

**PATOGENISITAS TIGA ISOLAT PATOGEN *Botryodiplodia*
theobromae PADA TIGA JENIS JERUK (*Citrus* spp.)**

Oleh

GUSTI NGURAH KETUT BUDIARTA



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2016**

PATOGENISITAS TIGA ISOLAT PATOGEN *Botryodiplodia theobromae* PADA TIGA JENIS JERUK (*Citrus* spp.)

OLEH :

GUSTI NGURAH KETUT BUDIARTA

125040200111001

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN**

JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

MALANG

2016

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, 15 Agustus 2016

Gusti Ngurah Ketut Budiarta



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Patogenisitas Tiga Isolat Patogen
Botryodiplodia theobromae pada Tiga
Jenis Jeruk (*Citrus* spp.)
Nama : Gusti Ngurah Ketut Budiarta
NIM : 125040200111001
Minat : Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.
NIP. 19550821 198002 1 002

Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc.
NIK. 2014098805042001

Pembimbing Lapang,

Ir. Mutia Erti Dwiastuti, MS.
NIP. 19580924 198302 2 001

Mengetahui
Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan
Ketua

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.
NIP. 19550821 198002 1 002

Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc.
NIK. 2014098805042001

2014098805042001

Penguji III

Penguji IV

Ir. Mutia Erti Dwiastuti, MS.
NIP. 19580924 198302 2 001

Dr. Agr. Hagus Tarno, SP., MP.
NIP. 19770810 200212 1 003

NIP.

2014098805042001

Tanggal Lulus:

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Skripsi ini kupersembahkan untuk
Sri Krshna, Ida Shang Hyang Widhi Wasa
Ayahku Gusti Made Tubuh
Ibuku Gusti Ayu Sariati
Kakakku tersayang Gusti Ngurah Komang Suka Adi, SPd.
Rekan-rekanku di PRISMA 2015
Adik-adikku di Komunitas sosial Bio-Portabed dan Panti Asuhan Darul Azhar

RINGKASAN

GUSTI NGURAH KETUT BUDIARTA. 125040200111001. Patogenisitas Tiga Isolat *Botryodiplodia theobromae* pada Tiga Jenis Jeruk (*Citrus* spp.). Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. sebagai pembimbing utama, Restu Rizkyta Kusuma SP., MSc. sebagai pembimbing pendamping dan Ir. Mutia Erti Dwiastuti, MS. sebagai Pembimbing Lapang.

Penelitian ini menguji patogenisitas dan peran toksin dari isolat *B. theobromae* yang diisolasi dari wilayah sentra produksi jeruk di Jawa Timur pada tiga jenis jeruk yang umum dibudidayakan petani di Jawa Timur yaitu Siam, Pamelon dan Manis.

Penelitian diawali dengan melakukan persiapan meliputi Persiapan Tanaman Jeruk, pemupukan NPK. Persiapan suspensi *B. theobromae* menggunakan Isolat berasal dari hasil koleksi Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro) dari multilokasi yaitu wilayah Kabupaten Magetan sebanyak 2 isolat (Isolat Mg52A.1 dan Mg39.2) dan isolat dari wilayah Kabupaten Pasuruan sebanyak 1 isolat (Isolat Ps8bt), pembuatan sumber inokulum. Pelaksanaan penelitian terdiri dari dua unit percobaan yaitu uji patogenisitas pada tanaman menggunakan inokulum dan uji *crude toxin* pada daun tanaman skala laboratorium. Parameter pengamatan adalah jumlah sampel yang mengalami nekrosis dan luas gejala nekrosis. Data hasil pengamatan akan dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) taraf 5% dan Uji Duncan taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi jenis patogen yang berbeda pada jenis jeruk yang berbeda tidak menimbulkan perbedaan dalam menimbulkan penyakit diplodia. Infeksi tiga jenis toksin pada jenis jeruk yang berbeda tidak menimbulkan perbedaan dalam menimbulkan gejala nekrosis. Ketiga isolat patogen memiliki patogenisitas yang sama dalam menimbulkan luas bidang gejala penyakit. Pada 28 hari setelah penanaman isolat Mg52A.1 dan Mg39.2 telah berubah warna menjadi gelap dan memenuhi cawan petri, sedangkan isolat Ps8bt masih berwarna putih. Sehingga isolat Mg52A.1 dan Mg39.2 lebih awal mencapai dewasa dibandingkan isolat Ps8bt. Hasil infeksi batang sehat dalam pembuatan inokulum menunjukkan bahwa miselium isolat Mg39.2 terlihat lebih tebal dalam menyelimuti batang sehat kemudian agak tebal pada isolat Ps8bt dan Mg52A.1. Sedangkan eksudat (*gum*) muncul pada batang yang diinfeksi dengan isolat Mg52A.1. Masa Inkubasi berkaitan dengan keparahan gejala penyakit. Masa inkubasi isolat Mg39.2 lebih cepat dibandingkan dengan isolat lain diduga menjadi penyebab luas gejala infeksi yang lebih luas pada batang tanaman jeruk khususnya pada 14 hari setelah inokulasi.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa perbedaan jenis isolat yang menginfeksi jenis jeruk yang berbeda tidak berpengaruh dalam menimbulkan penyakit diplodia. Toksin hanya berperan dalam mempercepat masa inkubasi. Tingkat luas gejala penyakit juga disebabkan faktor lain seperti kelembapan dan karakteristik tanaman.

SUMMARY

GUSTI NGURAH KETUT BUDIARTA. 125040200111001. Pathogenicity of Three *Botryodiplodia theobromae* Pathogen Isolate on Three Species of Citrus (*Citrus* spp.). Supervised by Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS., Restu Rizkyta Kusuma SP., MSc. and Ir. Mutia Erti Dwiastuti, MS.

This study tested the pathogenicity and the role of toxins from three different *B. theobromae* isolates. The isolates were isolated from three different area in East Java. The isolates were tested in three kind of citrus (Pamelo, Siam and Manis) which is commonly cultivated by Farmer.

The first step were the preparation of citrus plants and NPK fertilization. Preparation of suspension of *B. theobromae* Isolates use the collection of Balitjestro which are Isolate Mg52A.1 and Mg39.2 and isolates Isolates Ps8bt, manufacture of inoculum source. This research consisted of two units, namely pathogenicity test experiments on the plant using crude toxin inoculum and test on laboratory scale using plant leaves. The observation parameter were the number of samples undergo necrosis and extensive necrosis symptoms. The data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) level of 5% and Duncan test level of 5%.

The results is no interaction between isolates of *B. theobromae* types and varieties of crops in causing disease diplodia on citrus stems. There is no interaction between the types of crude toxin of isolates *B. theobromae* and leaf type of plant varieties in causing symptoms of necrosis on leaves of citrus. These three pathogenic isolates have the same pathogenicity in causing disease symptoms. At 28 days after planting isolates Mg52A.1 and Mg39.2 has darkens and meet the petri dish, whereas isolates Ps8bt still white. Thus isolates Mg52A.1 and Mg39.2 reach maturity earlier than Ps8bt isolates. Healthy stems infection results in making the inoculum showed that isolates Mg39.2 mycelium appears thicker in the envelop healthy stems and then a bit thick in isolates Ps8bt and Mg52A.1. While exudates (gum) appears on the stem infected with isolates Mg52A.1. Incubation period associated with the severity of disease symptoms. The incubation period Mg39.2 isolates faster compared to other isolates suspected to cause extensive infection symptoms wider on the stems of citrus, especially at 14 days after inoculation. The incubation period of pathogens in Sweet varieties more quickly than in other varieties. It is widely suspected to cause disease symptoms in the varieties Sweet wider than other varieties until 35 days after inoculation.

The conclusion of this research are the difference between three kind of isolate and three kind of citrus didn't have any effect in affecting diplodia disease. Toksin take a role to make the incubation process faster than without toksin. The level of disease symptom are also caused by the other factors such as humidity and plant characteristics.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas karunia-Nya, maka penulis dapat menyelesaikan tugas akhir penelitian dengan judul Patogenisitas Tiga Isolat Patogen *Botryodiplodia theobromae* pada Tiga Jenis Jeruk (*Citrus* spp.). Karya tulis ini disusun dalam rangka memenuhi kewajiban mahasiswa Program Studi Agroekoteknologi Universitas Brawijaya untuk menyelesaikan program sarjana (S-1).

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan di Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro) Tlekung, Batu yang merupakan pusat studi dan penelitian jeruk di wilayah Jawa Timur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui patogenisitas dan peran toksin *Botryodiplodia theobromae* penyebab penyakit blendok dalam menimbulkan penyakit pada tiga jenis jeruk yaitu manis, siam dan pabello. Isolat didapatkan dari koleksi Balitjestro yang sebelumnya diisolasi dari pertanaman jeruk wilayah Magetan dan Pasuruan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dan alternatif pengendalian penyakit blendok.

Dalam penyusunan naskah ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc. selaku pembimbing pendamping serta Ibu Ir. Mutia Erti Dwiastuti, MS. selaku pembimbing lapang yang telah membimbing kegiatan penelitian serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan karya tulis ini.

Penulis menyadari bahwa naskah karya tulis ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, segala kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan karya ini.

Malang, 15 Agustus 2016

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Negara pada tanggal 8 Pebruari 1995 sebagai putera kedua dari dua bersaudara dari Bapak Gusti Made Tubuh dan Ibu Gusti Ayu Sariati.

Penulis memulai pendidikan dasar di SD Negeri 2 Melaya pada tahun 2000 hingga 2006. Sekolah menengah pertama penulis melanjutkan di SMP Negeri 1 Melaya pada Tahun 2006 hingga 2009 dan jenjang mmenengah atas di SMA Negeri 1 Melaya mengambil jurusan ilmu pengetahuan alam. Penulis melanjutkan studi pendidikan tingginya di Universitas Brawijaya pada Program Studi Agroekoteknologi Minat Hama dan Penyakit Tumbuhan melalui seleksi masuk SNMPTN dan BIDIKMISI 2012.

Selama pedidikan dasar dan menengah penulis aktif dalam berbagai kegiatan ekstrakurikuler seperti Tim Jurnalistik SPEKTRUM SMPN 1 Melaya, Majalah Sekolah ROMANSA SMAN 1 Melaya, OSIS SMAN 1 Melaya dan PRAMUKA SMAN 1 Melaya. Penulis juga berhasil meraih berbagai penghargaan dalam bidang pramuka, karya tulis dan jurnalistik.

Penulis juga aktif mengikuti berbagai kegiatan kemahasiswaan di kampus seperti Pusat Riset dan Kajian Ilmiah Mahasiswa (PRISMA) FP UB dan UNIKAHIDHA Brawijaya. Selain itu penulis juga aktif dalam berbagai kepanitiaan diantaranya Panitia Pekan Riset Ilmiah Mahasiswa Nasional pada penyelenggaraan tiga tahun berturut-turut. Penulis memiliki ketertarikan dalam bidang karya tulis ilmiah dan berhasil meraih berbagai penghargaan beberapa diantaranya Juara 3 dalam lomba inovasi mahasiswa di bidang hortikultura yang diselenggarakan oleh PT. EAST WEST SEED Purwakarta, Juara 1 Dipenogoro Science Chalange 2015 dan Juara 1 LKTI KATULISTIWA FEB UB 2016. Selain itu penulis juga menjadi pendiri dan ketua organisasi sosial Bio-Portabed dan aktif dalam kegiatan sosial di Panti Asuhan Darul Azhar Malang. Pada tahun 2016 penulis berkesempatan untuk menjadi salah satu dari dua wakil Indonesia di Global Youth Summit di Swiss untuk mengikuti pengembangan karakter sosial dan berdiskusi dengan 60 pemuda dari seluruh dunia untuk menyelesaikan permasalahan yang dihadapi dunia.

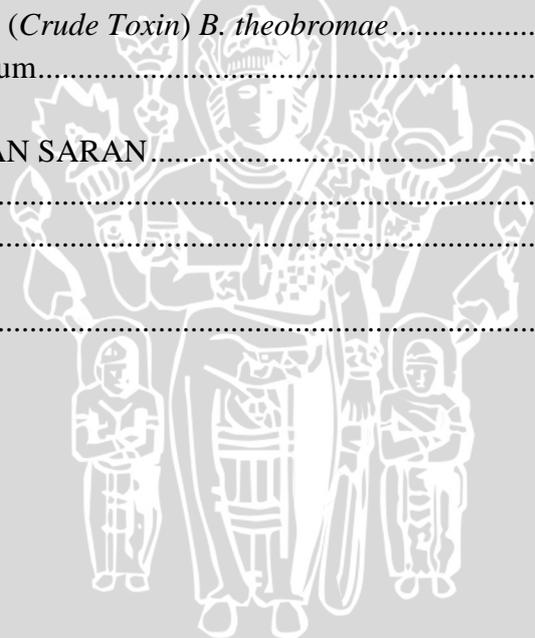
DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	
PERNYATAAN	
LEMBAR PERSETUJUAN	
LEMBAR PENGESAHAN	
HALAMAN PERUNTUKKAN	
RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Jeruk (<i>Citrus spp.</i>)	4
2.2 Jenis-Jenis Jeruk	5
2.2.1 Jeruk Manis (<i>Citrus sinensis</i>)	5
2.2.2 Jeruk Siam (<i>Citrus nobilis</i>)	6
2.2.3 Jeruk Pamelon (<i>Citrus maxima</i> (Burm) Merr)	8
2.3 Patogen <i>Botryodiplodia theobromae</i> Penyebab Penyakit Diplodia pada Batang Jeruk	9
2.4 Patogenisitas dan Toksin Patogen	11
III. METODE PENELITIAN	13
3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Metode Penelitian	13
3.3.1 Persiapan Penelitian	13
a. Persiapan Bibit Tanaman Jeruk	13
b. Perawatan Tanaman Jeruk	14
c. Persiapan Suspensi <i>B. theobromae</i>	14
d. Persiapan Sumber Inokulum <i>B. theobromae</i>	15



e. Isolasi Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) <i>B. theobromae</i>	15
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	16
a. Uji Patogenisitas Isolat <i>B. theobromae</i> pada 3 Jenis Jeruk	16
b. Uji Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) <i>B. theobromae</i>	17
3.3.3 Analisis Data	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Hasil	20
4.1.1 Hasil Peremajaan Isolat Patogen <i>B. theobromae</i> dan Pembuatan Inokulum Patogen	20
4.1.2 Uji Patogenisitas <i>B. theobromae</i> pada 3 Jenis Jeruk.....	22
4.1.3 Uji Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) <i>B. theobromae</i>	26
4.2 Pembahasan.....	29
4.2.1 Hasil Pemurnian Isolat Patogen dan Pembuatan Inokulum Patogen <i>B. theobromae</i>	29
4.2.2 Uji Patogenisitas <i>B. theobromae</i> pada 3 Jenis Jeruk.....	30
4.2.3 Uji Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) <i>B. theobromae</i>	32
4.2.4 Pembahasan Umum.....	32
V. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA	37



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Kombinasi Perlakuan Jenis Inokulum Isolat dan Jenis Jeruk	16
2.	Kombinasi Perlakuan pada Pengujian Toksin <i>B. theobromae</i>	18
3.	Tabel Rata-rata Masa Inkubasi Patogen <i>B. Theobromae</i>	23
4.	Luas Gejala Penyakit Diplodia pada 7 - 49 HSI (Hari Setelah Inokulasi) pada 4 Jenis Inokulum	23
5.	Luas Gejala Penyakit Diplodia pada 7 - 49 HSI (Hari Setelah Inokulasi) pada 3 Jenis Varietas	23
6.	Luas Bidang Nekrosis yang Diakibatkan oleh Toksin Kasar Isolat Patogen pada 12 Hari Setelah Inokulasi	27

Lampiran

Nomor	Teks	Halaman
1.	Deskripsi Komoditas Jeruk Jenis Pamelon Nambangan	40
2.	Deskripsi Komoditas Jeruk Jenis Siam	41
3.	Deskripsi Komoditas Jeruk Jenis Manis Pacitan	42
4.	Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk (7 Hari Setelah Inokulasi)	43
5.	Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk (14 Hari Setelah Inokulasi)	43
6.	Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk (21 Hari Setelah Inokulasi)	44
7.	Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk (28 Hari Setelah Inokulasi)	44
8.	Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk (35 Hari Setelah Inokulasi)	45
9.	Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk (42 Hari Setelah Inokulasi)	45
10.	Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk (49 Hari Setelah Inokulasi)	46
11.	Hasil Analisis Ragam Luas Bidang Nekrosis yang Diakibatkan oleh Toksin Kasar Patogen	46
12.	Hasil Analisis Ragam Rata-rata Masa Inkubasi Patogen	46



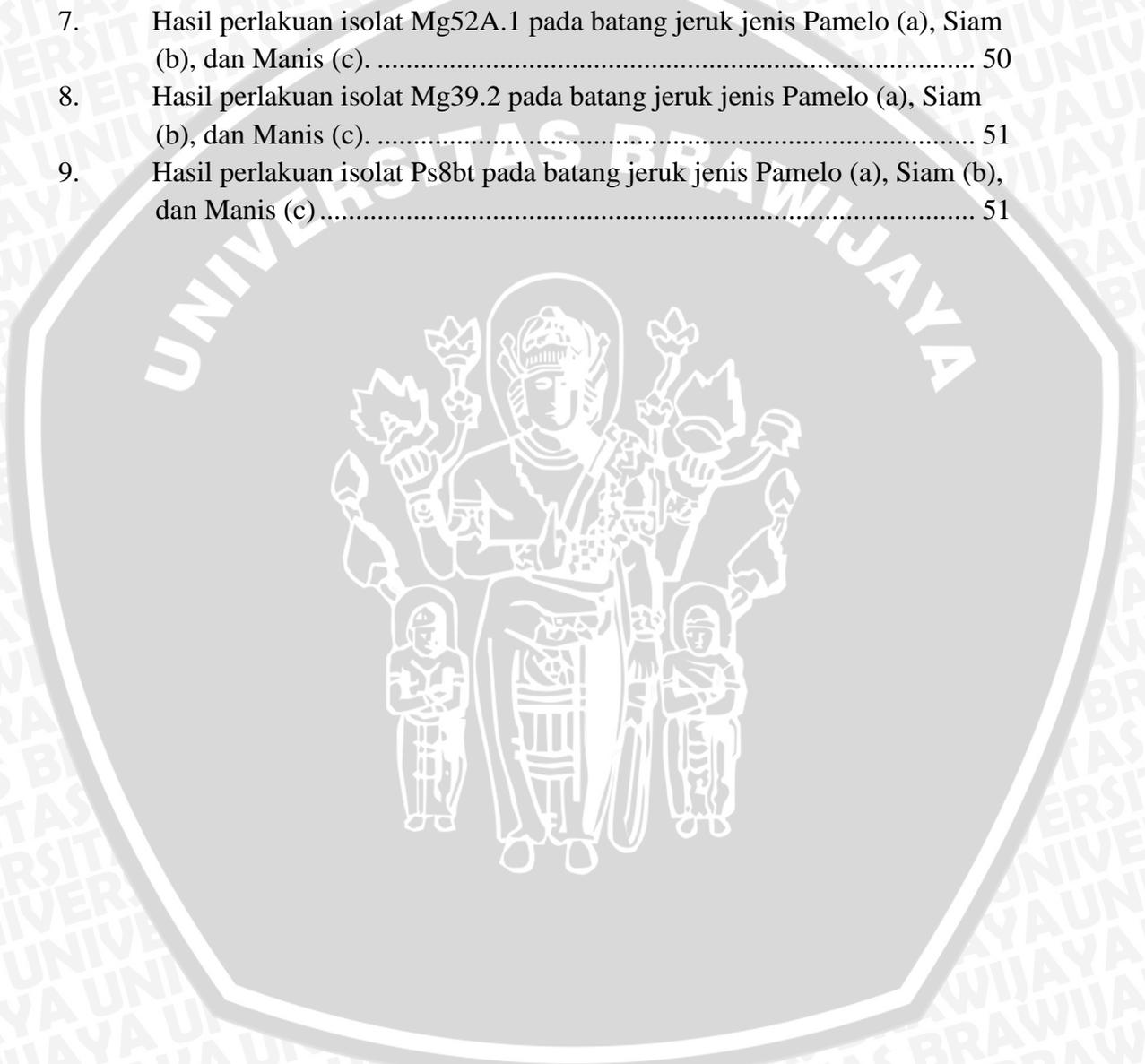
DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	(a) buah, (b) bunga dan (c) daun tanaman jeruk Manis (<i>Citrus chinensis</i>)	6
2.	(a) Buah dan (b) Daun Tanaman Jeruk Siam (<i>Citrus microcarpa</i>).....	8
3.	(a) buah, (b) daun dan (c) bunga tanaman jeruk Pamelo (<i>Citrus maxima</i>)	8
4.	Gejala serangan <i>Botryodiplodia theobromae</i> pada tanaman jeruk (a) Gejala awal, (b) Kulit batang jeruk mulai pecah dan menghasilkan benjolan, (c) Gejala serangan lanjut	10
5.	(a) Konidia <i>Botryodiplodia theobromae</i> dewasa, (b) kultur <i>B. theobromae</i> berumur 7 hari dan (c) 21 hari pada media PDA (<i>Potato Dextrose Agar</i>)	11
6.	(a) Isolat patogen Mg52A.1 berumur 7 hari dan (b) 28 hari, (c) Isolat patogen Mg39.2 berumur 7 hari dan (d) 28 hari dan (e) Isolat patogen Ps8bt berumur 7 hari dan (f) 28 hari pada media <i>Potato Dextrose Agar</i>	20
7.	Sumber inokulum potongan batang jeruk Pamelo di atas koloni isolat Mg52A.1 (a), Mg39.2 (b) dan Ps8bt (c) berumur 7 hari.....	21
8.	Gejala penyakit diplodia pada batang jeruk jenis Pamelo (a), Siam (b) dan Manis (c) pada 14 hari setelah inokulasi.....	22
9.	Pertambahan luas gejala penyakit diplodia pada batang jeruk yang diinokulasi dengan 4 jenis inokulum	25
10.	Pertambahan luas gejala penyakit diplodia pada 3 jenis jenis jeruk	26
11.	Nekrosis pada daun jeruk jenis Pamelo (a), Manis (b) dan Siam (c)....	27
12.	Persentase daun jeruk yang mengalami nekrosis.....	28

Lampiran

Nomor	Teks	Halaman
1.	Denah Pengacakan Uji Patogenisitas pada skala <i>Greenhouse</i>	47
2.	Hasil perlakuan kontrol pada daun jeruk jenis Pamelo (a), Siam (b) dan Manis (c).....	48
3.	Hasil perlakuan toksin kasar yang berasal dari isolat patogen Mg52A.1 pada daun jenis Pamelo (a), Siam (b) dan Manis (c) setelah 12 hari masa inkubasi.....	48

4.	Hasil perlakuan toksin kasar yang berasal dari isolat patogen Mg39.2 pada daun jenis Pamelon (a), Siam (b) dan Manis (c) setelah 12 hari masa inkubasi.....	49
5.	Hasil perlakuan toksin kasar yang berasal dari isolat patogen Ps8bt pada daun jenis Pamelon (a), Siam (b) dan Manis (c) setelah 12 hari masa inkubasi.....	49
6.	Hasil perlakuan kontrol (aquades steril) uji patogenisitas pada batang jeruk jenis Pamelon (a), Siam (b) dan Manis (c).....	50
7.	Hasil perlakuan isolat Mg52A.1 pada batang jeruk jenis Pamelon (a), Siam (b), dan Manis (c).	50
8.	Hasil perlakuan isolat Mg39.2 pada batang jeruk jenis Pamelon (a), Siam (b), dan Manis (c).	51
9.	Hasil perlakuan isolat Ps8bt pada batang jeruk jenis Pamelon (a), Siam (b), dan Manis (c).....	51



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hortikultura menjadi komoditas strategis dengan permintaan pasar yang tinggi sebagai pemenuhan bahan pangan dan industri. Produksi hortikultura di Indonesia belum mampu memenuhi kebutuhan dalam negeri sehingga masih mengandalkan impor sebesar 1.929 juta US\$ pada tahun 2014 (Kementerian Pertanian, 2015). Kondisi defisit perdagangan hortikultura pada tahun tersebut terutama terjadi pada kelompok komoditas buah, salah satunya adalah komoditas jeruk. Produktivitas komoditas jeruk terus mengalami penurunan dengan pertumbuhan hanya 4,13% per tahun (Kementerian Pertanian, 2015). Salah satu permasalahan yang menyebabkan rendahnya produksi tanaman jeruk adalah teknik budidaya yang kurang memadai serta serangan hama dan patogen jeruk.

Penyakit diplodia atau blendok merupakan salah satu penyakit utama yang menyerang pertanaman jeruk di Indonesia. Penyakit diplodia telah terjadi pada wilayah pertanaman jeruk di Sulawesi Tenggara (Gusnawaty dan Mariadi, 2013) dan Kalimantan Selatan (Balai Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Kalimantan Selatan, 2003). Sedangkan di Jawa Timur terjadi pada sentra pertanaman jeruk Pamelon yaitu Kabupaten Magetan yang menimbulkan kerugian mencapai lebih dari 50% (Pusat Penelitian dan Pengembangan Sosial Ekonomi Pertanian, 2010). Penyakit diplodia juga terjadi pada pertanaman jeruk manis dan jeruk siam di Kabupaten Pasuruan (Direktorat Budidaya dan Pasca Panen Buah, 2010). Serangan tersebut terjadi pada tanaman yang telah produktif sehingga terjadi penurunan hasil tanaman.

Penyakit diplodia disebabkan oleh jamur *Botryodiplodia theobromae* yang menyebabkan kematian pada batang dan cabang tanaman jeruk, menghambat pertumbuhan tanaman dan kematian tanaman (Semangun, 2000). Gejala yang ditimbulkan dibedakan menjadi gejala basah yaitu batang tanaman mengeluarkan cairan kental berwarna cokelat (*gum*) dan gejala kering ditandai dengan mengelupasnya kulit batang (Semangun, 2000).

Pengendalian penyakit diplodia telah dilakukan dengan beberapa metode antara lain menggunakan agens hayati *Trichoderma harzianum* (Salamiah *et al.*,

2008), bahan nabati seperti bawang merah, bawang putih dan daun mimba (Salamiah dan Melanie, 2004) serta bahan kimia sintetik Topsin (Salamiah, 2009), namun belum efektif menekan perkembangan patogen *B. theobromae* dalam skala lapang.

Penyakit diplodia berkembang baik pada daerah pertanaman jeruk dataran tinggi hingga dataran rendah. Patogen berkembang pada musim hujan dan menyebar melalui aliran irigasi maupun percikan air. Selain itu faktor umur tanaman dan jenis tanaman juga menentukan keparahan serangan patogen. Belum diketahui bagaimana perbedaan patogenisitas patogen dari wilayah pertanaman yang berbeda dalam menimbulkan penyakit diplodia (Semangun, 2000).

Serangan *B. theobromae* umumnya baru disadari petani ketika telah menunjukkan kematian pada bagian tanaman sehingga pengendalian tidak bisa dilakukan secara optimal. Patogenisitas patogen penting untuk diketahui terkait masa inkubasi dan gejala yang ditimbulkan terutama pada fase bibit tanaman sehingga tindakan pengendalian dapat dilakukan lebih awal. Penelitian ini menguji patogenisitas dan peran toksin dari isolat *B. theobromae* yang diisolasi dari wilayah sentra produksi jeruk di Jawa Timur pada tiga jenis jeruk yang umum dibudidayakan petani di Jawa Timur yaitu Siam, Pamelos dan Manis. Hasil penelitian ini dapat menjadi informasi mengenai kemampuan patogen pada masing-masing wilayah untuk menimbulkan penyakit diplodia sehingga dapat mempertimbangkan pemilihan bibit serta tindakan pengendalian.

1.2 Rumusan Masalah

Dalam upaya pengendalian penyakit diplodia khususnya di sentra produksi jeruk Jawa Timur, diperlukan informasi mengenai patogen *B. theobromae* yang berasal dari wilayah pertanaman jeruk Kabupaten Magetan (Isolat Mg52A1 dan Mg39.2) dan Kabupaten Pasuruan (Isolat Ps8bt). Informasi tersebut berupa potensi ketiga isolat dalam menimbulkan gejala penyakit diplodia pada batang jeruk jenis Pamelos, Siam dan Manis serta potensi toksin kasar dari isolat patogen tersebut dalam menimbulkan nekrosis pada daun jeruk.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui patogenisitas dan kemampuan toksin kasar isolat *B. theobromae* Mg52A.1, Mg39.2 dan Ps8bt dalam menimbulkan gejala penyakit diplodia pada 3 jenis jeruk yaitu Siam, Pamelo dan Manis.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Infeksi jenis inokulum patogen yang berbeda (Mg52A.1, Mg39.2 dan Ps8bt) pada jenis jeruk yang berbeda (Pamelo, Siam dan Manis) mempengaruhi timbulnya penyakit diplodia.
2. Infeksi jenis toksin kasar patogen (*crude toxin*) yang berbeda (Mg52A.1, Mg39.2 dan Ps8bt) pada jenis daun jeruk (Pamelo, Siam dan Manis) mempengaruhi timbulnya nekrosis pada daun.

1.5 Manfaat Penelitian

Patogenisitas patogen dapat digunakan sebagai acuan dalam pengendalian patogen *B. theobromae*. Patogenisitas menunjukkan sifat dari patogen dalam menimbulkan penyakit. Praktisi dapat memperhatikan waktu pengendalian patogen berdasarkan masa inkubasi patogen dan kondisi yang menyebabkan patogen dengan mudah berkembang. Praktisi juga dapat memperhatikan pemilihan wilayah perkebunan serta jenis tanaman jeruk yang akan dibudidayakan berdasarkan potensi timbulnya penyakit diplodia.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jeruk (*Citrus spp.*)

Jeruk (*Citrus spp.*) merupakan tanaman yang berasal dari benua Asia sehingga disebut sebagai tanaman asli (*Indigeneous*). Jeruk termasuk ke dalam famili Rutaceae dan dikelompokkan menjadi 3 berdasarkan manfaatnya (Martasari dan Mulyanto, 2008). Kelompok tersebut yaitu, primitif yang belum dimanfaatkan, kerabat dekat jeruk yang sebagian telah dimanfaatkan, jeruk yang sebenarnya, yaitu yang telah dimanfaatkan dan dibudidayakan. Jeruk memiliki 6 genera yaitu Citrus, Microcitrus, Fortunella, Poncirus, Cymenia, Eremocitrus (Martasari dan Mulyanto, 2008). Citrus merupakan yang paling banyak dibudidayakan dan memiliki dua subgenera yaitu Citrus dan Papeda. Subgenera Citrus memiliki 10 spesies dan 7 di antaranya telah banyak dibudidayakan secara komersial yaitu *Citrus sinensis* Osbeck (jeruk manis), *C. reticulata* Blanco (jeruk keprok), *C. maxima* (jeruk besar), *C. limon* (jeruk lemon), *C. aurantifolia* (jeruk nipis), *C. medica* (sitrun), *C. paradisi* (*grapefruit*) (Martasari dan Mulyanto, 2008).

Tanaman jeruk merupakan komoditas buah utama di Indonesia. Jenis jeruk yang paling banyak dibudidayakan petani di Indonesia adalah jeruk Siam dengan produksi mencapai 1.441.680 ton pada tahun 2003 (Direktorat Budidaya dan Pasca Panen Buah, 2010). Selain itu jenis jeruk lain juga dibudidayakan seperti jeruk besar (Pamelo) dengan produksi 88.144 ton pada tahun 2003 (Direktorat Budidaya dan Pasca Panen Buah, 2010). Jeruk jenis lain seperti jeruk Manis dan Keprok juga dibudidayakan namun produktivitasnya dibawah jeruk Siam dan Pamelo. Beberapa sentra produksi jeruk di Jawa Timur adalah Kabupaten Jember dan Kota Batu untuk jeruk Keprok, Kabupaten Magetan untuk jeruk Pamelo (Martasari dan Mulyanto, 2008) serta Kabupaten Pasuruan dan Kabupaten Pacitan untuk jeruk Manis (Direktorat Budidaya dan Pasca Panen Buah, 2010).

Tanaman jeruk tumbuh ideal pada dataran tinggi hingga dataran rendah. Di dataran rendah hingga 700 m di atas permukaan laut, jeruk yang sesuai adalah jeruk Siam dan jeruk besar atau Pamelo. Di dataran tinggi diatas 700 m di atas permukaan laut, jeruk Keprok lebih sesuai daripada jeruk Siam. Jeruk Keprok

merupakan salah satu jeruk harapan yang nantinya mampu menggantikan pasar jeruk - jeruk impor (substitusi jeruk impor), seperti jeruk Keprok kultivar Grabag, Tawangmangu, Batu 55, Garut, SoE, serta jenis introduksi seperti Jeruk Freemont, Sunkist dan Chokun (Direktorat Budidaya dan Pasca Panen Buah, 2010). Jeruk merupakan salah satu komoditas prioritas yang perlu ditangani lebih terarah untuk dapat menghasilkan produksi dan mutu hasil yang tinggi serta berkesinambungan.

Kendala utama dalam upaya pengembangan tanaman jeruk adalah serangan organisme pengganggu tanaman (OPT). Beberapa penyakit utama pada jeruk seperti CVPD (*Citrus Vein Phloem Degeneration*) atau Huang Lung Bin serta Diplodia telah menimbulkan kerugian signifikan pada pertanaman jeruk di Indonesia (Direktorat Budidaya dan Pasca Panen Buah, 2010).

2.2 Jenis-Jenis Jeruk

2.2.1 Jeruk Manis (*Citrus sinensis*)

Jeruk Manis (*Citrus sinensis*), mempunyai ciri tanaman perdu dengan ketinggian 3 – 10 meter, ranting berduri dan duri pendek berbentuk paku. Tangkai daun panjang 0,5 – 3,5 cm. helaian daun bulat telur, elliptis atau memanjang, dengan ujung tumpul atau meruncing tumpul. Mahkota bunga putih atau putih kekuningan. Buah bentuk bola atau bentuk bola tertekan berwarna kuning, oranye atau hijau dengan kuning. Daging buah kuning muda, oranye kuning atau kemerah-merahan dengan gelembung yang bersatu dengan yang lain (Gambar 1.) (Orwa *et al.*, 2009).

Jeruk Manis mulai menghasilkan bunga dan buah ketika berumur 3-5 tahun. Pemasakkan buah memerlukan waktu 9 – 12 bulan. Tanaman jeruk Manis bersifat hermaphrodit dan penyerbukan dibantu oleh serangga (Orwa *et al.*, 2009).

Tanaman jeruk Manis lebih sesuai pada daerah subtropis namun sudah banyak dikembangkan di wilayah tropis seperti Indonesia. Tanaman memerlukan perubahan cuaca yang mencolok untuk dapat berkembang dengan baik. Tanaman ini bersifat intoleran pada kondisi tergenang dan bersifat rentan pada kondisi kelembapan tinggi. Jeruk Manis dapat tumbuh pada semua jenis tanah dengan

irigasi yang baik. pH tanah yang sesuai adalah antara 5 – 8 dan dengan salinitas yang rendah (Orwa *et al.*, 2009).

Jeruk Manis mempunyai rasa yang manis, kandungan air yang banyak dan memiliki kandungan vitamin C yang tinggi (berkisar 27-49 mg/100 gram daging buah). Sari buah jeruk Manis mengandung 40-70 mg vitamin C per 100 ml, tergantung jenis jeruknya. Makin tua buah jeruk, umumnya kandungan vitamin C semakin berkurang, tetapi rasanya semakin manis (Nwauzoma dan Etebu, 2014).



Gambar 1. (a) buah, (b) bunga dan (c) daun tanaman jeruk Manis (*Citrus chinensis*) (Orwa *et al.*, 2009).

2.2.2 Jeruk Siam (*Citrus nobilis*)

Tanaman jeruk siam (*Citrus nobilis*) mempunyai akar tunggang panjang dan akar serabut (bercabang pendek kecil) bila tanah subur dan gembur pertumbuhan akar dapat mencapai 4 meter. Akar cabang yang mendatar dapat mencapai 6 – 7 meter tergantung kepada banyaknya unsur hara didalam tanah (Sarwono, 1994).

Jeruk siam tumbuh berupa pohon berbatang rendah dengan tinggi 2 – 8 meter . Umumnya tanaman ini tidak berduri. Batangnya bulat atau setengah bulat dan memiliki percabangan yang banyak dengan tajuk yang sangat rindang. Ciri khas lainnya tanaman ini adalah dahannya kecil dan letaknya berpencar tidak beraturan. Daunnya berbentuk bulat telur memanjang, elips, atau lanset dengan pangkal tumpul dan ujung meruncing seperti tombak. Permukaan atas daun

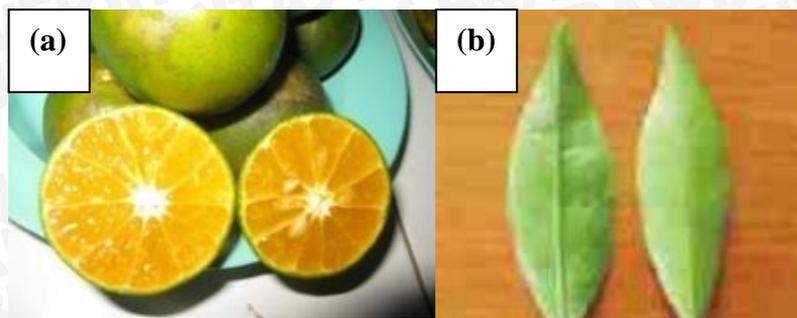
berwarna hijau tua mengkilat sedangkan permukaan bawah hijau muda. Panjang daun 4 – 8 cm dan lebar 1,5 – 4 cm. Tangkai daunnya bersayap sangat sempit sehingga bisa dikatakan tidak bersayap (Sarwono, 1994).

Bunga berwarna putih berbau harum karena mengandung nektar. Bunga berbentuk majemuk dalam satu tangkai, berumah satu. Bunga muncul dari ketiak-ketiak daun atau pucuk ranting yang masih muda. Bunga tanaman jeruk kebanyakan berbentuk majemuk dalam satu tangkai dan mempunyai aroma yang harum. Bunga-bunga tersebut muncul dari ketiak daun atau pucuk ranting yang masih muda. Setelah pucuk daun tumbuh, beberapa hari kemudian akan muncul bunga (Rismunandar, 1986).

Bunga jeruk merupakan bunga lengkap yang terdiri atas ovarium (bakal buah), kepala putik, kepala sari, mahkota, dan tangkai putik (Sarwono, 1994). Kelopak bunga berjumlah 4 – 5, ada yang menyatu ada yang tidak. Mahkota bunga kebanyakan berjumlah 4 – 5 dan berdaun lepas. Tonjolan dasar bunga beringgit atau berlekuk di dalam benangsari (Sarwono, 1994). Buahnya berbentuk bulat dengan permukaan agak halus. Ujung buah bundar dan berpusar. Kulit buah berwarna kuning mengkilat dan sulit dikupas bila matang, ketebalan kulit sekitar 3,9 mm. Daging buah bertekstur lunak, mengandung banyak air, dan berwarna kekuningan. Rasa daging buahnya sangat manis dan baunya harum, ukuran jeruk ini tergolong besar, dengan berat antara 150 – 250 g/buah (Sarwono, 1994).

Tanaman jeruk siam dapat tumbuh pada ketinggian tempat sampai 1400 meter di atas permukaan laut. Ketinggian tempat tersebut sangat mempengaruhi kualitas serta rasa buah. Daerah penanaman jeruk siam sebaiknya menerima penyinaran matahari antara 50 – 60 % dengan perbedaan suhu siang dan malam lebih dari 10 % (Sarwono, 1994).

Tanaman jeruk menghendaki tanah yang gembur, subur dengan keadaan air tanah yang dangkal tapi tidak tergenang. Dengan demikian penanaman tanaman jeruk pada lahan yang miring akan lebih baik dibanding tanah yang datar. Tanah yang bersifat porous adalah kurang baik untuk pertumbuhan tanaman jeruk Siam (Sarwono, 1994).

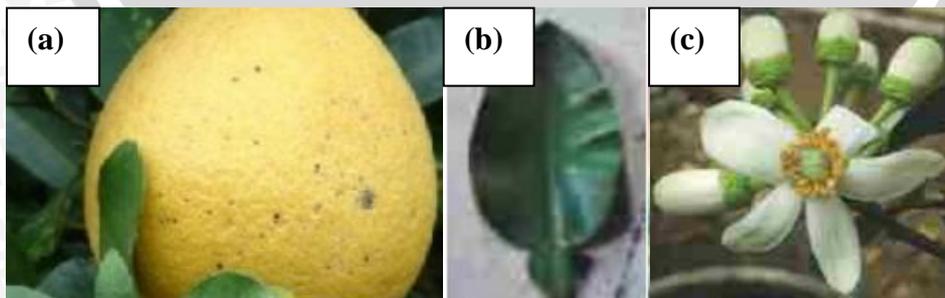


Gambar 2. (a) Buah dan (b) Daun Tanaman Jeruk Siam (*Citrus microcarpa*) (Martasari dan Mulyanto, 2008).

2.2.3 Jeruk Pameló (*Citrus maxima* (Burm) Merr)

Tanaman Jeruk Pameló (*Citrus maxima* Merr) merupakan jenis jeruk besar yang dibudidayakan di Indonesia. Tanaman memiliki tinggi 5 – 15 meter dengan percabangan rendah dan tersebar (Orwa *et al.*, 2009).

Pameló merupakan tanaman yang berbunga dan berbuah 2 – 4 kali dalam setahun, dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah, pada daerah dengan ketinggian 100 – 400 m di atas permukaan laut. Pameló dikenal sebagai spesies yang memiliki variabilitas fenotip tinggi terutama pada organ buah, yang meliputi bentuk, ukuran, ketebalan kulit buah, warna, dan rasa buah. Selama ini masyarakat umum dan petani Pameló mengenali perbedaan antar kultivar berdasarkan pada habitus dan karakter buah, khususnya bentuk buah, rasa, dan warna daging buah. Secara umum masyarakat mengenal dua varian warna daging buah Pameló, yaitu putih dan merah. Kultivar yang memiliki warna daging buah merah menunjukkan gradasi warna mulai dari merah muda hingga merah pekat (Orwa *et al.*, 2009). Jeruk Pameló dapat dibudidayakan di daerah tropis dan di dataran rendah bahkan pada daerah mendekati pantai dengan salinitas 2,11 % (Orwa *et al.*, 2009).



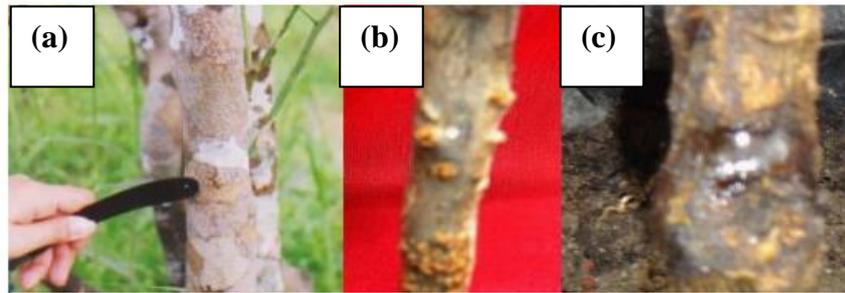
Gambar 3. (a) buah (Orwa *et al.*, 2009), (b) daun dan (c) bunga tanaman jeruk Pameló (*Citrus maxima*) (Martasari dan Mulyanto, 2008).

2.3 Patogen *Botryodiplodia theobromae* Penyebab Penyakit Diplodia pada Batang Jeruk

Penyakit diplodia disebabkan oleh jamur *Botryodiplodia theobromae* yang termasuk dalam Filum *Deuteromycota*, Kelas *Deuteromycetes*, Ordo *Sphaeropsidales*, Famili *Sphaeropsidaceae* atau memiliki sinonim *Lasiodiplodia theobromae* dan *Diplodia natalensis*. Penyakit ini tersebar luas pada pertanaman jeruk di berbagai negara. Penyakit ini terutama menyerang pada pertanaman jeruk dataran rendah. Jenis jeruk yang paling rentan adalah jeruk keprok dan jenis jeruk besar. Pada diplodia basah *B. theobromae* membentuk piknidium terbesar mula-mula tertutup, kemudian pecah, hitam, berpapil dan eksosporanya memiliki jalur-jalur. Jamur ini tidak hanya menyerang jeruk namun juga menyerang berbagai tanaman lain seperti mangga (Khanzana *et al.*, 2005), kakao (Pedraza *et al.*, 2013) dan mawar (Chen *et al.*, 2016). Namun belum diketahui apakah jamur *B. theobromae* yang terdapat pada berbagai jenis jeruk maupun pada inang yang lain memiliki patogenisitas yang sama (Semangun, 2000).

Gejala yang ditimbulkan dibedakan menjadi dua yaitu gejala basah dan kering. Serangan basah mudah dikenali karena ditandai dengan keluarnya blendok (gum) yang berwarna kuning emas dari batang atau cabang-cabang besar. Setelah beberapa lama kulit yang sakit mengelupas dan luka menjadi sembuh, namun terjadi luka-luka yang tidak teratur. Semakin lama jamur akan masuk ke dalam kulit dan kayu dan berkembang dengan cepat. Jamur akan merusak kambium kemudian batang atau cabang akan mati berwarna biru sampai hitam (Semangun, 2000).

Gejala kering sulit diketahui pada awal pertanaman ditandai dengan kulit megering dan jika dipotong kulit dan kayu di bawahnya berwarna hitam kehijauan. Kulit yang sakit membentuk celah-celah kecil, dari dalamnya keluarlah massa spora yang semula berwarna putih, dan kemudian akan menjadi hitam. Biasanya infeksi baru diketahui jika daun-daun telah menguning sehingga batang atau cabang yang sakit tidak dapat ditolong lagi (Semangun, 2000).



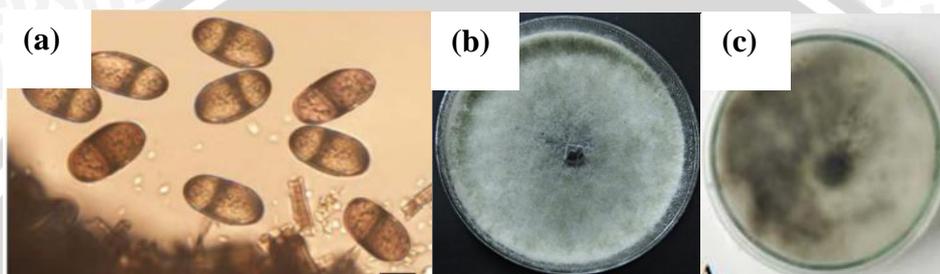
Gambar 4. Gejala serangan *Botryodiplodia theobromae* pada tanaman jeruk (a) Gejala awal, (b) Kulit batang jeruk mulai pecah dan menghasilkan benjolan, (c) Gejala serangan lanjut (Salamiah, 2009).

Perkembangan penyakit dipengaruhi oleh jenis dan umur tanaman. Semua jenis jeruk besar rentan terhadap diplodia basah terutama jeruk delima, pandanwangi, bali dan sioyod. Sedangkan jeruk JC, RL, jeruk masam, sitrun, jeruk keprok dan jeruk manis lebih rentan terhadap diplodia kering (Semangun, 2000). Kemampuan patogen dalam menimbulkan penyakit yang berasal dari berbagai inang dan wilayah juga berbeda. Patogen dapat menimbulkan penyakit melalui berbagai cara yaitu melemahkan inang melalui penyerapan makanan dari sel-sel inang secara terus menerus untuk dimanfaatkan patogen, membunuh atau mengganggu metabolisme dari sel-sel inang dengan racun, enzim atau pengaturan bahan-bahan untuk pertumbuhan yang mereka sekresikan, menghentikan transportasi makanan, nutrisi mineral, dan air melalui jaringan-jaringan yang konduktif pada inang, mengkonsumsi kandungan sel-sel inang melalui suatu penghubung (Agrios, 2005).

Patogen *B. theobromae* dapat membentuk struktur pertahanan pada kondisi lingkungan yang tidak sesuai. Kondisi lingkungan yang mendukung, dimana kelembaban, nutrisi dan suhu tinggi, patogen akan segera berkecambah dan kemudian melakukan penetrasi ke dalam jaringan tanaman. Perbedaan suhu antara siang dan malam yang drastis akan menyebabkan patogen berkembang dengan baik. Kondisi tanaman yang lemah didukung oleh kelembaban yang tinggi akan mendukung terjadinya penetrasi pada jaringan tanaman inang baru. Penetrasi yang sudah berhasil selanjutnya akan terjadi kolonisasi, patogen akan tumbuh dan memperbanyak dalam jaringan tanaman inang. Fase-fase

kritis patogen adalah pada saat sebelum terjadi penetrasi, pada fase ini pengendalian akan lebih efektif dibanding apabila sudah lanjut (Henuk, 2010).

Miselium *B.theobromae* pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) berwarna putih kemudian pada isolat yang sudah tua akan berubah menjadi kehitaman. *B. theobromae* membentuk piknidium yang tersebar, konidium berbentuk jorong, bersekat satu, berwarna gelap, eksosporanya memiliki jalur-jalur dan rata-rata berukuran $24 \times 15 \mu\text{m}$ (Semangun, 2000).



Gambar 5. (a) Konidia *Botryodiplodia theobromae* dewasa (Henuk, 2010), (b) kultur *B. theobromae* berumur 7 hari (Chen *et al.*, 2016) dan (c) 21 hari pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Sandra, 2011).

2.4 Patogenesis dan Toksin Patogen

Patogenesis merupakan kemampuan patogen dalam menyebabkan penyakit (Agrios, 2005). Jenis patogen yang berbeda memiliki kemampuan yang berbeda dalam menimbulkan penyakit pada inang tertentu. Adapun beberapa cara patogen dalam menimbulkan penyakit adalah sebagai berikut (Agrios, 2005).

1. Melemahkan inang melalui penyerapan makanan dari sel-sel inang secara terus-menerus untuk dimanfaatkan oleh patogen.
2. Membunuh atau mengganggu metabolisme dari sel-sel inang dengan racun (toksin), enzim atau pengaturan bahan-bahan untuk pertumbuhan.
3. Menghentikan transportasi makanan, nutrisi mineral dan air melalui jaringan-jaringan yang konduktif pada inang.
4. Mengonsumsi kandungan sel-sel inang melalui suatu penghubung.

Toksin merupakan salah satu senyawa yang dikeluarkan patogen yang menentukan kemampuan dalam menimbulkan penyakit pada inangnya. Jamur patogen tanaman menghasilkan mikotoksin yang menyebabkan timbulnya gejala

penyakit dan memiliki peran positif dalam perkembangan penyakit (Yan-li *et al.*, 2011). Penelitian mengenai toksin patogen merupakan salah satu cara dalam memperdalam pemahaman mengenai mekanisme patogenisitas dari patogen. Selain itu pemahaman mengenai toksin patogen juga digunakan untuk menyeleksi jenis tanaman tahan (Yan-li *et al.*, 2011). Toksin jamur patogen dibedakan menjadi dua berdasarkan toksisitasnya pada tanaman inang yaitu *the host-specific toxin* (HST) atau toksin yang memiliki inang spesifik dan *the non-host specific toxin* (NHST) yaitu toksin yang memiliki spektrum luas (Yan-li *et al.*, 2011).



III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian dilakukan di laboratorium fitopatologi dan rumah kaca Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro), Jalan Raya Tlekung No. 1, Kecamatan Junrejo, Kota Batu pada bulan Nopember 2015 - Mei 2016.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: cawan petri, autoclaf, oven, jarum ose, scalpel, pinset, pipet, bunsen, mikroskop, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), timbangan analitik, panci, jarum suntik, pisau steril, kompor, gelas ukur, tabung reaksi, *haemocytometer*, plastik *wrap*, *sprayer*, *polybag*, rumah kaca, rak pembibitan, sekop, gembor, plastik label dan penggaris. Sedangkan bahan yang digunakan adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), alkohol 70%, Akuades steril, spritus, tisu, kertas bloter, kain saring (*muslin cloth*), kertas saring (*mira cloth*), glycerol, *methylen blue*, pupuk NPK, tiga bibit tanaman jeruk jenis Pamelo, Manis, dan Siam serta isolat *Botryodiplodia theobromae* dari tiga wilayah yaitu Isolat Magetan Mg52A.1, Isolat Magetan Mg39.2, dan Isolat Pasuruan Ps8bt.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

a. Persiapan Bibit Tanaman Jeruk

Bibit tanaman yang digunakan berasal dari koleksi Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro). Bibit terdiri dari tiga jenis jeruk yaitu Siam, Pamelo dan Manis yang berumur 12 bulan. Bibit jeruk berada pada media tanam tanah dan sekam yang ditempatkan di dalam *polybag* berkapasitas 3 kg. Bibit tanaman diletakkan dalam rak dan diberi label sesuai perlakuan. Bibit menggunakan batang bawah tanaman jeruk jenis JC (*Japanche Citroen*) berdasarkan standar operasional pembibitan di Balitjestro karena lebih tahan terhadap kekeringan dan lebih tahan terhadap penyakit tular tanah.

b. Perawatan Tanaman Jeruk

1. Pemupukan

Pemupukan dilakukan berdasarkan rekomendasi pada Prastowo *et al.* (2006) mengenai teknik pemupukan bibit jeruk dalam *polybag* yaitu menggunakan pupuk NPK (15:15:15) sebanyak 2 gram per tanaman dan dilakukan sebulan sekali.

2. Penyiangan Gulma

Penyiangan gulma dilakukan setiap satu minggu sekali dan pada saat pemupukan. Penyiangan dilakukan lebih intensif pada saat musim hujan. Penyiangan dilakukan dengan pencabutan langsung.

3. Penyiraman

Penyiraman dilakukan dengan menggunakan gembor setiap hari pada musim kemarau dan disesuaikan pada musim hujan.

4. Penambahan tanah

Penambahan tanah dilakukan setiap satu bulan sekali. Tujuan dari penambahan tanah adalah untuk mengganti tanah yang hilang akibat pencabutan gulma dan penyiraman. Penambahan tanah dilakukan sampai akar tanaman tidak terlihat di permukaan.

c. Persiapan Suspensi *B. theobromae*

Isolat *B. theobromae* berasal dari hasil koleksi Balai Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro). Isolat multilokasi berasal dari sentra produksi jeruk wilayah Kabupaten Magetan dan Kabupaten Pasuruan. Berdasarkan analisa Laboratorium Fitopatologi Balitjestro terdapat tiga isolat memiliki kemampuan tumbuh yang baik yaitu isolat dari wilayah Kabupaten Magetan sebanyak 2 isolat (Isolat Mg52A.1 dan Mg39.2) dan isolat dari wilayah Kabupaten Pasuruan sebanyak 1 isolat (Isolat Ps8bt) . Secara berurutan diberikan kode ulang D₁, D₂, dan D₃.

Isolat dimurnikan dengan cara mengambil miselium satu-persatu dipindahkan ke media PDA yang baru sehingga didapatkan biakan murni. Pembuatan suspensi untuk ekstraksi toksin kasar (*crude toxin*) dilakukan dengan cara mengambil konidia dari biakan murni dan menumbuhkannya pada media

PDB (*Potato Dextrose Broth*). Biakan diinkubasi dalam *shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 50 rpm selama 2 bulan.

d. Persiapan Sumber Inokulum *B. theobromae*

Sumber inokulum yang akan digunakan adalah berupa batang yang telah terinfeksi patogen untuk kemudian ditularkan pada tanaman perlakuan. Batang yang digunakan adalah dari jenis jeruk Pameló. Pembuatan sumber inokulum memodifikasi metode yang digunakan oleh Putra *et al.* (2013) yaitu dengan mengambil batang jeruk sehat berukuran 1 cm kemudian disterilisasi menggunakan alkohol 70% selama 1 menit, kloroks selama 1 menit dan aquades steril selama 1 menit. Masing-masing diulang sebanyak dua kali. Sumber inokulum diinkubasi di atas media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang telah terdapat koloni penuh dari *B. theobromae*. Inkubasi dilakukan selama satu minggu hingga batang menunjukkan gejala terinfeksi yaitu kecokelatan dan diselubungi miselium patogen serta mengeluarkan eksudat cair berwarna kuning.

e. Isolasi Toksin Kasar (*Crude Toxin*) *B. theobromae*

Isolasi toksin kasar atau *crude toxin* dilakukan dengan mengadopsi metode yang dilakukan oleh Salamiah (2009) yaitu membiakkan patogen *B. theobromae* pada media PDB (*Potato Dextrose Broth*). Miselium dari biakan murni diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi media PDB sebanyak 50 ml kemudian diinkubasikan pada suhu kamar di atas *shaker* (kecepatan 50 rpm) selama 2 bulan.

Biakan *B. theobromae* hasil inkubasi kemudian difiltrasi dengan memodifikasi metode yang dilakukan Salamiah (2009) dan (Yoshida *et al.*, 2000) menggunakan 4 lapis kain saring (*muslin cloth*) dan dua lapis *miracloth*. Menurut Salamiah (2009) toksin akan dipindahkan ke dalam medium cair saat patogen melakukan perkembangan. Pengujian kandungan toksin pada suspensi dilakukan dengan cara meneteskan suspensi pada daun tanaman. Daun akan bereaksi dengan menunjukkan gejala nekrosis.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Uji Patogenisitas Isolat *B. theobromae* pada 3 Jenis Jeruk

1. Rancangan Percobaan

Uji Patogenisitas Isolat *B. theobromae* pada 3 Jenis Jeruk menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF) dengan faktor pertama adalah tiga jenis isolat dengan satu kontrol yaitu D₀ (potongan batang sehat), D₁ (inokulum Isolat Mg52A.1) D₂ (inokulum Isolat Mg39.2), dan D₃ (inokulum Isolat Ps8bt). Faktor kedua adalah jenis tanaman jeruk yang terdiri dari jenis jeruk Pamele, Siam dan Manis. Dari faktor tersebut diperoleh 12 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan sehingga terdapat 36 satuan perlakuan. Setiap perlakuan menggunakan 2 unit tanaman jeruk sehingga terdapat 72 tanaman (Tabel 1).

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan Jenis Inokulum Isolat dan Jenis Jeruk

No.	Kombinasi Perlakuan
1	Potongan batang sehat pada batang jeruk Pemelo
2	Potongan batang sehat pada batang jeruk Siam
3	Potongan batang sehat pada batang jeruk Manis
4	Inokulum dari Isolat Mg52A.1 pada batang jeruk Pamele
5	Inokulum dari Isolat Mg52A.1 pada batang jeruk Siam
6	Inokulum dari Isolat Mg52A.1 pada batang jeruk Manis
7	Inokulum dari Isolat Mg39.2 pada batang jeruk Pamele
8	Inokulum dari Isolat Mg39.2 pada batang jeruk Siam
9	Inokulum dari Isolat Mg39.2 pada batang jeruk Manis
10	Inokulum dari Isolat Ps8bt pada batang jeruk Pamele
11	Inokulum dari Isolat Ps8bt pada batang jeruk Siam
12	Inokulum dari Isolat Ps8bt pada batang jeruk Manis

2. Uji Patogenisitas Isolat *B. theobromae* Pat pada Bagian Batang Tanaman Jeruk

Bagian batang tanaman yang diuji adalah batang di atas sambungan sebab bibit yang digunakan memiliki batang bawah jeruk jenis *Japanche citroen*. Perlakuan menggunakan potongan batang yang telah terinfeksi *B. theobromae* (sumber inokulum) dengan cara menyisipkan pada batang yang sehat dan diikat menggunakan plastik. Bagian luar disemprot dengan aquades steril setiap tiga hari sekali untuk menjaga kelembapan.

4. Variabel Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan yaitu meliputi pengamatan gejala serangan patogen pada tanaman untuk mengetahui patogenisitas patogen. Adapun variabel pengamatan meliputi:

(a) Pengamatan Masa Inkubasi

Masa inkubasi patogen yaitu waktu antara inokulasi patogen sampai kenampakan awal gejala penyakit pada batang tanaman jeruk. Pengamatan dilakukan pada bagian batang tanaman terinfeksi. Pengamatan gejala berdasarkan metode yang dilakukan Putra *et al.* (2013) dan Salamiah *et al.* (2008) yaitu adanya kulit batang mengelupas, berubah warna menjadi kecokelatan, bidang pelukaan menjadi basah hingga keluarnya cairan kental kecokelatan dari sumber infeksi (*gum*). Data rata-rata inkubasi menunjukkan rentang waktu antara proses inokulasi sampai timbulnya gejala.

(b) Luas Gejala Penyakit

Pengamatan luas gejala penyakit dilakukan pada batang terinfeksi. Pengamatan dilakukan setiap 7 hari sekali dengan mengukur secara vertikal (v) dan horizontal (h) pada bidang yang menunjukkan gejala. Luas gejala infeksi (cm²) diketahui dengan mengalikan (v) dan (h). Pengamatan dilakukan sampai 49 hari setelah inokulasi. Masa inkubasi *B. theobromae* antara 9 – 39 hari (Salamiah *et al.*, 2008 dan Putra *et al.*, 2013).

b. Uji Toksin Kasar (*Crude Toxin*) *B. theobromae*

1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini untuk mengetahui peranan toksin dari ketiga isolat *B. theobromae* dalam menimbulkan penyakit pada 3 jenis jeruk yang ditandai dari gejala nekrosis pada daun. Pengujian toksin mengadopsi metode yang dilakukan oleh Salamiah (2009), daun tanaman yang muda diambil dari masing-masing 3 jenis jeruk. Pada daun dibuat goresan vertikal dan horizontal membentuk persegi berukuran 0,5 cm sepanjang daun sebagai media pelukaan. Sebanyak 3 ml suspensi toksin kasar dioleskan ke media pelukaan sebagai perlakuan dengan aquades steril sebagai kontrol. Sampel diinkubasi dalam suhu 25⁰C selama 5 hari

dalam cawan petri steril. Daun diberi alas kapas basah untuk menjaga kelembapan.

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan 12 kombinasi perlakuan dan 3 kali ulangan. Faktor pertama ialah perlakuan toksin dari 3 jenis isolat *B. theobromae* yang terdiri dari:

- T0 = Kontrol (Aquades steril)
- T1 = Toksin Kasar yang berasal dari isolat Mg52A.1
- T2 = Toksin Kasar yang berasal dari isolat Mg39.2
- T3 = Toksin Kasar yang berasal dari isolat Ps.8bt

Faktor yang kedua adalah sampel daun dan batang dari 3 jenis jeruk yaitu.

- P = Sampel Daun dari tanaman jeruk jenis Pamelo
- S = Sampel Daun dari tanaman jeruk jenis Siam
- M = Sampel Daun dari tanaman jeruk jenis Manis

Setiap perlakuan menggunakan 2 unit daun tanaman. Kombinasi kedua faktor dijabarkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kombinasi Perlakuan pada Pengujian Toksin *B. theobromae*

No.	Kombinasi Perlakuan
1	Aquades steril pada daun jeruk Pamelo
2	Aquades steril pada batang jeruk Siam
3	Aquades steril pada batang jeruk Manis
4	Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) Isolat Mg52A.1 pada daun jeruk Pamelo
5	Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) Isolat Mg52A.1 pada daun jeruk Siam
6	Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) Isolat Mg52A.1 pada daun jeruk Manis
7	Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) Isolat Mg39.2 pada daun jeruk Pamelo
8	Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) Isolat Mg39.2 pada daun jeruk Siam
9	Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) Isolat Mg39.2 pada daun jeruk Manis
10	Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) Isolat Ps8bt pada daun jeruk Pamelo
11	Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) Isolat Ps8bt pada daun jeruk Siam
12	Toksin Kasar (<i>Crude Toxin</i>) Isolat Ps8bt pada daun jeruk Manis

2. Variabel Pengamatan

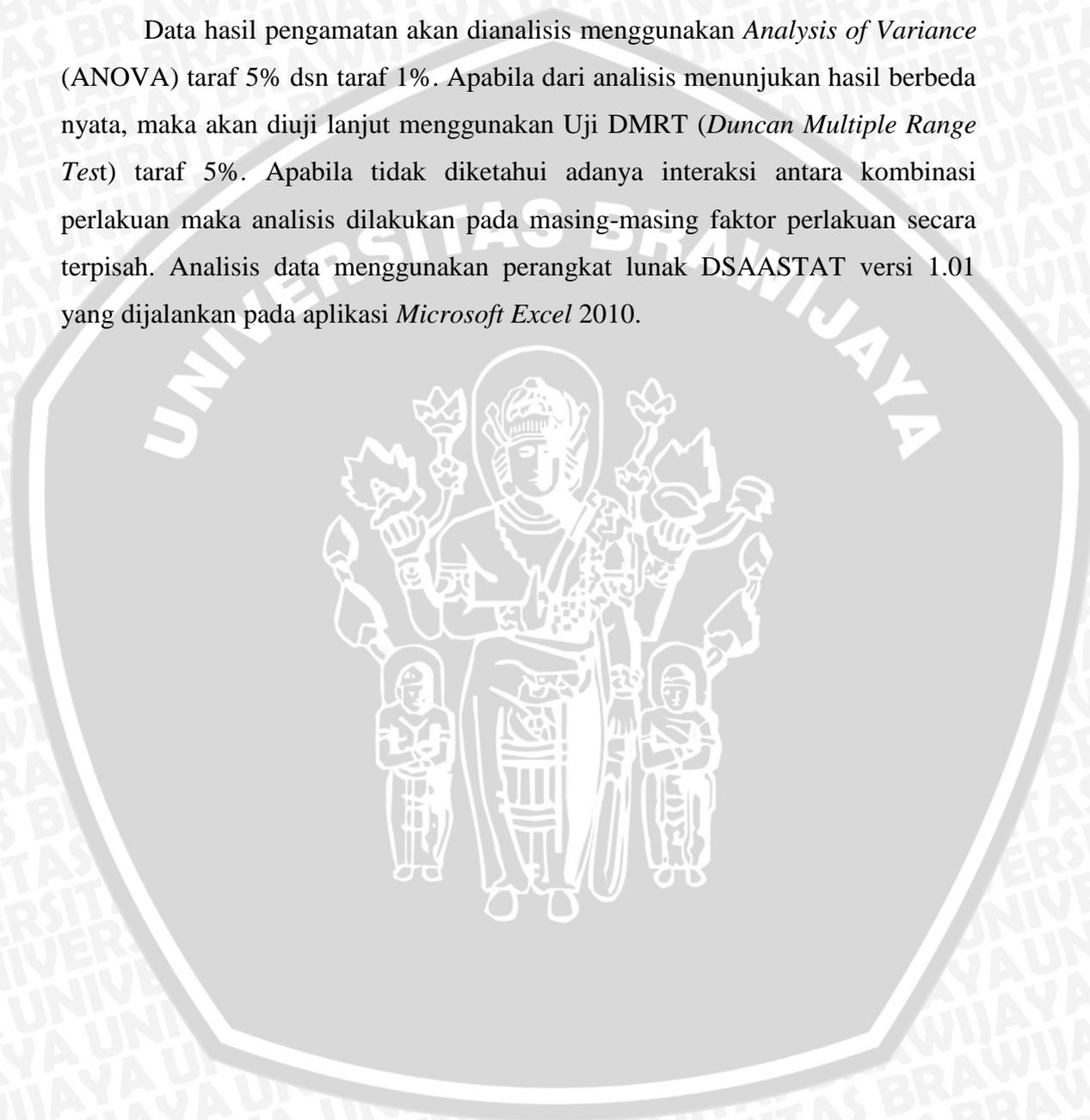
(a) Pengamatan Gejala Nekrosis pada Daun

Variabel yang diamati adalah: (1) Persentase jumlah sampel daun yang mengalami nekrosis berdasarkan perlakuan isolat patogen dan (2) luas bidang nekrosis yang diukur dengan cara melakukan penandaan bagian daun yang

mengalami nekrosis menggunakan plastik mika dan menempelkannya pada kertas *milimeter block*. Luas bidang nekrosis didapatkan dalam satuan cm^2 . Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi selama 12 hari.

3.3.3 Analisis Data

Data hasil pengamatan akan dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) taraf 5% dan taraf 1%. Apabila dari analisis menunjukkan hasil berbeda nyata, maka akan diuji lanjut menggunakan Uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) taraf 5%. Apabila tidak diketahui adanya interaksi antara kombinasi perlakuan maka analisis dilakukan pada masing-masing faktor perlakuan secara terpisah. Analisis data menggunakan perangkat lunak DSAASTAT versi 1.01 yang dijalankan pada aplikasi *Microsoft Excel* 2010.

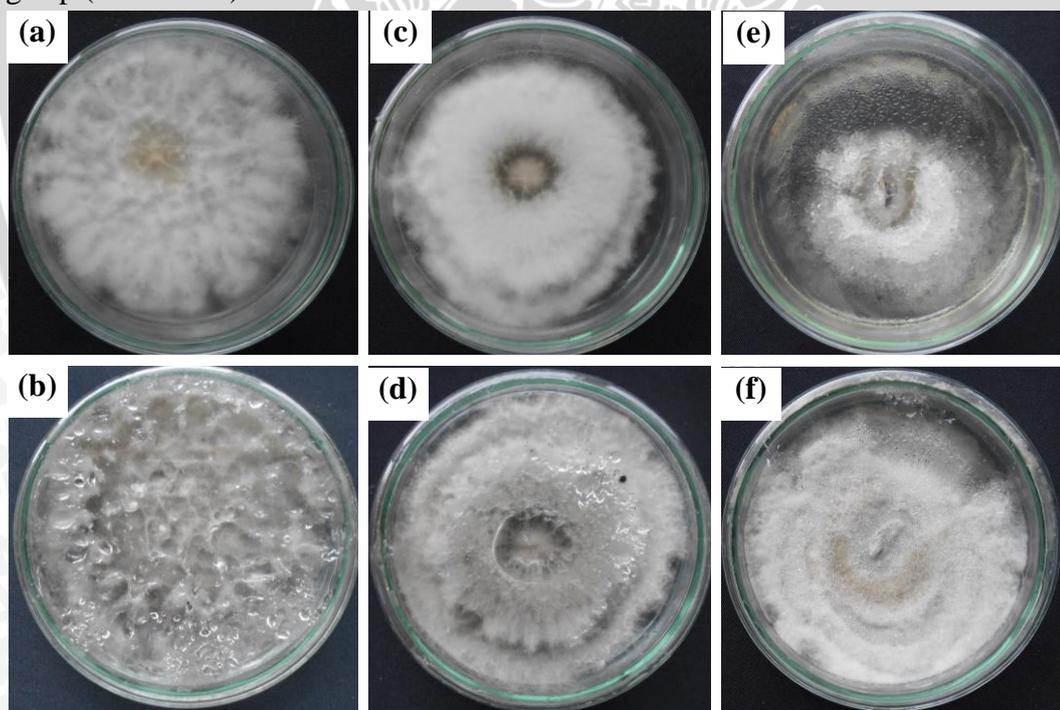


IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Hasil Peremajaan Isolat Patogen *B. theobromae* dan Pembuatan Inokulum Patogen

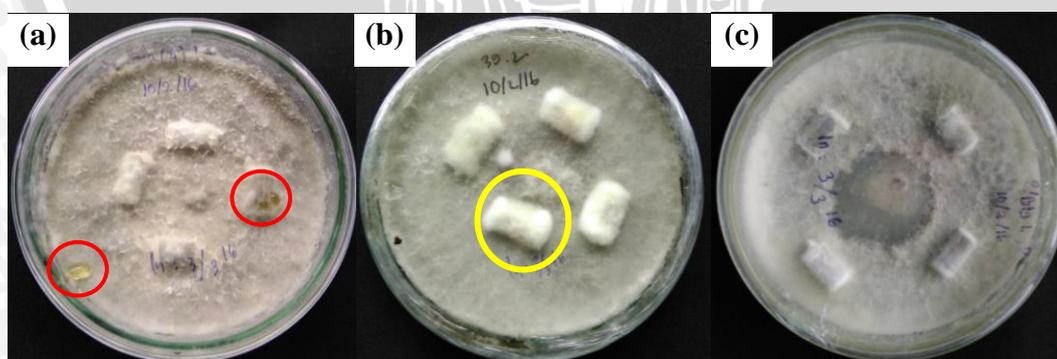
Peremajaan isolat patogen bertujuan untuk mendapatkan isolat patogen yang virulen sehingga dapat digunakan sebagai bahan dalam uji patogenisitas. Isolat patogen *B. theobromae* terdiri dari isolat Mg52A.1 dan Mg39.2 yang dikoleksi dari pertanaman jeruk wilayah Kabupaten Magetan serta isolat Ps8bt yang dikoleksi dari wilayah pertanaman jeruk Kabupaten Pasuruan. Pertumbuhan isolat patogen *B. theobromae* pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) menghasilkan miselium berwarna putih dengan tepi dan permukaan koloni bergelombang. Pada isolat yang sudah dewasa warna miselium akan berubah menjadi warna gelap. Kenampakkan pertumbuhan masing-masing isolat berbeda dalam hal mencapai kondisi memenuhi cawan petri dan perubahan warna menjadi gelap (Gambar 6.).



Gambar 6. (a) Isolat patogen Mg52A.1 berumur 7 hari dan (b) 28 hari, (c) Isolat patogen Mg39.2 berumur 7 hari dan (d) 28 hari dan (e) Isolat patogen Ps8bt berumur 7 hari dan (f) 28 hari pada media *Potato Dextrose Agar*.

Pertumbuhan isolat Mg52A.1 memenuhi permukaan media PDA pada umur 7 hari setelah penanaman dengan pertumbuhan miselium yang tebal dan berwarna putih. Pertumbuhan Mg39.2 dan dan Ps8bt belum memenuhi permukaan media PDA pada umur 7 hari. Miselium isolat Mg39.2 berwarna putih dan tebal sedangkan isolat Ps8bt memiliki miselium yang lebih tipis. Seluruh isolat telah memenuhi permukaan media PDA pada umur 28 hari setelah penanaman. Isolat Mg52A.1 dan Mg39.2 telah mengalami perubahan warna miselium menjadi lebih gelap sedangkan miselium isolat Ps8bt masih berwarna putih. Isolat yang sudah dalam kondisi koloni penuh dapat digunakan sebagai media dalam pembuatan sumber inokulum untuk bahan pengujian patogenisitas tanaman jeruk.

Sumber inokulum adalah potongan batang tanaman jeruk. Potongan yang digunakan memiliki panjang 1 cm dan diameter 0,5 cm. Sumber inokulum digunakan sebagai media perantara untuk menularkan penyakit diplodia ke batang tanaman jeruk sehat sebagai perlakuan dalam uji patogenisitas. Seluruh potongan batang tanaman jeruk yang diletakkan di atas miselium patogen dari tiga jenis isolat telah diselimuti oleh miselium pada umur 7 hari setelah peletakkan. Batang tanaman mengeluarkan eksudat cair berwarna kuning (*gum*) yang menunjukkan reaksi batang tanaman terhadap patogen *B. theobromae* karena menginfeksi jaringan batang tanaman (Gambar 7.). Batang tanaman yang telah diselimuti oleh miselium patogen dapat digunakan sebagai inokulum dalam uji patogenisitas pada tanaman jeruk.

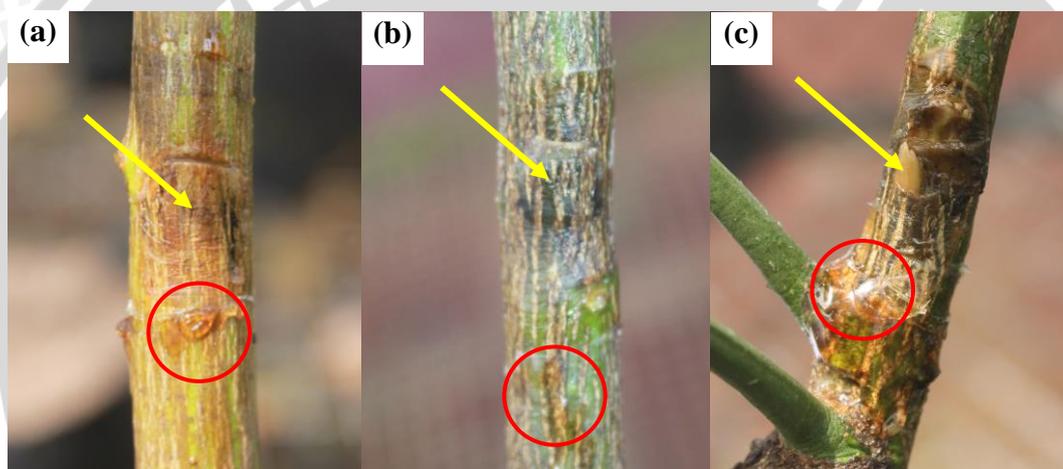


Gambar 7. Sumber inokulum potongan batang jeruk Pamelto di atas koloni isolat Mg52A.1 (a), Mg39.2 (b) dan Ps8bt (c) berumur 7 hari. Keterangan: lingkaran merah menunjukkan eksudat cair berwarna kuning (*gum*) dan lingkaran kuning menunjukkan potongan batang jeruk sebagai sumber inokulum patogen.

4.1.2 Uji Patogenisitas *B. theobromae* pada 3 Jenis Jeruk

a. Masa Inkubasi Patogen *B. theobromae* pada Batang Jeruk

Masa inkubasi patogen *B. theobromae* adalah rentang waktu antara proses inokulasi pada bidang pelukaan sampai dengan muncul gejala penyakit diplodia pada batang tanaman jeruk. Gejala penyakit berupa munculnya blendok atau eksudat berwarna kuning (*gum*) dari bidang inokulasi dan bidang pelukaan menjadi basah dan lengket. Gejala lain adalah munculnya celah-celah luka di sekitar bidang pelukaan dan luka menjadi membusuk serta berubah warna menjadi kecokelatan. Semua jenis jeruk yang digunakan sebagai bahan uji menunjukkan gejala yang sama (Gambar 8).



Gambar 8. Gejala penyakit diplodia pada batang jeruk jenis Pameló (a), Siam (b) dan Manis (c) pada 14 hari setelah inokulasi. Keterangan: lingkaran merah menunjukkan eksudat cair berwarna kuning (*gum*) dan tanda panah berwarna kuning menunjukkan bagian batang yang mengalami gejala penyakit.

Rata-rata masa inkubasi isolat Mg52A.1 adalah 4 hari pada jeruk jenis Pameló, 14 hari pada jeruk jenis Siam, dan 3,33 hari pada jeruk jenis Manis. Rata-rata masa inkubasi isolat Mg39.2 adalah 4 hari pada jeruk jenis Pameló, 13 hari pada jeruk jenis Siam dan 2,67 hari pada jeruk jenis Manis. Rata-rata masa inkubasi isolat Ps8bt adalah 5,83 hari pada jeruk jenis Pameló, 23 hari pada jeruk jenis Siam dan 4,83 hari pada jeruk jenis Manis (Tabel 3.).

Secara umum ketiga jenis isolat mengalami masa inkubasi tercepat pada batang jeruk jenis Manis, kemudian Pameló dan paling lama pada batang jeruk jenis Siam. Inkubasi tercepat terjadi pada jenis Manis yang diinokulasi dengan

isolat Mg39.2 dan inkubasi terlama terjadi pada jenis Siam yang diinokulasi isolat Ps8bt (Tabel 3.).

Tabel 3. Tabel Rata-rata Masa Inkubasi Patogen *B. Theobromae*

Kombinasi Perlakuan	Rata-rata Masa Inkubasi (Hari)	
Inokulum dari Isolat Mg52A.1 pada batang jeruk Pameló	4	a
Inokulum dari Isolat Mg52A.1 pada batang jeruk Siam	14	a
Inokulum dari Isolat Mg52A.1 pada batang jeruk Manis	3,33	a
Inokulum dari Isolat Mg39.2 pada batang jeruk Pameló	4	a
Inokulum dari Isolat Mg39.2 pada batang jeruk Siam	13	a
Inokulum dari Isolat Mg39.2 pada batang jeruk Manis	2,67	a
Inokulum dari Isolat Ps8bt pada batang jeruk Pameló	5,83	a
Inokulum dari Isolat Ps8bt pada batang jeruk Siam	23	a
Inokulum dari Isolat Ps8bt pada batang jeruk Manis	4,83	a

Keterangan: Bilangan yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

b. Luas Gejala Penyakit Diplodia pada Batang Jeruk

Luas gejala penyakit pada bidang permukaan menunjukkan kemampuan patogen dalam menginfeksi kulit batang tanaman jeruk. Semakin luas bidang gejala penyakit maka patogenitas isolat patogen *B. theobromae* dalam menimbulkan penyakit diplodia pada 3 jenis jeruk semakin tinggi. Penyakit memasuki jaringan kulit batang tanaman jeruk dan memanfaatkan kitin dan nutrisi dalam jaringan untuk tumbuh.

Perkembangan penyakit diplodia pada batang jeruk diawali dengan proses perkembangan jamur dalam bidang permukaan yang ditandai dengan adanya miselium berwarna putih kemudian berubah menjadi kehitaman. Jamur masuk ke dalam jaringan tanaman yang menyebabkan tanaman bereaksi dengan mengeluarkan lendir atau eksudat kental berwarna kuning kecokelatan (*gum*). Pada beberapa tanaman yang memiliki masa inkubasi lebih cepat, miselium tidak tampak jelas dan bidang permukaan berwarna kecokelatan. Data luas gejala penyakit pada batang pada 7 - 49 HSI (Hari Setelah Inokulasi) ditunjukkan pada Tabel 4. dan Tabel 5.

Tabel 4. Luas Gejala Penyakit Diplodia pada 7 - 49 HSI (Hari Setelah Inokulasi) pada 4 Jenis Inokulum

Jenis Inokulum	Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk (cm ²) ± Standar Deviasi						
	7 HSI	14 HSI	21 HSI	28 HSI	35 HSI	42 HSI	49 HSI
batang sehat	0,707±0.000 a	0,707±0.000 a	0,707±0.000 a	0,707±0.000 a	0,707±0.000 a	0,707±0.000 a	0,707±0.000 a
Mg52A.1	1,218±0.256 b	1,295±0.265 b	1,485±0.313 b	1,617±0.307 b	1,727±0.303 b	1,804±0.243 b	1,854±0.276 b
Mg39.2	1,446±0.319 b	1,563±0.232 c	1,670±0.235 b	1,739±0.244 b	1,781±0.228 b	1,889±0.190 b	1,972±0.151 b
Ps8bt	1,260±0.283 b	1,364±0.330 bc	1,461±0.332 b	1,504±0.361 b	1,649±0.234 b	1,811±0.160 b	1,913±0.163 b

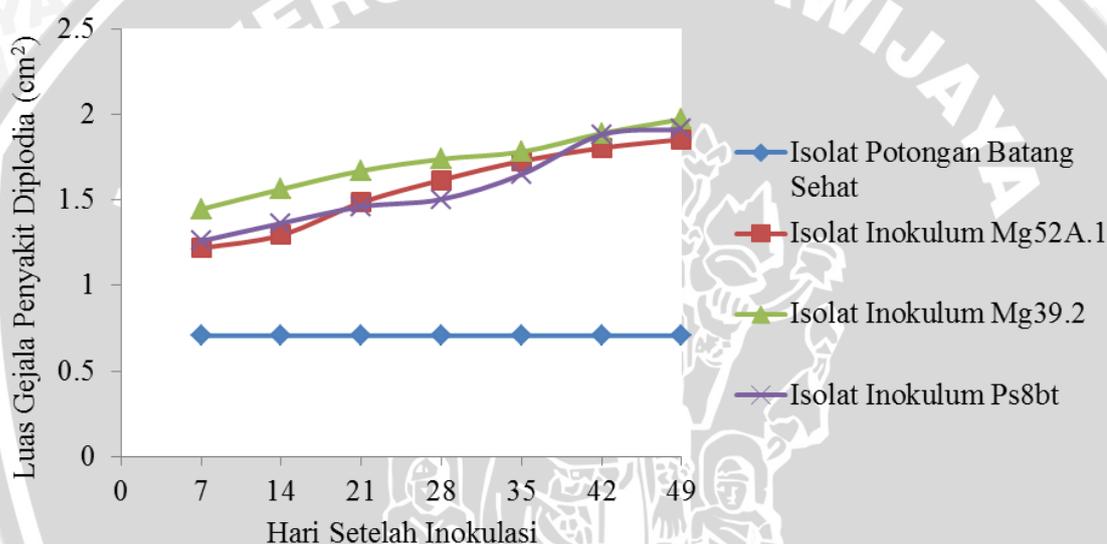
Keterangan : Data merupakan hasil transformasi akar kuadrat; bilangan yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama serta bilangan yang tidak diikuti oleh notasi, tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%; HSI = Hari Setelah Inokulasi.

Tabel 5. Luas Gejala Penyakit Diplodia pada 7 - 49 HSI (Hari Setelah Inokulasi) pada 3 Jenis Varietas

Jenis Jeruk	Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk (cm ²) ± Standar Deviasi						
	7 HSI	14 HSI	21 HSI	28 HSI	35 HSI	42 HSI	49 HSI
Pamelo	1,215±0.343 b	1,274±0.371 b	1,406±0.427 b	1,469±0.473 b	1,544±0.513 b	1,612±0.546	1,689±0.573
Siam	0,999±0.328 a	1,086±0.356 a	1,161±0.422 a	1,235±0.444 a	1,334±0.420 a	1,488±0.470	1,554±0.504
Manis	1,259±0.383 b	1,336±0.421 b	1,425±0.450 b	1,470±0.495 b	1,521±0.516 b	1,559±0.532	1,591±0.552

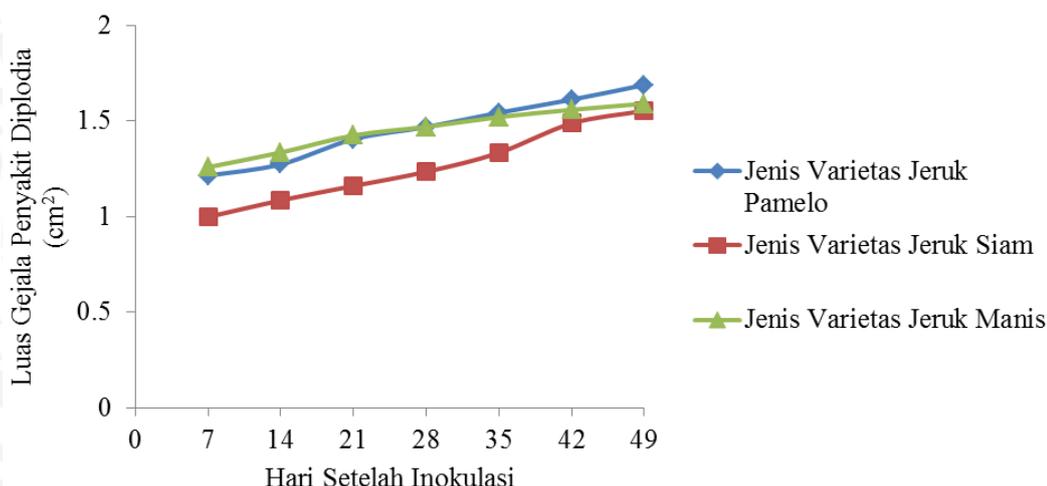
Keterangan : Data merupakan hasil transformasi akar kuadrat; bilangan yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama serta bilangan yang tidak diikuti oleh notasi, tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%; HSI = Hari Setelah Inokulasi.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa infeksi jenis patogen yang berbeda pada tiga jenis varietas jeruk tidak menyebabkan adanya perbedaan dalam hal luas gejala penyakit. Tiga jenis patogen memiliki patogenisitas yang sama. Tabel 3. menunjukkan bahwa pada 49 hari setelah inokulasi perlakuan jenis isolat Mg39.2 menimbulkan bidang gejala penyakit diplodia yaitu $1,972 \text{ cm}^2$, tidak berbeda nyata dengan perlakuan jenis isolat Ps8bt yaitu $1,913 \text{ cm}^2$ dan perlakuan jenis isolat Mg52A.1 yaitu $1,854 \text{ cm}^2$. Ketiganya berbeda nyata dengan perlakuan kontrol (aquades steril) dengan luas bidang gejala $0,707 \text{ cm}^2$. Sedangkan pada 14 hari setelah inokulasi, patogen Mg39.2 menimbulkan gejala paling luas dibandingkan patogen dari isolat lain.



Gambar 9. Pertambahan luas gejala penyakit diplodia pada batang jeruk yang diinokulasi dengan 4 jenis inokulum

Gambar 9. menunjukkan interpretasi data pertambahan luas gejala penyakit diplodia pada tanaman jeruk yang diinokulasi dengan 4 jenis inokulum. Jika dikaitkan dengan Tabel 3. Maka terlihat bahwa pada 14 hari setelah inokulasi, inokulum Mg39.2 menimbulkan gejala penyakit diplodia paling luas dibandingkan dengan inokulum patogen dari isolat lainnya.



Gambar 10. Pertambahan luas gejala penyakit diplodia pada 3 jenis jenis jeruk

Gambar 10. menunjukkan pertambahan luas gejala penyakit diplodia pada 3 jenis jenis jeruk. Jenis Pampelo dan Manis mengekspresikan luas gejala penyakit yang berbeda nyata dengan jenis Siam. Gejala penyakit diplodia pada jenis Pampelo dan Manis lebih parah dibandingkan pada jenis Siam sejak 7 hari setelah inokulasi hingga 35 hari setelah inokulasi.

4.1.3 Uji Toksin Kasar (*Crude Toxin*) *B. theobromae*

a. Luas Bidang Nekrosis pada Daun Jeruk

Nekrosis daun jeruk menunjukkan kondisi perubahan pigmen warna dari daun jeruk yang diakibatkan reaksi dari metabolit yang dikeluarkan oleh patogen *B. theobromae*. Metabolit yang dikeluarkan berupa toksin kasar. Toksin berperan dalam melemahkan pertahanan tanaman dan memudahkan patogen untuk masuk ke dalam jaringan tanaman serta menimbulkan reaksi hipersensitif pada bagian tanaman. Nekrosis daun diukur secara kuantitatif dengan cara menghitung luas bidangnya. Nekrosis pada daun jeruk yang diakibatkan oleh patogen *B. theobromae* bersifat representatif terhadap kemampuan patogen tersebut dalam menimbulkan penyakit.

Tabel 6. menunjukkan analisis ragam data rata-rata luas bidang nekrosis daun setelah 12 hari masa inkubasi dalam cawan petri tidak menunjukkan adanya interaksi yang nyata antara jenis toksin kasar dari isolat patogen *B. theobromae* dan jenis daun dari tiga jenis jenis jeruk.

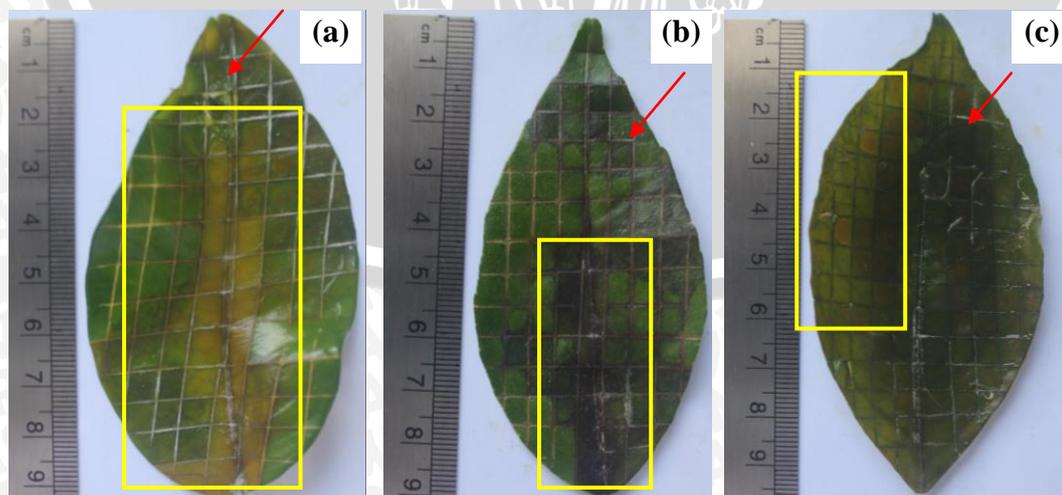
Pada 12 hari setelah inkubasi, perlakuan jenis toksin dari isolat Mg39.2 menimbulkan bidang nekrosis paling luas yaitu 2,495 cm², tidak berbeda nyata dengan perlakuan jenis toksin dari isolat Ps8bt yaitu 2,074 cm². Keduanya berbeda nyata dengan perlakuan jenis toksin dari isolat Mg52A.1 yaitu 1,601 cm². Seluruh jenis isolat patogen berbeda nyata dengan kontrol yang memiliki luas bidang nekrosis 0,819 cm².

Toksin menyebabkan jaringan pada daun menjadi rusak dan mati sehingga berubah warna menjadi kekuningan, maupun berubah warna menjadi cokelat kehitaman (Gambar 11.). Jaringan tersebut terus meluas merusak jaringan di sekitarnya dan menghambat metabolisme daun tanaman.

Tabel 6. Luas Bidang Nekrosis yang Diakibatkan oleh Toksin Kasar Isolat Patogen pada 12 Hari Setelah Inokulasi

Jenis Toksin Kasar	Luas Bidang Nekrosis (cm ²)
T0 (Kontrol)	0,819 a
T1 (Mg52A.1)	1,601 ab
T2 (Mg39.2)	2,495 b
T3 (Ps8bt)	2,074 b
Jenis Jenis Daun Jeruk	Luas Bidang Nekrosis (cm ²)
P (Pamelo)	1,677
S (Siam)	1,979
M (Manis)	1,586
DMRT 5%	tn

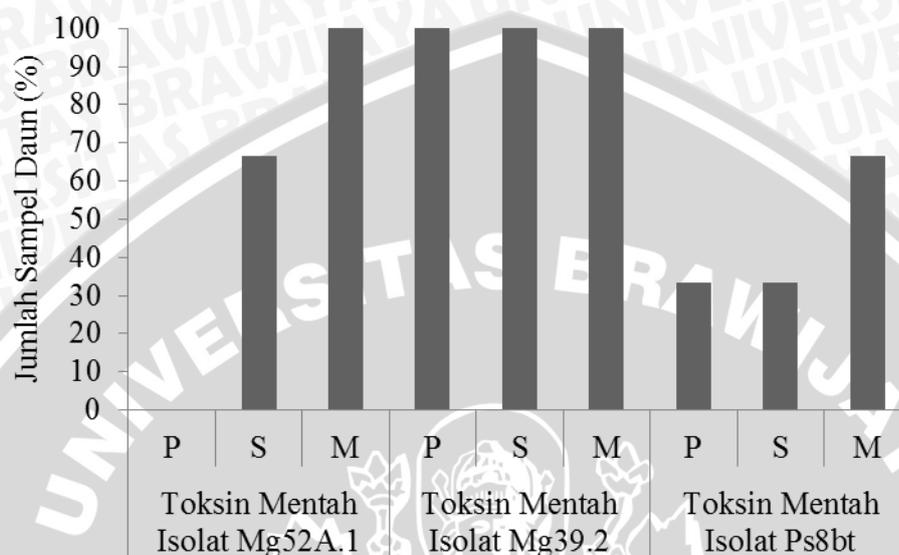
Keterangan : Data merupakan hasil transformasi; bilangan yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%; tn = tidak nyata.



Gambar 11. Nekrosis pada daun jeruk jenis Pamelo (a), Manis (b) dan Siam (c) Keterangan: Tanda Panah merah menunjukkan garis pelukaan pada daun dan tanda kotak berwarna kuning menunjukkan bagian daun yang mengalami nekrosis.

b. Persentase Jumlah Sampel Daun Jeruk yang Mengalami Nekrosis

Jumlah sampel daun jeruk dari tiga jenis yang mengalami nekrosis akibat toksin patogen menunjukkan kapasitas toksin dalam menginfeksi seluruh daun dalam percobaan.



Gambar 12. Persentase daun jeruk yang mengalami nekrosis.
Keterangan: P (jenis jeruk Pamelo), S (jenis jeruk Siam) dan M (jenis jeruk Manis).

Pada Gambar 12. menunjukkan bahwa pada perlakuan toksin kasar dari isolat Mg52A.1, tidak ada sampel daun dari jenis Pamelo yang mengalami nekrosis, sebanyak 66,67% sampel daun jenis Siam dan 100% sampel daun jenis Manis mengalami nekrosis. Pada perlakuan toksin kasar dari isolat Mg39.2 seluruh sampel daun dari ketiga jenis mengalami nekrosis. Pada perlakuan toksin kasar isolat Ps8bt, sebanyak 33,33% sampel daun jenis Pamelo dan jenis Siam mengalami nekrosis. Sedangkan jumlah sampel daun yang mengalami nekrosis paling banyak adalah pada jenis Manis sebanyak 66,67%. Sehingga toksin kasar dari isolat Mg39.2 memiliki kapasitas lebih banyak dalam menimbulkan nekrosis pada daun dibandingkan toksin kasar dari isolat lainnya.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Hasil Pemurnian Isolat Patogen dan Pembuatan Inokulum Patogen *B. theobromae*

Isolat patogen *B. theobromae* memiliki kemampuan tumbuh yang berbeda dalam hal mencapai kondisi *full plate* dan menjadi dewasa pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Pertumbuhan paling cepat secara berturut-turut adalah isolat Mg52A.1, isolat Mg39.2 dan isolat Ps8bt. Kondisi tersebut juga berlaku dalam perubahan warna isolat menjadi gelap. Warna gelap pada isolat patogen disebabkan oleh perubahan warna piknidia dan konidia menjadi kehitaman pada kondisi isolat yang sudah dewasa (*mature*) (Barnett dan Hunter, 2006). Patogen mampu tumbuh sangat cepat pada media PDA pada kisaran suhu 25 – 30°C. Patogen membentuk miselium aerial berwarna putih sampai abu-abu terang atau gelap. Konidium muda berwarna hialin, berseptata dan granular, sedangkan konidium dewasa berbentuk *striated*, berwarna gelap, tidak mempunyai lapisan lendir dan memiliki satu sekat (Timmer *et al.*, 2000).

Isolat Mg52A.1 memenuhi media PDA pada 7 hari setelah penanaman lebih cepat dibandingkan dengan isolat Mg39.2 dan Ps8bt yang belum mencapai kondisi *full plate*. Pada umur 28 hari setelah penanaman isolat Mg52A.1 berubah warna menjadi gelap. Pada percobaan yang dilakukan oleh Putra *et al.* (2013) isolat *B. theobromae* yang diisolasi dari pertanaman jeruk satsuma mandarin dan siam madu mampu memenuhi media PDA pada umur 5 hari setelah inokulasi dan menjadi gelap pada 8 hari setelah inokulasi. Pada suhu 20 – 25°C koloni dapat berkembang selama 2 – 4 hari (Palmer, 1992). Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Nurhasanah (2012) isolat *B. theobromae* yang diisolasi dari batang tanaman jeruk terinfeksi mampu tumbuh optimal pada umur 10 hari dan berubah menjadi gelap pada umur 15 hari.

Pertumbuhan isolat diduga dipengaruhi oleh kondisi suhu ruang, pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran suhu ruang kultur sehingga tidak dapat diketahui kondisinya. Kecepatan pertumbuhan juga dipengaruhi oleh asal isolat. Patogen yang diisolasi dari wilayah berbeda akan menunjukkan kemampuan tumbuh yang berbeda.

Inokulum yang ditumbuhkan di atas ketiga isolat patogen dengan cepat diselubungi oleh miselium patogen. Hal itu disebabkan nutrisi yang terkandung dalam kulit batang tanaman jeruk lebih sesuai dibandingkan dengan media PDA. Piknidia lebih cepat terbentuk jika dibiakkan pada potongan ranting jeruk yang steril (Timmer *et al.*, 2000). Hal tersebut juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan Putra *et al.* (2013) yang mana patogen lebih mudah menginfeksi potongan batang tanaman sehingga metode tersebut merupakan alternatif dalam pembuatan inokulum yang efektif untuk tujuan infeksi.

4.2.2 Uji Patogenisitas *B. theobromae* pada 3 Jenis Jeruk

a. Masa Inkubasi Patogen *B. theobromae* pada Batang Jeruk

Masa inkubasi isolat patogen Mg39.2 lebih cepat dibandingkan dengan isolat Mg52A.1 dan Ps8bt. Jenis yang paling cepat menunjukkan gejala adalah jenis Manis kemudian Pamelon dan paling lama adalah jenis Siam (23 hari). Inkubasi patogen *B. theobromae* pada tanaman jeruk diketahui paling cepat adalah 39 hari dan paling lama 64 hari (Salamiah *et al.*, 2008). Pengontrolan kelembapan bidang permukaan yang lebih intensif diduga dapat mempercepat masa inkubasi patogen.

Gejala awal tanaman sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, kelembapan, cahaya dan unsur tanah (Salamiah *et al.*, 2008). Pada percobaan yang dilakukan Salamiah *et al.* (2008), bidang permukaan tidak diatur kelembapannya dengan cara pembungkusan hanya dilakukan penyemprotan. Sedangkan pada penelitian ini bidang permukaan ditutup dengan plastik sehingga tetap terjaga kelembapannya.

Faktor lingkungan lain yang menyebabkan tanaman lebih cepat menunjukkan gejala adalah kondisi saat penelitian yang masuk dalam masa peralihan antara musim hujan dan kemarau sehingga kondisi tersebut menguntungkan bagi patogen. Pada kondisi kering tanaman akan menjadi lemah sehingga patogen akan masuk ke dalam jaringan tanaman. Pada kondisi lembab patogen akan berkembang dan menunjukkan gejala. Hal tersebut dibuktikan dengan sehari setelah hujan ditemukan banyak blendok (*gum*) pada bidang permukaan.

b. Luas Gejala Penyakit Diplodia pada Batang Jeruk

Berdasarkan data yang dijabarkan pada Tabel 3. Infeksi patogen yang berbeda (isolat Mg52A.1, Mg39.2 dan Ps8bt) ke jaringan batang tanaman jeruk memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap timbulnya penyakit hingga 14 Hari Setelah Inokulasi (HSI). Sedangkan secara keseluruhan, hingga 49 Hari Setelah Inokulasi (HSI) tidak berbeda nyata dalam perkembangan penyakit pada batang jeruk. Hal tersebut menunjukkan ketiga patogen memiliki patogenisitas yang sama dalam menimbulkan penyakit diplodia pada batang jeruk.

Pemilihan jenis jeruk memberikan pengaruh berbeda nyata dalam menimbulkan penyakit diplodia hingga 35 Hari Setelah Inokulasi (HSI). Sedangkan secara keseluruhan, tidak memiliki pengaruh yang berbeda nyata pada 49 Hari Setelah Inokulasi (HSI). Hal tersebut menunjukkan ketiga jenis memiliki kemampuan yang sama dalam menunjukkan reaksi dari infeksi patogen *B. theobromae* berupa luas gejala penyakit diplodia.

Jenis Pamelon lebih rentan dibandingkan dengan jenis lainnya (Supriyanto *et al.*, 1998). Selain itu wilayah perkebunan Jeruk Magetan merupakan wilayah endemik penyakit diplodia. Sehingga kondisi yang sesuai telah meningkatkan virulensi patogen. Hampir 90% tanaman jeruk Pamelon di Magetan terinfeksi penyakit diplodia (Supriyanto *et al.*, 1998). Penyakit diplodia umumnya akan menjadi parah pada tanaman berumur 10 tahun dengan kondisi sanitasi lahan yang rendah (Dwiastuti *et al.*, 2011).

Bidang pelukaan mengeluarkan *gum* terutama sehari setelah hujan ketika kelembapan tinggi. Gumosis atau aktivitas mengeluarkan eksudat kuning merupakan bentuk reaksi inang terhadap serangan patogen atau benda asing yang masuk ke dalam jaringan tanaman (Agrios, 2005). Pada penelitian ini gumosis umumnya terjadi pada saat kelembapan tinggi dan memperluas gejala penyakit pada batang. Hal tersebut mengindikasikan patogen telah memasuki atau menginfeksi jaringan yang lebih luas.

4.2.3 Uji Toksin Kasar (*Crude Toxin*) *B. theobromae*

a. Luas Bidang Nekrosis dan Persentase Jumlah Sampel Daun yang Mengalami Nekrosis

Nekrosis merupakan kondisi rusaknya jaringan maupun pigmen pada daun sehingga jaringan menjadi mati. Kematian jaringan menimbulkan perubahan warna daun menjadi kecokelatan maupun hitam. Toksin kasar isolat Mg39.2 memiliki kemampuan yang paling baik dalam menimbulkan nekrosis. Sedangkan jenis yang paling parah mengalami nekrosis adalah jenis Siam. Nekrosis yang terjadi karena adanya aktivitas patogen yang menghasilkan enzim selulolitik untuk mendegradasi selulosa dan hemiselulosa pada jaringan bibit jeruk sehingga menjadi partikel-partikel yang lebih kecil dan dapat dimanfaatkan oleh patogen dan sebagai akibatnya jaringan tersebut mati (Agrios, 2005).

Toksin kasar mengandung berbagai macam protein dan metabolit salah satunya adalah enzim selulolitik yang disekresikan untuk melunakkan dan menguraikan bahan penyusun dinding sel (Agrios, 2005). Enzim-enzim tersebut memudahkan penetrasi dan penyebaran patogen dalam inang dan menyebabkan pecah dan terurainya struktur seluler sehingga dapat terjadi penyakit (Agrios, 2005).

Toksin kasar isolat patogen Mg39.2 menimbulkan nekrosis pada semua sampel daun dan jumlah daun yang mengalami nekrosis lebih banyak dibandingkan Toksin dari isolat lain. Hal ini menunjukkan Toksin isolat Mg39.2 memiliki kemampuan yang lebih baik dalam mengenali dan menginfeksi inangnya.

4.2.4 Pembahasan Umum

Variabel pengamatan dalam penelitian ini membangun kesatuan penilaian terhadap patogenisitas beberapa isolat patogen *B. theobromae* pada 3 jenis jeruk. Kenampakkan hasil peremajaan isolat pada media *PDA* (*Potato Dextrose Agar*) berbeda bergantung pada jenis isolat. Pada 28 hari setelah penanaman isolat Mg52A.1 dan Mg39.2 telah berubah warna menjadi gelap dan memenuhi cawan petri, sedangkan isolat Ps8bt masih berwarna putih. Warna gelap pada isolat

menunjukkan bahwa isolat sudah dewasa. Sehingga isolat Mg52A.1 dan Mg39.2 lebih awal mencapai dewasa dibandingkan isolat Ps8bt.

Hasil infeksi batang sehat dalam pembuatan inokulum menunjukkan bahwa miselium isolat Mg39.2 terlihat lebih tebal dalam menyelimuti batang sehat kemudian agak tebal pada isolat Ps8bt dan Mg52A.1. Sedangkan eksudat (*gum*) muncul pada batang yang diinfeksi dengan isolat Mg52A.1. Miselium yang tebal menyelimuti batang menunjukkan karakteristik patogen menginfeksi bagian luar dari batang, sedangkan pada batang yang mengeluarkan eksudat menunjukkan karakteristik patogen yang menginfeksi bagian lebih dalam dari batang tanaman. Eksudat muncul karena reaksi tanaman terhadap benda asing yaitu patogen memasuki jaringan yang lebih dalam pada batang. *Gum* menghambat masuknya patogen secara sementara. Mastuti (2016) menyatakan *gum* merupakan bentuk pertahanan secara struktural dari tanaman yang menandakan pengenalan terhadap patogen berupa karbohidrat, asam lemak serta metabolit sekunder yang dihasilkan oleh patogen. Selain itu keluarnya *gum* menandakan transmisi sinyal alarm ke inang, Ca maupun hidrogen peroksida serta enzim.

Masa inkubasi *B. theobromae* pada tanaman jeruk berakhir ketika pada bidang infeksi terjadi gejala busuk, batang berubah warna menjadi kecokelatan, munculnya celah-celah luka baru serta munculnya eksudat cair berwarna kuning (*gum*). *Gum* adalah bentuk pertahanan sementara tanaman terhadap patogen yang akan membuat bagian yang diselimuti *gum* akan menjadi kaku dan kering. Intensitas hujan yang tinggi dan penyemprotan air manual pada batang akan menyebabkan *gum* mudah luruh karena sifatnya yang mudah larut dengan air. Kelembapan tinggi pasca hujan maupun penyemprotan adalah kondisi yang sesuai untuk patogen memperluas bidang infeksi ke bagian permukaan lain, sehingga hal tersebut menyebabkan bertambahnya luas bidang gejala dari hari ke hari.

Masa Inkubasi berkaitan dengan keparahan gejala penyakit. Masa inkubasi isolat Mg39.2 lebih cepat dibandingkan dengan isolat lain diduga menjadi penyebab luas gejala infeksi yang lebih luas pada batang tanaman jeruk khususnya pada 14 hari setelah inokulasi. Luas gejala infeksi menunjukkan patogenisitas paogen. Pada 14 hari setelah inokulasi luas gejala penyakit diplodia yang

diakibatkan oleh isolat Mg39.2 berbeda nyata dengan isolat lain. Setelah melewati 14 hari hingga 49 hari setelah inokulasi masing-masing isolat memiliki patogenisitas yang sama. Masa inkubasi patogen pada jenis Manis lebih cepat dibandingkan pada jenis lain. Hal tersebut diduga menyebabkan luas gejala penyakit pada jenis Manis lebih luas dibandingkan jenis lain sampai 35 hari setelah inokulasi. Masa inkubasi yang lebih cepat menunjukkan patogen lebih awal dalam menginfeksi jaringan batang tanaman sehingga berpeluang dalam meningkatkan luas jaringan yang diinfeksi.

Toksin juga diduga menentukan patogenisitas patogen. Toksin kasar yang berasal dari isolat Mg39.2 memiliki kapasitas menimbulkan nekrosis yang lebih banyak dibandingkan toksin kasar lainnya. Luas bidang nekrosis yang ditimbulkan oleh toksin kasar isolat Mg39.2 lebih luas dibandingkan toksin kasar isolat lain. Hal tersebut menghasilkan suatu pendugaan bahwa toksin juga berperan dalam patogenisitas patogen.

Daun jeruk jenis Manis memiliki jumlah paling banyak dalam hal terinfeksi oleh toksin patogen dibandingkan dengan daun jenis lainnya. Hal tersebut diduga menyebabkan cepatnya masa inkubasi dan parahnya gejala penyakit yang ditimbulkan pada varietas Manis.

Jenis jeruk Pamelو mengalami tingkat keparahan gejala penyakit yang sama dengan jeruk Manis, sedangkan kapasitas infeksi toksin patogen pada jenis Pamelو lebih rendah dibandingkan jenis lainnya. Hal tersebut bertolak belakang dengan beberapa kasus penyakit diplodia di lapang yang mana lebih parah terjadi pada jenis Pamelو dibandingkan dengan jenis jeruk lainnya. Tingkat keparahan gejala penyakit ditentukan oleh banyak faktor termasuk toksin. Toksin hanya berperan dalam memudahkan patogen masuk ke dalam jaringan tanaman dengan mengkondisikan permukaan kulit batang. Kulit batang merupakan salah satu bentuk pertahanan tanaman terhadap jaringan di dalamnya.

Faktor lain yang menyebabkan keparahan gejala penyakit diplodia adalah lingkungan seperti kelembapan. Jenis jeruk Pamelو memiliki karakteristik kanopi yang renggang sehingga memudahkan air hujan untuk membasahi bidang pelukaan dan menimbulkan kondisi yang ideal bagi perkembangan patogen. Karakteristik batang jeruk Pamelو, berdasarkan pengamatan skala *screenhouse*

adalah menghasilkan celah-celah luka yang lebar dan dalam dibandingkan jenis jeruk lainnya. Hal itu memberikan ruang yang lebih luas bagi patogen untuk melakukan infeksi. Beberapa faktor selain toksin tersebut diduga menjadi penyebab jenis Pameló memiliki kerentanan yang sama dengan jenis jeruk Manis.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Tiga isolat patogen *Botryodiplodia theobromae* yang berasal dari beberapa wilayah yaitu Kabupaten Magetan (isolat Mg52.1 dan isolat Mg39.2) dan Kabupaten Pasuruan (isolat Ps8bt) memiliki patogensitas yang sama dalam menimbulkan penyakit diplodia pada batang jeruk. Infeksi patogen yang berbeda pada jenis jeruk yang berbeda tidak menimbulkan perbedaan dalam menimbulkan gejala penyakit diplodia. Toksin kasar patogen dari isolat Mg39.2 dan Ps8bt memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menimbulkan nekrosis pada daun tanaman jeruk. Infeksi toksin kasar dari patogen yang berbeda pada jenis jeruk yang berbeda tidak menimbulkan perbedaan dalam menimbulkan gejala nekrosis. Faktor yang menyebabkan luas gejala penyakit antara lain toksin, kelembapan dan karakteristik tanaman.

5.2 Saran

Perlakuan dengan pembungkusan bidang pelukaan menggunakan plastik dan menjaga kelembapan bagian yang terinfeksi dengan penyiraman 3 hari sekali dapat dijadikan sebagai metode baru dalam mempersingkat masa inkubasi dari patogen *B. theobromae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. 2005. Plant Pathology 5th edition. USA: Elsevier Academic Press.
- Balai Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Kalimantan Selatan. 2003. Laporan Tahunan Balai Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Tahun 2002/2003. Kalimantan Selatan: Balai Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura, Dinas Pertanian Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi Kalimantan Selatan.
- Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika. 2010. Prospek Usaha Tani Jeruk JC (*Japanche citroen*). Batu: Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian.
- Barnett, H. L. dan B. B. Hunter. 2006. Illustrated Genera of Imperfect Fungi (Fourth Edition). Minnesota, USA: Phytopathology Society St. Paul.
- Chen, S., G. Li, Q. Liu, J. Li, dan F. Liu. 2016. Characteristics of *Lasiodiplodia theobromae* from *Rosa rugosa* in South China. *Crop Protection* 79: 51-55.
- Direktorat Budidaya dan Pasca Panen Buah. 2010. Profil Komoditas Jeruk. Direktorat Budidaya dan Pasca Panen Buah, Direktorat Jenderal Hortikultura, Kementerian Pertanian.
- Dwiastuti, M. E., A.Triwiratno, O. Endarto, S. Wuryatini dan Yunimar. 2011. Panduan Teknis Pengenalan dan Pengendalian Hama dan Penyakit Tanaman Jeruk. Batu: Balitjestro, Puslitbanghorti, Balitbangtan, Kementan.
- Ezeibekwe, I., A. Ofong, F. Mbagu dan C. Unamba 2009. Toxin Production By Fungi Isolated From Rotten Pawpaw Fruits in Parts of Imo and Abia States of Nigeria. Uturu: Abia State University.
- Fuadi, R. Z. 2015. Intensitas Penyakit Penting, Deteksi Huanglongbing dan Pengaruh Aplikasi PGPR pada Tanaman Jeruk di Kabupaten Bogor. Skripsi. Bogor: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Gusnawaty dan Mariadi. 2013. Pengendalian Penyakit Diplodia (*Botryodiplodia theobromae* Pat.) pada Tanaman Jeruk dengan Pestisida Nabati (Phymar C) di Sulawesi Tenggara. *Agriplus* 23 (2).
- Henuk, J. D. 2010. Idenifikasi dan Uji Patogenesis Penyebab Busuk Pangkal Batang pada Jeruk (*Citrus* spp.) dari Beberapa Sentra Produksi Jeruk di Indonesia . Tesis. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Huang, S. L. dan K. Kohmoto. 1991. A Simple Method for Isolating Single Fungal Spores. Bull. Fac. Agriculture. Tottori University.
- Kementerian Pertanian. 2015. Rencana Strategis Kementerian Pertanian. Jakarta: Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- Khanzana, M. A., A. M. Lodhi dan S. Shahzad. 2005. Chemical Control of *Lasiodiplodia Theobromae*, The Causal Agent of Mango Decline in Sindh. Pakistan: Pak. J. Bot. 37 (4): 1023 - 1030.
- Martasari, C dan H. Mulyanto. 2008. Teknik Identifikasi Varietas Jeruk. Batu: Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian.
- Mastuti, R. 2016. Fisiologi Tumbuhan: Metabolit Sekunder dan Pertahanan Tanaman. Malang: Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Brawijaya.
- Nurhasanah, Y. S. 2012. Karakterisasi Cendawan *Botryodiplodia theobromae* dan *Rhizoctonia solani* dari Berbagai Tanaman Inang Berdasarkan Morfologi dan Pola RAPD-PCR. Skripsi. Bogor: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Nwauzoma A. B. dan E. Etebu. 2014. A Review on Sweet Orange (*Citrus sinensis* L Osbeck) Health, Disease and Management. Brazil: American Journal of Research Communication.
- Orwa, C., Mutua, A. dan S. Anthony. 2009. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. World Agroforestry.
- Palmer, M. A. 1992. How to Identify and Control Diplodia Shoot Blight, Collar Rot, and Cancer of Conifer (online). Minnesota: <http://www.na.fs.fed.us/html>. diakses pada 22 Juni 2016.
- Pedraza, J. M., J. A. Aguilera, C. N. Diaz, D. T. Ortiz, D. T. dan A. V. Monter. 2013. Control *Lasiodiplodia theobromae* The Causal Agent of Dieback of Sapote Mamey (*Pouteria sapota*(Jacq.) H. E. Moore and Stearn) Grafts in Mexico. Mexico: Rev. Fitotec. Mex. 36 (3): 233 - 238.
- Prastowo, N. H., J. M. Roshetko, G. E. Maurung, E. Nugraha, J. M. Tukan dan F. Harum. 2006. Teknik Pembibitan dan Perbanyakan Vegetatif Tanaman Buah. Bogor: World Agroforestry Centre (ICRAF).
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Sosial Ekonomi Pertanian. 2010. Kurmelo Betasuka, Manisan Kulit Buah Pamelos Produk Unggulan Masyarakat Magetan. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Sosial Ekonomi Pertanian, Kementerian Pertanian.

- Putra, D., L. Slistyowati, A. Cholil dan C. Martasari. 2013. Evaluasi Ketahanan Tanaman Jeruk (*Citrus spp.*) Hasil Fusi Protoplas Jeruk Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu*) dan Jeruk Siam Madu (*Citrus nobilis*) terhadap Infeksi Penyakit Kulit Diplodia (*Botryodiplodia theobromae* Pat.). Malang: Jurnal HPT 1 (1) : 16 – 26.
- Rismunandar. 1986. Bercocok Tanaman Jeruk. Bandung: Sinar Baru.
- Salamiah. 2009. Peranan Toksin yang Dihasilkan oleh *Botryodiplodia theobromae* dalam Menimbulkan Penyakit Diplodia pada Beberapa Jenis Jeruk. Banjarbaru: Jurnal HPT Tropika 9 (2): 158-167.
- Salamiah dan M. Melanie. 2004. Pengujian Kemampuan Tiga Macam Pestisida Botanis dalam Mengendalikan Penyakit Kulit Diplodia pada Jeruk. Banjarbaru: Universitas Lambung Mangkurat.
- Salamiah, Badruzaufari dan M. Arsyad. 2008. Jenis Tanaman Inang dan Masa Inkubasi Patogen *Botryodiplodia theobromae* Pat. Penyebab Penyakit Kulit Diplodia pada Jeruk. Jurnal HPT Tropika 8 (2): 123-131.
- Sandra, F. K. 2011. Keragaman Cendawan *Botryodiplodia theobromae* dari Berbagai Tanaman Inang berdasarkan Morfologi dan Pola RAPD. Skripsi. Bogor: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Petanian Bogor.
- Sarwono. 1994. Budidaya Tanaman Jeruk. Jakarta: Bumi Aksara.
- Semangun, H. 2000. Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Yogyakarta: UGM Press.
- Supriyanto, A., M. Sugiyarto, A. Triwiratno dan O. Endarto. 1998. Laporan akhir Pengkajian dan Pengembangan Sistem Usaha Pertanian Berbasis Pamelon di Kabupaten Magetan. Karangploso: BPTP Karangploso.
- Timmer, L., S. Garnsey dan J. Graham. 2000. Compendium of Citrus Disease (Edisi Ke Dua). Minnesota: APS Press.
- Yan-li, Y., X. Lang-tao dan H. Xian-qi. 2011. Study on Relationship Between the Toxin of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary and Resistance of Potato. Agricultural Sciences in China 10(2): 238-245.
- Yoshida, S., S. Hiradate, Y. Fujii dan A. Shirata. 2000. *Colletotricum dematium* Produces Phytotoxins in Anthracnose Lesions of Mulberry Leaves. Biochemistry and Cell Biology 90(3): 285 - 291.

Lampiran 1. Deskripsi Jenis Jeruk

Tabel Lampiran 1. Deskripsi Komoditas Jeruk Jenis Pamelon Nambangan

Komoditas:	Jeruk
Tahun:	2011
Aroma buah:	Harum
Asal:	Desa Tamanan, Kecamatan Sukomoro, Kabupaten Magetan Jawa Timur
Bentuk biji:	Semi sferoid (setengah bulat)
Bentuk buah:	Oblata (bulat agak pipih)
Bentuk daun:	Oval, dengan keadaan daun sepanjang tahun evergreen
Bentuk percabangan:	Keatas, percabangan cukup rapat
Bentuk tajuk tanaman:	Relatif bulat, buah menyebar merata
Bentuk tanaman:	Elipsoid-oblata
Berat per buah:	1,2 - 2,0 kg
Diameter batang:	44,5 - 56,8 cm
Hasil buah / pohon / tahun:	200 - 500 buah/tahun
Jumlah biji per buah:	42 - 51
Jumlah bunga pertanda:	6 - 7
Jumlah juring per buah:	13 - 14
Ketebalan kulit buah:	1,7 - 2,0 cm (diukur pada bagian tengah)
Lebar biji (cm):	lebar 0,85 - 1,17 cm
Panjang biji (cm):	Panjang 1,55 - 1,97 cm
Panjang tangkai buah:	1,2 - 1,4 cm
Panjang tangkai daun (cm):	0,5 - 0,7 cm
Perkiraan umur pohon induk tunggal:	48 tahun
Permukaan daun:	Hijau tua, permukaan daun bawah Hijau muda
Persentase buah yang dapat di konsumsi:	58,2 - 60,4
Rasa daging buah:	Manis - Masam
Tekstur daging buah:	Agak lunak
Tepi daun:	Rata (<i>entire</i>)
Tinggi tanaman:	6 m
Tipe daun:	Tunggal
Ukuran buah:	Tinggi 15,3 - 17,1 cm; diameter 20,1 - 20,8 cm
Ukuran daun:	Panjang 13,8 - 16,6 cm x lebar 6,3 - 7,3 cm
Warna daging buah:	Merah muda - merah
Warna kulit buah masak:	Kuning kehijauan
Warna mahkota bunga:	Putih berbintik hijau

Tabel Lampiran 2. Deskripsi Komoditas Jeruk Jenis Siam

Komoditas:	Jeruk
Tahun:	2003
Asal:	Kalimantan Barat, Rasa manis
Kandungan asam:	5.56%
Kandungan gula ::	15.5%
Tekstur daging buah:	Halus
Ukuran buah:	Sedang
Warna daging buah:	Oranye
Warna kulit buah:	hijau-kuning, Brix 12,5%
Keterangan:	Tumbuh di dataran rendah (mulai 0 m dpl)

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Tabel Lampiran 3. Dekripsi Komoditas Jeruk Jenis Manis Pacitan

Komoditas:	Jeruk
Tahun:	2002
Asal:	Kabupaten Pacitan
Bentuk buah:	Bulat, puncak ujung agak rata, pangkal datar;
Bentuk daun:	Lonjong
Bentuk percabangan:	vertikal dan cukup banyak
Bentuk tanaman:	elipsoid-oblata dengan diameter tajuk 2 - 4 m
Berat per buah:	164,9 - 187,4 g
Diameter buah (cm):	6,8 - 7,1 cm
Hasil buah / pohon / tahun:	5 - 30 kg/pohon/tahun (umur 3-5 tahun), 40 - 60 kg/pohon/tahun (umur 6-10 tahun) dan > 60 kg (umur > 10 tahun);
Jumlah bunga pertandan:	8 kuntum
Jumlah juring per buah:	9 - 12
Ketebalan kulit buah:	3,1 - 3,5 mm
Kisaran Hasil:	5 s/d 60 Kg/Pohon/Tahun
Panjang tangkai buah:	1,1 cm
Panjang tangkai daun (cm):	0,8 cm
Rasa:	Manis
Rasa daging buah:	Manis (8 - 11 Brix)
Ukuran buah:	Tinggi buah 6,6 - 6,9 cm, diameter 6,8 - 7,1 cm
Ukuran daun:	Panjang 12 cm, lebar 7,6 cm
Umur:	3 s/d 10 tahun
Warna buah matang:	Hijau s/d hijau kekuningan didataran rendah,
Warna daging buah:	Kuning pucat s/d kuning
Warna mahkota bunga:	Putih
Keterangan:	Dapat tumbuh dan berproduksi pada dataran rendah, namun produksi akan lebih memuaskan pada dataran tinggi, bahkan dengan kualitas yang lebih baik.

Lampiran 2. Hasil Analisis Ragam Data Pengamatan Luas Gejala Penyakit
Diplodia pada Batang Jeruk.

Tabel Lampiran 4. Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk
(7 Hari Setelah Inokulasi)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		
					5%	1%	
Ulangan	2	0,06	0,03	0,49	tn	3,44	5,72
Perlakuan	11	3,62	0,32	5,77	**	2,66	3,18
D	3	2,70	0,90	15,90	**	3,05	4,82
V	2	0,46	0,23	4,10	*	3,44	5,72
D × V	6	0,46	0,08	1,36	tn	2,55	3,76
Galat	22	1,25	0,06				
Total	35						

Keterangan: Data merupakan hasil transformasi akar kuadrat; D = jenis isolat; V = jenis jenis; KK = 20,55; tn = F Hit < 5%: tidak nyata; * = F Hit > 5%: beda nyata; ** = F Hit > 1%: beda sangat nyata.

Tabel Lampiran 5. Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk
(14 Hari Setelah Inokulasi)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		
					5%	1%	
Ulangan	2	0,12	0,06	1,26	tn	3,44	5,72
Perlakuan	11	4,51	0,41	8,20	**	2,66	3,18
D	3	3,66	1,22	24,95	**	3,05	4,82
V	2	0,41	0,20	4,16	*	3,44	5,72
D × V	6	0,44	0,07	1,50	tn	2,55	3,76
Galat	22	1,08	0,05				
Total	35	5,70	0,16				

Keterangan: Data merupakan hasil transformasi akar kuadrat; D = jenis isolat; V = jenis jenis; KK = 17,93; tn = F Hit < 5%: tidak nyata; * = F Hit > 5%: beda nyata; ** = F Hit > 1%: beda sangat nyata.

Tabel Lampiran 6. Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk
(21 Hari Setelah Inokulasi)

SK	db	JK	KT	F Hitung		F Tabel	
						5%	1%
Ulangan	2	0,19	0,09	1,71	tn	3,44	5,72
Perlakuan	11	5,87	0,53	8,89	**	2,66	3,18
D	3	4,91	1,64	29,56	**	3,05	4,82
V	2	0,52	0,26	4,69	*	3,44	5,72
D × V	6	0,44	0,07	1,33	tn	2,55	3,76
Galat	22	1,22	0,06				
Total	35	7,28	0,21				

Keterangan: Data merupakan hasil transformasi akar kuadrat; D = jenis isolat; V = jenis jenis; KK = 17,67; tn = F Hit < 5%: tidak nyata; * = F Hit > 5%: beda nyata; ** = F Hit > 1%: beda sangat nyata.

Tabel Lampiran 7. Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk
(28 Hari Setelah Inokulasi)

SK	db	JK	KT	F Hitung		F Tabel	
						5%	1%
Ulangan	2	0,33	0,17	3,03	tn	3,44	5,72
Perlakuan	11	6,90	0,62	12,54	**	2,66	3,18
D	3	5,88	1,96	35,90	**	3,05	4,82
V	2	0,44	0,22	4,04	*	3,44	5,72
D × V	6	0,58	0,10	1,79	tn	2,55	3,76
Galat	22	1,20	0,05				
Total	35	8,43	0,24				

Keterangan: Data merupakan hasil transformasi akar kuadrat; D = jenis isolat; V = jenis jenis; KK = 16,78; tn = F Hit < 5%: tidak nyata; * = F Hit > 5%: beda nyata; ** = F Hit > 1%: beda sangat nyata.

Tabel Lampiran 8. Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk
(35 Hari Setelah Inokulasi)

SK	db	JK	KT	F Hitung		F Tabel	
						5%	1%
Ulangan	2	0,20	0,10	2,42	tn	3,44	5,72
Perlakuan	11	7,68	0,69	17,45	**	2,66	3,18
D	3	6,99	2,33	57,12	**	3,05	4,82
V	2	0,32	0,16	3,91	*	3,44	5,72
D × V	6	0,37	0,06	1,52	tn	2,55	3,76
Galat	22	0,90	0,04				
Total	35	8,78	0,25				

Keterangan: Data merupakan hasil transformasi akar kuadrat; D = jenis isolat; V = jenis jenis; KK = 13,77; tn = F Hit < 5%: tidak nyata; * = F Hit > 5%: beda nyata; ** = F Hit > 1%: beda sangat nyata.

Tabel Lampiran 9. Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk
(42 Hari Setelah Inokulasi)

SK	db	JK	KT	F Hitung		F Tabel	
						5%	1%
Ulangan	2	0,20	0,10	4,01	*	3,44	5,72
Perlakuan	11	8,97	0,81	40,77	**	2,66	3,18
D	3	8,63	2,88	116,66	**	3,05	4,82
V	2	0,09	0,05	1,87	tn	3,44	5,72
D × V	6	0,25	0,04	1,71	tn	2,55	3,76
Galat	22	0,54	0,02				
Total	35	9,71	0,28				

Keterangan: Data merupakan hasil transformasi akar kuadrat; D = jenis isolat; V = jenis jenis; KK = 10,10, tn = F Hit < 5%: tidak nyata; * = F Hit > 5%: beda nyata; ** = F Hit > 1%: beda sangat nyata.

Tabel Lampiran 10. Hasil Analisis Ragam Luas Gejala Penyakit pada Batang Jeruk (49 Hari Setelah Inokulasi)

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		
					5%	1%	
Ulangan	2	0,27	0,13	6,13	**	3,44	5,72
Perlakuan	11	10,25	0,93	46,59	**	2,26	3,18
D	3	9,87	3,29	150,01	**	3,05	4,82
V	2	0,12	0,06	2,67	tn	3,44	5,72
D × V	6	0,26	0,04	1,98	tn	2,55	3,76
Galat	22	0,48	0,02				
Total	35	11,00	0,31				

Keterangan: Data merupakan hasil transformasi akar kuadrat; D = jenis isolat; V = jenis jenis; KK = 9,19, tn = F Hit < 5%: tidak nyata; * = F Hit > 5%: beda nyata; ** = F Hit > 1%: beda sangat nyata.

Tabel Lampiran 11. Hasil Analisis Ragam Luas Bidang Nekrosis yang Diakibatkan oleh Toksin Kasar Patogen

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		
					5%	1%	
Perlakuan	11	25,57	2,32	1,74	tn	2,22	3,09
T	3	13,93	4,64	3,50	*	3,01	4,72
V	2	1,02	0,51	0,38	tn	3,40	5,61
T × V	6	10,62	1,77	1,34	tn	2,51	3,67
Galat	24	31,83	1,33				
Total	35	57,40					

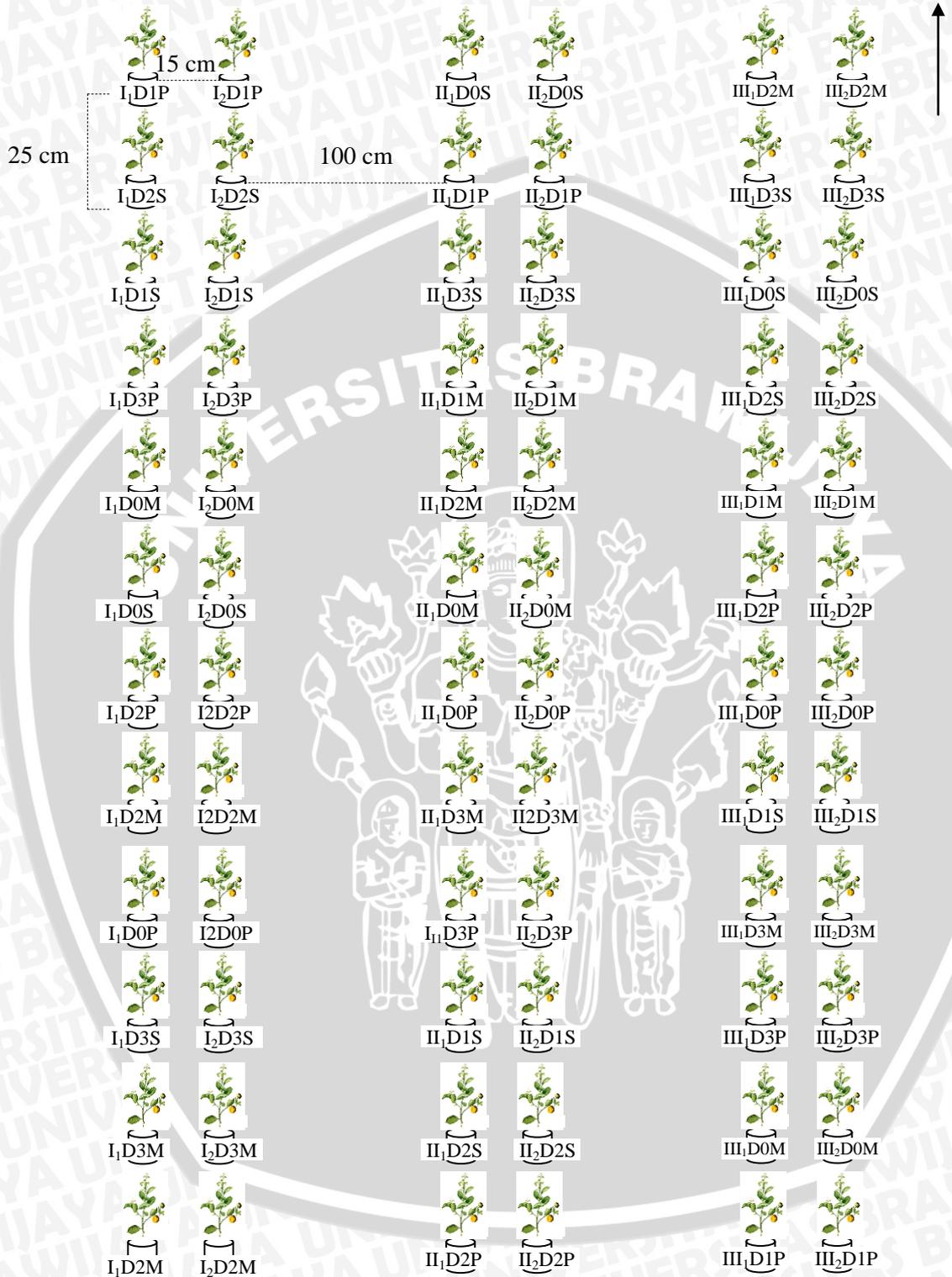
Keterangan: Data merupakan hasil transformasi akar kuadrat; T = jenis toksin kasar; V = jenis jenis sampel daun; KK = 65,89, tn = F Hit < 5%: tidak nyata; * = F Hit > 5%: beda nyata; ** = F Hit > 1%: beda sangat nyata.

Tabel Lampiran 12. Hasil Analisis Ragam Rata-rata Masa Inkubasi Patogen *B. theobromae*

SK	db	JK	KT	F Hitung	F Tabel		
					5%	1%	
Ulangan	2	103,35	51,68	0,72	tn	3,63	6,23
Perlakuan	8	1146,46	0,48	0,006	tn	2,59	3,89
D	2	116,96	58,48	0,82	tn	3,63	6,23
V	2	950,35	475,18	6,63	**	3,63	6,23
D × V	4	79,15	19,79	0,28	tn	3,01	4,77
Galat	16	1147,31	71,71				
Total	26	2397,13	92,20				

Keterangan: D = jenis isolat; V = jenis jenis; KK = 102,06, tn = F Hit < 5%: tidak nyata; * = F Hit > 5%: beda nyata; ** = F Hit > 1%: beda sangat nyata.

Lampiran 3. Denah Percobaan

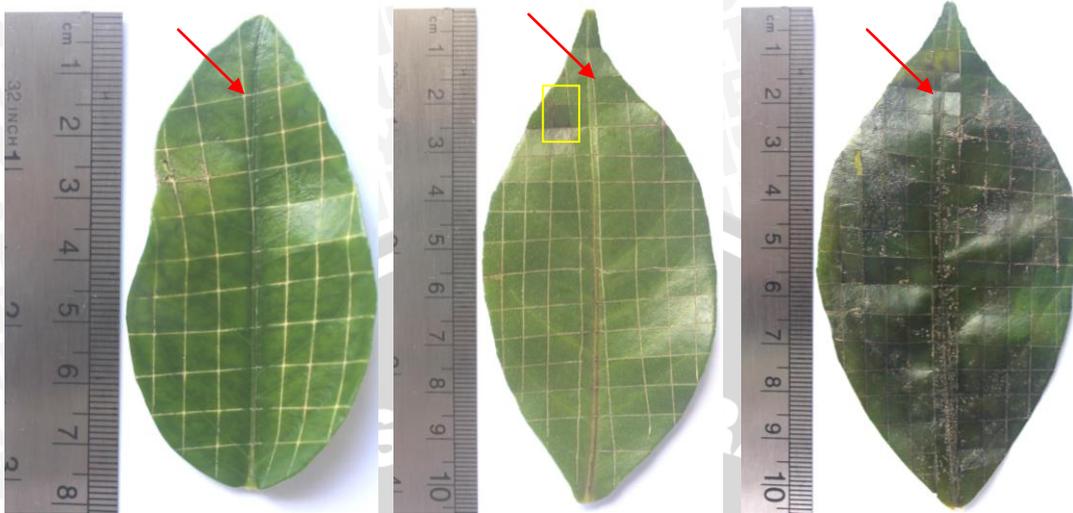


Gambar Lampiran 1. Denah Pengacakan Uji Patogenisitas pada skala *Greenhouse*

Keterangan:

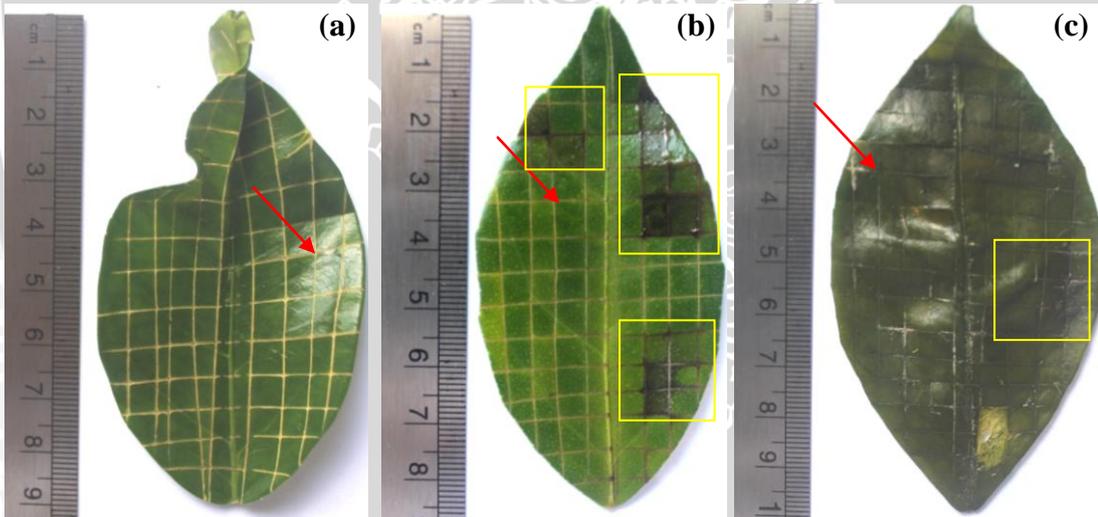
- | | | | | | | | |
|-----|-------------|---|----------|----|-------------------------|---|-----------|
| II | : ulangan 1 | 1 | : unit 1 | D0 | : potongan batang sehat | P | : Pamelos |
| II | : ulangan 2 | 2 | : unit 2 | D1 | : inokulum Mg52A.1 | S | : Siam |
| III | : ulangan 3 | 3 | : unit 3 | D2 | : inokulum Mg39.2 | M | : Manis |
| | | | | D3 | : inokulum Ps8bt | | |

Lampiran 4. Hasil Perlakuan Toksin Kasar Isolat Patogen *B. theobromae*



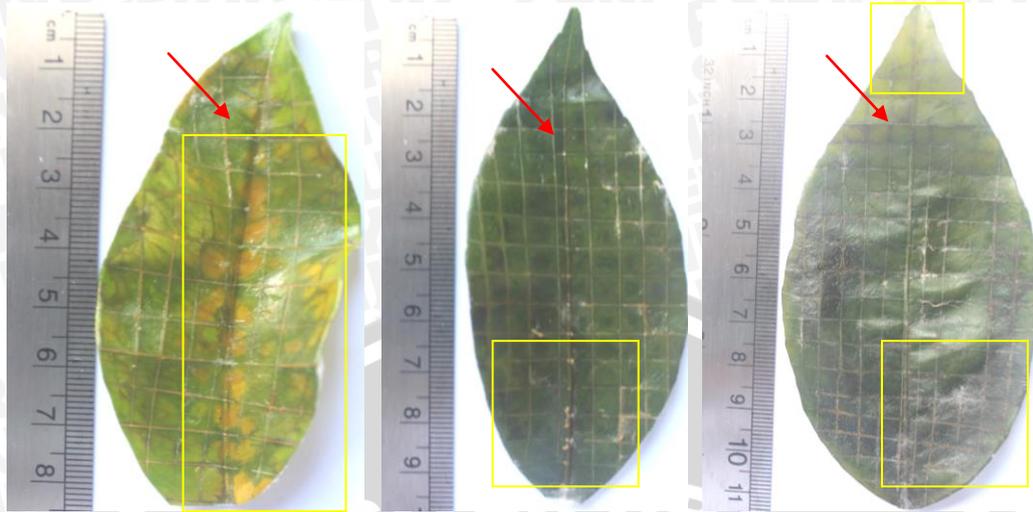
Gambar Lampiran 3. Hasil perlakuan kontrol pada daun jeruk jenis Pamelos (a), Siam (b) dan Manis (c).

Keterangan: Tanda panah merah menunjukkan garis pelukaan pada daun dan tanda kotak berwarna kuning menunjukkan contoh bagian daun yang mengalami nekrosis.

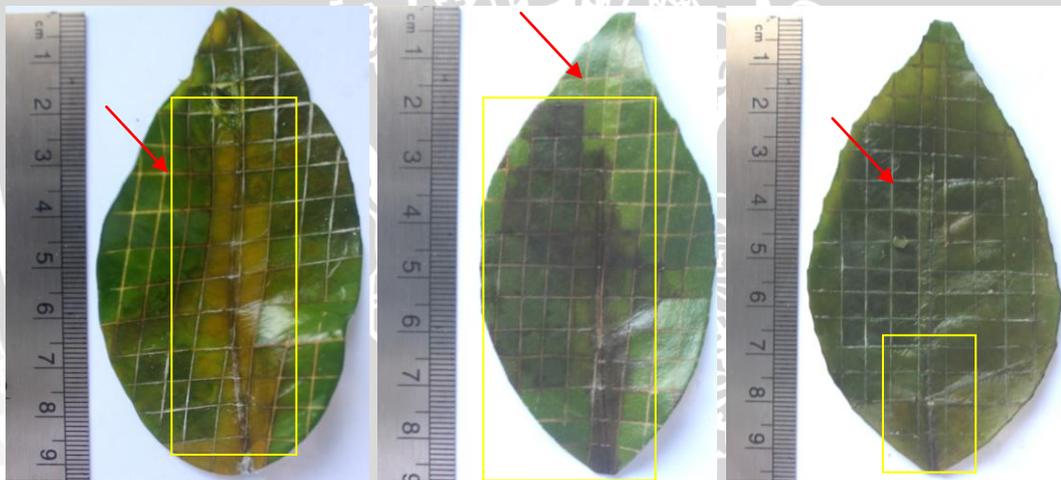


Gambar Lampiran 2. Hasil perlakuan toksin kasar yang berasal dari isolat patogen Mg52A.1 pada daun jenis Pamelos (a), Siam (b) dan Manis (c) setelah 12 hari masa inkubasi.

Keterangan: Tanda panah merah menunjukkan garis pelukaan pada daun dan tanda kotak berwarna kuning menunjukkan contoh bagian daun yang mengalami nekrosis.



Gambar Lampiran 4. Hasil perlakuan toksin kasar yang berasal dari isolat patogen Mg39.2 pada daun jenis Pamelos (a), Siam (b) dan Manis (c) setelah 12 hari masa inkubasi. Keterangan: Tanda panah merah menunjukkan garis pelukaan pada daun dan tanda kotak berwarna kuning menunjukkan contoh bagian daun yang mengalami nekrosis.



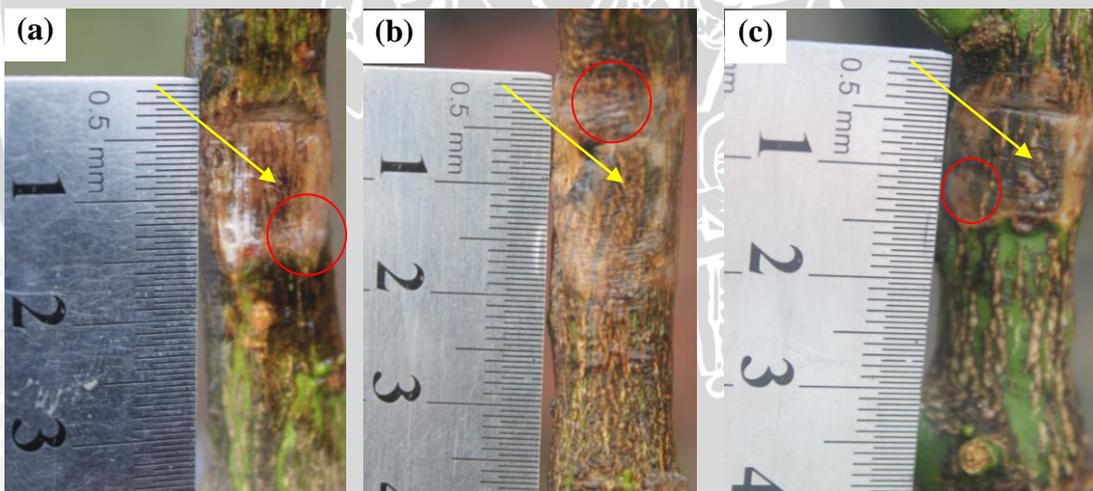
Gambar Lampiran 5. Hasil perlakuan toksin kasar yang berasal dari isolat patogen Ps8bt pada daun jenis Pamelos (a), Siam (b) dan Manis (c) setelah 12 hari masa inkubasi. Keterangan: Tanda panah merah menunjukkan garis pelukaan pada daun dan tanda kotak berwarna kuning menunjukkan contoh bagian daun yang mengalami nekrosis.

Lampiran 5. Kondisi Gejala Penyakit Diplodia pada Batang Jeruk pada 49 Hari Setelah Inokulasi



Gambar Lampiran 6. Hasil perlakuan kontrol (aquades steril) uji patogenisitas pada batang jeruk jenis Pamelo (a), Siam (b) dan Manis (c).

Keterangan: Tanda panah berwarna kuning menunjukkan bagian pelukaan pada batang dan tidak timbul gejala penyakit.



Gambar Lampiran 7. Hasil perlakuan isolat Mg52A.1 pada batang jeruk jenis Pamelo (a), Siam (b), dan Manis (c).

Keterangan: Lingkaran merah menunjukkan eksudat cair (*gum*) dan tanda panah berwarna kuning menunjukkan bagian pelukaan pada batang yang mengalami gejala penyakit.



Gambar Lampiran 8. Hasil perlakuan isolat Mg39.2 pada batang jeruk jenis Pamele (a), Siam (b), dan Manis (c).

Keterangan: Lingkaran merah menunjukkan eksudat cair (*gum*) dan tanda panah berwarna kuning menunjukkan bagian pelukaan pada batang yang mengalami gejala penyakit.



Gambar Lampiran 9. Hasil perlakuan isolat Ps8bt pada batang jeruk jenis Pamele (a), Siam (b), dan Manis (c).

Keterangan: Lingkaran merah menunjukkan eksudat cair (*gum*) dan tanda panah berwarna kuning menunjukkan bagian pelukaan pada batang yang mengalami gejala penyakit.