

KEANEKARAGAMAN SPESIES CENDAWAN PADA BUAH JERUK DAN PENGEMBANGAN METODE DETEKSI DINI BERBASIS CITRA FLUORESENS

NURHOLIS



PROGRAM STUDI FITOPATOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi dengan judul “Keanekaragaman Spesies Cendawan pada Buah Jeruk dan Pengembangan Metode Deteksi Dini Berbasis Citra Fluoresens” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus Tahun 2024

Nurholis
A362190041



RINGKASAN

NURHOLIS. Keanekaragaman Spesies Cendawan pada Buah Jeruk dan Pengembangan Metode Deteksi Dini Berbasis Citra Fluoresens. Dibimbing oleh WIDODO, SRI HENDRASTUTI HIDAYAT, KIKIN HAMZAH MUTAQIN dan SLAMET WIDODO.

Jeruk termasuk salah satu buah-buahan yang paling banyak dikonsumsi di Indonesia. Pemenuhan kebutuhan buah jeruk Indonesia berasal dari produksi dalam negeri dan diimpor dari negara lain. Produksi buah jeruk dalam negeri menghadapi kendala serangan patogen. Cendawan adalah patogen yang paling dominan pada buah jeruk. Keberadaan cendawan patogen harus segera dikendalikan agar tanaman jeruk dapat berproduksi secara maksimal. Deteksi dan identifikasi cendawan patogen yang akurat adalah kunci keberhasilan dalam pengendalian penyakit pada buah jeruk. Oleh karena itu, penelitian untuk mendeteksi dan mengidentifikasi cendawan patogen pada buah jeruk lokal yang akurat penting dilakukan. Importasi buah jeruk berpotensi membawa cendawan patogen eksotik dari negara lain. Cendawan eksotik juga dapat menyebabkan penurunan produksi buah jeruk dalam negeri. Sehingga, keberadaan cendawan patogen pada buah jeruk impor juga sangat penting untuk dideteksi dan diidentifikasi. Tujuan penelitian ini adalah memperoleh data keanekaragaman spesies dan patogenitas cendawan pada buah jeruk lokal dan impor serta memperoleh metode untuk mendeteksi dini keberadaan cendawan patogen pada buah jeruk impor.

Cendawan pada buah jeruk lokal dan impor dideteksi menggunakan metode pembekuan semalaman dengan membekukan buah jeruk pada suhu -20°C selama 15 jam. Cendawan yang tumbuh pada permukaan buah jeruk diisolasi dan dibuat biakan murni. Biakan murni cendawan digunakan dalam proses identifikasi secara morfologi dan molekuler. Identifikasi morfologi dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik melalui pengamatan miselia dan konidia. Identifikasi molekuler dilakukan dengan teknik PCR menggunakan multilokus DNA. Patogenitas cendawan ditentukan melalui penyuntikkan suspensi konidia sebanyak 100 μl dengan kerapatan 1×10^5 konidia ml^{-1} ke dalam buah jeruk. Deteksi dini cendawan patogen dilakukan dengan menyinari buah jeruk menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 352 nm yang didasarkan pada nilai panjang gelombang eksitasi dan emisi fluoresensi senyawa metabolit masing-masing cendawan. Buah jeruk akan berfluoresens bila mengandung cendawan patogen. Bagian yang berfluoresens adalah senyawa metabolit cendawan yang disekresikan oleh cendawan patogen selama proses patogenesis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa cendawan dari perkebunan buah jeruk di Kabupaten Banyuwangi dan Malang berhasil dideteksi dan diidentifikasi. Empat spesies cendawan pada buah jeruk asal Kabupaten Banyuwangi diidentifikasi sebagai *C. gloeosporioides*, *F. lateritium*, *F. equiseti*, dan *F. verticillioides*. Tujuh spesies cendawan pada buah jeruk asal Kabupaten Malang diidentifikasi sebagai *L. theobromae*, *C. gloeosporioides*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. lateritium*, *C. lunata*, dan *F. solani*. Uji patogenitas membuktikan semua cendawan dari buah jeruk asal Kabupaten Banyuwangi berperan sebagai patogen. Cendawan dari buah jeruk asal Kabupaten Malang juga berperan sebagai patogen, kecuali *C. lunata* yang berperan sebagai cendawan non patogen. Masing-masing cendawan memiliki perbedaan

virulensi yang dibuktikan dengan nilai keparahan penyakit yang berbeda-beda. Nilai keparahan penyakit tertinggi disebabkan oleh *F. oxysporum* sebesar 91,11% dan nilai keparahan penyakit terendah sebesar 75,56% disebabkan oleh *F. verticillioides*.

Cendawan terbawa buah jeruk impor juga berhasil dideteksi dan diidentifikasi secara morfologi dan molekuler sebagai *A. citri*, *A. alternata*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, dan *P. oxalicum*. Uji patogenisitas menunjukkan semua cendawan berperan sebagai patogen yang dibuktikan dengan nilai kejadian penyakit sebesar 100% pada buah jeruk impor dan lokal. Nilai keparahan penyakit bervariasi antara 36,67% sampai 97,78% pada buah jeruk impor dan 47,78% sampai 98,89% pada buah jeruk lokal. Buah jeruk lokal diketahui lebih rentan dibandingkan buah jeruk impor sehingga terbawanya cendawan patogen dalam importasi buah jeruk berpotensi membahayakan produksi buah jeruk lokal.

Masing-masing senyawa metabolit cendawan eksotik berhasil diukur nilai panjang gelombang eksitasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan nilai panjang gelombang emisi fluoresensi menggunakan spektrofotometer USB 4000-FL. Pengukuran kedua panjang gelombang ini sebagai dasar dalam perumusan metode deteksi dini senyawa metabolit cendawan dalam buah jeruk. Nilai panjang gelombang eksitasi *A. citri*, *A. alternata*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, *P. oxalicum* berturut-turut adalah 369 nm, 367 nm, 365 nm, 363 nm, 356 nm, 360 nm, 358 nm. Nilai panjang gelombang emisi fluoresensi *A. citri*, *A. alternata*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, *P. oxalicum* berturut-turut adalah 524,26 nm, 520,77 nm, 520,36 nm, 519,54 nm, 486,96 nm, 515,23 nm, 511,32 nm. Cendawan berhasil dideteksi dini menggunakan metode citra fluoresens sebelum gejala penyakit terlihat secara kasat mata. Cendawan *A. citri*, *A. alternata*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *C. gloeosporioides* dideteksi pada 2 hari setelah inokulasi cendawan (HSIC) dan *F. oxysporum*, *P. oxalicum* dideteksi pada 1 HSIC. Sementara itu, gejala busuk yang disebabkan oleh *A. citri* dan *C. gloeosporioides* mulai terlihat pada 5 HSIC dan gejala busuk oleh *A. alternata*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *F. oxysporum*, dan *P. oxalicum* mulai terlihat pada 7 HSIC.

Kepastian identitas spesies dan patogenisitas cendawan pada buah jeruk lokal dan impor dapat dijadikan dasar dalam perumusan berbagai tindakan pengendalian yang tepat di lapangan dan mencegah penyebaran cendawan patogen eksotik terbawa buah jeruk impor. Keberhasilan deteksi dini cendawan patogen pada 1 HSIC menggunakan teknik biosensor berbasis citra fluoresens memiliki prospek untuk diaplikasikan dalam skala luas, sehingga dapat bermanfaat dan berkontribusi dalam mempercepat *dwelling time* pada proses penanganan buah jeruk impor di pelabuhan.

Kata kunci: identifikasi, molekuler, morfologi, panjang gelombang, pembekuan semalaman.



SUMMARY

NURHOLIS. Diversity of Fungal Species in Citrus Fruits and Development of an Early Detection Method Based on Fluorescent Imaging. Supervised by WIDODO, SRI HENDRASTUTI HIDAYAT, KIKIN HAMZAH MUATAQIN and SLAMET WIDODO.

Citrus are one of the most widely consumed fruits in Indonesia. Indonesia's need for citrus fruits come from domestic production and imported from other countries. Pathogen attacked domestic citrus fruits. Fungi were the most dominant pathogens in citrus fruits. The presence of pathogenic fungi must be controlled immediately so that citrus plants can produce optimally. Detection and identification of fungal pathogens accurately is the key to success in controlling diseases in citrus fruits. Therefore, the research to detect and identify accurately of pathogenic fungi in local citrus fruits is very important. Importation of citrus fruits has the potential to bring in exotic pathogenic fungi from other countries. Exotic fungi can also have an impact on decreasing local citrus fruits production. Thus, the presence of pathogenic fungi in imported citrus fruits are also very important to detect and identify. The aim of this research was to obtain data on the species diversity and pathogenicity of fungi on local and imported citrus fruits and to obtain a method for early detection of the presence of pathogenic fungi in imported citrus fruits.

The fungi in local and imported citrus fruits were detected using the overnight freezing method by freezing the citrus fruits at -20 °C for 15 hours. The grown fungi on the surface of citrus fruits were isolated and made into a pure culture. Pure cultures of fungi were used in the morphological and molecular identification. Morphological identification was carried out macroscopically and microscopically through observation of mycelia and conidia. Molecular identification was carried out by PCR techniques using multilocus DNA. The pathogenicity of the fungi in citrus fruit tissue were determined by injecting 100 µl of conidia suspension with a density of 1×10^5 conidia ml⁻¹ into citrus fruits. Early detection of fungi was done by shining light on citrus fruits using a UV lamp with a wavelength of 352 nm based on the excitation and fluorescence emission wavelength values of the metabolite compounds. Citrus fruits will fluoresce if it contains pathogenic fungi. The fluorescent part was a fungal metabolite compound secreted by pathogenic fungi during the pathogenesis process.

The research results showed that fungi from citrus fruits plantations in Banyuwangi and Malang districts were successfully detected and identified. Four species of fungi in citrus fruits from Banyuwangi were identified as *C. gloeosporioides*, *F. lateritium*, *F. equiseti*, and *F. verticillioides*. Seven species of fungi in citrus fruits from Malang were identified as *L. theobromae*, *C. gloeosporioides*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. lateritium*, *C. lunata*, and *F. solani*. The pathogenicity test determined that all fungi from citrus fruits from Banyuwangi acted as pathogens. Fungi from citrus fruits from Malang also acted as pathogens, except *C. Lunata* acted as a non-pathogenic fungus. Fungi had different virulence as evidenced by different disease severity values. The highest disease severity value was caused by *F. oxysporum* at 91,11% and the lowest disease severity value was 75,56% caused by *F. verticillioides*.

Fungi carried by imported citrus fruits were also identified as *A. citri*, *A. alternata*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, and *P. oxalicum*. The pathogenicity test showed that all fungi acted as pathogens as evidenced by the disease incidence value of 100% in imported and local citrus fruits. Disease severity values varied between 36,67% to 97,78% for imported citrus fruits and 47,78% to 98,89% for local citrus fruits. Local citrus fruits were known to be more susceptible than imported citrus fruits, so the introduction of pathogenic fungi in imported citrus fruit has the potential to endanger local citrus fruits production.

Each fungal metabolite compound was successfully measured for excitation wavelength using a UV-Vis spectrophotometer and fluorescence emission wavelength using a USB 4000-FL spectrofluorometer. Measurement of these two wavelengths was the basis for formulating a method for early detection of fungal metabolite compounds in citrus fruits. The excitation wavelength values of *A. citri*, *A. alternata*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, *P. oxalicum* were 369 nm, 367 nm, 365 nm, 363 nm, 356 nm, 360 nm, 358 nm, respectively. The fluorescence emission wavelength values of *A. citri*, *A. alternata*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, *P. oxalicum* were 524,26 nm, 520,77 nm, 520,36 nm, 519,54 nm, 486,96 nm, 515,23 nm, 511,32 nm, respectively. The fungi were successfully detected early using the fluorescent imaging method before disease symptoms were visible to the naked eye. *A. citri*, *A. alternata*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *C. gloeosporioides* were detected at 2 days after fungal inoculation (DAFI) and *F. oxysporum*, *P. oxalicum* were detected at 1 DAFI. Meanwhile, rot symptoms caused by *A. citri* and *C. gloeosporioides* began to appear at 5 DAFI and rot symptoms caused by *A. alternata*, *F. equiseti*, *F. lateritium*, *F. oxysporum*, and *P. oxalicum* began to appear at 7 DAFI.

Certainty of the species identity and pathogenicity of fungi in local and imported citrus fruits can be used as a basis for formulating various appropriate control measures in the field and preventing the spread of exotic pathogenic fungi carried by imported citrus fruits. The success of early detection of pathogenic fungi at 1 DAI using a biosensor technique based on fluorescent imaging has the prospect of being applied on a wide scale, so that it can be useful and contribute to speeding up dwelling time in the importation process of handling citrus fruits at ports.

Keywords: identification, molecular, morphology, overnight freezing, wavelength.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

KEANEKARAGAMAN SPESIES CENDAWAN PADA BUAH JERUK DAN PENGEMBANGAN METODE DETEKSI DINI BERBASIS CITRA FLUORESENS

NURHOLIS

Disertasi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Doktor pada
Program Studi Fitopatologi

**PROGRAM STUDI FITOPATOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Penguji Luar Komisi Pembimbing pada Ujian Tertutup Disertasi:

- 1 Prof. Dr. Ir. Usman Ahmad, M.Agr.
(Departemen Teknik Mesin dan Biosistem, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor)
- 2 Dr. Efi Toding Tondok, S.P., M.Sc.Agr.
(Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor)

Promotor Luar Komisi Pembimbing pada Sidang Promosi Terbuka Disertasi:

- 1 Dr. Ir. AM Adnan, M.P.
(Direktur Standar Karantina Tumbuhan, Badan Karantina Indonesia)
- 2 Dr. Efi Toding Tondok, S.P., M.Sc.Agr.
(Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor)

Judul Disertasi : Keanekaragaman Spesies Cendawan pada Buah Jeruk dan Pengembangan Metode Deteksi Dini Berbasis Citra Fluoresens
Nama : Nurholis
NIM : A362190041

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Widodo, M.S.



Pembimbing 2:
Prof. Dr. Ir. Sri Hendrastuti Hidayat, M.Sc.



Pembimbing 3:
Dr. Ir. Kikin Hamzah Mutaqin, M.Si.



Pembimbing 4:
Dr. Slamet Widodo, STP., M.Sc.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Dr. Ir. Abdjad Asih Nawangsih, M.Si.
NIP 196506211989102001

Dekan Fakultas Pertanian:
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr.
NIP 196902121992031003



Tanggal Ujian:

19 JUN 2024

Tanggal Lulus:

02 AUG 2024



PRAKATA

Alhamdulillah rabbil'aalamiin. Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah Subhanaahu Wata'ala atas segala rahmat, nikmat, dan karunia-Nya sehingga disertasi dengan judul "Keanekaragaman Spesies Cendawan pada Buah Jeruk dan Pengembangan Metode Deteksi Dini Berbasis Citra Fluoresens" berhasil diselesaikan.

Ucapan terima kasih yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada para pembimbing, Prof. Dr. Ir. Widodo, M.S., Prof. Dr. Ir. Sri Hendrastuti Hidayat, M.Sc., Dr. Ir. Kikin Hamzah Mutaqin, M.Si., dan Dr. Slamet Widodo, STP., M.Sc. yang telah membimbing, memberi motivasi, saran, arahan selama penelitian dan penyelesaian studi. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada penguji dan promotor luar komisi pembimbing pada Ujian Tertutup dan Sidang Promosi Terbuka, Prof. Dr. Ir. Usman Ahmad, M.Agr., Dr. Efi Toding Tondok, S.P., M.Sc.Agr. dan Dr. Ir. AM Adnan, M.P. yang telah memberikan perbaikan untuk penyempurnaan disertasi ini. Selain itu, terima kasih juga disampaikan kepada Ketua Program Studi, Dr. Ir. Abdjad Asih Nawangsih, M.Si. dan Dekan Fakultas Pertanian Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr. Terima kasih yang mendalam penulis sampaikan kepada Kepala Badan Karantina Indonesia yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melanjutkan studi program doktor di IPB University pada program studi Fitopatologi.

Penghargaan penulis sampaikan kepada Kepala Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok yang telah memberi izin pengambilan sampel buah jeruk di pelabuhan Tanjung Priok. Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Kepala Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian (BPPSDMP), Kementerian Pertanian yang telah memberikan beasiswa pendidikan pascasarjana di IPB University. Ucapan terima kasih yang tulus juga penulis sampaikan kepada ibu dan bapak (Ibu Jariyah dan Bapak Eman Sulaeman), ibu dan bapak mertua (Almarhumah Ibu Sunarti, SPd., MSi dan Bapak Asep Sukma, SPd., MSi), istri (Resti Indah Hayati Sukma, SP.) serta kedua anak kami (Alesha Azqia Nurputri Sukma dan Nayyara Arsy Maheswari) yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada teman-teman, Evan Purnama Ramdan, Dwi Astuti, Astri Afriani, Cheppy Wati, Andini Hanif, Astuti K, Hagia Sophia Khairani, Reni Rinika, Nur Asmasari Syam, Fitra Parlindo, dan teman-teman lainnya di Laboratorium Mikologi Tumbuhan. Selain itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada staff pelayanan mahasiswa pascasarjana Departemen Proteksi Tanaman dan staff pelayanan pascasarjana Fakultas Pertanian, IPB University yang telah membantu proses administrasi penulis selama menempuh studi.

Semoga disertasi ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2024

Nurholis



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Ruang Lingkup	4
1.6 Kebaruan (<i>novelty</i>)	5
1.7 Hipotesis	5
II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Nilai Ekonomi dan Biologi Buah Jeruk	6
2.1.1 Nilai Ekonomi Buah Jeruk	6
2.1.2 Biologi Buah Jeruk	7
2.2 Jenis Penyakit dan Status Cendawan Patogen pada Buah Jeruk	8
2.2.1 Jenis Penyakit pada Buah Jeruk yang disebabkan oleh Cendawan Patogen	8
2.2.2 Status Cendawan Patogen Penyebab Penyakit pada Buah Jeruk	11
2.3 Deteksi dan Identifikasi Cendawan Patogen	13
2.3.1 Metode Konvensional Deteksi dan Identifikasi Cendawan Patogen	13
2.3.2 Metode Terkini Deteksi dan Identifikasi Cendawan Patogen	14
III KEANEKARAGAMAN SPESIES DAN PATOGENISITAS CENDAWAN PADA BUAH JERUK LOKAL DI JAWA TIMUR	17
3.1 Pendahuluan	18
3.2 Tujuan	20
3.3 Bahan dan Metode	20
3.3.1 Tempat Pelaksanaan dan Sampel Buah Jeruk	20
3.3.2 Deteksi dan Isolasi Cendawan Lokal	21
3.3.3 Identifikasi Morfologi Cendawan Lokal	21
3.3.4 Identifikasi Molekuler Cendawan Lokal	21
3.3.5 Uji Patogenisitas Cendawan Lokal	23
3.4 Hasil	24
3.4.1 Lokasi Pengambilan Sampel Buah Jeruk Lokal	24
3.4.2 Deteksi dan Isolasi Cendawan Lokal	25
3.4.3 Identifikasi Morfologi dan Molekuler Cendawan Lokal	26
3.4.4 Patogenisitas Cendawan Lokal	33
3.5 Pembahasan	34
3.6 Simpulan	37
IV KEANEKARAGAMAN SPESIES DAN PATOGENISITAS CENDAWAN TERBAWA BUAH JERUK IMPOR	38
4.1 Pendahuluan	39

4.2	Tujuan	40
4.3	Bahan dan Metode	40
4.3.1	Tempat Pelaksanaan dan Sampel Buah Jeruk	40
4.3.2	Deteksi dan Isolasi Cendawan Eksotik	41
4.3.3	Identifikasi Morfologi dan Molekuler Cendawan Eksotik	41
4.3.4	Uji Patogenisitas Cendawan Eksotik	43
4.4	Hasil	43
4.4.1	Deteksi dan Isolasi Cendawan Eksotik	43
4.4.2	Cendawan Eksotik berdasarkan Identifikasi Morfologi dan Molekuler	45
4.4.3	Patogenisitas Cendawan Eksotik	63
4.5	Pembahasan	65
4.6	Simpulan	69
V	PENGEMBANGAN METODE DETEKSI DINI CENDAWAN TERBAWA BUAH JERUK IMPOR BERBASIS CITRA FLUORESENS	70
5.1	Pendahuluan	71
5.2	Tujuan	72
5.3	Bahan dan Metode	72
5.3.1	Tempat Penelitian dan Buah Jeruk Impor	72
5.3.2	Ekstraksi dan Pengukuran Panjang Gelombang Eksitasi dan Emisi Fluoresensi Senyawa Metabolit Cendawan Eksotik	73
5.3.3	Pengujian Fluoresensi pada Biakan Cendawan Eksotik	73
5.3.4	Deteksi Senyawa Metabolit Cendawan yang Berasosiasi dengan Buah Jeruk Menggunakan Teknik Biosensor Berbasis citra Fluoresens	73
5.3.5	Ekstraksi dan Pengukuran Panjang Gelombang Emisi Fluoresensi Senyawa Metabolit Cendawan yang Berasosiasi dengan Buah Jeruk	75
5.4	Hasil	75
5.4.1	Panjang Gelombang Eksitasi dan Emisi Fluoresensi Senyawa Metabolit Cendawan Eksotik	75
5.4.2	Fluoresensi Biakan Cendawan pada Media PDA	78
5.4.3	Deteksi dan Akuisisi Citra Fluoresens Senyawa Metabolit Cendawan Eksotik	79
5.4.4	Panjang Gelombang Emisi Fluoresensi Cendawan Eksotik yang Berasosiasi dengan Buah Jeruk	88
5.5	Pembahasan	89
5.6	Simpulan	92
VI	PEMBAHASAN UMUM	93
6.1	Deteksi Cendawan pada Buah Jeruk	93
6.2	Identifikasi Morfologi dan Molekuler Cendawan pada Buah Jeruk	94
6.3	Patogenisitas Cendawan pada Buah Jeruk	96
6.4	Deteksi Dini Cendawan pada Buah Jeruk	98
VII	SIMPULAN DAN SARAN	100
7.1	Simpulan	100
7.2	Saran	101



DAFTAR PUSTAKA	102
LAMPIRAN	115
RIWAYAT HIDUP	138

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR TABEL

3.1	Produksi buah jeruk pada 5 Provinsi teratas dalam 5 tahun terakhir	19
3.2	Karakter morfologi cendawan pada buah jeruk asal Kabupaten Banyuwangi	27
3.3	Karakter morfologi cendawan pada buah jeruk asal Kabupaten Malang	28
3.4	Konsentrasi DNA cendawan <i>C. gloeosporioides</i> yang diperoleh dari 3 metode ekstraksi berbeda	30
3.5	Konsentrasi DNA dan nilai rasio A260/A280 semua cendawan pada buah jeruk lokal menggunakan metode Ausubel <i>et al.</i> (2003)	30
3.6	Kemiripan DNA isolat cendawan pada buah jeruk lokal dengan spesies cendawan lain di <i>GenBank</i>	32
3.7	Insidensi dan keparahan penyakit yang disebabkan oleh cendawan pada buah jeruk lokal	34
4.1	Daftar primer yang digunakan dalam penelitian	42
4.2	Karakter miselia cendawan yang tumbuh pada permukaan buah jeruk impor	44
4.3	Konsentrasi DNA dan nilai rasio A260/A280 cendawan eksotik	45
4.4	Karakter morfologi cendawan Genus <i>Alternaria</i>	46
4.5	Kemiripan DNA isolat Ac1 dengan spesies cendawan lain di <i>GenBank</i>	47
4.6	Kemiripan DNA isolat Ac2 dengan spesies cendawan lain di <i>GenBank</i>	48
4.7	Daftar cendawan genus <i>Alternaria</i> anggota kompleks spesies <i>Alternaria alternata</i> yang digunakan dalam penelitian ini	49
4.8	Karakter morfologi cendawan Genus <i>Fusarium</i>	51
4.9	Kemiripan DNA isolat Fs dengan spesies cendawan lain di <i>GenBank</i>	53
4.10	Kemiripan DNA isolat F2 dengan spesies cendawan lain di <i>GenBank</i>	53
4.11	Kemiripan DNA isolat F3 dengan spesies cendawan lain di <i>GenBank</i>	54
4.12	Daftar spesies cendawan genus <i>Fusarium</i> anggota kompleks spesies <i>Fusarium</i> yang digunakan dalam penelitian ini	54
4.13	Karakter morfologi cendawan Genus <i>Colletotrichum</i>	56
4.14	Kemiripan DNA isolat Cole1 dengan spesies cendawan lain di <i>GenBank</i>	57
4.15	Daftar cendawan genus <i>Colletotrichum</i> anggota kompleks spesies <i>C. gloeosporioides</i> yang digunakan dalam penelitian ini	58
4.16	Karakter morfologi cendawan Genus <i>Penicillium</i>	60
4.17	Kemiripan DNA isolat Pd dengan spesies cendawan lain di <i>GenBank</i>	61
4.18	Daftar spesies <i>Penicillium</i> yang digunakan dalam penelitian ini	62
4.19	Homologi urutan basa nukleotida DNA spesies cendawan eksotik menggunakan lokus tunggal dan multilokus	63
4.20	Keparahan penyakit yang disebabkan oleh cendawan eksotik pada buah jeruk impor dan lokal	63
5.1	Nilai panjang gelombang eksitasi dan emisi fluoresensi senyawa metabolit cendawan eksotik	76

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



5.2	Kemunculan gejala dan fluoresens yang disebabkan oleh cendawan terbawa buah jeruk impor	88
6.1	Perbandingan ukuran konidia spesies cendawan yang sama dari 3 lokasi berbeda	94
6.2	Matriks identitas cendawan <i>F. equiseti</i> dari 3 lokasi berbeda	95
6.3	Matriks identitas cendawan <i>F. lateritium</i> dari 3 lokasi berbeda	95
6.4	Matriks identitas cendawan <i>C. gloeosporioides</i> dari 3 lokasi berbeda	95
6.5	Perbandingan nilai keparahan penyakit yang disebabkan oleh spesies cendawan yang sama dari 3 lokasi berbeda	97

DAFTAR GAMBAR

1.1	Diagram alir penelitian keanekaragaman spesies cendawan pada buah jeruk dan pengembangan metode deteksi dini berbasis citra fluoresens.	4
2.1	Daftar 20 negara produsen buah jeruk terbesar di dunia	6
2.2	Kelompok buah jeruk pada genus <i>Citrus</i> yang banyak dijumpai di Indonesia	7
2.3	Anatomi buah jeruk mandarin	8
2.4	Gejala busuk hitam yang disebabkan oleh <i>A. citri</i>	9
2.5	Gejala antraknosa pada buah jeruk yang disebabkan oleh <i>C. gloeosporioides</i>	9
2.6	Gejala melanosa pada buah jeruk yang disebabkan oleh <i>P. citri</i>	10
2.7	Gejala busuk pangkal batang pada buah jeruk yang disebabkan oleh <i>L. theobromae</i>	11
2.8	Gejala busuk <i>Penicillium</i> pada permukaan buah jeruk	11
2.9	Konsep penggunaan biosensor untuk mendeteksi cendawan patogen pada tanaman	15
3.1	Grafik produksi nasional buah jeruk lokal jenis mandarin dalam 5 tahun terakhir	19
3.2	Peta lokasi pengambilan sampel buah jeruk lokal di Kabupaten Banyuwangi dan Kabupaten Malang	25
3.3	Kondisi vegetasi perkebunan buah jeruk lokal di Jawa Timur	25
3.4	Kemunculan miselia cendawan pada permukaan buah jeruk menggunakan metode pembekuan semalaman pada 7 HSP	26
3.5	Karakter morfologi cendawan berumur 7 hari pada media PDA	26
3.6	Visualisasi pita DNA lokus ITS cendawan lokal pada gel agarosa 1%	31
3.7	Pohon filogenetik cendawan lokal yang dibangun menggunakan lokus ITS	32
3.8	Keparahan penyakit busuk pada buah jeruk lokal yang disebabkan oleh cendawan lokal	33
4.1	Kemunculan miselia cendawan pada permukaan buah jeruk impor menggunakan metode pembekuan semalaman	44
4.2	Karakter morfologi 2 spesies <i>Alternaria</i> dari biakan berumur 7 hari	46
4.3	Visualisasi pita multilokus DNA spesies <i>Alternaria</i> pada gel agarosa 1%	47
4.4	Pohon filogenetik spesies genus <i>Alternaria</i> anggota kompleks spesies <i>A. alternata</i> yang dibangun menggunakan lokus ITS, GAPDH, dan EndoPG	50
4.5	Karakter morfologi tiga spesies genus <i>Fusarium</i> dari biakan berumur 7 hari	52
4.6	Visualisasi pita multilokus DNA genus <i>Fusarium</i> pada gel agarosa 1%	52
4.7	Pohon filogenetik genus <i>Fusarium</i> anggota kompleks spesies <i>Fusarium</i> yang dibangun menggunakan lokus ITS, TEF1, dan RPB2	55
4.8	Karakter morfologi <i>C. gloeosporioides</i> dari biakan berumur 7 hari	56

4.9	Visualisasi pita multilokus DNA <i>C. gloeosporioides</i> pada gel agarosa 1%	57
4.10	Pohon filogenetik genus <i>Colletotrichum</i> anggota kompleks spesies <i>C. gloeosporioides</i> yang dibangun menggunakan lokus ITS, GAPDH, dan TUB2	59
4.11	Karakter morfologi <i>P. oxalicum</i> dari biakan berumur 7 hari	60
4.12	Visualisasi pita multilokus DNA <i>P. oxalicum</i> pada gel agarosa 1%	61
4.13	Pohon filogenetik spesies <i>P. oxalicum</i> yang dibangun menggunakan lokus ITS, CaM, dan TUB2	62
4.14	Keparahan penyakit busuk pada buah jeruk impor yang disebabkan oleh cendawan eksotik	64
4.15	Keparahan penyakit busuk pada buah jeruk lokal yang disebabkan oleh cendawan eksotik	64
5.1	Skema instalasi akuisisi citra fluoresens buah jeruk	74
5.2	Diagram alir pengolahan citra fluoresens pada buah jeruk	74
5.3	Panjang gelombang eksitasi senyawa metabolit cendawan eksotik	76
5.4	Fluoresensi cairan senyawa metabolit cendawan dan spektrum UV-Vis	77
5.5	Panjang gelombang emisi fluoresensi senyawa metabolit cendawan eksotik yang dieksitasi lampu UV 352 nm	77
5.6	Intensitas emisi fluoresensi senyawa metabolit cendawan <i>A. citri</i> pada berbagai waktu penyimpanan	78
5.7	Biakan cendawan eksotik yang disinari lampu UV 352 nm pada biakan berumur 7 hari	78
5.8	Citra harian buah jeruk impor yang diinokulasi <i>A. citri</i>	79
5.9	Citra harian buah jeruk impor yang diinokulasi <i>A. alternata</i>	80
5.10	Citra harian buah jeruk impor yang diinokulasi <i>F. equiseti</i>	81
5.11	Citra harian buah jeruk impor yang diinokulasi <i>F. lateritium</i>	82
5.12	Citra harian buah jeruk impor yang diinokulasi <i>F. oxysporum</i>	83
5.13	Citra harian buah jeruk impor yang diinokulasi <i>C. gloeosporioides</i>	84
5.14	Citra harian buah jeruk impor yang diinokulasi <i>P. oxalicum</i>	85
5.15	Citra harian buah jeruk impor pada kontrol	86
5.16	Luasan fluoresens harian hasil akuisisi citra dan awal kemunculan gejala pada buah jeruk impor	87
5.17	Intensitas fluoresens harian metabolit cendawan eksotik yang diekstraksi dari buah jeruk impor	89
6.1	Variasi genetik spesies cendawan yang sama dari 3 lokasi berbeda	96
6.2	Konsep pembentukan penyakit pada buah jeruk oleh cendawan patogen	96
6.3	Pengaruh kondisi iklim terhadap virulensi cendawan patogen	97



DAFTAR LAMPIRAN

1	Ukuran panjang dan lebar konidia cendawan dari buah jeruk di Kabupaten Banyuwangi	116
2	Ukuran panjang dan lebar konidia cendawan dari buah jeruk di Kabupaten Malang	118
3	Ukuran diameter koloni cendawan dari buah jeruk di Kabupaten Banyuwangi dan Kabupaten Malang	121
4	<i>Analysis of Variance</i> (Anova) keparahan penyakit oleh cendawan dari buah jeruk di Kabupaten Banyuwangi dan Malang	122
5	<i>Analysis of Variance</i> (Anova) insidensi penyakit oleh cendawan dari buah jeruk di Kabupaten Banyuwangi dan Malang	124
6	Ukuran panjang dan lebar konidia cendawan terbawa buah jeruk impor	126
7	Ukuran diameter koloni cendawan terbawa buah jeruk impor	129
8	Matriks identitas cendawan <i>F. equiseti</i> terbawa buah jeruk impor	130
9	Matriks identitas cendawan <i>F. lateritium</i> terbawa buah jeruk impor	132
10	Matriks identitas cendawan <i>F. oxysporum</i> terbawa buah jeruk impor	134
11	Kemunculan gejala penyakit busuk dan fluoresensi harian pada buah jeruk impor	136