



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

SKRIPSI

diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan
program sarjana pada Program Studi Agroteknologi (S1)
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh

**ANSHORI
111510501073**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Penyayang, saya persembahkan skripsi ini kepada :

1. Ayahanda Latief Harno dan Ibunda Suhainiyah, terima kasih atas semua doa, pengorbanan, cinta, kasih sayang dan nasehat sepanjang masa yang tak akan pernah mungkin terbalaskan dengan apapun, serta kepada kedua orang tua angkatku bapak Kodrat Joko Widodo dan Almh. ibu Nuraini. Adik-adikku Affan Tohari, Ariek Hayuda, Wilda Rusdiana dan Ryan Purnama yang senantiasa memberikan canda tawa, semangat dan motivasi, semoga Allah senantiasa melindungi dan meridhoi kalian.
2. Seluruh keluarga besar serta sahabat-sahabat yang selalu menemani, membantu, memberi nasehat, saling mendoakan, dan saling berjuang dalam suka dan duka.
3. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“Sesungguhnya Allah sekali-kali tidak akan merubah sesuatu nikmat yang telah dianugerahkan-Nya kepada sesuatu kaum, hingga kaum itu merubah apa yang ada pada diri mereka sendiri” (QS.An Anfaal 8 : 53)*)

“Berdoalah kepada-Ku, niscaya akan Kuperkenankan bagimu”
(QS. Al Mu'min 40 : 60)**)

*)Departemen Agama Republik Indonesia. 2005.

**) *Al Qur'an dan Terjemahan*. Syaamil Cipta Media. Bandung

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Anshori

NIM : 111510501073

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: **Pemetaan Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah *Rhizoctonia solani* dan *Phytophthora nicotianae* di Lahan Tanaman Tembakau pada Enam Kabupaten di Jawa Timur** adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiblanan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap dan etika ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun seta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 11 Agustus 2015

Yang menyatakan,

Anshori

NIM. 111510501073

SKRIPSI

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

Oleh

**ANSHORI
111510501073**

Pembimbing :

Pembimbing Utama : Ir. Abdul Majid, M.P.
NIP. 19670906 199203 1 004

Pembimbing Anggota : Hardian Susilo Addy, S.P., M.P., Ph.D
NIP. 19801109 200501 1 001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Pemetaan Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah *Rhizoctonia solani* dan *Phytophthora nicotianae* di Lahan Tanaman Tembakau pada Enam Kabupaten di Jawa Timur**” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Selasa, 11 Agustus 2015

tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Ir. Abdul Majid, M.P.
NIP. 19670906 199203 1 004

Dosen Pembimbing Anggota,

Hardian Susilo Addy, S.P., M.P., Ph.D
NIP. 19801109 200501 1 001

Dosen Penguji Utama,

Ir. Paniman Ashna Mihadjo, M.P.
NIP. 19500903 198003 1 001

Mengesahkan

Dekan,

Dr. Ir. Jani Januar, M.T.
NIP. 19590102 198803 1 002

RINGKASAN

Pemetaan Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah *Rhizoctonia solani* dan *Phytophthora nicotianae* di Lahan Tanaman Tembakau pada Enam Kabupaten di Jawa Timur. Anshori, 111510501073. Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian Universitas Jember.

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.

Isolasi cendawan tanah dilakukan untuk mengetahui tingkat infestasi dan keberagaman cendawan pada suatu lahan di suatu daerah. Selanjutnya dilakukan metode PCR dengan mengamplifikasi DNA cendawan target menggunakan pasangan primer RhizITS1-F dengan sekuensi CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA dan RhizITS4 dengan sekuensi TCCTCCGCTTATTGATATGC untuk cendawan *R. solani*. Sedangkan untuk cendawan *P. nicotianae* menggunakan pasangan primer PhyniCF1 dengan Sekuensi CCTATCAAAAACAAGGCGAACG dan PhyniCR1 dengan sekuensi TGGCATACTTCCAGGACTAACC. Perhitungan Indeks Potensi Penyakit (IPP) dilakukan untuk mengetahui tingkat potensi cendawan dapat menimbulkan gejala serangan pada tanaman.

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.



SUMMARY

The Soil Borne Pathogen Mapping of Fungus *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora nicotianae* in Tobacco in Plant Lands at Six Regency in East Java. Anshori, 111510501073. Agroteknologi Studies Program; Faculty of Agriculture, University of Jember .

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.

Isolation of fungus from soil was conducted to determine the level of infestation and diversity of fungi on a land in an area. Following by performing the PCR method to amplify the target DNA of fungus using primers RhizITS1-F with sequences CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA and RhizITS4 with sequences TCCTCCGCTTATTGATATGC for *R. solani*, while for the *P. nicotianae* using primers PhyniCF1 with sequences CCTATCAAAAACAAGGC GAACG and PhyniCR1 with sequences TGGCATACTTCCAGGACTAACC. The calculation of Potential Disease Index (IPP) was conducted to determine the potential level of the fungus that can cause symptom of disease on the plant.

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 succesfully 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.



PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sholawat serta salam kita sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW., Keluarga, Sahabat, serta pengikut beliau hingga akhir zaman sehingga penyusunan skripsi dengan judul “Pemetaan Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah *Rhizoctonia solani* dan *Phytophthora nicotianae* di Lahan Tanaman Tembakau pada Enam Kabupaten di Jawa Timur” dapat diselesaikan. Skripsi ini merupakan penelitian yang didanai oleh Dinas Perindustrian dan Perdagangan Provinsi Jawa Timur. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) sebagai sarjana pertanian di Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Beberapa pihak turut membantu penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ir. Abdul Majid, M.P. selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU), Hardian Susilo Addy, S.P., M.P., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) dan Ir. Paniman Ashna Mihardjo, M.P. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, peningkatan wawasan, keterampilan dan motivasi dalam pelaksanaan penelitian serta penyelesaian skripsi;
2. Ir. Joko Sudibya, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa serta Ir. Syaifudin Hasyim, M.P. selaku Dosen Pendamping Lapangan selama melaksanakan penelitian;
3. Kepala Laboratorium CDAST Universitas Jember Prof. Bambang Sugiharto serta segenap dosen Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah mendukung serta membimbing selama masa studi dan penelitian;
4. Dinas Perindustrian dan Perdagangan Provinsi Jawa Timur yang telah mendanai proyek ini
5. Kedua Orang tua kandung, Ibu Suhainiyah dan Bapak Latief Harno serta Kedua orang tua angkat Alm. Ibu Nuraini dan Bapak Kodrat Joko Widodo yang tidak pernah lelah selalu membimbing, mendukung dan mendo'akan demi kelancaran penulis dalam berkarya, menuntut ilmu dan mewujudkan cita-cita;

6. Kakek dan Nenek Alm. Sanuryam, Alm. Munirah, Alm. Mudzakkir, Alm. Munawi, Alm. Sairin serta eyang tercinta Sumini yang mempunyai harapan besar, mendoakan dan mendukung cita-cita penulis.

Akhirnya penulis berharap semoga Karya Ilmiah (Skripsi) ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat digunakan sebagai acuan penelitian-penelitian selanjutnya.

Jember, Agustus 2015

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	ix
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Tembakau	4
2.2 Patogen Tular Tanah	5
2.3 Cendawan <i>R. solani</i>	6
2.4 Cendawan <i>P. Nicotianae</i>	6
2.5 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	8
BAB 3. METODE PENELITIAN	9
3.1 Bahan dan Alat	9
3.2 Metode	9
3.2.1 Pengambilan Sampel tanah	9
3.2.2 Isolasi Cendawan Tanah	10
3.2.3 Ekstraksi DNA Cendawan Patogen Tular Tanah	11
3.2.4 Proses PCR dan visualisasi Pita DNA	11

3.2.5 Perhitungan Indeks Potensi Penyakit (IPP)	13
3.2.6 Pembuatan Peta Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah ..	13
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Isolasi Cendawan Dari Tanah	14
4.2 Indeks Potensi Penyakit (IPP)	15
4.3 Deteksi Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah dengan Teknik PCR	17
4.4 Peta Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah dengan Teknik PCR	19
BAB 5. PENUTUP	21
5.1 Kesimpulan	21
5.2 Saran	21
DAFTAR PUSTAKA	22

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Lokasi pengambilan sampel tanah	9
Tabel 3.2 DNA primer <i>Phytophthora nicotianae</i> dan <i>Rhizoctonia solani</i> yang digunakan untuk proses PCR	11



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Cendawan <i>P. nicotianae</i>	7
Gambar 2.2	Bagan Proses <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	8
Gambar 4.1	Grafik jumlah populasi cendawan tanah.....	14
Gambar 4.2	Grafik jumlah variasi cendawan tanah.....	15
Gambar 4.3	Hasil perhitungan Indeks Potensi Penyakit (IPP)	16
Gambar 4.4	Elektroforesis hasil PCR cendawan <i>Rhizoctonia solani</i> menggunakan primer RhizITS1-F dan RhizITS4R DNA.....	17
Gambar 4.5	Elektroforesis hasil PCR cendawan <i>Phytophthora nicotianae</i> menggunakan primer PhyNicF1 dan PhyNicR1	18
Gambar 4.6	Peta keberadaan patogen tular tanah <i>R. solani</i> dan <i>P. nicotianae</i> pada beberapa daerah titik pengambilan sampel	19

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman tembakau mempunyai arti penting terhadap peningkatan devisa negara Indonesia dari sektor pertaniannya (Hasan dan Darwano, 2013). Berdasarkan data dari Ditjen Perkebunan (2009), penerimaan pendapatan negara atas tanaman tembakau melalui cukai pada tahun 2004 sebesar US \$ 180 ribu dan pada tahun 2008 sekitar Rp. 36,5 triliun (Fauziah *et al.*, 2010). Dari segi kesejahteraan masyarakat dan petani, industri tembakau mampu menyediakan lapangan kerja dan mampu menyerap tenaga kerja 7,4 sampai 21 juta jiwa (Hasan dan Darwano, 2013). Berdasarkan data dari Direktorat Jenderal Industri Agro dan Kimia Departemen Perindustrian Jakarta (2009), negara Indonesia merupakan salah satu negara penghasil tembakau terbesar di dunia. Indonesia menyumbang sekitar 21 % daun tembakau yang ada di dunia dan daerah penghasil tembakau terbesar di Indonesia adalah Jawa Timur sebesar 75 %, dan 20 % dari Jawa Tengah. Sisanya adalah daerah Sumatera Utara, Jawa Barat, dan D.I Yogyakarta (Hasan dan Darwano, 2013).

Menurut Nurhayati (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 (Hidayah dan Djajadi, 2009). 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). Menurut Hidayah dan Djajadi (2009), 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.

Menurut Sumartini (2011) 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.

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 (2000) salah satu bentuk pendeteksian dini patogen tular tanah dapat dilakukan dengan menggunakan metode biologi molekuler yaitu teknik *Polymerase Chain Reaction* (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 Antonio Ippolito, dkk. (2002) tentang deteksi cendawan patogen *P. nicotianae* dari tanah menggunakan teknik PCR. Selain itu juga penelitian yang dilakukan oleh Guillemaut, dkk. (2003) tentang pengklasifikasian patogen *R. solani* berdasarkan anastomosis grupnya menggunakan teknik PCR.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana keberadaan dan indeks potensi penyakit (IPP) dari cendawan patogen tular tanah *R. solani* dan *P. nicotianae* di beberapa lahan tanaman tembakau pada enam Kabupaten di Jawa Timur yang dideteksi melalui pendekatan molekuler dengan teknik PCR ?

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan cendawan patogen tular tanah *R. solani* dan *P. nicotianae* di beberapa lahan tanaman tembakau pada enam Kabupaten di Jawa Timur melalui pendekatan molekuler dengan teknik PCR serta menghitung indeks potensi penyakit dari cendawan patogen tular tanah

tersebut. Hasil penelitian ini dapat bermanfaat sebagai sumber informasi tentang keberadaan cendawan patogen tular tanah *R. solani* dan *P. nicotianae* di beberapa lahan tanaman tembakau pada enam kabupaten di Jawa Timur.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Tembakau

Tanaman tembakau merupakan salah satu tanaman perkebunan yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi dan merupakan salah satu komoditas perdagangan penting di dunia (Rahmad dan Nuryanti, 2009). Indonesia merupakan salah satu negara yang berperan sebagai produsen dan eksportir tembakau yang cukup besar di dunia. Menurut Rahmad dan Nuryanti (2009) negara Indonesia tidak hanya menjadi salah satu negara produsen terbesar di dunia namun juga menjadi salah satu negara konsumen terbesar di dunia. Hal tersebut dikarenakan negara Indonesia merupakan negara dengan jumlah perokok terbanyak ketiga di dunia sehingga apabila Indonesia dapat memanfaatkan peluang pasar tersebut maka akan menjadi prospek pasar yang baik bagi Indonesia.

Seperti yang dikatakan oleh Rahmad (2010) industri rokok menyumbang penerimaan perekonomian negara yang sangat besar melalui cukai. Disisi lain, adanya industri tembakau yang cukup pesat juga mempengaruhi perkembangan pertanian tembakau dikalangan para petani sehingga secara tidak langsung industri ini dapat memberikan lapangan pekerjaan pada masyarakat dan mengurangi angka pengangguran di Indonesia. Berdasarkan data dari Ditjen Perkebunan tahun 2009 penerimaan pendapatan negara atas tanaman tembakau melalui cukai pada tahun 2011 mengalami peningkatan yang cukup signifikan yaitu sekitar Rp. 65,4 triliun dibandingkan pada tahun 2005 yang hanya sekitar Rp. 32,6 triliun. Dari segi kesejahteraan masyarakat dan petani, industri tembakau mampu menyediakan lapangan kerja dan mampu menyerap tenaga kerja 7,4 sampai 21 juta jiwa.

Menurut Ditjenbun (2011), Indonesia mempunyai luas area tanaman tembakau mencapai \pm 220.000 hektar meliputi 14 provinsi, yakni Nangroe Aceh Darussalam, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Jambi, Sumatera Selatan, Lampung, Jawa Barat, Jawa Tengah, Daerah Istimewa Yogyakarta, Jawa Timur,

Bali, Nusa Tenggara Barat (NTB), Nusa Tenggara Timur (NTT), serta Sulawesi Selatan. Diantara beberapa provinsi tersebut yang merupakan daerah penghasil tembakau terluas yaitu Jawa timur yang mencapai 119.650 hektar (Hartono, 2013). Area tanaman tembakau di Jawa Timur setiap tahunnya rata-rata mencapai 130.824 hektar dan menghasilkan produksi sebesar 114.816 ton yang meliputi berbagai jenis tembakau. Beberapa data luas lahan dan hasil produksi dari beberapa Kabupaten di Jawa timur pada tahun 2011 yaitu Kabupaten Probolinggo dengan luas areal 251 hektar dan produksi sebesar 139 ton, Kabupaten Lumajang dengan luas areal 556 hekar dan produksi sebesar 453 ton, Kabupaten Jember dengan luas areal 1.663 dan produksi 1.575 ton, Kabupaten Bondowoso dengan luas areal 7.069 dan produksi sebesar 4.422 ton, Kabupaten Situbondo dengan luas areal 5.358 hektar dan produksi sebesar 4.410 ton dan Kabupaten Banyuwangi dengan luas areal 629 hektar dan produksi sebesar 733 ton (Ditjenbun Jatim, 2011).

2.2 Patogen Tular Tanah

Tanah merupakan tempat dimana banyak jenis mikroorganisme hidup. Baik sebagai tempat hidup mikroorganisme yang berperan sebagai patogen atau tidak terdapat beberapa sifat-sifat tanah yang dapat mempengaruhi kehidupan mikroorganisme tanah tersebut. Selain itu dengan informasi – informasi tersebut akan dapat memudahkan untuk menentukan strategi pengendalian untuk patogen tular tanah. Patogen tular tanah merupakan petogen yang hidup dalam perakaran tanaman yang dapat mengakibatkan kerugian bagi tanaman tersebut dengan cara menginfeksi dan menyerang bagian akar dan pangkal batang, sehingga tanaman tidak dapat tumbuh dengan baik. Faktor-faktor tanah yang dapat mempengaruhi perkembangan patogen tular tanah yaitu pH tanah, tekstur, bahan organik, suhu, dan kandungan unsur hara dalam tanah (Hidayah dan Djajadi, 2009).

Menurut Hidayah dan Djajadi (2009), patogen tular tanah (*soil-borne pathogens*) merupakan kelompok mikroorganisme yang menghabiskan sebagian besar hidupnya berada di dalam tanah. Adanya mikroorganisme tular tanah tersebut dapat menginfeksi perakaran tanaman sehingga dapat membuat tanaman

mati. Patogen tular tanah mempunyai ciri-ciri utama, yaitu mempunyai stadia pemencaran dan waktu bertahan yang terbatas di dalam tanah. Namun, terdapat juga beberapa patogen tular tanah yang dapat menghasilkan spora udara sehingga dapat memencarkan spora tersebut lebih luas lagi.

2.3 Cendawan *Rhizoctonia solani*

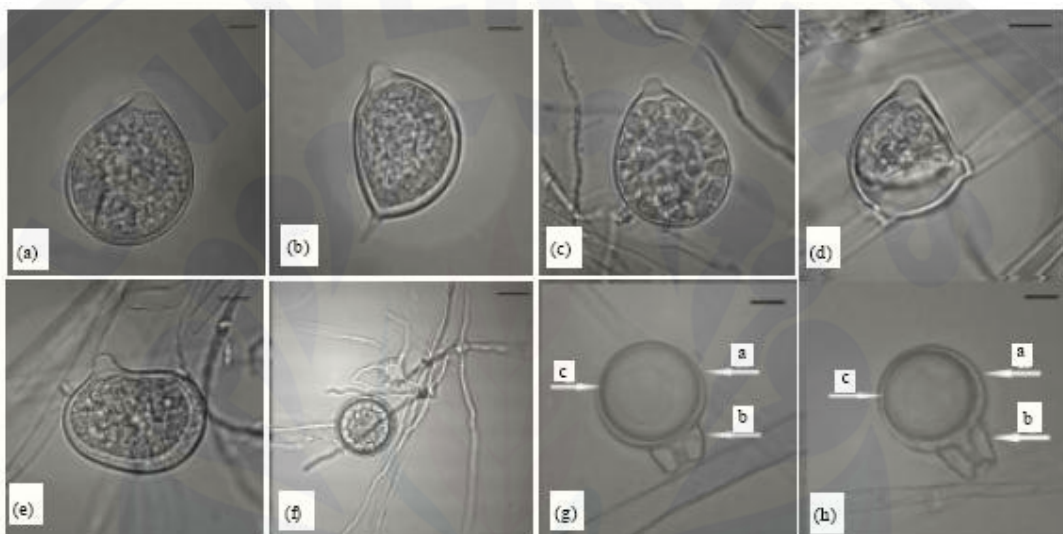
Cendawan *R. solani* merupakan salah satu cendawan patogen tular tanah yang banyak terdapat di dalam tanah. Menurut Lehtonen (2009), *R. solani* merupakan cendawan yang bersifat perusak dan banyak merugikan pada pertanaman tembakauhal tersebut dikarenakan cendawan ini dapat menyebabkan penyakit *damping off* dan nekrosis pada tanaman yang akibatnya tanaman akan mati. Penyebaran jamur ini yaitu melalui sklerotia yang dapat terbawa oleh bahan-bahan tanam yang telah terkontaminasi oleh cendawan ini, dapat juga terbawa oleh angin, dan air. Tanaman yang terserang oleh cendawan *R. solani* mempunyai gejala batang tanaman yang terinfeksi akan mengering dan berwarna coklat sampai hitam seperti terbakar (Sumartini, 2012).

Keberadaan cendawan *R. solani* ini banyak terdapat di lahan tanaman monokultur yang dapat mempengaruhi sifat kimia tanah dan faktor iklim. Dalam tanah cendawan *R. solani* menyerap nutrisi yang berbeda dengan mikroorganisme yang lainnya. Hal tersebut dikarenakan cendawan *R. solani* ini mempunyai kemampuan untuk menggunakan nutrisi atau sumber karbon yang lain seperti selulosa yang biasanya jarang digunakan oleh mikroorganisme yang lainnya sehingga cendawan *R. solani* ini dapat bertahan walaupun ketika sumber daya terbatas.

2.4 Cendawan *Phytophthora nicotianae*

Budidaya tanaman tembakau tidak akan pernah lepas dari gangguan patogen yang mengganggu pertumbuhan tanaman. Salah satu jenis patogen tular tanah yang banyak mengganggu tanaman tembakau yaitu *P. nicotianae*. Cendawan *P. nicotianae* ini mengakibatkan penyakit lanas pada tembakau. Menurut Amini dan Efendi (2013), tanaman yang terserang penyakit lanas ini mempunyai gejala

warna daun menjadi kotor, tanaman tampak seperti disiram oleh air panas, pada tanaman yang lebih tua biasanya gejala pembusukan hanya terbatas pada leher akar. Bagian yang busuk berwarna coklat kehitaman dan agak berlekuk, semua daun kemudian layu mendadak, dan jika bagian pangkal batang dibelah, maka empulur tampak mengering dan mengamar. Cendawan ini bersifat fakultatif saprofitik yang artinya cendawan ini dapat hidup dari sisa-sisa tanaman dalam tanah yang dapat bertahan sampai lima tahun.



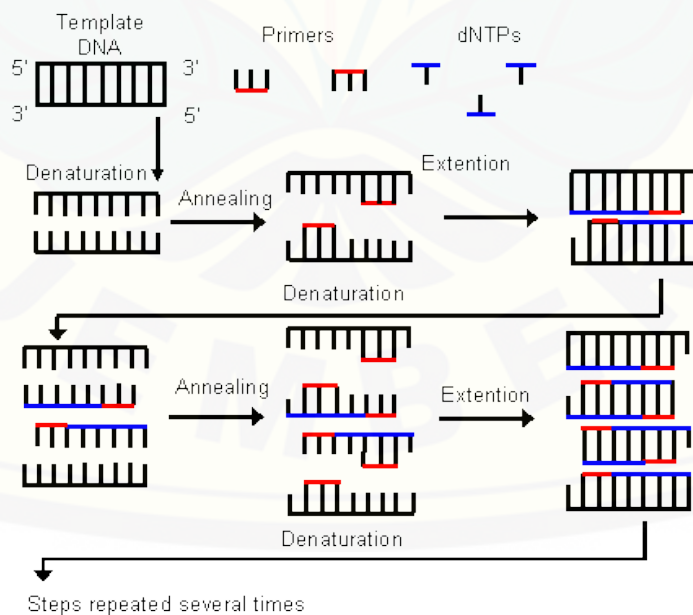
Gambar 2.1. Cendawan *P. nicotianae*. (a-e) Zoosporangia., (f) chlamydozoospora., (g-h): a: Oogonia, b: Antheridia, c: Oospore, Bar = 10 μm (Tao *et al.*, 2011).

Penyakit lanas tembakau yang disebabkan oleh Cendawan *P. nicotianae* ini dapat berkembang baik pada 20 - 30 derajat Celsius. Menurut Semangun (2000), saat mendapatkan inang, spora cendawan ini akan berkecambah dan akan menjadi zoospora. Kemudian dengan adanya air zoospora tersebut akan bergerak menuju akar tanaman tembakau yang berada di lapang yang kemudian akan melakukan penetrasi ke jaringan akar sehingga akan terjadi infeksi pada jaringan tanaman tembakau tersebut.

2.5 PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu metode untuk memperbanyak primer oligonukleotida yang diarahkan secara enzimatik urutan DNA spesifik. Teknik ini mampu memperbanyak sebuah urutan 10⁵-10⁶ kali lipat dari jumlah nanogram DNA *template* dalam latar belakang besar pada *sequence* yang tidak relevan. Menurut Legiastuti dan Aminingsih (2012), *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu teknik memperbanyak potongan DNA secara *in vitro* pada daerah spesifik yang dibatasi oleh dua buah primer nukleotida. Primer yang digunakan sebagai pembatas daerah yang diperbanyak adalah DNA untai tunggal yang urutannya komplemen dengan DNA templatnya. Proses tersebut mirip dengan proses replikasi DNA secara *in vivo* yang bersifat semi konservatif.

Terdapat beberapa komponen penting dalam metode PCR ini yaitu templat DNA, sepasang primer, yaitu suatu nukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplemen dengan urutan nukleotida DNA templat, dNTPs (*Deoxynucleotide triphosphates*), buffer PCR; magnesium klorida (MgCl₂) dan enzim polimerase DNA. Pada proses PCR ini terdapa tiga tahap utama yang harus dilakukan yaitu (1) Tahap denaturasi, (2) Annealing, dan (3) Ekstensi/Elongasi.



Gambar 2.2. Bagan Proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
(Sumber:www.carolyngrintonphotography.ca)

BAB 3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Virologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian dan divisi Biomolekuler dan Bioteknologi *Center for Development of Advanced Sciences and Technology (CDAST)* Universitas Jember dengan mengambil sampel tanah pada enam Kabupaten yaitu Kabupaten Jember, Lumajang, Probolinggo, Bondowoso, Situbondo, dan Kabupaten Banyuwangi pada bulan Oktober 2014 sampai Juni 2015.

3.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan untuk melakukan penelitian ini yaitu 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, *Ethidium 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, *shacker*, *autoclave*, *laminar air flow*, PCR tubes, mesin PCR, wadah elektroforesis, dan *UV gel documentation*.

3.2 Metode

3.2.1 Pengambilan sampel tanah

Pengambilan sampel tanah dilakukan di beberapa titik lokasi di enam kabupaten, yaitu:

Tabel 3.1. Lokasi pengambilan sampel tanah

No.	Kabupaten	Wilayah I	Wilayah II	Wilayah III
1	Jember	Tutul	Karangsono	Tanjungrejo
2	Bondowoso	Patemon	Maskuning Wetan	Maskuning Kulon
3	Situbondo	Bloro	Demung	Selomukti
4	Banyuwangi	Pakistaji	Karang Bendo	Kabat
5	Lumajang	Besuk	Tekung	Muder
6	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.

3.2.2 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 shacker selama 24 jam (*over night*). Pengenceran dilakukan secara berseri hingga konsentrasi 10^{-7} g/mL. Kemudian sebanyak 100 μ l 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 *coloni forming unit* (CFU) menggunakan rumus :

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

Keterangan :

a = Jumlah koloni cendawan

b = Tingkat pengenceran yang dilakukan

c = Volume suspensi yang digunakan

d = Berat sampel tanah yang digunakan

3.2.3 Ekstraksi DNA Cendawan Patogen Tular 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 broth* (PDB). Selanjutnya sebanyak 2 gram tanah tersebut dimasukan ke dalam 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 selama 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 chloroform isoamyl alcohol* (PCI) di *shaker* 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 kembali supernatan dan kering anginkan tabung eppendorf tersebut. Setelah itu tambahkan buffer TE sebanyak 100 µl dan RNase sebanyak 3 µl.

3.2.4 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.

Tabel 3.2 DNA primer *Phytophthora nicotianae* dan *Rhizoctonia solani* yang digunakan untuk proses PCR

Nama Primer	Sekuensi	Bp	Sumber
PhyNiCF1	5'-CCTATCAAAAACAAGGCGAACG-3'	267	Li <i>et al.</i> , 2011
PhyNiCR1	5'-TGGCATACTTCCAGGACTAACC-3'		
RhizITS1F	5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'	750	Zheng <i>et.al.</i> ,
RhizITS1R	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'		2011

Menurut Li *et al.* (2011), amplifikasi DNA untuk cendawan *P. nicotianae* dilakukan pada kondisi 5 menit pra denaturasi dengan suhu 95°C, dilanjutkan dengan 35 siklus Denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, Anealing pada suhu 66°C selama 30 detik dan Elongasi pada suhu 72°C selama 1 menit. Pada akhir reaksi, dilakukan Elongasi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Sedangkan untuk proses amplifikasi pada cendawan *R. solani* menurut Guillemaut *et al.* (2003), dilakukan pada kondisi 5 menit pra denaturasi dengan suhu 94°C, dan dilanjutkan dengan 35 siklus Denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, Anealing pada suhu 56°C selama 1 menit dan Elongasi pada suhu 72 °C selama 1 menit. Pada akhir reaksi, dilakukan Elongasi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit.

Setelah hasil amplifikasi terlihat, kemudian hasil tersebut dielektroforesis pada Gel agarosa 1% dengan bufer TBE dan campuran *EtBr*. Kemudian masukkan 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 gel documentation *System Major Science*.

3.2.5 Perhitungan indeks potensi penyakit (IPP)

Menurut Sutrisno *et al.* (1997), 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.

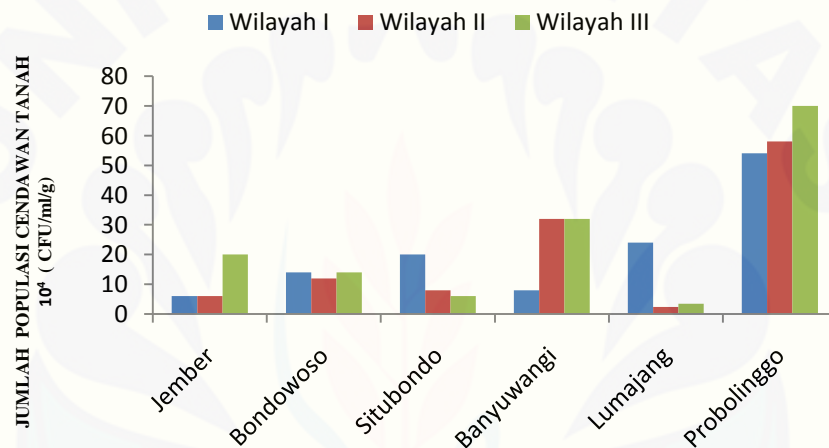
3.2.6 Pembuatan Peta Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah

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.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

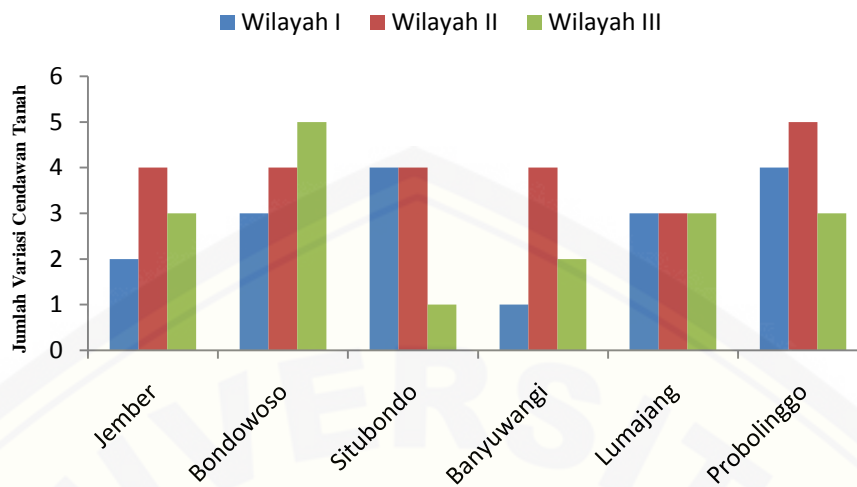
4.1 Isolasi Cendawan dari Tanah

Perhitungan jumlah populasi cendawan serta variasi jenis cendawan yang diisolasi bertujuan untuk mengetahui keadaan jasad mikrob dalam tanah serta potensi serangan penyakit pada tanaman tembakau terutama yang disebabkan oleh patogen tular tanah tersebut. Grafik jumlah populasi cendawan tanah pada beberapa wilayah ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Grafik jumlah populasi cendawan tanah dalam satuan CFU/ml/g

Grafik populasi cendawan tertinggi dari beberapa wilayah yang diisolasi berdasarkan jumlah koloni cendawan yang terbentuk terdapat di Kabupaten Probolinggo yaitu di wilayah Sumber rejo, Karang anyar dan Sumber anyar. Hal tersebut 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). Pernyataan tersebut dapat diketahui bahwa peluang terjadinya serangan penyakit pada tanaman yang paling tinggi yaitu di Kabupaten Probolinggo, meliputi wilayah Sumber rejo, Karang anyar dan Sumber anyar. Grafik jumlah variasi cendawan tanah yang telah diisolasi ditunjukkan pada Gambar 4.2.

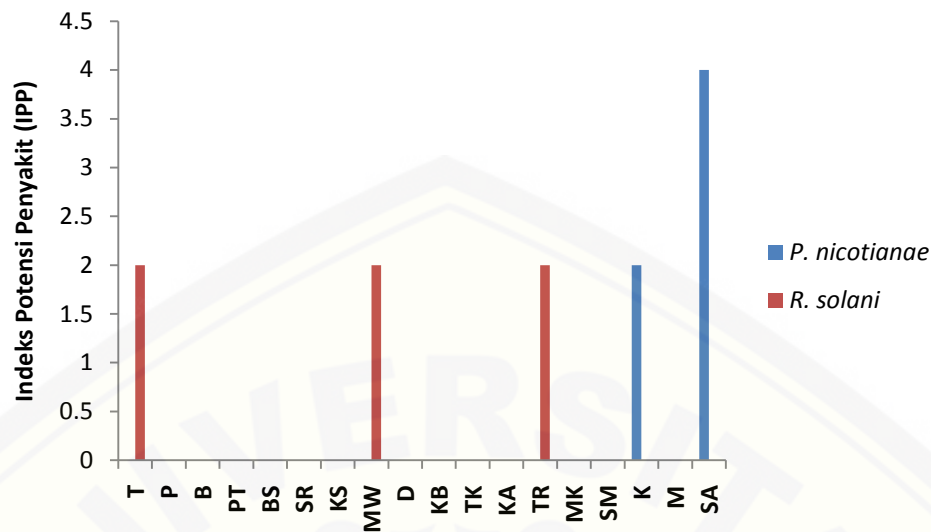


Gambar 4.2 Grafik jumlah variasi cendawan tanah

Dapat dilihat pada Gambar 4.2 di atas bahwa 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 *et al.* (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.

4.2 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 pada beberapa wilayah ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 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 Tangjungrejo (TR) mempunyai nilai IPP yang sama untuk patogen *R. solani*. Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa yang mempunyai potensi paling tinggi untuk menimbulkan gejala serangan pada tanaman tembakau oleh patogen *P. nicotianae* yaitu pada wilayah Sumberanyar (SA), sedangkan pada ketiga wilayah yaitu Tutul (T), Maskuning Wetan (MW), dan Tangjungrejo (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.

4.3 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 4.4, sedangkan hasil PCR deteksi keberadaan cendawan *P. nicotianae* ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.4 Elektroforesis hasil PCR cendawan *Rhizoctonia solani* menggunakan primer RhizITS1F dan RhizITS4R

Hasil PCR untuk patogen *R. solani* pada proses elektroforesis dengan gel agarose 1%, (50 V 10 menit, 75 1 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. Pada hasil visualisasi pita DNA dari *R. solani* terdapat pita DNA yang memiliki keragaman yang bervariasi, hal tersebut 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).

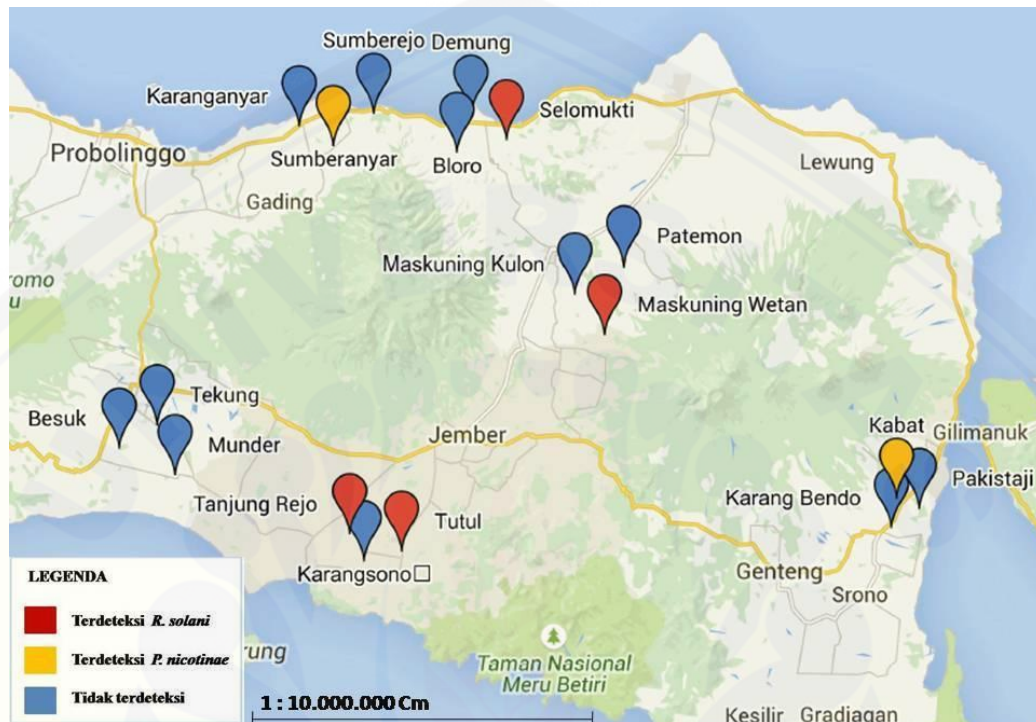


Gambar 4.5 Elektroforesis hasil PCR cendawan *Phytophthora nicotianae* menggunakan primer PhyNicF1 dan PhyNicR1

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

4.4 Peta Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah

Peta keberadaan cendawan patogen tular tanah *R. solani* dan *P. nicotianae* ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 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, Tanjung Rejo 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. 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. 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 dan Djajadi (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.

BAB 5. PENUTUP

5.1 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.

5.2 Saran

1. Deteksi Keberadaan Cendawan Patogen Tular Tanah secara Biomolekuler dengan teknik PCR perlu dipelajari lebih lanjut khususnya pada proses ekstraksi DNA yang dilakukan dari tanah agar hasil yang didapatkan lebih baik dan waktu pengerjaan lebih efisien.
2. Untuk daerah–daerah yang terdeteksi harus dilakukan antisipasi serta pengendalian dini tentang penyakit yang disebabkan oleh patogen *R. solani* dan *P. nicotianae* apabila akan dilakukan penanaman tanaman tembakau

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, Z. 2006. Optimation of PCR condition in vitro for maximum amplification of DNA from *Xanthomonas campestris* 13551. *Journal of Applied Sciences Researces* 2(3):112-122.
- Dalmadiyo, G., Supriyono, dan B. Hariadi. 1997. *Penyakit Tanaman Tembakau Virginia dan Pengendaliannya*. Monograf Balittas: Tembakau Virginia. Malang: Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat.
- Departemen Pertanian (Badan Karantina Tanaman). 2008. *Pedoman Diaognosis OPTK Golongan Bakteri*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Ditjenbun. 2011. Luas Areal Tembakau Menurut Propinsi di Seluruh Indonesia.[Serial online]. <http://www.deptan.go.id/infoeksekutif/bun/eis-bun2011/LuasArealtembakau.pdf>. [18 September 2014].
- Ditjenbun Jatim 2011. *Mekanisasi Pengolahan Tanah dan Pasca Panen Tembakau Rajangan Jawa*. Surabaya: Ditjenbun Jatim.
- Elhottova, D., V. Kristufek, J. Triska, V. Chrastny, E. Uhlirova, J. Kalcik, and T. Piceklmmediate. 2006. Impact of the flood (Bohemia, August 2002) on selected soil characteristics. *Water, Air, and Soil Pollution* 173 (1-4): 177-193.
- Fauziyah, E., S. Hartoyo, N. Kusnadi, dan S.U. Kuntjoro. 2010. Analisis produktivitas usahatani tembakau di Kabupaten Pamekasan. *Organisasi dan Manajemen*.6(2):119-131.
- 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., dan J. Sukataria. 1974. *Patogen Tanaman dalam Tanah dan Perkembangan Penyakit*. Bogor: Biro penataran Institut Pertanian Bogor (IPB).
- Handoyo, D. dan A. Rudiretna. 2001. Prinsip umum dan pelaksanaan *polymerase chain reaction* (PCR). *Unitas*. 9(1):17-29.
- Hartono, J. 2013. Variasi dan perbaikan cara pengolahan berbagai tipe tembakau rajangan di berbagai wilayah penghasil tembakau. *Perspektif*. 12(1) : 37-46.
- Hasan, F. dan D.H. Darwano. 2013. Prospek dan tantangan usahatani tembakau Madura. *SEPA*.10(1):63–70.

- Hidayah, N. dan Djajadi. 2009. Sifat-sifat tanah yang mempengaruhi perkembangan patogen tular tanah pada tanaman tembakau. *Perspektif*. 8(2):74- 83.
- Ippolito, A., L. Schena, dan 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.
- Legiastuti, T.S., dan T. Aminingsih. 2012. Identifikasi cendawan endofit menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction*. *Fitopatologi*. 8(2):31-36.
- Lehtonen, M.J. 2009. *Rhizoctonia solani* as Potato Pathogen Variation of Isolates in Finland and Host Response. *Academic Dissertation In Plant Pathology*. Finlandia.
- Nurhayati. 2013. Tanah dan Perkembangan Patogen Tular Tanah. *Prosiding SEMNAS 2013 MKTI*.6-8 November: 326-333. Palembang.
- Rahmat, M. 2010. Pengembangan ekonomi tembakau nasional. Kebijakan negara maju dan pembelajaran bagi Indonesia. *Analisis Kebijakan Pertanian*. 8(1).67-83.
- Rahmad, M. dan S. Nuryanti. 2009. Dinamika agribisnis tembakau dunia dan implikasinya bagi Indonesia. *Forum Penelitian Agro Ekonomi*. 27(2): 73-91.
- 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 kacang-kacangan dan umbi-umbian serta cara pengendaliannya. *Litbang Pertanian*. 31(1):27–34.
- Tao Y.H., H.H. Ho, Y.X. Wu, dan Y.Q. He. 2011. *Phytophthora nicotianae* causing dendrobium blight in Yunnan Province, China. *International Journal of Plant Pathology*. 2(4):177-186.
- 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

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

Zheng, A. dan 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.



LAMPIRAN

A. Isolasi Cendawan Tanah dari Beberapa Sampel Tanah Dibeberapa Wilayah

