakan untuk mengamplifikasi fragmen DNA spesifik secara *in vitro* yang dilakukan dengan menggunakan 2 primer untai tunggal pendek (Sulistyaningsih, 2007). Penelitian tentang deteksi patogen tular tanah yang menggunakan teknik PCR ini sebelumnya sudah pernah dilakukan, salah satunya yang pernah dilakukan oleh Ippolito *et al.* (2002) tentang deteksi cendawan patogen *P. nicotianae* dari tanah menggunakan teknik PCR. Selain itu juga penelitian yang dilakukan

oleh Guillemaut *et al.* (2003) tentang pengklasifikasian patogen *R. solani* berdasarkan anastomosis grupnya menggunakan teknik PCR.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di lahan tembakau di enam kabupaten serta di lakukan uji laboratorium di laboratorium CDAST (*Center for Development Advance Science and Technology*) Universitas Jember dengan waktu penelitain Oktober 2014 – Mei 2015. Penelitian ini menggunakan Bahan sampel tanah, media *Potato Dextor Agar* (PDA), buah apel, biji kedelai, tanah steril, *Master mix solution* merk KAPA, buffer TBE (*Trish boris acid EDTA*), RNAse, Sepasang Primer PCR spesifik target, cetakan DNA, gel agarose, Etidium bromide (*Etbr*), ddH₂O, etanol 70%, etanol 96%, sodium asetat, Marker 1 kb merk Intron. Peralatan yang digunakan yaitu cawan petri, erlenmeyer, beaker glass, kamera, mikro pipet, tabung eppendorf, botol falcon, vortex, *sentrifuse*, *Shaker*, *autoclaf*, *laminar air flow*, PCR tubes, mesin PCR, wadah elektroforesis, dan UV *gell documentmation*.

Sampling Tanah. Pengambilan sampel menggunakan metode survei dengan mengambil sampel tanah 5 titik pengambilan sampel sesuai dengan luas lahan dengan menggunakan metode diagonal random sampling masing-masing diambil tanah ± 1 kg tiap titik pengambilan pada daerah dekat perakaran tanaman kedalaman ± 30 cm. Semua tanah sampel disimpan dalam refrigerator dengan suhu 4°C.

Tabel 1. Lahan pengambilan sampel tanah

Kota	Wilayah I	Wilayah II	Wilayah III
Jember	Tutul	Karangsono	Tanjungrejo
Bondowoso	Patemon	Maskuning Wetan	Maskuning Kulon
Lumajang	Besuk	Tekung	Munder
Situbondo	Bloro	Demung	Silomukti
Banyuwangi	Pakistaji	Karangbendo	Kabat
Probolinggo	Sumberrejo	Karanganyar	Sumberanyar

Sampel tanah diambil dengan menggunakan metode Diagonal Random Sampling agar dapat mewakili lahan yang diambil sebanyak 1 kg per sampel. Tanah sampel yang diambil tersebut kemudian diletakan dalam Ice Box. Setiap Kabupaten dilakukan pengambilan sampel tanah pada tiga desa yang setiap tahunnya menanam tanaman tembakau.

Isolasi Cendawan dari Tanah. Isolasi cendawan dari tanah dilakukan dengan teknik pengenceran bertingkat yaitu dengan melarutkan 5 gram tanah sampel ke dalam 50 mL akuades steril dan kemudian di Shaker selama 24 jam (over night). Pengenceran dilakukan secara berseri hingga konsentrasi 10⁻⁷ g/mL. Kemudian sebanyak 100 µl suspensi pada setiap pengenceran diratakan pada permukaan media PDA. Kemudian diinkubasi selama 5 hari pada suhu 28°C. Setelah itu dilakukan pengamatan dan dilakukan perhitungan jumlah variasi dan populasi cendawan dengan menghitung jumlah koloni yang ada dalam satuan koloni forming unit (CFU) menggunakan rumus :

$$CFU/ml/g = \frac{\Sigma a}{b \times c \times d}$$

Keterangan :

a = jumlah koloni bakteri

b = tingkat pengenceran yang dilakukan

c = volume suspensi yang digunakan

d = berat tanah yang diamati

Ekstraksi Total DNA Cendawan dalam Tanah. Ekstraksi Total DNA patogen tular tanah tersebut dilakukan dengan mengkulturkan terlebih dahulu cendawan dari tanah tersebut selama 5 hari dalam cawan petri dengan mengambil tanah sebanyak 5 gram dan ditetesi dengan media cair potato dextrose borth (PDB). Selanjutnya sebanyak 2 gram tanah tersebut dimasukan kedalam tabung falcon dan ditambahkan NaCl fisiologis sebanyak 18 mL kemudian di Shaker

selama 24 jam (over night) dengan kecepatan 80-100 rpm dan didiamkan selama 24 jam (over night). Mengambil sebanyak 5 mL larutan tanah yang didiamkan selam 24 jam dan dipindahkan ke tabung eppendorf kemudian disentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 7000 rpm. Endapan pelet yang dihasilkan pada tabung eppendorf tersebut ditambahkan 500 µl bufeer TE dan 1:1 larutan Phenol cloroform isoamyl alcohol (PCI) dishaker dan disentrifuse 12000 rpm 4°C selama 10 menit. Ambil 250 µl larutan tersebut pada tabung eppendorf baru kemudian tambahkan 10 % larutan sodium asetat dan 2,5 kali larutan etanol 96%, inkubasi selama 1 jam pada suhu -20°C. Setelah disimpan selama 1 jam kemudian disentrifuse 12000 rpm 4 °C selama 10 menit. Buang supernatan dan tambahkan 500 µl etanol 70 % kemudian disentrifuse kembali 12000 rpm 4°C selama 5 menit. Buang kembalin supernatan dan kering anginkan tabung eppendorf tersebut. Setelah itu tambahkan buffer TE sebanyak 100 µl dan RNAse 3µl.

Proses PCR dan Visualisasi Pita DNA. Proses PCR pada cendawan *Phytophthora nicotianae* dan *Rhizoctonia solani* dilakukan dalam campuran 12,5 µl master mix merk KAPA, 9,5 µl ddH₂O, 1 µl primer F, 1 µl primer R dan 1 µl DNA template. Metode PCR untuk masing – masing DNA primer dilakukan secara terpisah,. Menurut Zheng A. et al. (2011), spesifik primer DNA untuk *R. solani* menggunakan primer RhizITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') dan RhizITS4R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). Sedangkan spesifik primer *P. nicotianae* menurut Li, *et al.* (2011) menggunakan PhyNic1F (5'-CCTATCAAAAACAAGGCGAACC-3'), dan PhyNic1R (5'-TGGCATACTTCCAGGACT AACC-3'). Amplikasi DNA cendawan *P. nicotianae* dilakukan pada kondisi Predenaturasi suhu 95°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 35 siklus Denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, Annealing pada suhu 66°C selama 30 detik, Elongasi 72°C selama 1 menit dan final Elongasi 72°C selama 5 menit. Sedangkan amplifikasi untuk cendawan *R. solani* dilakukan pada kondisi Predenaturasi suhu 94°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 35 siklus Denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, Annealing pada suhu 56°C selama 1 menit, Elongasi 72°C selama 1 menit dan final Elongasi 72°C selama 5 menit. Setelah hasil amplifikasi terlihat, kemudian hasil tersebut dielektroforesis pada gell agarosa 1% dengan bufer TBE dan campuran *Ethidium Bromide* (*EtBr*). Kemudian masukan 3µl marker merk Intron dengan (1 kb) dan 5µl sampel DNA yang telah dicampur dengan 1µl sampel loading dye kedalam lubang sampel pada cetakan. Setelah itu, mengalirkan arus listrik 50 Volt selama 10 menit kemudian 75 Volt ± 1 jam hingga penanda loading dye berada sekitar 1 cm batas samping. Gel kemudian divisualisasi sinar ultraviolet dengan menggunakan alat UV gell documentation System Major Science.

Perhitungan Indeks Potensi Penyakit. Metode yang digunakan merupakan metode kuantitatif untuk mempelajari distribusi cendawan dalam tanah serta untuk memperkirakan potensi penyakit. Untuk memperoleh berbagai tingkat infestasi pada tanah maka pengenceran dilakukan dengan tanah steril. Pengenceran dilakukan dengan mengambil 200 ml tanah dan dibagi menjadi dua bagian yang sama. Kemudian setengah bagian tersebut ditambahkan dengan 100 ml tanah steril. Tanah tersebut kemudian diaduk dan dibagi menjadi dua bagian lagi, kemudian setengah bagian tanah tersebut ditambahkan lagi 100 ml tanah steril. Hal tersebut dilakukan hingga pengenceran kelima

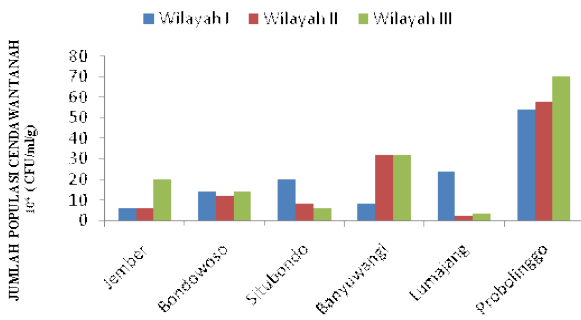
Hasil pengenceran yang sebelumnya sudah ditambahkan dengan air steril kemudian diletakan dalam buah apel. Setelah itu diadakan pengamatan timbulnya gejala penyakit *P. nicotianae* pada buah apel tersebut setelah diinkubasi selama 6 hari dengan indikator busuk basah dan warna coklat pada buah. Tanah dengan tingkat infestasi cendawan yang menghasilkan infeksi pada buah apel yang berbeda – beda. Sedangkan untuk cendawan *R. solani* yaitu ditumbuhkan dengan menggunakan metode trap dengan biji kedelai yang diletakan diatas tanah tersebut. Selanjutnya diinkubasi selama 6 hari kemudian diamati apakah terdapat cendawan *R. solani* atau tidak. Indeks Potensi Penyakit (IPP) dapat ditunjukkan oleh pengenceran yang tertinggi yang masih dapat menimbulkan gejala penyakit. Kemudian IPP yang dihasilkan

oleh pengenceran dari masing – masing sampel tanah tersebut dibandingkan sehingga akan diperoleh daerah mana yang mempunyai IPP tertinggi.

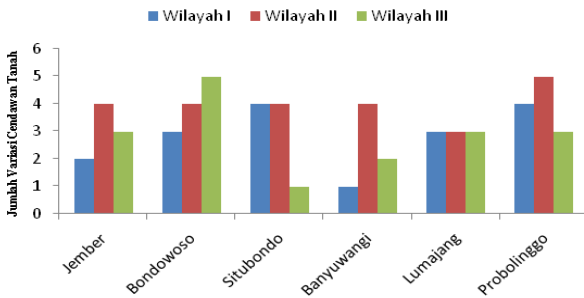
Pembuatan Peta Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah. Pembuatan peta keberadaan cendawan patogen tular tanah tersebut dilakukan dengan menggunakan bantuan aplikasi Google Map Inc. untuk memudahkan dalam proses pembuatan. Peta dibuat dengan memperhatikan sebaran patogen yang dihasilkan di beberapa wilayah tersebut.

HASIL

Isolasi Cendawan Tanah. Perhitungan jumlah populasi cendawan serta variasi jenis cendawan yang diisolasi dapat mengetahui keadaan jasad mikroba dalam tanah serta potensi serangan penyakit pada tanaman tembakau terutama yang disebabkan oleh patogen tular tanah tersebut.



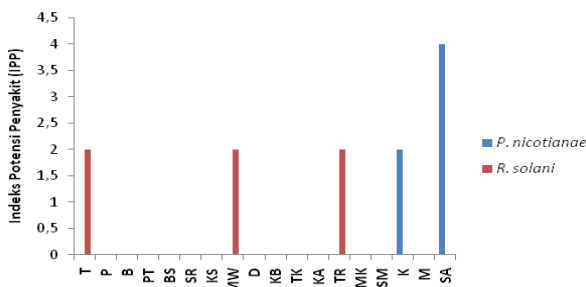
Gambar 1. Grafik jumlah populasi cendawan tanah dalam satuan CFU/ml/g



Gambar 2. Grafik jumlah variasi cendawan tanah dalam satuan

Grafik populasi cendawan (Gambar 1.) tertinggi dari beberapa wilayah yang diisolasi berdasarkan jumlah koloni cendawan yang terbentuk terdapat di Kabupaten Probolinggo yaitu di wilayah Sumberrejo, Karanganyar dan Sumberanyar. Variasi cendawan tanah dapat dilihat pada grafik variasi (Gambar 2.) diperoleh bahwa pada semua wilayah rata-rata mempunyai jumlah variasi cendawan tanah yang sama.

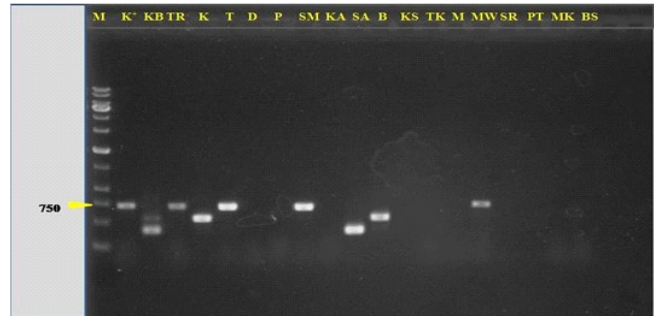
Indeks Potensi Penyakit. Perhitungan indeks potensi penyakit pada sampel tanah di beberapa wilayah dilakukan untuk mengetahui seberapa besar potensi cendawan patogen tular tanah dapat menimbulkan gejala serangan pada tanaman tembakau. Grafik Hasil perhitungan indeks potensi penyakit dapat ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Indeks Potensi Penyakit (IPP) pada beberapa wilayah

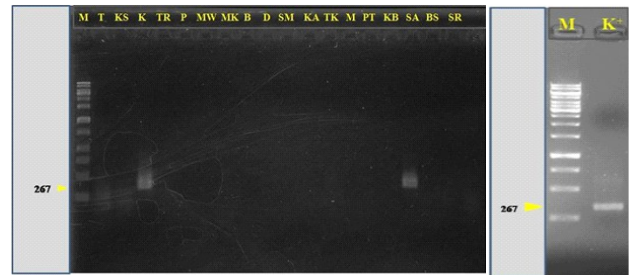
Perhitungan indeks potensi penyakit (IPP) yang dilakukan pada dua patogen tersebut menunjukkan pada wilayah Sumberanyar (SA) mempunyai IPP tertinggi untuk patogen *P. nicotianae*, sedangkan pada wilayah Tutul (T), Maskuning wetan (MW), dan Tanjungrejo (TR) mempunyai nilai IPP yang sama untuk patogen *R. solani*.

Deteksi Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah dengan Teknik PCR. Hasil deteksi keberadaan cendawan patogen tular tanah cendawan *R. solani* dengan teknik PCR yang dilakukan pada tanah sampel dari beberapa wilayah ditunjukkan pada Gambar 4, sedangkan hasil PCR deteksi keberadaan cendawan *P. nicotianae* ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 4. Visualisasi hasil PCR cendawan *Rhizoctonia solani* menggunakan primer RhizITS1F dan RhizITS4R DNA

Hasil PCR untuk patogen *R. solani* pada proses elektroforesis dengan gel agarose 1%, (50 V 10 menit, 75 l jam) menunjukkan bahwa terdapat DNA yang tervisualisasi dengan primer RhizITS1-F dan RhizITS4R dari empat titik sampel yaitu baris 2 (KB), baris 4 (T), baris 7 (SM) dan baris 14 (MW) dengan ukuran 750 bp.



Gambar 5. Visualisasi hasil PCR cendawan *Phytophthora nicotianae* dengan primer PhyNicF1 dan PhyNicR1

Hasil PCR untuk patogen *P. nicotianae* dengan primer PhyNicF1 dan PhyNicR1 muncul pita DNA dari dua titik sampel yaitu baris 3 (K), dan lan 16 (SA) dengan ukuran 267 bp. sedangkan pada baris yang lain tidak muncul pita DNA pada ukuran 267 bp.

Pemetaan Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah. Peta keberadaan cendawan patogen tular tanah *R. solani* dan *P. nicotianae* ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Peta keberadaan patogen tular tanah *R. solani* dan *P. nicotianae* pada beberapa daerah titik pengambilan sampel

Berdasarkan peta keberadaan cendawan patogen tular tanah patogen *R. solani* dan *P. nicotianae* diatas menunjukkan bahwa tidak semua wilayah terdeteksi kedua patogen tersebut. Patogen *R. solani* terdeteksi pada empat wilayah, yaitu: Selomukti, Maskuning Wetan, Tanjungrejo dan Tutul, sedangkan patogen *P. nicotianae* terdeteksi di dua wilayah, yaitu: Sumberanyar dan Kabat. Selain keenam wilayah yang terdeteksi *R. solani* dan *P. nicotianae* di atas tidak terdeteksi patogen *R. solani* dan *P. nicotianae* dan tidak terdeteksi keduanya.

PEMBAHASAN

Investasi cendawan tanah di beberapa wilayah menunjukkan bahwa pada wilayah Kabupaten Probolinggo tersebut mempunyai tingkat investasi mikroba khususnya cendawan yang cukup tinggi. Menurut Brown *et al.* (1984), semakin banyak jumlah dan macam spesies patogen tular tanah di dalam tanah maka semakin besar pula peluang akan terjadinya serangan penyakit pada tanaman (Nurhayati, 2013) sehingga dapat diketahui bahwa peluang terjadinya serangan penyakit pada tanaman yang paling tinggi yaitu di Kabupaten Probolinggo, meliputi wilayah Sumberrejo, Karang anyar dan Sumber anyar. Jumlah variasi cendawan tanah pada semua wilayah rata-rata mempunyai jumlah variasi cendawan tanah yang sama. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada semua wilayah tersebut di atas mempunyai keragaman jasad mikroba khususnya cendawan dalam tanah yang sama. Menurut Wulandari (2013), tingkat variasi mikroba dalam tanah dapat dijadikan tanda tingkat kesuburan tanah tersebut, artinya semakin tinggi jumlah mikroba dalam tanah maka tingkat kesuburan tanahnya semakin tinggi. Berdasarkan data tersebut apabila ditinjau dari jumlah dan variasi jasad mikroba khususnya cendawan yang ada dalam tanah menunjukkan pada beberapa wilayah tersebut mempunyai tingkat kesuburan tana yang relatif sama.

Berdasarkan data IPP dapat diketahui bahwa wilayah wilayah Sumberanyar (SA) mempunyai potensi paling tinggi untuk menimbulkan gejala serangan patogen *P. nicotianae* pada tanaman tembakau, sedangkan pada ketiga wilayah yaitu Tutul (T), Maskuning Wetan (MW), dan Tanjungrejo (TR) mempunyai potensi yang sama untuk menimbulkan gejala serangan pada tanaman tembakao oleh patogen *R. solani*. Tinggi rendahnya indeks potensi penyakit cendawan dipengaruhi oleh faktor lingkungan tanah yang mempengaruhi ketahanan hidup inokulum, kapasitas inokulum dan makanan yang diperlukan oleh inokulum (Hadi, 1974). Pada hasil IPP dari daerah yang terdeteksi adana patogen *R. solani* dan *P. nicotianae* indeks potensi penyakitnya dipengaruhi oleh kapasitas inokulum yang ada didalam tanah cukup rendah sehingga pada saat pengenceran perhitungan IPP tidak menimbulkan gejala penyakit.

Keragaman pita pada hasil visualisasi DNA dari *R. solani* dikarenakan kondisi optimal pada proses PCR dipengaruhi oleh komponen reaksi PCR (DNA, Primer, dNTP, dan Mg^{2+}), spesifitas primer dan jumlah siklus PCR (Ahmed, 2006). Berdasarkan hasil deteksi PCR untuk keberadaan cendawan *R. solani* dan *P. nicotianae* pada semua wilayah terdapat beberapa wilayah yang tidak terdeteksi adanya kedua cendawan tersebut dengan teknik PCR. Hal tersebut dikarenakan ada dua kemungkinan yang dapat menyebabkan hal tersebut yaitu, pada lahan tersebut memang tidak terdapat DNA dari kedua cendawan tersebut sehingga tidak terdeteksi keberadaannya. Selain itu tidak terdeteksinya DNA dari kedua cendawan tersebut dikarenakan konsentrasi DNA cendawan-cendawan tersebut dalam tanah sangat rendah di bawah batas deteksi PCR. Hal tersebut berdasarkan pendapat Huang *et al.* (2010) menyatakan bahwa deteksi DNA cendawan menggunakan teknik PCR konvensional dapat mendeteksi DNA dengan konsentrasi minimum DNA sebesar 10 pg/ μ l. Sehingga apabila konsentrasi DNA cendawan dalam tanah tersebut

dibawah batas minimum itu maka DNA tidak akan terdeteksi oleh PCR.

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi keberadaan cendawan tersebut dalam tanah pada suatu wilayah seperti sifat-sifat tanah, kandungan yang terdapat dalam tanah serta pola budidaya petani pada daerah tersebut. Menurut Otten dan Gilligan (1998) penyebaran, daya tular, daya tahan dan perkembangan populasi mikroorganisme tanah dipengaruhi oleh sifat-sifat tanah baik sifat biologi, fisik dan kimia tanah (Hidayah, 2009). Informasi yang diperoleh dari para petani pada daerah-daerah tersebut, rata-rata para petani tembakau tersebut jarang sekali menggunakan pupuk organik untuk memupuk tanaman tembakau mereka. Selain itu pola tanam petani dalam menanam tanaman tembakau juga berpengaruh terhadap keberadaan cendawan patogen *R. solani* dan *P. nicotianae*. Berdasarkan informasi petani lahan yang diambil sebagai sampel tersebut setiap tahunnya selalu ditanami tanaman tembakau secara terus menerus sehingga berpotensi tinggi mengalami serangan penyakit. Menurut Hidayah, dkk. (2009), daerah yang mempunyai kadar bahan organik yang rendah dibawah 0,63 % mempunyai potensi serangan penyakit yang cukup tinggi. Selain itu juga kebanyakan perkembangan patogen tertekan pada pH tanah yang tinggi. Hal tersebut dikarenakan pH tanah yang tinggi menyebabkan kondisi lingkungan tidak sesuai dengan perkembangan patogen seperti menghambat pertumbuhan zoospora sehingga mengurangi kemampuan patogen untuk menginfeksi tanaman.

KESIMPULAN

1. Deteksi secara molekuler menggunakan metode PCR mampu mendeteksi adanya keberadaan cendawan patogen tular tanah *R. solani* dan *P. nicotianae*.
2. Sampel tanah yang diambil dari daerah Tanjungrejo dan Tutul Kabupaten Jember, Selomukti kabupaten Situbondo, Maskuning Wetan terdeteksi adanya patogen tular tanah *R. solani*. Untuk patogen tular tanah *P. nicotianae* terdeteksi pada wilayah Sumberanyar Kabupaten Probolinggo, dan Kabat Kabupaten Banyuwangi.

DAFTAR PUSTAKA

- Guillemaut C. 2003. Typing of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* by restriction analysis of ribosomal DNA. *Can. J. Microbiol.* 49:556-568.
- Hadi S, R Suseno, J Sukataria. 1974. *Patogen Tanaman dalam Tanah dan Perkembangan Penyakit*. Bogor. Biro penataran Institut Pertanian Bogor.
- Handoyo D, A Rudiretna. 2001. Prinsip umum dan pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Unitas.* 9(1):17-29.
- Hasan F, DH Darwano. 2013. Prospek dan tantangan usahatani tembakau Madura. *SEPA.* 10(1):63-70.
- Hidayah N, Djajadi. 2009. Sifat-sifat tanah yang mempengaruhi perkembangan patogen tular tanah pada tanaman tembakau. *Perspektif.* 8(2):74- 83.
- Ippolito A, L Schena, F Nigro. 2002. Detection of *Phytophthora nicotianae* and *P. citrophthora* in citrus roots and soils by nested PCR. *European Journal of Plant Pathology.* 108:855-868.
- Nurhayati. 2013. Tanah dan perkembangan patogen tular tanah. *Prosiding SEMNAS 2013 MKTI.* 6-8 November:326-333. Palembang.
- Sulistyaningsih E. 2007. *Polymerase Chain Reaction* (PCR): era baru diagnosis dan manajemen penyakit infeksi. *Biomedis.* 1(1):17-25.
- Sullivan, M. 2005. *Phytophthora parasitica* *dastur* var. *nicotianae* (Breda de Haan) Tucker. [Serial online]. <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Ralstonia/Ralstoniasolanacearum/biovars.html>. 18 Agustus 2014.
- Sumartini. 2011. Penyakit tular tanah (*Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*) pada tanaman kacangacangan dan umbi-umbian serta cara pengendaliannya. *Libang Pertanian.* 31(1):27-34.

- Wulandari D. 2013. Pengaruh dekomposer *Trichoderma harzianum* terhadap pertumbuhan dan hasil sawi hijau pada tanah gambut. Hal. 11. jurnal.untan.ac.id/index.php/jspp/article/view/2391. Diakses tanggal 15 Juli 2015
- Zheng A, W Yanran. 2011. The research of infection process and biological characteristics of *Rhizoctonia solani* AG-1 IB on soybean. *Journal of Yeast and Fungal Research*. 2(6): 93-98.