

**ANALISIS FUNGI ENDOFIT PELARUT FOSFAT DAN PENGHASIL
INDOLE-3-ACETIC ACID RIMPANG RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus*
L.) BERDASARKAN SEKUEN rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*)**

SKRIPSI

Oleh:
DURROTUL MAKNUNA
NIM.15620084



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**ANALISIS FUNGI ENDOFIT PELARUT FOSFAT DAN PENGHASIL
INDOLE-3-ACETIC ACID RIMPANG RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus*
L.) BERDASARKAN SEKUEN rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*)**

SKRIPSI

Oleh:
DURROTUL MAKNUNA
NIM.15620084

Diajukan Kepada:
• Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**ANALISIS FUNGI ENDOFIT PELARUT FOSFAT DAN PENGHASIL
INDOLE-3-ACETIC ACID RIMPANG RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus*
L.) BERDASARKAN SEKUEN rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*)**

SKRIPSI

Oleh:
DURROTUL MAKNUNA
NIM.15620084

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji
Tanggal 10 Desember 2020

Dosen Pembimbing I



Dr. Nur Kusmiyati, M.Si
NIP. 18890816 2016010 8 2061

Dosen Pembimbing II



Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.
NIP. 19731212 19980 3 1008

Mengetahui,
Ketua Program Studi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 20031 2 2002

**ANALISIS FUNGI ENDOFIT PELARUT FOSFAT DAN PENGHASIL
INDOLE-3-ACETIC ACID RIMPANG RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus*
L.) BERDASARKAN SEKUEN rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*)**

SKRIPSI

Oleh:
DURROTUL MAKNUNA
NIM. 156200804

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 23 Desember 2020

Penguji Utama	: Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. NIP. 19741018 20031 2 2002	(.....)
Ketua Penguji	: Dr. Ulfah Utami, S.Si NIP. 19650509 199903 2 002	(.....)
Sekretaris Penguji	: Dr. Nur Kusmiyati, M.Si NIP. 18890816 2016010 8 2061	(.....)
Anggota Penguji	: Dr. H. Ahmad Barizi, M.A. NIP. 19731212 19980 3 1008	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 20031 2 2002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Durrotul Maknuna

NIM : 15620084

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian: Analisis Fungi Endofit Pelarut Fosfat dan Penghasil *Indole-3-Acetic Acid* Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.) Berdasarkan Sekuen rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan asli karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.



ng, 10 Desember 2020
y membuat pernyataan,

Durrotul Maknuna
NIM. 15620084

MOTTO

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

كُتِبَ عَلَيْكُمُ الْقِتَالُ وَهُوَ كُرْهٌ لَّكُمْ وَعَسَىٰ أَن تَكْرَهُوا شَيْئًا وَهُوَ خَيْرٌ لَّكُمْ
وَعَسَىٰ أَن تُحِبُّوا شَيْئًا وَهُوَ شَرٌّ

“Diwajibkan atas kamu berperang, padahal itu tidak menyenangkan bagimu. Tetapi boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui”.

(QS. Al Baqarah/2:216)

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٥﴾ إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٦﴾

“(5) Maka sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan. (6) Sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan”. (QS. Al-Insyiroh/94:5-6)

HALAMAN PERSEMBAHAN

الحمد لله رب العالمين

Karya ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua, Bapak Ali Muchson dan Ibu Lilik Uswatun Khasanah yang telah membimbing Nuna hingga saat ini. Terima kasih yang tak terhingga dan tidak bisa ditukar dengan apapun atas segala bentuk pendidikan, nasihat, dan doa yang setiap waktu panjenengan panjatkan. Nuna mohon maaf, belum bisa membahagiakan dan membanggakan bapak ibu dan minta maaf kalau Nuna tidak bisa lulus tepat waktu sesuai harapan bapak ibu. Nuna sampai kapanpun selalu membutuhkan doa dan nasihat Bapak Ibu, semoga Allah melindungi dan memberi kesehatan selalu pada bapak ibu. Aamiin
2. Adik M. Hasbi Mubarak. Maaf mbak una belum bisa menjadi contoh yang baik. Semoga menjadi adek yang sholeh, berbakti pada orang tua, dan bisa membanggakan bapak ibu. Semangat berproses dek.

ABSTRAK

ANALISIS FUNGI ENDOFIT PELARUT FOSFAT DAN PENGHASIL INDOLE-3-ACETIC ACID RIMPANG RUMPUT TEKI (*Cyperus rotundus* L.) BERDASARKAN SEKUEN rDNA *INTERNAL TRANSCRIBED SPACER*

Durrotul Maknuna, Ahmad Barizi, Nur Kusmiyati

Fungi endofit rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) memiliki potensi sebagai pelarut fosfat dan penghasil IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). Berdasarkan penelitian sebelumnya, isolat URT4 dapat menghasilkan pelarut fosfat tertinggi dan isolat URT1 dapat menghasilkan IAA tertinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nama spesies dari kedua isolat tersebut berdasarkan sekuen rDNA ITS. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah peremajaan fungi endofit, isolasi DNA, analisis DNA secara kuantitatif dan kualitatif, amplifikasi DNA menggunakan primer ITS1 dan ITS4, sekuensing, dan rekonstruksi pohon filogenetika. Hasil isolasi DNA secara kuantitatif menggunakan nanodrop spektrofotometri menunjukkan kemurnian 1.79 dan 1.80. Analisis kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose 1% menunjukkan pita DNA *whole genom*. Visualisasi amplifikasi produk PCR menggunakan primer ITS1 dan ITS4 menunjukkan URT1 berada pada 550 bp dan URT4 pada 625 bp. Hasil sekuensing dilakukan pengecekan dan *alignment* (pensejajaran) Clustal W menggunakan BioEdit. Hasil *alignment* dibandingkan dengan database sekuens rDNA ITS menggunakan BLAST online software. Berdasarkan analisis genetika, diketahui bahwa spesies fungi endofit rimpang rumput teki isolat URT1 sebagai penghasil IAA memiliki kemiripan dengan *Fusarium oxysporum* strain A1S3-D89 (100%) dan isolat URT4 sebagai pelarut fosfat memiliki kemiripan dengan *Aspergillus terreus* isolat AGE (97,42%).

Kata kunci: fosfat, fungi endofit, IAA, ITS, rDNA, rumput teki,

ABSTRACT

AN ANALYSIS OF ENDOPHYTIC FUNGI OF PHOSPHATE SOLVENT AND THE PRODUCER OF INDOLE-3-ACETIC ACID OF *Cyperus rotundus* L. RHIZOMES BASED ON rDNA ITS (*INTERNAL TRANSCRIBED SPACER*) SEQUENCE

Durrotul Maknuna, Ahmad Barizi, Nur Kusmiyati

The Endophytic fungi of *Cyperus rotundus* L. rhizome have the potential as a phosphate solvent and a producer of IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). Based on previous research, URT4 isolate could produce the highest phosphate solvent and URT1 isolate could produce the highest IAA. The research aims at determining the species names of the two isolates based on the ITS rDNA sequence. The methods used entophytic fungi rejuvenation, DNA isolation, quantitative and qualitative DNA analysis; DNA amplification used ITS1 and ITS4 primers, sequencing, and phylogenetic tree reconstruction. The quantitative DNA isolation results with spectrophotometric nano-drops showed a purity of 1.79 and 1.80. Qualitative analysis with agarose gel electrophoresis 1% showed whole genomic DNA bands. Visualization of PCR product amplification by using ITS1 and ITS4 primers showed URT1 at 550 bp and URT4 at 625 bp. The sequencing results were checked and aligned with Clustal W using BioEdit. Alignment results were compared with ITS rDNA database by using BLAST online software. Based on genetic analysis, it was known that the endophytic fungi species of *C. rotunodus* rhizome isolate URT1 as IAA producer had similarities with *Fusarium oxysporum* of strain A1S3-D89 (100%) and isolate URT4 as a phosphate solvent had similarities with *Aspergillus terreus* AGE of isolate (97.42%).

Keywords: phosphate, endophytic fungi, IAA, ITS, rDNA, *Cyperus rotundus*

ملخص البحث

تحليل فطريات الايندوفيت المذيب الفوسفات و منتج *INDOLE-3-ACETIC ACID* ريمفا ع نجيل التي كى (*Cyperus rotundus L.*) على التسلسل *INTERNAL TRANSCRIBED SPACER* rDNA ITS

درة المكنون ، أحمد باريزي ، نور قسيميائي

فطريات الايندوفيت ريمفا ع نجيل التي كى (*Cyperus rotundus L.*) تملك الفاعلية لمذيب الفوسفات و تحتصل على (*Indole-3-Acetic Acid*) IAA . كما المباحث السابقة ايصلت URT4 تحتصل على أعلى مذيب فوسفات و ايصلت URT1 تحتصل على أعلى IAA . هذه المباحث لتعلم على اسم المحيط من بين ايصلتين لأجل تسلسل rDNA ITS . و هذه المباحث قد استخدم الطريقة التي تجديد فطريات الايندوفيت و انفراق DNA ، وتحليل DNA بالكمي و النوعي ، تضخيم DNA تستعمل الابتدائي ITS 1 و ITS4 و التسلسلى و النظام الشجر الفيلوكنى تيكا . وتفريق DNA بالكمي الذي يستعمل نانو درف سفكترو فوطامترى (nanodrop spektrofotometri) تعرض على نقاً ١,٧٩ و ١,٨٠ . وتحليل النوعي تستخدم الكترو فورسيس كيل اكروسى (elektroforesis gel agarose) ١% تعرض الشريط *DNA whole genom* . وتصوير التضخيم المنتج PCR تستخدم الابتدائي ITS1 و ITS4 تعرض URT1 تقع ٥٥٠ ب.ف. و URT4 في ٦٢٥ ب.ف. و التسلسل الذي يستخدم بالتدقيق و المماثل Clustal W يستعمل BioEdit . وتحصيل المماثل مقارنة باملاء التسلسل rDNA ITS تستعمل BLAST بأداوت الكهرياء . ولان التحليل الوارثى , تعلم على فطريات الايندوفيت ريمفا ع نجيل التي كى ايصلت URT1 يحتصل على IAA يملك المماثل ب *Fusarium oxysporum* strain A1S3-D89 (١٠٠%) و ايصلت URT4 على تضخيم فوسفات تملك الامثال ب *Aspergillus terreus* isolate AGE (٩٧.٤٢%)

الكلمات الدالة : فوسفات, فطريات الايندوفيت , IAA , ITS , rDNA , نجيل التي كى

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT. yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P., selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus ketua penguji yang telah memberikan masukan dan saran sehingga tugas akhir ini dapat diselesaikan dengan baik..
4. Dr. Nur Kusmiyati M.Si dan Dr. H. Ahmad Barizi, M.A., selaku pembimbing skripsi dan pembimbing agama, yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan selama melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
5. Dr. Ulfah Utami M.Si, selaku penguji utama yang telah banyak memberikan banyak masukan dan perbaikan.
6. Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc dan Retno Novitasari, M.Sc, selaku kepala Laboratorium dan Laboran Mikrobiologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Fitriyah, M.Si dan Mahrus Ismail, M.Si, selaku kepala laboratorium dan Laboran Genetika dan Molekuler UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Seluruh dosen, laboran, staf administrasi, petugas keamanan dan kebersihan program studi biologi yang telah membantu dan memberikan kemudahan.

9. Kedua orang tua, Bapak Ali Muchson dan Ibu Lilik Uswatun Khasanah, yang selalu mendoakan dan memberikan semangat serta motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini. Semoga Allah selalu melindungi dan meridhoi Bapak Ibu.
10. Adik M. Hasbi Mubarak, yang selalu memberikan dukungan.
11. Septian Tri Wicaksono, yang sudah menjadi teman satu bimbingan dan bantuannya selama ini.
12. Syafrudin, Ina, Malik, Yekti, Nuri, Sakhou, Mbak Ila, In dan Habibi, yang telah membantu dan menemani penelitian selama pandemi. Semoga Allah memudahkan urusan kalian.
13. Keluarga besar MSAA UIN Malang, yang telah menjadi tempat bernaung dan mencari pengalaman berharga selama di perantauan. Semoga penulis mendapatkan barokah dari para pengasuh dan ustadz-ustadzah.
14. Fitri Nur Aina dan Binti Roifatus Siam, yang telah memberi dukungan semangat pada penulis. Semoga persahabatan kita terjaga hingga jannah.
15. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini dengan baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Aamiin yaa robbal 'alamiin..*

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

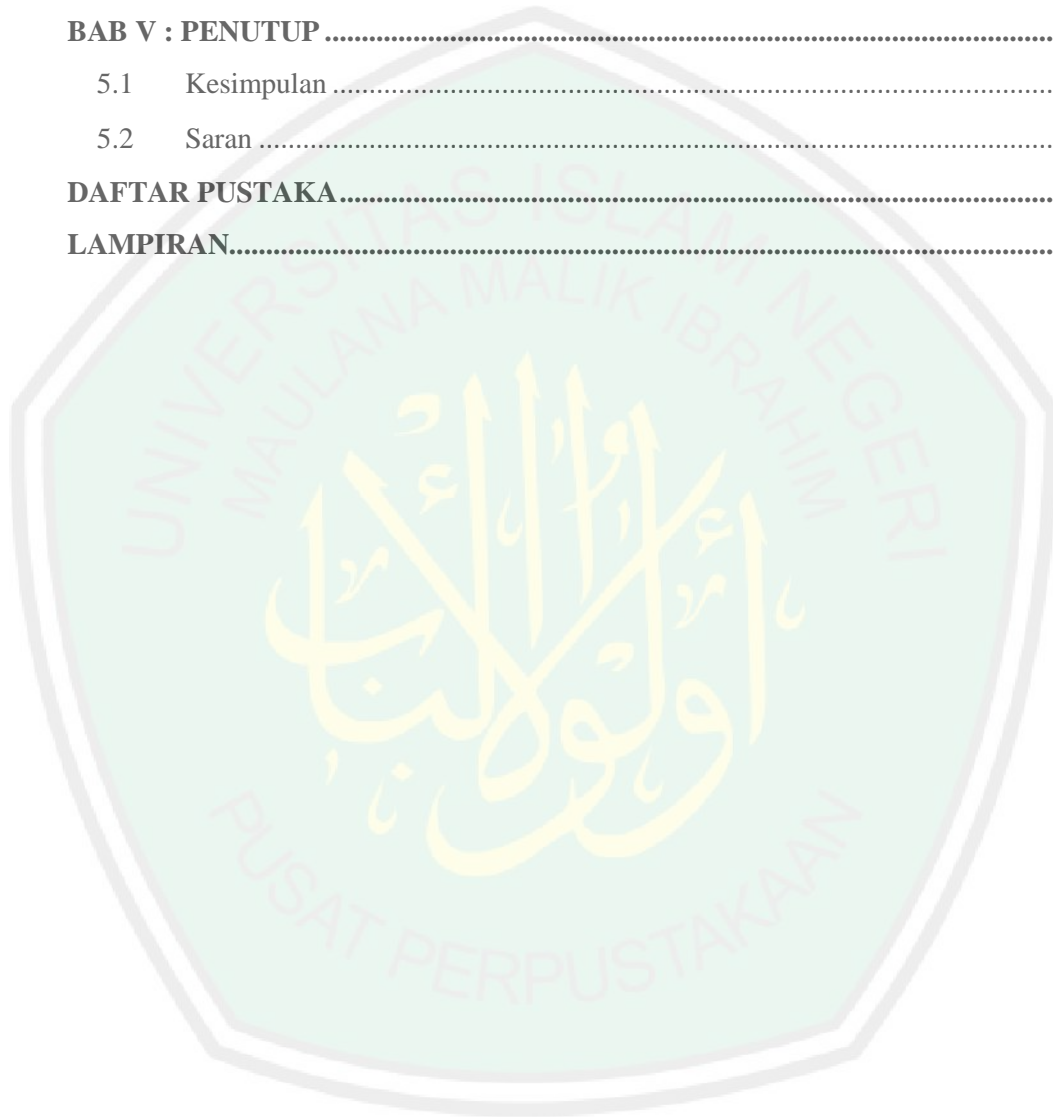
Malang, 23 Desember 2020

Penulis

DAFTAR ISI

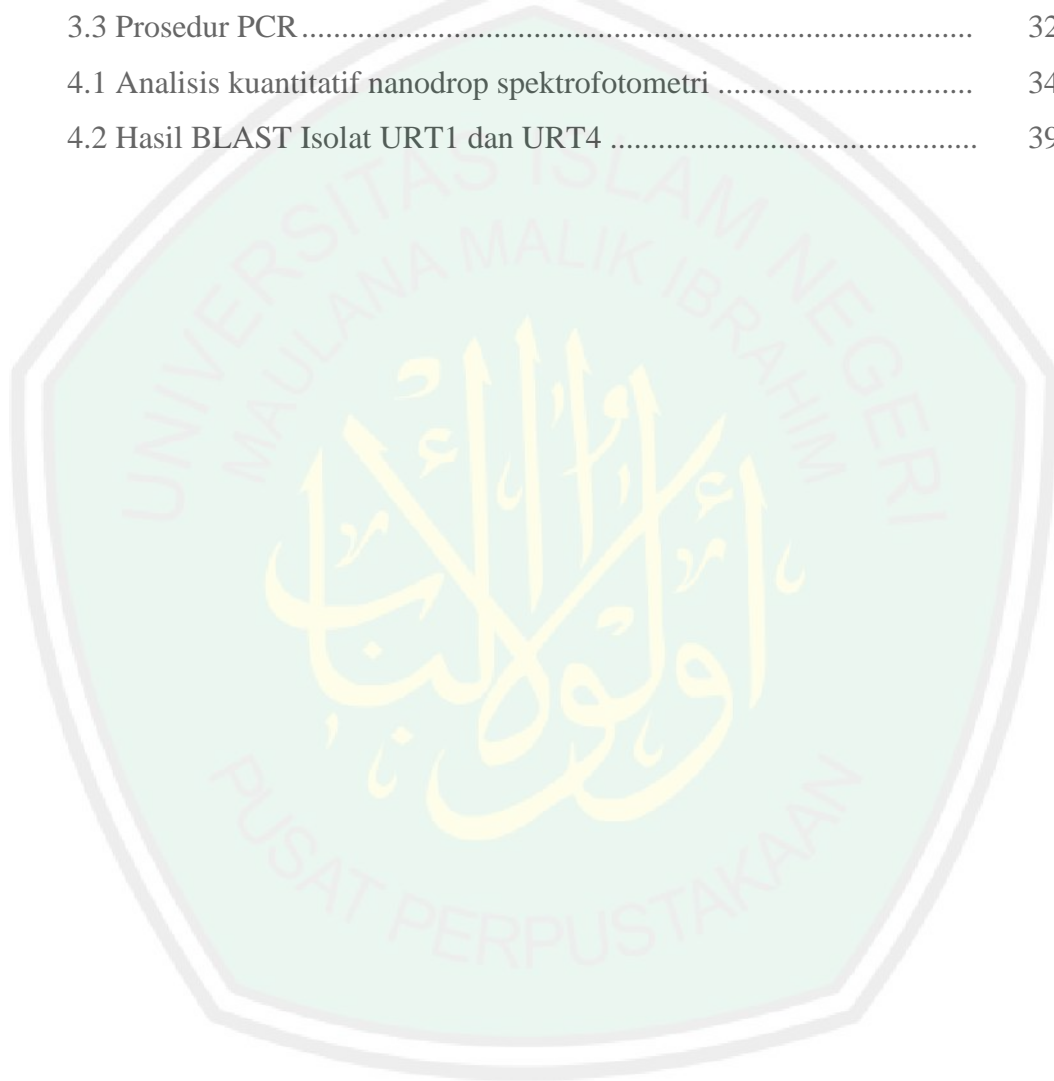
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	iv
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
ملخص البحث.....	ix
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I : PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Hipotesis	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 Batasan Masalah	5
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Fungi Endofit	7
2.2 Fungi Pelarut Fosfat.....	10
2.3 Fungi Penghasil IAA (Indole-3-Acetic Acid).....	12
2.4 Rumput Teki	13
2.5 Identifikasi molekuler dengan Internal Transcribed Spacer (ITS).....	17
2.6 Filogenetik	21
BAB III : METODE PENELITIAN.....	26
3.1 Rancangan Penelitian.....	26

3.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	26
3.3	Alat dan Bahan Penelitian.....	26
3.4	Prosedur Penelitian	27
BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN.....		34
4.1	Spesies Fungi Endofit Rimpang Rumput Teki.....	34
4.2	Analisis Filogenetik	39
BAB V : PENUTUP		43
5.1	Kesimpulan	43
5.2	Saran	43
DAFTAR PUSTAKA.....		xliv
LAMPIRAN.....		lxi



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kontribusi fungi endofit terhadap tanaman inang	10
2.2 Sekuen primer daerah ITS dan suhu anealing	21
3.1 Sekuens primer	31
3.2 Komposisi bahan dan volume amplifikasi DNA	31
3.3 Prosedur PCR	32
4.1 Analisis kuantitatif nanodrop spektrofotometri	34
4.2 Hasil BLAST Isolat URT1 dan URT4	39

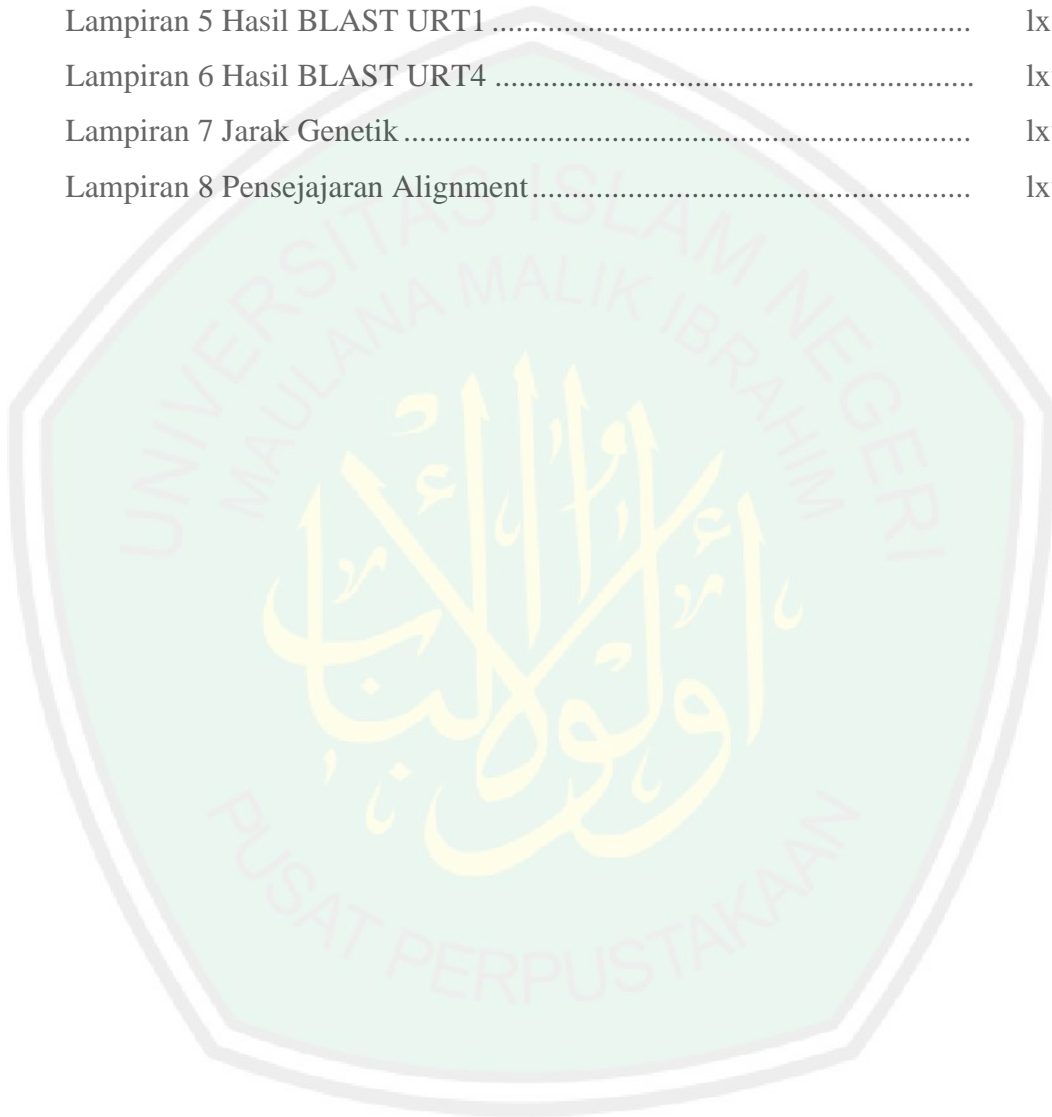


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Batang, bunga, dan rimpang Rumput Teki	13
2.2 Skema struktur universal wilayah rDNA	19
2.3 Diagram lokasi primer dalam ribosom.....	20
2.4 Gen ribosom dan wilayah target primer PCR	20
2.5 Sekuen 1 dan 2 diasumsikan berasal dari nenek moyang yang sama (<i>common ancestor</i>).....	23
4.1 Analisis kualitatif ekstraksi DNA	35
4.2 Visualisasi pita DNA hasil amplifikasi PCR pada konsentrasi gel agarose 1,5%	36
4.3 Hasil Pensejajaran menggunakan <i>software</i> Bioedit	38
4.4 Rekonstruksi Pohon Filogenetik	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Formula Pembuatan 2x CTAB	lxi
Lampiran 2 Modifikasi Metode Doyle & Doyle	lxii
Lampiran 3 Sekuen <i>Fusarium oxysporum</i> dan isolat URT1	lxiii
Lampiran 4 Sekuen <i>Aspergillus terreus</i> dan isolat URT4	lxiv
Lampiran 5 Hasil BLAST URT1	lxv
Lampiran 6 Hasil BLAST URT4	lxvi
Lampiran 7 Jarak Genetik	lxvii
Lampiran 8 Pensejajaran Alignment	lxviii



DAFTAR SINGKATAN

Simbol/Singkat	Keterangan
μl	Mikroliter
atm	Atmosfer standar
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
bp	Basepair
<i>C. rotundus L.</i>	<i>Cyperus rotundus</i> Linn
CI	Chloroform Isopropanol
CTAB	Cetyltrimethyl Ammonium Bromide
ddH ₂ O	Aquabidestilata
DNA	asam deoksiribonukleat
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
EtBr	Ethidium Bromide
Fe	Simbol unsur kimia besi
g/gr	Gram
IAA	<i>Indole-3-Acetic Acid</i>
ITS	<i>Internal Transcribed Spacer</i>
M	Molar
ME	<i>Minimum-Evolution</i>
MEGA	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
mg	Miligram
MP	<i>Maximum Parsimony</i>
NaCl	Natrium klorida
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ng/ul	nanogram per mikrolit
NJ	Neighbor Joining
nm	Nanometer
°C	Derajat Celcius
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potato Dextrose Broth
pH	Power of Hydrogen
PVP	<i>Polivinilpirolidon</i>
rDNA	Ribosomal DNA
rpm	Rotation per minute
TAE	Tris-Acetate-EDTA
ZPT	Zat Pengatur tumbuh

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan gulma tahunan dari famili Cyperaceae (Sivapalan, 2013). Keberadaan tumbuhan gulma dianggap merugikan, karena sulit dikendalikan dan memiliki daya adaptasi yang tinggi (Pranasari *et al.*, 2012). Hal ini disebabkan sistem perakaran tumbuhan gulma yang luas dan pertumbuhannya cepat dalam menyerap air dan nutrisi, sehingga mampu menghambat pertumbuhan komoditas tanaman pertanian (Ebtan *et al.*, 2014). Selain itu, rumput teki termasuk tumbuhan herba, mampu tumbuh sepanjang tahun, dan sering dijumpai pada areal pertanian maupun padang rumput dengan iklim tropis, sub tropis, dan sedang (Sivapalan dan Jeyadevan, 2017).

Allah menciptakan segala jenis tumbuhan pasti memiliki kandungan manfaat yang baik. Allah berfirman dalam Surat Asy-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi:



أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. Asy-Syu'ara/26:7).

Awal ayat ini tertulis أولم يروا إلى الأرض yang bermakna *apakah mereka tidak memperhatikan bumi*. Terdapat satu kata sebagai kata kunci yaitu يروا artinya *memperhatikan*. Makna memperhatikan yakni memandang bumi dan seluruh isinya hingga batas kemampuan manusia. Hal ini dapat diartikan sebagai perintah manusia untuk meneliti apa yang telah diperhatikan tersebut. Kata أنبتنا فيها كم berarti *berapa banyaknya kami tumbuhkan di dalamnya (di bumi)*. Allah telah menciptakan beragam tumbuhan di bumi, dengan bermacam-macam bentuk dan manfaat. Dalam proses merawat, menjaga dan memelihara tumbuhan tersebut, Allah melibatkan manusia sebagai *khalifah fil 'ard*.

Kata زوج menurut Shihab (2002) berarti *pasangan*, dan kata كريم berarti *sesuatu yang baik*. Makna pasangan disini berkaitan dengan hubungan tumbuhan dengan sesuatu yang baik dan sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangan

tumbuhan itu sendiri. Berdasarkan ayat tersebut Allah telah menciptakan beraneka macam tumbuhan, salah satunya adalah rumput teki.

Selain diketahui sebagai gulma, rumput teki memiliki potensi sebagai penghasil *Indole-3-Acetic Acid* dan sebagai pelarut fosfat. Berdasarkan penelitian Zega *et al.*, (2018) ditemukan 15 isolat bakteri dari *C. rotundus* yang memiliki potensi melarutkan fosfat dan menghasilkan IAA. Namun, pada penelitian ini berfokus pada bakteri endofit.

Menurut Fatmala *et al.*, (2015), mikroorganisme pelarut fosfat terbagi atas bakteri, fungi, dan aktinomisetes. Diantara ketiga mikroorganisme tersebut *Klaic et al.*, (2017) menyatakan fungi pelarut fosfat memiliki aktivitas kelarutan fosfat lebih tinggi daripada jenis mikroorganisme lainnya. Anzuay *et al.*, (2013) menambahkan mikroorganisme endofit memiliki kemampuan melarutkan fosfat untuk membantu pertumbuhan tanaman. Sehingga, potensi yang dimiliki rumput teki dapat berasal dari fungi endofit yang bersimbiosis di dalamnya.

Salah satu organ tumbuhan yang terdapat fungi endofit adalah rimpang (Strobel *et al.*, 2004). Berdasarkan penelitian Wicaksono (2019), ditemukan 5 isolat fungi endofit pelarut fosfat dan penghasil IAA rimpang rumput teki, dengan URT1 sebagai penghasil IAA tertinggi dan URT4 sebagai pelarut fosfat tertinggi.

Fosfat terlarut di dalam tanah dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan tanaman. Namun ketersediannya berbanding terbalik dengan kebutuhan tanaman. Hal ini dipengaruhi oleh karakteristik tanah dan kondisi lingkungan. Menurut Syamsia *et al.*, (2015) kandungan fosfat di dalam tanah dalam bentuk yang dapat diserap oleh tanaman dikategorikan rendah sekitar 1-5%. Secara alami, fungi merupakan salah satu mikroorganisme pelarut fosfat mampu mensintesis fosfat tidak terlarut (Richardson *et al.*, 2011) secara biologis dan kimiawi (Joner *et al.*, 2000; Hasanudin dan Bambang, 2004). Keberadaan unsur fosfat sangat penting bagi tumbuhan antara lain untuk pembelahan sel pada tumbuhan dan pembentukan akar (Ryan dan Jones, 2001) serta pertumbuhan akar (Shane dan Lambers, 2005).

Fungi endofit pelarut fosfat juga dapat menghasilkan fitohormon *Indole-3-Acetic Acid* (IAA). Fitohormon yang dihasilkan fungi endofit disebabkan adanya Gen *Aux* yang dapat mensintesis hormon IAA. Gen *Aux* dari tanaman inang ini merupakan penghasil IAA endogen (Lavy dan Estelle, 2016; Luo *et al.*, 2018).

Sedangkan fungi endofit yang bersimbiosis di dalam rumput teki dapat menghasilkan hormon IAA secara eksogen karena memiliki gen yang sama dengan inang yaitu gen *Aux* (Nemoto *et al.*, 2009; Mano *et al.*, 2010).

Indole-3-Acetic Acid merupakan hormon auksin yang paling aktif secara fisiologis di alam dan hormon utama pada tanaman (Donati *et al.*, 2013). Hormon tumbuhan merupakan salah satu ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) yang dibutuhkan tumbuhan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan (Spaepen *et al.*, 2007). Fungi endofit adalah salah satu mikroorganisme yang berpotensi dalam menghasilkan hormon auksin IAA (Strobel *et al.*, 2004; Noverita *et al.*, 2009).

Fungi endofit yang ditemukan pada rimpang rumput teki memiliki berbagai jenis warna, bentuk, kegunaan, keistimewaan, serta karakter morfologi dan susunan DNA yang berbeda. Identifikasi fungi dapat dilakukan dengan menggunakan pendekatan morfologi dan molekuler. Tetapi karakter morfologi mempunyai kelemahan yaitu hanya menunjukkan sifat pewarisan domain dan resesif, tingkat polimorfismenya sedikit, dan dipengaruhi oleh lingkungan (Tasuruni, 2012). Akibatnya pada individu yang memiliki genotipe yang sama menunjukkan fenotipe yang berbeda, dan yang memiliki genotipe yang sama dapat menunjukkan fenotipe yang sama tapi di lingkungan berbeda. Kemiripan pada fenotipe belum tentu menunjukkan kemiripan pada tingkat DNA (Tanksley, 1983). Selain itu, identifikasi morfologi biasanya sangat bergantung pada media dan kondisi pertumbuhan yang akan memengaruhi terbentuknya struktur reproduksi seksual dan aseksual (Hyde dan Soyong, 2007). Sementara itu, metode molekuler dianggap bersifat lebih stabil dan lebih akurat (Tasuruni, 2012) serta akan memperoleh hasil yang akurat dan tepat (Fell *et al.*, 2000). Penanda molekuler yang digunakan untuk studi taksonomi dan filogenetik pada fungi adalah rDNA ITS (*Internal Transcribed Sacer*).

ITS (*Internal Transcribed Spacer*) adalah daerah penyandi genom nuklear atau DNA ribosomal (rDNA) yang bersifat universal yang sering digunakan untuk menganalisis kekerabatan (McCullough *et al.*, 1998). ITS merupakan daerah terkonservasi yang terletak diantara 5,8S, 18S, dan 28S *ribosomal DNA (rDNA)* (Nugraheni *et al.*, 2015) dan daerah evolusi utama serta sering digunakan sebagai pembanding tingkat spesies dan genus terkait (Dewi, 2012)

Gen 18S rDNA dan gen 5.8S rDNA memiliki panjang total 2600bp, terpisah dengan gen 28S rDNA memiliki panjang 3300bp (McCullough *et al.*, 1998). Daerah ITS 18S-28S rDNA menjadi fokus utama untuk rekonstruksi filogenetik (Soltis dan Soltis, 1998) karena daerah ITS memiliki variasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan daerah rDNA lainnya (SSU dan LSU) (Fajarningsih, 2017). Daerah ITS berukuran pendek, yakni kurang lebih 700bp dan memiliki banyak salinan dalam inti genom (Baldwin *et al.*, 1995). Karakter ini yang menyebabkan daerah ITS mudah diisolasi, diamplifikasi, dan dianalisis.

Penelitian yang telah dilakukan Wicaksono (2019) menyatakan bahwa potensi pelarut fosfat terbaik (isolat URT4) dan penghasil IAA terbaik (isolat URT1), dilakukan berdasarkan uji fosfat terlarut URT4 yang menunjukkan hasil positif berupa perubahan warna biru paling pekat. Menurut Pradhan dan Pokhrel (2013) tingkat konsentrasi terlarut fosfat dapat ditunjukkan berdasarkan kepekatan warna biru pada sampel yang didapatkan dari reaksi biru *molybdenum*. Sedangkan hasil positif URT1 menunjukkan perubahan warna menjadi kuning pekat hingga merah muda pada larutan supernatan. Perubahan warna ini sebagai penanda konsentrasi IAA yang terbentuk dan sebagai indikasi indol oleh reagen salkowski (Lestari *et al.*, 2015). Dewi (2015) menambahkan warna yang terlihat, terjadi karena reaksi antara *Fe* dengan IAA menghasilkan warna merah muda.

Berdasarkan analisis morfologi mikroskopis dan makroskopis, isolat URT1 dan URT4 diperkirakan termasuk divisi Ascomycota. Berdasarkan potensi tersebut, perlu dilakukan analisis molekuler ini untuk mengetahui spesies fungi endofit apa yang memiliki potensi sebagai pelarut fosfat dan penghasil *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) pada rimpang rumput teki (*C. rotundus* L.) berdasarkan sekuen rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apa spesies fungi endofit rimpang rumput teki (*C. rotundus* L.) URT4 sebagai pelarut fosfat dan URT1 sebagai penghasil *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) berdasarkan sekuen rDNA ITS?

2. Bagaimana kekerabatan isolat URT1 sebagai pelarut fosfat dan isolat URT4 sebagai penghasil *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) berdasarkan analisis filogenetik?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui spesies fungi endofit rimpang rumput teki (*C. rotundus* L.) URT4 sebagai pelarut fosfat tertinggi dan URT1 sebagai penghasil *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) tertinggi berdasarkan sekuen rDNA ITS.
2. Untuk mengetahui kekerabatan isolat URT4 sebagai pelarut fosfat dan isolat URT1 sebagai penghasil *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) berdasarkan analisis filogenetik.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah ditemukan spesies fungi endofit rimpang rumput teki (*C. rotundus* L.) yang berbeda-beda pada URT4 sebagai pelarut fosfat tertinggi dan URT1 sebagai penghasil *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) tertinggi.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah:

1. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang jenis fungi endofit yang berasal dari rimpang rumput teki (*C. rotundus* L.) sebagai pelarut fosfat dan penghasil *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) berdasarkan karakteristik morfologi dan penanda molekuler.
2. Dapat memberikan informasi mengenai keanekaragaman hayati terutama keanekaragaman fungi endofit pada rumput teki (*C. rotundus* L.) sebagai pelarut fosfat dan penghasil *Indole-3-Acetic Acid* (IAA).

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Rimpang Rumput Teki (*C. rotundus* L.) diambil dari area perbukitan (Coban Talun) yang berada di daerah Oro-oro Ombo, Batu, Jawa Timur.

2. Identifikasi fungi endofit menggunakan penanda molekuler dengan primer ITS1 dan ITS4.
3. Isolat hasil identifikasi mikroskopis dan makroskopis yang digunakan adalah fungi endofit rimpang Rumput Teki (*C. rotundus* L.) yaitu URT4 sebagai pelarut fosfat tertinggi dan URT1 sebagai penghasil *Indole-3- Acetic Acid* (IAA) tertinggi.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fungi Endofit

Allah berfirman dalam Surat Al-Baqarah ayat 29:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ ۗ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ

Artinya : “Dialah Allah, yang menjadikan segala sesuatu yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikanNya tujuh langit. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu.” (Q.S. Al-Baqarah/1: 29)

Al-Mahali dan As-Suyuthi, (2015) menafsirkan bahwa Allah menciptakan langit dan bumi beserta isinya supaya manusia dapat mengambil manfaat dan menggunakan sebaik-baiknya. Menurut Abdullah (2003), manusia dalam memanfaatkan segala hal yang ada di bumi ini dapat dilalui salah satu cara yang digunakan, yaitu memanfaatkan dalam kehidupan jasad untuk memberikan potensi terhadap sesama makhluk. Berdasarkan tafsir tersebut, dapat dikaitkan dengan pemanfaatan tumbuhan oleh manusia. Manusia dapat mengambil manfaat dari suatu tanaman berdasarkan potensi yang dimilikinya. Salah satu potensi tersebut didapatkan dari fungi endofit.

Endofit menurut bahasa berasal dari kata *endon* artinya di dalam dan *pyton* yang artinya tumbuhan (Schulz dan Boyle, 2005). Menurut istilah endofit artinya mikroorganisme berupa fungi atau bakteri yang tidak mengakibatkan kerusakan secara langsung pada lingkungan maupun tumbuhan inang meskipun hidupnya berada dalam bagian dalam tumbuhan, antara lain pada bagian daun, batang, akar, dan pucuk. Presentase keanekaragaman dan kolonisasi mikroorganisme endofit yang tinggi berhubungan dengan jumlah keanekaragaman mikroorganisme pada wilayah tersebut (Hakim, 2015).

Mikroorganisme yang hidup dalam jaringan tumbuhan berukuran mikroskopis (bakteri dan jamur) disebut dengan mikroba endofit. Terjadi proses saling menguntungkan (simbiosis mutualisme) antara mikroba endofit dengan tumbuhan inang, hasilnya mikroba endofit memperoleh nutrisi yang berasal dari hasil metabolisme tumbuhan serta melindungi tumbuhan dari lingkungan dan

kondisi yang tidak menguntungkan. Mikroba endofit yang sering digunakan salah satunya adalah fungi endofit (Rante *et al.*, 2013).

Fungi endofit berperan penting dalam ekosistem dalam hal pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan inang. Namun eksplorasi antara keduanya yakni fungi endofit dan tumbuhan inang masih terbatas. Dalam setiap satu spesies tumbuhan terdapat lebih dari satu fungi endofit. Karena fungi endofit merupakan kelompok polifiletik mikroorganisme dan hidup berkembang asimtomatik dalam jaringan tumbuhan hidup baik di bawah atau di atas tanah, termasuk dalam akar, batang, buah, daun, dan biji (Faeth dan Fagan, 2002).

Fungi endofit yang diisolasi dari suatu jaringan tumbuhan umumnya filum Ascomycota, yang kebanyakan dari kelas Dothidiomycetes, Leotiomycetes, dan Sordariomycetes, dan Endidiomycota (Jia *et al.*, 2016). Dalam jaringan internal tumbuhan tepatnya pada bagian jaringan yang sehat dan dapat hidup dengan infeksi diam yaitu lapisan sel epidermis terdapat fungi endofit Ascomycetes (Bacon, 2000).

Ada tiga aspek dalam simbiosis mutualisme antara tumbuhan inang dengan fungi endofit, diantaranya: (1) Untuk meningkatkan pertumbuhan tumbuhan inang, fungi endofit sebagian besar menghasilkan hormon tumbuhan yang berbeda; (2) untuk meningkatkan pertahanan tumbuhan inang terhadap tekanan biotik dan abiotik, fungi endofit menghasilkan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, isoflavonoid, dan diterpene; dan (3) terjadinya proses akumulasi metabolit sekunder oleh fungi endofit yang awalnya diproduksi oleh tumbuhan inang, namun sebenarnya dapat diproduksi oleh keduanya (Jia *et al.*, 2016).

Fungi endofit dalam suatu tumbuhan inang pertumbuhan dan penyebarannya dipengaruhi oleh berbagai faktor yang berkaitan dengan lingkungan dan faktor genetik. Kondisi lingkungan seperti suhu, pencahayaan, kelembaban, vegetasi, dan lokasi tumbuh memengaruhi pola adanya distribusi fungi endofit tumbuhan inang. Kondisi ini berpengaruh terhadap perkecambahan spora, pertumbuhan, reproduksi, menentukan spesies dan metabolisme fungi endofit. Sedangkan faktor genetik berpengaruh terhadap adanya produksi metabolit sekunder (Jia *et al.*, 2016).

2.1.1 Manfaat fungi endofit

Fungi endofit berguna bagi tumbuhan inang dalam hal memberikan nutrisi dan melindungi tumbuhan dari stress biotik yang berasal dari metabolit sekunder, elicitin, nurisi, fitohormon, dan formasi koloni menguntungkan tumbuhan. Pemanfaatan fungi endofit bagi tumbuhan selain sebagai antagonisme berimbang dan proteksi dari mikroba antagonis dan predator, juga dapat meningkatkan pertumbuhan (Hakim, 2015).

Salah satu metabolit sekunder yang berada dalam fungi endofit memiliki aktivitas antimikroba, diantaranya steroid, alkaloid, terpenoid, kuinon, derivat isokumarin, fenilpropanoid, flavonoid, fenol, metabolit terklorinasi, dan senyawa alifatik (Tan dan Zou, 2001). Serta juga mengandung senyawa bioaktif untuk meningkatkan atas cekaman biotik dan cekaman antibiotik (Firáková *et al.*, 2007).

Manfaat fungi untuk makhluk hidup lainnya telah disampaikan oleh Imam Muslim. Bahwa beliau meriwayatkan dari Jarir dan Amru bin Ubaid, “Saya mendengar Rasulullah saw. Bersabda,”

الكَمَاءُ مِنَ الْمَنِّ وَمَاؤُهُ شِفَاءٌ لِلْعَيْنِ

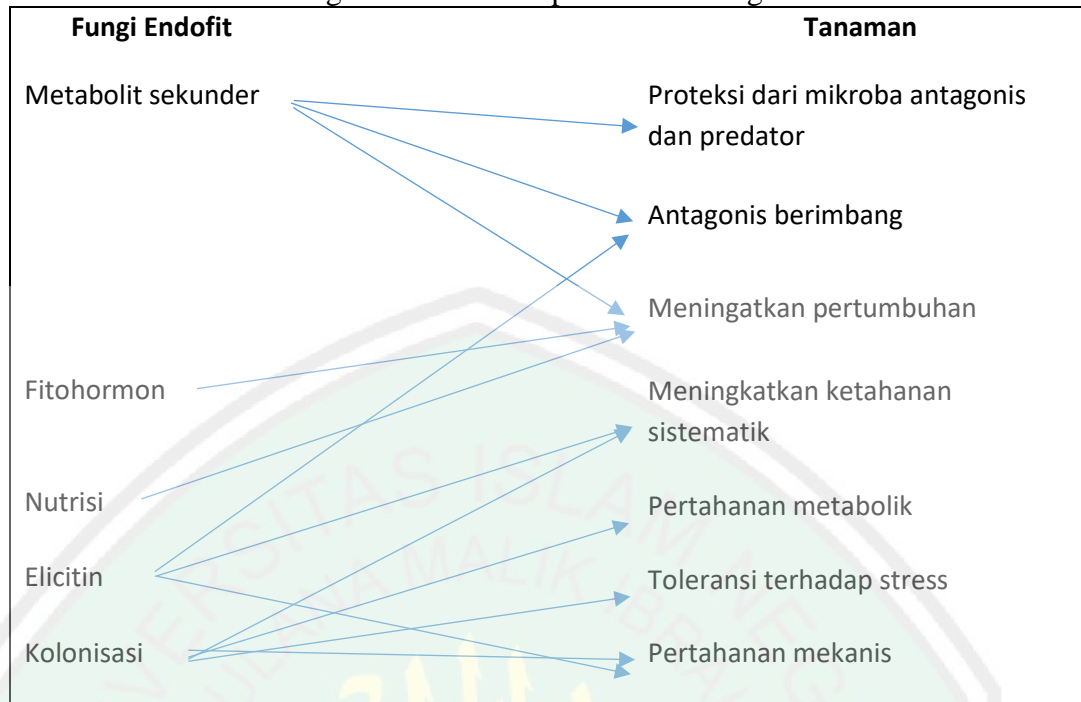
Artinya: “Jamur cendawan itu termasuk dari manna (anugerah) dan airnya adalah obat penyembuh bagi mata.” (An- Najjar, 2011: 204; Ibrahim 2010).

Hadis ini menegaskan fungi berperan dalam memberikan manfaat bagi sesama makhluk hidup. Fungi termasuk tumbuhan yang tumbuh dengan sendirinya atas kehendak Allah SWT. Adapaun manfaat fungi sendiri dapat diketahui dengan mempelajari dan mengeksplorasi potensinya.

2.1.2 Asosiasi fungi endofit dengan tumbuhan inang

Semua tumbuhan vascular memiliki organisme endofitik (Zhang *et al.*, 2006). Endofit merupakan mikroba yang hidup dalam jaringan internal tumbuhan inang (Bacon, 2000). Secara fisiologis dan ekologis, fungi endofit berperan dalam melindungi tumbuhan inang (Malinowski dan Belesky, 2006). Endofit dapat melindungi tumbuhan dari penyebab infeksi dan mensekresi metabolit sekunder bioaktif yang dapat digunakan untuk melindungi tumbuhan dari kondisi yang buruk (Strobel dan Daisy, 2003). Skema fungi endofit terhadap tanaman inang (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Kontribusi fungsi endofit terhadap tanaman inang



Keberadaan fungi endofit dalam suatu tumbuhan terjadi selama waktu tertentu. Fungi endofit akan membentuk koloni jika tumbuh pada tumbuhan tingkat tinggi. Karena terjadi transfer genetik (*genetic recombination*) dari tumbuhan inang ke fungi endofit, mengakibatkan fungi endofit akan menghasilkan metabolit sekunder yang sama dengan tumbuhan inang (Radji, 2005).

2.2 Fungi Pelarut Fosfat

Fase pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan membutuhkan nutrisi makro esensial berupa fosfat (P). Keberadaan fosfat dalam tanah dalam bentuk yang dapat diserap oleh tanaman, dengan jumlah sekitar 50-5000 mg/kg (Amaizah *et al.*, 2013). Menurut Balemi dan Negisho (2012), fosfat juga digunakan untuk metabolisme tumbuhan, diantaranya untuk respirasi, fotosintesis, pembangkit energi, biosintesis asam nukleat dan sebagai komponen integral dari beberapa struktur tanaman seperti fosfolipid. Shane dan Lambers (2005) menyatakan fosfat sebagai nutrisi penting tumbuhan dalam inisiasi dan pertumbuhan akar.

Apabila kekurangan unsur fosfat, pertumbuhan tanaman akan terhambat, misalnya terjadinya penurunan jumlah dan ukuran daun. Fosfat alami yang dimanfaatkan langsung oleh tumbuhan jumlahnya terbatas. Karena fosfat berikatan

dengan unsur logam. Ikatan ini berlangsung secara absorpsi fisik dan presipitasi kimia (Kochian *et al.*, 2004). Pada kondisi tanah masam, fosfat berikatan dengan Fe (Besi) dan Al (aluminium), sedangkan pada kondisi tanah alkali berikatan dengan Ca (kalsium) dan Mg (magnesium) (Vance *et al.*, 2003).

Alternatif penggunaan pupuk fosfat untuk meningkatkan ketersediaan fosfat dapat digunakan, namun cenderung akan terserap oleh tanah dan kurang tersedia untuk tumbuhan (Cordell *et al.*, 2011). Syers *et al.*, (2008) menyatakan pupuk organik yang mengalami proses adsorpsi, presipitasi, dan konversi hanya dapat meningkatkan kebutuhan 10-30% dari tumbuhan. Husnain *et al.*, (2015) menambahkan penggunaan pupuk fosfat secara berlebihan berakibat kehilangan fosfat dalam jumlah tinggi karena adanya drainase air dan *runoff*.

Mikroorganisme Pelarut Fosfat memiliki kemampuan melarutkan fosfat dalam tanah, diantaranya ada fungi (Mittal *et al.*, 2008), bakteri (Naik *et al.*, 2008), dan aktinomisetes (Barreto *et al.*, 2008). Ketiga mikroorganisme tersebut mampu meningkatkan ketersediaan fosfat terlarut sehingga dapat diserap langsung dan produktivitas tanaman meningkat.

Fungi merupakan salah satu mikroorganisme yang sering digunakan sebagai pelarut fosfat. Menurut Sharma *et al.*, (2013), hal ini disebabkan karena fungi memiliki peranan kelarutan fosfat yang lebih tinggi daripada bakteri serta mudah berinteraksi dalam tanah. Kemampuan fungi melarutkan fosfat dibantu oleh proses biologis dengan bantuan enzim fosfatase non-spesifik (NSAPs). Enzim NSAPs banyak dihasilkan oleh mikroorganisme adalah fosfomonoesterase atau fosfatase (Nannipieri *et al.*, 2011). Selain itu, terdapat enzim yang dapat melarutkan fosfat organik dan merubah fitat menjadi fosfor sehingga mudah diserap oleh tanaman pada daerah rizosfer, yaitu enzim fitase (Phytase) (Richardson *et al.*, 2011).

Beberapa dampak positif memanfaatkan fungi sebagai agen biologis pelarut fosfat diantaranya untuk meningkatkan hasil pertanian dan memperbaiki kondisi tanah secara alami (Babalola dan Glick, 2012). Tallapragada dan Seshachala (2012) menyatakan inokulasi mikroorganisme pelarut fosfat dapat meningkatkan penyerapan fosfat yang dengan mudah dapat diaplikasikan dalam lingkup tanaman lapang (pot). Alori *et al.*, (2017) menambahkan mikroorganisme juga dapat sebagai biokontrol dengan menghasilkan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan.

2.3 Fungi Penghasil IAA (Indole-3-Acetic Acid)

Pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan salah satunya dipengaruhi hormon. Hormon tumbuhan terdapat dalam tumbuhan dengan konsentrasi yang rendah. Salah satu yang diisolasi larutan *salkowski* adalah *Indole-3-Acetic Acid*, dimana hormon tersebut termasuk ke dalam fitohormon auksin.

Hormon auksin pada dasarnya berperan dalam pemanjangan akar, batang, dan koleoptil (Sauer *et al.*, 2013) serta memiliki pengaruh penting dalam siklus tanaman (Woodward dan Bonnie, 2005). Segala aspek pemanjangan, pembelahan, dan diferensiasi sel dipengaruhi oleh auksin (Bielezová *et al.*, 2019). Dalam pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan peran auksin penting secara endogen maupun eksogen (Bingsheng *et al.*, 2019). Ludwig-Müller (2011) menyatakan auksin yang paling banyak ditemukan secara endogen adalah IAA. Krause *et al.*, (2015) menambahkan Biosintesis auksin yang paling banyak ditemukan berasal dari Triptofan.

Indole-3-Acetic Acid diproduksi pada bagian meristem apikal tunas dan akar tanaman (Zhao, 2010) merupakan fitohormon yang berperan penting dalam proses pertumbuhan tanaman (Donati *et al.*, 2013). IAA merupakan bentuk auksin yang aktif secara biologis telah diatur dalam tanaman melalui interaksi beberapa jalur, dan melibatkan biosintesis, oksidasi dan hidrolisis IAA, serta pengikatan IAA ke makromolekul seperti karbohidrat dan asam amino (Felten *et al.*, 2012). Auksin konsentrasi tinggi bersifat toksik terutama untuk tumbuhan monokotil seperti golongan rumput-rumputan. Sehingga berpotensi sebagai herbisida (Grossmann, 2010).

Fungi mampu menghasilkan metabolit sekunder yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan, diantaranya ammonia dan hormon tanaman, khususnya *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) (Khan *et al.*, 2012). Fungi penghasil metabolit sekunder memiliki kemampuan berasosiasi dengan tumbuhan dan sebagian besar berasal dari divisi Basidiomycota (Smith, 2008). Asosiasi fungi berada di dalam jaringan tumbuhan dan dikenal dengan fungi endofit. Fungi endofit ini menghasilkan fitohormon yang dapat meningkatkan ketebalan tumbuhan dan melawan mikroorganisme patogen (Kumla *et al.*, 2014).

Hormon IAA dihasilkan oleh fungi melalui proses enzimatik. Enzim spesifik akan terekspresi oleh gen-gen tertentu dengan mengubah bahan dasar triptofan. Berdasarkan Mano dan Nemoto (2012), triptofan adalah hasil biosintesis dari korionat melalui *Indole-3-Acetic Acid* dalam kloroplas.

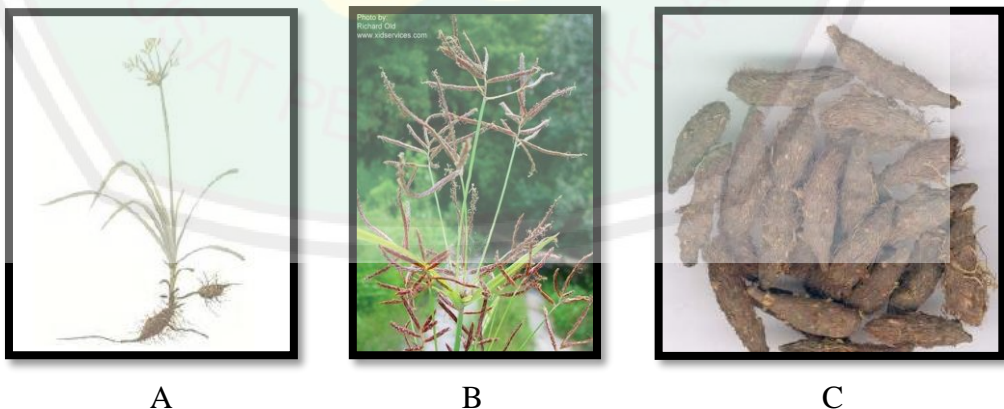
2.4 Rumput Teki

2.4.1 Klasifikasi

Berikut klasifikasi rumput teki (*C. rotundus* L.) (Nalini *et al.*, 2014; Al-Snafi, 2016):

Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Tracheobionta
 Superdivision : Spermatophyta
 Division : Magnoliophyta
 Class : Liliopsida
 Subclass : Commelinidae
 Ordo : Cyperales
 Famili : Cyperaceae
 Genus : *Cyperus* L.
 Spesies : *Cyperus rotundus* L.

2.4.2 Deskripsi botani



Gambar 2.1 A) Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) (Susianti, 2015); B) batang dan bunga (Das *et al.*, 2015); C) rhizoma (Sivapalan dan Jeyadevan, 2017).

Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) termasuk gulma dari famili *Cyperaceae* (Sivapalan, 2013). Genus *Cyperus* merupakan turunan dari *Cypeiros* yang berasal dari Yunani Kuno, sedangkan *rotundus* berasal dari nama latin yang berarti bulat yang mengacu pada bentuk rimpang atau rizoma (Baloch *et al.*, 2015; Kumar, 2016).

Tumbuhan rumput teki termasuk ke dalam divisi Magnoliophyta (Al-snafi, 2016). Sifat utama Magoliophyta yakni Cronquist (1987): (1) memiliki trakea yang berada di dalam xyle; (2) memiliki elemen tapis dan sel pengantar yang berada didalam floem; (3) memiliki kantung embrio sebanyak delapan inti (4) pembuahan ganda; (5) karpel menutup.

Divisi Magnoliophyta merupakan sekumpulan tumbuhan yang berbiji tertutup. Terdiri dari dua golongan yakni tumbuhan berkeping biji satu (Monocotyledon) dan tumbuhan berkeping biji dua (Dicotyledon). Rumput teki termasuk kelompok tumbuhan berkeping biji satu (Monocotyledon) (Bajpay *et al.*, 2018). Berdasarkan aturan Kode Internasional Tatanama Tumbuhan (KITT), maka digunakan nama latin pada akhiran tiap kategori dengan opsida (kelas) dan idea (anak kelas), yakni Magnoliopsida untuk tumbuhan berkeping biji dua, dan liliopsidae untuk tumbuhan berkeping biji satu (Verheij dan Coronel, 1997).

Kelas Liliopsida memiliki sifat utama antara lain berkeping biji satu yang disebabkan karena pengurangan satu kotiledon yang digunakan untuk nutrisi dalam biji, sebagian besar tersusun atas tumbuhan herba dan sedikit tumbuhan berkayu, sistem perakaran serabut (perakaran adventif), tidak terjadi pertumbuhan sekunder karena tidak memiliki kambium, umumnya tulang daunnya sejajar (daun paralel), helaian daun ukurannya kecil dengan tangkai pendek dan memiliki pelepah, dan polen biasanya uniaperture (punya satu lubang) dan plastid tipe P yang mengandung protein (Daniel, 2011).

Kelas Liliopsida terdiri dari 5 subkelas, yang terdiri dari Alismatidae, Arecidae, Commelinidae/Cyperidae, Zingiberidae, dan Lilidae. Rumput teki termasuk ke dalam Commelinidae/Cyperidae. Subkelas ini tersusun dari 75% family Poaceae dan 90% family Cyperaceae. Dengan 15.881 spesies dari 834 genus yang ada. Penyerbukan tumbuhan yang termasuk subkelas ini dilakukan dengan bantuan angin, air, atau tumbuhan itu sendiri (Daniel, 2011).

Rumput teki memiliki nama lain *Chlorocyperus rotundus* (L.) Palla, *Cyperus rotundus* Willd. ex Spreng & Link, *Cyperus arabicus* Ehrenb, ex Boeckeler, *Cyperus badius* var. *inconspicuus* (Nyman) Nyman, *Cyperus bicolor* Vahl. Nama umum tumbuhan ini diantaranya adalah Nutgrass, Nutsedge, Purple Nutsedge, Red Nutsedge, Brown Nutsedge, Coco Grass, Java Grass, dan Ground Almond. Di Indonesia memiliki nama lokal diantaranya yaitu Teki (Secara umum), Mota (Madura), dan Karelawai (Sumba), sedangkan di Jawa memiliki nama lain lalang, tekan, dan urek-urek polo (Purwatiningsih, 2014).

2.4.3 Morfologi

Rumput Teki (*Cyperus rotundus*) memiliki batang berbentuk segitiga saat dilihat dari atas (Purwatiningsih, 2014). Tinggi batang rumput ini sekitar 30–40 cm (Susianti, 2015). Tumbuhan ini termasuk batang semu menahun dengan ketinggian 10-95 cm (Purwatiningsih, 2014).

Rumput teki memiliki daun yang berkumpul pada pangkal batang (roset batang) dengan pelepah daun tertutup tanah memiliki 4-10 helai. Daun berbentuk linier, bagian permukaan beralur panjang, dan berwarna hijau tua (Sivapalan, 2013). Daun berbentuk bersilang sejajar dengan panjang 10-30 cm dan lebar 3-6 cm dan pada permukaan bagian atas berwarna hijau mengkilat. Daun rumput ini kebanyakan basal dan meruncing pada bagian ujung (Kumar, 2016).

Organ lain yang dimiliki rumput teki adalah bunga. Bunga rumput teki berwarna ungu dengan tinggi 10-30 cm (Lehnier, 1984). Jenis bunga rumput ini adalah majemuk pada ujung batang. Bunga ini berbentuk bulir dan memiliki panjang 1-3 cm serta lebar 2 mm. Benang sari berjumlah 3 dengan kepala sari berwarna merah. Sedangkan putik berwarna coklat dan panjang sekitar 1,5 cm (Susianti, 2015).

Warna bunga rumput teki awalnya ungu namun dapat berubah menjadi coklat merah dan perbungaan ditanggung pada penampang batang berbentuk segitiga. Biasanya bunga lebih tinggi dari dedaunan. Periode pembungaan terjadi pada bulan April hingga Oktober (Baloch *et al.*, 2015). Proses penyerbukan biasanya dilakukan oleh angin, air atau tumbuhan itu sendiri, sehingga biji yang berbentuk kacang dapat tumbuh sepanjang tahun terutama pada musim hujan (Kumar, 2016).

Struktur unik yang dimiliki rumput teki adalah adanya rizoma atau rimpang yang digunakan sebagai alat perkembang biakan vegetatif (Das *et al.*, 2015). Rizoma rumput ini bersisik, merayap, dan berbentuk bulat pada bagian bawah dan rimpang berasal dari umbi dengan sendirinya yang panjangnya sekitar 1-3 cm (Sivapalan, 2013) dan diameter sekitar 0,8 – 1,6 cm (Das *et al.*, 2015). Rizoma akan berwarna putih berdaging dan tertutupi sisik daun saat usia muda, namun saat sudah tua berwarna coklat dan berkayu. Rizoma yang muncul di permukaan tanah akan membengkak disebut *basal bulb* dan kemudian menjadi tumbuhan baru (Hall *et al.*, 2009). Rizoma rumput ini memiliki tekstur berkerut atau berlekuk, dengan bentuk lonjong atau bulat dan memiliki bau rempah yang khas (Susianti, 2015).

2.4.4 Distribusi dan habitat

Rumput Teki (*C. rotundus* L.) berasal dari India namun penyebarannya lebih luas hingga ke seluruh bagian utara yakni Austria (Bajpay *et al.*, 2018). Ditemukan di daerah tropis, sedang, maupun subtropis di seluruh dunia (Sivapalan dan Jeyadevan, 2017). Selain itu dapat ditemukan pada lahan pertanian, tepi sungai, lahan kosong, bahkan di tanah berpasir. Rumput ini dapat tumbuh pada ketinggian 2000-3000 di atas permukaan laut (Purwantiningsih, 2014).

Rumput teki termasuk golongan gulma yang sulit diberantas (Purwantiningsih, 2014). Kata gulma berasal dari terjemahan dari bahasa Inggris *weed* (tumbuhan pengganggu). Gulma dapat didefinisikan sebagai tumbuhan pada habitat yang tidak dikehendaki. Berdasarkan umurnya, rumput teki termasuk tumbuhan gulma yang dapat hidup hampir tidak ada batasnya bahkan lebih dari dua tahun atau disebut gulma tahunan (*perennial weed*) (Sivapalan, 2013).

Keberadaan rumput teki sering mengganggu tumbuhan yang ada di sekitarnya (Matnawy, 1989). Bahkan sangat sulit dikendalikan dengan strategi organik maupun konvensional (Kumar, 2016). Hal ini disebabkan karena tumbuhan ini memiliki daya adaptasi yang tinggi (Pranasari *et al.*, 2012). Daya adaptasi tumbuhan ini juga baik terhadap derajat keasaman (pH) tanah, suhu, ketinggian dan tingkat kelembapan (Hall *et al.*, 2009; Bajpay *et al.*, (2018). Namun pertumbuhan terbaik tumbuhan ini pada tanah subur yang lembab.

2.4.5 Manfaat dan kegunaan

Berdasarkan studi fitokimia, secara kuantitatif ekstrak tumbuhan rumput teki mampu menghasilkan senyawa fitokimia utama, antara lain terpenoid, minyak esensial, flavonoid, kumarin, tanin, monoterpen, sesquiterpenoid, lemak, sitosterol, alkaloid dan polifenol (Singh *et al.*, 2012). Ekstrak rumput teki dapat digunakan sebagai pembasmi serangga merugikan, contohnya dapat menekan pertumbuhan dari nyamuk *Aedes aegypti* pada fase larva maupun dewasa (Al-massarani *et al.*, 2016). Nyamuk ini merupakan vektor penyebab beberapa penyakit, antara lain demam kuning, demam berdarah, dan virus zika. Sehingga ekstrak tumbuhan rumput teki mampu mencegah penyakit tersebut (Campos *et al.*, 2015; Benelli dan Mehlhorn, 2016).

Secara medis eksplorasi terhadap aktifitas fitokimia rumput teki sudah diketahui dalam menekan maupun mengurangi beberapa gejala penyakit, antara lain sebagai anti inflamasi (Chithran *et al.*, 2012), antioksidan (Pal dan Dutta, 2006), anti diare (Daswani *et al.*, 2011), antidiabetes (Raut dan Gaikwad, 2006), anti obesitas (Athesh *et al.*, 2014), penyembuh luka (Puratchikody *et al.*, 2006), anti mikroorganisme (Sharma dan Singh, 2011). Selain itu, rumput teki juga berguna di bidang pertanian. Sifat alelokimia yang terkandung dalam tumbuhan ini berpotensi sebagai pestisida alami (Macías *et al.*, 2007). Juga mengandung aktivitas hipotensi, aktivitas hepatoprotektif, dampak sitoprotektif, dan aktivitas gastroprotektif (Duarte *et al.*, 2005).

2.5 Identifikasi molekuler dengan Internal Transcribed Spacer (ITS)

Informasi genetik disimpan dalam *Deoxyribonucleic acid* (DNA). Informasi genetik disalin dan dipindah pada molekul RNA, kode yang terkandung dalam sekuen nukleotida untuk sekuen asam amino yang khas. dilanjutkan proses translasi protein dari RNA. Menurut Nicholas (1993) dalam inti sel organisme tinggi baik manusia, hewan, dan tumbuhan terdapat DNA dan beberapa organel lainnya seperti mitokondria, kloroplas.

Proses identifikasi mikroba yakni dengan identifikasi secara morfologi, fisiologi, dan metabolisme. Secara morfologi, identifikasi dapat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Namun waktu yang dibutuhkan terlalu lama dan

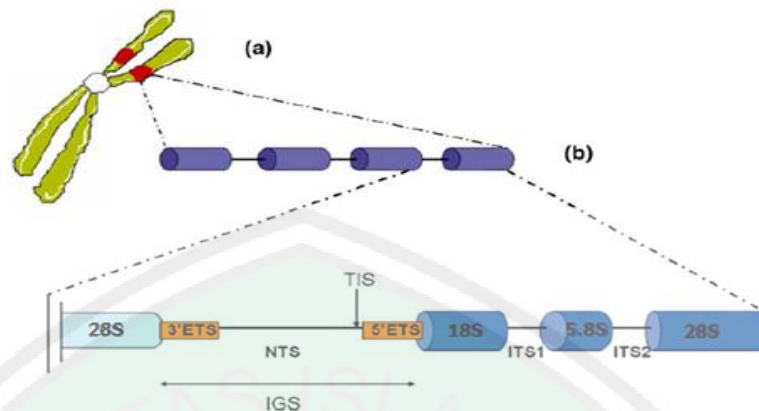
dinilai tidak akurat, sehingga terdapat metode yang lebih berkembang yakni dengan metode secara molekuler. Menurut Singh *et al.* (2012) identifikasi morfologi mengakibatkan terjadinya kesalahan dalam proses identifikasi pada spesies-spesies yang memiliki kekerabatan dekat. Oleh sebab itu, perlu dilakukan identifikasi secara molekuler karena akan memperoleh hasil yang akurat dan tepat (Fell *et al.*, 2000). Tahapan metode molekuler yaitu ekstraksi DNA, analisis kuantitatif dan kualitatif, amplifikasi DNA, sekuensing, dan pembuatan pohon filogenetik. Analisis molekuler ini menggunakan sekuens DNA ribosomal (rDNA) daerah *Internal Transcribe Spacer* (ITS).

Sekuensing DNA ribosomal digunakan dalam analisis filogenetik dengan tujuan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar spesies. Hasil analisa ini dapat membantu dalam memberikan informasi adanya kemungkinan kesamaan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan inang lainnya

Salah satu karakter molekuler yang dapat digunakan untuk identifikasi adalah genom nuklear. DNA ribosomal atau rDNA merupakan bagian dari genom nuklear yang digunakan untuk menyimpulkan suatu filogenetik. rDNA sendiri merupakan genom yang mengkode RNA ribosomal atau rRNA (Osterbauer dan Rehms, 2002). DNA ribosomal (rDNA) merupakan daerah yang digunakan sebagai penyandi genom untuk komponen RNA ribosom. Deret rDNA pada eukariotik terletak pada inti sel/nukleus dan mitokondria. Antara satu dengan yang lain, daerah rDNA dipisahkan dengan suatu pembatas yang disebut dengan (Mulyatni *et al.*, 2011). DNA ribosomal merupakan daerah yang berada di dalam DNA nuclear yang digunakan untuk mengkode ribosom.

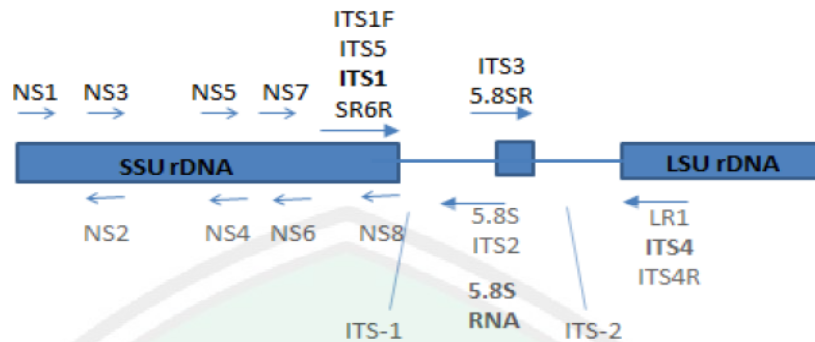
Organel sel yang berperan dalam sintesis protein adalah ribosom. Wilayah ribosom rDNA tersusun atas subunit kecil (18S) dan subunit besar (28S) (Gambar 2.2). Subunit rDNA kecil maupun besar dipisahkan oleh ETS (*External Transcribed Spacer*) dan IGS (*Intergenic Spacer*). Kedua pembatas tersebut dikenal dengan NTS (*nontranscribed spacer*). Sehingga urutan nukleotida rDNA terdapat dua daerah *non-coding* (ITS1 dan ITS2) dan gen 5,8S rDNA (Gambar 2.2). Pada gen 5,8S rDNA sangat *conserved*, namun daerah ITS lainnya sangat bervariasi dan tidak dapat ditranslasi menjadi protein. Daerah konservatif pada rDNA fungi berupa

gen penyandi rRNA 18S, 5.8S dan 28S dimana diantaranya terdapat daerah ITS (*Internal Transcribed Spacer*) (Articus, 2004).



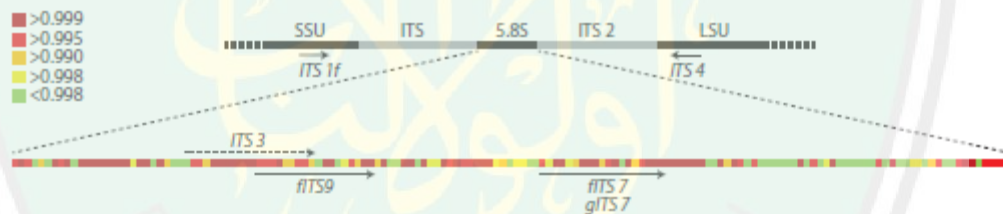
Gambar 2.2 Skema struktur universal wilayah rDNA (a) Kromosom lokasi wilayah rDNA. (b) Tandem array (18S - 5.8S - 26S). Dalam array tandem setiap blok gen dipisahkan oleh *Intergenic spacer* (IGS) yang terdiri dari 5' dan 3' berakhir di *External Transcribed Spacer* (ETS)). Dua daerah ETS dipisahkan oleh daerah *nontranscribed* (NTS). Transkripsi awal situs (TIS) berada pada posisi awal 5' ETS. *Small Subunit* (18S) dan gen *Large subunit* (5.8S dan 28S) dipisahkan *Internal Transcribed Spacer 1* (ITS1) dan *Internal Transcribed Spacer 2* (ITS2) (Poczai dan Hyvönen, 2010).

Satu rangkaian kromosom unit rDNA mempunyai sekuen pengkode yaitu 18S, 5.8S, dan 28S yang mengapit ITS1 dan ITS2 (Soltis dan Soltis, 1998). Daerah pengkode yang sangat terkonservasi (18S, 28S rDNA) adalah daerah evolusi utama yang sering digunakan sebagai pembandingan tingkat genus dan spesies. Gen 18S rDNA, dua daerah ITS, dan gen 5.8S rDNA memiliki panjang 2600 bp, sedangkan gen 28S rDNA memiliki panjang 3300 bp (McCullough *et al.*, 1998). Primer sekuen rDNA yang dapat digunakan untuk amplifikasi adalah SSU, ITS1, 5.8S, ITS2, dan LSU rDNA (Gambar 2.3) (Fajarningsih, 2017).



Gambar 2.3 Diagram lokasi primer dalam ribosom yang terdiri dari SSU, ITS1, 5.8S, ITS2, dan LSU rDNA

Primer ITS1 dikombinasikan dengan ITS4 untuk menghasilkan amplicon dengan menjangkau seluruh wilayah ITS, hasilnya dinyatakan berhasil dalam membuktikan sekuens jamur dibandingkan dengan DNA organisme lainnya. Sehingga kombinasi ini menjangkau seluruh ITS1 dan seluruh wilayah 5,8S (Ihrmark et al., 2012) (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Gen ribosom dan wilayah target primer PCR. Daerah 5,8S menunjukkan frekuensi nukleotida yang paling umum diantara 140.000 sekuens jamur yang sesuai

Dari tiga bagian wilayah ITS yaitu ITS 1 dan ITS2 serta daerah *conserved* 5.8S, masing-masing daerah memiliki primer gen yang berbeda. Berikut daerah beserta primer yang digunakan (Tabel 2.2) (White *et al.*, 1990).

Tabel 2.2 Sekuen primer daerah ITS dan suhu anealing

Gene Primer	Primer Sequence	T _m (°C)
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	65
ITS2	GCTGCGTTCTTCATCGATGC	62
ITS3	GCATCGATGAAGAACGCAGC	62
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	58
ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	63
ITS1-F	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	55
ITS4-B	CAGGAGACTTGTACACGGTCCAG	67

ITS (*Internal Transcribed Spacer*) merupakan daerah sekuen DNA yang dapat menyandikan protein fungsional yang berada di daerah RNA ribosomal. Memiliki variasi sekuens yang tinggi meskipun pada spesies yang sama sehingga digunakan sebagai penanda genetika. ITS banyak digunakan untuk analisis filogenetik, penentuan indentitas taksonomi, dan proses evolusi karena hampir semua fungi mempunyai ITS rDNA (Purnamasari *et al.*, 2012). Pada rekonstruksi filogenetik fokus pada daerah 18S-28S rDNA nuklear, hal ini disebabkan ITS tingkat variasi lebih tinggi dibandingkan dengan daerah yang lainnya pada daerah DNA ribosomal baik subunit besar maupun kecil (Soltis dan Soltis, 1998).

2.6 Filogenetik

Filogenetika merupakan suatu ilmu kombinasi antara teknik biologi molekuler dengan ilmu komputasi untuk merekonstruksi hubungan filogenetik (Hidayat dan Adi, 2006; Widodo *et al.*, 2018). Data yang digunakan berupa sekuen DNA dan dapat diterapkan pada semua tingkatan taksonomi, misalnya famili, marga, dan spesies.

Penggunaan DNA dalam analisis filogenetik disebabkan adanya perubahan basa nukleotida berdasarkan waktu, sehingga dapat diperkirakan kecepatan evolusi maupun hubungan evolusi yang terjadi. Selain itu, alasan yang mendukung sekuen DNA digunakan dalam filogenetik antara lain DNA merupakan unit dasar informasi yang mengkode organisme; relatif mudah mengekstrak dan menghubungkan informasi tentang proses evolusi; sequence DNA menyediakan banyak character

state; dan sequence DNA telah terbukti dapat menjelaskan hubungan kekerabatan secara alami (Widodo *et al.*, 2018).

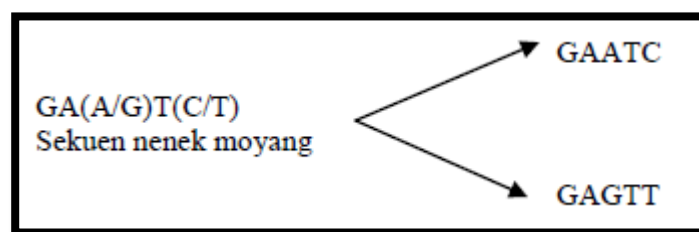
Proses evolusi juga mengakibatkan perubahan sebuah keturunan dari nenek moyangnya (Estarbrook, 1984). Hubungan evolusi antara nenek moyang dengan keturunan dapat dianalisis berdasarkan kemiripan karakter karena hal ini dapat digunakan sebagai dasar perbandingan (Lipscomb, 1998). Sehingga untuk membentuk spesies yang baru, proses evolusi melibatkan mutasi genetik dan proses rekombinan. Sedangkan untuk menganalisis hubungan antara satu spesies dengan spesies lain dibutuhkan karakter yang sama (Schmidt, 2003).

Hasil analisis ini berupa sistem percabangan yang biasa disebut dengan pohon filogenetika karena seperti diagram pohon. Jenis analisis diketahui baik merupakan analisis filogenetik atau kladistik yang berarti kelompok atau klade keturunan berasal dari nenek moyang yang sama (Brinkman dan Laeipe, 2001).

Pohon filogenetik merupakan grafik yang digunakan untuk menunjukkan adanya hubungan kekerabatan antartaksa yang tersusun dari sejumlah nodus dan cabang dengan satu cabang menghubungkan dua nodus yang saling berdekatan. Setiap nodus menunjukkan unit taksonomi dan setiap cabang menunjukkan hubungan antar unit yang menggambarkan hubungan keturunan dengan nenek moyang. Pola percabangan yang terbentuk dalam pohon filogenetik disebut dengan topologi (Dewi, 2012).

2.6.1 Hubungan analisis filogenetika dengan pensejajaran sekuens (*alignment*)

Dua organisme yang berbeda memiliki kemiripan dengan sekuens nukleotida atau protein, diduga berasal dari sekuens *common ancestor*. Sekuens pensejajaran menunjukkan dimana letak sekuens tidak berubah/*conserved* dan *divergent*/berkembang menjadi berbeda dari *common ancestor* (Mount, 2001). Sekuens A dan B diasumsikan berasal dari nenek moyang yang sama (*common ancestor*) (Gambar 2.5), hasilnya berupa dua sekuens yang berubah.



Gambar 2.5 Sekuen A dan B berasal dari nenek moyang yang sama (*common ancestor*)

Proses pensejajaran bertujuan untuk mencocokkan karakter sekuen yang homolog (sekuen dengan nenek moyang yang sama) (Kemena dan Notredame, 2009). Ketika menghomologikan sekuen, kolom dari penjejeran dapat digunakan untuk berbagai macam aplikasi seperti mengidentifikasi residu dengan struktur yang *analog* atau yang mempunyai fungsi yang serupa atau untuk mengkonstruksi pohon filogenetika. Akurasi dari program penjejeran sekuen yang lebih dari dua set/*multiple sequence alignment* telah dihasilkan oleh berbagai macam studi komperatif (Blackshields *et al.*, 2006; Edgar dan Batzoglou, 2006).

Multiple sequence alignment merupakan metode paling umum digunakan dengan melakukan pensejajaran kelompok sekuen yang mempunyai hubungan dekat dan kemudian secara sekuensial ditambahkan sekuen yang berhubungan namun lebih berbeda. Penjejeran yang diperoleh diakibatkan karena sebagian besar sekuen yang mirip dalam kelompok sehingga tidak merepresentasikan sejarah yang sesungguhnya dari perubahan evolusi yang telah terjadi. Sebagian besar metode analisis filogenetika mengasumsikan bahwa masing-masing posisi sekuen protein atau asam nukleat yang berubah secara independen satu sama yang lain (kecuali evolusi sekuen RNA) (Hidayat dan Adi, 2006).

Seringkali hasil penjejeran sekuen memperlihatkan adanya *gap*. *Gap* dalam penjejeran menunjukkan adanya mutasi dalam sekuen termasuk insersi, delesi atau penyusunan ulang materi genetik. *Gap* diberi perlakuan (*treated*) dalam beberapa program filogenetik, tetapi tidak ada *clear-cut model* seperti bagaimana seharusnya mereka di perlakukan. Beberapa metode mengabaikan *gap* yang terjadi atau hanya memfokuskan dalam penjejeran yang tidak mempunyai *gap*. Meskipun *gap* dapat berguna sebagai petanda filogenetik di beberapa situasi (Hidayat dan Adi, 2006).

Pendekatan lainnya untuk menangani *gap* yaitu dengan mencegah analisis situs individu dalam penjejeran sekuen, dan menggantikan dengan menggunakan skoring kemiripan/*similarity score* sebagai dasar dari analisis filogenetika (Hidayat dan Adi, 2006). Dalam mengkonstruksi pohon filogenetika dapat diklasifikasikan menjadi 2 kategori yang digunakan sebagai strategi untuk menghasilkan pohon filogenetika terbaik. Kategori pertama adalah memeriksa semua atau sejumlah besar kemungkinan pohon filogenetika dan memilih satu yang terbaik dengan kriteria-kriteria tertentu (Metode *exhaustivesearch*). Metode *maximum parsimony*, *Fitch Margoliash* dan *maximum likelihood* termasuk dalam kategori ini. Kategori yang kedua adalah memeriksa hubungan topologi lokal dari pohon dan mengkonstruksi pohon terbaik dengan langkah demi langkah. Metode *Neighbor-joining* dan beberapa metode *Distance* lainnya adalah termasuk dalam kategori yang kedua ini (Widodo *et al*, 2018).

2.6.2 Metode *neighbor joining* (NJ)

Metode ini sangat mirip dengan metode *Fitch dan Margoliash* kecuali dalam hal pemilihan sekuen untuk berpasangan dimana ditentukan oleh perbedaan algoritma. Metode *Neighbor Joining* (NJ) sangat cocok ketika rata-rata evolusi dari pemisahan *lineage* adalah di bawah pertimbangan yang berbeda-beda. Ketika panjang cabang dari pohon yang diketahui topologinya berubah dengan cara menstimulasi tingkat yang bervariasi dari perubahan evolusi, metode *neighbor joining* adalah yang paling cocok untuk memprediksi pohon dengan benar (Saitou dan Nei, 1987). Metode ini memilih sekuen yang jika digabungkan akan memberikan estimasi terbaik dari panjang cabang yang paling dekat merefleksikan jarak yang nyata diantara sekuen (Dharmayanti, 2011).

2.6.3 Metode *bootstrap*

Metode *bootstrap* dilakukan dengan *resampled* data secara random, memilih kolom vertikal dari sekuen yang dijejerkan untuk menghasilkan pensejajaran dengan panjang yang sama. Masing-masing kolom digunakan lebih dari satu kali dan beberapa kolom mungkin tidak digunakan pada semua penjejeran yang baru. Pohon-pohon kemudian diprediksi dari beberapa penjejeran ini dari *resampled*

sekuen (Felsenstein, 1988). Untuk cabang-cabang dalam topologi filogenetika yang diprediksi menjadi signifikan jika set data *resampled* seharusnya berulang kali (sebagai contoh >70%) memprediksi cabang-cabang yang sama (Dharmayanti, 2011).

Analisa yang digunakan dengan metode yang menguji seberapa baik set data model. Sebagai contoh validitas penyusunan cabang dalam prediksi pohon filogenetik dapat diuji dengan *resampled* dari kolom dalam *multiple sequence alignment* untuk membentuk beberapa penjejeran baru. Penampakan cabang dalam pohon dari sekuen *resampled* ini dapat diukur. Alternatifnya, sekuen kemungkinan harus dikeluarkan dari analisis untuk menentukan berapa banyak sekuen yang mempengaruhi hasil dari analisis. *Bootstrap analysis* didukung oleh sebagian besar paket software menguji cabang-cabang yang dapat dipercaya (Dharmayanti, 2011). Metode sampling ulang (*resampling*) dari data yang telah ada yang dikenal dengan analisis *bootstrap* untuk menguji validitas konstruksi pohon filogenetika (Dharmayanti, 2011). *Bootstrap* digunakan untuk mengevaluasi kestabilan cabang. Nilai *bootstrap* dilakukan untuk mengevaluasi kestabilan cabang. Pada pohon filogenetikan nilai *bootstrap* dikatakan stabil jika *bootstrap* nilai *bootstrap* (>90%), sedangkan nilai *bootstrap* dikatakan rendah jika (<70%) pada (Osawa *et al.*, 2004).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif. Dengan menganalisis fungi endofit rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) yang diperoleh dari area perkebunan Desa Oro-Oro Ombo, Kecamatan Junrejo, Kota Batu. Hasil isolasi fungi endofit diremajakan dan diisolasi DNA untuk dianalisis secara kuantitatif dan kualitatif. Analisis kuantitatif menggunakan nanodrop spektrofotometri. Analisis kualitatif hasil isolasi DNA maupun visualisasi hasil PCR menggunakan elektroforesis gel agarose. Analisis molekuler menggunakan sekuen rDNA daerah ITS (*Internal Transcribed Spacer*).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan bulan Februari-April 2020. Dilakukan dengan mengisolasi fungi endofit pelarut fosfat dan penghasil IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) dan isolasi DNA fungi endofit pelarut fosfat dan penghasil IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) pada rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus*).

Isolasi dan peremajaan fungi endofit bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Isolasi DNA fungi endofit dilakukan di Laboratorium Genetika dan Riset, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Tahapan sekuensing dilakukan dengan mengirim sampel ke Bioneer Korea Selatan.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah korek api, api bunsen, pipet, pinset, plastik tahan panas, tisu, cawan petri, erlenmeyer, gelas beker, corong, gelas ukur, *Laminar Air Flow* (LAF), *shaker* (Benchmark Scientific Orbi-Shaker JR BT302), *autoclave*, botol falkon, *hotplate* (Thermo Scientific), stirer, vortex, timbangan analitik (Sartorius), *ice box*, oven *heraeus* (Thermo Scientific), mortar dan alu steril, tabung nitrogen cair, spatula, sterofoam, *waterbath* (Memmert),

microwave (U-Rolux), ultrasentrifugase (Thermo Scientific), mini centrifuge (DLAB), mikropipet (BIO-RAD), tip, Tube PCR, tube 1.5 ml, tube 2 ml, *freezer*, *nanodrops* (Nano200 UV/Vis Micro-Spectrophotometer), *My Cycler thermal cycler* (BioRad), Gel DocTM (XR Imaging System BIO-RAD), *Spindle* (Wealtec E-Centrifuge), elektroforesis vertical (BIO-RAD), sisir, dan cetakan gel.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2 isolat fungi endofit rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) yaitu URT 1 dan URT4 hasil identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis, PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Himedia), PDB (*Potato Dextrose Broth*) (Himedia), antibiotik kloramfenikol (IndoFarma), aquades, ethanol 70% (OneMed), kertas saring, plastik wrab, alumunium foil, spuit 10 ml, agarose, Loading dye (Thermo Scientific), PCR Mix (GoTaq® Green Master Mix), *Nuclease Free Water* (Promega), Primer ITS-1 dan ITS-4, buffer 2x CTAB {formula: 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 2% CTAB, 2% PVP, dan 0.2% β -mercaptoethanol}, kloroform, isoamil alkohol (AppliChem), NaOH, NaCl, HCl pekat, Tris Base, EDTA (Bio World), PVP (Sigma-Aldrich), CTAB (AppliChem), β -mercaptoethanol (Sigma Life Science), parafilm, *agarose*, TAE 10x, 1kb ladder (NexTM Diagnostics), *amonium asetat*, Isopropanol, elution buffer, *ethanol absolute*, dan *ethidium bromida* (EtBr) (Sigma-Aldrich).

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Media

3.4.1.1 Media PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Ditimbang serbuk PDA *instant* sebanyak 9,75 gram. Dimasukkan serbuk PDA *instant* ke dalam labu erlenmeyer yang berisi akuades 250 ml. Media dipanaskan di atas *hotplate* dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut. Saat proses pemanasan, ditambahkan kloramfenikol sebanyak 1 kapsul 250 mg. Setelah larut, diberi penutup kapas dan kasa pada mulut labu erlenmeyer. Media disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C tekanan 1 atm.

3.4.1.2 Media PDB (*Potato Dextrose Broth*)

Ditimbang serbuk PDB *instant* sebanyak 6 gram. Dimasukkan serbuk PDB *instant* ke dalam labu erlenmeyer yang berisi akuades 250 ml. Media dipanaskan di atas *hotplate* dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut. Saat proses pemanasan, ditambahkan klorampenikol sebanyak 1 kapsul 250 mg. Setelah larut, diberi penutup kapas dan kasa pada mulut labu erlenmeyer. Media di sterilkan menggunakan autoklaf autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C tekanan 1 atm.

3.4.2 Peremajaan Fungi Endofit

Koloni jamur yang tumbuh dalam media penyimpanan, diambil 200 ul dan diinokulasikan ke dalam cawan petri yang terdapat media PDA yang baru. Diinkubasi suhu ruang selama 3-7 hari. Fungi yang sudah murni diinokulasikan ke dalam media cair PDB untuk bahan isolasi DNA. Diinkubasi selama 3-7 hari di shaker dengan kecepatan 150 rpm (Syamsia *et al.*, 2015).

3.4.3 Identifikasi Isolat Fungi Endofit

Berdasarkan 2 isolat fungi endofit yang telah diidentifikasi secara morfologi mikroskopis dan makroskopis, dilanjutkan dengan identifikasi isolat fungi endofit secara molekuler. Tujuan identifikasi isolat fungi endofit secara molekuler adalah untuk mengetahui jenis fungi endofit berdasarkan karakteristik isolat fungi endofit.

3.4.3.1 Identifikasi Molekuler

3.4.3.1.1 Isolasi DNA total

Ada 3 tahap dalam ekstraksi DNA yaitu tahap perusakan dinding sel (lisis sel), proses pemisahan atau pemurnian DNA (purifikasi), dan proses pengendapan DNA (presipitasi) (Surzycki, 2000; Ferniah dan Pujiyanto, 2013; Kamaliah, 2017). Dinding sel fungi tersusun atas senyawa kitin yang kokoh dan resisten terhadap enzim (Ruchi *et al.*, 2019). Sehingga harus dilakukan pemecahan dinding sel untuk mengeluarkan DNA. Penghancuran dinding sel dapat dilakukan dengan cara mekanik dan kimiawi. Salah satu cara mekanik yang digunakan yaitu penggerusan (*grinding*) menggunakan nitrogen cair. Menurut Murtiyaningsih, (2017), nitrogen cair memiliki suhu -196°C sehingga dapat membekukan sel dan mampu

menonaktifkan kerja enzim nuklease yang berfungsi dalam pemotongan DNA. Adapun proses secara kimiawi dilakukan dengan menambahkan buffer CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) yang berfungsi untuk melisiskan dinding sel maupun membran yang mengandung komponen berupa lipid dan protein (Zhang *et al.*, 2010; Aamir *et al.*, 2015).

Tahap pertama miselium fungi endofit yang berumur 7 hari diambil sebanyak 100 mg. Diletakkan dalam mortal steril dan digerus hingga halus. Kemudian dipindahkan ke dalam tube 2 ml. Ditambahkan 1000 μ l buffer 2x CTAB dan divortex. Diinkubasi dalam waterbath pada suhu 65°C selama 60 menit. Menurut Syafaruddin *et al.*, (2011), inkubasi 65°C berfungsi mengoptimalkan cara kerja buffer ekstraksi yang ditambahkan ke dalam sampel.

Selanjutnya tahap pemurnian dengan menambahkan kloroform. Fungsi kloroform pada tahap purifikasi (pemurnian) yaitu sebagai pelarut lipid, protein, dan menghilangkan komponen fenolik dan debris sel (Niu *et al.*, 2008; Murtiyaningsih, 2017). Sedangkan isoamil alkohol untuk memisahkan DNA dari kontaminan (Syafaruddin dan Santoso, 2011).

Ditambahkan 900 μ l kloroform:isoamil alkohol (24:1). Diinkubasi suhu ruang selama 1 jam. Selanjutnya disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 13000 rpm. Supernatant diambil dan dipindah dalam tube 1,5 ml yang baru. Ditambahkan 1x volume kloroform:isoamil alkohol (24:1), selanjutnya disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 13000 rpm. Supernatant diambil dan dimasukkan ke dalam tube 1.5 ml.

Selanjutnya tahap presipitasi dengan menggunakan isopropanol (Zhang *et al.*, 2010; Aamir *et al.*, 2015). Ditambahkan isopropanol 2/3 volume supernatant. Didiamkan semalam pada suhu -4°C. Disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 13000 rpm. Supernatant dibuang dan pellet dicuci menggunakan 500 μ l *ethanol absolute*. Kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 13000 rpm dan supernatant dibuang. Selanjutnya dikeringkan menggunakan oven pada suhu 25°C. Elution Buffer sebanyak 20 μ l ditambahkan dan disimpan pada suhu -4°C.

3.4.3.1.2 Analisis Kuantitatif DNA

Analisis kuantitatif DNA menggunakan nanodrops AE-Nano200 Nucleid Acid Abalyzert versi 2.0. Prinsip kerja nanodrop spektrofotometri adalah menghitung perbedaan cahaya ultraviolet, dimana untaian pita DNA mampu menyerap cahaya dengan panjang gelombang 260 nm, karena DNA mengandung basa purin dan pirimidin (Fatchiyah *et al.*, 2011; Hikmatyar *et al.*, 2015). Sedangkan kontaminan protein mampu menyerap gelombang cahaya pada panjang 280 nm (Harahap, 2017). Sehingga untuk menghitung nilai kemurnian DNA ditentukan dengan menghitung rasio absorbansi $\text{Å}260/\text{Å}280$ (Mot'ková dan Vyřasová, 2011; Tripathy *et al.*, 2017), sedangkan kontaminasi polisakarida dengan menghitung rasio $\text{Å}260/\text{Å}230$ (Varma *et al.*, 2007; Sahu *et al.*, 2012).

Hasil isolasi DNA dikatakan murni apabila nilai absorbansi $\text{Å}260/\text{Å}280$ adalah 1,8-2,0 dan rasio absorbansi $\text{Å}260/\text{Å}230$ berkisar antara 2,0-2,2 (Vitória *et al.*, 2010; Murtiyaningsih, 2017). Apabila nilai absorbansi $\text{Å}260/\text{Å}280$ adalah kurang dari 1,8 dipastikan isolat tersebut menunjukkan kontaminasi protein, sedangkan jika nilai absorbansi lebih dari 2,0 menunjukkan kontaminasi RNA (Sambrook dan Russell, 2001; Puchooa dan Shahnoo, 2004).

3.4.3.1.3 Analisis Kualitatif DNA

Analisis kualitatif DNA dapat ditentukan menggunakan elektroforesis gel agarosa (Aamir *et al.*, 2015; Tripathy *et al.*, 2017). Prinsip kerja elektroforesis memanfaatkan muatan listrik, dimana DNA yang bermuatan negatif akan bergerak ke arah yang berlawanan yaitu kutub positif (Hikmatyar *et al.*, 2015). Pembuatan gel agarose konsentrasi 1% dilakukan dengan melarutkan bubuk agarosa 0.4 gr ke dalam 40 ml buffer TAE 1X. Gel agarosa didihkan menggunakan microwave hingga larut dan berubah warna menjadi bening.

Kemudian ditambahkan 2 μl EtBr dan dituangkan dalam cetakan gel (*tray*) yang sudah ditaruh sisir (*comb*) sebelumnya, sebagai tempat aplikasi sampel. Gel agarose dibiarkan mengeras selama 30 menit pada suhu ruang. Gel dan cetakan direndam di dalam buffer TAE 1X yang terdapat pada kolom elektroforesis.

Diambil sampel hasil isolasi sebanyak 3 μl dan dicampur 1 μl *loading dye* dengan perbandingan 3:1. Selanjutnya campuran tersebut dimasukkan ke dalam

sumuran dengan hati-hati. Disediakan satu sumur untuk kontrol yang berisi *Nuclease Free Water*. Diatur elektroforesis dengan tegangan 100 volt selama 30 menit. Kemudian gel hasil elektroforesis diamati menggunakan GelDoc™ XR Imaging System BIO-RAD.

3.4.3.1.4 Amplifikasi DNA

Proses amplifikasi DNA dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang bertujuan untuk memperbanyak panjang pita DNA, menggunakan primer ITS1 (*forward*) dan ITS4 (*reverse*) untuk bagian ITS yang lebih panjang (Tabel 3.1) (White *et al.*, 1990; Zhang *et al.*, 2010):

Tabel 3.1 Sekuens primer

Primer	Gen Primer
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC

Tahap amplifikasi DNA dalam penelitian ini menggunakan total volume PCR sebanyak 25 μ l. Di bawah ini adalah uraian komposisi total volume PCR 25 μ l (Geisen *et al.*, 2017):

Tabel 3.2 Komposisi bahan dan volume amplifikasi DNA

Bahan	Jumlah (μ l)
DNA Template	1
Primer ITS1 (<i>Forward</i>)	1
Primer ITS4 (<i>Reverse</i>)	1
PCR mix (dNTPs, (2.5 mM, 10x bufer PCR, 2.5 <i>Taq</i>	12,5
DNA <i>polymerase</i>	
Nuclease Free Water	9,5

Alat yang digunakan untuk melakukan proses PCR adalah My Cycler™ Cycler BIO-RAD Thermo Cycler sesuai berdasarkan prosedur standar (Tabel 3.3) (Yang *et al.*, 2016). Amplifikasi sekuens rDNA ITS1 (F) dan ITS4 (R) menggunakan suhu annealing 55°C. Menurut Yuwono (2009), saat proses annealing primer akan menempel pada untai ganda DNA menjadi unta tunggal, sehingga primer akan

membentuk jembatan hidrogen dengan untaian DNA pada sekuen yang sesuai dengan sekuen primer.

Tabel 3.3 Prosedur PCR

Tahap	Suhu	Waktu	Siklus
Pra-denaturasi	95	3 menit	1x
Denaturasi	95	30 detik	35x
Anneling	55	45 detik	35x
Elongasi	72	3 menit	35x
Final Elongasi	72	5 menit	1x

Hasil PCR dianalisis menggunakan elektroforesis 1,5% (v/v) gel agarosa selama 30 menit dengan tegangan 100 volt, 400 mA. Gel hasil elektroforesis di-rendam Etidium bromide (EtBr) selama 15 menit sehingga mudah diamati dan selanjutnya dilakukan visualisasi dengan Gel Doc™ XR Imaging System BIO-RAD.

3.4.3.1.5 Sekuensing DNA

Hasil amplifikasi dipurifikasi di PT. Standard Biosensor Indonesia, sedangkan proses sekuensing (*cycle sequencing*) serta pengumpulan data sekuen dilakukan di Bioneer Korea Selatan.

3.4.4 Analisis Data

Hasil sekuensing yang telah didapatkan, kemudian dibaca menggunakan Sequence Scanner 1.0. dicocokkan dengan Query yang diperoleh dari *Gen Bank* melalui menu BLAST pada NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Terjadinya perubahan basa nukleotida pada sekuens dapat dilihat melalui program BioEdit. Program ini menganalisis contig DNA sehingga diperoleh sekuens yang parsial dari gen ITS secara utuh (Hall, 1999).

Data hasil analisis contig dianalisis dengan menyajjarkan sekuens isolat yang diperoleh dengan fungi endofit pembanding dari *GenBank NCBI* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Menurut (Thompson *et al.*, 1997), sekuens kemudian disejajarkan dengan aplikasi Clustal X. Dari beberapa pilihan output,

dipilih output berupa file format *Clustal*, *FASTA*, dan *Phydit* (.aln, .FASTA, dan .gde).

Hasil pensejajaran menggunakan aplikasi program ClustalX dengan format file .FASTA, diimport secara langsung ke dalam aplikasi MEGA 5.0 untuk analisis pohon filogenetik berdasarkan substitusi model terbaik (*best-fit substitution model*). Selanjutnya setelah didapatkan substitusi model terbaik, pohon filogenetik dibuat dengan metode algoritma *Neighbor Joining* (NJ) dengan 1000 *Bootsrap* berdasarkan *p-distance*.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Spesies Fungi Endofit Rimpang Rumput Teki (*C. rotundus* L.) sebagai Pelarut Fosfat dan Penghasil *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) Berdasarkan Sekuen rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*)

4.1.1 Analisis Kuantitatif dan Kualitatif DNA

Analisis kuantitatif isolat URT1 dan URT4 dengan menggunakan nanodrop spektrofotometri. Hasil analisis kuantitatif isolat tersebut disajikan pada Tabel 4.1. Berdasarkan hasil pengukuran, isolat URT1 sebagai penghasil *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) memiliki nilai kemurnian dibawah 1,8, sedangkan isolat URT4 sebagai pelarut fosfat memiliki kemurnian 1.8. Nilai kemurnian dibawah 1,8 menunjukkan adanya indikasi kontaminan pada hasil ekstraksi DNA berupa protein. Menurut Hikmatyar *et al.*, (2015), kontaminasi protein disebabkan karena tidak adanya penambahan enzim protease pada tahap isolasi DNA.

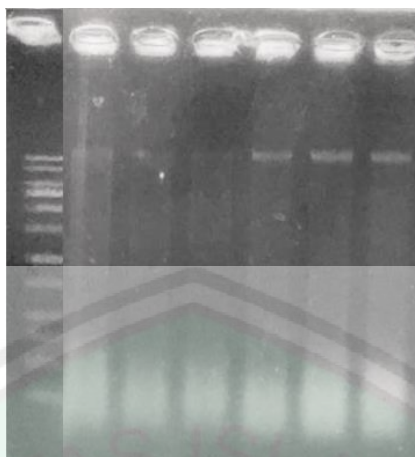
Tabel 4.1 Analisis kuantitatif fungi endofit rimpang rumput teki dengan menggunakan nanodrop spektrofotometri.

No.	Sampel	A _{260/280}	Konsentrasi (ng/ul)
1.	Isolat URT1	1.79	216.32
2.	Isolat URT4	1.80	269.56

Hasil analisis kuantitatif nanodrop berupa nilai kemurnian DNA dan nilai konsentrasi DNA (ng/ul). Nilai kemurnian DNA dapat dihitung dengan perbandingan nilai absorbansi 260 nm dengan nilai absorbansi 280 nm ($A_{260/280}$), sedangkan konsentrasi DNA diperoleh dari nilai absorbansi panjang gelombang 260 nm (Harahap, 2017). Isolat URT4 memiliki nilai kemurnian 1,8. Menurut Fatchiyah *et al.*, (2011), kualitas DNA dikatakan baik dan murni apabila memiliki nilai kemurnian 1,8-2,0.

Analisis DNA secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui kualitas DNA isolat fungi endofit rumput teki pelarut fosfat dan penghasil IAA dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa 1%. Hasil analisis kualitatif isolat URT1 dan URT4 berdasarkan gel elektroforesis disajikan pada Gambar 4.1.

M A1 A2 A3 B1 B2 B3



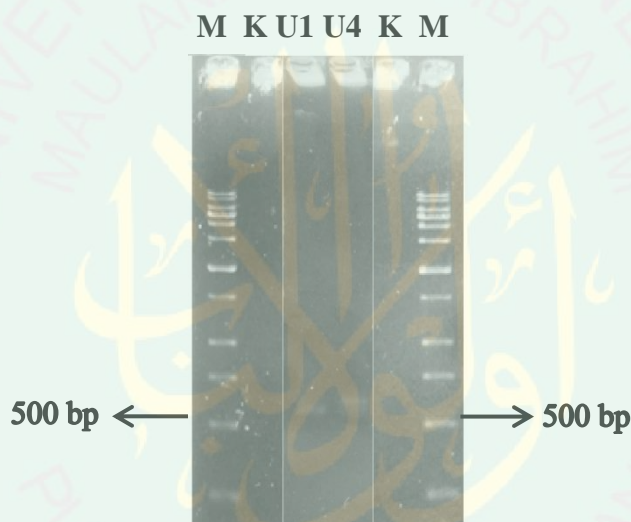
Gambar 4.1 Analisis kualitatif ekstraksi DNA 2 isolat fungi endofit rimpang rumput teki. M: Marker 1kb, A1-A3: Isolat URT1, dan B1-B3: Isolat URT4.

Hasil elektroforesis ekstraksi DNA menunjukkan bahwa kedua sampel DNA fungi endofit rumput teki memiliki kualitas yang baik, dengan ditunjukkan adanya pita DNA, namun masih terdapat *smear*. Adanya *smear* pada bagian bawah pita DNA menandakan adanya kontaminan pada sampel DNA. Menurut Fatchiyah (2009), *smear* pada elektroforesis DNA disebabkan karena pemakaian Mg^{++} , dNTP, *Taq* polimerase, primer dan DNA *template* yang berlebihan atau adanya kontaminan pada DNA *template* sehingga mengakibatkan aktivitas *taq* polimerase terhambat Iqbal *et al.*, (2016) menyatakan *smear* dapat berasal dari sisa larutan yang masih terbawa atau berupa DNA yang terdegradasi pada proses isolasi DNA. Usulan dan Pharmawati (2015), menambahkan degradasi DNA dapat terjadi saat proses isolasi karena adanya enzim endonuklease.

DNA hasil isolasi isolat URT1 dan URT4 memiliki berat molekul di atas marker. Pita DNA isolat tersebut merupakan whole genom. Whole genome adalah keseluruhan urutan DNA dari suatu organisme atau sampel hasil isolasi (Tripathi *et al.*, 2018). Hidayati *et al.*, (2016) menyatakan migrasi DNA saat elektroforesis terjadi selain dipengaruhi oleh konsentrasi gel agarose, juga dipengaruhi ukuran molekul DNA, dimana DNA sirkuler lebih cepat bermigrasi dibandingkan genom utuh. Ketebalan pita URT1 dan URT4 berbeda. Hal ini disebabkan secara kuantitatif mengindikasikan konsentrasi DNA URT1 lebih kecil daripada isolat yang memiliki pita tebal (URT4).

4.1.2 Hasil Amplifikasi DNA

Visualisasi hasil amplifikasi produk PCR isolat URT1 dan URT4 menggunakan elektroforesis gel agarosa 1,5%. Hasil amplifikasi tersebut ditunjukkan pada Gambar 4.2. Berdasarkan hasil visualisasi PCR menunjukkan bahwa isolat URT1 berada sejajar dengan marker yang berukuran 550 bp, sedangkan isolat URT4 berada sejajar dengan marker berukuran 625 bp. Panjang total wilayah ITS bervariasi. Menurut (Poczai dan Hyvönen, 2010), daerah ITS antara 500-750 bp untuk Angiospermae. Porter dan Golding (2011) menyatakan panjang daerah ITS antara 500-600 bp untuk kingdom jamur divisi Ascomycetes dan Basidiomycetes. Mccullough *et al.*, (1998) menambahkan spesies *Saccaromyces* berada diantara 660-760 bp.



Gambar 4.2 Visualisasi pita DNA hasil amplifikasi PCR pada gel agarose 1,5%. M: Marker; K: Kontrol; U1: Pita DNA isolat URT1; U4: Pita DNA isolat URT4.

Ukuran fragmen DNA hasil amplifikasi bervariasi antara isolat URT1 dan URT4. Hal ini disebabkan karena adanya variasi panjang daerah ITS pada masing-masing rDNA, dimana daerah ITS merupakan daerah yang tingkat konservasinya rendah, dibandingkan dengan daerah subunit kecil (18S, 5.8S) dan subunit besar sebagai daerah yang konservatif (Mulyatni *et al.*, 2011). Peay *et al.*, (2008) menambahkan adanya variasi ini disebabkan juga karena adanya delesi, insersi, atau substitusi antara spesies dalam ITS.

Allah berfirman dalam QS. Yaasin ayat 36:

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ

Artinya: "Mahasuci Allah yang telah menciptakan semuanya berpasang-pasangan, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka sendiri, maupun dari apa yang mereka tidak ketahui" (QS. Yaasiin/36: 36).

Dalam dunia tumbuhan, Allah juga menjaga pola keseimbangan berdasarkan aturan ketat yang ditetapkan Allah. Salah satunya Allah menciptakan makhlukNya untuk berpasangan. Menurut Al-Mahali dan As-Suyuthi (2015) ayat ini menjelaskan bahwa Allah menciptakan seluruh yang ada di bumi ini berpasangan dan berjenis-jenis, seperti pria dengan wanita. Namun menurut Rahman (2007), makna berpasangan bukan hanya untuk pria-wanita, malam-siang, gelap-terang, dan sebagainya. Melainkan kata berpasangan ini mengacu pada pemanfaatan suatu tumbuhan apabila dihubungkan dengan sebuah metode untuk menghasilkan sesuatu yang baru. Pada penelitian ini, ditemukan fungi endofit yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat dan menghasilkan IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) asal rumput teki yang dianalisis molekuler secara kuantitatif dan kualitatif. Hal ini bertujuan untuk mengetahui nama spesies fungi endofit tersebut. Sehingga ditemukan spesies baru dengan manfaat yang telah disebutkan.

4.1.3 Hasil Sekuensing

Analisis molekuler fungi endofit rimpang rumput teki dilakukan dengan menggunakan sekuen rDNA ITS. Sekuen ITS cocok digunakan untuk analisis fungi hingga tingkat spesies. Hal ini sesuai dengan De Vicente (2005) yang menyatakan bahwa sekuen ITS telah digunakan sebagai *Barcode Universal Kingdom*.

Hasil amplifikasi PCR isolat URT1 dan URT4 selanjutnya dilakukan proses sekuensing. Hasil purifikasi dan sekuensing berupa kromatogram yang merupakan basa nukleotida. Masing-masing grafik menunjukkan puncak (*peak*) yang diterjemahan menjadi basa nitrogen dengan 4 warna yang berbeda. Warna tersebut mewakili basa pirimidin dan purin tertentu. Menurut Dale dan Park (2010), basa pirimidin terdiri dari timin yang disimbolkan huruf T dan sitosin yang disimbolkan huruf C, sedangkan basa purin terdiri dari adenin disimbolkan huruf A dan guanin yang disimbolkan huruf G.

Kromatogram hasil sekuensing isolat URT1 dan URT4 menunjukkan dua sekuen yang berasal dari sekuen *forward* menggunakan primer ITS1 dan sekuen *reverse* menggunakan ITS4. Peak yang dihasilkan kedua sekuen cukup baik dan masih dapat terbaca, meskipun ada puncak grafik yang bertumpukan dan tidak mengalami pemisahan dengan baik. Bangol *et al.*, (2014) menyatakan hasil sekuensing yang baik ditunjukkan oleh grafik dengan puncak yang tinggi dan terpisah satu dengan yang lain.

Untuk mendapatkan sekuen lengkap rDNA isolat URT1 dan URT4 (Gambar 4.3), dilakukan *contig* (penyatuan) sekuen *forward* dan *reverse*. Menurut Dewi (2012) analisis *contig* dengan bantuan software BioEdit dengan mencari sekuen yang *overlapping* (bertumpukan) untuk mendapatkan hasil berupa satu unit sekuen rDNA.

```

>Isolat URT1
GTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCACTTGTTCCT
CGGCGGATCAGCCCGTCCCGGTAAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTAA
CTTCTGAGTAAAACCATAAATAAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGC
AGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGC
CAGTATTCGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCAATTTCAACCCTCAAGCACAGCTTGGTGTGGGACTCGCGTT
AATTCGGTTCCCCAAATTGATTGGCGGTACGTGAGCTTCCATAGCGTAGTAGTAAAACCCCTGTTACTGTT
AATCGTCGCGGCCACG|CCGTAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAG

>Isolat URT4
CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTGCGGGTCTTTATGGCCCAACCTCCCACCCGTGACTA
TTGTACCTTGTGCTTCGGCGGGCCCGCCAGCGTTGCTGGCCCGGGGGGCGACTCGCCCCGGGCCCGTGC
CCGCCGGAGACCCCAACATGAACCCTGTTCTGAAAGCTTCTAGTCTGAGTGTGATTTTTCCAATCAGTTAAAC
TTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCGGCATCGATGAAGAACGACGCGAAATGCGATAACTAATGTGAATTGCA
GAATTCAGTGAATCATAGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCTGTTATTCCGGGGGGGGTGCCTGTCCGAG
CGTCATTGCTGCCCTCAATCCCGGCTTGTGTGGGCCCTCGTCCCCGGCTCCCGGGGACGGGCCGAA
GGCAGCGGGCCACCGCTCCAGTCTCGAGCGTATGGGGCTTTTTGGCCGCTCCCTAGT

```

Gambar 4.3 Hasil pensejajaran isolat URT1 dan URT4 dengan *pairwise alignment* menggunakan *software* BioEdit

Selanjutnya hasil *contig* sekuen isolat URT1 dan URT4 dianalisis kemiripan dengan sekuen organisme lainnya menggunakan program BLAST (*Basic Local Allignment Search Tool*) (Ye *et al.*, 2006). Hasil BLAST isolat URT1 dan URT4 disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.2 Hasil BLAST isolat URT1 dan URT4 fungi endofit rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus* L.)

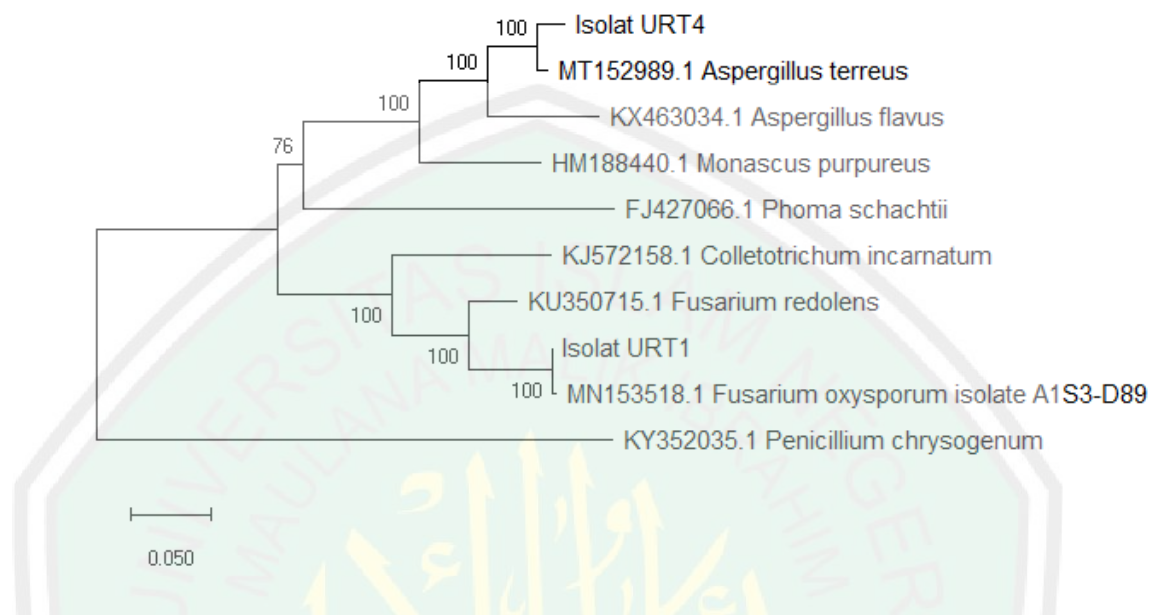
No.	Kode Isolat	Hasil BLAST		
		Nama Spesies	Ident (%)	Seq. Id.
1.	Isolat URT1	<i>Fussarium oxysporum</i> isolate AS13-D89	100%	MN153518.1
2.	Isolat URT4	<i>Aspergillus terreus</i> isolate AGE	97.42%	MT152989.1

Berdasarkan hasil BLAST (Tabel 4.2) (Lampiran 5) diketahui bahwa isolat URT1 memiliki kemiripan dengan *Fussarium oxysporum* isolate AS13-D89 dengan presentase kemiripan 100%, sedangkan isolat URT4 memiliki kemiripan dengan *Aspergillus terreus* isolate AGE dengan presentase kemiripan 97.42%. Menurut Altschul *et al.*, (1990) *max identity* menunjukkan nilai tertinggi identitas atau kecocokan antara sekuen isolat dengan sekuen yang tersejajarkan. Hasyati *et al.*, (2017) menyatakan isolat yang mempunyai persamaan sekuen lebih dari 97% dapat mewakili spesies yang sama. Kwaśna *et al.*, (2008) menambahkan isolat dianggap seperti spesies yang sama apabila memiliki *max identity* sebesar 99%.

4.2 Analisis Filogenetik

Hasil BLAST kemudian dilakukan pensejajaran (*alignment*) (Lampiran 7). Pensejajaran sekuens dilakukan untuk mengetahui tingkat homologi urutan basa DNA sampel dengan sekuens pembanding (Andriani, 2016). Selanjutnya hasil pensejajaran dianalisis pohon filogenetik menggunakan metode *neighbor joining* (Dharmayanti, 2011). Tujuan analisa filogenetik adalah untuk merekonstruksi hubungan dan keanekaragaman organisme berdasarkan tingkat kemiripan (Lloyd, 2003). Hubungan kekerabatan tersebut dibandingkan sesuai jarak genetik *p-distance* (Saitou dan Nei, 1987).

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik ditunjukkan pada Gambar 4.3. Pohon filogenetik diuji statistika menggunakan metode *bootstrap* sebanyak 1000 ulangan. Nilai *bootstrap* terdapat di bagian atas cabang Gambar 4.4 sebagai nilai kepercayaan suatu cabang (Dewi, 2012).



Gambar 4.4 Rekonstruksi pohon filogenetik isolat fungi endofit pelarut fosfat dan penghasil IAA rimpang rumput teki metode *Neighbor joining*, *bootstrap* 1000 ulangan.

Rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan sekuen rDNA ITS menunjukkan adanya dua *clade*. Kedua *clade* tersebut menunjukkan nilai kepercayaan cabang (*bootstrap*) 76% dan 100%. Tamura *et al.*, (2013) menyatakan bahwa nilai *bootstrap* >90% menyatakan kestabilan cabang, sedangkan <70% menyatakan nilai *bootstrap* yang rendah. Dewi (2012) menambahkan semakin tinggi nilai *bootstrap* maka semakin tinggi pula tingkat kepercayaan hasil rekonstruksi tersebut.

Filogenetik isolat fungi endofit pelarut fosfat dan penghasil IAA dapat diketahui nilai similaritas menggunakan software MEGA X. Nilai similaritas berbanding terbalik dengan jarak genetik (Lampiran 6). Semakin kecil jarak genetik, maka semakin besar similaritasnya. Menurut Tanay dan Shamir (2001) analisis ini menunjukkan jarak genetik antara isolat dengan spesies pembanding. Sehingga menunjukkan adanya kedekatan antara sekuen nukleotida yang diamati (Pramarta, 2014).

Isolat URT1 memiliki nilai similaritas dengan *Fusarium oxysporum* dengan jarak genetik 0,00 yang berarti keduanya memiliki kemiripan identik. Sedangkan isolat URT4 memiliki similaritas dengan *Aspergillus terreus* sebanyak 97,42% memiliki jarak genetik 0,026 yang menunjukkan nilai kemiripan tinggi. Tingkat homologi kedua isolat ditunjukkan hasil BLAST (Lampiran 5) berupa warna merah semua, hal itu menyatakan tingkat homologi sekuen tinggi karena bernilai >200. Nilai *bootstrap* isolat URT1 dan URT4 menunjukkan angka 100%, hal ini menunjukkan bahwa kestabilan nilai *bootstrap* apabila menunjukkan angka >90 yang menunjukkan nilai kestabilan cabang. Simpson (2006) menyatakan nilai percabangan 70-100 menunjukkan percabangan dan pohon filogenetik tidak akan berubah.

Isolat URT1 menunjukkan adanya kesamaan dengan fungi endofit *Fusarium oxysporum*. Hal ini dapat diketahui bahwa *Fusarium oxysporum* memiliki kemampuan sebagai penghasil IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). *F. oxysporum* merupakan salah satu patogen penyebab layu pada kentang (Suryanti *et al.*, 2015). Namun, Menurut Rahayu *et al.*, (2019) *Fusarium oxysporum* merupakan fungi yang dapat tumbuh sebagai endofit. Mehmood *et al.*, (2018) menyatakan IAA tertinggi ditemukan pada ekstrudat akar yang bersimbiosis dengan fungi endofit jagung *Fusarium oxysporum*. Fathurrahman, (2011) menambahkan genus *Fusarium* sp. Memiliki kemampuan untuk memicu pertumbuhan tanaman dan menekan perkembangan patogen.

Isolat URT4 menunjukkan adanya kesamaan dengan *Aspergillus terreus*. sehingga kemungkinan *Aspergillus terreus* memiliki kemampuan sebagai pelarut fosfat. *Aspergillus* sp. dikenal sebagai fungi patogen penyebab layu tanaman kentang (Suryanti *et al.*, 2015) yang berasosiasi dengan akar (Subba rao, 2010). Di samping itu, Genus *Aspergillus* juga termasuk salah satu fungi yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat dengan baik (Srinivasan *et al.*, 2012). Hal ini disebabkan karena *Aspergillus* sp. dapat bertahan dalam kondisi kelembaban yang rendah, suhu ekstrim dan pH yang rendah, karena pertumbuhan mikroorganisme pelarut fosfat dipengaruhi oleh kemasaman tanah (Fatmala *et al.*, 2015). Selain itu fungi *Aspergillus terreus* juga dapat meningkatkan pertumbuhan bibit *Ceriops*

tagal Sari *et al.*, (2015) serta dapat digunakan sebagai pendegradasi plastik pada pH 5 dan 6 serta pada suhu 25°C dan 35°C (Rohmah *et al.*, 2019).

Kedua spesies tersebut merupakan fungi endofit yang banyak ditemukan pada tanah dan berasosiasi terhadap tanaman. *Fusarium oxysporus* dan *Aspergillus terreus* berasal dari divisi yang sama yaitu Ascomycota. Egbuta *et al.*, (2016) menyatakan kingdom fungi yang paling banyak ditemukan dan diteliti berasal dari Ascomycota. Famili Trichocomaceae dalam ordo Eurotiales yang paling melimpah adalah *Aspergillus*.



BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat diambil kesimpulan:

1. Berdasarkan analisis molekuler diketahui bahwa isolat URT1 memiliki kemiripan dengan *Fusarium oxysporum* dengan nilai similaritas 100%, sedangkan isolat URT4 memiliki kemiripan dengan *Aspergillus terreus* dengan nilai similaritas 97,42%.
2. Hasil rekonstruksi filogenetik isolat URT 1 dengan *Fusarium oxysporum* dengan jarak genetik sebesar 0,00 yang menyatakan nilai kemiripan identik dan isolat URT4 dengan *Aspergillus terreus* dengan jarak genetik sebesar 0,026 yang menyatakan nilai kemiripan tinggi.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan studi lanjut untuk uji aktivitas *Fusarium oxysporum* sebagai penghasil IAA dan *Aspergillus terreus* sebagai pelarut fosfat.

DAFTAR PUSTAKA

- Aamir, S., Sutar, S., Sk, S., & Baghela, A. (2015). A rapid and efficient method of fungal genomic DNA extraction , suitable for PCR based molecular methods. *Plant Pathology and Quarantine*, 5(2), 74–81. <https://doi.org/10.5943/ppq/5/2/6>
- Abdullah Bin Muhammad Bin Abdurrahman Bin Ishaq al Syeikh. (2003). *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 4* Terj. Jakarta: Pustaka Imam Syafi'i.
- Al-Massarani, Shaza, Fedha Al-Enzi, Maram Al-Tamimi, Nourah Al-Jomaiah, & Roaa Al-Amri, K. Husnu Can Baser, Nurhayat Tabanca, Alden S. Estep, James J. Becnel, Jeffrey R. (2016). Composition and biological activity of *Cyperus rotundus* L. tuber volatiles from Saudi Arabia. *Nat. Volatiles and Essent. Oils*, 3(2), 26-34.
- Al-Snafi, P. A. E. (2016). A review on *Cyperus rotundus* a potential medicinal plant. *IOSR Journal of Pharmacy*, 6(7), 32–48.
- AL Mahali, I. J., & As suyuthi, I. J. (2015). Tafsir Jalalain. *Tafsir Al-Jalalain An-Nisa'*. Jakarta: Pustaka Elba.
- Alori, Elizabeth T., Glick, Bernard R., & Babalola, Olubukola O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403-410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Amaizah, N. R., Cakmak, D., Saljnikov, E., Roglic, G., Kokovic, N., & Manojlovic, D. (2013). Effect of waste Al-phosphate on soil and plant. *Plant, Soil and Environment*, 59(3), 130-135. <https://doi.org/10.17221/706/2012-pse>
- Andriani, Tri. (2006). *Application of UPGMA method for the identification type virus type and ebola epidemic spreading through establishment phylogenetic trees*. Skripsi. Magister Matematika, Jurusan Matematika. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- An-Najjar, Zaglul. (2011). *Sains dalam Hadist: Mengungkap Fakta Ilmiah dari Kemukjizatan Nabi*. Jakarta: Amzah.
- Anzuay, M. S., Frola, O., Angelini, J. G., Ludueña, L. M., Fabra, A., & Taurian, T. (2013). Genetic diversity of phosphate-solubilizing peanut (*Arachis hypogaea* L.) associated bacteria and mechanisms involved in this ability. *Symbiosis*, 60(3), 143-154. <https://doi.org/10.1007/s13199-013-0250-2>

- Articus, K. (2004). Phylogenetics studies in *Usnea* (parmaliaaceae) and Allied genera. Comprehension summaries of uppsala disertations from faculty of science and technology (Acta Universitatis Upsaliensis).
- Athesh, K., Divakar, M., & Brindha, P. (2014). Anti-obesity potential of *Cyperus rotundus* L. aqueous tuber extract in rats fed on high fat cafeteria diet. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(2), 88-92.
- Babalola, Olubukola O., & Glick, Bernard R. (2012). The use of microbial inoculants in African agriculture: Current practice and future prospects. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 10(3&4), 540-549.
- Bacon, C.W. & White. 2000. *An overview of endophytic microbes: Endophytism definition, microbial endopytes*. New York: Marcel Dekker.
- Bajpay, A., Nainwal, R. C., Singh, D., & Tewari, S. K. (2018). Medicinal value of *Cyperus rotundus* Linn : An updated review. *Medicinal Plants*, 10(3), 165-170. <https://doi.org/10.5958/0975-6892.2018.00027.8>
- Baldwin, B. G., Sanderson, Michael J., Porter, J. Mark, Wojciechowski, Martin F., Campbell, Christopher S., & Donoghue, Micahel J. (1995). The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 82(2), 247-277. <https://doi.org/10.2307/2399880>
- Balemi, T., & Negisho, K. (2012). Management of soil phosphorus and plant adaptation mechanisms to phosphorus stress for sustainable crop production: A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(3), 547-561. <https://doi.org/10.4067/s0718-95162012005000015>
- Baloch, Abdul Hameed, Rehman, Haneef ur, Ibrahim, Zakir, Buzdar, Mohammad Aslam, & Saeed Ahmad. (2015). The Biology of Balochistani Weed: *Cyperus rotundus* Linnaeus . A Review. *Pure Appl. Biol.*, 4(2), 171-180.
- Bangol, I., Momuat, L. I., & Kumaunang, M. (2014). Barcode DNA tumbuhan pangi (*Pangium edule* R.) berdasarkan gen matK. *Jurnal MIPA*, 3(2), 113. <https://doi.org/10.35799/jm.3.2.2014.5862>
- Barreto, T. R., Da Silva, A. C. M., Soares, A. C. F., & De Souza, J. T. (2008). Population densities and genetic diversity of actinomycetes associated to the rhizosphere of *Theobroma cacao*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(3), 464-470. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822008000300010>
- Benelli, G., & Mehlhorn, H. (2016). Declining malaria, rising of dengue and Zika virus: insights for mosquito vector control. *Parasitology Research*, 115, 1747-1754. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-4971-z>

- Bieleszová, K., Pařízková, B., Kubeš, M., Husičková, A., Kubala, M., Ma, Q., Sedlářová, M., Robert, S., Doležal, K., Strnad, M., Novák, O., & Žukauskaitė, A. (2019). New fluorescently labeled auxins exhibit promising anti-auxin activity. *New Biotechnology*, 48, 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2018.06.003>
- Bingsheng Lv., Yan, Z., Tian, H., Zhang, X., & Ding, Z. (2019). Local Auxin Biosynthesis Mediates Plant Growth and Development. *Trends in Plant Science*, 24(1), 6–9. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.10.014>
- Blackshields, G., Wallace, I. M., Larkin, M., & Higgins, D. G. (2006). Analysis and comparison of benchmarks for multiple sequence alignment. *In Silico Biology*, 6(4), 321-339.
- Brinkman, F. & D. Laipe. 2001. *Phylogenetic analysis. In: Bioinformatics: A practical guide to the analysis of gene and protein.* New York: A John Wiley & Sons, Inc Publication.
- Campos, G. S., Bandeira, A. C., & Sardi, S. I. (2015). Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 21(10), 1885-1886. <https://doi.org/10.3201/eid2110.150847>
- Chitran, A. Ramesh Babu T. & Himaja N. (2012). Comparative study on anti-inflammatory activity of *Cyperus rotundus* (L.) using different solvent system in carragenan induced paw edema in albino wistar rats. *Int.J. Phytopharmacol*, 3, 130-134.
- Cordell, D., Rosemarin, A., Schröder, J. J., & Smit, A. L. (2011). Towards global phosphorus security: A systems framework for phosphorus recovery and reuse options. *Chemosphere*, 84(6), 747-758. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.02.032>
- Cronquist, A. (1987). A botanical critique of cladism. *The Botanical Review*, 53(1), 1-52. <https://doi.org/10.1007/BF02858181>
- Dale, J.W. & S.F. Park. (2010). *Molecular genetics of bacteria.* United Kingdom: John Wiley and Sons, Ltd., Publication.
- Daniel, M. (2011). Magnoliophyta (Flowering plants): A logical and phylogenetic classification. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1), 465-484.
- Das, B., Pal, Di., & Haldar, A. (2015). A review on *Cyperus rotundus* as a tremendous source of pharmacologically active herbal medicine. In *International Journal of Green Pharmacy.* Medknow Publications.
- Daswani, P., Brijesh, S., Tetali, P., & Birdi, T. (2011). Studies on the activity of *Cyperus rotundus* Linn. tubers against infectious diarrhea. *Indian Journal of*

Pharmacology, 43(3), 340-344. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.81502>

- De Vicente, M. C. (2005). The Role of biotechnology genetic characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. *Journal of Biotechnology*, 121-128.
- Dewi, Cinthya Lestari Hertianti. (2012). *Analisis biomelokuler gen internal transcribed spacer (ITS) dalam studi filogenetik Zingiber loerzingii Valetton (Zingiberaceae)*. Skripsi. Departemen Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Dewi, T. K. (2015). *Karakterisasi mikroba perakaran (PGPR) agen penting pendukung pupuk organik hayati*. Masyarakat Biodiversitas Indonesia. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010220>
- Dharmayanti, N. L. P. I. (2011). Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme. *Wartazoa*, 21(30), 1-10.
- Donati, A. J., Lee, H. I., Leveau, J. H. J., & Chang, W. S. (2013). Effects of indole-3-acetic acid on the transcriptional activities and stress tolerance of *Bradyrhizobium japonicum*. *PLoS ONE*, 8(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076559>
- Duarte, M. C. T., Figueira, G. M., Sartoratto, A., Vera, L., Rehder, G., & Delarmelina, C. (2005). *Anti- Candida activity of Brazilian medicinal plants*, 97, 305–311. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.016>
- Ebtan S. Ringga, Sugiharto, Arifin Noor, & Widaryanto, Eko. (2014). Ketahanan beberapa varietas jagung manis (*Zea mays saccharata sturt*) terhadap populasi gulma teki (*Cyperus rotundus*). *Jurnal Produksi Tanaman*, 1(6), 471–477.
- Edgar, R. C., & Batzoglou, S. (2006). Multiple sequence alignment. *Current Opinion in Structural Biology*, 16(3), 368-373. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2006.04.004>
- Egbuta, Mary Augustina, Mwanza, Mulunda, & Oluranti Babalola, Olubukola. (2016). A Review of the ubiquity of ascomycetes filamentous fungi in relation to their economic and medical importance. *Advances in Microbiology*, 6, 1140-1158. <https://doi.org/10.4236/aim.2016.614103>
- Estarbrook. (1984). Phylogenetic trees and character-state trees. *In: Perspective on the reconstruction evolutionary history cladistics*, Duncan, T. and T. Stuessy (Eds). Columbia: Columbia University Press.
- Faeth, S. H., & Fagan, W. F. (2002). Fungal endophytes: Common host plant symbionts but uncommon mutualists. *Integrative and Comparative Biology*, 42, 360-368. <https://doi.org/10.1093/icb/42.2.360>

- Fajarningsih, N. D. (2017). Internal transcribed spacer (ITS) as DNA barcoding to identify fungal species: a review. *Squalen Bull. of Mar. and Fish. Postharvest and Biotech*, 11(2), 37-44. <https://doi.org/10.15578/squalen.v11i2.213>
- Fatchiyah. (2009). *Dasar-dasar teknik analisa biologi molekuler*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Fatchiyah, Arumningtyas S. Widyarti & Rahayu S. (2011). *Biologi molekuler prinsip dasar analisis*. Jakarta: Penertbit Erlangga.
- Fathurrahman. (2015). Multiplikasi eksplan anthurium (*Anthurium* sp.) dengan pemberian benzil. *Jurnal Agroteknologi*, 2(1), 25-34.
- Fatmala, V., Sembiring, M., & Jamilah, J. (2015). Eksplorasi dan potensi jamur pelarut fosfat pada andisol terkena dampak erupsi gunung sinabung dengan beberapa ketebalan abu di kecamatan naman teran kabupaten karo. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*, 3(3), 105618. <https://doi.org/10.32734/jaet.v3i3.10978>
- Fell, J. W., Boekhout, T., Fonseca, A., & Scorzetti, G. (2000). Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large- Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1 / D2 domain sequence analysis. *International Journal of Systematic and Elutionary Microbiology*, 50, 1351-1371. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-3-1351>
- Felsenstein, Joseph. (1988). Phylogenies and quantitative characters. *Ann. Rev. Ecol. Syst*, 19, 445–471.
- Felten, J., Martin F. & Legue, V. (2012). Signaling in ectomycorrhizal symbiosis. *Signaling and communication in plant symbiosis*, 10, 123-142.
- Ferniah, R. S., & Pujiyanto, S. (2013). Optimasi isolasi DNA cabai (*Capsicum annum* L.) berdasar perbedaan kualitas dan kuantitas daun serta teknik penggerusan. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 15(1), 14. <https://doi.org/10.14710/bioma.15.1.14-19>
- Firáková, S., Šturdíková, M., & Múčková, M. (2007). Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. *Biologia*, 62(3), 251-257. <https://doi.org/10.2478/s11756-007-0044-1>
- Geisen, S., Kostenko, O., Cnossen, M. C., Hooven, F. C., Vreš, B., & Putten, W. H. Van Der. (2017). Seed and Root Endophytic Fungi in a Range Expanding and a Related Plant Species. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01645>
- Grossmann, Klaus. (2010). Auxin herbicides: Current status of mechanism and mode of action. *Pest Management Science*, 66, 113-120.

<https://doi.org/10.1002/ps.1860>

- Hakim, Safinah S. (2015). Fungi endofit : potensi pemanfaatannya dalam budidaya tanaman kehutanan. *Galam*, 1(1), 1–9.
- Hall, Thomas A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Asymposium Series*, 41, 95-98.
- Hall, D.W., Vandiver, V.V. & and Ferrell, J.A. (2009). *Purple Nutsedge, Cyperus rotundus* L. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Harahap, Ariani Syahfitri. (2017). Uji kualitas dan kauntitas DNA beberapa populasi pohon kapur sumatra. *Journal of Animal Science and Agronomy Panca Budi*, 2(2), 1-6.
- Hasanudin, & Bambang, G. (2004). Pemanfaatan mikrobia pelarut fosfat dan mikoriza untuk perbaikan fosfor tersedia, serapan fosfor tanah (ultisol) dan hasil jagung (pada ultisol). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 6(1), 8-13.
- Hasyiyati, N. S., Supriyadi, A., Raharjo, B., & Dwiatmi, K. (2017). Isolasi dan karakterisasi kapang endofit dari pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). *Jurnal Biologi*, 6(2), 66-74.
- Hidayat, Topik & Adi Pancoro. (2006). *Kursus singkat aplikasi perangkat lunak PAUP dan MrBayes untuk penelitian filogenetika molekuler*. Bandung: SITH-ITB
- Hidayati, H., Saleh, E., & Aulawi, T. (2016). Identifikasi keragaman gen bmpr-1b (bone morphogenetic protein receptor ib) pada ayam arab, ayam kampung dan ayam ras petelur menggunakan PCR-RFLP. *Jurnal peternakan*, 13(1), 1. <https://doi.org/10.24014/jupet.v13i1.2383>
- Hikmatyar, Mohammad Fazri, Royani, Juwartina Ida, & Dasumiati. (2015). isolasi dan amplifikasi dna keladi tikus (*Thyponium flagelliform*) untuk identifikasi keragaman genetik. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia (JBBi)*, 2(2), 42. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v2i2.507>
- Husnain, Dedi Nursyamsi & Joko Purnomo. (2015). Penggunaan bahan anorganik kimia dan dampaknya terhadap pertanian ramah lingkungan. <https://www.researchgate.net/publication/291974407>.
- Hyde, K. D., & Soytong, K. (2007). Understanding microfungus diversity-A critique. *Cryptogamie, Mycologie*, 28(4), 1-9.
- Ibrahim, Ahmad Syawqi. (2010). *Ensiklopedia mukjizat ilmiah hadist nabi, rahasia tumbuhan dan manfaatnya*. Bandung: Zygma.

- Ihrmark, Katarina, Bodeker, Inga T. M., Cruz-martinez, Karelyn, Friberg, Hanna, Kubartova, Ariana, Schenck, Jessica, Strid, Yiva, Stenlid, Jan, Brandstrom-During, Mikael, Clemmensen, Karina E., & Bjom D. Lindahl. (2012). New primers to amplify the fungal ITS2 region – evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbial Ecol*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01437.x>
- Iqbal, Muhammad, Buwono, Ibnu Dwi, & Kurniawati, Nia. (2016). Analisis perbandingan metode isolasi DNA untuk deteksi white spot syndrome virus (wssv) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) isolasi DNA metode lysis buffer. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 7(1), 54-65.
- Jia, M., Chen, L., Xin, H. L., Zheng, C. J., Rahman, K., Han, T., & Qin, L. P. (2016). A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: A systematic review. *Frontiers in Microbiology*, 7, 906. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00906>
- Joner, Erik J., Van Aarle, Ingrid M., & Vosatka, Miroslav. (2000). Phosphatase activity of extra-radical arbuscular mycorrhizal hyphae: A review. *Plant and Soil*, 226, 199-210. <https://doi.org/10.1023/A:1026582207192>
- Kamaliah. (2017). Perbandingan metode ekstraksi dna phenol-chloroform dan kit extraction pada sapi aceh dan sapi madura. *Jurnal Biotik*, 5(1), 60–65.
- Kemena, Carsten, & Notredame, Cedric. (2009). Upcoming challenges for multiple sequence alignment methods in the high-throughput era. *Bioinformatics*, 25(19), 2455-2465. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp452>
- Khan, K., Karthikeyan, U., Li, Y., Yan, J., & Muniyappa, K. (2012). Single-Molecule DNA Analysis Reveals That Yeast Hop1 Protein Promotes DNA Folding and Synapsis: Implications for Condensation of Meiotic Chromosomes. *ACS Nano*, 6(12), 10658–10666. <https://doi.org/10.1021/nn3038258>
- Klaic, R., Plotegher, F., Ribeiro, C., Zangirolami, T. C., & Farinas, C. S. (2017). A novel combined mechanical-biological approach to improve rock phosphate solubilization. *International Journal of Mineral Processing*, 161, 50-58. <https://doi.org/10.1016/j.minpro.2017.02.009>
- Kochian, L. V., Hoekenga, O. A., & Piñeros, M. A. (2004). How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 459-493. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141655>
- Krause, K., Henke, C., Asiimwe, T., Ulbricht, A., Klemmer, S., Schachtschabel, D., Boland, W., & Kothe, E. (2015). Biosynthesis and secretion of indole-3-acetic acid and its morphological effects on *Tricholoma vaccinum*-spruce ectomycorrhiza. *Applied and Environmental Microbiology*, 1(20), 7003-7011. <https://doi.org/10.1128/AEM.01991-15>

- Kumar, Vikas. (2016). Importance of motha (*Cyperus rotundus* Linn.) and its management. *Van Sangyan*, 3(5), 37-43. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4590.1684>
- Kumla, J., Suwannarach, N., Bussaban, B., Matsui, K., & Lumyong, S. (2014). Indole-3-acetic acid production, solubilization of insoluble metal minerals and metal tolerance of some sclerodermatoid fungi collected from northern Thailand. *Annals of Microbiology*, 64(2), 707–720. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0706-x>
- Kwaśna, H., Bateman, G. L., & Ward, E. (2008). Determining species diversity of microfungial communities in forest tree roots by pure-culture isolation and DNA sequencing. *Applied Soil Ecology*, 40(1), 44-56. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.03.005>
- Lavy, M., & Estelle, M. (2016). Mechanisms of auxin signaling. *Development (Cambridge)*, 143, 3226-3229. <https://doi.org/10.1242/dev.131870>
- Leihner, Dietrich, Jerry Doll & Cilia L. Fuentes de P. (1984). *The biology and control of purple nutsedge (Cyperus rotundus L.)*. Columbia: Centro International De Agricultura Tropical Ciat.
- Lestari, P., Suryadi, Y., Susilowati, D. N., Priyatno, T. P., & Samudra, I. M. (2015). Karakterisasi bakteri penghasil asam indol asetat dan pengaruhnya terhadap vigor benih padi. *Berita Biologi*, 14(1), 19–28. <http://dx.doi.org/10.14203/beritabiologi.v14i1.1859>
- Lipscomb, D. (1998). Basics of Cladistic Analysis. *Systematics*.
- Lloyd, A. (2003). Bioinformatics for Dummies. *Briefings in Bioinformatics*, 4(2), 197-198. <https://doi.org/10.1093/bib/4.2.197>
- Ludwig-Müller, J. (2011). Auxin conjugates: Their role for plant development and in the evolution of land plants. *Journal of Experimental Botany*, 62(6), 1757-1773. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq412>
- Luo, J., Zhou, J. J., & Zhang, J. Z. (2018). Aux/IAA gene family in plants: Molecular structure, regulation, and function. *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (1), 259. <https://doi.org/10.3390/ijms19010259>
- Macías, F. A., Molinillo, J. M. G., Varela, R. M., & Galindo, J. C. G. (2007). Allelopathy-A natural alternative for weed control. *Pest Management Science*, 63 (4), 327-348. <https://doi.org/10.1002/ps.1342>
- Malinowski, D. P., & Belesky, D. P. (2006). Ecological importance of Neotyphodium spp. grass endophytes in agroecosystems. *Grassland Science*, 52(1). <https://doi.org/10.1111/j.1744-697x.2006.00041.x>

- Mano, Y., & Nemoto, K. (2012). The pathway of auxin biosynthesis in plants. *Journal of Experimental Botany*, 63 (8), 2853-2872. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers091>
- Mano, Y., Nemoto, K., Suzuki, M., Seki, H., Fujii, I., & Muranaka, T. (2010). The AMI1 gene family: Indole-3-acetamide hydrolase functions in auxin biosynthesis in plants. In *Journal of Experimental Botany*, 61(1), 25-32. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp292>
- Matnawy. (1989). *Perlindungan Tanaman*. Yogyakarta: Kanisius.
- Mccullough, M. J., Clemons, K. V., Mccusker, J. H., & Stevens, D. A. (1998). Intergenic transcribed spacer PCR ribotyping for differentiation of *Saccharomyces* species and interspecific hybrids. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(4), 1035–1038. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.4.1035-1038.1998>
- Mehmood, A., Khan, N., Irshad, M., Hamayun, M., Husna, I., Javed, A., & Hussain, A. (2018). IAA producing endopytic fungus *Fusarium oxysporum* wlv colonize maize roots and promoted maize growth under hydroponic condition. *European Journal of Experimental Biology*, 08(04). <https://doi.org/10.21767/2248-9215.100065>
- Mittal, V., Singh, O., Nayyar, H., Kaur, J., & Tewari, R. (2008). Stimulatory effect of phosphate-solubilizing fungal strains (*Aspergillus awamori* and *Penicillium citrinum*) on the yield of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. GPF2). *Soil Biology and Biochemistry*, 40 (3), 718-727. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.10.008>
- Morales-Payan, J. P., Stall, W. M., Shilling, D. G., Charudattan, R., Dusky, J. A., & Bewick, T. A. (2003). Above- and belowground interference of purple and yellow nutsedge (*Cyperus* spp.) with tomato. *Weed Science*, 51(2), 181-185. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2003\)051\[0181:aabiop\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2003)051[0181:aabiop]2.0.co;2)
- Mot'ková, P., & Vytřasová, J. (2011). Comparison of methods for isolating fungal DNA. *Czech J. Food Sci.* 29(203), S76-S85.
- Mount. (2001). *Phylogenetic prediction. In: Bioinformatic sequence and genome analysis*. New York: New York Press.
- Mulyatni, A. S., Priyatmojo, A., & Purwantara, A. (2011). Sekuen Internal Transcribed Spacer (ITS) DNA ribosomal *Oncobasidium theobromae* dan jamur sekerabat pembanding. *Menara Perkebunan*, 79 (1), 1-5. <http://dx.doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v79i1.75>
- Murtiyaningsih, Hiadayah. (2017). Isolasi DNA genom dan identifikasi kekerabatan genetik nanas menggunakan RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA). *Agritop*, 15(1). <https://doi.org/10.32528/agr.v15i1.795>

- Naik, P. R., Raman, G., Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2008). Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil. *BMC Microbiology*, 8, 230. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-230>
- Nalini, H. Sofia, Walter, Thomas M., Merish, S., & Tamizhamuthu, M. (2014). An overview of nut grass (*Cyperus rotundus*) with special reference to ayush. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3(6), 1459-1471.
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L., & Renella, G. (2011). *Role of Phosphatase Enzymes in Soil*, 26, 215-243. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_9
- Nemoto, K., Hara, M., Goto, S., Kasai, K., Seki, H., Suzuki, M., Oka, A., Muranaka, T., & Mano, Y. (2009). The aux1 gene of the Ri plasmid is sufficient to confer auxin autotrophy in tobacco BY-2 cells. *Journal of Plant Physiology*, 166(7), 729-738. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.09.006>
- Nicholas, F.W. (1993). *Veterinary genetics*. New York: Oxford University Press.
- Niu, C., Kebede, H., Auld, D. L., Woodward, J. E., Burow, G., & Wright, R. J. (2008). A safe inexpensive method to isolate high quality plant and fungal DNA in an open laboratory environment. *African Journal of Biotechnology*, 7(16), 2818–2822. <https://doi.org/10.5897/AJB08.504>
- Noverita, Fitria, Dinah, & Sinaga, Ernawati. (2009). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Dari Daun Dan Rimpang. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 4(4), 1711-176.
- Nugraheni, Y. M. M. Anita, Anggadhania, L., & Arief Putranto, R. (2015). Identifikasi tiga isolat cendawan penghasil gaharu dari nusa tenggara barat dengan menggunakan primer ITS dan TEF 1- α . *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 9(2), 77-90. <https://doi.org/10.20886/jpht.2015.9.2.77-90>
- Osawa, S., S. Zhi-Hui & y. Imura. (2004). *Molecular phylogeny and evolution of carabid ground beetles*. Springer-Verlag Tokyo: SNP Best-set Typesetter Ltd.
- Osterbauer, N. K., & Rehms, L. (2002). Detecting single seeds of small broomrape (*Orobancha minor*) with a Polymerase Chain Reaction. *Plant Health Progress*. <https://doi.org/10.1094/php-2002-1111-01-rs>
- Pal, D., & Dutta, S. (2006). Evaluation of the antioxidant activity of the roots and rhizomes of *Cyperus rotundus* L. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68(2), 256-258. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.25731>
- Peay, K. G., Kennedy, P. G., & Bruns, T. D. (2008). Fungal community ecology: A hybrid beast with a molecular master. *BioScience*, 58(9), 799-810. <https://doi.org/10.1641/B580907>

- Poczai, P., & Hyvönen, J. (2010). Nuclear ribosomal spacer regions in plant phylogenetics: Problems and prospects. *Molecular Biology Reports*, 37, 1897-1912. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9630-3>
- Porter, T. M., & Brian Golding, G. (2011). Are similarity- or phylogeny-based methods more appropriate for classifying internal transcribed spacer (ITS) metagenomic amplicons? *New Phytologist*, 192(3), 775-782. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03838.x>
- Pradhan, S., & Pokhrel, M. R. (2013). Spectrophotometric determination of phosphate in sugarcane juice, fertilizer, detergent and water samples by molybdenum blue method. *Scientific World*, 11(11), 58-62. <https://doi.org/10.3126/sw.v11i11.9139>
- Pramarta, I.G.R. (2004). *Identifikasi spesies potyvirus penyebab penyakit mosaik pada tanaman cabai rawit (Capsicum frutescens L.) melalui sekuen nukleotida gen coat protein*. Tesis. Denpasar: Universitas Udayana.
- Pranasari, Rizka Amalia, Nurhidayati, Tutik, & Purwani, Kristanti Indah. (2012). *Persaingan Tanaman Jagung*. 1(1), 54–57.
- Puchooa, Daneshwar & Sher-Ullah Shahnoo Sulliman Khoyratty. (2004). Genomic DNA extraction from victoria amazonica. *Plant Molecular Biology Reporter*, 22, 195a-195j. <https://doi.org/10.1007/bf02772727>
- Puratchikody, A., Devi, C., & Nagalakshmi, G. (2006). Wound healing activity of *Cyperus rotundus* Linn. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68(1), 97-101. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.22976>
- Purnamasari, M. I., Prihatna, C., Gunawan, A. W., & Suwanto, A. (2012). Isolasi dan identifikasi secara molekuler *Ganoderma* spp . yang berasosiasi dengan penyakit busuk pangkal batang di kelapa sawit. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 8(1), 9–15. <https://doi.org/10.14692/jfi.8.1.9de>
- Purwantiningsih, Budi. (2014). *Serangga polinator*. Malang: UB Press.
- Radji, M. (2005). Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 17(2), 39-46.
- Rahayu, G., Widodo, W., & Mahasari, N. P. W. (2019). Identifikasi Infraspesifik *Fusarium oxysporum* asal Subtrat Nonpisang dan Kemampuan Pindah Inangnya ke Tanaman Pisang. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 15(1), 27. <https://doi.org/10.14692/jfi.15.1.27>
- Rahman, Afzalur. (2007). *Ensiklopedia ilmu dalam Al-Qur'an: Rujukan terlengkap isyarat-isyarat ilmiah dalam Al-Qur'an*. Bandung: Mizan Media Utama (MMU).

- Rante, H., Taebe, B., & Intan, S. (2013). Isolasi Fungi Endofit Penghasil Senyawa Antimikroba Dari Daun Cabai Katokkon (*Capsicum annum* L var. *chinensis*) Dan Profil Klt Bioautografi. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 17(2), 39-46.
- Raut, N. A., & Gaikwad, N. J. (2006). Antidiabetic activity of hydro-ethanolic extract of *Cyperus rotundus* in alloxan induced diabetes in rats. *Fitoterapia*, 77(7-8), 585-588. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.09.006>
- Richardson, A. E., Lynch, J. P., Ryan, P. R., Delhaize, E., Smith, F. A., Smith, S. E., Harvey, P. R., Ryan, M. H., Veneklaas, E. J., Lambers, H., Oberson, A., Culvenor, R. A., & Simpson, R. J. (2011). Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and Soil*, 1(2), 121–156. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0950-4>
- Rohmah, U. M., Shovitri, M., & Kuswytasari, K. (2019). Degradasi Plastik Oleh Jamur *Aspergillus terreus* (LM 1021) Pada pH 5 dan pH 6; Serta Suhu 25 dan 35 Celcius. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 7(2), 5–10. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v7i2.37207>
- Ruchi, W., Putri, D. H., & Anhar, A. (2019). Comparison of Three Different DNA Isolation Methods To Degradate The *Trichoderma* Fungi Cell Wall. *Bioscience*, 3(1), 50. <https://doi.org/10.24036/0201931102859-0-00>
- Ryan, P. R., & Jones, D. L. (2001). Function and mechanism of organic anion exudation from plants roots. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol Biol*, 52, 527–560. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.527>
- Sahu, S. K., Thangaraj, M., & Kathiresan, K. (2012). DNA extraction protocol for plants with high levels of secondary metabolites and polysaccharides without using liquid nitrogen and phenol. *ISRN Molecular Biology*, 1–6. <https://doi.org/10.5402/2012/205049>
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406-425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3th edn, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, *Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 3th Edn.*
- Sari, Devita Mala, Yunasfi, & Budi Utomo. (2015). Pemanfaatan fungi *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, dan *Trichoderma harzianum* untuk meningkatkan pertumbuhan bibit *Ceriops tagal*. *Peronema Forestry Science Journal*, 4(3), 192-198.
- Sauer, M., Robert, S., & Kleine-Vehn, J. (2013). Auxin: Simply complicated. *Journal of Experimental Botany*, 64(9), 2565-2577.

<https://doi.org/10.1093/jxb/ert139>

- Schmidt. (2003). Phylogenetic trees from large datasets. Inaugural-Dissertation, Dusseldorf University.
- Schulz, B., & Boyle, C. (2005). The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109(6), 661-686. <https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>
- Shane, M. W., & Lambers, H. (2005). Cluster roots : A curiosity in context. *Plant and Soil*, 274, 101–125. <https://doi.org/10.007/s11104-004-2725-7>
- Sharma, S. K., & Singh, A. P. (2011). Antimicrobial investigations on rhizomes of *Cyperus rotundus* Linn. *Der Pharmacia Lettre*, 3(3), 427–431.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, 2, 587. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
- Shihab, Quraisy. (2002). *Tafsir Al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Simpson, M.G. (2006). *Plant systematic*. California: Elsevier Academic Press.
- Singh, N., Pandey B.R., Verma P., Bhalla M., & Gilca M. (2012). Phytopharmacotherapeutics of *Cyperus rotundus* Linn. (Motha): an overview. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 3(4), 46776.
- Sivapalan, S. R. (2013). Medicinal uses and Pharmacological activities of *Cyperus rotundus* Linn – A Review. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3(5).
- Sivapalan, Sri Ranjani & Jeyadevan, Prince. (2017). Physico-chemical and phyto-chemical study of rhizome of *Cyperus rotundus* Linn. *International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology (IJPPT)*, 1(2), 42–46.
- Smith, S.E., Read D.J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. London: Academic Press.
- Soltis, D. E., & Soltis, P. S. (1998). Choosing an Approach and an Appropriate Gene for Phylogenetic Analysis. *Molecular Systematics of Plants II*. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5419-6_1
- Spaepen, Stijn, Vanderleyden, Jos, & Remans, Roseline. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 425–448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>
- Srinivasan, R., Yandigeri, M. S., Kashyap, S., & Alagawadi, A. R. (2012). Effect of salt on survival and P-solubilization potential of phosphate solubilizing

- microorganisms from salt affected soils. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(4), 427-434. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.05.004>
- Strobel, G., & Daisy, B. (2003). Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol Mol. Biol Rev*, 67(4), 491–502. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.491>
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U., & Harper, J. (2004). Natural Products from Endophytic Microorganisms. *J. Nat. Prod*, 67(2), 257–268. <https://doi.org/10.1021/np030397v>
- Subba rao, N.S. (2010). *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Jakarta: UI Press.
- Suryanti, Ida Ayu Putu, Yan Ramona, & Meitini W. Proborini. (2015). Isolasi dan identifikasi jamur penyebab penyakit layu dan antagonisnya pada tanaman kentang yang dibudidayakan di bedugul, Bali. *Jurnal Biologi Udayana*, 17(2). <https://doi.org/10.24843/jbiounud>
- Surzycki, S. (2000). Basic techniques in molecular biology. *Basic Techniques in Molecular Biology*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-56968-5>
- Susianti. (2015). Potensi rumput teki (*Cyperus Rotundus L.*) sebagai agen antikanker. *Phytochemistry*.
- Syafaruddin, S., Randriani, E., & Santoso, T. J. (2011). Efektivitas dan efisiensi teknik isolasi dan purifikasi DNA pada jambu mete (*Anacardium occidentale L.*). *Buletin RISTRI*, 2(2), 151–160.
- Syafaruddin, S., & Santoso, T. J. (2020). Optimasi teknik isolasi dan purifikasi dna yang efisien dan efektif pada kemiri sunan (*Reutalis trisperma* (Blanco) Airy Shaw). *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 17(1), 11. <https://doi.org/10.21082/jlitri.v17n1.2011.11-17>
- Syamsia, S., Kuswinanti, T., Syam'un, E., & Masniawati, A. (2015). The Potency of Endophytic Fungal Isolates Collected from Local Aromatic Rice as Indole Acetic Acid (IAA) Producer. *Italian Oral Surgery*, 3, 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.01.009>
- Syers, J. K., Johnston, A. E., & Curtin. (2008). *Improving the efficiency of soil and fertilizer phosphorus use: Reconciling changing concepts of soil phosphorus behaviour with agronomic information*. Roma, Italia: FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin 18.
- Tallapragada, P., & Seshachala, U. (2012). Phosphate-solubilizing microbes and their occurrence in the rhizospheres of piper betel in Karnataka, India. *Turkish Journal of Biology*, 36, 25-35. <https://doi.org/10.3906/biy-1012-160>

- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipiński, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Tan, R. X., & Zou, W. X. (2001). Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Nat. Prod Rep*, 18, 448-459. <https://doi.org/10.1039/b100918o>
- Tanay, A., & Shamir, R. (2001). Computational expansion of genetic networks. *Bioinformatics*, 17(1), S270-S278. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.suppl_1.S270
- Tanksley, S. D. (1983). Molecular markers in plant breeding. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1, 3-8. <https://doi.org/10.1007/BF02680255>
- Tasuruni, Dini. (2012). *Analisis morfologi dan sekuens ITS rDNA jamur edibel ektomikoriza pelawan dan struktur ektomikorizanya*. Tesis. Pascasarjana Mikrobiologi. Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., & Higgins, D. G. (1997). The CLUSTAL_X windows interface : flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 25(24), 4876-4882.
- Tripathi, L. P., Esaki, T., Itoh, M. N., Chen, Y. A., & Mizuguchi, K. (2018). Integrative analysis of multi-omics data. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology: ABC of Bioinformatics*, (1-3). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20096-4>
- Tripathy, S. K., Maharana, M., & Ithape, D. M. (2017). Exploring rapid and efficient protocol for isolation of fungal DNA exploring rapid and efficient protocol for isolation of fungal DNA. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 6(3), 951-960. <https://doi.org/10.20546/ijemas.2017.603.113>
- Uslan, U., & Pharmawati, M. (2015). Optimasi konsentrasi DNA dan MgCl₂ pada reaksi Polymerase Chain Reaction-Random Amplified Polymorphic DNA untuk analisis keragaman genetik tanaman faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br). *JURNAL BIOS LOGOS*, 5(1). <https://doi.org/10.35799/jbl.5.1.2015.9316>
- Vance, C. P., Uhde-Stone, C., & Allan, D. L. (2003). Phosphorus acquisition and use: Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*, 157(3). <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x>
- Varma, A., Padh, H., & Shrivastava, N. (2007). Plant genomic DNA isolation: An art or a science. *Biotechnol J*, 2(3), 386-392. <https://doi.org/10.1002/biot.200600195>

- Verheij, E. W. M., & Coronel, R. E. (1997). *Sumber daya nabati Asia Tenggara, Buah-buahan yang dapat dimakan*. Terjemahan S. Somaatmadja. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Vitória, N. S., Bezerra, J. L., & Gramacho, K. P. (2010). A simplified DNA extraction method for PCR analysis of *Camarotella* spp. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53(2), 249–252. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132010000200001>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1>
- Widodo, Didik Huswo Utomo, Anggia Noor Ramadhani, Alfiatun Hasanah, & Aida Fitriah. (2018). *Cara mudah membuat pohon filogenetik dengan MEGA software*. Malang: Global Science.
- Wicaksono, Septian Tri. (2019). *Isolasi fungi endofit rimpang rumput teki (Cyperus rotundus L.) sebagai pelarut fosfat dan penghasil fitohormon auksin Indole-3-Acetic Acid. Skripsi*. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Woodward, Andrew W., & Bonnie Barret. (2005). Auxin: Regulation , Action , and Interaction. *Annals of Botany*, 95(5), 707–735. <https://doi.org/10.1093/aob/mci083>
- Yang, Y., Zuzak, K., & Feng, J. (2016). An improved simple method for DNA extraction from fungal mycelia. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 38(4), 467-482. <https://doi.org/10.1080/07060661.2016.1243585>
- Ye, J., McGinnis, S., & Madden, T. L. (2006). BLAST: Improvements for better sequence analysis. *Nucleic Acids Research*, 34,W6-9. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl164>
- Yuwono, Y. (2009). *Biologi molekuler*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Zega, A., Suryanto, D., & Yurnaliza. (2018). An ability of endophytic bacteria from nutgrass (*Cyperus rotundus*) from lafau beach of north nias in producing indole acetic acid and in solubilizing phosphate. *IOP Conf. Ser.: Earth and Environ.Sci*, 130(1).https://ui.adsabs.harvard.edu/link_gateway/2018E&ES..130a2007Z/doi:10.1088/1755-1315/130/1/012007
- Zhang, H. W., Song, Y. C., & Tan, R. X. (2006). Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*, 23(5), 753-771. <https://doi.org/10.1039/b609472b>
- Zhang, Y. J., Zhang, S., Liu, X. Z., Wen, H. A., & Wang, M. (2010). A simple method of genomic DNA extraction suitable for analysis of bulk fungal strains.

Lett. Appl. Microbiol, 51(1), 114–118. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02867.x>

Zhao, Yunde. (2010). Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 49-64. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112308>



LAMPIRAN

Lampiran 1. Formula Pembuatan 2X CTAB:

Standard DNA Extraction Protocol

Jer-Ming Hu July 4, 2002

2x CTAB Buffer	(Per 200ml)
100 mM Tris-HCL (p8.0)	20 ml 1 M Tris-HCl p 8.0
1.4 M NaCl	56 ml 5 M NaCl (or 0.4 g)
20 mM EDTA	16 ml 0.5 M EDTA
2% CTAB	4.0 g powder
2% PVP40	4.0 g powder
0.2% β -mercaptoethanol	Add right before use



Lampiran 2. Modifikasi Metode Doyle & Doyle

Metode Doyle & Doyle	Modifikasi
Disiapkan daun segar yang telah halus sebanyak 0,5-100 mg	Diambil miselium fungi endofit berumur 7 hari sebanyak 100 mg
Ditambahkan CTAB (2% [Sigma - 5882], 1.4M NaCl, 0.2% 2-mercaptoetanol, 20 mM EDTA, 100 mM Tris HCl, p 8.0	Ditambahkan 1000ul buffer 2x CTAB {100 mm Tris hcl (ph 8), 1.4 M nacl, 20 mm EDTA, 2% CTAB, 2% PVP, 0.2% β -merchптоethanol} dan divortex
Diinkubasi di dalam waterbath 60°C selama 30 menit	Diinkubasi didalam waterbath 65°C selama 60 menit.
Ditambah 1x volume (24:1) <i>Cloroform:isoamilalkool.</i>	Ditambahkan 900 ul (24:1) <i>chloroform:isoamilalkohol</i>
-	Diinkubasi 1 jam di suhu ruang
-	Disentrifugasi 13000 rpm selama 10 menit
diambil supernatan, dipindahkan ke dalam tube baru	Dimambil supernatan, dipindahkan ke dalam tube baru
-	Ditambah 1x volume <i>chloroform:isoamil alkohol</i> (24:1)
-	Disentrifugasi 13000 rpm selama 10 menit
-	Diambil supernatan dan dipindahkan ke dalam tube 1.5 ml
Ditambah isopropanol sebanyak 2/3 volume supernatan	Ditambahkan isopropanol sebanyak 2/3 volume supernatan
Diinkubasi semalam	Diinkubasi semalam pada suhu - 4°C.
Ditambah	-
Disentrifugasi 6000x g (10 menit)	Disentrifugasi 13000 rpm selama 10 menit
Dicuci pellet dengan (76% EtOH, 10 mM ammonium acetate	Dicuci pellet dengan 500 ul <i>ethanol absolute</i>
Disentrifugasi 6000x (10 menit), dibuang supernatan	Disentrifugasi 13000 rpm selama 5 menit
-	Dikering anginkan di oven 25°C.
Ditambahkan 50ul TE Buffer	Ditambahkan elution buffer 20 ul
Disimpan pada suhu -4°C.	Disimpan pada suhu -4°C.

Lampiran 3. Sekuen *Fusarium oxysporum* isolate A1S3-D89 dan sekuen isolat URT1

1. Sekuen *Fusarium oxysporum* isolate A1S3-D89

>MN153518.1 *Fusarium oxysporum* isolate A1S3-D89

TGATCTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAA
 CCCCTGTGAACATAACCACTTGTTCCTCGGCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAAACG
 GGACGGCCCGCCAGAGGACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTAACCTCTGAGTAA
 ACCATAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAA
 GAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGA
 ATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCG
 TCATTTCAACCCTCAAGCACAGCTTGGTGTGGGACTCGCGTTAATTCGCGTTCCCC
 AAATTGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAGTAAACCCTCGTTAC
 TGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTTAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGG

2. Sekuen isolat URT1

>Isolat URT1

GTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTG
 AACATAACCACTTGTTCCTCGGCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAAACGGGACGGC
 CCGCCAGAGGACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTAACCTCTGAGTAAAACCATAA
 ATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA
 GCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
 ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCA
 ACCCTCAAGCACAGCTTGGTGTGGGACTCGCGTTAATTCGCGTTCCCAAATTGA
 TTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAGTAAACCCTCGTTACTGGTAAT
 CGTCGCGGCCACGCCGTTAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAG

Lampiran 4. Sekuen *Aspergillus terreus* isolate AGE dan sekuen isolat URT4

1. Sekuen *Aspergillus terreus* isolate AGE

>MT152989.1 *Aspergillus terreus*
 CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTGCGGGTCTTTATGGCCC
 AACCTCCCACCCGTGACTATTGTACCTTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCAGCGTTGC
 TGGCCGCGGGGGGGCGACTCGCCCCGGGCCCCTGCCCGCCGGAGACCCCAACA
 TGAACCCTGTTCTGAAAGCTTGACAGTCTGAGTGTGATTCTTTGCAATCAGTTAAAA
 CTTTCAACAATGGATCTCTTGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG
 ATAATAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTG
 CGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGC
 CCGCCTTGTGTGTTGGGCCCTCGTCCCCGGCTCCCGGGGGACGGGCCCGAAAGG
 CAGCGGCGGCACCGCGTCCAGTCTCGAGCGTATGGGGCTTCGTCTCCGCTCCCT
 AGT

2. Sekuen isolat URT4

>Isolat URT4
 CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTGCGGGTCTTTATGGCCC
 AACCTCCCACCCGTGACTATTGTACCTTGTTGCTTCGGCGGGCCCGCCAGCGTTGC
 TGGCCGCGGGGGGGCGACTCGCCCCGGGCCCCTGCCCGCCGGAGACCCCAACA
 TGAACCCTGTTCTGAAAGCTTCTAGTCTGAGTGTGATTTTTTCCAATCAGTTAAAC
 TTTCAACAATGGATCTCTTGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA
 TAATAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATAGAGTCTTTGAACGCACATTGC
 GCCCCCTGGTATTCCGGGGGGGGTGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAATCC
 CGGCTTGTGTGTTGGGCCCTCGTCCCCGGCTCCCGGGGGACGGGCCCGAAAGGC
 AGCGGCGGCACCGCGTCCAGTCTCGAGCGTATGGGGCTTTTTTTGGCCGCTCCCTA
 GT

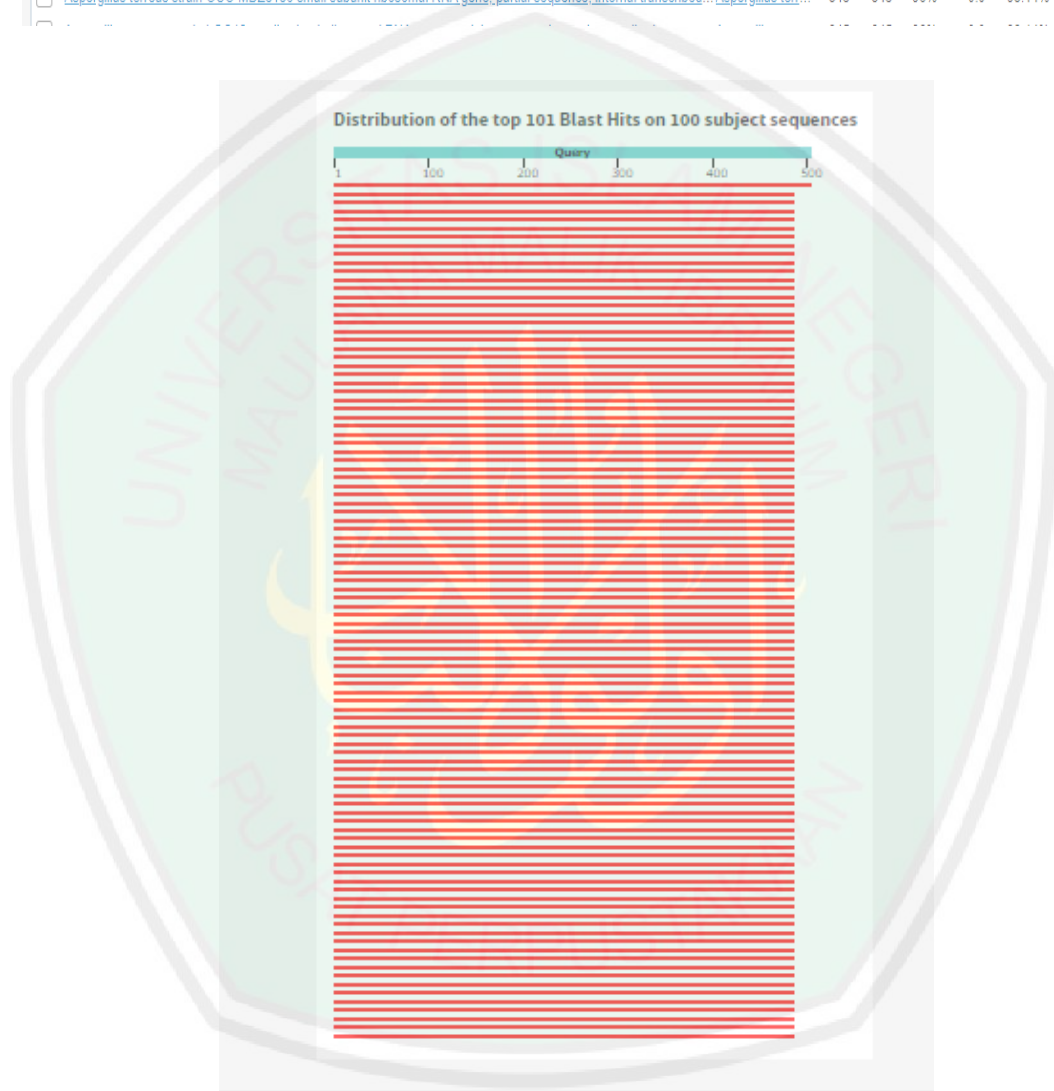
Lampiran 5. Hasil BLAST Isolat URT1

	Description	Common Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input type="checkbox"/>	Fusarium oxysporum isolate A1S3-D89 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed s...	Fusarium oxysp...	928	928	100%	0.0	100.00%	553	MN153518.1
<input type="checkbox"/>	Fusarium oxysporum isolate ATW1-2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spa...	Fusarium oxysp...	928	928	100%	0.0	100.00%	544	MN013922.1
<input type="checkbox"/>	Fusarium oxysporum isolate 106_H17_compost small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal trans...	Fusarium oxysp...	928	928	100%	0.0	100.00%	541	MK956804.1
<input type="checkbox"/>	Fusarium nirenbergiae strain An7 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer...	Fusarium niren...	928	928	100%	0.0	100.00%	529	MH990908.1
<input type="checkbox"/>	Fusarium sp. isolate MT1.F small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1_5.8...	Fusarium sp.	928	928	100%	0.0	100.00%	555	MK389393.1



Lampiran 6. Hasil BLAST Isolat URT4

	Description	Common Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input type="checkbox"/>	Aspergillus terreus isolate AGE small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Aspergillus terr...	856	856	100%	0.0	97.42%	600	MT152989.1
<input type="checkbox"/>	Aspergillus sp. isolate A3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1_5.8S...	Aspergillus sp.	845	845	96%	0.0	98.14%	611	MN114540.1
<input type="checkbox"/>	Aspergillus sp. isolate F8 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1_5.8S...	Aspergillus sp.	845	845	96%	0.0	98.14%	617	MK027223.1
<input type="checkbox"/>	Aspergillus sp. isolate OUCMDZ-4985 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed sp...	Aspergillus sp.	845	845	96%	0.0	98.14%	607	MK355521.1
<input type="checkbox"/>	Aspergillus terreus strain OUC-MDZ5136 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed...	Aspergillus terr...	845	845	96%	0.0	98.14%	608	MK351266.1



Lampiran 7. Analisis *p-distance*

	Jarak Genetik									
Isolat_URT4										
MT152989.1_Aspergillus_terreus	0,026									
KX463034.1_Aspergillus_flavus	0,120	0,108								
HM188440.1_Monascus_purpureus	0,160	0,146	0,200							
FJ427066.1_Phoma_schachtii	0,361	0,348	0,379	0,346						
Isolat_URT1	0,358	0,346	0,363	0,333	0,371					
MN153518.1_Fusarium_oxysporum_isolate_A1S3-	0,371	0,359	0,381	0,331	0,381	0,000				
KU350715.1_Fusarium_redolens	0,320	0,308	0,340	0,320	0,372	0,082	0,084			
KJ572158.1_Colletotrichum_incarnatum	0,345	0,341	0,366	0,326	0,391	0,187	0,187	0,193		
KY352035.1_Penicillium_chrysogenum	0,628	0,622	0,637	0,608	0,644	0,601	0,600	0,581	0,618	



Lampiran 8. Hasil Alignment

The figure displays four screenshots of the MX Alignment Explorer interface, each showing a multiple sequence alignment of DNA sequences. The interface includes a menu bar (Data, Edit, Search, Alignment, Web, Sequencer, Display, Help) and a toolbar with various icons for file operations and navigation. The main window is divided into two tabs: 'DNA Sequences' and 'Translated Protein Sequences', with 'DNA Sequences' currently selected. Each screenshot shows a list of species and their corresponding DNA sequences, with gaps represented by dashes. The sequences are color-coded to highlight specific regions or mutations. The species listed in all screenshots are: 1. Isolat URT4, 2. MT152989.1 Aspergillus, 3. KX483034.1 Aspergillus, 4. HM188440.1 Monascus, 5. F1427086.1 Phoma sp., 6. Isolat URT1, 7. MN153518.1 Fusarium, 8. KU350715.1 Fusarium, 9. KJ572158.1 Colletotrichum, and 10. KY352035.1 Penicillium. The alignments show high sequence similarity across the different isolates, with some variations in the gaps and specific nucleotide positions.





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Durrotul Maknuna
NIM : 15620084
Program Studi : Biologi
Semester : Genap T.A 2020
Pembimbing : Dr. Nur Kusmiyati, M.Si
Judul Skripsi : Analisis Fungi Endofit Pelarut Fosfat dan Penghasil IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) Rimpang Rumput Teki Berdasarkan Sekuens rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*)

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	09 Januari 2019	Konsultasi Judul Penelitian	1.
2.	24 Februari 2019	Konsultasi BAB I, II, III	2.
3.	08 Maret 2019	Revisi BAB I dan III	3.
4.	12 April 2019	Konsultasi BAB III	4.
5.	26 April 2019	Revisi BAB III	5.
6.	19 September 2020	Konsultasi BAB I	6.
7.	27 September 2020	Revisi BAB I	7.
8.	04 Oktober 2020	ACC Seminar Proposal	8.
9.	17 November 2020	Konsultasi Hasil Penelitian	9.
10.	20 November 2020	Konsultasi BAB IV	10.
11.	25 November 2020	Konsultasi BAB IV dan V	11.
12.	30 November 2020	Konsultasi BAB I, II, III, IV, dan V	12.
13.	04 Desember 2020	ACC Skripsi	13.

Malang, 4 Desember 2020

Pembimbing Skripsi,

Dr. Nur Kusmiyati, M.Si
NIP. 19890816 20160108 2 061



Lika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI AGAMA SKRIPSI

Nama : Durrotul Maknuna
NIM : 15620084
Program Studi : Biologi
Semester : Ganjil T.A 2019
Pembimbing : Dr. Ahmad Barizi, M.A
Judul Skripsi : Analisis Fungi Endofit Pelarut Fosfat dan Penghasil IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) Rimpang Rumput Teki Berdasarkan Sekuens rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*)

NO.	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	11 Maret 2019	Konsultasi Integrasi Ayat BAB I dan II	1.
2.	15 Maret 2019	ACC Integrasi BAB I dan II	2.
3.	27 November 2020	Konsultasi Integrasi Ayat BAB IV	3.
4.	4 Desember 2020	ACC Integrasi BAB IV	4.

Malang, 4 Desember 2020

Pembimbing Skripsi,

Dr. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19731212 199803 1 008



Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002