

Identifikasi Molekuler *Trichoderma* sp. Isolat T10 ISRI sebagai Agen Hayati Penyakit Busuk Akar dan Pangkal Batang *Xylaria*

Molecular Identification of Trichoderma sp. T10 ISRI Isolate as a Biological Agent of Root and Stem Rot Disease of Xylaria

Wiwit Wicaksono Jati ¹⁾, Ari Kristini ¹⁾, Agustin Sri Mulyatni ²⁾ dan Abdul Latief Abadi ³⁾

- 1) Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia, Pasuruan
- 2) Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia, Pasuruan
- 3) Universitas Brawijaya, Malang

Alamat korespondensi, Email: jatiwiwit@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit busuk akar dan pangkal batang pada tebu merupakan penyakit yang memiliki arti penting secara ekonomi. Salah satu agen hayati yang berpotensi mengendalikan penyakit busuk akar dan pangkal batang *Xylaria* adalah *Trichoderma* sp. Isolat T10 ISRI memiliki aktivitas enzim kitinase yang tinggi sehingga dapat digunakan sebagai agen hayati. Identifikasi isolate T10 ISRI bertujuan agar potensi lain dari isolate T10 ISRI dapat diketahui. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi isolate T10 ISRI sampai dengan tingkat spesies melalui identifikasi secara molekuler. Metode identifikasi dilakukan dengan sequencing DNA melalui BLAST dan pembuatan pohon filogenik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa spesies isolate T10 ISRI yaitu *Trichoderma asperellum* dengan kesamaan 100% dengan strain *Trichoderma asperellum* T sum 66 dari data NCBI dan kedekatan dalam kelompok 0,00001 dari pada jarak diluar kelompok yaitu 0,3287.

Copyright © 2023 by Authors, Published by ISRJ Group. This is an open access article under the CC BY-SA License (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

Kata kunci : *Trichoderma*, Identifikasi, Molekuler,

ABSTRACT

Root and stem rot disease in sugarcane is a disease that has economic importance. One of the biological agents that has the potential to control root and stem rot disease Xylaria is Trichoderma sp. Isolate T10 ISRI has high chitinase enzyme activity so it can be used as a biological agent. Identification of the T10 ISRI isolate aims to identify other potentials of the T10 ISRI isolate. The aim of this study was to identify T10 ISRI isolates up to the species level through molecular identification. Identification method was done by sequencing DNA through BLAST and making phylogenetic trees. The results showed that the T10 ISRI species, namely Trichoderma asperellum, had 100% similarity with the Trichoderma asperellum strain T sum 66 from NCBI data and the closeness within the group was 0.00001 compared to the distance outside the group, which was 0.3287.

Key words: Trichoderma, Identification. Molecular

PENDAHULUAN

Penyakit busuk akar dan pangkal batang pada tebu di Indonesia yang disebabkan oleh jamur *Xylaria cf warbugii* dan *X. arbuscula* merupakan penyakit yang memiliki arti penting secara ekonomi. Penyakit ini akan menimbulkan kerugian yang besar seiring dengan kategori tanaman tebu (Maryono *et al.*, 2017; 2019). Kerugian penyakit pada kategori PC (*plant cane*) akan lebih rendah dibandingkan pada tanaman keprasannya (*ratoon*). Di Taiwan kerugian karena *Xylaria warbugii* pada tanaman pertama 5% dan pada tanaman keprasasan mencapai 30% (Fang *et al.*, 1994). Pada serangan tinggi penyakit busuk akar dan pangkal batang mengakibatkan tanaman tidak dapat dikepras (Maryono *et al.*, 2017).

Pengalihfungsian lahan hutan menjadi lahan perkebunan yang digunakan secara terus menerus dapat menurunkan produktivitas lahan. Produktivitas lahan yang menurun mengakibatkan menurunnya aktivitas mikrobial tanah dan dominasi mikrobial tertentu salah satunya *Xylaria warbugii* (Yulianti, 2017). Patogen *Xylaria warbugii* merupakan patogen tular tanah yang dapat bertahan lama di dalam tanah (Hooker, 1981) Sampai saat ini belum ada varietas tebu yang tahan terhadap penyakit busuk akar dan pangkal batang. Penggunaan varietas PS 881, PS 882, PS JT 941, PSKA 922 ternyata masih dapat terserang penyakit busuk akar dan pangkal batang dengan serangan sebesar 12,5-28,6%. Serangan penyakit busuk akar dan pangkal batang pada varietas CM 0901, BM 2104, PS 862, CM 0902, KK, ROC 22, TLH2 tergolong sangat tinggi diatas 50% (Winarno, 2016 dalam Yulianti, 2017). Pengendalian menggunakan agen hayati diharapkan mampu meningkatkan diversitas mikrobial bermanfaat lainnya. Salah satu agen hayati yang berpotensi mengendalikan penyakit busuk akar dan pangkal batang *Xylaria* sp. adalah

Trichoderma sp. Jamur antagonis ini memiliki kemampuan kompetisi yang baik dengan kecepatan pertumbuhan yang tinggi dan mampu menghasilkan enzim kitinase (Benitez *et al.*, 2004).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp. isolat T10 ISRI memiliki aktivitas enzim kitinase yang tinggi. Kemampuan aktivitas enzim tersebut menunjukkan kemampuan dalam mendegradasi kitin per satuan waktu. Kitin merupakan penyusun dari dinding sel jamur patogen sehingga *Trichoderma* sp. isolat T10 ISRI dapat menjadi agen hayati untuk penyakit busuk akar dan pangkal batang *Xylaria* sp. (Jati *et al.*, 2022).

Identifikasi agen hayati jamur umumnya dilakukan secara morfologi dengan memisahkan koloni yang berbeda pada media baru, berdasarkan perbedaan warna koloni, tekstur dan rata-rata waktu tumbuh koloni (Sandy *et al.*, 2016). Akan tetapi susunan dari taksonomi morfospesies tidak dapat menggambarkan filogeni hingga tingkat spesies. Identifikasi secara morfologi terkadang memiliki tingkat akurasi yang rendah karena obyektifitas pengamat berbeda-beda sehingga diperlukan identifikasi secara molekuler. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi secara molekuler jamur *Trichoderma* sp. isolat T10 ISRI yang diisolasi dari lahan tebu sampai dengan tingkat spesies sehingga karakter lain dari isolat tersebut dapat diketahui.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penyakit dan Laboratorium Jasa Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia, Pasuruan, Jawa Timur dan Laboratorium Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia, Bogor, Jawa Barat. Penelitian dilakukan selama 3 bulan (September - November 2021).

Bahan yang digunakan adalah isolat jamur *Trichoderma* sp. T10 ISRI, media PDB dan PDA, 1 ml *lysis buffer*, nitrogen cair, 1 µl mercaptoethanol, 500 µl potassium acetate 5 M, phenol, CHCl₃, dan isoamyl alkohol, 3 M sodium acetate, EtOH 100%, primer ITS 1 dan ITS4, TAE *buffer*, *gel agarose*, 1 µl *loading dye*, 4 µl dH₂O, ethium bromide, ethanol, dan nitrogen. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, tabung *ependorf*, *vortex*, *centrifuge* suhu dingin, *freezer*, PCR *thermal cycler*, elektroforesis.

Metode Identifikasi *Trichoderma* sp. secara molekuler

Tahapan isolasi DNA (Fatiyah *et al.*, 2006) dan identifikasi jamur antagonis sebagai berikut:

Isolasi DNA Genom

Isolat yang telah ditumbuhkan di dalam media PDB. Kemudian isolat jamur *Trichoderma* sp. diletakkan pada *tube*, dan diberi label. Isolat tersebut ditumbuk halus dengan menggunakan nitrogen cair pada mortar dan ditambahkan 1 ml *lysis buffer* serta 1 µl mercaptoethanol, lalu dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* baru dan diinkubasi pada suhu 65 °C selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 500 µl Potassium Acetate 5 Molar dan di homogenkan dengan cara dibolak-balik sebanyak 10-20 kali dan diinkubasi pada es selama 5 menit. Setelah itu isolat disentrifugasi pada suhu 4 °C selama 10 menit dengan 10.000 rpm.

Sebanyak 500 µl fasa atas diambil dengan ujung tips yang steril, lalu dipindahkan ke tabung *ependorf* yang baru. Setelah itu ditambahkan 500 µl campuran Phenol, CHCl₃, dan isoamyl alkohol, lalu disentrifugasi pada suhu 4 °C selama 3 menit dengan 13.000 rpm. Fasa atas (supernatan) diambil 400 µl dan dipindahkan ke tabung *ependorf* baru, lalu ditambahkan 400 µl campuran phenol, CHCl₃, dan isoamyl alkohol dan disentrifugasi pada suhu 4 °C selama 3

menit dengan 13.000 rpm. Fasa atas diambil 300 µl dan dipindahkan ke tabung *ependorf* baru. Lalu ditambahkan 300 µl campuran CHCl₃ dan isoamyl alkohol kemudian disentrifugasi pada suhu 4 °C selama 3 menit dengan 13.000 rpm. Setelah disentrifugasi, *upper layer* (fasa atas) dipindahkan ke tabung *ependorf* baru sebanyak 250 µl (Sandy *et al.*, 2016).

Setelah semua rangkaian di atas maka dilakukan purifikasi DNA. Langkah awal yang dilakukan adalah menambahkan 25 µl 3M sodium acetate dan ditambahkan 500µl EtOH 100 %. Kemudian dihomogenkan dengan cara dibolak balik 10-20 kali dan diinkubasi pada suhu -80 °C selama 30 menit. Setelah itu disentrifugasi pada suhu 4 °C selama 10 menit dengan 13.000 rpm. Larutan EtOH pada *ependorf* dibuang, kemudian ditambahkan 500 µl EtOH 80 % dan disentrifugasi pada suhu 4 °C selama 5 menit dengan 13.000 rpm. Ethanol kemudian dibuang menggunakan pipet. Pelet dikeringanginkan selama 24 jam dan ditambahkan *buffer* TE sebanyak 20 µl lalu disimpan pada suhu -20 °C.

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Proses PCR digunakan untuk amplifikasi DNA fungi. Ekstraksi genom DNA fungi di amplifikasi menggunakan primer universal. Primer tersebut yaitu ITS1 (5'-TCT GTA GGT GAA CCT GCG G-3') dan ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (White *et. al.*, 1990). Proses PCR dengan menggunakan alat PCR *Thermal Cycler*. Setting dilakukan dengan proses denaturasi pada suhu 94 °C selama 30 detik, kemudian *annealing* pada suhu 51,9 °C selama 30 detik, kemudian *extention* pada suhu 72 °C selama 1 menit dan *final extention* pada suhu 72 °C selama 7 menit, dan di ulang selama 30 kali ulangan atau 30 siklus.

Elektroforesis

Hasil isolasi genom DNA jamur dianalisis dengan elektroforesis *gel agarose* 0,9%. Gel dan cetakan direndam pada *buffer* TAE IX pada kolom elektroforesis.

Larutan sampel dari *freezer* diambil sebanyak 5 μ l, kemudian dicampurkan dengan 1 μ l *loading dye* dan 4 μ l dH₂O. Sampel dimasukkan ke dalam sumur yang terdapat dalam gel pada kolom elektroforesis. Setelah sampel dimasukkan, kemudian dielektroforesis pada tegangan 50 volt selama 100 menit. Gel berisi DNA hasil elektroforesis direndam menggunakan larutan Ethium Bromide (EtBr) selama 10 menit, kemudian dibilas dengan *delution water steril*. Gel hasil elektroforesis dilihat dengan alat sinar UV (*UV Transluminator*) dan dicetak fotonya.

Sequensing DNA

Presipitasi etanol (*ethanol precipitation*) dapat pula disebut purifikasi sekuen produk. Sampel DNA di *flash* dan dipindahkan ke tabung *ependorf* baru. Sampel DNA ditambahkan 64 μ l Ethanol 99,5 % (suhu ruangan), kemudian divortex dan ditambahkan 16 μ l dH₂O lalu divortex lagi. Sampel dibungkus aluminium selama 10 menit. Sampel disentrifugasi pada suhu 28 °C selama 15 menit dengan 14.000 rpm. Semua *upper layer* dibuang dan ditambahkan 100 μ l Ethanol 70 % (suhu ruangan). Sampel disentrifugasi lagi pada suhu 28 °C selama 10 menit dengan 14.000 rpm. Semua *upper layer* dibuang dan dikeringkan dengan dibungkus aluminium foil selama 15 menit (suhu ruang). Kemudian sampel disimpan pada suhu -20 °C sebelum dikirimkan ke perusahaan untuk dilaksanakan *sequencing* atau pembacaan untai DNA.

Analisis Data Bioinformatika

Isolat jamur yang telah di subkultur, diidentifikasi sampai tingkat taksa genus/spesies menggunakan metode bioinformatika *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) secara online di alamat website <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. dan aplikasi MEGA 4.1 untuk pembuatan pohon filogenetik metode *bootstrap-Neighbor joining* dengan pengulangan 1000 kali.

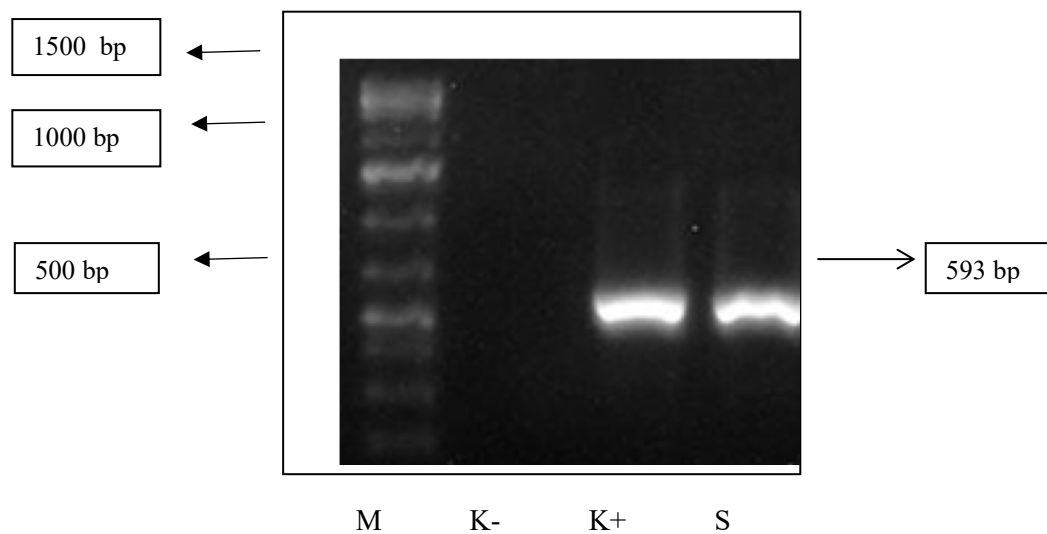
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp. isolat T10 ISRI memiliki nilai pasangan basa 593 bp. DNA yang diperoleh dimurnikan dan dilakukan sekuensing DNA. Hasil pita DNA terlihat tebal dan tidak berbayang. Hal tersebut menunjukkan bahwa DNA jamur menempel sempurna pada cetakan DNA. Hasil sekuensing DNA digunakan untuk identifikasi spesies isolat T10 ISRI. Menurut Baldwin *et al* (1995), ukuran basa dari primer ITS 1 dan ITS 4 antara 500 bp sampai dengan 700 bp.

Hasil elektroforesis pada Gambar 1. menunjukkan bahwa pita sampel isolat *Trichoderma* sp. T10 ISRI memiliki ketebalan yang sama dengan kontrol positif *Trichoderma* sp. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel isolat T10 ISRI teridentifikasi sebagai jamur *Trichoderma* sp. karena berada pada 500 bp sampai dengan 700 bp. Identifikasi tahap selanjutnya adalah menggunakan metode sekuensing DNA T10 ISRI untuk dibandingkan dengan data base dari *National Center Biotechnology Information* (NCBI). Hasil analisa dapat dilihat berdasarkan analisa *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) dan gambar kekerabatan dengan spesies *Trichoderma* lainnya.

Hasil analisa menggunakan BLAST dari NCBI menunjukkan bahwa *Trichoderma* sp. isolat T10 ISRI yang diidentifikasi memiliki kesamaan dengan urutan DNA *Trichoderma asperellum*. Kesamaan hasil analisa BLAST mencapai 100% (Tabel 1.). Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat T10 ISRI teridentifikasi sebagai *Trichoderma asperellum*. Panjang untai DNA isolat T10 ISRI 593 bp yang hampir sama dengan *Trichoderma asperellum* isolat T sum 66 dengan aksesori MT 102403 dengan selisih panjang untai DNA 8 bp. Hal tersebut menunjukkan kesamaan pada panjang untai DNA. Kedekatan hubungan kekerabatan *Trichoderma* sp. isolat T 10 dan *Trichoderma asperellum* T10 ISRI dapat dilihat pada gambar pohon filogenetik.

Identifikasi Molekuler *Trichoderma* sp. Isolat T10 ISRI sebagai Agen Hayati Penyakit Busuk Akar dan Pangkal Batang *Xylaria*

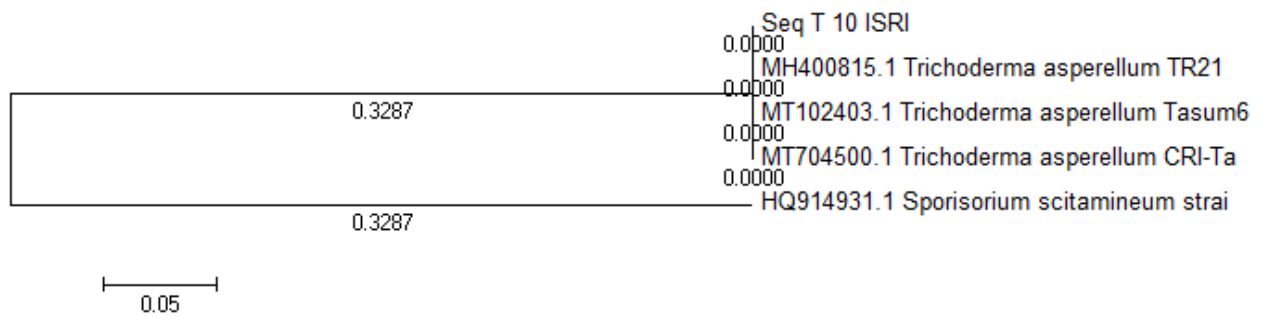


Gambar 1. Hasil amplifikasi DNA *Trichoderma* sp. isolat T10 ISRI dengan primer ITS 1&4. M adalah *marker* 1 kbp plus ladder, K - (kontrol negatif/aquades), K + (*Trichoderma* sp.) dan S adalah sampel *Trichoderma* sp. isolat T10 ISRI

Figure 1. Results of *Trichoderma* T10 ISRI DNA amplification with ITS 1-4 primers. M is 1 kbp marker plus leader. K - (negative control/aquades) K + (*Trichoderma* sp.). S is *Trichoderma* sp. Sample. T10 ISRI

Tabel 1. Homologi *Trichoderma* sp. isolat T10 ISRI dengan spesies *Trichoderma asperellum*
Table 1. Homology of isolate T10 ISRI with *Trichoderma asperellum* species

Organisme	Isolat	Nama spesies	Nomor Akses	Persen identitas BLAST	Panjang untai DNA	Total Skor
Jamur	T10 ISRI	<i>Trichoderma asperellum</i> Isolate T Sum 66	MT 102403	100 %	601 bp	1096
		<i>Trichoderma asperellum</i> Strain CRI-Ta1	MT704500	100%	602 bp	1096



Gambar 2. Pohon filogenetik *Trichoderma* sp. isolat T10 ISRI dengan pembandingan 3 data isolate *Trichoderma* NCBI. (1) Pohon filogenetik dihasilkan dari *neighbor-joining Bootstrap* 1000 ulangan algoritma cabang pohon dengan jarak dan frekuensi.

Figure 2. Phylogenetic tree of isolate T10 ISRI with comparison of 3 data of NCBI *Trichoderma* isolates. (1) The phylogenetic tree is generated from the *neighbor-joining Bootstrap* 1000 replicate tree branch algorithm with distance and frequency.

Berdasarkan Gambar 2. terlihat bahwa isolat T10 ISRI memiliki jarak yang dekat dengan kelompok *Trichoderma asperellum* dengan jarak antar cabang 0,00001. Jarak di luar kelompok 0,3287 dengan *Sporisorium scitamineum*. Isolat T10 ISRI teridentifikasi sebagai *Trichoderma asperellum* dan dekat dengan *Trichoderma asperellum* strain TR21 dengan nomer aksesori MH400815. Menurut Hall (2021) jika semakin besar nilai cabang menunjukkan adanya perubahan sekuen yang terjadi. Pada gambar pohon filogenetik cabang sangat pendek atau rerata sama pada satu kelompok 0,00001 sehingga perubahan sekuen tidak terjadi dalam kelompok.

Trichoderma asperellum merupakan jamur antagonis pada beberapa penyakit tanaman. *T. asperellum* dapat menekan 100% penyakit layu fusarium pada tanaman cabai (Antari *et al.*, 2020). Penggunaan agen hayati *T. asperellum* pada konsentrasi 2 g/liter dan 4 g/liter mampu mengendalikan penyakit busuk buah pada kakao yang disebabkan *Phytophthora palmivora* (Hakkar *et al.*, 2014). Kemampuan *T. asperellum* dalam menekan kejadian penyakit biasanya berkaitan

dengan antagonisme secara langsung dengan patogen dan secara spesifik berkaitan dengan enzim lisis seperti kitinase dan beta 1,3 glukonase. Kedua enzim ini yang memiliki peran utama dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen (Benítez *et al.*, 2004). Jumlah aktivitas enzim kitinase *Trichoderma asperellum* yaitu antara 2,3 – 10,3 unit/ml sedangkan aktivitas enzim beta -1,3 glukonase yaitu antara 0,80 – 1,98 unit/ml. Aktivitas enzim kitinase paling mempengaruhi antagonisme *T. asperellum* terhadap penekanan penyakit (El Komy *et al.*, 2015). *Trichoderma asperellum* memiliki kemampuan untuk mengkolonisasi akar yang berfungsi untuk menekan serangan pada permukaan akar tanaman (Hermosa *et al.*, 2012). Hasil Penelitian dari Trillas *et al.*, (2006) menyatakan bahwa pengendalian penyakit rebah semai *Rhizoctonia solani* dengan cara menggabungkan kompos dan *Trichoderma asperellum* dapat menekan penyakit dan mempercepat tingkat kematangan kompos (Trillas *et al.*, 2006). Oleh karena itu isolat T10 ISRI yang teridentifikasi dengan nama *Trichoderma asperellum* memiliki potensi sebagai agen pengendali hayati jamur *Xylaria* sp.

KESIMPULAN

Identifikasi secara molekuler menggunakan analisis BLAST NCBI menunjukkan bahwa jamur *Trichoderma* sp. isolat T10 ISRI teridentifikasi sebagai *Trichoderma asperellum*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada skala rumah kaca untuk mengkarakterisasi potensi isolat tersebut sebagai agen hayati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada teknisi di Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia dan Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia yang terlibat dalam kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Antari, N.M., Darmayasa, I.B.G. & Hardini, J. (2020) Efektivitas *Trichoderma asperellum* Dengan Mediator Pupuk Kandang Untuk Mengendalikan Penyakit Layu Fusarium Pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annum* L.). *Symbiosis*, VIII (2): 63-71
- Baldwin, B.G., Michael J.S., Porter, J.M., Martin F.W., Christopher S.C. & Michael J.D. (1995) The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable of Evidence on Angiosperm Phylogeny. *Annals of the Missouri Garden* (2): 247-277 p.
- Benitez, T., Rincon, A.M., Limon, M.C. & Codon, A.C. (2004) Biocontrol Mechanisms of *Trichoderma* Strain. *International Microbiologi*. Vol 7:249-260 p.
- El Komy, M. H., Saleh, A. A., Eranthodi, A. & Molan, Y.Y. (2015) Characterization of Novel *Trichoderma asperellum* Isolates to Select Effective Biocontrol Agents Against Tomato Fusarium Wilt. *The plant pathology journal*. 31(1), 50–60.
<https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.09.2014.0087>
- Fatihah, E.L., Arumingtyas, S., Widyarti, S., Rahayu, Y., Kusmowardhani, A., Hidayati & Harmaji (2006) Analisa Biologi Molekuler. *JBUB*. 88 p.
- Fang, J.G., Hsieh, W.H. & Lee, C.S. (1994) *Root and basal stem rot, a new disease of sugarcane*. In: Rao, G.P., Gillaspie Jr., A.G., Upadhyaya, P.P., Bergamin, A., Agnihotry, V.P. and Chen, C.T. eds. *Current Trends in Sugarcane Pathology*. International Books & Periodicals Supply Service. Delhi, India, 59–64
- Hall, B.G. (2001) *Phylogenetic Trees Made Easy: A How - To Manual for Molecular Biologists*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA. 197 p.
- Hakkar, A.A., Rosmana, A. & Rahim, M.D. (2014) Pengendalian Penyakit Busuk Buah *Phytophthora* pada Kakao dengan Cendawan Endofit *Trichoderma asperellum*. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* Vol 10 (5): 139-144 p.
- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I. & Monte, E. (2012) *Plant-beneficial effects of Trichoderma and of its genes*. Microbiology (Reading, England). 158. 17-25. 10.1099/mic.0.052274-0.
- Hooker W.J. (1981) Potato disease. *The American Phytopathological Society*, St paul Minnesota USA. 125 pp.
- Jati, W.W., Abadi, A.L., Aini, L.Q. & Djauhari, S. (2022) Screening of *Trichoderma* sp. Isolates Based on Antagonism and Chitinolytic Index Against *Xylaria* sp. *J Trop Plant Pests Dis*, 22: 55-67 p.
- Maryono, T.A., Widiastuti, A. & Priatmodjo (2017) Penyakit Busuk

- Akar dan Pangkal Batang Tebu di Sumatra Selatan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 13: 67-71 p.
- Maryono, T.A., Widiastuti, R.H., Murti, A. & Priatmodjo (2020) Identification and Characterization of the Causal Agent of Sugarcane Root and Basal Stem Rot in South Sumatra, Indonesia. *Sugar Tech*, 22:105-111. <https://doi.org/10.1007/s12355-019-00749-2>.
- Sandy, Y.A., Djauhari, S. & Sektiono, A.W. (2016) Identifikasi Molekuler Jamur Antagonis *Trichoderma harzianum* Diisolasi dari Tanah Pertanian di Malang, Jawa Timur. *Jurnal HPT (Hama Penyakit Tumbuhan)*, 3(3), pp.1–8. Diakses 12 Desember 2022 dari <https://jurnalhpt.ub.ac.id/index.php/jhpt/article/view/194>
- Trillas, M.I., Casanova, E., Cotxarrera, L., Ordovás, J., Borrero, C. & Avilés, M. (2006) Composts from agricultural waste and the *Trichoderma asperellum* strain T-34 suppress *Rhizoctonia solani* in cucumber seedlings. *Biological Control*, 39(1), 32–38. P.
- Yulianti, T. (2017). Perkembangan Penyakit Lapuk Akar dan Pangkal Batang Tebu (*Xylaria warbugii*) di Sumatera dan Strategi Pengendaliannya. *Perspektif*, Vol. 16 No. 2, 122-133 p.