

SKRINING ISOLAT *Trichoderma* spp. SEBAGAI AGEN HAYATI TERHADAP PENYAKIT BUSUK AKAR, LUKA API, DAN POKKAHBOENG PADA TEBU

SCREENING OF *Trichoderma* spp. ISOLATES AS BIOLOGICAL CONTROL AGENTS AGAINST ROOT ROT, SMUT, AND POKKAHBOENG DISEASES OF SUGARCANE

Wiwit Wicaksono Jati^{1*}, Ari Kristini¹ dan Agustin Sri Mulyatni²

¹Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia, Pasuruan, Jawa Timur, Indonesia

²Pusat Penelitian Kelapa Sawit Unit Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

* Corresponding Author. E-mail address: jatiwiwit@gmail.com

ARTICLE HISTORY:

Received: 24 January 2024

Peer Review: 15 February 2024

Accepted: 12 April 2025

KATA KUNCI:

Antagonisme, penyakit, tebu, kitinase, *Trichoderma*

KEYWORDS:

Antagonism, disease, kitinase, sugarcane, *Trichoderma*

ABSTRAK

Penyakit jamur pada tanaman tebu menjadi faktor pembatas dalam proses produksi gula. Serangan penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu menyebabkan penurunan produktivitas tebu 12-15,4%. Serangan penyakit luka api 2% dapat menyebabkan penurunan hasil 5% dan kerugian karena penyakit pokkahboeng 10-38%. Kerugian akibat penyakit pada tebu cukup tinggi sehingga pemanfaatan agen hayati seperti jamur perlu dicoba. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh beberapa isolat *Trichoderma* yang memiliki kemampuan antagonisme tinggi dan menghasilkan enzim kitinase. Percobaan dilakukan di Laboratorium Penyakit tumbuhan Pasuruan dengan metode uji antagonis dual kultur secara berselang dan bersamaan. Uji kitinolitik dilakukan dengan menumbuhkan isolat *Trichoderma* pada media koloid kitin. Penentuan agen hayati dilakukan dengan cara skoring menggunakan matriks. Skor 1 untuk isolat yang unggul pada uji antagonisme bersamaan, skor 2 untuk isolat yang unggul pada uji antagonisme berselang dan skor 3 untuk isolat yang unggul pada uji kitinolitik. Hasil penentuan isolat sebagai agen hayati dengan matriks menunjukkan bahwa Isolat T5 Xyl dan T9 Xyl, T12 La dan T3 Pkb dapat digunakan untuk pengendalian penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu, penyakit luka api dan penyakit pokkahboeng.

ABSTRACT

Fungal diseases in sugar cane plants are a limiting factor in the sugar production process. Attacks by root and basal stem rot disease of sugarcane cause a decrease in sugarcane productivity of 12-15.4%. Smut attack 2% can cause 5% reduction in yield and 10-38% loss due to pokkahboeng disease. Losses due to disease are quite high so that the use of biological agents such as *Trichoderma* can be tried. The aim of the research was to obtain *Trichoderma* isolats that had high antagonism ability and had the chitinase enzyme. The experiment was carried out at the Pasuruan Plant Disease Laboratory using the dual culture antagonist test method alternately and simultaneously. The chitinolytic test was carried out by growing *Trichoderma* isolats in colloidal chitin media. *Trichoderma* biological agents are determined by scoring using a matrix. Score 1 is for isolats that are superior in the simultaneous antagonism test, score 2 is for isolats that are superior in the intermittent antagonism test and score 3 is for isolats that are superior in the chitinolytic test. The results of determining isolats as biological agents using the matrix showed that isolats T5 Xyl and T9 Xyl, T12 La and T3 Pkb can be used to control sugarcane root and basal stem rot, smut and pokkahboeng diseases.

1. PENDAHULUAN

Penyakit tanaman tebu merupakan salah satu faktor pembatas dalam tercapainya produktivitas tinggi. Kerusakan pada bagian tertentu dari tanaman dapat mengganggu proses fisiologis tanaman tebu yang akan berpengaruh pada kuantitas produksi dan kualitas nira tebu dalam perolehan rendemen. Kerusakan yang diakibatkan oleh patogen pada bagian perakaran juga dapat menyebabkan kerugian yang tinggi. Kerugian akibat penyakit tebu yang disebabkan oleh jamur pada tebu cukup bervariasi. Penyakit pada tebu yang disebabkan jamur seperti *Sporisorium scitamineum* (luka api,) *Xylaria* spp. (busuk akar dan pangkal batang) serta *Fusarium moniliforme* (pokkahboeng dan busuk batang fusarium) merupakan faktor pembatas produktivitas tebu. Kehilangan hasil penyakit luka api pada tebu dapat mencapai 75% (Diyasti et al., 2021). Intensitas serangan penyakit *Xylaria* spp. di Indonesia sebesar 25% dan 26% akan menurunkan produksi gula berturut-turut 12.3 dan 15.4% (Sitepu et al., 2010). Penurunan hasil tebu akibat penyakit pokkahboeng berkisar 5-90% (Raghvendra et al., 2020).

Penyakit busuk akar dan pangkal batang pada tebu pertama kali muncul di PG Gunung Madu, Lampung pada tahun 1993, kemudian dilaporkan menyerang pertanaman tebu di PG Cintamanis, Palembang Sumatera Selatan tahun 2013 dengan luas areal yang terinfeksi sekitar 20% dari 1.500 ha perkebunan tebu (Yulianti, 2017). Setelah sekian tahun tidak dilaporkan menyerang pertanaman tebu di Indonesia, saat ini penyakit luka api mulai meledak kembali. Pada tahun 2014 dan 2015 luka api endemik di Kabupaten Indramayu dan Cirebon, 90% dari luas 500 ha pertanaman tebu terkena penyakit luka api dan hampir gagal panen. Penyebaran penyakit luka api di Indonesia meliputi Jawa, Sumatra dan Sulawesi (Yulianti, 2020). Serangan penyakit luka api juga dilaporkan menyerang pertanaman tebu di Kamal, Madura pada akhir tahun 2016 dengan serangan >70%. Ledakan penyakit luka api pada pertanaman tebu diduga karena dominasi varietas tebu Bululawang yang awalnya tahan terhadap penyakit luka api menjadi rentan terhadap penyakit ini.

Penyakit pokkahboeng pertama kali ditemukan di Jawa oleh Walker dan Went pada tahun 1896. Penyebab penyakit disebabkan oleh jamur *Fusarium* spp. dengan variasi spesies *F. moniliformae*, *F. sacchari*, *F. verticillioides*, *F. fujikuroi*, *F. proliferatum* and *F. andiyazi* (Ristayeni et al., 2018). Serangan penyakit pokkahboeng di PG Kerebet mencapai 18%-52% (Rizqiyah et al., 2022). Pemanfaatan agen hayati untuk penyakit tanaman telah banyak dicoba pada komoditi pertanian. Salah satu agen hayati yang banyak digunakan di bidang pertanian adalah *Trichoderma* spp. Jamur antagonis *Trichoderma* spp. dapat digunakan untuk mengendalikan berbagai patogen jamur penyebab penyakit tanaman. Kombinasi phosphite dan *Trichoderma* (Taz-016) dapat mengendalikan jamur *Fusarium* pada tebu (Solis-Palacios, 2021). *Trichoderma* spp. merupakan agen hayati yang memiliki kemampuan antagonis, penginduksi ketahanan dan dekomposer sehingga berpotensi untuk mengendalikan permasalahan penyakit pada tanaman tebu (Gupta dan Bar, 2020; Chen et al., 2020). Penggunaan agen hayati *Trichoderma* dapat dikombinasikan dengan fungisida pada pengendalian penyakit terpadu (Tegene et al., 2021).

Skrining isolat *Trichoderma* sebagai agen hayati diperlukan dengan tujuan mendapatkan isolat yang memiliki kemampuan antagonis tinggi dan mempunyai aktivitas enzim kitinase sehingga pengendalian hayati menggunakan isolat *Trichoderma* menjadi lebih efektif.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan rumah kaca P3GI. Lokasi eksplorasi *Trichoderma* spp. dan pengambilan sampel penyakit meliputi Kediri, Pasuruan-Lumajang, dan Lampung. Selain itu isolat *Trichoderma* spp. juga diambil dari koleksi isolat *Trichoderma* spp. dan

isolat *Xylaria* sp. yang berasal dari eks PTPN VII. Isolat *Trichoderma* spp. dari kebun tebu terserang penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu yaitu T3 Xyl, T5 Xyl, T7 Xyl, T8 Xyl, T9 Xyl. Isolat *Trichoderma* spp. dari kebun tebu terserang penyakit luka api yaitu T1 La, T3 La, T5 La, T7 La, T8 La, T12 La. Isolat *Trichoderma* spp. dari kebun tebu terserang penyakit pokkahboeng yaitu T3 Pkb, T6 Pkb, dan T8 Pkb. Isolat tersebut merupakan koleksi milik Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (P3GI).

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Isolasi dan perbanyakan *Trichoderma* spp. dan patogen *Sporisorium scitamineum*, *Fusarium moniliforme*, *Xylaria* spp.

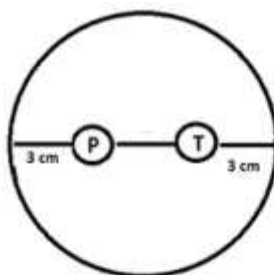
Isolasi *Trichoderma* spp., *Xylaria* spp dan *Fusarium moniliforme* dilakukan dengan cara mengambil dari sampel tanah. Tanah ditimbang dengan berat 1 gram tiap sampel kemudian dimasukkan ke tabung reaksi dan ditambah air steril sebanyak 9 ml. Kemudian larutan tanah diencerkan tiga kali atau 1×10^{-3} kemudian ditumbuhkan ke media PDA. Isolat yang tumbuh dimurnikan dengan reisolasi dan diinkubasi pada suhu ruang (Pratiwi et al., 2013). Jamur *Sporisorium scitamineum* diisolasi dari bagian daun dari tanaman yang memiliki gejala seperti cambuk yaitu daun +3 sampai +6 dari daun menggulung, sedangkan Jamur *Fusarium moniliforme* (pokkahboeng) diisolasi dari daun tebu dengan gejala nekrosis. Gejala seperti cambuk dan daun bergejala nekrosis dibersihkan dengan desinfektan dan dibilas dengan air steril. Gejala seperti cambuk dan daun nekrosis tersebut dipotong berukuran 1 cm x 1 cm dan diletakkan pada media PDA. Setelah 3 hari jamur dimurnikan ke media PDA yang baru. Pengamatan kecepatan tumbuh isolat *Trichoderma* spp. dan isolat *Sporisorium scitamineum*, *Fusarium moniliforme*, *Xylaria* spp. dilakukan dengan cara mengukur pertumbuhan jamur sampai memenuhi cawan petri.

2.2.2 Uji Antagonisme.

Isolat *Trichoderma* spp. dilakukan uji antagonis dua sisi yaitu dalam satu cawan petri diinokulasikan satu agen hayati dan satu patogen (Gambar 1). Terdapat 3 macam perlakuan yaitu *Trichoderma* spp. dan jamur patogen *Sporisorium scitamineum*; *Trichoderma* spp. dan *Xylaria* spp.; dan *Fusarium moniliforme*. Pengamatan dilakukan terhadap zona penghambatan pertumbuhan patogen. Uji antagonisme dilakukan secara bersamaan (ditumbuhkan pada waktu yang sama antara patogen dan antagonis) dan berselang (ditumbuhkan dengan perbedaan waktu antara patogen dan antagonis berdasarkan kecepatan pertumbuhan). Selang waktu untuk antagonisme dengan penyakit busuk akar dan pangkal batang 5 hari dengan waktu pengamatan 21 hari. Selang waktu untuk antagonisme dengan penyakit luka api 5 hari dengan waktu pengamatan 20 hari. Selang waktu antagonisme pokkahboeng 3 hari dengan waktu pengamatan 8 hari. Rumus Perhitungan presentase penghambatan (Adielfina et al., 2021) sebagai berikut:

$$\text{Persentase hambatan} = ((X-Y) / X) \times 100 \quad (1)$$

Keterangan: X = Diameter kontrol (Patogen); Y = Diameter koloni (Patogen) pada perlakuan.



Gambar 1. Uji dua sisi antara patogen (P) dan *Trichoderma* (T).

Pengujian antagonisme dilakukan menggunakan rancangan percobaan acak lengkap 3 ulangan. Perlakuan sebagai berikut: (a) Uji Antagonisme bersamaan penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu ((T3 Xyl (Antagonis *Xylaria* spp dengan isolat T3Xyl), T5 Xyl (Antagonis *Xylaria* spp dengan isolat T5Xyl), T7 Xyl (Antagonis *Xylaria* spp dengan isolat T7Xyl), T8 Xyl (Antagonis *Xylaria* spp dengan isolat T8Xyl), T9 Xyl (Antagonis *Xylaria* spp dengan isolat T9Xyl)); (b) Uji Antagonisme bersamaan penyakit luka api pada tebu ((T1 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T1 La), T3 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T3 La), T5 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T5 La), T7 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T7 La), T8 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T8 La), T12 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T12 La)); (c) Uji Antagonisme bersamaan penyakit pokahboeng pada tebu ((T3 Pkb (Antagonis *Fusarium monilifarme* dengan isolat T3 Pkb), T6 Pkb (Antagonis *Fusarium monilifarme* dengan isolat T6 Pkb), T8 Pkb (Antagonis *Fusarium monilifarme* dengan isolat T6 Pkb)); (d) Uji Antagonisme berselang penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu ((T3 Xyl (Antagonis *Xylaria* spp dengan isolat T3Xyl), T5 Xyl (Antagonis *Xylaria* spp dengan isolat T5Xyl), T7 Xyl (Antagonis *Xylaria* spp dengan isolat T7Xyl), T8 Xyl (Antagonis *Xylaria* spp dengan isolat T8Xyl), T9 Xyl (Antagonis *Xylaria* spp dengan isolat T9Xyl)); (e) Uji Antagonisme bersamaan penyakit luka api pada tebu ((T1 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T1 La), T3 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T3 La), T5 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T5 La), T7 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T7 La), T8 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T8 La), T12 La (Antagonis *Sporisorium scitamineum* dengan isolat T12 La)); (f) Uji Antagonisme bersamaan penyakit pokahboeng pada tebu (T3 Pkb (Antagonis *Fusarium monilifarme* dengan isolat T3 Pkb), T6 Pkb (Antagonis *Fusarium monilifarme* dengan isolat T6 Pkb), T8 Pkb (Antagonis *Fusarium monilifarme* dengan isolat T6 Pkb)).

2.2.3 Seleksi Isolat Berdasarkan Aktivitas Enzim Kitinase Melalui Uji Kitinolitik Enzim.

Seleksi isolat berdasarkan enzim kitinase dilakukan dengan uji aktivitas enzim kitinase dengan menumbuhkan isolat uji pada media kitin. Media koloidal kitin pH 7 dibuat dengan komposisi MgSO_4 0,15g, $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ 1,5 g, KH_2PO_4 1 g, Asam sitrat 0,5 g, Agar 7 g, Koloidal kitin 5% 40 ml, NA 1,6 g, Bromo Cresol Purple 0,15 g, akuades 80 ml kemudian disterilkan dengan *autoclave*. Kultur jamur *Trichoderma* spp. dalam media PDA dipindahtanamkan pada media koloidal kitin agar. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu 30° C selama 4 hari. Perubahan warna ungu pada media menunjukkan bahwa jamur *Trichoderma* spp. memiliki aktivitas kitinolitik (Agrawal and Kotasthane, 2012). Perbandingan diameter zona ungu dengan diameter koloni disebut dengan indeks kitinolitik (Khikmah et al, 2016; Batubara et al., 2022).

2.2.4 Penentuan Isolat *Trichoderma* spp. sebagai Agen Hayati.

Penentuan agen hayati menggunakan matriks terhadap uji antagonisme bersamaan, uji antagonisme berselang dan uji kitinolitik enzim. Matriks menggunakan sistem skoring dengan pemberian nilai sebagai berikut: (a) Isolat yang unggul pada pengujian uji antagonis bersamaan memiliki skor 1; (b) Isolat yang unggul pada pengujian uji antagonisme berselang memiliki skor 2; (c) Isolat yang unggul pada uji enzim kitinase memiliki skor 3; (d) Isolat yang memiliki skor tinggi adalah yang terpilih sebagai agen hayati.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Kecepatan Pertumbuhan Jamur Patogen dan *Trichoderma* spp.

Kecepatan tumbuh penyakit digunakan untuk mengetahui lama waktu yang diperlukan oleh *Xylaria* spp. dalam memenuhi satu cawan petri dengan diameter 9 cm. Kecepatan tumbuh jamur penyebab penyakit pokkahboeng memerlukan waktu 8 hari paling cepat di antara patogen yang ditumbuhkan dalam percobaan ini yaitu patogen penyebab penyakit luka api serta busuk akar dan pangkal batang (Tabel 1). Pertumbuhan jamur *Sporisorium scitamineum* memerlukan waktu 25 hari untuk mencapai diameter 9 cm. Sementara itu pertumbuhan jamur penyebab penyakit busuk akar dan pangkal batang memerlukan waktu 28 hari. Kecepatan tumbuh jamur *Sporisorium scitamineum* 25 hari dan penyakit busuk akar dan pangkal batang lebih lambat mencapai 28 hari. Menurut Sitepu *et al.*, (2010) *Xylaria* spp. siap digunakan untuk inokulasi pada media perbanyakan setelah ditumbuhkan selama 1 bulan pada media yang digunakan untuk isolasi biakan murni. Pengamatan kecepatan pertumbuhan ini digunakan dalam penentuan selang waktu pada uji antagonis berselang. Pertumbuhan jamur *Fusarium moniliforme* pada media PDA untuk memenuhi cawan petri sekitar 7-10 hari (Mevianti *et al.*, 2021). Miselium jamur *Sporisorium scitamineum* terlihat mengembang setelah pada 14 hari inkubasi (Ranying He *et al.*, 2024). Pertumbuhan untuk memenuhi cawan petri memerlukan waktu lebih lama.

Pertumbuhan isolat T5 Xyl dalam waktu 3 hari telah mencapai diameter 9 cm. Isolat *Trichoderma* spp. lainnya memiliki kecepatan tumbuh 5 hari untuk mencapai diameter 9 cm. Kecepatan tumbuh jamur antagonis merupakan salah satu indikator kemampuan antagonis dalam berkompetisi. Berdasarkan hasil pengamatan kecepatan pertumbuhan isolat *Trichoderma* spp. dari kebun dengan serangan penyakit luka api menunjukkan terdapat beberapa isolat yang memiliki pertumbuhan cepat untuk mencapai diameter koloni 9 cm yaitu isolat T7 La, isolat dan Isolat T12 La (Tabel 1). Kedua isolat tersebut memerlukan waktu 3 hari untuk mencapai ukuran diameter koloni 9 cm. Sementara itu isolat T8 La, T5 La memerlukan waktu 5 hari untuk mencapai diameter koloni 9 cm. Sementara itu isolat T1 La dan T3 La, memerlukan waktu 4 hari untuk mencapai diameter koloni 9 cm. Isolat lainnya memerlukan waktu 5 hari untuk mencapai diameter koloni 9 cm.

Kecepatan isolat *Trichoderma* spp. pada kebun dengan serangan penyakit pokkahboeng menunjukkan terdapat dua isolat yang mempunyai kecepatan tumbuh 4 hari yaitu T6 Pkb dan T8 Pkb. Isolat T3 Pkb memerlukan waktu 5 hari untuk mencapai diameter 9 cm (Tabel 1). Kecepatan pertumbuhan isolat *Trichoderma* yang diperoleh dari rhizosfer tanaman tebu terserang penyakit pokkahboeng, penyakit luka api dan penyakit busuk akar dan pangkal batang sangat bervariasi. Kecepatan antagonis *Trichoderma* rata-rata antara 4 sampai 6 hari. Menurut Muhibbudin *et al.*, (2021) menyatakan bahwa agen hayati *Trichoderma* sebagai hiperparasit, dapat menghasilkan antibiotik dan mempunyai kecepatan tumbuh yang cepat sehingga dapat terjadi persaingan dalam ruang dan nutrisi.

Tabel 1. Kecepatan Pertumbuhan Patogen dan Isolat *Trichoderma* spp. untuk Memenuhi Cawan Petri.

No	Penyakit	Hari	Isolat (Xyl)	Hari	Isolat (La)	Hari	Isolat (Pkb)	Hari
1	Busuk Akar dan Pangkal Batang	28	T3 Xyl	5	T1 La	4	T3 Pkb	5
2	Luka api	25	T5 Xyl	3	T3 La	4	T6 Pkb	4
3	Pokkahboeng	8	T7 Xyl	5	T5 La	5	T8 Pkb	4
4			T8 Xyl	5	T7 La	3		
5			T9 Xyl	5	T8 La	5		
6					T12 La	3		

Keterangan: Isolat Xyl adalah isolat yang berasal dari tanaman terserang busuk akar dan pangkal batang tebu, isolat La adalah isolat yang berasal dari tanaman terserang luka api, dan isolat Pkb adalah isolat yang berasal dari tanaman terserang pokkahboeng.

Kompetisi terhadap nutrisi terjadi karena *Trichoderma* spp. menghasilkan siderofor yang mengkhelat besi dan menghentikan pertumbuhan jamur lain. Pada siklus hidup *Fusarium* spp., nutrisi digunakan untuk mempertahankan persentase perkecambahan spora 20-30%. Mohiddin *et al.*, (2010) menyebutkan bahwa *T. harzianum* T35 berhasil mengendalikan penyakit *Fusarium oxysporum* (*F. oxysporum*) dengan cara mengkoloni rhizosfer dan mengambil nutrisi lebih banyak.

3.2 Uji Antagonisme Bersamaan

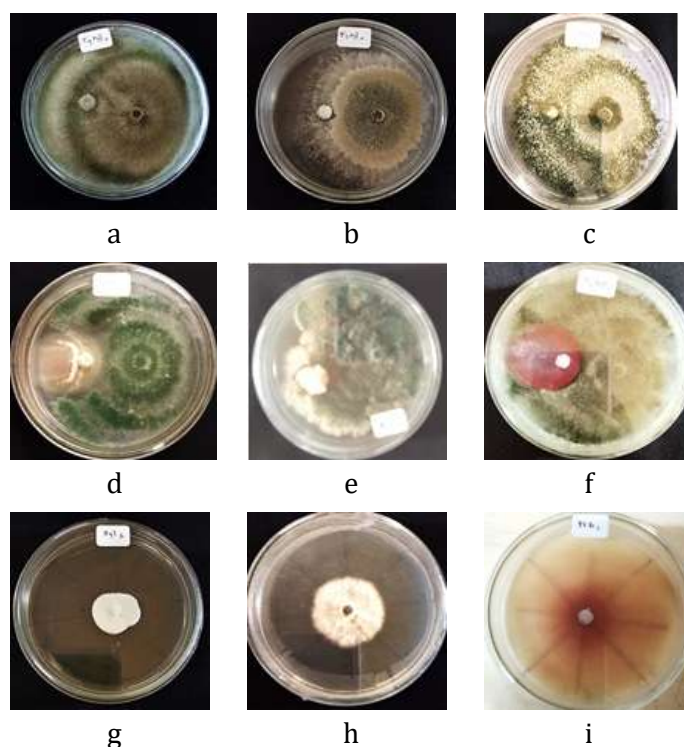
Uji antagonisme secara bersamaan dilakukan untuk mengetahui kemampuan agen hayati dalam kemampuan kompetisi dengan patogen. Kompetisi berhubungan dengan kemampuan untuk mendapatkan nutrisi dan tempat tumbuh sehingga antagonisme dilakukan secara bersamaan pada waktu melakukan kultur di media tumbuhnya. Hasil uji antagonisme dual kultur atau antagonisme secara bersamaan menunjukkan bahwa 4 isolat *Trichoderma* spp. berbeda nyata dengan isolat T7 Xyl (Tabel 2). Empat isolat *Trichoderma* spp. memiliki kemampuan antagonisme tinggi. Isolat T8 Xyl dan T9 Xyl memiliki persentase daya hambat mencapai 100% dan secara statistik tidak berbeda nyata dengan isolat T3 Xyl dan T5 Xyl. Menurut Suanda (2019) kriteria daya hambat sebagai agen hayati minimal 60% sehingga 4 isolat yaitu T3 Xyl, T5 Xyl, T8 Xyl, dan T9 Xyl merupakan isolat yang unggul pada uji antagonisme *Trichoderma* spp. dan *Xylaria* spp. secara bersamaan. Pada isolat T8 Xyl dan T9 Xyl mampu menekan dan menghentikan pertumbuhan hifa patogen karena pada gambar terlihat hifa menumpangi *Xylaria* (Gambar 2.) Pada kondisi ini terjadi hiperparasitisme atau mikoparasitisme. Mekanisme antagonisme *Trichoderma* spp. dalam menekan patogen yaitu sebagai mikoparasitik dan kompetitor yang agresif. Hifa *Trichoderma* spp. tumbuh memanjang, kemudian membelit dan mempenetrasi ke hifa inang sehingga hifa akan rusak dan hancur (Bina *et al.*, 2022). Mikoparasitisme melibatkan enzim dan metabolit sekunder (Mukherjee *et al.*, 2022).

Hasil uji antagonis bersamaan antara *Trichoderma* spp. dengan patogen penyebab penyakit luka api menunjukkan bahwa daya hambat 5 isolat mencapai 100 % karena pertumbuhan dari *Sporisorium scitamineum* lambat (Tabel 2). Isolat *Trichoderma* dengan kemampuan tinggi adalah T1 La, T3 La, T5 La, T7 La, dan T12 La. Isolat yang memiliki kemampuan antagonisme rendah yaitu isolat T8 La dengan persentase daya hambat < 60% pada hari kelima pengamatan (Tabel 2.). Hasil pada uji antagonisme bersamaan penyakit luka api menunjukkan bahwa isolat T1 La, T3 La, T5 La, T7 La, T12 La mampu menekan bahkan mendominasi atau menghentikan pertumbuhan patogen karena pertumbuhan patogen yang lambat. *Trichoderma* memiliki spektrum yang luas dalam menghambat patogen dan kemampuan adaptasi baik (Manandar *et al.*, 2019; Suharni *et al.*, 2023). Kompetisi ruang dan nutrisi terjadi sehingga kemampuan patogen untuk bertahan dan tumbuh menjadi tidak baik. Pada gambar uji dual kultur antagonis *Trichoderma* spp. dengan *Sporisorium scitamineum* terlihat hifa *Trichoderma* spp. menumpangi hifa patogen (Gambar 2.).

Hasil pengamatan antagonisme antara *Trichoderma* spp. dengan patogen penyebab penyakit pokkahboeng menunjukkan bahwa isolat T3 Pkb memiliki daya hambat yang tertinggi dan berbeda nyata dengan isolat T6 Pkb dan T8 Pkb (Tabel 2.). Daya hambat isolat *Trichoderma* memiliki persentase di atas 60% sehingga berpotensi menjadi agen hayati. Isolat T3 Pkb memiliki kemampuan antagonisme yang tinggi mampu menghambat sebesar 88% menekan pertumbuhan jamur *Fusarium moniliforme* (Gambar 2.). Isolat T3 Pkb memiliki kecepatan tumbuh yang tergolong cepat yaitu hanya diperlukan 4 hari untuk mencapai diameter 9 cm sehingga kemampuan kompetisi lebih tinggi dibandingkan isolat *Trichoderma* spp. lainnya dari tanaman terserang pokkahboeng.

Tabel 2. Antagonisme Bersamaan antara Patogen dengan Jamur Antagonis Penyakit Busuk Akar dan Pangkal Batang (Xyl), Luka Api (La), dan Pokkahboeng (Pkb).

No	Antagonis	Daya hambat (%)	Antagonis	Daya hambat (%)	Antagonis	Daya hambat (%)
1	T3 Xyl	80,67 ab	T1 La	100 a	T3 Pkb	88 a
2	T5 Xyl	80,67 ab	T3 La	100 a	T6 Pkb	74 b
3	T7 Xyl	66,33 b	T5 La	100 a	T8 Pkb	66,67 b
4	T8 Xyl	100 a	T7 La	100 a		
5	T9 Xyl	100 a	T8 La	33,67 b		
6			T12 La	100 a		



Gambar 2. Antagonisme bersamaan antara patogen dan *Trichoderma* spp. (a) patogen xylaria dengan Isolat T9 Xyl, (b) patogen Xylaria dengan isolat T7, (c) kontrol patogen *Xylaria* spp., (d) patogen luka api dengan Isolat T1 La, (e) patogen luka api dengan isolat T8 La, (f. kontrol patogen *Sporisorium scitamineum*., (g) patogen pokkahboeng dengan Isolat T3 Pkb, (h) patogen pokkahboeng dengan isolat T8 Pkb, (i) kontrol patogen *Fusarium moniliforme*.

3.3 Uji Antagonisme Berselang

Hasil uji antagonisme berselang antara isolat *Trichoderma* dan patogen penyakit busuk akar dan pangkal batang *Xylaria* spp. menunjukkan bahwa isolat T5 Xyl, T7 Xyl, T8 Xyl, T9 Xyl memiliki daya hambat tinggi diatas 80%. Isolat T3 Xyl berbeda nyata daya hambat lebih rendah dari keempat isolat lainnya (Tabel 3). Pada patogen *Xylaria* spp. memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu 7 amino-4-methylcoumarin sebagai senyawa antimikrobia dan antifungal (Liu *et al.*, 2008). Pada Gambar 3. terlihat bahwa isolat T7 Xyl mampu menghambat patogen busuk akar dan pangkal batang dengan daya hambat 100% karena mampu menutupi koloni dari patogen *Xylaria*.

Pada hasil uji antagonisme *Trichoderma* spp. dengan jamur *Sporisorium scitamineum*, isolat T7 La memiliki daya hambat 100 % dalam menekan pertumbuhan jamur penyebab penyakit luka api. Daya hambat isolat T1 La, T3 La, T5 La dan T7 La berbeda nyata dengan isolat T8 dan tidak berbeda dengan isolat T12 (Tabel 3). Kelima isolat *Trichoderma* memiliki kemampuan antagonis yang tinggi atau daya hambat > 60% pada uji berselang. Pada uji antagonis antara isolat T7 La dan jamur patogen penyebab luka api terlihat bahwa isolat T7 La tumbuh menutupi jamur *Sporisorium scitamineum*

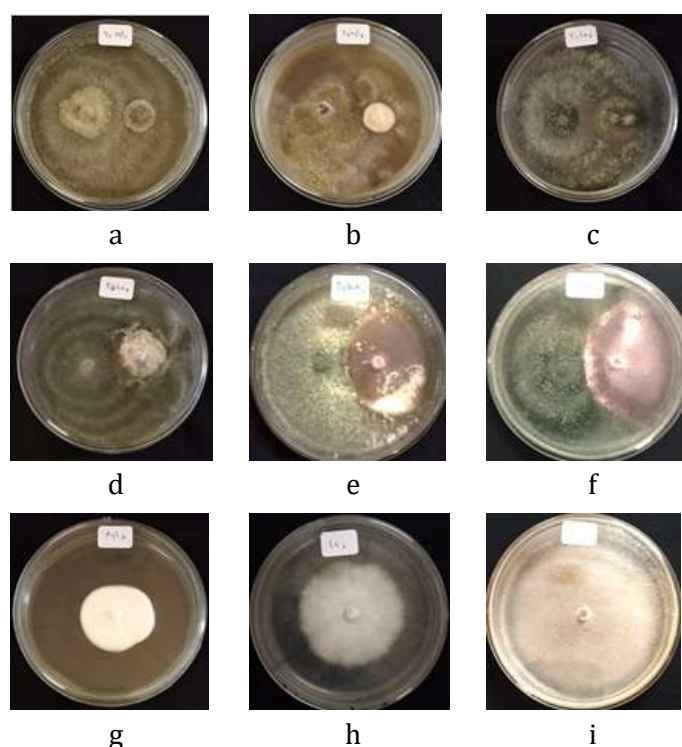
(Gambar 3). Isolat T8 merupakan isolat kemampuan antagonisnya rendah atau daya hambat < 60% sehingga tidak dipilih sebagai calon agen hayati. Adanya isolat *Trichoderma* dengan daya hambat rendah menunjukkan bahwa patogen masih dapat berkembang dan memiliki pertahanan.

Pertahanan pada patogen meliputi mekanisme pertahanan secara kimiawi dengan mengeluarkan senyawa metabolit sekunder, peptide, protein yang akan mengikat target secara spesifik terhadap jamur antagonis (Kunzler, 2018). Pada uji antagonisme secara berselang antara *Trichoderma* spp. dengan jamur penyebab penyakit pokkahboeng dengan selang waktu 2 hari menunjukkan bahwa isolat T6 Pkb berbeda nyata dengan isolat T8 Pkb tetapi tidak berbeda nyata dengan T3 Pkb. Patogen pada perlakuan T3 Pkb dengan diberi selang waktu akan memberikan kesempatan tumbuh lebih lama bagi patogen penyebab penyakit pokkahboeng. Daya hambat isolat T8 Pkb lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

Tabel 3. Antagonisme Berselang antara Patogen dengan Jamur Antagonis Penyakit Busuk Akar dan Pangkal Batang (Xyl), Luka Api (La), dan Pokkahboeng (Pkb).

No	Antagonis	Daya hambat (%)	Antagonis	Daya hambat (%)	Antagonis	Daya hambat (%)
1	T3 Xyl	67,333 b	T1 La	99 a	T3 Pkb	57,33 ab
2	T5 Xyl	88,000 a	T3 La	98,33 a	T6 Pkb	75,33 a
3	T7 Xyl	100,000 a	T5 La	85,33 a	T8 Pkb	43,00 b
4	T8 Xyl	99,667 a	T7 La	100 a		
5	T9 Xyl	99,000 a	T8 La	55,33 b		
6			T12 La	76,33 ab		
BNT 5 %		17,021	BNT 5 %	27,49	BNT 5 %	19,21

Keterangan: Angka pada kolom yang mempunyai notasi huruf yang berbeda menyatakan beda nyata pada uji BNT ($\alpha=0,05\%$).



Gambar 3. Antagonisme berselang antara patogen dan *Trichoderma* spp.: (a) patogen *Xylaria* spp, dengan Isolat T 7 Xyl, (b) patogen *Xylaria* dengan isolat T3 Xyl, (c) kontrol patogen *Xylaria* sp., (d) patogen luka api dengan Isolat T 7 La, (e) patogen luka api dengan isolat T8 La, (f) kontrol patogen *Sporisorium scitamineum*.; (g) patogen pokkahboeng dengan Isolat T6 Pkb; (h) patogen pokkahboeng dengan isolat T8 Pkb, (i) kontrol patogen *Fusarium moniliforme*.

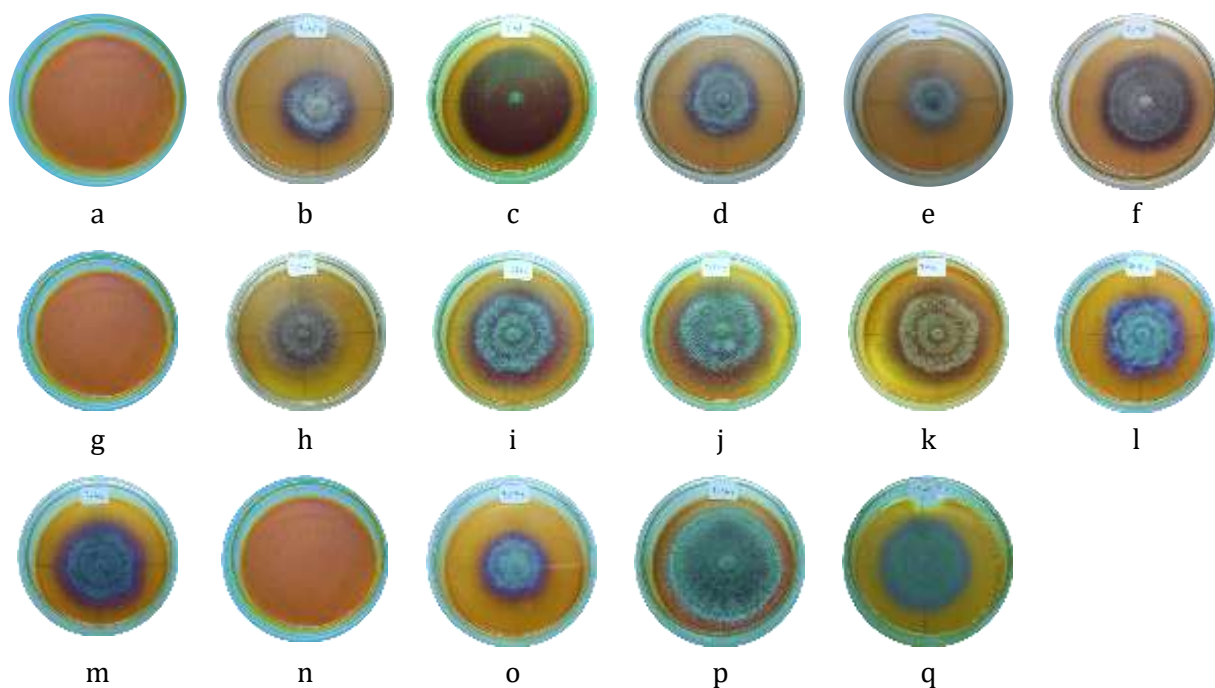
3.4 Uji Kitinolitik Enzim

Kitin merupakan polisakarida yang tersusun dari rantai monomer β -1,4-N-asetil-D-glukosamin (Loc et al., 2019). Seleksi terhadap kemampuan agen hayati dalam mendegradasi dinding sel jamur patogen yang sebagian besar tersusun atas kitin dilakukan dengan menumbuhkan jamur antagonis *Trichoderma* spp. pada media kitin agar yang ditambahkan reagen *bromocresol purple*. Zona ungu terjadi karena media koloidal kitin dengan reagen *bromocresol purple* ketika diinokulasi dengan jamur *Trichoderma* spp. mengakibatkan adanya perombakan kitin menjadi N-asetil glukosamin sehingga terjadi pergeseran pH dari asam menjadi basa yang diikuti perubahan warna media dari kuning menjadi ungu (Agrawal dan Kotasthane, 2012). Nilai indeks kitinolitik di atas 1 merupakan isolat yang dipilih pada uji enzim kitinase.

Pada hasil uji kitinolitik *Trichoderma* dari tanaman terserang penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu menunjukkan terdapat beberapa isolat yang memiliki aktivitas kitinolitik yaitu Isolat T3 Xyl, T5 Xyl, T7 Xyl, dan T9 Xyl memiliki indeks kitinolitik di atas 1 (Tabel 4). Pada isolat T5 yang memiliki nilai indeks kitinolitik tertinggi yaitu 5,38 terlihat diameter zona ungu lebih tinggi dari diameter koloni Isolat T5 (Gambar 4).

Tabel 4. Uji kitinolitik enzim antagonis *Trichoderma* spp. dari tanaman terserang penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu (Xyl), penyakit luka api (La), dan penyakit pokkahboeng (Pkb).

No	Isolat	Indeks kitinolitik	Isolat	Indeks kitinolitik	Isolat	Indeks kitinolitik
1	T3 Xyl	1,50	T1 La	0,92	T3 Pkb	1,06
2	T5 Xyl	5,38	T3 La	0,92	T6 Pkb	0,91
3	T7 Xyl	1,29	T5 La	0,94	T8 Pkb	0,94
4	T8 Xyl	0,94	T7 La	0,94		
5	T9 Xyl	1,53	T8 La	0,96		
6			T12 La	1,05		



Gambar 4. Uji kitinolitik isolat *Trichoderma* spp.: (a) kontrol Xyl, (b) Isolat T3 Xyl, (c) Isolat T5 Xyl, (d) Isolat T7 Xyl, (e) T8 Xyl, (f) T9 Xyl, (g) kontrol La, (h) Isolat T1 La, (i) Isolat T3 La, (j) Isolat T5 La, (k) T7 La, (l) T8 La, (m) T12 La ; (n) kontrol Pkb, (o) Isolat T3 Pkb, (p) Isolat T6 Pkb, (q) Isolat T8 Pkb.

Enzim kitinase mendegradasi kitin dengan memutus ikatan glikosida yang menghubungkan antar monomer pada kitin sehingga terbentuk senyawa yang lebih sederhana dalam bentuk oligomer kitin dan monomer N-asetil glukosamin (Wirawan dan Herdyastuti, 2013; Patil *et al.*, 2000). Fungsi enzim kitinase pada jamur yaitu morfogenesis, pembelahan sel, dan mikoparasitisme (Thakur *et al.*, 2023).

Hasil uji kitinolitik 5 isolat *Trichoderma* yang diperoleh dari tanaman terserang penyakit luka api yaitu T1 La, T3 La, T5 La, T7 La, dan T8 La memiliki nilai indeks kitinolitik kurang dari 1. Terdapat 1 isolat yang memiliki nilai indeks kitinolitik di atas 1 yaitu isolat T12 La (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa tidak semua isolat yang mempunyai kemampuan antagonis yang baik atau memiliki enzim kitinase dalam jumlah yang rendah sehingga kemampuan degradasinya juga rendah. Pada uji kitinolitik isolat *Trichoderma* spp. yang berasal dari tanaman terserang penyakit pokkahboeng menunjukkan hasil bahwa isolat T3 Pkb memiliki nilai indeks kitinolitik di atas 1 yaitu 1,06 (Gambar 4). Pada uji enzim ini yang terpilih adalah T3 Pkb sebagai agen hayati penyakit pokkahboeng karena memiliki kemampuan degradasi kitin yang baik.

3.5 Matriks Penentuan Agen Hayati

Penentuan agen hayati terpilih berdasarkan matriks dari hasil setiap pengujian yang terdiri dari uji antagonisme secara bersamaan, uji antagonisme berselang, dan seleksi enzim kitinase. Masing masing calon agen hayati akan memperoleh skor berdasarkan jenis pengujian. Skor 1 pada uji antagonis bersamaan, skor 2 pada uji antagonis dan skor 3 pada uji keberadaan enzim dengan parameter indeks kitinolitik.

Matriks pada penentuan agen hayati isolat *Trichoderma* yang berasal dari tanaman terserang penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu menghasilkan 2 isolat agen hayati terpilih. Isolat agen hayati terpilih adalah Isolat T5 Xyl dan Isolat T9 Xyl yang keduanya memiliki nilai skor tertinggi yaitu 6. Sedangkan yang tidak terpilih adalah isolat T3 Xyl dengan skor 4, isolat T7 Xyl dengan skor 5 dan Isolat T8 Xyl dengan skor 3. Isolat T5 Xyl dan T9 Xyl terpilih karena stabil unggul pada 3 macam pengujian yaitu uji antagonis bersamaan, uji antagonis berselang, dan uji enzim kitinase.

Tabel 5. Matriks Penentuan Agen Hayati Pengendalian Penyakit Busuk Akar dan Pangkal Batang Tebu, Penyakit Luka Api, dan Penyakit Pokkahboeng.

No	Isolat	Uji Antagonisme bersamaan	Uji Antagonisme Berselang	Uji Enzim Kitinase	Skor
A. Isolat dari tanaman terserang penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu					
1	T3 Xyl	1	0	3	4
2	T5 Xyl	1	2	3	6 (Terpilih)
3	T7 Xyl	0	2	3	5
4	T8 Xyl	1	2	0	3
5	T9 Xyl	1	2	3	6 (Terpilih)
B. Isolat dari tanaman terserang penyakit luka api					
1	T1 La	1	2	0	3
2	T3 La	1	2	0	3
3	T5 La	1	2	0	3
4	T7 La	1	2	0	3
5	T8 La	0	0	0	0
6	T12 La	1	2	3	6 (Terpilih)
C. Isolat dari tanaman terserang penyakit pokkahboeng					
1	T3 Pkb	1	2	3	6 (terpilih)
2	T6 PKb	0	2	0	2
3	T8 Pkb	0	0	0	0

Pada hasil matrik penentuan agen hayati isolat *Trichoderma* dari tanaman yang terserang penyakit luka api terdapat 3 isolat *Trichoderma* yang memiliki skor sama yaitu 3. Isolat tersebut adalah T1 La, T3 La, T5 La, T7 La. Isolat yang terpilih adalah T12 La karena memiliki skor tertinggi dan stabil pada semua jenis pengujian. Berdasarkan penentuan agen hayati pada matriks Tabel 5. menunjukkan bahwa isolat T3 Pkb memiliki skor tertinggi yaitu 6 sehingga terpilih sebagai agen hayati untuk penyakit pokkahboeng. Isolat T6 Pkb hanya memiliki keunggulan pada uji antagonis berselang yang memiliki skor 2 sehingga belum terpilih menjadi agen hayati penyakit pokkahboeng. Nilai terendah ditunjukkan oleh Isolat T8 Pkb yang memiliki skor 0 yang berarti tidak dapat digunakan sebagai agen hayati.

4. KESIMPULAN

Isolat *Trichoderma* spp. yang mempunyai kemampuan antagonis tinggi baik secara bersamaan dan berselang serta memiliki enzim kitinase yang mampu mendegradasi kitin yaitu T3 Pkb, T5 Xyl, T9 Xyl, T12 La. Empat isolat terpilih memiliki skor tertinggi pada sistem skoring yang berarti unggul pada setiap jenis pengujian sehingga dapat digunakan sebagai agen hayati pada pengendalian penyakit busuk akar dan pangkal batang tebu, penyakit luka api dan penyakit pokkahboeng.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Holding Perkebunan PTPN III dan PTPN VII atas skema pendanaan penelitian dan teknisi yang membantu.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Adielfina, S., L. Sulistyowati, L.Q. Aini, A. Inayati. 2021. Uji antagonis jamur endofit terhadap patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. penyebab penyakit busuk batang pada tanaman kacang tanah. *Jurnal Agrosainta*. 5(2): 85-92.
- Agrawal, T., & A.S. Kotasthane. 2012. Chitinolytic assay of indigenous *Trichoderma* isolats collected from different geographical locations of Chhattisgarh in Central India. *SpringerPlus*. 1(73): 1-10.
- Batubara, N.R., D. Suryanto, E. Munir, & Rahmiati. 2022. Screening dan characterization of chitinolytic bacteria from shrimp waste. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleuse*. 8(3): 744-753.
- Bina, E.F.S., B. Irawan, A. Wawan, Setiawan, N. Christina, Ekowati. 2022. Aplikasi inokulum fungi *Trichoderma* spp. untuk pertumbuhan dan penekanan fitopatogen. *Jurnal Biologi Papua*. 14(2): 158-168.
- Chen, J., M. Vallikkannu, & V. Karupp. 2020. *Systemically Induced Resistance Against Maize Diseases by Trichoderma* spp. In: A. K. Sharma, P. Sharma (eds.), *Trichoderma, Rhizosphere Biology*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 319 p.
- Diyasti, F., M. Faisal, & B. Bibit. 2021. Model peramalan perkembangan penyakit luka api pada pertanaman tebu di Indonesia. *Jurnal Pertanian Presisi*. 5(2): 109-125.
- Gupta, R., & M. Bar. 2020. *Plant Immunity, Priming, and Systemic Resistance as Mechanisms for Trichoderma* spp. *Biocontrol* In A.K. Sharma, P. Sharma (eds.), *Trichoderma, Rhizosphere Biology*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 319 p.
- Khikmah, N., S. Margiono, & R.S. Kasiamdari. 2016. Isolasi, seleksi, identifikasi kapang kitinolitik yang diisolasi dari tanah pembuangan limbah udang dan rizosfer solanaceae. *Biota*. 1(1): 1-8.
- Kunzler, M. 2018. How fungi defend themselves against microbial competitors and animal predators. *PLoS pathogens*. 14(9): 1-10.

- Liu, X., M. Dong, X. Chen, M. Jiang, X. Lv, & J. Zhou. 2008. Antimicrobial activity of an endophytic *Xylaria* sp. YX-28 and identification of its antimicrobial compound 7-amino-4-methylcoumarin. *Applied microbiology and biotechnology*. 78(2): 241–247.
- Loc, N.H., N.D. Huy, H.T. Quang, T.T. Lan, & T.T. Thu Ha. 2019. Characterisation and antifungal activity of extracellular chitinase from a biocontrol fungus, *Trichoderma asperellum* PQ34. *Mycology*. 11(1): 38–48.
- Manandhar, S., B. Pant, C. Manandhar, & S. Baidya. 2019. In-vitro evaluation of bio- control agents against soil-borne plant pathogens. *Journal of Nepal Agricultural Research Council*. 5(1): 68–72.
- Mevianti, N.D., A.W. Sektiono, S. Djauhari. 2023. Uji daya tumbuh dan uji virulensi jamur patogen *Fusarium moniliforme* penyebab penyakit pokahbung pada tanaman tebu (*Saccharum officinarum*). *Jurnal HPT*. 9(3): 96-106.
- Mohiddin, F.A., M.R. Khan, S.M. Khan, & B.H. Bhat. 2010. Why *Trichoderma* is considered super hero (super fungus) against the evil parasites? *Plant Pathology Journal*. 9 : 92 - 102.
- Muhibbudin, A., S. Salsabila, A.W. Sektiono. 2021. Kemampuan antagonis *Trichoderma harzianum* terhadap beberapa jamur patogen penyakit tanaman. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. 4(1): 225-233.
- Mukherjee, P.K., A. Mendoza-Mendoza, S. Zeilinger, B.A. Horwitz. 2022. Mycoparasitism as a mechanism of *Trichoderma*-mediated suppression of plant diseases. *Fungal Biology Reviews*. 39: 15-33.
- Patil, R.S., V. Ghormade, M.V. Deshpande. 2000. Chitinolytic enzymes: an exploration. *Enzyme and Microbial Technology*. 26(7): 473-483.
- Pratiwi, B.N., L. Sulistyowati, A. Muhibuddin, & A. Kristini. 2013. Uji pengendalian penyakit Pokkahboeng (*Fusarium moniliforme*) pada tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) menggunakan *Trichoderma* sp. Indigenous secara in vitro dan in vivo. *Jurnal HPT*. 1(3): 119 – 129.
- Raghvendra, T., Shukla, Jaiswal, T.R. Kumar. 2020. Pokkahboeng disease of sugarcane: current status and opportunities. *Indian Journal*. 12(1): 1-6.
- Ranying, He., H. Xie, J. Xie, B. Wang, Z. Li, X. Liu, & W. Fang. 2024. Interference with sexual mating of *Sporisorium scitamineum* by verrucarins isolated from *Paramyrothecium* sp. *Mycology*. 16(2): 929-940.
- Risthayeni, P., Hasanuddin, & F. Zahara. 2018. Uji efektifitas jamur antagonis *Trichoderma* sp. dan *Gliricladium* sp. untuk mengendalikan penyakit pokahbung *Fusarium moniliforme* pada tanaman tebu (*Saccharum officinarum*). *Bitkom Research*. 63(2): 1–3.
- Rizqiyah, S.I., Y. Titik, S. Hendrastuti. 2022. Intensitas penyakit utama pada beberapa klon unggulan tebu di Pabrik Gula Krebet Baru, Malang. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 18(6): 231-238.
- Samuel, T., M. Dejene, H. Terefe, G. Tegegn, E. Tena & A. Ayalew. 2021. Evaluation of native *Trichoderma* isolates for the management of sugarcane smut (*Ustilago scitaminea*) in sugar plantations of Ethiopia. *Cogent Food & Agriculture*. 7(1):1872853.
- Sitepu, R., Sunaryo, K. Widyatmoko, & H. Purwoko. 2010. Root and basal stem root disease of sugarcane in Lampung, Indonesia. *Proceeding International Society Sugarcane Technology*. 27: 1-6 p.
- Solis-Palacios, R., G. Hernández-Ramírez, J. Salinas-Ruiz, J.V. Hidalgo-Contreras, F.C. Gómez-Merino. 2021. Effect and compatibility of phosphite with *Trichoderma* sp. isolates in the control of the *Fusarium* species complex causing pokkahboeng in sugarcane. *Agronomy*. 11: 1099.
- Suanda, I.W. 2019. Karakterisasi morfologis *Trichoderma* sp. isolat JB dan daya hambatnya terhadap jamur *Fusarium* sp. penyebab penyakit layu dan jamur akar putih pada beberapa tanaman. *Widya Biologi*. 10(2): 99 – 112.
- Suharni, Y., L. Hakim, S. Susanna. 2023. Pengaruh beberapa media terhadap pertumbuhan *Trichoderma harzianum* isolat lokal asal pala. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*. 8(2): 513-522.
- Thakur, D., A. Bairwa, B. Dipta, P. Jhila, A. Cauhan. 2023. An overview of fungal chitinases and their potential applications. *Protoplasma*. 260: 1031–1046.

- Wirawan, A. & N. Herdyastuti. 2013. Penentuan waktu inkubasi pada pembentukan senyawa N-asetilglukosamin yang didegradasi secara enzimatis dari kitin. *UNESA Journal of Chemistry*. 2(3): 11-13.
- Yulianti, T. 2017. Perkembangan penyakit lapuk akar dan pangkal batang tebu (*Xylaria warbugii*) di Sumatera dan strategi pengendaliannya. *Perspektif*. 16: 122 – 133.
- Yulianti, T. 2020. Status dan strategi teknologi pengendalian penyakit utama tebu di Indonesia. *Perspektif*. 19: 01-16.