

UJI ANTAGONIS *Trichoderma* sp. TERHADAP FUNGI PATOGEN *Pestalotiopsis* sp. PENYEBAB PENYAKIT HAWAR DAUN PADA TANAMAN *Eucalyptus*

Nuraliefah Khaerani^{1*}, Tri Saptari Haryani¹, Neo Endra Lelana²

¹Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Pakuan, Bogor, Indonesia

²Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman Hutan Pusat Standardisasi Instrument Pengelolaan Hutan Berkelanjutan. Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan. BRIN Jl. Gunung Batu No. 5. Bogor, Indonesia

*e-mail: efahkhaerani9@gmail.com

diterima: 18 April 2023 direvisi: 3 Mei 2024; disetujui: 10 Mei 2024

ABSTRAK

Penyakit hawar daun menjadi salah satu penyakit penting pada tanaman hutan *Eucalyptus* spp. Penyakit ini dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan tanaman bahkan kematian pada tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan antagonistik beberapa isolat *Trichoderma* terhadap fungi *Pestalotiopsis* yang berasosiasi dengan penyakit hawar daun pada tanaman *Eucalyptus*. Penelitian dilakukan menggunakan metode biakan ganda (*dual culture*) yaitu dengan menumbuhkan isolat *Trichoderma* dan patogen pada cawan petri yang sama. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA pada taraf uji 5% dan dilanjutkan dengan Uji Duncan jika ada beda nyata. Hasil analisis BLAST patogen penyebab hawar daun mempunyai kemiripan tertinggi dengan *Pestalotiopsis uvicola*, yaitu sebesar 99,82%. Hasil uji antagonis menunjukkan persentase penghambatan *Trichoderma* terhadap isolat patogen *Pestalotiopsis* terbesar ditunjukkan oleh isolat T.L.122 yaitu sebesar 65,33%, diikuti dengan isolat T.L.411 dan isolat T.L.631 yaitu berturut-turut sebesar 54,49% dan 49,33%. Isolat T.L.122 dinyatakan paling efektif berpotensi sebagai fungi antagonis terhadap patogen *Pestalotiopsis* penyebab penyakit hawar daun pada tanaman *Eucalyptus*.

Kata Kunci: *Dual culture*, penghambatan, *Pestalotiopsis uvicola*.

ANTAGONIST TEST OF *Trichoderma* sp. AGAINST *Pestalotiopsis* sp. A PATHOGENIC FUNGUS CAUSES LEAF BLIGHT ON *Eucalyptus*

ABSTRACT

Leaf blight disease has become one of the significant ailments in *Eucalyptus* spp. forest plants. This disease can lead to plant growth disruption and even plant mortality. This research aims to evaluate the antagonistic abilities of several *Trichoderma* isolates against *Pestalotiopsis* fungi associated with *Eucalyptus* leaf blight disease. The research was conducted using the dual culture method, wherein both *Trichoderma* isolates and the pathogen were cultivated on the same petri dish. The obtained data were analyzed using ANOVA at a 5% significance level, followed by the Duncan test in case of significant differences. The results of BLAST analysis of pathogens causing leaf blight have the highest similarity with *Pestalotiopsis uvicola*, which is equal to 99.82%. The Results test antagonist show percentage inhibition *Trichoderma* to pathogen *Pestalotiopsis* biggest showed by isolate TL122 ie of 65.333%, followed with isolates TL411 and TL631 ie consecutive by 54.49% and 49.33%. The T.L.122 isolate was declared to be the most effective as a potential antagonist fungus against the *Pestalotiopsis* pathogen which causes leaf blight in *Eucalyptus* plants.

Keywords: *Dual culture*, inhibition, *Pestalotiopsis uvicola*.

PENDAHULUAN

Eucalyptus merupakan jenis tanaman yang termasuk dalam famili Myrtaceae. Sebaran alami *Eucalyptus* banyak terdapat di Australia, Tasmania, dan beberapa spesies merupakan spesies asli Indonesia. Daun dan minyak atsirinya sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari karena memiliki sifat antiseptik, anti-inflamasi dan antipiretik (Sabo dan Knezevic, 2019). Pertumbuhan *Eucalyptus* sering terkendala akibat pengelolaannya yang belum optimal sehingga mempengaruhi hasil produksi. Organisme pengganggu tanaman (OPT) adalah faktor utama pembatas produksi tanaman (Mainahmunah, 2013) termasuk pengganggu pertumbuhan *Eucalyptus*.

Salah satu penyakit yang banyak ditemukan pada *Eucalyptus* adalah penyakit hawar daun yang salah satunya disebabkan oleh *Pestalotiopsis* spp.. Penyakit ini dianggap sangat penting terutama pada tanaman dewasa (Carvalho, et al. 2019; Morales-Rodriguez et al. 2019; Suwannarach et al. 2014). Gejala awal pada tanaman *Eucalyptus* yang terkena hawar daun berupa perubahan warna pada permukaan daun adanya bercak-bercak pada daun yaitu bercak berwarna coklat kemerahan dan bercak keabu-abuan (Siallagan, dkk., 2015). *Pestalotiopsis* spp. telah dilaporkan bertanggung jawab atas lesi pada kulit tanaman *E. globulus*, sebagai jamur endofit dan epifit pada daun *E. citriodora*, dan menyebabkan bercak daun pada daun *E. citriodora*, *E. camaldulensis*, *E. globulus*, dan *E. botryoides* (Carvalho, et al. 2019; Morales-Rodriguez et al. 2019; Suwannarach, et al. 2014).

Pemanfaatan mikroorganisme antagonis merupakan pilihan alternatif sebagai pengendali penyakit hawar daun karena dapat meminimalkan gangguan terhadap keseimbangan biologis disamping menurunkan biaya pengendalian (Herliyana, dkk., 2013). *Trichoderma* adalah salah satu fungi antagonis yang banyak dimanfaatkan dalam pengendalian penyakit tanaman. Secara alami, *Trichoderma* merupakan saprofit tanah yang secara alami menyerang

banyak jenis fungi penyebab penyakit tanaman (Muksin, dkk., 2013). Fungi *Trichoderma* dapat juga digolongkan sebagai fungi endofit karena kemampuan hidupnya di dalam jaringan tanaman, baik secara mutualisme maupun komensalistik dengan inangnya (Jia et al., 2016).

Mikroorganisme yang bersifat antagonis dapat menghambat aktivitas mikroorganisme lain yang berada ditempat yang berdekatan (Alfizar, 2013). Menurut Dendang (2015), *Trichoderma* menghasilkan enzim β - (1-3) glukonase dan kitinase yang menyebabkan eksolisis pada patogen sehingga menyebabkan hancurnya dinding sel fungi patogen. Pengamatan *in Vitro* dari isolat *Trichoderma* setelah patogen mati, menunjukkan bahwa fungi antagonis tumbuh terus menutupi permukaan koloni fungi patogen (Dendang, 2015). Hal ini membuktikan bahwa fungi antagonis *Trichoderma* dapat melakukan penekanan jumlah inokulum atau aktivitas patogen (Huda et al., 2019). Pada penelitian ini, beberapa isolat *Trichoderma* diuji kemampuan antagonistiknya terhadap patogen *Pestalotiopsis* sp.

BAHAN DAN METODE

Isolat patogen *Pestalotiopsis*

Isolat *Pestalotiopsis* yang digunakan dalam uji merupakan koleksi Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman Hutan, Pusat Standardisasi Instrument Pengelolaan Hutan Berkelanjutan, Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan. Patogen ini diisolasi dari sampel daun *Eucalyptus camaldulensis* yang bergejala penyakit hawar daun.

Isolasi Fungi *Trichoderma* dengan Metode Cawan Pengenceran

Isolat *Trichoderma* yang digunakan merupakan isolat yang diisolasi dari daerah rhizosfer bambu yang dikoleksi dari berbagai lokasi di Bogor menggunakan media *Trichoderma selective medium* (TSM). Identifikasi spesies berdasarkan ciri makroskopis dilakukan dengan melihat secara langsung berdasarkan penampakan fisik (Ristiari, dkk., 2018).

Identifikasi Molekuler Ekstraksi DNA

Miselium fungi ditumbuk dalam mortar menggunakan 900 µl CTAB 2%. Suspensi dipindahkan ke dalam microtube 2 ml dan diinkubasi pada suhu 65°C selama 2 jam. Larutan chloroform: *isoamyl alcohol* (CI) sebanyak 800 µl ditambahkan ke dalam tabung dan divortex hingga tercampur rata. Tabung selanjutnya disentrifugasi pada 12.000 rpm dengan suhu 15°C selama 15 menit. Supernatan diambil seluruhnya min 400 µl dan ditambah 1/10 volume NaOAc + 2x volume ethanol absolut. Tabung diinkubasi semalaman dalam suhu -20°C dan sentrifugasi kembali 10.000 rpm dengan 15°C selama 20 menit. Setelah itu cairan dibuang dan pellet dicuci dengan etanol 70% sebanyak 1000 µl. Tabung dikeringkan pada suhu kamar dan selanjutnya ditambahkan ddH₂O sebanyak 50 µl dan kemudian disimpan dalam suhu -20°C.

Reaksi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan sekuensing

Reaksi PCR dilakukan menggunakan primer ITS 1 (Forward) (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') dan ITS 4 (Reverse) (5'TCCTCCGCTTA TTGATATGC-3') (White, *et al.* 1990). Reaksi PCR dilakukan menggunakan 1x MyTaq (Bioline) sesuai rekomendasi perusahaan. Kondisi reaksi PCR yaitu denaturasi awal selama 5 menit pada 94°C, dilanjutkan sebanyak 30 siklus melalui tiga tahapan yang meliputi denaturasi selama 45 detik menit pada 94°C, annealing selama 1 menit pada 58°C, dan polimerisasi selama 1 menit 30 detik menit pada 72°C, pada tahap akhir ditambah 10 menit pada 72°C. Hasil PCR selanjutnya dikirim ke 1st BASE Singapura untuk dilakukan sekuensing.

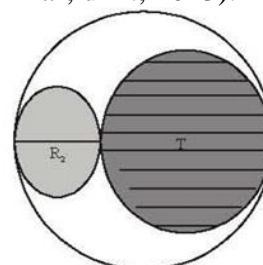
Analisis Homologi

Analisis homologi dilakukan untuk membandingkan sekuen nukleotida yang dihasilkan terhadap organisme pada database di *GenBank*. Analisis dilakukan menggunakan program BLAST (*Basic Local*

Alignment Search Tools) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Uji antagonis *in vitro* dengan metode biakan ganda (*dual culture*)

Metode biakan ganda dilakukan untuk pengujian aktivitas antagonis *Trichoderma* dengan menempatkan potongan miselium fungi antagonis dan fungi patogen berdiameter 5 mm umur 7 hari pada media PDA dalam satu cawan. Pengamatan luas dan diameter koloni *Trichoderma* fungi patogen dilakukan pada umur 1 HSI (hari setelah inokulasi) sampai 7 HSI. Inokulum diletakkan Pada cawan petri berdiameter 9 cm. Untuk masing-masing pengujian dibuat garis tengah dan diberi dua titik. Jarak antara keduanya dari tepi cawan yaitu 3 cm. Cara peletakan inokulum dapat dilihat pada Gambar (Alfizar, dkk., 2013).



Gambar 1. Peletakan inokulum (Muksin, *et al.*, 2013).

Pengamatan dilakukan setiap hari dari saat kontrol ditanam dengan mengukur persentase daya hambat dengan rumus (Huda, dkk., 2019):

$$I = r1-r2/r1 \times 100\%$$

Keterangan:

I = Persentase hambatan

r1= Jari-jari fungi patogen pada cawan petri kontrol.

r2= Jari-jari fungi patogen pada cawan petri perlakuan.

Kriteria persentase hambatan pertumbuhan (%) yaitu persentase hambat tinggi: 70-100%; persentase hambat sedang: 40-69%; persentase hambat rendah: 0-39 % (Hidayat, dkk., 2021).

Analisis Data

Hasil dari uji antagonis terhadap setiap perlakuan dianalisis menggunakan Analisis Varian (ANOVA) dengan taraf kepercayaan

95% ($p < 0,05$). perlakuan yang menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka dilakukan uji lanjut Duncan 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Izzatinnisa, *et al.*, 2020).

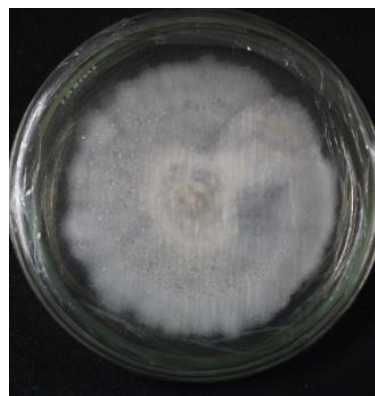
HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Fungi *Pestalotiopsis*

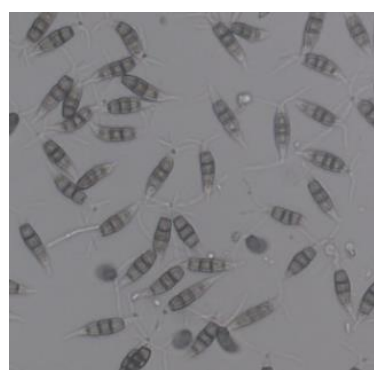
Secara makroskopis miselium *Pestalotiopsis* berwarna putih, tekstur seperti kapas, bentuk tidak teratur (Gambar 2a). Secara mikroskopis hifa terlohat bersekat, bercabang dan berwarna gelap, serta terdapat konidia berbentuk lonjong agak meruncing dengan dua atau lebih hialin, pada kedua ujungnya yang salah satu ujungnya terdapat bulu cambuk (Gambar 2b). Berdasarkan hasil identifikasi molekuler, patogen hawar daun *E. camaldulensis* memiliki persentase kemiripan tertinggi dengan sekuen "*Pestalotiopsis uvicola*" pada database *GenBank*, yaitu sebesar 99,82%, Query cover = 100, e value = 0) (Tabel. 1).

Beberapa laporan menunjukkan bahwa *Pestalotiopsis* menyebabkan penyakit hawar daun pada beberapa jenis *Eucalyptus*, termasuk *E. camaldulensis* (Carvalho, *et al.* 2019; Morales-Rodriguez, *et al.* 2019; Suwannarach, *et al.* 2014). Pada studi ini, *Pestalotiopsis uvicola* menyebabkan penyakit hawar daun pada bibi tanaman *E. camaldulensis*. Pada laporan sebelumnya,

Pada *P. uvicola* dilaporkan hanya menyerang daun muda pada *E. globulus* (Marquez, *et al.* 2011).



(a)



(b)

Gambar 2. (a) Biakan *Pestalotiopsis* pada media PDA (b) Spora *Pestalotiopsis*.

Tabel 1. Analisis BLAST Sekuen Nukleotida Patogen Hawar Daun *Pestalotiopsis*.

Deskripsi	Query Cover	Per. Ident	Accession
<i>Pestalotiopsis uvicola</i> isolate SZT2	100%	99.82%	OK639011.1
<i>Pestalotiopsis pini</i> isolate MEAN 1167	100%	99.46%	MT374689.1
<i>Pestalotiopsis disseminata</i> isolate MEAN 1166	100%	99.46%	MT374688.1
<i>Pestalotiopsis microspora</i> isolate BQ	100%	99.28%	KR909210.1
<i>Fusarium solani</i> strain RM2	100%	99.28%	JN887340.1
<i>Pestalotiopsis biciliata</i> isolate MEAN 1168	100%	99.28%	MT374690.1
<i>Pestalotiopsis neglecta</i> strain LK29	100%	99.28%	DQ000992.1
<i>Pestalotiopsis adusta</i> strain HEV120Z	100%	99.10%	MT470669.1
<i>Pestalotiopsis pini</i> isolate MEAN 1092	99%	99.46%	MT374680.1
<i>Pestalotiopsis kandelicola</i> strain ZHKUCC_22_0023	99%	99.46%	ON180779.1
<i>Pestalotiopsis parva</i> voucher UMAS P5	99%	99.46%	KT337386.1

Uji Antagonis *Trichoderma*

1) Aktivitas Penghambatan

Uji antagonis telah dilakukan pada beberapa isolat *Trichoderma* terhadap patogen *Pestalotiopsis*. Hasil uji menunjukkan bahwa isolat T.L.122 secara signifikan menunjukkan daya hambat terbesar yaitu 65,333%. Hasil ini mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dibanding penelitian sebelumnya. Widyarningsih and Triasih (2020) melaporkan daya hambat tertinggi *T. harzianum* pada *Pestalotiopsis* adalah sebesar 32% dan Kumhar, *et al.* (2016) melaporkan *T. asperellum* dapat menghambat pertumbuhan *P. theae* sebesar 62,5%. Menurut Hidayat *et al.* (2021), daya hambat dengan presentase 40-69% termasuk kategori sedang (Hidayat, *et al.*, 2021). Namun demikian, perbandingan secara langsung hasil tersebut memang tidak dapat dilakukan karena banyaknya faktor yang mempengaruhi, seperti isolat patogen, komposisi media, dan metode pengujian yang digunakan (Lelana, dkk. 2015).

Genus *Trichoderma* merupakan genus yang banyak dipelajari sifat antagonisnya terhadap berbagai jenis pathogen. *Trichoderma* memiliki aktivitas antimikroba yang tinggi karena kemampuannya dalam memproduksi β -glukanase dan kitinase yang berperan penting sebagai enzim hidrolitik mendegradasi dinding sel patogen (Kubicek, *et al.*, 2019).

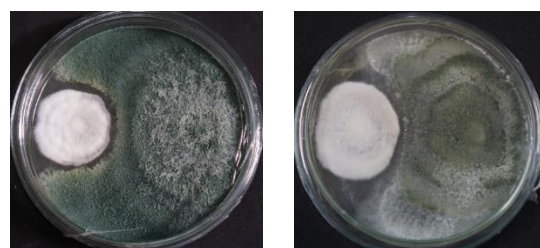
Tabel 2. Persentase daya hambat *Trichoderma* terhadap *Pestalotiopsis*

Isolat	Daya hambat (%)
T.L.121	45,33bc
T.L.122	65,33d
T.L.131	45,33bc
T.L.411	54,67c
T.L.412	38,67b
T.L.421	42,67b
T.L.422	37,33b
T.L.611	46,67bc
T.L.612	40,00b
T.L.631	49,33bc

Ket: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada taraf <5%

Fungi patogen *Pestalotiopsis* setelah dilakukan uji antagonis dengan *Trichoderma* menunjukkan bahwa pada metode *dual culture* penampakan morfologi hifa patogen miselium pada perlakuan sebagian besar lebih tipis dari pada kontrol, ini merupakan salah satu indikasi adanya kompetisi yang terjadi antara fungi patogen dan antagonis. Kompetisi terjadi ketika dua mikroorganisme membutuhkan nutrisi dan ruang yang jumlahnya terbatas. Pada mekanisme ini, fungi antagonis akan mendapatkan nutrisi lebih banyak dibandingkan dengan fungi patogen, dengan demikian pertumbuhan patogen akan terhambat (Zivkovic *et al.*, 2010).

Isolat T.L.122 menunjukkan pertumbuhan yang cepat dalam menekan *Pestalotiopsis* (Gambar 3). Pertumbuhan yang cepat ini menguntungkan bagi *Trichoderma* dalam berkompetisi dengan fungi fitopatogen untuk memperoleh ruang dan nutrisi, bahkan sebelum aksi mikotoksin yang dimilikinya (Zivkovic, *et al.*, 2010). Terdapat perubahan struktur hifa pada area kontak dengan fungi antagonis (Zivkovic, *et al.*, 2010). Perubahan struktur pada hifa fungi menjadi indikasi adanya aktivitas dari senyawa-senyawa antibiotik. Senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibiotik akan masuk ke dalam sel fungi dan akan menyebabkan mikolisis yaitu hilangnya protoplasma pada struktur dinding sel sehingga enzim tidak larut pada dinding sel fungi. Mikolisis ini menyebabkan sejumlah gejala, seperti pembengkakan, pemendekan, dan lisisnya dinding sel serta mengakibatkan pertumbuhan abnormal pada hifa (Ismail & Andi, 2011).



Gambar 3. Mekanisme penghambatan *Trichoderma* pada *Pestalotiopsis*

Pada Gambar 3 terjadi antibiotis, dimana terbentuk zona kosong diantara fungi patogen dan fungi antagonis terdapat perubahan bentuk hifa patogen serta dihasilkan pigmen dipermukaan bawah koloni fungi antagonis. Antibiosis adalah suatu kondisi dimana organisme mengeluarkan satu atau lebih metabolit yang memiliki efek negatif pada organisme lain. Mekanisme ini melepaskan senyawa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan fungi pathogen (Muhibbudin, *et al.*, 2021) hal tersebut membuat terjadinya lisis sel hifa dan spora (El-Debaiky, 2017). Pada Gambar 3 terjadi parasitisasi, dimana koloni fungi antagonis menutupi koloni patogen dan hifa fungi antagonis tumbuh diatas hifa fungi patogen (Amaria, dkk., 2016). Parasitisme adalah interaksi kompetitif langsung antara dua organisme di mana satu organisme mendapatkan nutrisi dari yang lain (Kohl *et al.*, 2019). Mekanisme ini ditandai dengan adanya hifa fungi antagonis yang menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel untuk mengambil nutrisi serta terjadi penggulungan dan penetrasi hifa (El-Debaiky, 2017) hal ini melisiskan fungi pathogen hingga fungi patogen mati (Cornejo, dkk., 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan isolat *Trichoderma* pada rizosfer tanah tanaman bambu berpotensi sebagai fungi antagonis terhadap patogen penyebab penyakit hawar daun pada tanaman *Eucalyptus*. Isolat T.L.122 efektif menghambat patogen *Pestalotiopsis* sebesar 65,333%.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji antagonis *Trichoderma* terhadap patogen penyebab hawar daun pada tanaman *Eucalyptus* menggunakan berbagai spesies fungi penyebab hawar daun yang lainnya dan juga dilakukan pada lahan terbuka langsung agar lebih diketahui pemanfaatan agen antagonis tersebut sesuai kejadian di lapangan.

Trichoderma pada rizosfer tanah tanaman bambu berpotensi sebagai fungi

antagonis terhadap patogen penyebab penyakit hawar daun pada tanaman *Eucalyptus*. *Trichoderma* efektif menghambat patogen dengan nilai persentasi penghambatan terbesar yaitu isolat T.L.122 sebesar 65,33%.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji antagonis *Trichoderma* terhadap patogen penyebab hawar daun pada tanaman *Eucalyptus* menggunakan berbagai spesies fungi penyebab hawar daun yang lainnya dan juga dilakukan pada lahan terbuka langsung agar lebih diketahui pemanfaatan agen antagonis tersebut sesuai kejadian di lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada staf Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman Hutan, Pusat Standardisasi Instrument Pengelolaan Hutan Berkelanjutan, Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan yang telah membantu dalam kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfizar, Marlina, Susanti, F. (2013). Kemampuan Antagonis *Trichoderma* Terhadap Beberapa Fungi Patogen *In Vitro*. Prodi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Darussalam.
- Amaria, W., Soesanthy, F., Ferry, Y. (2016). Keefektifan Biofungisida *Trichoderma* sp. Dengan Tiga Jenis Bahan Pembawa Terhadap Jamur Akar Putih *Rigidoporus Microporus*. *J. TIDP* 3(1), 37–44. Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar.
- Carvalho, D.D.C., Oliveira, R.M., Marques, M.G. (2019). Molecular, morphophysiological and pathogenic characterization of *eucalypt Pestalotiopsis grandis-urophylla* isolates, a new species. *Trop. plant pathol.* 44, 132–139. <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00277-0>
- Cornejo, H.A.C. Iiguez, L.M.ias, Val. E. del, & Larsen, J. (2016). Fungsi ekologis

- Trichoderma* sp. *Ekologi Mikrobiologi*, 92(1), 1-17
- Dendang, B. (2015). Uji Antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap *Ganoderma* sp. yang Menyerang Tanaman Sengon Secara *in-vitro*. *Penelitian Kehutanan Wallace*, Vol 4 (2).
- El-Debaiky, SA. (2017). Antagonistic studies and hyphal interactions of the new antagonist *Aspergillus piperis* against some phytopathogenic fungi in vitro in comparison with *Trichoderma harzianum*. *Microbial Pathogenesis*, Vol. 113 Pages 135-143. Tanta University, Egypt.
- Herliyana EN., Jamilah R, Taniwiryo D, Firmansyah MA. (2013). Uji In-vitro Pengendalian Hayati oleh *Trichoderma* spp. terhadap *Ganoderma* yang Menyerang Sengon. *Silvikultur Tropika*, Vol 4 (3)
- Hidayat, N., Rajab, A., Mudi, L. (2021). Uji Invitro Daya Hambat Fungi Endofit Asal Tanaman Rambusa (*Passiflora foetida*) Sebagai Agens Pengendali Hayati Penyakit Layu *Fusarium*. *Jurnal Agrotech*, Vol 11 (2) 64-70. Politeknik Pertanian Negeri Samarinda.
- Huda N, Imaningsih W, Hakim SS. (2019). Uji Antagonisme Fungi Endofit Tanaman Galam (*Melaleuca cajuputi*) terhadap *Calonectria truncatum*. *Jurnal Mikologi Indonesia*, Vol 3 No (2). Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan.
- Ismail, N., & Andi Tenrirawe. (2011). *Potensi Agen Hayati Trichoderma harzianum Sebagai Agens Pengendali Hayati*. Seminar Regional Inovasi Teknologi Pertanian. Sulawesi Utara.
- Izzatinnisa', Utami U, Mujahidin A. (2020). Uji Antagonisme Beberapa Fungi Endofit pada Tanaman Kentang terhadap *Fusarium oxysporum* secara *In Vitro*. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*, Vol 2 (1). Universitas Islam Negeri Malang.
- Jia M, Chen L, Xin HL, Zheng, C-J. Han T, Qin LP. (2016). Friendly Relationship between Endophytic Fungi and Medicinal Plants: A Systematic Review. *Frontiers in Microbiology* (7): 1-4. doi: 10.3389/fmicb.2016.00906
- Kohl, J., Kolnaar, R., and Ravensberg, W.J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science*, 10(July): 1-19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.0084559>
- Kubicek, Christian P. (2019). Evolution and comparative genomics of the most common *Trichoderma* species. *Research Article BMC Genomic*. 20(1), 1–24.
- Lelana, EN., Anggraeni, I., Mindawati, N. (2015). Uji Antagonis *Aspergillus* sp. Dan *Trichoderma* spp. Terhadap *Fusarium* sp., Penyebab Penyakit Rebah Kecambah Pada Sengon. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman* Vol. 12 No. 1, 23-28.
- Maimunah, RAK. (2013). Hama Tanaman Pertanian. *Agricultural Crop Pests*, Buku Ajar, No. 4. Universitas Medan Area.
- Márquez, S. S., Bills, G. F., and Zabalgoeazcoa, I. (2011). Fungal species diversity in juvenile and adult leaves of *Eucalyptus globulus* from plantations affected by *Mycosphaerella* leaf disease. *Ann. Appl. Biol.* 158, 177–187. doi: 10.1111/j.1744-7348.2010.00449.x
- Morales-Rodríguez, C., Dalla Valle, M., Aleandri, M.P. & Vannini, A. (2019). *Pestalotiopsis biciliata*, a new leaf pathogen of *Eucalyptus*, spp. recorded in Italy. *Forest Pathology*. 49: 1–7. DOI:[10.1111/efp.12492](https://doi.org/10.1111/efp.12492).
- Muhibbudin, A., Setiyowati, EM., Sektiono, AW. (2021). Mechanism Antagonism

- Of *Trichoderma Viride* Against Several Types Of Pathogens And Production Of Secondary Metabolites. Universitas Brawijaya. Malang. *Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 4 (1).
- Muksin, R., Rosmini, Panggeso, J. (2013). Uji Antagonisme *Trichoderma* Terhadap Fungi Patogen *Alternaria porri* Penyebab Penyakit Bercak Ungu Pada Bawang Merah Secara In-Vitro. *Agrotekbis*, Vol 1 (2). Untad.
- Ristiari, NPN., Julyasih, KSM., Suryanti, KAP. (2018). Isolasi dan Identifikasi Fungi Mikroskopis pada Rizosfer Tanaman Jeruk Siam (*Citrus nobilis lour.*) Dikecamatan Kintamani, Bali. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, Vol. 6 (1). Universitas Pendidikan Ganesha. Singaraja.
- Sabo, VA and Knezevic, V. (2019). Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. plant extracts and essential oils: A review. *Industrial Crops & Products*, Vol.132 (413–429). *University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovica 2, Novi Sad, Vojvodina, Serbia*.
- Siallagan, BR., Anna, N., Siregar, EBM. (2015). Uji Infeksi *Cylindrocladium* sp., Terhadap Klon Hibrida Turunan *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*. *Peronema Forestry Science*, Vol 4 (3). Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Suwannarach N, Kumla J, Bussaban B & Lumyong S. (2012). New report of leaf blight disease on eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) caused by *Pestalotiopsis virgatula* in Thailand, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 34:2, 306-309, DOI: 10.1080/07060661.2012.680501.
- White, TJ., Bruns, T., Lee, S., Taylor, JW. (1990). *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics*. In: Innis, MA., Gelfand, DH., Sninsky, JJ., White, TJ., editor. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. New York: Academic Press Inc; 1990. Pp. 315–322.
- Widyaningsih, S and Triasih, U. (2020). Biological Control of Strawberry Crown Rot Disease (*Pestalotiopsis* sp.) using *Trichoderma harzianum* and Endophytic Bacteria. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 752 (2021) 012052.
- Zivkovic, S., Stojanovic, S., Ivanovic, Z., Gavrilovic, V., Popovic, T., & Balaz, J. (2010). Screening of Antagonistic Activity of Microorganism Against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporoides*. *Arch. Boil. Sci. Belgrade*, (3): 611-62