

# Isolasi dan Identifikasi Mikoparasit Utama pada Karat Krisan (Isolation and Identification of Major Mycoparasite on *Chrysanthemum Rust*)

Evi Silvia Yusuf, Wakhiah Nuryani, dan Hanudin

Balai Penelitian Tanaman Hias, Jln. Raya Ciherang –Pacet, Cianjur, Jawa Barat, Indonesia 43253

E-mail: evinugraha99@yahoo.com

Diterima: 20 November 2015; direvisi: 3 Mei 2016; disetujui: 17 Juni 2016

**ABSTRAK.** Pada beberapa jenis cendawan karat dilaporkan terdapat mikoparasit dan salah satu di antaranya adalah *Cladosporium* sp. Mikoparasit yang ditemukan di Kebun Percobaan Segunung Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi), dapat menekan penyakit karat pada krisan sampai dengan 100%. Penelitian bertujuan mengidentifikasi dan mempelajari karakter morfologi dan molekuler cendawan mikoparasit yang terdapat pada pustul karat krisan asal Kebun Percobaan Balithi. Penelitian dilakukan di Laboratorium Penyakit Balithi Segunung dan Laboratorium Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong pada Januari sampai dengan Desember 2012. Identifikasi secara morfologi dilakukan dengan melihat ciri makroskopis dan mikroskopis cendawan. Identifikasi secara molekuler dilakukan berdasarkan analisis pada sekuen *internal transcribed spacer* (ITS) *ribosomal DNA*. Amplifikasi PCR pada ITS menggunakan primer ITS 4: 5'--TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3' dan ITS 5: 5'--GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3'. Hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik menunjukkan bahwa isolat 567 yang menginfeksi karat putih pada krisan asal Segunung termasuk ke dalam genus *Cladosporium*. Hasil analisis secara molekuler, *Cladosporium* memiliki homologi 100% dengan *Cladosporium cladosporioides* strain 1-09 (aksesi no: JF502459) yang berada di *genbank*.

Kata kunci: *Cladosporium*; Karat putih; Mikoparasit; Identifikasi; Morfologi

**ABSTRACT.** Several rust species reported associate with mycoparasite and one of them is *Cladosporium* sp. Mycoparasite was found at Segunung Experimental Station of Ornamental Crops Research Institute (IOCRI), suppressed the rust up to 100%. The study was conducted at the Mycology Laboratory of IOCRI and Indonesian Institute of Sciences (IIS) Cibinong from January to December 2012. The aims of the research was to identify and study morphology and molecular characters of mycoparasite on chrysanthemum rust pustules from IOCRI. Morphological identification was observed by the macroscopic and microscopic characteristics. Molecular identification based on partially genetic analyzes on internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal DNA of the fungus. PCR amplification of the ITS using ITS Primary 4: 5'--TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3' and ITS Primary 5: 5'-AAA AGT AGT CGT GGA AAC AAG G-3'. Observation of morphology showed that mycoparasite isolate 567 infected chrysanthemum white rust is belonging to *Cladosporium* genus. The results of molecular analysis showed that *Cladosporium* sp. has 100% homology with *Cladosporium cladosporioides* strain 1-09 (accession no: JF502459) from *genbanks*.

Keywords: *Cladosporium*; White rust disease; Mycoparasite; Identification; Morphology

Karat putih yang disebabkan cendawan *Puccinia horiana* P. Henn merupakan penyakit utama pada tanaman krisan. Gejala penyakit berupa bintik kuning yang sedikit berlekuk pada permukaan atas daun. Pada bintik di bagian bawah daun terbentuk pustul yang awalnya berwarna merah muda, kemudian selama perkembangan warnanya berubah menjadi putih. Pustul umumnya ditemukan pada daun tua hingga muda. Serangan yang parah mengakibatkan tanaman menjadi kering dan tidak mampu berproduksi. Karat putih dapat muncul secara tiba-tiba dalam skala besar di suatu lokasi dan memengaruhi hasil dan kualitas bunga dengan kerugian hingga 100% (Gore 2008).

Penyakit karat seringkali dilaporkan sebagai inang bagi *Scytalidium* sp., *Sphaerellopsis* sp., *Lecanicillium* sp., *Verticillium* sp., dan *Cladosporium* sp. (Sharma & Sankaran 1988, Wahyuno 2008, Silvia et al. 2014, Assante et al. 2004, Barros et al. 1999). Mikoparasit bertumbuh dan berkembang dengan mengambil nutrisi dari organisme yang ditumpanginya (Jeffries 1995). Pertumbuhan mikoparasit pada cendawan patogen

mampu mengurangi keparahan penyakit sebesar 30–80% (Silvia et al. 2014).

Pada tahun 2011 dilakukan pengumpulan isolat mikoparasit dari pertanaman krisan yang terinfeksi karat putih dari Kabupaten Cianjur dan Bandung Barat. Hasil yang diperoleh sebanyak 55 isolat cendawan mikoparasit yang terdiri atas empat genus. Salah satu genus mikoparasit yang diduga *Cladosporium* yang paling banyak ditemukan di setiap lokasi pertanaman krisan dan potensial sebagai pengendali karat putih, dengan perolehan isolat sebanyak 92,7% (Silvia et al. 2014). Dugaan itu muncul pada saat mikoparasit diisolasi, koloni tumbuh secara koloidal berwarna coklat kehitaman mirip dengan ciri koloni *Cladosporium* sp. Selain itu banyak pustaka yang mengemukakan bahwa *Cladosporium* sp. seringkali ditemukan menjadi parasit pada beberapa jenis karat seperti yang disebabkan *Cronartium* spp. dan *Puccinia* spp. (Morgan-Jones & Mckemy 1990). Hasil uji yang dilakukan di laboratorium menunjukkan bahwa *Cladosporium* sp. asal Kebun Percobaan

Segunung Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi) menghasilkan penekanan yang tinggi terhadap karat putih asal krisan dibanding dengan *Cladosporium* dari Bandung Barat dengan penekanan mencapai 100% (Silvia *et al.* 2014). *Cladosporium* sp. merupakan salah satu mikoparasit potensial yang belum banyak diteliti dan dikembangkan. Untuk menggali potensi *Cladosporium* sp. sebagai agens hayati pengendali penyakit karat, perlu dilakukan identifikasi. Tujuan mengidentifikasi nama suatu organisme adalah karena nama merupakan kunci untuk membuka tabir informasi berbagai hal mengenai organisme tersebut. Identifikasi dapat dilakukan secara morfologi dan molekuler. Identifikasi secara morfologi dilakukan dengan melihat ciri makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi cara morfologi tidak dapat menggambarkan filogeni hingga tingkat spesies, oleh karena itu dilakukan pula teknik identifikasi secara molekuler. Perbandingan sekuen pada gen penyandi ribosomal DNA dapat digunakan sebagai karakter untuk identifikasi molekuler suatu organisme karena gen ini memiliki sekuen yang terkonservasi maupun variabel. Salah satu ribosomal DNA yang digunakan untuk mengidentifikasi suatu organisme eukaryota hingga tingkat spesies, yaitu *internal transcribed spacer* (ITS) (Ediningsari & Anisa 2008). *Internal transcribed spacer* (ITS) dapat meruntutkan hubungan kekerabatan cendawan pada tingkat genus hingga spesies (Chen *et al.* 2010).

Penelitian bertujuan mengidentifikasi dan mempelajari karakter morfologi dan molekuler cendawan mikoparasit yang terdapat pada pustul karat krisan asal Kebun Percobaan Balithi. Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah (1) hasil identifikasi pada tingkat genus berdasarkan morfologi sama dengan cara molekuler dan (2) teknik molekuler dapat mengidentifikasi mikoparasit sampai dengan spesies dalam waktu singkat.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan sejak Januari sampai dengan Desember 2012. Isolat mikoparasit diambil dari koleksi yang asalnya dari pertanaman krisan di Kebun Percobaan Balithi Segunung, Ciherang, Jawa Barat. Isolasi dan identifikasi mikoparasit dilakukan di Laboratorium Penyakit Balithi Segunung dan Laboratorium Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).

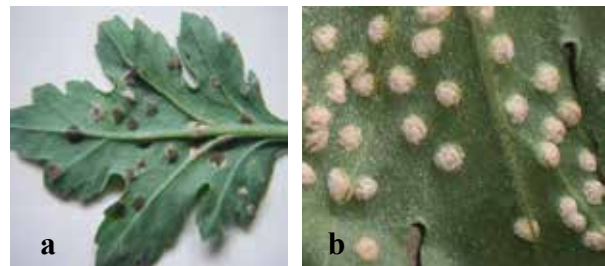
### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media tumbuh untuk mengisolasi mikoparasit, yaitu

*potato dextrose agar* (PDA), *potato dextrose broth* (PDB), dan *synthetic nutrient agar* (SNA). Asam laktat dan antibiotik streptomisin sulfat untuk menekan kontaminasi pada media tumbuh, alkohol 70% dan air steril untuk sterilisasi permukaan daun krisan.

### Perbanyak Mikoparasit

Isolat yang digunakan adalah koleksi laboratorium biokontrol yang diisolasi dari karat krisan di Kebun Percobaan Balithi dengan gejala adanya pertumbuhan hifa cendawan kehitaman atau kelabu kehijauan di atas pustul karat. Pustul yang tidak terparasit berwarna krem atau *pink* dan permukaannya tidak berambut (Gambar 1).



**Gambar 1.** Gejala karat pada tanaman krisan (a) pustul karat terparasit dan (b) pustul karat tidak terparasit [(*Rust symptom on chrysanthemum*) (a) *parasited rust pustules* and (b) *health rust pustules*]

Untuk kebutuhan identifikasi dan deskripsi koloni, isolat ditumbuhkan pada media PDA lalu diinkubasikan selama 14 hari dalam ruang gelap dengan suhu kamar. Untuk pengamatan morfologi mikroskopik, isolat ditumbuhkan pada media SNA di atas kaca preparat steril. Sebanyak 1 ml SNA diteteskan di atas kaca preparat, kemudian ditutup dengan *cover glass* steril. Pada lelehan media SNA di pinggir *cover glass* diintroduksi mikoparasit. Setelah itu diinkubasikan selama 3 hari pada suhu kamar dalam gelap. Pola percabangan konidiofora dan konidia diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100, 200, dan 400 kali.

Isolasi untuk identifikasi molekuler dilakukan pada media PDB. Isolat ditumbuhkan pada media cair di dalam labu Erlenmeyer, kemudian diinkubasikan sambil digoyang dengan menggunakan *shaker* horizontal selama 3 hari pada suhu kamar dalam kondisi gelap.

### Identifikasi Morfologi

Identifikasi berdasarkan morfologi dilakukan dengan melihat ciri makroskopis dan mikroskopis. Ciri makroskopis meliputi warna koloni, tekstur, dan waktu rerata pertumbuhan koloni pada media tumbuh

di dalam cawan petri secara visual. Ciri mikroskopis diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya. Pengamatan meliputi hifa, konidia, dan konidiofor. Identifikasi dilakukan dengan mengikuti Ellis (1971), Barnett & Hunter (1998), dan Dolińska *et al.* (2011).

### Identifikasi Molekuler

Identifikasi secara molekuler dilakukan berdasarkan analisis genetika secara parsial pada ITS *ribosomal DNA* cendawan. Biomassa berupa miselia cendawan dipanen untuk proses ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA cendawan dilakukan dengan menggunakan *reagen nucleon PHYTOpure (amersham life science)*. Amplifikasi PCR pada ITS menggunakan primer ITS 4: 5'-- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC – 3' dan Primer ITS 5: 5'--GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G –3' ( O'Donnell 1993).

Purifikasi produk PCR dilakukan dengan metode presipitasi menggunakan PEG (Hiraishi *et al.* 1995) dan dilanjutkan dengan sekuensing. Hasil sekuensing dipurifikasi kembali dengan metode purifikasi etanol. Analisis urutan basa nitrogen dilakukan dengan menggunakan *automated DNA sequencer (Abi Prism 3130 Genetic Analyzer) (Applied Biosystems)*.

Data mentah hasil sekuensing selanjutnya di *trimming* dan di-*assembling* menggunakan program BioEdit (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Data sekuens yang telah di-*assembling* selanjutnya di BLAST dengan data genom yang telah didaftarkan/diunduh dari DNA Data Bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>), kemudian disejajarkan (*alignment*) menggunakan program Clustal X 1.83 package (Thomson *et al.* 1997). Analisis filogenetik pada data-data sekuen dilakukan menggunakan *neighbor-joining method (NJ method)* pada program Clustal X dan NJ Plot dengan nilai bootstrap 1.000 *resampling*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi melalui pengamatan karakter morfologis umumnya dilakukan untuk mengetahui genus cendawan. Identifikasi hingga spesies agak sulit untuk dilakukan dengan cara ini karena memerlukan waktu yang lama serta keahlian taksonomi yang memadai (Ristaino *et al.* 1998). Keuntungan identifikasi secara morfologi ialah dapat merekam gambar bentuk badan buah cendawan yang diidentifikasi.

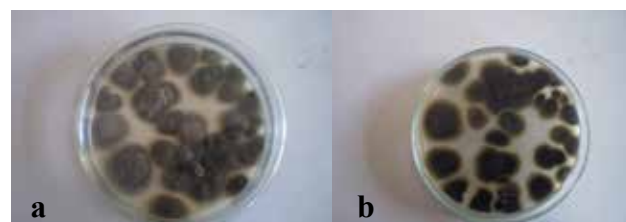
Identifikasi secara molekuler dapat merekam data perbedaan profil fragmen DNA yang dapat digunakan sebagai alat untuk membedakan mikroba pada tingkat genus, spesies, dan genotipe spesifik dari patogen. Keunggulan identifikasi cendawan dengan teknik

molekuler adalah hasilnya lebih akurat, lebih cepat, dan dapat mengidentifikasi cendawan yang bersifat obligat (Edel 1998).

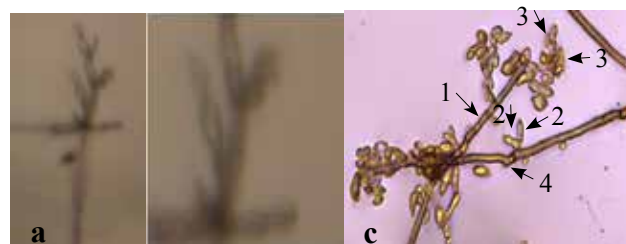
### Identifikasi Morfologi

Hasil observasi visual pada koloni tampak miselia tumbuh di permukaan (*superficial*) dan dalam media (*immersed*). Koloni membentuk konidia yang lebat hingga permukaannya tampak seperti bubuk halus dan lembut seperti beludru. Koloni tumbuh koloidal dengan muka koloni berwarna abu-abu cokelat tua kehitaman dan sebaliknya berwarna cokelat tua hingga hitam. Koloni tumbuh mencapai 4 cm dalam waktu 7 hari (Gambar 2).

Pengamatan melalui mikroskop menunjukkan bahwa isolat memiliki hifa berseptata (*monocytic*) berwarna cokelat hingga kehitam-hitaman (*dematiaceous*). Konidiofor berwarna cokelat, panjang berbentuk lateral atau terminal pada hifa berdiameter 3–5 µm



**Gambar 2.** Bentuk koloni cendawan mikoparasit isolat no. 567. (a) bentuk koloni bagian atas (muka) dan (b) bentuk koloni bagian bawah (sebaliknya) [*Colonies of mycoparasite isolate no. 567 (a) surface view of colony and (b) bottom view of colony*]



**Gambar 3.** Bentuk konidiofor dan konidia *Cladosporium*. (a) konidiofor, (b) untaian konidia, dan (c) (1) hifa berseptata, (2) ramokonidia, (3) konidia, (4) tonjolan bekas duduk konidia [*Cladosporium conidia and conidiophore from (a) conidiophore (b) chains of conidia, and (c) 1. septal hyphae, 2. ramoconidia, 3. conidia, 4. exholder of conidia*]

dan panjang 200–400 µm, konidiofor membengkak terminal/interkalar dengan perpanjangan yang membengkok (*geniculate*) pada ujung serta membawa ramokonidia dan konidia yang membentuk untaian atau rantai. Ramokonidia terdapat pada basis bersepta 1–2, berbentuk silindris dan berwarna coklat. Konidia berbentuk elips/silindris atau seperti lemon, berwarna coklat keemasan, berinding halus hingga sedikit kasar (*verruculose*), memiliki tonjolan bekas duduk konidia dan berukuran 2–4 (-5) µm x 3–7 (-9) µm (Gambar 3).

Ciri-ciri spesifik dari cendawan yang diuraikan di muka menunjukkan bahwa isolat yang diamati termasuk ke dalam kelas Dothidemycetes, ordo *Capnodiales*, kelas *Mycosphaerellaceae*, dan genus *Cladosporium* (Ellis 1971, Barnet & Hunter 1998, Doolotkeldieva & Bobusheva 2014).

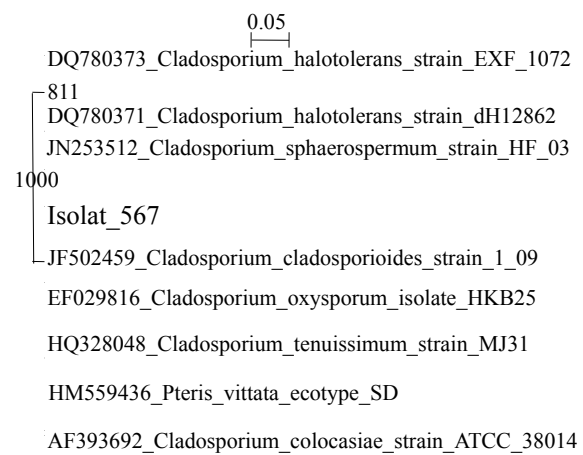
### Identifikasi Molekuler

Hasil amplifikasi menggunakan primer ITS 4: 5'--TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC – 3' dan Primer ITS 5: 5'--GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G –3' menunjukkan bahwa susunan sekuen basa nitrogen DNA dari isolat *Cladosporium* sp. adalah sebagai berikut:

>Contig\_567

ATGTTTCATAACCCTTTGTTGTCCGACTCT-GTTGCCTCCGGGGCGACCCTGCCTTCGGGC-GGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACCTT-GCGTAACTTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAATAAATTAACAACTTTTAAACAACGGATCTCTTG-GTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAAT-GCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGT-GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGC-GCCCCCTGGTATTCCGGGGGGGCATGCCT-GTTCGAGCGTCATTTCACTCAAGCCTC-GCTTGGTATTGGGCAACGCGGTCCGCCGC-GTGCCTCAAATCGACCGGCTGGGTCTTCT-GTCCCCTAAGCGTTGTGGAACTATTCGCTA-AAGGGTGCTCGGGAGGCTACGCCGTA AAA-CAAACCCATTCTAAGGTTGACCTCGGATCAG-GTAGGATACCCGCTGAACCTAAG

Rangkaian huruf di muka merupakan urutan nukleotida berdasarkan panjang genom hasil amplifikasi primer yang digunakan. Hasil sekuensing yang diperoleh berupa sekuen nukleotida dari DNA cendawan berukuran 480 *base pair* (bp). Hasil analisis tingkat kesamaan genetik pada data sekuen dengan menggunakan metode NJ menunjukkan bahwa *Cladosporium* asal Segunung yang dibandingkan dengan isolat dari DNA Data Bank of Japan (DDBJ) dan National Center for Biotechnology Information (NCBI) memiliki tingkat homolog 100% dengan



**Gambar 4. Pohon filogenetik hasil analisis neighbour-joining (NJ) dan uji bootstrap isolat pada program Clustal X dan NJ Plot dengan nilai Bootstrap 1.000 resampling [Analysis result of phylogenetic tree base on neighbour-joining (NJ) method and isolate bootstrap teston elustae X program and NJ plot with bootstrap value 1.000 replicats]**

*Cladosporium cladosporioides* strain 1-09 (kode aksesinya JF502459). Hal tersebut dapat dilihat pada gambar pohon filogenetik (Gambar 4).

Pohon filogenetik merupakan diagram yang menunjukkan hubungan kekerabatan antarorganisme. Melalui diagram ini hubungan antarorganisme dapat dikonstruksi dengan tepat dan perbedaan yang terjadi dari satu nenek moyang kepada keturunannya dapat diestimasi. Filogenetika diartikan sebagai model untuk merepresentasikan sekitar hubungan nenek moyang organisme melalui sekuen molekuler atau keduanya (Brinkman & Leipe 2001 dalam Dharyamanti 2011, Li & Graur 1991). Analisis filogeni berdasarkan metode NJ secara lengkap dapat dilihat pada Gambar 4. Hasil analisis pohon filogenetik menunjukkan bahwa terdapat dua kelompok *Cladosporium*. *Cladosporium* asal Segunung (isolat 567) memiliki kedekatan dengan *Cladosporium cladosporioides* strain 1-09 (no. aksesinya JF502459) dan berada dalam satu kelompok dengan *Cladosporium oxysporum* isolate HKB25 (no. aksesinya EFO29816), *Cladosporium tenuissimum* strain MJ31 (no. aksesinya HQ 328048), *Pteris vittata* ecotype SD (no. aksesinya HM559436), dan *Cladosporium colocasiae* strain ATCC 38014 (no aksesinya AF 393692). Dari pohon filogenetik ini dapat dipastikan bahwa *Cladosporium* sp. yang menginfeksi karat putih pada krisan asal Segunung ialah *Cladosporium cladosporioides*.

*Cladosporium* telah dilaporkan sebagai patogen pada tanaman, pengendali hayati untuk cendawan, dan

hama, endofit maupun saproba yang hidup di banyak tempat seperti pada bekas tanaman, tanah, air, dan udara (Barnet & Hunter 1998, Abdel-baky 1998, Batta 2004, Zalar et al. 2007, Kumar et al. 2009, Garbeva et al. 2004).

Cendawan *C. cladosporioides* yang ditemukan di Kebun Percobaan Balithi merupakan mikoparasit pada karat krisan. Beberapa hasil penelitian mengungkapkan bahwa *Cladosporium* menjadi hiperparasit yang menginfeksi teliospora *Puccinia horiana* pada daun krisan dan *P. arenariae* pada anyelir (Srivastava et al. 1985). Tsuneda & Hiratsuka (1979) melaporkan bahwa *C. gallicola* dapat merusak karat yang disebabkan oleh *Endocronartium harkness* pada pohon pinus. *C. cladosporioides* merupakan agens pengendali hayati yang potensial. Mikoparasit itu tumbuh dan menembus langsung pada spora karat (Sultana et al. 2000) dan mampu menghancurkan reproduksi struktur karat serta menurunkan jumlah spora karat yang berpotensi menginfeksi tanaman baru (Sheta 1996). Pourhassana et al. (2014) melaporkan bahwa *C. cladosporioides* menghasilkan siderofor yang dapat menghambat pertumbuhan cendawan patogen. Harapan di kemudian hari *C. cladosporioides* dapat dimanfaatkan sebagai agens pengendali untuk menurunkan status penyakit karat putih menjadi penyakit sekunder sehingga tidak diperlukan lagi fungsida sintetik untuk pengendaliannya.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan ciri-ciri morfologis makroskopik dan mikroskopik menunjukkan bahwa isolat no. 567 yang menginfeksi karat putih pada krisan asal Segunung yang diamati termasuk ke dalam genus *Cladosporium*, dan setelah dilanjutkan dengan analisis secara molekuler menunjukkan bahwa *Cladosporium* asal Segunung homolog 100% dengan *Cladosporium cladosporioides* strain 1-09 (accession no. JF502459) yang berada di *genbank*.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Prof. Dr. Ir. I Djatnika, MS. yang telah membantu memperbaiki tulisan ini. Juga kepada Saepuloh, Muhidin, dan Ade Sulaeman, teknisi Balithi yang telah membantu kegiatan penelitian ini hingga selesai.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Abdel-baky, NF, Nehal, AS & Abdel-salam, AH 1998, 'Three *Cladosporium* spp. as promising biological control candidates for controlling whiteflies (*Bemisia* spp.) in Egypt', *Pak. J. Biol. Sci.*, vol. 1, no. 3, pp 188-95.
2. Assante, G, Maffi, D, Saracchi, M, Farina, G, Moricca, S & Ragazzi, A 2004, 'Histological studies on the mycoparasitism of *Cladosporium tenuissimum* on urediniospores of *Uromyces appendiculatus*', *Mycol Res.*, vol. 108, no. 2, pp. 170-82.
3. Barnet HL & Hunter, BB 1998, *Illustrated genera of imperfect fungi*, four edition, *The American phytopathological society*, St. Paul, Minesota. pp. 218.
4. Barros, ST, Neiva, T, Sidney, O, Bastos, TG & Maia, LC 1999, 'Hyperparasitism of *Cladosporium uredinicola* over *Puccinia puta* on the host *Ipomoea fistulosa*', *Mycologist*, vol. 13, no. 1, pp. 23-4.
5. Batta, YA 2004, '*Cladosporium tenuissimum* of new disease on cucumber fruits Cooke (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as a causal organism of new disease on cucumber fruits', *Eur. J. Plant Pathol.*, vol. 110, pp. 1003-9.
6. Chen, XY, Yao, DQ, Jian, HW, Zheng, Z, De, LW, Jin, DF, & Bing, CG 2010, 'Molecular identification of endophytic fungi from medicinal plant *Huperzia serrata* based on rDNA analysis', *World J. Microbiol Biotech.*, vol. 27, pp. 495-503.
7. Dharyamanti, NLPI 2011, 'Filogenetika molekuler: Metode taksonomi organisme berdasarkan sejarah evolusi', *Wartazoa* vol. 21, no. 1, hlm. 1-10.
8. Dolinska, A, Bartkowska, TM & Schollenberge, M 2011, 'Light and scanning microscope observations of *Cladosporium uredinicola* growth on rust fungi', *Phytopathologia*, vol. 61, pp. 37-44.
9. Doolotkeldieva, T & Bobusheva, S 2014, Endophytic fungi diversity of wild terrestrial plants in Kyrgyzstan', *Journal of Microbiology*, vol. 3, no. 9, pp. 163-76.
10. Edel, V 1998, 'Polymerase chain reaction in mycology: An overview', in Bridge, PD, Arora, DK, Reddy, CA & Elander, RP (ed.), *Applications of PCR in Mycology*, Cambridge University Press., pp. 1-20.
11. Ediningsari & Anisa, R 2008, 'Identifikasi khamir dari perairan mangrove dan laut cagar alam pulau rambut berdasarkan daerah *internal transcribed spacer* (ITS)', Skripsi, Fakultas MIPA, Universitas Indonesia, Depok.
12. Ellis, MB 1971, '*Dematiaceous hypomycetes*', Commonwealth Mycological Institute, Kew. Surrey, England.
13. Garbeva, P, van Veen, JA & van Elsas, JD 2004, 'Microbial diversity in soil : Selection of microbial population by plant and soil type and implications for disease suppressiveness', *Annu. Rev. Phytopathol.*, vol. 42, pp. 243-70.
14. Gore, ME 2008, 'White rust outbreak on chrysanthemum caused by *Puccinia horiana* in Turkey', *Plant. Pathol.*, vol. 57, pp. 786.
15. Hiraishi, A, Kamagata, Y & Nakamura, N 1995, 'Polymerase chain reaction amplification and restriction fragment length polymorphism analysis of 16S rRNA genes from methanogens', *J. Fermentation Bioengineering*, vol. 79, pp. 523-9.
16. Jeffries, P 1995, 'Biology and ecology of mycoparasitism', *Canadian J. Botany*, 1995, vol. 73, no. 1, pp. 1284-90.
17. Kumar, A, Verma, VC, Gond, SK, Kumar, V & Kharwar, RN 2009, 'Bio-control potential of *Cladosporium* sp. (MCPL-461), against a noxious weed *Parthenium hysterophorus* L', *J. Environ. Biol.*, vol. 30, no. 2, pp. 307-12.
18. Morgan-Jones, G & Mckemy, JM 1990, 'Studies in the *Cladosporium sensu lato* concerning *Cladosporium uredinicola*, occurring on telial columns of *Cronartium quercuum* and other hosts', *Mycotaxon*, no. 39, pp. 185-202.

19. Nina Pourhassana, N, Gagnona, R, Wichardb, T & Bellengera, J-P 2014, 'Identification of the hydroxamate siderophore ferricrocin in *Cladosporium cladosporioides*', *Natural Product Communications*, vol. 9, no. 4, pp. 539-40.
20. O'Donnell, K 1993, 'Fusarium and its near relatives', in Reynolds, DR & Taylor, JW (eds), *The fungal holomorph: Mitotic, meiotic, and pleomorphic specification in fungal systematics*, CAB International, Wallingford, pp. 225-33.
21. Ristaino, JB, Madritch, M, Trout, CL & Parra, G 1998, 'PCR amplification of ribosomal DNA for species identification in the plant pathogen genus *Phytophthora*', *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 64, no. 3, pp. 948-54.
22. Sultana, K, Batra, LR, Stavely, JR & Nasir, MA 2000, 'Hyperparasitism of *Verticillium lecanii* and *Cladosporium cladosporioides* on *Uromyces appendiculatus*, the causal organism for soybean rust', *Pakistan, J. Phytopathol.*, vol. 12, no. 1, pp. 42-5.
23. Sharma, JK & Sankaran, KV 1988, 'Biocontrol of rust and leaf spot diseases', in Mukerji, KG & Garg, KL, '*Biocontrol of Plant Diseases*', vol. 2, pp. 1-17.
24. Sheta, W 1996, 'Detection of *Cladosporium uredinicola* in pustule of chrysanthemum white rust (*Puccinia horiana*)', *Plant Dis.*, vol. 80, pp. 599.
25. Silvia Yusuf, E, Djatnika, I & Suhardi 2014, 'Koleksi dan karakterisasi mikoparasit karat putih pada krisan', *J. Hort.*, vol. 24, no.1, pp. 56-64.
26. Sri vasta, AK, Defago, G & Kern, H 1985, 'Hyperparasitism of *Puccinia horiana* and other microcydic rust', *Phytopathologische zeitschrift*, vol. 114, pp. 73-7.
27. Thomson, JD, Gibson, TJ, Plewniak, F, Jeanmougin, F & Higgins, DG 1997, 'The clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools', *Nucleic Acid Research*, vol. 25, pp. 4876-82.
28. Tsuneda, A & Hiratsuka, Y 1979, 'Mode of parasitism of a mycoparasite, *Cladosporium gallicola*, on western gall rust, *Endocronartium harknessii*', *Canadian, J. Plant Pathol.*, vol. 1, pp. 31-6.
29. Wahyuno, D 2008, 'Mengendalikan cendawan karat pada kana dengan mikoparasit', *WARTA Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, vol. 30, no. 2, hlm. 13-4.
30. Zalar, P, de Hoog, GS, Schroeres, HJ, Crons, PW, Groenewald, JZ & Gunde-Cimerman, N 2007, 'Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *cladosporium sphaerospermum* with description of seven new species from hypersaline environments', *Studies in Mycology*, vol. 58, No. 1, pp. 157-83.