

I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sengon merupakan jenis pohon yang banyak diusahakan di hutan tanaman dan hutan rakyat di Pulau Jawa karena sifatnya yang cepat tumbuh serta serapan pasar yang tinggi. Kayu sengon dimanfaatkan untuk konstruksi ringan, kayu lapis, peti kemas, kerajinan dan kayu energi. Selain untuk dimanfaatkan kayunya, sengon juga digunakan sebagai pelindung atau *shading* bagi tanaman kopi di kepulauan Palau (Endress 2002), dan sebagai tanaman ornamental (Starr *et al.* 2003). Hutan tanaman sengon di Indonesia merupakan salah satu sumber kayu yang penting, mengingat hutan alam hanya mampu menghasilkan kayu dengan jumlah yang terbatas dan semakin mengalami penurunan produksi (Rizqi 2018). Peningkatan penanaman sengon di hutan rakyat, khususnya di Jawa, disebabkan oleh jangka waktu investasi yang cukup pendek karena sengon dapat dipanen dalam empat tahun (Siregar *et al.* 2007). Bisnis kayu sengon merupakan bisnis yang cukup prospektif dengan harga kayu bulat sengon berdiameter >16 cm minimal Rp 425 000 per m³ (Julirin *et al.* 2019), sementara kayu gergajian berkisar antara Rp 1 000 000 sampai Rp 1 800 000 per m³ (Utama *et al.* 2019). Industri pengolahan kayu sengon sendiri berkembang pesat dan mulai memasuki pasar internasional.

Salah satu kendala pengembangan hutan tanaman sengon yaitu serangan penyakit karat tumor yang disebabkan oleh cendawan *Uromycladium falcatariae* (Dounsa-ard *et al.* 2015). Gejala di lapangan pada sengon menunjukkan gejala yang khas, yaitu hiperplasia pada bagian tumbuhan yang terserang. Karat tumor dapat menyerang tanaman sengon pada semua tingkat pertumbuhan dan menyebabkan penurunan kualitas dan kuantitas kayu (Budiman dan Rianti 2012). Sementara itu, penggantian jenis bahan baku kayu sengon dengan kayu lain akan berimbas pada penambahan biaya untuk penggantian alat untuk menyesuaikan sifat fisik kayu. Selain itu, permintaan pasar terhadap produk-produk dari kayu sengon juga belum dapat digantikan oleh kayu lain sehingga pengendalian serangan penyakit karat tumor pada hutan tanaman sengon perlu dilakukan untuk menjaga produktivitas kayu sengon dan kualitas kayu yang dihasilkan agar pasokan kayu ke industri tetap terjaga keberlanjutannya.

Intensitas dan keparahan serangan penyakit pada tanaman dipengaruhi oleh faktor internal yaitu faktor genetik dan faktor eksternal yaitu virulensi patogen dan faktor lingkungan. Intensitas dan keparahan penyakit yang sudah melebihi ambang ekonomi akan menimbulkan kerugian sehingga harus dikendalikan. Pengendalian karat tumor yang umum dilakukan yaitu menggunakan metode fisik-mekanis dengan menebang atau memangkas dan mengubur atau membakar bagian tanaman yang terserang penyakit serta metode kimia menggunakan fungisida dan zat-zat lain yang menekan pertumbuhan karat tumor. Penggunaan metode-metode tersebut dalam mengendalikan serangan penyakit karat tumor masih memungkinkan karat tumor muncul kembali di masa depan seperti dalam penelitian Cipta (2014) yang mengombinasikan pemangkasan dan pelaburan ter pada bekas tumor. Selain menambah biaya produksi, pengendalian karat tumor khususnya dengan metode kimia terkadang mengganggu pertumbuhan tanaman

sengon karena zat kimia yang digunakan, seperti belerang, dapat bersifat toksik bagi tanaman (Anggraeni *et al.* 2010).

Berdasarkan paparan di atas, diperlukan teknik pengendalian lain yaitu pengendalian penyakit dengan teknik silvikultur alternatif. Teknik silvikultur alternatif yang dapat diaplikasikan untuk menekan serangan penyakit karat tumor pada sengon yaitu dengan modifikasi lingkungan dan penggunaan material tanam resisten. Faktor lingkungan dan resistensi inang merupakan dua dari tiga komponen yang memengaruhi perkembangan penyakit pada tanaman (Agrios 2005).

Penelitian Lelana (2018) dan Astuti (2019) menunjukkan bahwa beberapa faktor lingkungan yang menjadi variabel dalam penelitian memiliki pengaruh terhadap serangan penyakit karat tumor. Selain itu, kondisi ekologi tertentu dapat memicu resistensi ekologi atau pseudoresistensi (Salim 2018). Dalam konteks penyakit karat tumor pada sengon, pseudoresistensi yang mungkin terjadi yaitu *disease-escape*, *endurance*, dan resistensi induksi (TNAU 2011).

Sementara itu, pengujian terhadap berbagai provenans sengon untuk menemukan provenans dengan tingkat serangan penyakit terendah telah dilakukan. Penelitian uji provenans sengon oleh Baskorowati dan Nurrohmah (2011) menunjukkan bahwa provenans Papua lebih tahan terhadap serangan penyakit karat tumor. Penelitian lanjutan yang dilakukan juga menunjukkan secara lebih khusus provenans yang lebih tahan yaitu provenans asal Wamena (Baskorowati *et al.* 2012), Holima, Meagama, dan Elagaima (Setiadi *et al.* 2014). Akan tetapi, kandidat individu-individu resistan dari provenans-provenans tersebut belum terverifikasi secara molekuler. Sementara itu, laju adaptasi tanaman terhadap cekaman biotik berupa patogen lebih lama dibandingkan laju adaptasi patogen terhadap resistensi tanaman (McKinney *et al.* 2014), sehingga dibutuhkan rentang keragaman genetik yang luas untuk mengantisipasi ledakan penyakit di masa yang akan datang. Salah satu upaya untuk meningkatkan keragaman genetik sifat resisten tanaman di masa depan adalah dengan mencari individu-individu resisten di luar provenans-provenans yang sudah diteliti.

Informasi terkait keragaman genetik sengon di hutan tanaman sangat penting karena keragaman genetik yang tinggi merupakan salah satu kunci sukses dalam pengembangan hutan tanaman (FAO 2002), terutama keragaman genetik pada tanaman yang berpotensi resisten terhadap penyakit. Analisis keragaman genetik dapat dilakukan dengan metode yang sederhana hingga yang paling mutakhir. Perkembangan biologi molekuler, didukung oleh bioinformatika yang semakin maju, dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik serta memahami mekanisme molekuler dan genetik yang mendasari proses-proses metabolisme yang terjadi pada tumbuhan. Metode molekuler seperti *Next-generation Sequencing* (NGS) telah digunakan pada DNA genomik dan RNA transkriptomik dalam beberapa penelitian untuk menentukan fungsi putatif pada gen yang berkontribusi pada sifat yang diinginkan pada tanaman (Munch *et al.* 2018).

RNA-seq yaitu sekuensing fragmen-fragmen RNA seluler dengan menggunakan teknologi sekuensing paralel dan masif seperti Sanger, Roche 454 dan Illumina. RNA-seq dapat menunjukkan dan mengkuantifikasi gen-gen yang terekspresi pada jaringan tertentu, seperti kambium tanaman sengon yang terinfeksi karat tumor. RNA-seq dapat menghasilkan gambaran secara utuh

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

transkriptom pada suatu waktu dan kondisi tertentu pada jaringan yang digunakan dan dapat digunakan untuk mengkarakterisasi dan mengkuantifikasi ekspresi gen (Shih *et al.* 2018). RNA-seq dapat digunakan pada jenis-jenis non-model yang belum memiliki *reference genome* dengan metode *de novo* (Unamba *et al.* 2016).

1.2. Rumusan masalah

Menurut Agrios (2005), terdapat tiga komponen yang berperan di dalam terjadinya variasi perkembangan penyakit tumbuhan, yaitu patogen, inang dan lingkungan. Faktor lingkungan yang memengaruhi antara lain kecepatan angin yang rendah (<80 km/jam) dan kelembaban udara yang tinggi ($\pm 90\%$) (Rahayu 2008). Sementara itu, Marschner (2003) menyatakan bahwa nutrisi tanah juga berpengaruh dalam perkembangan patogen. Anggraeni *et al.* (2010) menyatakan bahwa penanaman sengon dengan sistem pertanian monokultur akan membuat tegakan lebih rentan terserang penyakit. Penelitian Syakirin (2014) dengan metode *Forest Health Monitoring* (FHM) menunjukkan adanya perbedaan serangan penyakit sebesar 1% antara plot monokultur dan plot sengon yang ditanam dengan pola agroforestry. Persebaran penyakit karat tumor yang tidak merata di semua tempat menimbulkan pertanyaan 1) Bagaimana kondisi lingkungan yang menyebabkan penyakit karat tumor lebih berkembang? Faktor-faktor lingkungan tersebut perlu diteliti sebagai sebuah kesatuan sehingga diperoleh keputusan manajemen tapak yang tepat dalam pengembangan hutan tanaman sengon. Penelitian terdahulu oleh Lelana (2018) menggunakan variabel meteorologi berupa curah hujan dan suhu serta unsur kimia tanah berupa kandungan C, N, Mg, P, K, Na, Ca dan KTK tanah menunjukkan adanya pengaruh faktor-faktor tersebut terhadap serangan penyakit karat tumor pada sengon. Selain faktor-faktor di atas, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap faktor-faktor meteorologi dan kimia tanah lainnya untuk melengkapi penelitian-penelitian yang sudah ada tersebut.

Beberapa penelitian menunjukkan kesimpulan yang berbeda terkait asal-usul sengon di Pulau Jawa dan keragaman genetiknya. Penelitian Suharyanto *et al.* (2002) menggunakan penanda RAPD pada beberapa provenans dari Jawa, Maluku, dan Papua, menunjukkan sengon provenans Jawa memiliki kemiripan genetik dengan provenans Biak. Penelitian lain yang dilakukan oleh Yuskianti dan Shiraishi (2017) menggunakan penanda *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) menunjukkan bahwa sengon yang berasal dari Jawa Barat dan Jawa Tengah memiliki kemiripan genetik dengan sengon yang berasal dari Mindanao, Filipina. Sementara itu, keragaman genetik sengon di pulau Jawa berdasarkan penelitian Olivia (2012) cukup tinggi berdasarkan penanda RAPD. Keragaman genetik yang ada tersebut merupakan potensi untuk pemuliaan di masa yang akan datang, khususnya menghadapi evolusi patogen yang lajunya lebih cepat dibanding evolusi resistensi tanaman.

Sementara itu, terdapat dugaan bahwa perbedaan secara molekuler antara individu resisten dan individu yang terserang karat tumor hanya sedikit, sebagaimana sifat resistensi terhadap hama boktor seperti yang dilakukan oleh Haneda dan Siregar (2011) menggunakan penanda RAPD tetapi belum mampu mendiferensiasikan sengon yang Terserang hama boktor dan yang tidak terserang. Oleh karena itu, selain menggunakan penanda RAPD, perlu digunakan penanda-penanda lainnya, seperti *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP) (Vos *et al.* 1995) dan penanda spesifik yang didesain berdasarkan gen yang terekspresi.

Selain *F. mouluccana*, saat ini beredar juga sengon merah (*Albizia chinensis*) yang memiliki kenampakan mirip dengan *F. mouluccana*. Hal tersebut menimbulkan pertanyaan kedua, yaitu apakah sengon yang terserang dan tidak terserang penyakit merupakan jenis yang berbeda atau hibrida. Oleh karena itu, perlu dilakukan verifikasi jenis secara genetik karena kedua jenis tersebut sangat mirip. Verifikasi jenis secara genetik dapat dilakukan dengan amplifikasi daerah pada DNA kloroplas. Beberapa daerah pada DNA kloroplas (cpDNA) berfungsi dalam *fingerprinting* dan regulator proses dalam tanaman (Daniell *et al.* 2016). Penanda untuk *fingerprinting* dari cpDNA telah digunakan untuk membedakan asal-usul dan haplotipe dari tanaman kakao di Meksiko Selatan (Gutiérrez-López *et al.* 2016). Penelitian lain oleh Al-Qurainy *et al.* (2014) menunjukkan tanaman *Bretonadia salicina* di Saudi Arabia memiliki keragaman haplotipe yang tinggi berdasarkan penanda DNA kloroplas dengan menggunakan region *psbA-trnH intergenic spacer*. Hal-hal tersebut menimbulkan pertanyaan 2) Bagaimana keragaman genetik sengon yang terserang dan tidak terserang karat tumor dengan beberapa penanda genetik dan apakah sengon yang terserang dan tidak terserang karat tumor merupakan jenis yang sama?

Perkembangan terakhir yaitu adanya teknologi *Next-Generation Sequencing* (NGS) merupakan suatu lompatan yang menyebabkan dapat dilakukannya sekuensing seluruh genom satu organisme. Informasi sekuen dari seluruh genom tersebut membuka peluang ditemukannya berbagai *Open Reading Frame* (ORF) yang berhubungan dengan fenotipe tanaman. ORF tersebut akan memberikan informasi *Expressed Sequence Tags* (ESTs) dari banyak gen yang terekspresi. Penelitian Matra *et al.* (2019) menunjukkan terdapat gen-gen yang terekspresi secara berbeda pada aril buah manggis yang tumbuh pada tanah dengan kandungan air yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa cekaman pada tanaman akan membuat tanaman mengekspresikan gen yang berbeda. Penyakit atau patogen pada tanaman termasuk dalam cekaman biotik. Adanya perbedaan ekspresi gen di tanaman lain yang mengalami stress menimbulkan pertanyaan 3) Bagaimana ekspresi gen pada tanaman sengon yang terserang karat tumor dan tidak terserang karat tumor?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Menganalisis kejadian karat tumor dan faktor ekologi yang kemungkinan berperan terhadap kejadian karat tumor dan keragaan sengon.
2. Menganalisis variasi genetik antara individu sengon yang terserang dan tidak terserang karat tumor dengan penanda molekuler, termasuk di dalamnya untuk mengkonfirmasi jenis sengon.
3. Mendapatkan kandidat gen-gen yang berasosiasi dengan ketahanan sengon terhadap karat tumor.

1.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diuji dalam penelitian ini yaitu:

1. Terdapat pengaruh faktor lokal tempat tumbuh terhadap kejadian serangan penyakit karat tumor

2. Terdapat perbedaan variasi genetik antara individu-individu yang terserang dan resisten karat tumor dan sengon yang terserang maupun tidak terserang karat tumor merupakan jenis yang sama
3. Terdapat gen-gen yang menunjukkan pola *up-regulate* dan *down-regulate* sebagai dasar mekanisme molekuler kejadian karat tumor pada sengon.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah tersedianya informasi dasar berupa hubungan faktor-faktor genetik dan lingkungan yang berperan dalam ketahanan sengon terhadap karat tumor yang dapat digunakan untuk mendukung penelitian lanjutan (terapan), serta pengambilan keputusan perancangan program pemuliaan maupun tindakan silvikultur yang diperlukan dalam pengembangan hutan tanaman sengon.

1.6. Kebaruan Penelitian

Kebaruan penelitian ini berdasarkan pada kriteria *focus* (fokus), *advance* (terdepan di bidangnya), dan *scholar* (ilmiah). Hasil penelitian diperoleh dengan penerapan metode ilmiah (*scholar*) berdasarkan pustaka yang relevan, adaptasi metode penelitian, bersifat sistematis, valid, dan menggunakan persamaan yang telah disepakati.

Fokus penelitian ini yaitu kaitan faktor ekologi dengan serangan penyakit karat tumor dilanjutkan dengan penelitian analisis variasi genetik dengan beberapa penanda molekuler, serta analisis gen-gen yang terekspresi dari individu yang resisten dan rentan terhadap karat tumor. Kriteria *advance* dan *scholar* diterapkan pada aspek penelitian kejadian karat tumor dan kaitannya dengan faktor meteorologi dan kimia tanah, khususnya hara mikro yang berperan dalam sintesis senyawa-senyawa pertahanan tanaman. Penelitian keragaman genetik sengon menggunakan penanda AFLP, dan region *psbA-trnH intergenic spacer* yang belum pernah dilaporkan oleh penelitian sebelumnya yang akan menjadi tambahan referensi genetik untuk penggunaan penanda region tersebut untuk tujuan lainnya. Penggunaan metode *Next-generation Sequencing* (NGS) merupakan metode terkini yang digunakan dalam penelitian molekuler dengan aplikasi yang luas, salah satunya yaitu analisis kuantifikasi gen-gen yang terekspresi dari suatu kondisi dan waktu tertentu (RNA-seq).

Dengan demikian, berdasarkan ketiga kriteria tersebut, kebaruan dari penelitian ini yaitu:

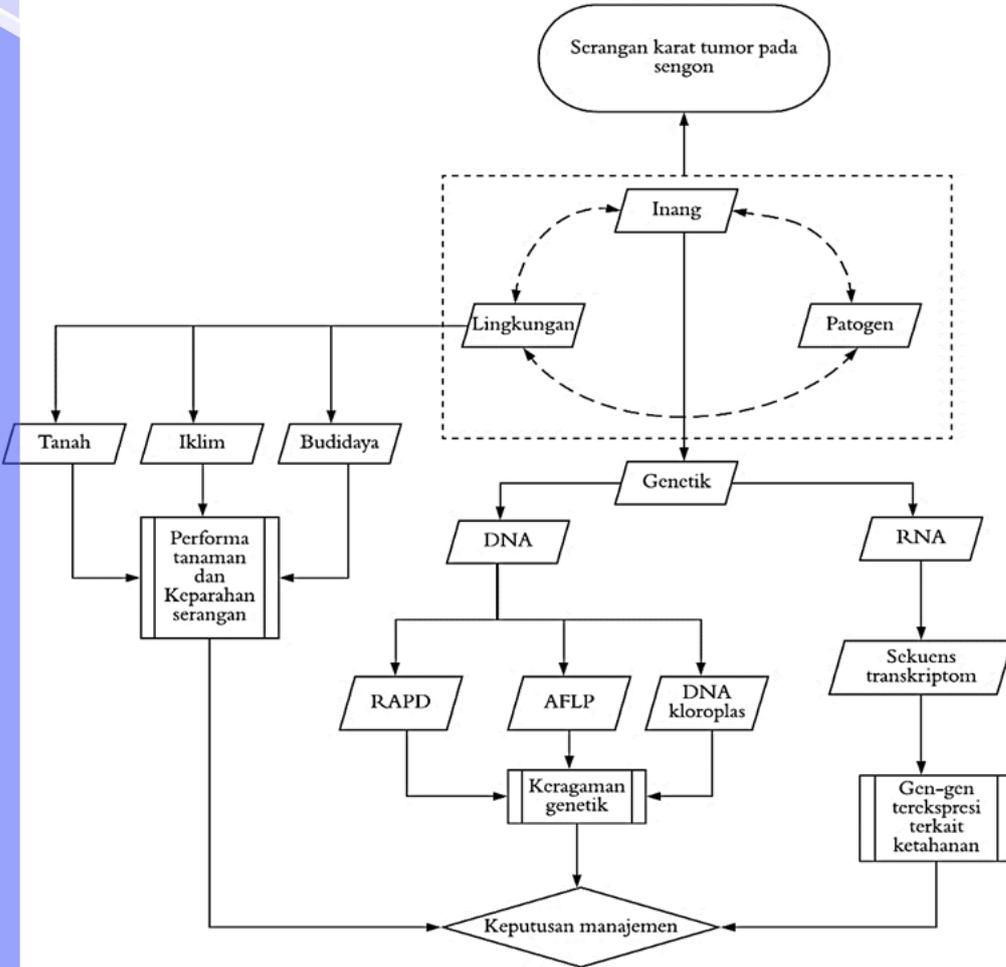
1. Pengaruh faktor lingkungan, termasuk faktor iklim dan beberapa unsur hara makro dan mikro terhadap kejadian serangan penyakit karat tumor.
2. Efektifitas penanda-penanda molekuler yang digunakan untuk menduga keragaman genetik sengon yang terserang dan resisten karat tumor.
3. Gen-gen yang diekspresikan dan kaitannya dengan kejadian penyakit karat tumor pada sengon.

1.7. Ruang Lingkup Penelitian

Kegiatan penelitian yang dilakukan terdiri atas rangkaian beberapa kegiatan yaitu: (1) analisis kejadian serangan penyakit karat tumor, keragaan pertumbuhan sengon, dan pengaruh faktor ekologi, (2) analisis keragaman genetik sengon berdasarkan penanda DNA, dan (3) analisis transkriptom dengan NGS dan

ekspresi gen terkait serangan penyakit karat tumor. Ruang lingkup penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.1.

@Hak cipta milik IPB University



Gambar 1.1 Ruang lingkup penelitian

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

II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Risalah Sengon (*Falcataria moluccana* Miq.)

Sengon atau sengon laut termasuk anggota famili Fabaceae dan dikenal dengan berbagai nama lokal seperti Jeungjing (Sunda), Tedehu pute (Sulawesi), Sika (Maluku), Bae (Papua) sedangkan di Malaysia dikenal dengan nama Batai (Hidayat 2002). Jenis ini merupakan jenis asli dari kepulauan sebelah timur Indonesia yakni di sekitar Maluku dan Papua. Penyebarannya secara alami selain di Indonesia yaitu Haiti, Papua New Guinea, dan Kepulauan Solomon (Orwa *et al.* 2009).

Sengon termasuk dalam jenis yang cepat tumbuh. Hidayat (2002) mengemukakan bahwa pohon sengon mulai berbunga sejak umur 3 tahun dengan musim berbunga pada bulan Maret–Juni dan Oktober–Desember. Sengon dapat dipanen pada umur yang relatif singkat, yaitu 5–7 tahun setelah tanam. Beberapa jenis hama dan penyakit sengon yang menyerang tanaman sengon adalah hama penggerek batang, hama ulat kantong dan penyakit karat tumor (Nair 2000).

Beberapa kegunaan kayu sengon antara lain adalah untuk konstruksi ringan, bahan pulp, kerajinan tangan, veneer. Daun sengon dapat digunakan sebagai pakan ternak (ayam dan kambing) sedangkan kulit batang oleh masyarakat Ambon digunakan untuk penyamak jaring, kadang-kadang sebagai pengganti sabun (Hidayat 2002). Ekstrak daun sengon yang ditambahkan garam tawas dapat digunakan sebagai pewarna kain sutera sebagai pengganti bahan pewarna sintetik (Kusriniati 2007). Tegakan sengon dapat membantu menyuburkan tanah di sekitarnya. Perakarannya dapat bersimbiosis dengan bakteri *Rhizobium* membentuk bintil akar yang dapat mengikat nitrogen bebas dari udara dan mengubahnya menjadi amonia (NH₃) (Sari dan Prayudyaningsih 2015).

2.2. Perbedaan Sengon Laut dengan Sengon Merah

Sengon (*F. moluccana*) dan sengon merah (*A. chinensis*) sama-sama dimanfaatkan sebagai naungan bagi tanaman kopi atau teh. Kedua spesies tersebut sama-sama merupakan spesies yang juga dimanfaatkan untuk perbaikan sifat tanah (Fern 2020). Tanaman *A. chinensis* memiliki kenampakan yang mirip dengan *F. moluccana* dengan batang yang sama-sama berwarna keabuan, tinggi yang dapat mencapai 40 m dan bentuk arsitektur pohon Troll. Beberapa perbedaan morfologi antara kedua spesies tersebut disajikan pada (PIER 2013, PIER 2018). Perbedaan morfologi tersebut jika tidak diperhatikan secara seksama maka akan terlihat seperti spesies yang sama.

Tabel 2.1 Perbedaan morfologi sengon dan sengon merah

Morfologi	Sengon	Sengon merah
Jumlah daun per tangkai	9 - 12	4 - 14
Jumlah anak daun	15 - 25	20 - 30
Panjang polong	9 - 12 cm	10 - 17 cm
Bentuk benih	elipsoid pipih	elipsoid pipih
Diameter bunga	20 mm	20 - 25 mm
Panjang stamen	10 - 17 mm	dapat mencapai 30 mm



Penampang tangensial

Sifat kayu	Sengon	Sengon merah
		
Indeks keawetan	5	6
Berat jenis segar	0.35	0.34
Berat jenis kering (KA 12%, g/cm ³)	0.37	0.36
Penyusutan tangensial (%) (KA 0%)	5.9	6.1
Penyusutan radial (%) (KA 0%)	3	2.5
Rasio stabilitas dimensi (%) (Penyusutan tangensial/penyusutan radial)	2	2.5
Kelenturan (MOR)	535	540
Kekakuan (MOE)	68222	90000

2.3. Karat Tumor Sengon

Karat tumor mulai masuk ke Indonesia sekitar tahun 1996, ditandai dengan ditemukannya serangan penyakit tersebut di Pulau Seram, Maluku (Rahayu 2008). Pada tahun 1998 hingga 2001, sekitar 90% tanaman sengon yang berfungsi sebagai tanaman untuk naungan kopi terserang karat tumor di Timor-Timur (Old dan Cristovao 2003, Corryanti dan Novitasari 2015). Sementara itu, penyebaran penyakit karat tumor ke Pulau Jawa diduga terjadi sekitar tahun 2002-2004, pertama kali dideteksi di Banyuwangi, Jawa Timur, dan menyebar hingga ke Jawa Barat sekitar tahun 2009 (Rahayu 2008, Corryanti dan Novitasari 2015). Hingga saat ini, penyakit karat tumor merupakan sebuah epidemi yang menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar.

Karat tumor atau karat puru (*gall rust*) disebabkan oleh cendawan dari genus *Uromycladium*. Patogen ini menyerang beberapa anggota famili Fabaceae, di antaranya yaitu *Acacia* dan *Falcataria*. Karat tumor yang ditemukan pada sengon awalnya diidentifikasi sebagai patogen yang sama dengan yang menyerang tanaman *Acacia mangium* yaitu *U. tepperianum*. (Rahayu *et al.* 2010).

Doungsa-ard *et al.* (2015) mengusulkan nama baru untuk patogen yang spesifik menyerang hanya tanaman sengon yaitu *U. falcatariae*. *Uromycladium* umumnya masuk dalam divisi Basidiomycotina, kelas Urediniomycetes, ordo Uredinales, famili *Pileolariaceae*, dan bersifat parasit obligat yang hanya dapat hidup dengan menjadi parasit pada jaringan hidup (Anggraeni 2012).



Gambar 2.1 Serangan karat tumor

Karat tumor ditularkan melalui penyebaran teliospora, yaitu spora aktif yang dapat dengan mudah diterbangkan oleh angin, terbawa serangga, atau bahkan melalui aktivitas manusia. Siklus penetrasi dimulai ketika teliospora berada dalam kondisi yang mendukung dan berkecambah menjadi basidiospora yang masuk ke epidermis dan membentuk hifa yang merubah bentuk periderm, xylem, dan floem (Rahayu 2010). Setelah siklus hidupnya lengkap, maka akan terbentuk badan buah yang disebut piknia, yang akan membentuk pikniospora dengan telia berisi teliospora. Piknia umumnya berupa bercak kecil, dapat terlihat di permukaan jaringan yang terinfeksi ataupun pada permukaan tumor (Corryanti dan Novitasari 2015)

Infeksi karat tumor pada sengon menunjukkan gejala yang khas, yaitu hiperplasia (pertumbuhan lebih) yang membentuk tumor atau *gall* pada bagian tumbuhan yang terserang. Wiryadiputra (2007) mengamati bahwa pembengkakan jaringan dapat terjadi di tulang dan tangkai daun, pucuk tanaman, dan batang, serta dapat menyebabkan ujung batang mati atau tanaman menjadi bengkok. Tumor yang masih muda berwarna hijau kecoklatan yang diselimuti oleh lapisan seperti tepung berwarna agak kemerah-merahan yang merupakan kumpulan dari spora patogen, sedangkan tumor yang tua berwarna coklat kemerah-merahan

sampai hitam dan biasanya tumor sudah keropos berlubang serta berfungsi sebagai sarang semut atau serangga lainnya (Corryanti dan Novitasari 2015).

Pengendalian karat tumor selama ini dilakukan dengan membersihkan bagian tanaman yang terserang dari *gall* dan diolesi dengan bahan kimia. Bahan yang digunakan antara lain: ter, larutan kapur, larutan belerang, dan fungisida. Selain biaya yang tinggi, larutan yang digunakan juga bersifat fitotoksik dan mengganggu pertumbuhan sengon (Anggraeni *et al.* 2010). Selain itu, penelitian Lelana *et al.* (2014) juga menyebutkan pemberian fungisida dilakukan dengan melubangi terlebih dahulu di beberapa titik dengan alat khusus secara berkala sehingga kurang efisien jika diterapkan di hamparan yang luas.

2.4. Resistensi Tanaman

Resistensi tanaman yaitu kondisi saat terdapat patogen yang mampu menginfeksi tetapi tidak terdapat infeksi pada inang. Resistensi tanaman bersifat relatif yaitu harus dibandingkan dengan tanaman yang tidak peka atau terserang organisme pengganggu. Resistensi tanaman berdasarkan sumber ketahanan terbagi menjadi dua yaitu resistensi ekologi atau pseudoresistensi dan resistensi genetik (TNAU 2011a).

Ketahanan ekologi dikategorikan sebagai ketahanan semu (pseudoresisten) yang terdiri dari *host evasion*, *disease escape*, dan ketahanan induksi (*induced resistance*) (Ridanovic dan Ridanovic 2007). Pseudoresistensi bukan berasal dari sifat genetik yang dibawa pada tanaman, tetapi dari beberapa perubahan sementara (*temporary shifts*) kondisi lingkungan yang cocok bagi tanaman rentan (Singh dan Singh 2005). Dalam menghadapi cekaman biotik lainnya yaitu hama, perubahan dalam pola pertumbuhan tanaman yaitu adanya ketidakselarasan waktu antara serangga dan fenologi tanaman atau *host evasion* (Untung 2010).

Baehaki *et al.* (2016) menyatakan bahwa tanaman padi yang rentan cekaman biotik berupa hama wereng dapat ditingkatkan kerentanannya dengan ditanam pada musim kemarau dan irigasi berselang. Ketahanan induksi dapat dimunculkan dengan penambahan pupuk, penggunaan herbisida atau insektisida, penambahan zat pengatur tumbuh, atau adanya variasi dari suhu dan panjang hari, serta cekaman biotik yaitu serangan penyakit atau hama yang dapat merubah metabolisme tanaman (Chaudhary *et al.* 2007)

Resistensi genetik atau resistensi sejati adalah kemampuan tanaman untuk menjadi resisten terhadap patogen pada segala kondisi lingkungan (TNAU 2011b). Resistensi genetik ini bersifat bawaan dan dapat diwariskan ke generasi berikutnya. Resistensi genetik bekerja dengan dua mekanisme: 1) dengan struktur dan bahan kimia yang sudah terbentuk sebelumnya, dan 2) respons yang diinduksi infeksi (Steele dan Gibbs 2018).

2.5. Genomika Ekologi

Genomika ekologi adalah bidang ilmu yang mempelajari mekanisme genetik organisme dalam merespon stimulus dari lingkungannya. Genomika ekologi memiliki tujuan akhir yaitu untuk mengidentifikasi gen-gen dan *pathway* yang terlibat dalam interaksi tanaman dengan lingkungan, serta mengukur variasi fungsi gen dan mengkarakterisasi pengaruh variasi tersebut terhadap lingkungan (Ungerer *et al.* 2008). Sementara itu, menurut Van Straalen dan Roelofs (2012), genomika ekologi adalah suatu disiplin yang mempelajari fungsi dan struktur

genom dengan tujuan untuk memahami hubungan organisme dengan unsur biotik dan abiotik lingkungannya. Pendekatan ini terkadang dikaitkan juga dengan evolusi sehingga menjadi *Evolutionary and ecological functional genomics* (EEFG) (Zaidem *et al.* 2018). Dalam mempelajari genomika ekologi (dan evolusi), terdapat beberapa hal yang menjadi kunci: 1) gen-gen yang mengontrol sifat yang penting secara ekologis; 2) faktor-faktor evolusi yang memengaruhi variasi dalam populasi; dan 3) konsekuensi dari polimorfisme yang terjadi di alam (Song dan Mitchell-Olds 2011).

Beberapa metode atau *tools* yang digunakan dalam pendekatan genomika ekologi yaitu pemetaan *Quantitative Trait Loci* (QTL), *association mapping*, dan genetika populasi yang berbasis fragmen atau sekuens DNA (Savolainen *et al.* 2013). Awalnya, dalam analisis molekuler, metode yang umum digunakan untuk genomika ekologi hanya *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) (Holliday *et al.* 2016). Dengan adanya kemajuan teknologi saat ini, seperti *Next generation Sequencing* (NGS) yang digunakan untuk sekuensing secara masif dan menyeluruh, memungkinkan untuk dilakukannya analisis genom fungsional secara cepat sehingga ekspresi gen secara keseluruhan dapat diperkirakan (Van Straalen dan Roelofs 2012).

2.6. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

Pendekatan genomika dapat dilakukan menggunakan data sekuens ataupun fragmen. Penggunaan fragmen untuk analisis genomik dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain *Restriction Length Polymorphism* (RFLP) dan *Amplified Fragment length Polymorphism* (AFLP) (Weising *et al.* 2005). Salah satu metode yang digunakan untuk membedakan sifat individu secara molekuler yaitu metode *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP) (Zabeau dan Vos 1993). Metode ini merupakan salah satu metode yang populer dan cukup kuat untuk mendeteksi polimorfisme pada tanaman. Kelebihan AFLP dibanding penanda lainnya yaitu memiliki reproduksibilitas fragmen, resolusi, dan sensitivitas yang lebih baik (Mueller dan Wolfenbager 1999), serta dapat mengamplifikasi 50 - 100 fragmen. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penanda AFLP berkaitan dengan gen tertentu, seperti gen terkait resistensi (*Resistance analog genes* - RAGs) pada tanaman *Arabidopsis* (Aarts *et al.* 1998), gen resisten nematoda *Meloidogyne (Mex-1)* pada tanaman kopi (Noir *et al.* 2003), dan gen resisten karat daun pada tanaman *Populus* (Cervera *et al.* 1996). Selain itu, AFLP juga digunakan untuk membuat *saturated linkage map* dan *association mapping* gen penyandi sifat resisten karat pada tanaman *Populus* (Lu *et al.* 1998). AFLP juga mampu membedakan variabilitas antara dua kultivar kacang yang sangat dekat kekerabatannya (Herselman 2003) sehingga diharapkan dapat mendeteksi variasi yang kemungkinan hanya sedikit, antara sengan yang toleran dan terserang karat tumor.

2.7. Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)

RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) merupakan salah satu jenis penanda molekuler yang banyak dipakai dalam biologi molekuler. Analisis keragaman genetik berdasarkan penanda RAPD yang dikembangkan oleh Williams *et al.* (1990) berdasarkan pada amplifikasi DNA secara in-vitro dalam reaksi PCR dengan menggunakan primer acak. Prinsip kerjanya adalah



memanfaatkan urutan nukleotida tertentu yang terjadi pada proses replikasi DNA. Menurut Demeke dan Adams (1994) teknik ini memiliki beberapa kelebihan, yaitu: prosedur RAPD lebih murah, lebih cepat, membutuhkan sampel DNA lebih rendah (0.5-50 ng), tidak memerlukan radioisotop dan tidak terlalu membutuhkan keahlian untuk pelaksanaannya dibandingkan dengan penanda molekuler lainnya. Sedangkan kelemahan dari teknik ini menurut Finkeldey *et al.* (2010) yaitu penanda RAPD bersifat dominan, sehingga tidak mungkin mengenali individu heterozigot.

2.8. DNA kloroplas

Kloroplas pada tanaman memiliki DNA organelnya sendiri yang berbentuk sirkuler (Clegg *et al.* 1994). Genom kloroplas mengandung setidaknya 100 gen yang mengkode banyak proses sintesis dalam tanaman, sebagian besar mengkode *protein pipeline* dan fotosintesis (McFadden 2001). Daerah-daerah pada kloroplas dapat digunakan untuk *DNA fingerprinting* tanaman dan merupakan regulator beberapa proses yang berkaitan dengan resistensi tanaman terhadap hama atau penyakit (Daniell *et al.* 2016, Jin *et al.* 2010). Penggunaan penanda daerah kloroplas, salah satunya daerah *psbA-trnH intergenic spacer* dapat membedakan beberapa haplotipe dari tiga varietas tomat (Căprar *et al.* 2017), kakao (Gutiérrez-López *et al.* 2016), dan *Bretonadia salicina* (Al-Qurainy *et al.* 2014).

2.9. Next-generation Sequencing (NGS)

Penggunaan pendekatan genomik berbasis sekuens semakin berkembang sejak ditemukannya metode sekuensing yang lebih efisien serta memiliki *error rate* yang rendah yaitu *Next-Generation Sequencing* (NGS) (Pfeiffer *et al.* 2018). Sekuens genom fungsional yaitu Ribonucleic Acid (RNA) dengan NGS memberikan informasi banyak *Open Reading Frame* (ORF) yang memuat seluruh gen yang terekspresi atau *Expressed Sequence Tags* (ESTs) (He *et al.* 2012).

Next-generation sequencing adalah platform sekuensing yang masif dan paralel. Saat ini, teknologi NGS memungkinkan proses sekuensing menjadi lebih cepat dan jika dikalkulasi biaya per-basanya lebih murah dibanding metode sekuensing Sanger (Wheeler *et al.* 2008). Saat ini, platform untuk NGS antara lain Illumina, IonTorrent, Roche, dan BGI-Seq. Penggunaan metode NGS dalam sekuensing telah mempercepat proses sekuensing genom manusia yang awalnya membutuhkan waktu 15 tahun saat ini dapat dilakukan dalam waktu dua bulan (Kulski 2016).

Proses NGS sendiri dapat dilakukan dengan material DNA maupun RNA. Analisis sekuens RNA dengan NGS disebut RNA-Seq. RNA-Seq dapat menganalisis keberadaan dan kuantitas gen pada RNA, pada sampel dengan kondisi tertentu (Chu dan Corey 2012). RNA-Seq dapat memberikan informasi bentuk alternatif gen, modifikasi pasca-translasi, mutasi, dan perubahan gen dalam jangka waktu tertentu atau akibat perlakuan tertentu (Maher *et al.* 2009)

Pendekatan genomik antara lain digunakan oleh Gailing *et al.* (2009) menggunakan untuk melihat gen-gen adaptif pada pohon hutan dengan menggunakan spesies-spesies Oak (*Quercus* spp.), dan Saxena *et al.* (2015) dalam *breeding cytoplasmic genic male sterility* (CGMS) pada tanaman *Cajanus cajan* untuk meningkatkan produktivitas dan mengurangi masa tanam. Selain itu, Penelitian Street *et al.* (2006) menunjukkan adanya perubahan genetik dan genomik yang terjadi pada tanaman *Populus* akibat cekaman kekeringan.

III PSEUDORESISTENSI DAN KERAGAAN PERTUMBUHAN SENGON DI BOGOR DAN CIAMIS, JAWA BARAT

3.1. Pendahuluan

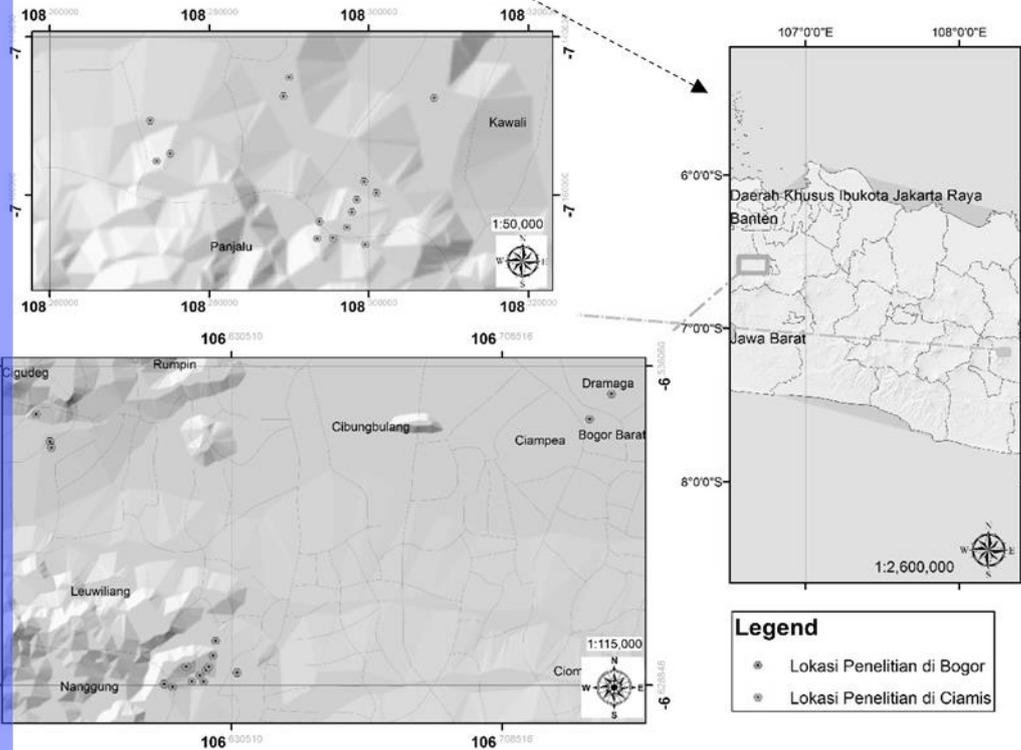
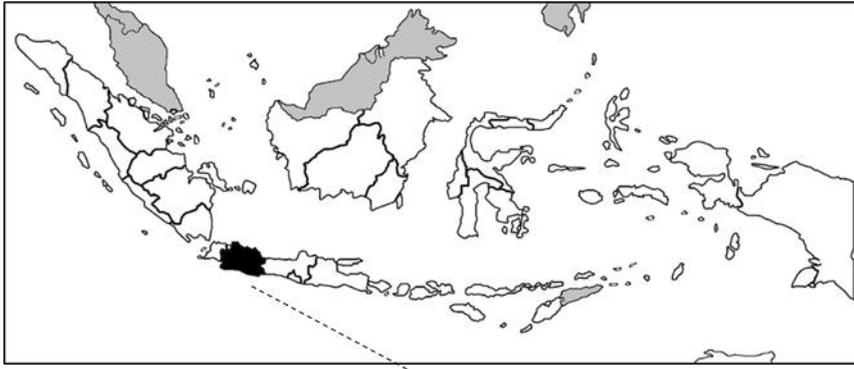
Menurut Agrios (2005), terdapat tiga komponen yang berperan dalam terjadinya variasi perkembangan penyakit tumbuhan, yaitu patogen, inang dan lingkungan. Faktor lingkungan yang memengaruhi antara lain kecepatan angin yang rendah (<80 km/jam) dan kelembaban udara yang tinggi (<90%) (Rahayu 2008). Sementara itu, Marschner (2003) menyatakan bahwa nutrisi tanah juga berpengaruh dalam perkembangan patogen. Anggraeni *et al.* (2010) menyatakan bahwa penanaman sengon dengan sistem pertanian monokultur akan membuat tegakan lebih rentan terserang penyakit. Penelitian Syakirin (2014) dengan metode *Forest Health Monitoring* (FHM) menunjukkan adanya perbedaan serangan penyakit sebesar 1% antara plot monokultur dan plot sengon yang ditanam dengan pola agroforestri. Perlu diverifikasi lebih lanjut hubungan antara diversitas tanaman dengan penyebaran karat tumor. Sementara itu, dalam konteks budidaya, terdapat penambahan faktor selain ketiga komponen tersebut yaitu adanya faktor manusia yang mengubah konsepnya menjadi piramida atau tetrahedron penyakit (Saleh dan Hardaningsih 2007).

Berbagai penelitian tentang pengaruh faktor lingkungan terhadap penyakit tanaman telah dilakukan, di antaranya terkait dengan iklim (Elad dan Pertot 2014, Garc'ia-Guzma'n *et al.* 2016, Andrew *et al.* 2016, Fraser *et al.* 2017) dan unsur hara (Romeis *et al.* 2000, Walters *et al.* 2005, Rolshausen dan Gubler 2005, Chaudhary *et al.* 2007), serta gabungan beberapa faktor (Lelana 2018). Faktor-faktor lingkungan yang berbeda-beda di setiap tempat dan berinteraksi satu sama lain akan menghasilkan tingkat serangan penyakit yang berbeda-beda. Oleh karena itu, analisis faktor lingkungan dari berbagai aspek (tanah, iklim, dan faktor budidaya) penting untuk dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis serangan penyakit karat tumor serta kaitannya dengan variabel iklim, unsur hara, dan budidaya yang belum dianalisis pada penelitian sebelumnya.

3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Plot yang digunakan untuk analisis lingkungan berukuran 50 x 50 m² (Drescher *et al.* 2016) yang dibangun pada hutan tanaman rakyat dengan sengon sebagai tanaman utamanya. Plot yang dianalisis yaitu 32 plot dengan 16 berada di Bogor dan 16 plot berada di Ciamis. Peta lokasi plot ditunjukkan pada Gambar 3.1. Pengambilan data di lapangan dilakukan mulai Oktober 2016 hingga Februari 2017.



Gambar 3.1 Peta lokasi penelitian

3.3. Bahan dan Metode

Pengukuran dimensi pohon dan penyakit dilakukan secara sensus dalam plot. Data yang dikumpulkan dari plot pengamatan berupa dimensi pohon, jumlah dan ukuran karat tumor, tutupan tajuk, jumlah jenis tanaman lain, dan ketinggian tempat. Variabel untuk faktor edafis yaitu sifat kimia tanah antara lain Kalsium, Boron, Besi, Magnesium, Silika, Kalium, dan Nitrogen; yang diperoleh dengan melakukan analisis tanah. Sampel tanah diambil dari minimal lima titik di dalam plot yang kemudian dikompositkan. Analisis tanah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Indonesia Center for Biodiversity and Biotechnology (ICBB) Bogor.

Dimensi pohon yang diukur yaitu tinggi total, tinggi bebas cabang, dan diameter setinggi dada (dbh) pohon. Tutupan tajuk diukur menggunakan densiometer di pusat plot dengan ulangan sebanyak masing-masing satu kali menghadap empat arah mata angin. Jumlah dan ukuran karat tumor diamati per

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

pohon dengan rincian ukuran karat tumor pada batang utama sebagai berikut (Diputra 2015):

- a. Ukuran kecil memiliki lebar tumor $\leq 1/3$ keliling pohon dan panjang tumor ≤ 10 cm
- b. Ukuran sedang memiliki lebar $> 1/3 \leq 2/3$ keliling pohon dan panjang 11 - 20 cm
- c. Ukuran besar memiliki lebar $> 2/3$ keliling pohon dan panjang 21 - 30 cm.

Sementara itu, karat tumor pada cabang dan ranting dicatat sebagai karat tumor dengan ukuran kecil.

Berdasarkan data jumlah dan ukuran tumor, eksistensi tumor pada tiap pohon dapat dibagi menjadi enam kelas dan dibedakan pada pohon yang berumur 0-2 tahun dan >2 tahun (Baskorowati *et al.* 2012), yang dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Intensitas serangan penyakit dihitung dengan rumus (Baskorowati *et al.* 2012):

Intensitas Serangan penyakit = pohon terserang/total pohon dalam plot x 100%.

Keparahan serangan penyakit dihitung dengan rumus (Baskorowati *et al.* 2012):

$$DS = \left\{ \frac{(n_1 \times z_1) + (n_2 \times z_2) + \dots + (n_5 \times z_5)}{N \times Z} \right\} \times 100\%$$

dengan n adalah jumlah pohon dengan kelas z; z adalah kelas keparahan serangan penyakit; N adalah jumlah pohon dalam plot; dan Z adalah kelas tertinggi dalam plot.

Tabel 3.1 Skor keparahan serangan penyakit karat tumor (Baskorowati *et al.* 2012)

kor	Umur	
	0-2 tahun	>2 tahun
Tanaman tidak terserang	Tanaman tidak terserang	Tanaman tidak terserang
Serangan penyakit pada daun, ranting, dan cabang sebanyak 1 puru	Serangan penyakit pada daun, ranting, dan cabang sebanyak ≤ 4 puru	Serangan penyakit pada daun, ranting, dan cabang sebanyak ≤ 4 puru
Serangan penyakit pada daun, ranting, dan cabang sebanyak 2-4 puru	Serangan penyakit pada daun, ranting, dan cabang sebanyak 5-10 puru	Serangan penyakit pada daun, ranting, dan cabang sebanyak 5-10 puru
Serangan penyakit pada daun, ranting, dan cabang sebanyak 5-10 puru	Serangan penyakit pada daun, ranting, dan cabang sebanyak > 10 puru, atau pada batang atas (bukan batang bebas cabang)	Serangan penyakit pada daun, ranting, dan cabang sebanyak > 10 puru, atau pada batang atas (bukan batang bebas cabang)
Serangan penyakit pada daun, ranting, dan cabang sebanyak >10 puru, tidak menyerang batang utama	Serangan penyakit pada batang bebas cabang, sebanyak ≤ 2 kelompok	Serangan penyakit pada batang bebas cabang, sebanyak ≤ 2 kelompok
Serangan penyakit pada batang utama	Serangan penyakit pada batang bebas cabang ≥ 3 kelompok	Serangan penyakit pada batang bebas cabang ≥ 3 kelompok
Pohon mati	Pohon mati	Pohon mati

Data iklim diperoleh dari *Climatic Research Unit (CRU) Centre for Environmental Data Analysis (CEDA)* yang dapat diakses pada laman <http://wps->

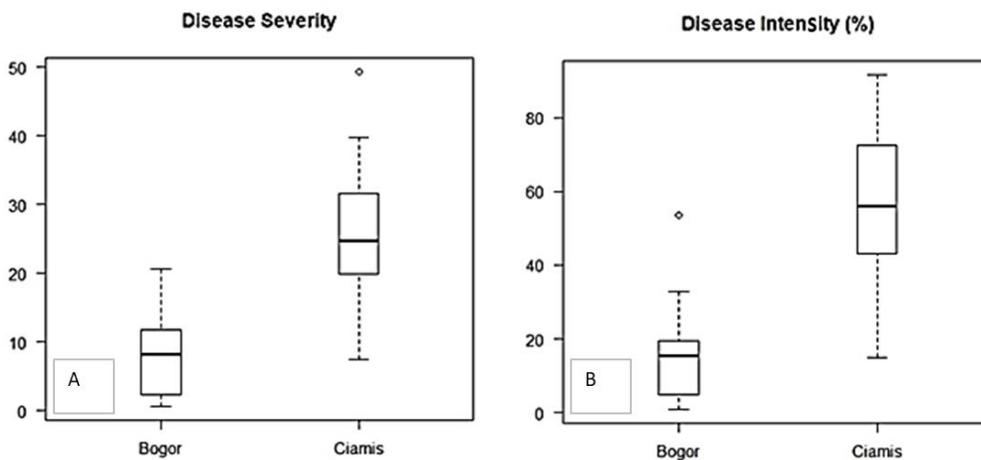
web1.ceda.ac.uk/submit/form?proc_id=Subsetter. Data iklim yang dikumpulkan yaitu data tahun 2006–2016. Data tersebut diekstrak menggunakan perangkat lunak *OpenGrADS (Grid Analysis and Display System)* (hyyp://opengrads.org) kemudian dirata-ratakan hingga menjadi data bulanan.

Data-data tersebut kemudian diolah menggunakan perangkat lunak *R statistical software v.3.5.2*. Analisis statistik yang dilakukan yaitu *Principal Component Analysis (PCA)*. PCA dilakukan untuk mengetahui faktor utama yang paling berpengaruh terhadap serangan penyakit karat tumor. Terdapat dua dataset yang digunakan untuk PCA yaitu dataset dengan variabel iklim dan dataset tanpa variabel iklim.

3.4. Hasil

3.4.1. Serangan Penyakit Karat Tumor

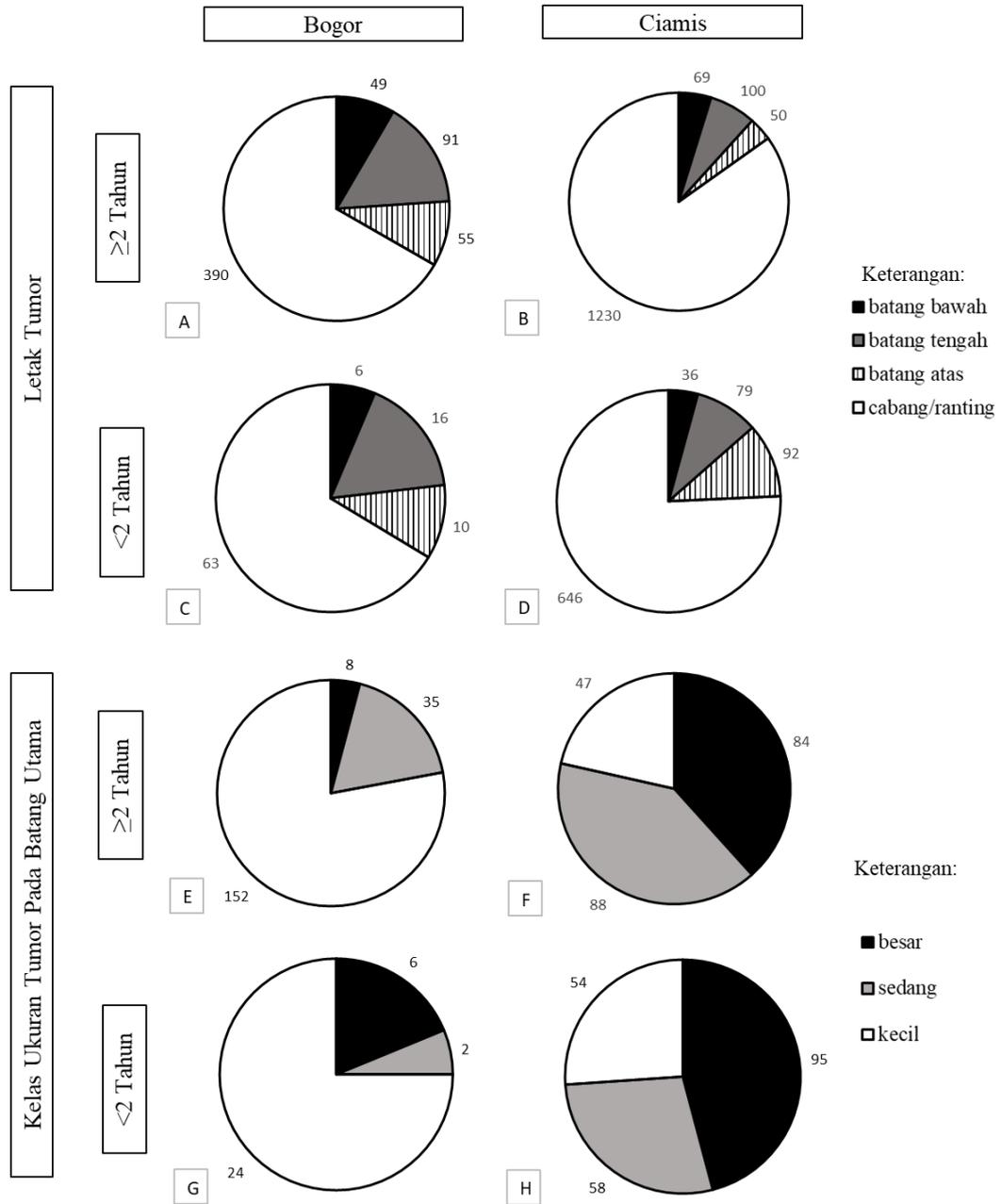
Terdapat total 2 711 individu sengon yang disensus dalam penelitian ini dengan rincian di Bogor dan Ciamis berturut-turut yaitu 1 366 dan 1 345 individu. Dari jumlah tersebut, sebanyak 229 individu dari Bogor dan 776 individu dari Ciamis yang terserang penyakit dengan keparahan dan intensitas yang disajikan pada Gambar 3.2. Rata-rata keparahan serangan penyakit di daerah Ciamis (25.53%) tiga kali lebih tinggi dibanding di Bogor (8.22%). Hal yang sama terjadi pada rata-rata intensitas serangan penyakit di Ciamis (57.31%) yang hampir empat kali lebih tinggi dibanding intensitas serangan penyakit karat tumor di Bogor (15.75%). Intensitas serangan penyakit maksimum di Bogor sebesar 53.63%, sedangkan di Ciamis dapat mencapai 91.67%.



Gambar 3.2 Keparahan serangan penyakit (A) dan intensitas serangan penyakit (B) karat tumor di Bogor dan Ciamis.

Karat tumor banyak terletak pada bagian cabang atau ranting dengan persentase 78.10% dari total tumor keseluruhan. Persentase yang melebihi 60% pada populasi Bogor dan Ciamis baik pada tanaman dengan umur >2 tahun dan <2 tahun tersebut disebabkan oleh jaringan pada ujung-ujung cabang dan ranting lebih lunak karena merupakan jaringan baru dan muda yang lebih mudah ditembus oleh patogen. Rata-rata jumlah tumor pada batang utama di Ciamis yaitu 1.32 tumor/pohon sedangkan di Bogor sebanyak 1.19 tumor/pohon. Keparahan serangan penyakit yang lebih tinggi di Ciamis terjadi

karena ukuran karat tumor pada batang utama sengon di Bogor kebanyakan berukuran kecil sedangkan di Ciamis jumlah tumor terbanyak yaitu tumor dengan kelas ukuran besar. Ukuran tumor yang lebih besar menunjukkan tumor berkembang dengan cepat. Distribusi letak dan kelas ukuran tumor dalam penelitian ini disajikan pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Distribusi letak dan ukuran karat tumor

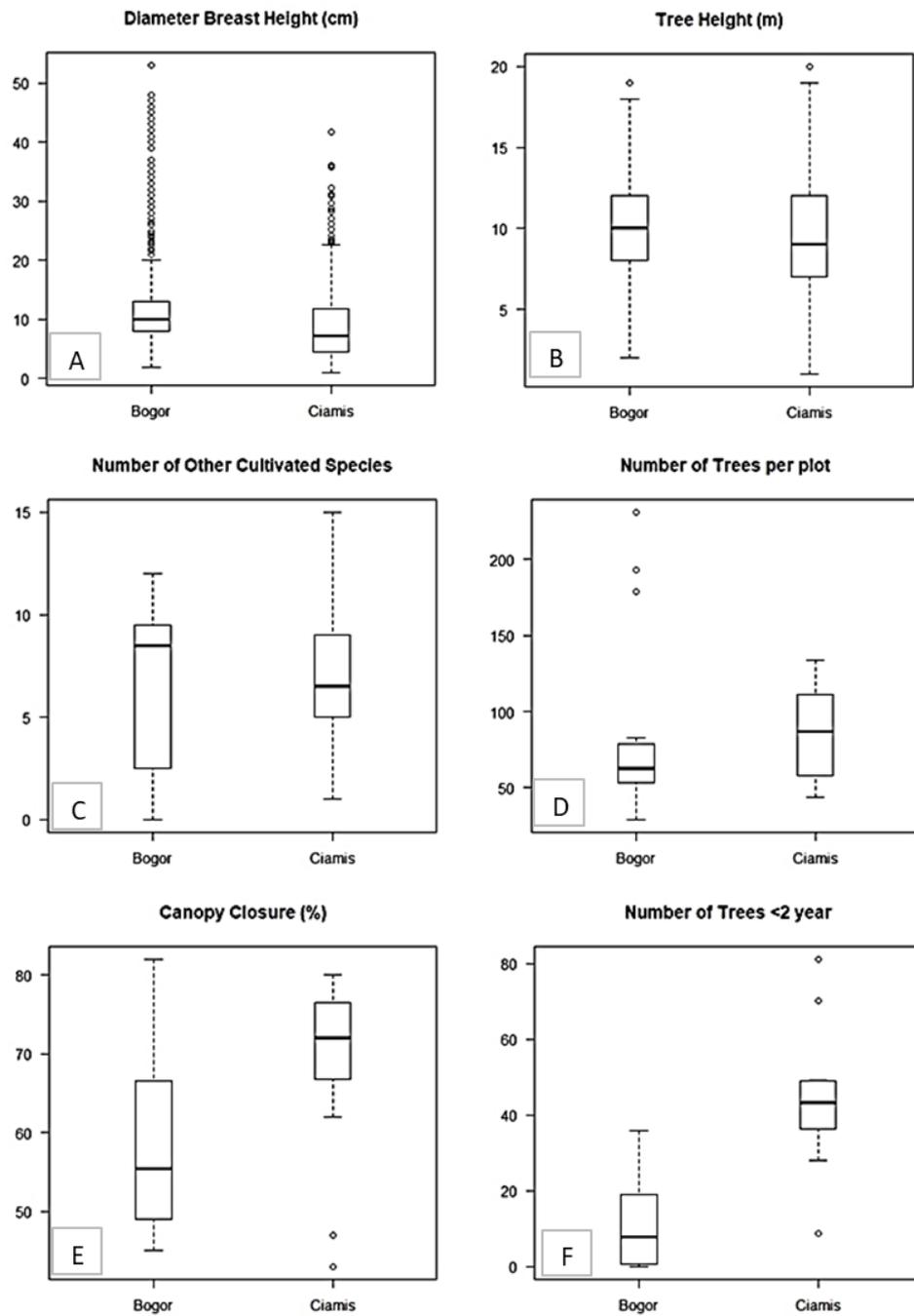
3.4.2. Dimensi, Diameter, dan Komposisi Tegakan

Rata-rata diameter sengon di Bogor sebesar 11.57 cm sedangkan di Ciamis sebesar 8.64 cm. Dari segi tinggi tanaman, tanaman sengon di Bogor dan Ciamis tidak jauh berbeda yaitu sebesar 10.09 m dan 9.48 m (Gambar

3.4.B). Sementara itu, rata-rata jumlah individu sengon pada setiap plot di Bogor dan Ciamis hampir sama yaitu 85.38 individu/plot dan 84.06 individu/plot tetapi rata-rata proporsi individu dengan kelas umur <2 tahun di Ciamis lebih tinggi (45.76%) dibandingkan dengan di Bogor (11.32%). Perbedaan rata-rata tutupan tajuk di Ciamis dan Bogor sebesar 10.41%. Jumlah jenis lain yang ditanam bersama dengan sengon sebagai tanaman utama rata-rata tidak jauh berbeda pada kedua lokasi penelitian (6.56 Bogor, 7.06 Ciamis). Dimensi dan komposisi tegakan disajikan pada Gambar 3.4. Pada tanaman >2 tahun, baik di Bogor maupun Ciamis, rata-rata diameter pada tanaman yang terserang lebih besar daripada tanaman yang tidak terserang karat tumor, sementara pada tanaman berumur <2 tahun diameter tanaman yang terserang lebih besar daripada tanaman yang tidak terserang hanya terjadi di Bogor (Gambar 3.5)

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

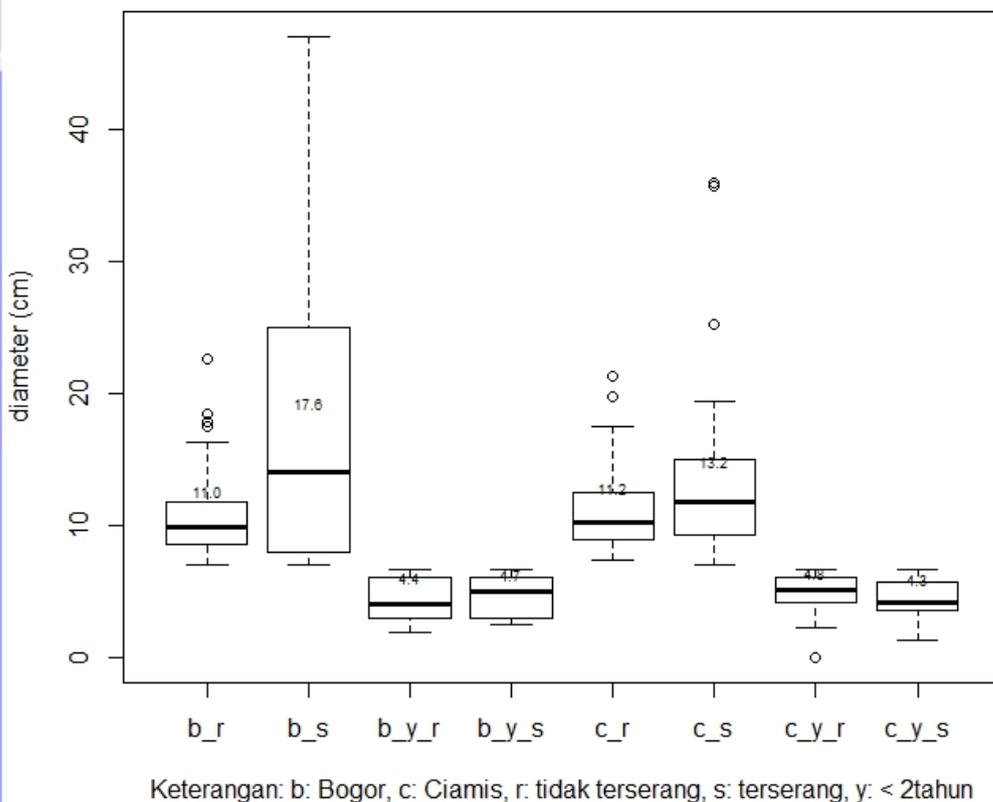
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan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



Gambar 3.4 Dimensi dan komposisi tegakan.



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

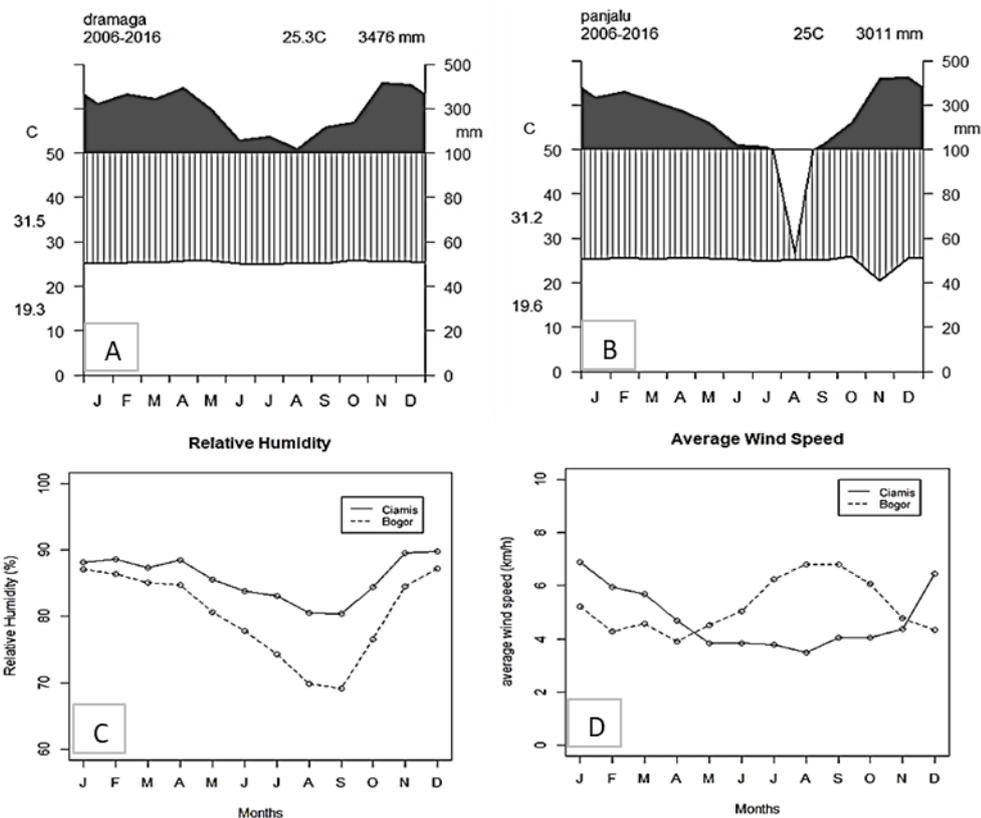


Gambar 3.5 Perbandingan diameter sengon terserang dan tidak terserang karat tumor

3.4.3. Karakteristik Iklim

Kedua lokasi penelitian memiliki karakteristik iklim yang sama yaitu tipe iklim B berdasarkan klasifikasi iklim Oldeman yaitu jumlah bulan basah berturut-turut sebanyak 7-9 bulan (Gambar 3.6). Sementara itu berdasarkan klasifikasi Schmidt-Fergusson, Bogor dan Ciamis masuk ke klasifikasi iklim tipe A dengan nilai $Q < 14.3$. Akan tetapi, di Ciamis terdapat satu bulan kering (Gambar 3.6.B) sedangkan di Bogor sepanjang tahun dikategorikan sebagai bulan basah dan bulan lembab dengan perbandingan bulan basah dua kali lebih banyak dibanding bulan lembab. Rata-rata kelembaban relatif (*relative humidity*, RH) daerah Ciamis khususnya Panjalu lebih tinggi dibandingkan dengan daerah Bogor karena berada pada elevasi yang lebih tinggi. Pada bulan lembab-kering, kecepatan angin di Bogor lebih tinggi (Gambar 3.6.C) dibandingkan di Ciamis yang menyebabkan spora patogen lebih mudah tertiuap dan sulit menempel pada inang. Plot pengamatan di Bogor berada pada elevasi 199–506 mdpl sedangkan plot pengamatan di Ciamis berada pada elevasi 663–888 mdpl. Berdasarkan informasi petani dan penyuluh di lapangan, karat tumor banyak berkembang pada musim panas atau bulan dengan curah hujan yang tidak terlalu tinggi. Hal tersebut perlu dikonfirmasi dengan penelitian lebih lanjut.

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

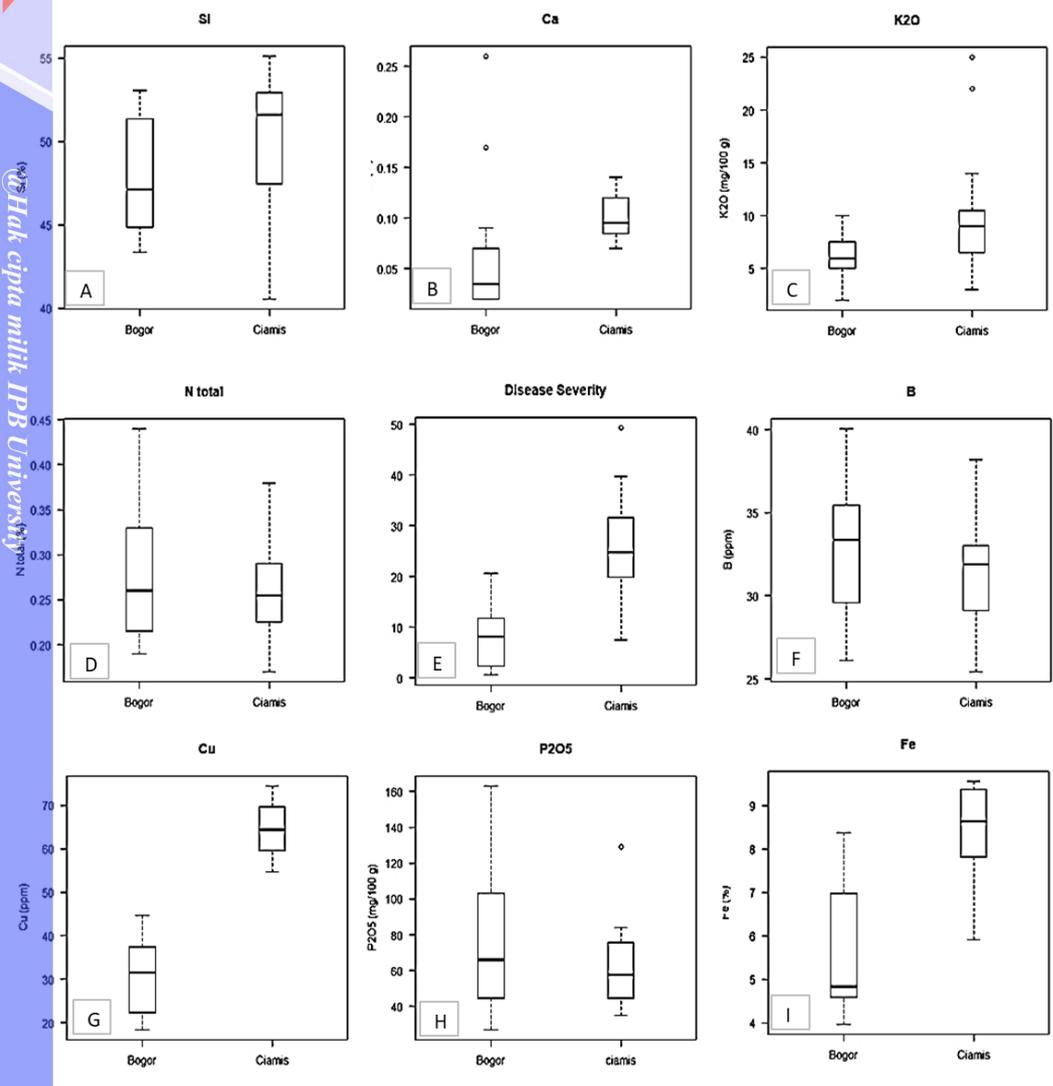


Gambar 3.6 Iklim Bogor dan Ciamis

3.4.4. Analisis Beberapa Sifat Kimia Tanah

Unsur hara berperan penting dalam metabolisme tumbuhan. Keberadaan unsur hara akan memengaruhi pertumbuhan dan resistensi tanaman terhadap organisme pengganggu. Di dalam tanah, unsur hara berinteraksi satu sama lain dengan sifat antagonis dan sinergis (stimulus). Unsur hara yang terlihat jauh perbedaannya pada kedua lokasi penelitian yaitu Fe, Cu, dan Ca (Gambar 3.7). Rata-rata kandungan Fe di Ciamis dan Bogor secara berturut-turut sebesar 8.49 dan 5.56 dalam persen sedangkan dalam ppm perbedaan kandungan Fe di kedua lokasi hampir mencapai 30 000 ppm. Rata-rata kandungan Cu pada tanah Bogor dan Ciamis yaitu sebesar 30.38 dan 64.50 ppm. Ca yang merupakan salah satu senyawa utama penyusun organ tanaman memiliki rata-rata di Bogor dan Ciamis sebesar 0.062 dan 0.101 %. Sementara itu, rata-rata kandungan fosfor di Ciamis lebih rendah (62.38 mg/100g) dibanding di Bogor (76.31 mg/100g).

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



Gambar 3.7 Keparahan penyakit dan sebaran kandungan beberapa unsur hara

3.4.5. Principal Component Analysis (PCA)

Analisis komponen utama atau PCA dilakukan menggunakan dataset dengan variabel iklim dan tanpa variabel iklim. Hal tersebut dilakukan karena data iklim yang diperoleh bersifat polar atau hanya terdapat dua ekstrim data sehingga dilakukan dua PCA untuk membandingkan kontribusi variabel-variabel tersebut. Variabel iklim yang dimasukkan dalam analisis yaitu curah hujan (maksimum, minimum, dan tahunan), temperatur udara (minimum, maksimum, dan rata-rata), kelembaban relatif (minimum, maksimum, dan rata-rata), serta kecepatan angin. Dari kedua PCA yang dilakukan, terdapat lima komponen utama (PC) yang memiliki nilai eigen >1 (Boehmke dan Greenwell 2020). Nilai variasi yang diberikan oleh tiap PC disajikan pada Gambar 3.8. Pada hasil analisis dataset tanpa variabel iklim, lima PC dengan *eigenvalue*>1 dapat menjabarkan 82.17% dari total variasi, sedangkan pada dataset dengan variabel iklim PC tersebut dapat menjabarkan 87.06%.

ke tanaman karena jaringan pembuluh yang berubah. Selain itu, adanya karat tumor merusak jaringan kayu dan mengubah arah serta susunan serat kayu (Rahmawati 2017). Perubahan tersebut menyebabkan menurunnya kualitas kayu karena perubahan arah serat dan kepadatan di bagian yang terserang tumor dan berdampak pada sifat fisik dan mekanik kayu.

Tingginya serangan penyakit karat tumor di daerah Panjalu, Ciamis dibandingkan dengan daerah Bogor merupakan akumulasi dari berbagai faktor dan tambahan faktor waktu sejak inisiasi infeksi. Salah satu faktor yang memengaruhi perkembangan patogen yaitu iklim mikro tegakan. Selain dipengaruhi oleh faktor iklim seperti kelembaban udara dan curah hujan, iklim mikro tegakan dipengaruhi oleh jenis dan kerapatan tegakan. Tegakan yang rapat dan tutupan tajuk yang besar akan menyebabkan suhu di bawah kanopi menjadi lebih rendah dan memiliki kelembaban yang lebih tinggi (Sapariyanto *et al.* 2016). Kondisi dengan kelembaban yang tinggi merupakan kondisi yang ideal bagi patogen untuk berkembang. Pada kondisi tersebut, jika ditambah dengan kecepatan angin yang rendah maka patogen akan lebih mudah menginfeksi inang (Rahayu 2008). Berdasarkan observasi pada kedua lokasi penelitian, semakin tinggi lokasi plot maka kondisi semakin berkabut. Adanya kabut menurut Rahayu *et al.* (2018) merupakan kondisi ideal yang dibutuhkan oleh cendawan karat tumor untuk inisiasi infeksi. Sementara itu, jarak tanam dapat dimodifikasi dengan pola agroforestri seperti di KPH Kediri Perhutani, yaitu pada hutan tanaman sengon ditanami nanas sebagai tanaman sela yang mengakibatkan jarak tanam menjadi lebih lebar sehingga kelembaban dalam tegakan menurun.

Berdasarkan hasil penelitian ini, pada tanaman yang berumur lebih dari dua tahun, rata-rata diameter tanaman yang terserang justru lebih besar dibandingkan pada tanaman yang tidak terserang karat tumor. Hal tersebut mengindikasikan adanya *trade off* energi tanaman antara pertumbuhan dan resistensi (Huot *et al.* 2014). Penelitian Fine *et al.* (2006) menunjukkan bahwa secara umum, jenis-jenis tanaman yang berada di hutan Amazon memberikan korelasi negatif antara pertumbuhan dan ketahanan terhadap hama. Selain itu, penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa kondisi tapak yang berbeda akan menyebabkan perbedaan derajat infestasi herbivora dalam populasi. *Trade-off* tersebut terjadi karena tanaman tidak mampu menghindari cekaman, sehingga harus mengeluarkan energi untuk beradaptasi. *Energy trade-off* terjadi karena terbatasnya sumberdaya untuk memenuhi kedua kebutuhan tersebut (Karasov *et al.* 2017). Untuk tetap memaksimalkan pertumbuhan dan mempertahankan resistensi upaya yang dapat dilakukan yaitu manipulasi sumberdaya seperti dengan pemupukan atau pemangkasan (Tuller *et al.* 2018).

Sengon merupakan tanaman penambat nitrogen dengan mekanisme mereduksi N_2 yang bebas di udara. Untuk menambatkan satu molekul N_2 diperlukan 15–30 ATP dan diubah ke dalam bentuk amonia (NH_3) (Novriani 2011). Nitrogen berperan penting dalam metabolisme tanaman yaitu untuk pembentukan protein, lemak, dan senyawa organik lainnya; pembentukan klorofil, dan pertumbuhan jaringan tanaman. Keberadaan nitrogen yang berlimpah justru berdampak pada berkurangnya resistensi fisik tanaman dan produksi senyawa fitoaleksin yang berkaitan dengan resistensi tanaman tetapi berefek positif pada pembentukan enzim untuk resistensi lokal (Sun *et al.* 2020). Agrios (2005) menyatakan meningkatnya nitrogen akan berdampak pada meningkatnya

kerentanan tanaman terhadap patogen khususnya bakteri dan cendawan pada tanaman yang pertumbuhannya cepat. Bentuk nitrogen yang diserap juga berpengaruh terhadap kerentanan tanaman (Huber dan Watson 1974). Gupta *et al.* (2013) menyatakan bahwa tanaman tembakau yang menyerap lebih banyak NO_3^- dan lebih sedikit amonia memiliki tingkat resistensi yang lebih tinggi terhadap patogen *Pseudomonas syringae*.

Fosfor merupakan unsur penting dalam metabolisme tumbuhan terutama pada proses-proses yang melibatkan enzim fosforilase. Fosfor juga merupakan salah satu penyusun utama pada asam nukleat. Fosfor dibutuhkan tanaman dalam jumlah yang tidak sebanyak nitrogen, tetapi kekurangan fosfor akan berdampak pada penurunan kualitas buah dan benih. Dalam hal resistensi, fosfor berperan untuk menginduksi nekrosis pada *programmed cell death* (PCD) dan sintesis asam jasmonat (Orober *et al.* 2002).

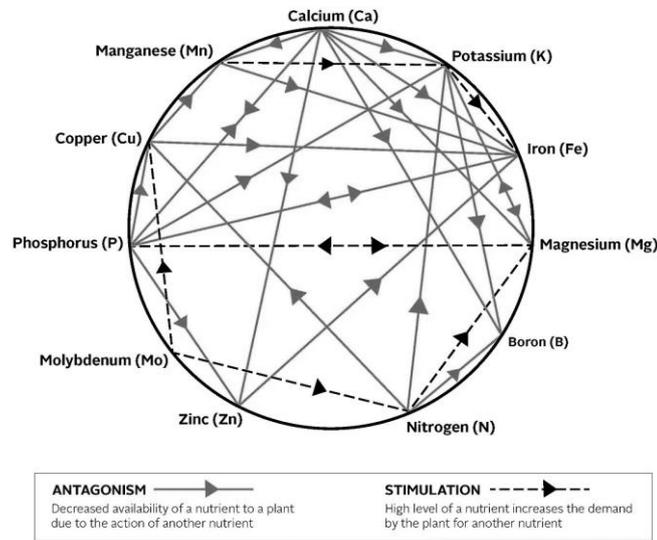
Kalium berperan penting dalam pertahanan tanaman terhadap patogen dan hama. Kalium berfungsi dalam banyak sintesis senyawa yang jumlahnya akan memengaruhi kerentanan tanaman menghadapi penyakit (Amtmann *et al.* 2008). Perrenoud (1990) menyatakan bahwa aplikasi penambahan kalium mengakibatkan penurunan serangan penyakit baik yang disebabkan oleh cendawan maupun bakteri sebesar 69-70%. Senyawa lain yaitu kalsium berperan sebagai pengikat pada molekul homogalacturonan (HG) pada dinding sel yang meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen (Herburger *et al.* 2019).

Hara mikro juga berperan penting dalam resistensi tanaman. Besi (Fe) berperan dalam sintesis senyawa asam jasmonat dan mengaktifkan *reactive oxygen species* (Hansch dan Mendel 2009). Boron (B) berperan dalam integrasi dinding sel pada tanaman (Maschner 2003). Tembaga (Cu) berperan sebagai agen dalam reaksi redoks pada tanaman khususnya pembentukan enzim peroxidase yang berperan dalam polimerisasi lignin pada dinding sel serta resistensi patogen (Dordas 2008). Silika (Si) berperan dalam meningkatkan resistensi tanaman dengan meningkatkan kepadatan dinding sel sehingga patogen menjadi sulit untuk menginfeksi inang (Kunoh dan Ishizaki 1975).

Kelimpahan sebagian atau seluruh senyawa yang berperan dalam resistensi belum tentu meningkatkan resistensi tanaman karena unsur-unsur hara dalam tanah berinteraksi satu sama lain. Interaksi antar unsur hara tersebut dapat bersifat sinergis atau antagonis (Rietra *et al.* 2017). Tipe interaksi beberapa unsur hara oleh Rietra *et al.* (2017) disajikan pada Gambar 3.10. Kalsium, tembaga, dan boron cenderung bersifat antagonis terhadap senyawa lainnya sehingga jika tanah kelebihan kalsium maka senyawa lain akan berkurang kemampuannya terserapnya. Kalium bersifat sinergis dengan Besi tetapi antagonis dengan senyawa lain. Selain itu, pada senyawa mikro, terdapat ambang batas yang jika dilampaui akan bersifat toksik bagi tanaman. Menurut Kabata-Pendias (2010), *excess* tembaga dapat mengakibatkan terganggunya proses fotosintesis dengan menghambat transpor elektron pada fotosistem I. Keparahan serangan penyakit pada penelitian ini berkorelasi positif dengan Fe dan Cu (0.642 dan 0.625) sehingga kemungkinan yang terjadi yaitu kandungan Fe dan Cu dalam tanah pada plot dengan serangan penyakit yang tinggi menyebabkan unsur-unsur yang lain tidak terserap secara maksimal. Meskipun demikian, keberadaan unsur-unsur hara tersebut dalam tanah belum tentu mencerminkan keberadaannya dalam jaringan tanaman. Oleh karena itu, untuk selanjutnya perlu dilakukan analisis terhadap kandungan unsur hara



tersebut dalam tanaman untuk memastikan pengaruh unsur-unsur tersebut terhadap perkembangan karat tumor pada sengon.



Gambar 3.10 Interaksi antar unsur hara (Rietra *et al.* 2017)

Berdasarkan observasi di lapangan, salah satu perbedaan yang terlihat pada kedua lokasi penelitian yaitu hutan tanaman di Bogor rata-rata dikelola dengan lebih intensif dari segi pemeliharaan lahan. Hutan tanaman sengon di Ciamis rata-rata memiliki kondisi tumbuhan bawah yang lebih lebat dibandingkan hutan tanaman sengon di Bogor. Akan tetapi, jika dibandingkan juga dengan hutan tanaman sengon milik Perhutani yang dipelihara secara sangat intensif tetapi serangan karat tumor tetap tinggi maka faktor pemeliharaan lahan masih belum bisa dipastikan dapat berpengaruh terhadap serangan karat tumor.

Proporsi tanaman dengan kelas umur lebih muda yang cukup besar menunjukkan bahwa pengelolaan lahan atau plot tersebut dilakukan dengan sistem silvikultur tebang pilih. Persentase tanaman dengan umur <2 tahun yang tinggi berkorelasi dengan tingginya keparahan penyakit (-0.479). Sistem tebang pilih jika tidak diiringi dengan pemusnahan karat tumor secara keseluruhan maka akan menyebabkan tetap tersedianya sumber inokulan penyakit. Inokulan yang selalu tersedia ditambah dengan tanaman yang memiliki banyak jaringan muda akan membuat penyakit semakin cepat berkembang. Hal yang sama ditunjukkan oleh penelitian Morrison *et al.* (2001) pada hutan campuran di beberapa region di British Columbia, Canada yang menyatakan bahwa tegakan yang dikelola dengan metode tebang pilih mengalami peningkatan signifikan infeksi cendawan *Armillaria ostoyae*. Hal tersebut berarti tidak terjadinya periode *disease escape* sehingga patogen tetap mendapatkan inang. Akan tetapi, jika absennya inang dari satu hamparan namun hanya dalam periode waktu yang dekat ditanam lagi, akan menyebabkan penyakit tetap berkembang. Oleh karena itu, selain dengan sistem tebang habis, disarankan juga untuk melakukan sistem bera atau pergiliran tanaman. Diharapkan dengan tidak adanya inang selama beberapa waktu akan menyebabkan patogen juga menghilang.

Permasalahan dari sistem tebang habis dengan masa bera yaitu kontinuitas pasokan kayu sengon untuk industri yang akan terganggu. Selain itu, belum

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

@Hak cipta milik IPB University

adanya penelitian terkait berapa lama masa bera yang diperlukan agar patogen karat tumor benar-benar hilang dari suatu area. Oleh karena itu, sengan-sengan dengan resistensi genetik menjadi sangat penting untuk segera ditemukan.

3.6. Kesimpulan

Pseudoresistensi atau resistensi ekologi merupakan hal yang kompleks dan melibatkan seluruh aspek yang bersinggungan dengan tanaman dalam waktu yang bersamaan. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap resistensi ekologi antar lain elevasi, kerapatan tegakan, komposisi tegakan, keseimbangan unsur hara dan iklim yang tidak mendukung patogen. Peningkatan faktor-faktor tersebut mengakibatkan meningkatnya kejadian dan keparahan penyakit karat tumor, dengan kata lain menurunkan resistensi lingkungan. Unsur hara yang berkorelasi cukup besar dengan peningkatan kejadian karat tumor yaitu tembaga (Cu) dan besi (Fe). Penerapan sistem silvikultur tebang habis merupakan salah satu upaya yang diperkirakan mampu mengontrol penyakit karat tumor.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IV KERAGAMAN GENETIK SENGON TERSERANG DAN TIDAK TERSERANG KARAT TUMOR BERDASARKAN PENANDA DNA

@Hak cipta milik IPB University

4.1. Pendahuluan

Salah satu pendekatan yang dikemukakan oleh Corryanti dan Novitasari (2015) untuk menekan serangan penyakit karat tumor yaitu melalui program pemuliaan sengon, yaitu penerapan ilmu genetika dan praktek silvikultur dalam seleksi tanaman yang memiliki sifat resisten terhadap karat tumor. Beberapa penelitian terdahulu (Baskorowati dan Nurrohmah 2011, Baskorowati *et al.* 2012, dan Setiadi *et al.* 2014) menunjukkan adanya provenans tertentu yang lebih toleran terhadap serangan penyakit karat tumor. Hasil uji provenans tersebut bersifat dinamis karena pada tanaman yang diperbanyak dari biji, segregasi gen antar generasi akan meningkatkan variasi genetik (Allard 1992). Selain itu, individu-individu unggul hasil uji provenans tersebut belum terverifikasi secara molekuler. Penelitian-penelitian terdahulu terkait serangan penyakit karat tumor pada sengon belum mampu memisahkan individu-individu resisten dari yang rentan (Rahmawati 2017, Lelana 2018). Sementara itu, terdapat dugaan bahwa perbedaan secara molekuler antara individu toleran dengan individu yang tidak toleran karat tumor hanya sedikit, sebagaimana sifat resistensi terhadap hama boktor (Haneda dan Siregar 2011).

Selain itu, muncul pertanyaan bahwa apakah sengon yang terserang dan tidak terserang karat tumor merupakan sengon jenis yang sama karena di pasaran terdapat dua jenis sengon yaitu sengon biasa atau sengon laut (*Falcataria moluccana*) dan sengon merah atau sengon tekik (*Albizia chinensis*) yang kenampakannya mirip dari segi ukuran anak daun (PIER 2013, PIER 2018). Hal lain yang menyebabkan pentingnya dilakukan konfirmasi genetik yaitu dalam beberapa penelitian, sengon diberikan keterangan nama ilmiah yang sama dengan sengon merah yaitu *Albizia chinensis* (Artati *et al.*, 2019; Ota, 2019; Surjosatyo *et al.*, 2018). Oleh karena itu, perlu juga dilakukan analisis molekuler untuk mengkonfirmasi jenis yang digunakan dalam penelitian ini.

RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) merupakan satu jenis penanda molekuler yang banyak dipakai dalam penelitian dan diagnostik biologi molekuler. Analisis keragaman genetik berdasarkan penanda RAPD yang dikembangkan oleh Williams *et al.* (1990) berdasarkan pada amplifikasi DNA secara in-vitro dalam reaksi PCR dengan menggunakan primer acak. Penanda AFLP mencakup seluruh genom sehingga diharapkan dapat melihat secara keseluruhan fragmen-fragmen yang dapat membedakan individu resisten dan rentan karat tumor. Selain itu, melimpahnya jumlah lokus yang diamati juga menjadi alasan AFLP dipilih sebagai penanda, khususnya untuk mengamati sifat tertentu dan *association mapping* (Cervera *et al.* 1996). Analisis AFLP dapat dilakukan menggunakan enzim restriksi yang sensitif terhadap metilasi, sehingga dapat melihat apakah terjadi metilasi yang menyebabkan tidak terekspresinya gen-gen terkait sifat resistensi terhadap karat tumor.

Berdasarkan observasi, sebagian besar petani sengon tidak memiliki akses informasi terkait asal-usul benih yang terkait dengan sifat resistensi terhadap karat tumor. Penanda molekuler juga dapat digunakan untuk melacak asal-usul material

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

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

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

yang digunakan untuk penanaman yang ditransportasikan oleh manusia (Pandey *et al.* 2004, Finkeldey *et al.* 2010), dan untuk lacak balak (Dormontt *et al.* 2015).

Selain itu, penanda molekuler juga dapat digunakan untuk keperluan taksonomi dengan menggunakan penanda-penanda DNA *barcode* (CBOL 2009). Penanda molekuler yang dapat digunakan untuk ketiga tujuan tersebut salah satunya yaitu menggunakan penanda dari DNA kloroplas yang sifatnya merupakan *conserved region*. Daerah *psbA-trnH intergenic spacer* merupakan sekuens pendek pada angiospermae dengan panjang 200–500 bp (*base pair*) (Storchova dan Olson 2007). Sekuens tersebut dapat teramplifikasi dengan baik pada DNA yang terdegradasi dari kayu (Yu *et al.* 2016). Penelitian Pang *et al.* (2012) menunjukkan bahwa daerah tersebut dapat menjadi kandidat DNA *barcode* yang lebih efektif karena tingkat kemampuannya yang lebih tinggi dibandingkan dengan penanda lain (*matK*, *rbcL*, dan ITS2).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis variasi genetik antara sengon yang terserang dan tidak terserang karat tumor dari kedua lokasi penelitian (Bogor dan Ciamis) serta mengkonfirmasi jenis sengon yang terserang dan tidak terserang karat tumor.

4.2. Metode

4.2.1. Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan untuk analisis DNA diambil dari masing-masing plot pada penelitian sebelumnya sebanyak dua tanaman. Sampel yang dikoleksi berupa kayu dari tanaman yang terserang dan tanaman yang tidak terserang karat tumor dan keduanya sangat berdekatan. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam plastik *Ziploc* berisi *silica gel* setelah disemprot dengan alkohol 70% dan sesegera mungkin disimpan dalam *freezer*.

4.2.2. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan dua metode yang merupakan modifikasi dari metode *Cetyl-Trimethyl-Ammonium-Bromide* oleh Doyle (1991). Metode ekstraksi pertama yaitu sampel kayu yang sudah diserut menggunakan pisau diambil sebanyak 0.2 g kemudian digerus dengan bantuan nitrogen cair hingga berbentuk tepung kemudian dimasukkan ke dalam tube 2 ml Sampel kemudian ditambahkan buffer ekstrak (Lampiran 5) sebanyak 1 ml, *Polyvinyl Pyrrolidone* 26% sebanyak 40 μ l, dan β -*merkaptotanol* sebanyak 5 μ L. Metode kedua yang dimuat dalam Shabrina *et al.* (2019) yaitu sebanyak 0.2 g sampel kayu yang sudah diserut menggunakan pisau dimasukkan ke dalam tube 1.5 ml kemudian dibekukan pada suhu -30 °C selama 24 jam. Sampel kemudian dihaluskan menggunakan Qiagen TissueLyzer II hingga menjadi serbuk dengan menambahkan *beads* ke dalam tabung. Sampel tersebut kemudian ditambahkan buffer ekstrak sebanyak 500 μ l dan β -*merkaptotanol* 1%. Kedua metode tersebut dilanjutkan dengan tahapan yang sama.

Campuran dalam tube dihomogenkan dengan vortex lalu diinkubasi pada suhu 65 °C dalam *waterbath* selama 1 jam dengan dibolak-balik setiap 15 menit. Setelah itu, *tube* sampel disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. *Supernatant* kemudian dipindahkan ke *tube* baru dan ditambahkan kloroform:isoamilalkohol (1:24) sebanding dengan volume *supernatant*. *Tube* kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm

selama 10 menit dan supernatan dipindahkan ke tube baru. *Supernatant* kemudian ditambahkan isopropanol sebanyak 500 μ l dan NaCl 5 M sebanyak 300 μ l kemudian diinkubasi selama minimal 1 jam di *freezer*. Setelah itu, tube sampel disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Cairan yang berada dalam tube dibuang sehingga tersisa endapan DNA. Endapan tersebut ditambahkan etanol 70% sebanyak 300 μ l kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Cairan etanol kemudian dibuang hingga tersisa pelet DNA yang sudah bersih. *Tube* kemudian dikeringkan di dalam desikator berisi *silica gel*. DNA dilarutkan dengan menambahkan *buffer* TE 1x sebanyak 55 μ l. DNA hasil ekstraksi diuji pada gel agarose 1% dengan *buffer* Tris Acetic EDTA (TAE) 1x. Pewarnaan DNA pada agarose dilakukan dengan menambahkan 1 μ L *GELRED Safe DNA stain*. Visualisasi DNA dilakukan dengan sinar UV.

4.2.3. RAPD

PCR dengan penanda RAPD dilakukan dengan reaksi 5 μ l GoTaq mastermix (Promega Corporation), 3 μ L air, 1 μ l primer konsentrasi 20 pmol, dan 1 μ l DNA template. DNA yang digunakan yaitu DNA dari ekstraksi DNA tanpa nitrogen cair. PCR dilakukan dengan siklus: pre-denaturasi 2 menit pada suhu 95 °C; diikuti 45 siklus denaturasi 1 menit pada 95 °C, *annealing* 1 menit pada 35 °C, dan ekstensi selama 1 menit pada 72 °C; diikuti tahapan *final extension* selama 10 menit pada 72 °C. Hasil PCR dielektroforesis pada gel agarose 2% dan divisualisasikan dengan sinar UV. Penanda untuk PCR diseleksi dari 78 primer dan didapatkan 7 primer yaitu OPB-10, OPB-11, OPC-08, OPC-14, OPC-15, OPC-19, dan OPC-11. Skoring fragmen DNA dilakukan menggunakan bantuan perangkat lunak *PyElph* (Pavel dan Vasile 2012).

4.2.4. AFLP

Tahapan PCR AFLP yaitu restriksi/ligasi, amplifikasi pre-selektif, dan amplifikasi selektif. Enzim restriksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *PstI* dan *MseI*. Amplifikasi pre-selektif dilakukan dengan primer P00 dan M00. Larutan hasil amplifikasi pre-selektif kemudian diencerkan 20 kali dan digunakan untuk amplifikasi selektif. Reaksi restriksi/ligasi dilakukan secara sekaligus dengan bantuan NEB *buffer 2.1* (New England Biolabs). Formula campuran untuk reaksi restriksi/ligasi yang dilakukan disampaikan pada Tabel 4.1 dengan total volume 50 μ l. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam tube 0.2 ml dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 3 jam dalam mesin *PCR thermal cycler*. DNA yang digunakan untuk AFLP yaitu DNA hasil ekstraksi dengan nitrogen cair. Hasil restriksi/ligasi tersebut kemudian digunakan untuk reaksi pre-amplifikasi. Reaksi pre-selektif amplifikasi dilakukan dengan campuran yang dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.1 Formulasi reaksi restriksi/ligasi

Komponen	Volume (μ l)
MseI	0.50
PstI	0.25
Adapter MseI	5.00
Adapter PstI	0.50
T4 DNA Ligase	0.20
Buffer	10.00
ATP	1.00
DNA	5.00
Nuclease free water	27.55

Tabel 4.2 Formulasi reaksi amplifikasi pre-selektif

Komponen	Volume (μ l)
KOD Buffer	12.50
dNTPs	5.00
KOD enzyme	0.50
Primer P00	0.75
Primer M00	0.75
R/L template	5.00
Nuclease free water	0.50
Total	25.00

Campuran tersebut dimasukkan dalam mesin PCR *Thermal cycler* untuk menjalani 35 siklus yang terdiri dari: 94 °C selama 30 detik, 56 °C 30 detik, dan 72 °C 30 detik. Hasil pre-selektif amplifikasi tersebut diencerkan sebanyak 20 kali dan digunakan dalam reaksi amplifikasi menggunakan pereaksi *GreenGoTaq mastermix* (Promega Corporation) dengan primer selektif +2 dan +3. Suhu *annealing* dalam siklus amplifikasi yang digunakan yaitu *touch down* dari 65 °C hingga 54 °C dengan Δ 1 °C selama 13 siklus, dan selanjutnya *annealing* dilakukan pada suhu 54 °C selama 22 siklus.

Hasil amplifikasi selektif kemudian dielektroforesis untuk melihat pola pita yang terbentuk. Elektroforesis dilakukan menggunakan gel vertikal atau *Denaturized Polyacrylamide Gel* (PAA) yang memiliki resolusi lebih tinggi dibandingkan dengan gel agarose. Buffer yang digunakan dalam elektroforesis PAA yaitu buffer *Tris Boric EDTA* (TBE) 0.5x. Hasil elektroforesis diwarnai dengan pewarna perak nitrat. Setelah diwarnai, gel PAA dikeringkan dan dipotret menggunakan kamera. Gambar disimpan kemudian dianalisis secara manual dan menggunakan perangkat lunak *PyElph*.

4.2.5. PCR cpDNA

PCR dilakukan dengan penanda *trnH*(GUG) (5'-ACTGCCTTGATCCACTTGGC-3') dan *-psbA* (5'-GCAAGCTCCATCTACAAATGG-3') (Hamilton 1999). Adapun reaksi amplifikasi dapat dilihat pada Tabel 4.3. PCR dilakukan dengan siklus: pre-denaturasi 2 menit pada suhu 95 °C; diikuti 35 siklus denaturasi 1 menit pada 95 °C, *annealing* 1 menit pada 55 °C, dan ekstensi selama 1 menit pada 72 °C; diikuti tahapan final extension selama 10 menit pada 72 °C. DNA yang digunakan untuk PCR cpDNA yaitu DNA hasil ekstraksi tanpa nitrogen cair.

Tabel 4.3 Reaksi PCR cpDNA

Komponen	Volume (µl)
Primer <i>trnH</i>	1
Primer <i>psbA</i>	1
DNA <i>template</i>	1
<i>Nuclease free water</i>	7
<i>GoTaq mastermix</i>	10
Total	20

Hasil amplifikasi kemudian dipurifikasi dengan metode *Exonuclease shrimp alkaline phosphatase* (EXOSAP) (Werle *et al.*, 1994). Hasil purifikasi kemudian di PCR sekuens dengan primer *psbA* saja menggunakan kit BigDye™ (ThermoFisher) dengan reaksi 6.5 µL air, 1µL 5x buffer, 0.5 µL primer, 1 µL BigDye ver. 1.1, dan 1 µL produk purifikasi. Siklus PCR seperti siklus PCR biasa dengan suhu *annealing* 50 °C sebanyak 25 siklus. Tahapan selanjutnya yaitu presipitasi ethanol untuk menghilangkan residu PCR. Pelet DNA kemudian ditambahkan dengan 13 µL Formamide dan diinkubasi *heat shock* 95 °C selama 3 menit kemudian dipulihkan dengan pendinginan di es. Sampel kemudian disekuens dengan mesin alat ABI PRISM® 3100 *Genetic Analyzer* dengan waktu 1 jam untuk setiap sampel.

4.2.6. Analisis Data

Data biner hasil skoring fragmen RAPD dan AFLP kemudian digunakan untuk berbagai analisis. Jarak genetik dan keragaman genetik dianalisis menggunakan perangkat lunak POPGENE v.32 (Yeh dan Boyle 1997). Analisis variasi molekuler (AMOVA) dan *Principal Coordinate Analysis* dilakukan menggunakan *tools add-ins* GenALex v.6.53 pada perangkat lunak Microsoft Excel (Peakall dan Smouse 2012). Analisis kluster dilakukan menggunakan perangkat lunak NTSYS v2.02 (Rohlf 2008) dari data jarak genetik menggunakan metode *unweighted pair group method with arithmetic mean* (UPGMA). Analisis- analisis tersebut dilakukan dengan asumsi terdapat empat populasi yaitu tanaman tidak terserang dari Bogor (Bogor_R) dan Ciamis (Ciamis_R), dan tanaman terserang dari Bogor (Bogor_S) dan Ciamis (Ciamis_S). Analisis struktur populasi dilakukan menggunakan perangkat lunak STRUCTURE (Hubisz *et al.* 2009) untuk menganalisis jumlah spektrum genomik (K) menggunakan metode *clustering* Bayesian. Hasil analisis struktur populasi diekstraksi dengan *Structure Harvester* (Earld dan vonHoldt 2012) pada laman <http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester>. Seluruh analisis tersebut dilakukan pada masing-masing penanda RAPD dan AFLP dan gabungan RAPD dan AFLP.

Data hasil sekuens daerah *psbA-trnH intergenic spacer* kemudian di-edit dan disejajarkan menggunakan perangkat lunak ATGC *for Windows* (Genetyx, Japan). Sekuen final kemudian disejajarkan menggunakan perangkat lunak MEGA-X dengan metode ClustalW (Kumar *et al.* 2018). Sekuen kemudian dianalisis menggunakan *Basic Local Alignment Search Tools* (BLAST) pada GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) untuk identifikasi kesesuaian sekuens. Analisis jarak genetik dilakukan dengan menentukan model algoritma terbaik dengan nilai *Bayesian Information Criterion* (BIC) (Bhat dan Kumar 2010) dan *Akaike Information Criterion corrected* (AICc) (Hurvich dan

Tsai 1993) terendah. Model yang memenuhi kriteria tersebut dan memiliki jumlah variable terkecil yaitu Tamura 3-parameter (Tamura 1992), yang mempertimbangkan perbedaan *mutation rate* secara transversi dan transisi serta bias kandungan GC. Analisis keragaman genetik dilakukan menggunakan perangkat lunak DNAsp (Rozas *et al.* 2017). Sekuens kloroplas (plastid) sengon dan daerah *psbA-trnH intergenic spacer* sengon merah digunakan sebagai pembanding dalam analisis jarak genetik. Sekuens plastid sengon untuk identifikasi diunduh dari <http://ncbi.nlm.nih.gov> dengan kode akses NC_047364 (Zhang *et al.*, 2020). Sekuens sengon merah (*Albizia chinensis*) digunakan sebagai pembanding. Sekuens sengon merah diunduh dari <http://ncbi.nlm.nih.gov> dengan kode akses KR532922.1 dan KR532923.1 (Huang *et al.* 2015).

4.3. Hasil

4.3.1. Analisis RAPD

Seleksi primer yang dilakukan menghasilkan tujuh primer yang menghasilkan pita polimorfik. Hasil amplifikasi dari tujuh primer tersebut yang kemudian digunakan untuk analisis final. Daftar primer dan ukuran produk yang dihasilkan disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Daftar primer RAPD hasil seleksi

No	Primer	Sekuens	Jumlah pita	Ukuran (bp)
1	OPB-10	CTGCTGGGAC	9	200–1 000
2	OPB-11	GTAGACCCGT	9	250–900
3	OPC-08	TGGACCGGTG	9	200–1 200
4	OPC-14	TGCGTGCTTG	10	300–1 200
5	OPC-15	GACGGATCAG	7	500–1 300
6	OPC-19	GTTGCCAGCC	7	300–1 500
7	OPD-11	AGCGCCATTG	4	400–1 000

Jumlah pita yang dihasilkan dari ketujuh primer tersebut yaitu lima puluh lima pita. Ukuran produk yang dihasilkan berkisar 200–1 500 bp. Rata-rata jumlah pita yang dihasilkan untuk tiap primer yaitu 7.86 pita per primer.

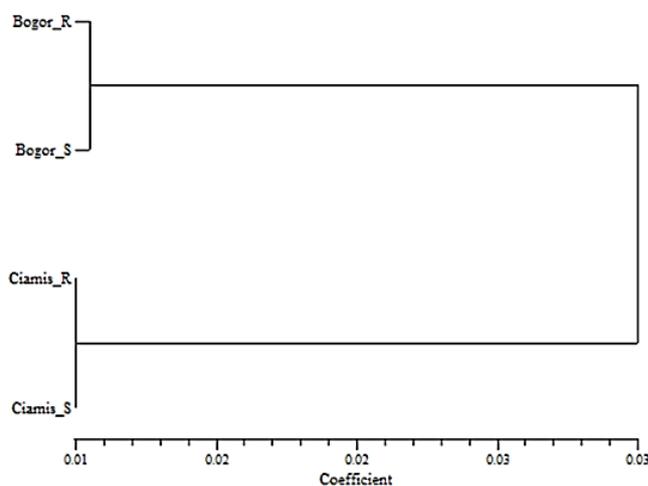
Persentase lokus polimorfik (PLP) berbeda pada setiap populasi, tetapi semuanya berada di atas 75% dengan rata-rata 83.64% untuk total populasi. Polimorfisme ditemukan lebih tinggi pada populasi yang terserang karat tumor. Jumlah alel efektif tidak banyak berbeda pada setiap populasi dan berkisar pada 1.341–1.379. Indeks informasi Shannon berkisar antara 0.315–0.370 dan berada pada kategori sedang. Heterozigositas harapan (H_e) pada setiap populasi berkisar antara 0.202 hingga 0.234. hal tersebut menunjukkan bahwa distribusi alel-alel pada seluruh populasi tidak merata. Diferensiasi genetik ($G_{st} = 0.0645$) menunjukkan bahwa lebih dari 93% keragaman berada dalam populasi. Hasil analisis variabilitas genetik disajikan pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Variabilitas genetik berdasarkan penanda RAPD

Populasi	Na	Ne	I	He	PLP	Gst
Bogor_R	1.582	1.341	0.315	0.202	78.18%	
Bogor_S	1.727	1.379	0.367	0.234	85.45%	
Ciamis_R	1.582	1.360	0.342	0.220	78.18%	
Ciamis_S	1.855	1.372	0.370	0.233	92.73%	
Total	1.686	1.363	0.349	0.222	83.64%	0.0645

Keterangan: Na=Jumlah alel, Ne=Jumlah alel efektif, I=Shannon Index, He= Indeks rata-rata keragaman gen, PLP= Persentase lokus polimorfik, Gst = Koefisien diferensiasi genetik

Jarak genetik Nei (1972) (D) antar populasi relatif rendah (kurang dari 0.1) dengan jarak genetik terbesar yaitu antara Ciamis_R dan Bogor_S (0.0406). Jarak genetik populasi yang berada dalam region yang sama cukup rendah (0.0141 untuk region Bogor dan 0.0136 untuk region Ciamis). Meskipun jarak genetiknya rendah, populasi dari kedua region tersebut dapat terdiferensiasi dan jarak genetik antar region lebih tinggi. Penelitian Olivia (2012) menyatakan bahwa bahkan dari populasi yang berbeda provinsi (Jawa Barat dan Jawa Timur), perbedaan genetik antar populasi sengon dari kedua provinsi tersebut relatif rendah. Studi serupa yang dilakukan oleh Suharyanto *et al.* (2002) menyatakan bahwa provenans sengon di Jawa secara relatif mirip secara genetik. Dendrogram jarak genetik populasi berdasarkan metode UPGMA disajikan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Dendrogram jarak genetik Nei (1972) berdasarkan penanda RAPD

Variasi molekuler yang disajikan pada Tabel 4.6 menunjukkan bahwa variasi genetik tertinggi berada dalam populasi (90%) dan tidak terdapat variasi antar region. Berdasarkan FAO (2002), variasi genetik yang tinggi adalah salah satu faktor penting dalam praktek pengelolaan hutan. Variasi dalam populasi, khususnya pada populasi resistan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa sifat resisten pada populasi sengon yang ditemukan masih dalam kisaran yang cukup. Penelitian ini juga menganalisis Φ -statistik (Phi-stat), substitusi dari F-statistik (Fst) untuk penanda dominan. Fst yang dihasilkan menunjukkan bahwa variasi antar region tidak signifikan dengan P-value >0.05 . Variasi genetik antar populasi dan dalam populasi termasuk ke dalam kategori moderat

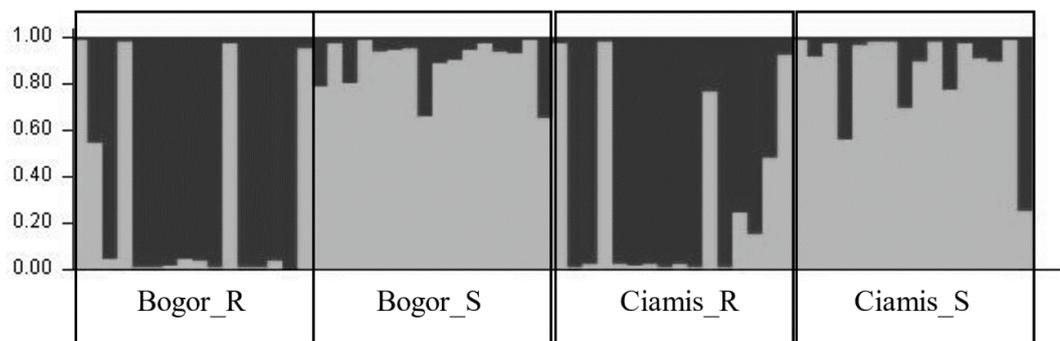
(0.05-0.15) menurut Hartl dan Clark (1997). Hasil analisis variasi molekuler (AMOVA) lengkap disajikan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil AMOVA RAPD

Sumber variasi	df	SS	MS	Est. Var.	Φ -stat	<i>P</i> -value
Antar region	1	7.172	7.172	0.000	-0.057*	1.0000
Antar populasi	2	43.594	21.797	0.885	0.104	0.0001
Dalam populasi	60	458.563	7.643	7.643	0.053	0.0002
Total	63	509.328		8.527		

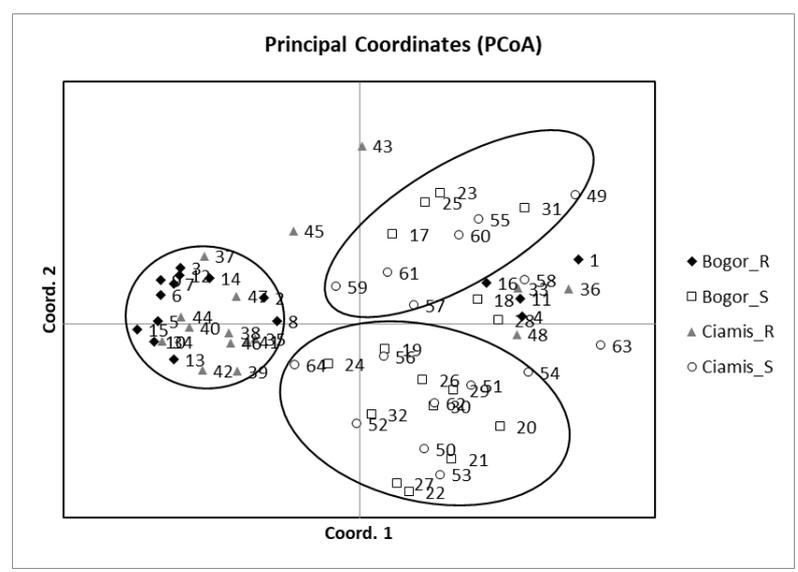
*tidak signifikan, df= derajat bebas, SS=Jumlah Kuadrat, MS= Kuadrat Tengah, Est. Var = perkiraan Variasi.

Hasil tersebut dikonfirmasi lebih lanjut dengan analisis lanjutan menggunakan analisis struktur populasi yang disajikan pada Gambar 4.2. Hasil analisis tersebut menunjukkan terdapat dua pola genetik utama (K) yang ditunjukkan oleh warna hitam dan abu-abu. Struktur genetik antara region Bogor dan Ciamis menunjukkan bahwa kedua region memiliki struktur yang relatif mirip. Sementara itu, populasi sengon yang terserang dan tidak terserang memiliki pola yang cukup berbeda pada kedua region.



Gambar 4.2 Hasil analisis *STRUCTURE* dengan penanda RAPD

Analisis PCoA digunakan untuk mengelompokkan individu-individu berdasarkan jarak individual (Gambar 4.3). Hasil analisis tersebut menunjukkan terdapat beberapa pengelompokan. Kelompok pertama terdiri dari 23 individu yang tidak terserang karat tumor, kelompok kedua terdiri dari 10 individu terserang dan kelompok ketiga terdiri dari 18 individu terserang karat tumor. Axis 1 pada PCoA menjabarkan 13.45% dari total variabel sementara axis 2 menjabarkan 9.08% sehingga total variabel yang dijabarkan sebesar 22.52%. Dalam setiap kelompok, individu-individu tersebut berasal dari kedua region. Selain itu, terdapat 13 individu yang tidak masuk ke kelompok manapun. Adanya pengelompokan tersebut membuktikan bahwa terdapat perbedaan genetik antara individu-individu terserang dan tidak terserang karat tumor.



Gambar 4.3 Hasil PCoA dengan penanda RAPD

4.3.2. Analisis AFLP

PCR dengan penanda AFLP dilakukan dengan menyeleksi sepuluh kombinasi primer dan menghasilkan dua kombinasi primer yang memiliki produk pita polimorfik yaitu P18M69 dan P26M45 dengan jumlah pita yang dihasilkan masing-masing yaitu 58 dan 48 pita. Dari 106 pita, terdapat 104 pita yang bersifat polimorfik. Ukuran pita yang dihasilkan berkisar antara 50 bp hingga ~1 000 bp. Hasil skoring pita dari kedua kombinasi primer tersebut kemudian digunakan untuk analisis final.

Persentase lokus polimorfik (PLP) terbesar didapatkan pada populasi Bogor terserang karat tumor (Bogor_S) sebesar 87.74% sementara PLP terendah didapatkan pada populasi Ciamis_S sebesar 59.43%. Hasil analisis variabilitas genetik disajikan pada Tabel 4.7. Nilai indeks Shannon diversity berada pada kisaran 0.231–0.323.

Tabel 4.7 Variabilitas genetik berdasarkan penanda AFLP

Populasi	Na	Ne	I	He	PLP	Gst
Bogor_R	1.41	1.25	0.26	0.16	66.04	
Bogor_S	5	4	4	4	%	
Ciamis_R	1.79	1.32	0.32	0.20	87.74	
Ciamis_S	2	0	3	0	%	
Total	1.31	1.25	0.25	0.15	61.32	
	1	2	0	9	%	
	1.26	1.22	0.23	0.14	59.43	
	4	6	1	5	%	
	1.44	1.26	0.26	0.16		0.07
	6	3	7	7		8

Na=Jumlah alel, Ne=Jumlah alel efektif, I=Shannon Index, He= Indeks rata-rata keragaman gen, PLP= Persentase lokus polimorfik, Gst = Koefisien diferensiasi genetik

Hasil AMOVA menunjukkan hal yang serupa dengan AMOVA yang dilakukan dengan penanda RAPD (Tabel 4.8). Keragaman terbesar ditemukan dalam populasi (96%) sementara antar populasi sebesar 3%. Sementara itu nilai

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

Phi-stat keragaman genetik antar region tidak nyata dengan P-value >0.05 . Nilai Phi-stat antar populasi dan dalam populasi berada pada kelas diferensiasi kecil (<0.05) menurut Hartl dan Clark (1997).

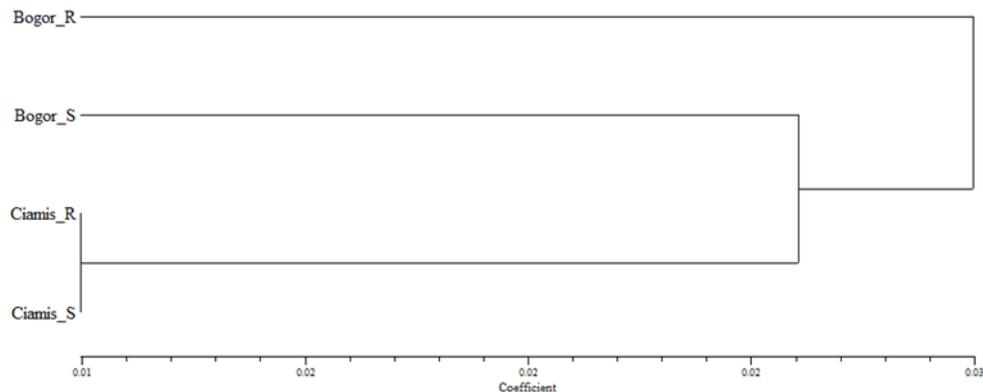
Tabel 4.8 Hasil AMOVA AFLP

Sumber variasi	df	SS	MS	Est. Var.	Φ -stat	P-value
Antar region	1	20.718	20.7187	0.07813	0.00646	0.218
Antar populasi	2	36.437	18.2187	0.41471	0.03456	0.0049
Dalam populasi	60	695.000	11.5833	11.5833	0.04081	0.0008
Total	63	752.156		12.0761		

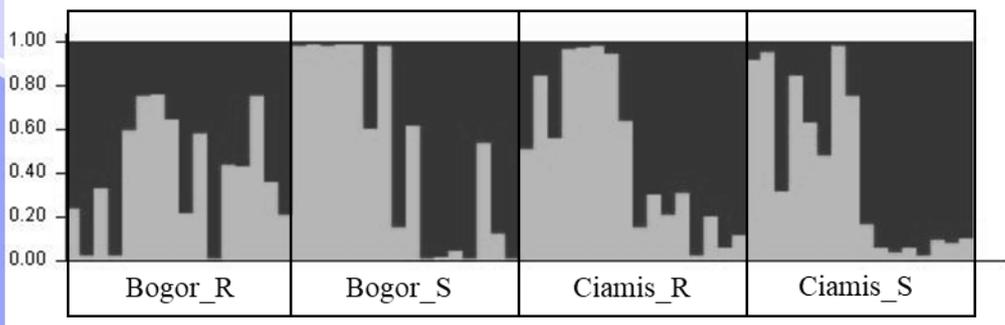
*tidak signifikan, df= derajat bebas, SS=Jumlah Kuadrat, MS= Kuadrat Tengah, Est. Var = perkiraan Variasi.

Analisis jarak genetik menunjukkan jarak genetik antar populasi termasuk rendah (<0.1). Jarak genetik terbesar ditunjukkan pada populasi Bogor_R dengan Bogor_S (0.289). Sementara itu, jarak genetik terkecil ditunjukkan oleh Ciamis_R dan Ciamis_S (0.0139). Dalam hal ini, populasi dari region Bogor justru terpisah cukup jauh antara populasi yang terserang dan tidak terserang karat tumor Gambar 4.4).

Jarak genetik tersebut kemudian dikonfirmasi dengan hasil analisis *STRUCTURE* (Gambar 4.5). Terdapat dua pola genetik utama yang berbeda dengan hasil analisis RAPD. Hasil analisis *STRUCTURE* menunjukkan pola genetik populasi Bogor_S cenderung mirip dengan populasi Ciamis_R dan Ciamis S. Sementara itu, berdasarkan penanda AFLP yang digunakan terlihat kemiripan pola genetik antara populasi Bogor_S, Ciamis_R, dan Ciamis_S.

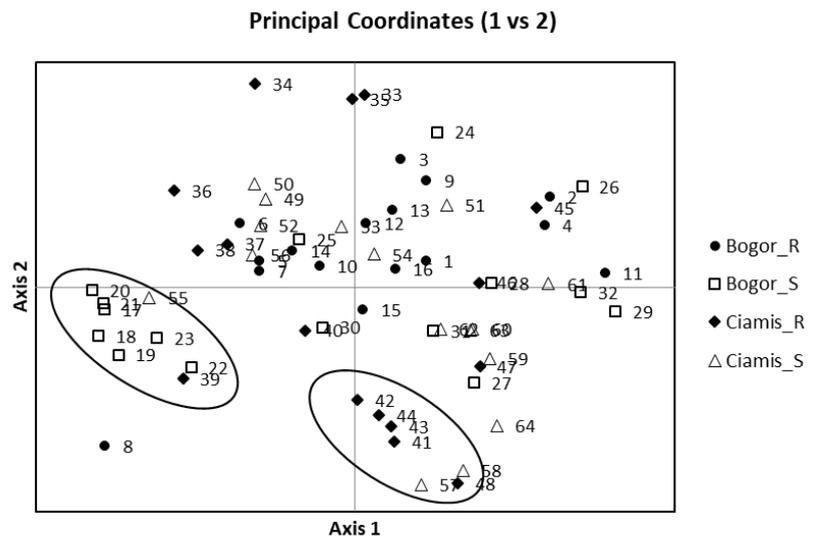


Gambar 4.4 Dendrogram jarak genetik Nei (1972) populasi berdasarkan penanda AFLP



Gambar 4.5 Hasil analisis STRUCTURE dengan penanda AFLP

Hasil analisis *Principal Coordinate* menunjukkan bahwa tidak banyak individu yang terkelompokkan (Gambar 4.6). Hanya terdapat dua kelompok yang terdiri dari kurang dari sepuluh individu pada masing-masing kelompok. Kelompok pertama terdiri dari tujuh aksesori yang berasal dari populasi Bogor_S, satu aksesori berasal dari populasi Ciamis_S, dan satu aksesori dari populasi Ciamis_R. Kelompok kedua berisi lima aksesori dari populasi Ciamis_R dan dua aksesori dari populasi Ciamis_S. Aksis-1 pada analisis *Principal Coordinate* menjelaskan 13.05% dari variabel dan aksis-2 menjelaskan 7.33% dari total variabel sehingga PCoA dapat menjelaskan 20.38% dari total variabel. Kedua aksis tersebut memiliki *eigen value* yang paling tinggi dibanding aksis lainnya.



Gambar 4.6 Hasil PCoA dengan penanda AFLP

4.3.3. Analisis dengan Gabungan RAPD dan AFLP

Penggabungan penanda RAPD dan AFLP memberikan hasil yang tidak jauh berbeda dengan hasil analisis masing-masing penanda pada variabilitas genetik. Nilai H_e berkisar antara 0.17 hingga 0.212 dengan nilai tertinggi pada populasi Bogor_S. Sementara itu nilai indeks informasi Shannon berada pada kisaran sedang dengan rentang nilai 0.278–0.338. Diferensiasi genetik berada

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

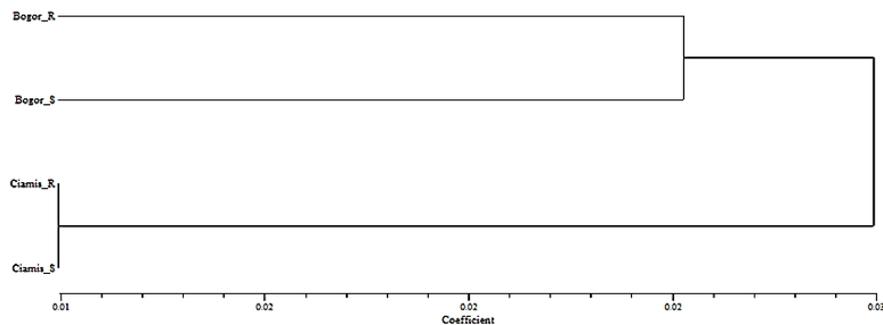
pada kisaran yang sama yaitu 7.15%. Hasil analisis variabilitas genetik disajikan pada Tabel 4.9.

Tabel 4.9 Variabilitas genetik berdasarkan Gabungan RAPD dan AFLP

Populasi	Na	Ne	I	He	PLP	Gst
Bogor_R	1.472	1.284	0.281	0.177	70.19%	
Bogor_S	1.770	1.340	0.338	0.212	86.96%	
Ciamis_R	1.404	1.289	0.282	0.180	67.08%	
Ciamis_S	1.466	1.276	0.278	0.175	70.81%	
Total	1.528	1.297	0.295	0.186	73.76%	0.0715

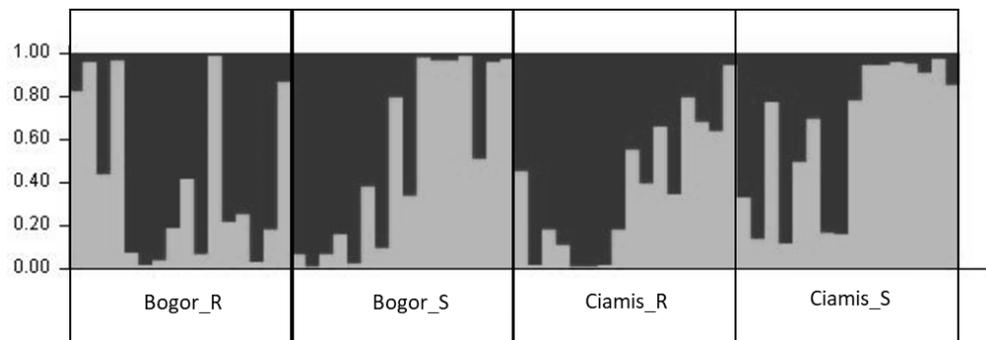
te: Na=Jumlah alel, Ne=Jumlah alel efektif, I=Shannon Index, He= Indeks rata-rata keragaman gen, PLP= Persentase lokus polimorfik, Gst = Koefisien diferensiasi genetik

Analisis jarak genetik menunjukkan gabungan kedua penanda mampu memisahkan aksesori dari dua region. Populasi dari region Ciamis memiliki jarak genetik yang lebih kecil (0.0137) jika dibandingkan dengan populasi dari region Bogor (0.0233). Jarak genetik antar populasi tersebut divisualisasikan dengan dendrogram yang disajikan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Dendrogram jarak genetik Nei (1972) populasi berdasarkan gabungan penanda RAPD dan AFLP

Analisis struktur populasi menghasilkan dua pola genetik dominan (K) yang ditunjukkan dengan warna Hitam dan Abu-abu (Gambar 4.8). Populasi Bogor_S memiliki kemiripan pola dengan populasi Ciamis_S. Populasi Ciamis_R memiliki pola yang agak mirip dengan populasi Ciamis_S dan Bogor_S, sementara populasi Bogor_R memiliki pola yang berbeda dari ketiga populasi lainnya



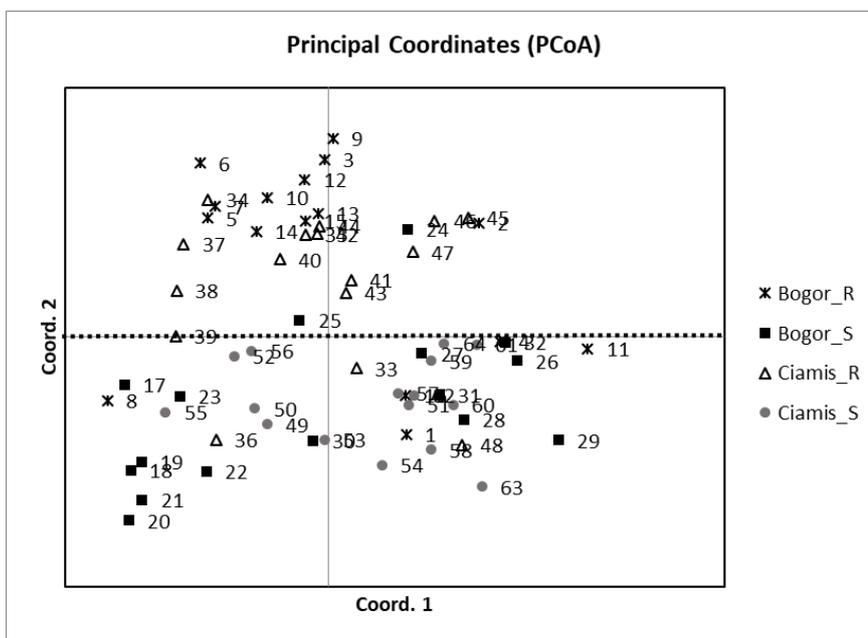
Gambar 4.8 Hasil analisis *STRUCTURE* dengan gabungan RAPD dan AFLP

Hasil PCoA menunjukkan bahwa sebagian besar aksesi yang tidak terserang karat tumor berada di atas aksis 2 sementara sebagian besar aksesi yang terserang karat tumor berada di bawah aksis 2. Tidak terdapat perbedaan pengelompokan aksesi terserang dan tidak terserang berdasarkan region Bogor maupun Ciamis. Axis 1 menjabarkan 8.58% dari total variabel sementara axis 2 menjelaskan 6.44% dari total variabel sehingga jumlah variabel yang mampu dijabarkan oleh plot PCoA sebesar 15.02%. Plot PCoA disajikan pada Gambar 4.9. Sementara itu, variasi molekuler (Tabel 4.10) menunjukkan bahwa nilai Fst antar dan dalam populasi berada pada rentang moderat. Variasi tertinggi terdapat pada variasi dalam populasi yaitu sebesar 94%.

Tabel 4.10 Hasil AMOVA gabungan RAPD dan AFLP

Sumber variasi	df	SS	MS	Est. Var.	Φ -stat	P-value
Antar region	1	27.891	27.891	0.000	-0.019	0.9980
Antar populasi	2	80.031	40.016	1.299	0.063	0.0001
Dalam populasi	60	1153.563	19.226	19.226	0.046	0.0001
Total	63	1261.484		20.525		

*tidak signifikan, df= derajat bebas, SS=Jumlah Kuadrat, MS= Kuadrat Tengah, Est. Var = perkiraan Variasi.



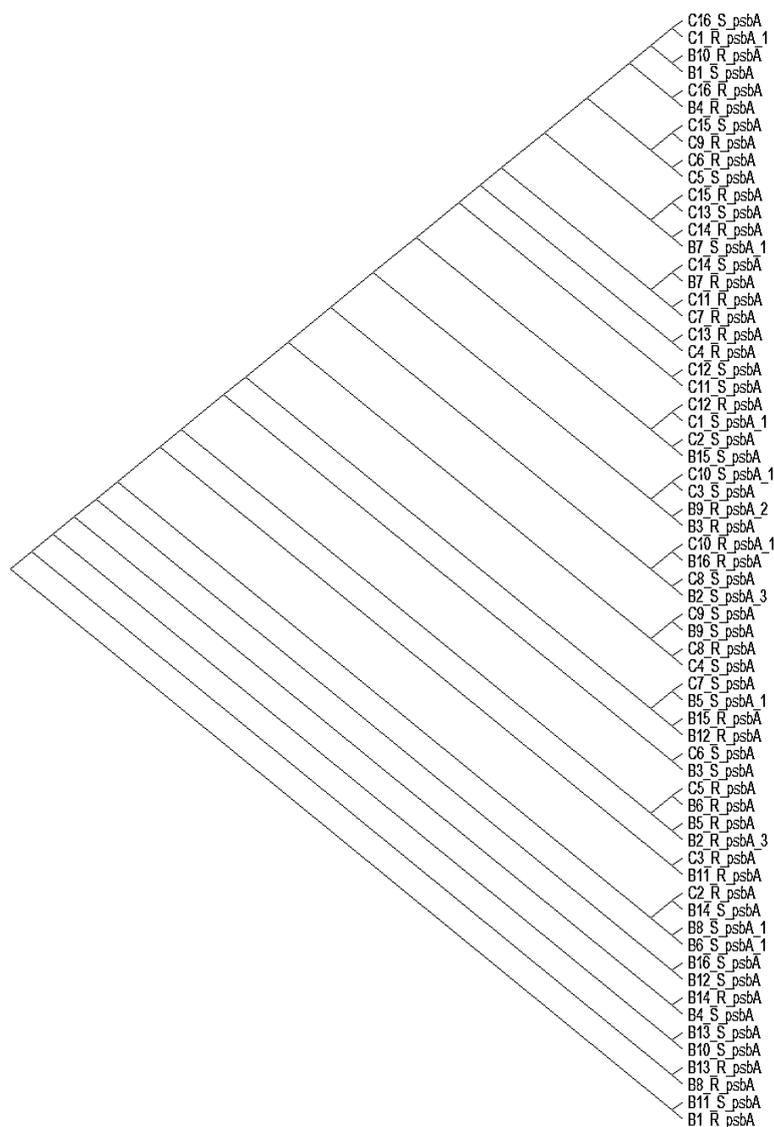
Gambar 4.9 Hasil analisis PCoA dengan gabungan penanda RAPD dan AFLP

4.3.4. Analisis cpDNA

Produk PCR yang dihasilkan menggunakan penanda *psbA-trnH intergenic spacer* memiliki ukuran 457–462 bp dengan rata-rata kandungan GC sebesar 27.7%. Gao *et al.* (2013) menyatakan bahwa ukuran rata-rata hasil PCR *psbA-trnH intergenic spacer* pada tanaman dari famili Fabaceae berada pada kisaran 249–515 bp. Sekuen yang diperoleh kemudian di-BLAST pada database NCBI menggunakan fitur blastn dan diperoleh sekuens sengan memiliki kemiripan yang tinggi dengan spesies-spesies lain dalam famili Fabaceae, terutama yang termasuk dalam *clade* Caesalpinioideae. Sekuens daerah *psbA-trnH intergenic spacer* sengan dalam penelitian ini merupakan

yang pertama diunggah di GenBank dan dapat diakses dengan nomer akses LC456638.1 sampai LC456701.1.

Analisis menggunakan model Tamura-3-parameter menunjukkan bahwa tidak ada jarak genetik antar individu, populasi, dan region. Dendrogram (Gambar 4.10) menunjukkan individu-individu sengan tidak membentuk pengelompokan tertentu. Selanjutnya, dari 64 akses, hanya terdapat satu individu yang memiliki perbedaan insersi satu basa (B3_R, individu tidak terserang karat tumor dari Bogor). Berdasarkan analisis keragaman, dari seluruh akses hanya terdapat satu haplotipe (Keragaman haplotipe $H_d=0.00$). Analisis InDel menunjukkan hanya ada satu InDel yang terdeteksi dengan nilai keragaman InDel sebesar 0.031 sehingga terdapat dua haplotipe InDel. Perbedaan InDel disajikan pada Tabel 4.11. Insersi yang terjadi pada akses B3_R yaitu penambahan basa sitosin (C) pada nukleotida nomor 85.

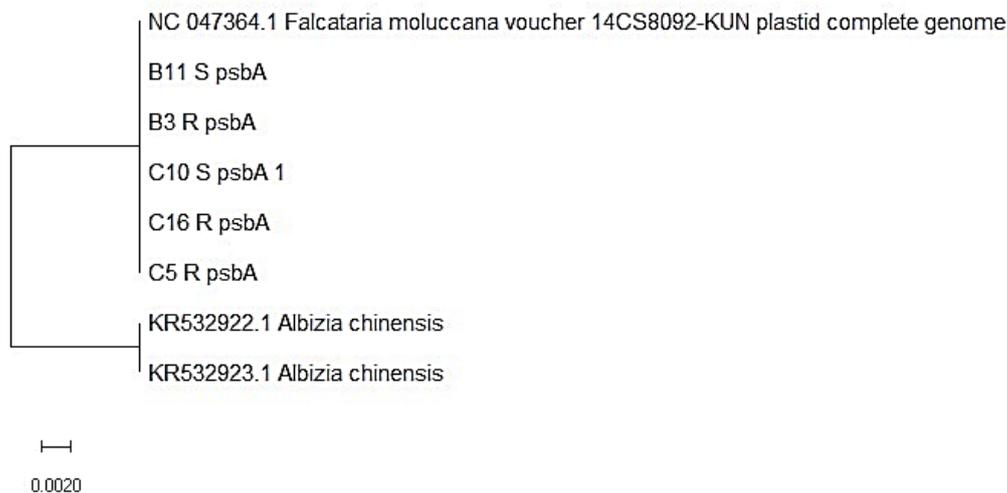


Gambar 4.10 Dendrogram sengan berdasarkan sekuens daerah *psbA-trnH* intergenic spacer

Tabel 4.11 Polimorfisme InDel pada sekuen *psbA-trnH intergenic spacer* sengon

Aksesi	Nomor situs																			
	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
C15_R	A	T	A	A	T	T	A	A	T	-	T	T	A	T	T	G	T	T	C	T
C6_S	A	T	A	A	T	T	A	A	T	-	T	T	A	T	T	G	T	T	C	T
B12_R	A	T	A	A	T	T	A	A	T	-	T	T	A	T	T	G	T	T	C	T
B3_S	A	T	A	A	T	T	A	A	T	-	T	T	A	T	T	G	T	T	C	T
B3_R	A	T	A	A	T	T	A	A	T	C	T	T	A	T	T	G	T	T	C	T

Hasil analisis jarak genetik antara sekuens sengon dengan sekuens *A. chinensis* menunjukkan sengon yang sampelnya diambil untuk penelitian ini sebagai aksesi semuanya merupakan jenis sengon yang sama yaitu *Falcataria moluccana* dan terpisah dengan *A. chinensis* (Gambar 4.11). Sengon yang diambil sebagai pembandingan bervariasi dari Bogor dan Ciamis serta aksesi yang terserang dan tidak terserang karat tumor, termasuk aksesi B3_R yang memiliki satu situs InDel. Jarak genetik antara sengon dengan *A. chinensis* berdasarkan region *psbA-trnH intergenic spacer* sebesar 0.017.



Gambar 4.11 Dendrogram sengon dan sengon merah berdasarkan sekuen daerah *psbA-trnH intergenic spacer*

Analisis keragaman menunjukkan dari 380 situs sekuens, sebanyak enam situs pada sekuens *A. chinensis* memiliki perbedaan basa dengan sekuens sengon pada region *psbA-trnH intergenic spacer*. Selain itu, terdapat 21 *gaps* pada *alignment* sekuen *A. chinensis* dan sengon. Analisis InDel menunjukkan terdapat lima situs InDel dengan nilai keragaman InDel 2.190 dan rata-rata panjang InDel 3.550. Analisis haplotipe menunjukkan terdapat dua haplotipe dengan nilai keragaman (Hd) sebesar 0.476. Polimorfisme antar aksesi disajikan pada Tabel 4.12.

Tabel 4.12 Polimorfisme daerah *psbA-trnH intergenic spacer* pada sengon dan sengon merah

Aksesi	Nomor Situs																																		
	1	46	50	53	150	152	153	154	155	156	157	198	202	203	204	205	206	207	238	261	319	339	345	346	347	348	349	350							
B11_S	T	T	-	A	G	T	A	A	G	A	A	C	T	T	T	T	T	T	T	T	-	A	G	-	-	-	-	-	-						
B3_R	T	T	C	A	G	T	A	A	G	A	A	C	T	T	T	T	T	T	T	T	-	A	G	-	-	-	-	-	-						
C10_S	T	T	-	A	G	T	A	A	G	A	A	C	T	T	T	T	T	T	T	T	-	A	G	-	-	-	-	-	-						
C16_R	T	T	-	A	G	T	A	A	G	A	A	C	T	T	T	T	T	T	T	T	-	A	G	-	-	-	-	-	-						
C5_R	T	T	-	A	G	T	A	A	G	A	A	C	T	T	T	T	T	T	T	T	-	A	G	-	-	-	-	-	-						
KR532922.1	T	G	-	C	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	C	A	C	A	G	A	A	G	G	A					
KR532923.1	T	G	-	C	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	C	A	C	A	G	A	A	G	G	A					

4.3. Pembahasan

Keragaman genetik, dalam hal ini ditunjukkan oleh nilai H_e dan indeks Shannon's I, merupakan faktor penting dalam evolusi hutan tanaman. Keragaman genetik yang tinggi merupakan sumber daya penting untuk penemuan gen-gen baru dalam menghadapi ancaman hama, penyakit, dan perubahan iklim baik yang sudah terjadi maupun yang akan datang. Patogen adalah organisme yang laju evolusinya lebih cepat dibandingkan dengan laju evolusi tanaman, sehingga bisa jadi di masa yang akan datang virulensi patogen akan lebih hebat dibanding saat ini. Oleh karena itu, keragaman genetik di hutan tanaman perlu dianalisis secara berkala untuk memperkirakan di masa yang akan datang apakah dengan jenis dan sumber material tanam yang ada akan cukup untuk menghadapi hal tersebut.

Penggunaan penanda RAPD, AFLP, dan gabungan keduanya menghasilkan nilai keragaman yang masih berada dalam rentang rendah-menengah. Dari seratus individu, kemungkinan individu yang bersifat heterozigot berkisar pada 14–24 individu. Keragaman genetik menunjukkan bahwa dalam setiap populasi, perkiraan variasi kecepatan mutasi antar lokus rendah dengan nilai indeks Shannon berkisar antara 0.231–0.370 yang berarti populasi-populasi tersebut memiliki variasi molekuler yang mirip (Weir 1990). Index Shannon I berada pada rentang 0–1 dengan nilai semakin mendekati 1 maka keragaman genetik semakin tinggi (Costa *et al.* 2011).

Studi oleh Yuskianti dan Shiraishi (2017) menunjukkan bahwa keragaman genetik sengon Jawa Barat berkisar pada 0.299 menggunakan penanda *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). Sementara itu jenis pada tanaman lain yang dikembangkan pada hutan tanaman seperti jabon (*Neolamarckia cadamba*) juga memiliki rata-rata keragaman genetik dalam populasi sebesar 0.204 (Nurtjahjaningsih *et al.* 2014). Pengembangan hutan tanaman dengan menyeleksi individu superior secara terus menerus akan berimplikasi pada terjadinya *population bottleneck* (Doebley *et al.* 2006) yang jika dilakukan secara berlebihan akan berdampak pada menurunnya variasi genetik secara drastis (Wright dan Gaut. 2005). Penurunan variasi genetik dapat diatasi dengan peningkatan keragaman genetik dengan pemuliaan modern seperti dengan melakukan *induced mutation* (Kusuma 2017).

Berdasarkan hasil AMOVA hampir tidak dapat perbedaan genetik antar region, sedangkan variasi genetik antar populasi sebesar 3–10%. Sumber keragaman terbesar yaitu variasi dalam populasi yang berkisar antara 90–97%. Variasi genetik yang lebih tinggi dari 93% dalam populasi juga ditemukan pada penelitian Fageria dan Rajora (2013) pada dua lokasi hutan tanaman *white spruce* di Saskatchewan, Kanada. Sementara itu, nilai F_{st} antar populasi dan dalam

populasi berkisar berada pada kategori rendah hingga moderat (Hartl dan Clark 1997). Penelitian Bodare *et al.* (2013) pada populasi *white cedar* yang berdekatan di Ghasts Barat, India, menunjukkan bahwa pada populasi yang berdekatan masih terdapat perbedaan genetik yang cukup kuat dengan nilai F_{st} 0.09.

Berdasarkan penanda genetik RAPD dan gabungan RAPD dan AFLP, terdapat pengelompokan parsial antara aksesi-aksesi yang terserang dan tidak terserang karat tumor. Pengelompokan parsial tersebut berbeda dengan penelitian Lelana (2018) yaitu tidak terdapat pengelompokan individu terserang dan tidak terserang karat tumor. Penelitian lain oleh Rahmawati (2017) dalam menganalisis perbedaan genetik antara sengon yang terserang dan tidak terserang karat tumor di Kediri (Jawa Timur) dan Sukabumi, Jawa Barat, menggunakan penanda SSR, menunjukkan terdapat tiga pengelompokan individu yaitu kelompok individu resisten, kelompok individu terserang, dan kelompok individu yang berisi campuran individu resisten dan terserang karat tumor. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemilihan penanda berpengaruh terhadap kemampuan memisahkan aksesi yang terserang dan tidak terserang karat tumor.

Daerah *psbA-trnH intergenic spacer* pada tanaman memiliki variasi genetik yang cukup tinggi (Du *et al.* 2011). Daerah tersebut memiliki banyak InDel dan mononukleotida yang berulang atau *homopolymer run* (Denver *et al.* 2004). Oleh karena itu daerah tersebut mampu mengidentifikasi jenis-jenis dengan kekerabatan yang cukup dekat (Kamiya *et al.* 2016). Jumlah InDel yang sangat kecil pada variasi intraspesies serta terdapat 27 situs yang berbeda ketika dibandingkan dengan sekuens *A. chinensis* menunjukkan bahwa sengon yang tidak terserang karat tumor di lapangan merupakan satu spesies yang sama dengan yang terserang karat tumor yaitu *F. moluccana*. Hasil yang diperoleh tersebut berbeda dengan penelitian lain pada tanaman kakao oleh Gutiérrez-López *et al.*, (2016), yang menunjukkan bahwa meskipun sudah dibudidayakan dalam waktu lama, terdapat 12 haplotipe yang berbeda pada tanaman kakao di Sonocusco, Meksiko.

Keragaman genetik yang tinggi merupakan salah satu potensi resistensi tanaman menghadapi laju evolusi patogen yang jauh lebih cepat. Sementara itu, erosi genetik yang merupakan efek samping dari kegiatan budidaya tanpa memperhatikan keragaman genetik akan menyebabkan hilangnya keragaman dan sifat penting, termasuk resistensi (Liu *et al.*, 2016). Sementara itu, keragaman genetik sengon di hutan tanaman khususnya di Pulau Jawa cenderung rendah (Olivia 2012; Yuskianti dan Shiraishi, 2017). Tidak adanya variasi haplotipe dan keragaman genetik yang rendah kemungkinan disebabkan oleh rendahnya keragaman genetik pada populasi asal benih yang ditanam (Akinngbe *et al.*, 2019).

4.4. Kesimpulan

Keragaman genetik dan nilai fiksasi genetik dalam populasi sengon di dua lokasi penelitian berada pada rentang rendah-menengah. Penggunaan kombinasi penanda RAPD dan AFLP mampu mengelompokkan aksesi-aksesi yang terserang karat tumor dan yang tidak terserang berdasarkan PCoA. Analisis struktur populasi menunjukkan perbedaan genetik antara populasi terserang dan tidak terserang yang paling nyata ditunjukkan oleh penanda RAPD. Daerah *psbA-trnH intergenic spacer* pada sengon sangat *conserved* dan mampu membedakan sengon dengan sengon merah yang morfologinya mirip.

V ANALISIS TRANSKRIPTOM DENGAN NGS DAN PERBEDAAN EKSPRESI GEN TERKAIT SERANGAN PENYAKIT KARAT TUMOR

5.1. Pendahuluan

Perkembangan biologi molekuler, didukung oleh bioinformatika yang semakin maju, dapat digunakan untuk memahami mekanisme molekuler dan genetika yang mendasari proses-proses yang terjadi pada dalam tumbuhan. Metode molekuler seperti *next-generation sequencing* (NGS) telah digunakan pada DNA genomik dan RNA transkriptomik dalam beberapa penelitian untuk menentukan fungsi putatif pada gen berdasarkan homologinya (Caldas *et al.* 2016, Khorramdelazad *et al.* 2018, Munch *et al.* 2018).

RNA-seq yaitu sekuensing RNA yang terbentuk dari aktivitas seluler dengan menggunakan teknologi sekuensing paralel yang masif seperti Roche 454 dan Illumina. RNA-seq dapat menunjukkan gen-gen putatif yang terekspresi pada jaringan tertentu, seperti kambium tanaman sengon yang terinfeksi karat tumor. RNA-seq dapat menghasilkan gambaran secara utuh transkriptom pada suatu waktu dan kondisi tertentu pada jaringan yang digunakan dan dapat digunakan untuk mengkarakterisasi dan mengkuantifikasi ekspresi gen (Wong *et al.* 2011, Song *et al.* 2016, Shih *et al.* 2018). RNA-seq dapat digunakan pada jenis-jenis non-model yang belum memiliki *reference genome* dengan metode *De Novo* (Unamba *et al.* 2016). Penggunaan RNA-seq pada pohon komersial di Indonesia belum banyak dilakukan untuk mendukung program pemuliaan ataupun kegiatan sejenis. Sementara itu, penggunaan penanda molekuler dalam pemuliaan sengon selama ini masih banyak menggunakan penanda berbasis fragmen yang belum diketahui secara jelas apakah terpaut atau tidak dengan gen-gen tertentu yang mengkode ketahanan atau kerentanan sengon terhadap karat tumor. Oleh karena itu, perlu diketahui terlebih dulu gen-gen apa yang terkait dengan kerentanan dan ketahanan sengon terhadap karat tumor untuk pengembangan penanda molekuler yang spesifik.

Penelitian ini bertujuan untuk membuat referensi transkriptom dan menganalisis perbedaan ekspresi gen-gen kandidat antara jaringan kayu yang terserang karat tumor dan yang berada di sekitar karat tumor serta menganalisis transkriptom pada jaringan karat tumor di daun dan batang sengon.

5.2. Bahan dan Metode

Analisis NGS dilakukan dengan dua tahap. Yang pertama yaitu NGS untuk sepasang sampel dari kayu pohon yang sehat dan kayu yang berada 10 cm dari karat tumor. Kedua pohon tersebut harus benar-benar berdekatan di lapangan. Sampel kayu diambil dan dipreservasi dalam nitrogen cair. Sampel kemudian dikirim ke Beijing Genomic Institute (Hongkong). Ekstraksi RNA dilakukan dengan metode CTAB-pBIOZOL (BGI 2016). RNA hasil ekstraksi diuji kualitas dan integritasnya menggunakan NanoDrop ND-1000 spectrophotometer dan Agilent 2100 Bioanalyzer. Proses sekuensing dilakukan dengan alat BGISEQ-500.

Tahap kedua yaitu dilakukan dari masing-masing dua sampel tumor yang berasal dari jaringan daun dan batang dari tanaman sengon di lapangan. Sampel tumor dipreservasi dalam tube berisi larutan RNA later (Invitrogen) sampai saat

ekstraksi. Proses ekstraksi RNA dilakukan dengan kit *GeneAid plant total RNA minikit*. Hasil ekstraksi kemudian dielektroforesis pada agarose 1% untuk melihat kualitas RNA. Selain itu, uji kualitas juga dilakukan dengan Implen Nanophotometer NP80 (Implen GmbH, Munich, Germany) dan Agilent 2100 Bioanalyzer. RNA hasil ekstraksi kemudian dikirim ke Novogen Hongkong. Proses sekuensing dilakukan dengan alat Illumina HiSeq 4000.

Pengolahan data hasil NGS dilakukan dengan beberapa tahap: 1) *Quality Control* dan pra-pengolahan data, 2) *De Novo Assembly*, 3) mensejajarkan hasil *reads* ke transkriptom *reference*, 4) *Annotation*, dan 5) *Differential expression analysis* (Korpelainen *et al.* 2014). *Quality control* dilakukan untuk menghilangkan basa-basa dengan *low confidence*, bias sekuens, bias posisi nukleotida ujung 3'/5', residu PCR, adapter yang belum dihilangkan, dan kontaminasi sekuens. *Quality control* dan pra proses data dilakukan dengan perangkat lunak FastQC (Andrews 2010) dan Trimmomatic (Bolger *et al.* 2014).

De Novo assembly dilakukan jika sekuens yang diperoleh belum memiliki *reference genome*. *De Novo Assembly* akan dilakukan menggunakan perangkat lunak Trinity v.2.3.2 (Grabherr *et al.* 2013) dengan parameter *default* dan panjang minimum 200 bp. Untuk mengurangi kelompok transkrip hampir sama dan memperoleh *contig* yang lebih lengkap, *contig-contig* yang terbentuk kemudian di-*reassembly* menggunakan perangkat lunak CAP3 (Huang dan Madan 1999) dan CD-HIT-EST (Li dan Godzik 2006) dengan *identity threshold* 90% untuk menghilangkan *contig-contig* yang ambigu. *Contig-contig* yang terbentuk kemudian di filter dan diklasterisasi kembali menggunakan perangkat lunak Corset dengan nilai ekspresi dalam *Counts per Million* (CPM) >1 (Davidson dan Oshlack 2014). Hasil *reads* yang sudah terkuster tersebut disejajarkan dengan *reference* menggunakan Bowtie2 (Langmead dan Salzberg 2012).

Contig yang diperoleh tersebut kemudian dibandingkan atau dianotasikan dengan sekuens dari beberapa basis data antara lain *non-redundant protein* (nr) NCBI dan SwissProt menggunakan algoritma *Basic Local alignment Search Tools* (BLAST) dengan *cut-off E-value* 1E-5 (Altschul *et al.* 1990). Identifikasi kemiripan sekuens dari beberapa *contig* dalam grup yang homolog dan deteksi *contig* dengan *Open Reading Frames* (ORFs) dilakukan dengan perangkat BLASTX pada *NCBI ORF Finder*. Analisis *Gene Ontology* dan *KEGG pathway* dilakukan menggunakan perangkat lunak Blast2GO (Conesa *et al.* 2005, Götze *et al.* 2008).

Analisis *differential expression gene* (DEG) yaitu analisis untuk mengidentifikasi kandidat gen-gen yang diekspresikan secara signifikan pada jaringan sengan yang terserang dan tidak terserang karat tumor. Nilai ekspresi gen dinyatakan dalam *Counts per million reads* (CPM). Semakin tinggi nilai CPM maka semakin tinggi nilai ekspresi gen tersebut. Kriteria penetapan DEG adalah dengan nilai *log Fold Change* (FC) sebesar ≥ 2 dan nilai peluang relatif (p) < 0.05 . Nilai $\log FC \geq 2$ artinya adalah nilai $\log CPM$ gen yang akan dibandingkan adalah ≥ 2 x lebih tinggi atau lebih rendah dibandingkan dengan gen pembanding. Analisis DEG dilakukan dengan *package edgeR* pada *R statistical software* (Robinson *et al.* 2010).

5.3. Hasil

5.3.1. Hasil NGS Kayu dari Sengon Sehat dan Terserang Karat Tumor

Proses sekuensing berhasil dilakukan dengan hasil yang dapat dilihat pada Tabel 5.1. Selain hasil reads dari individu terserang dan tidak terserang, dilakukan juga penggabungan atau *merge* terhadap *reads* kedua individu. Program Trinity menyusun *reads* dengan panjang tertentu dari *overlap* untuk membentuk fragmen yang lebih panjang tanpa basa ambigu N yang disebut *contig*. *Contig-contig* tersebut kemudian diproses lebih lanjut dengan *clustering* untuk membentuk *contig* dengan kualitas tinggi (*unigene*) (Shu *et al.* 2013). RNA-seq dilakukan dengan platform BGISEQ-500 melalui tahapan *library construction* yang berbeda dengan platform lain. Pada BGISEQ-500, *library* berbentuk siklik utas yang kemudian diubah menjadi DNA *nanoball* (DNB) untuk proses selanjutnya (Huang *et al.* 2017).

Tabel 5.1 Hasil *reads* dan *assembled contigs* kayu sengon

Features	Jumlah		
	Terserang	Tidak terserang	Merged
Reads			
- Jumlah reads	79 050 000	79 040 000	158 090 000
	7 910 000	7 900 000	
- Jumlah basa	000	000	15 810 000 000
Transkrip			
- Jumlah transkrip	380 032	118 171	400 633
		114 550	
- Jumlah basa	278 860 152	451	325 278 365
- Kisaran panjang	201–17 824	201–8 098	201–12 634
- Rata-rata jumlah basa	733.78	969.36	811.91
- N50	1 324	1 439	1 521
- GC contents (%)	40.1	40.6	39.8
Contigs			
- Jumlah contig	72 968	41 332	70 089
- Jumlah basa	100 689 847	57 231 623	115 068 922
- Kisaran panjang	201–21 986	201–8 098	181–15 997
- Rata-rata jumlah basa	733.78	1 385	1 641
- N50	1 074	1 243	1 382
- GC contents (%)	41.1	40.8	40.6

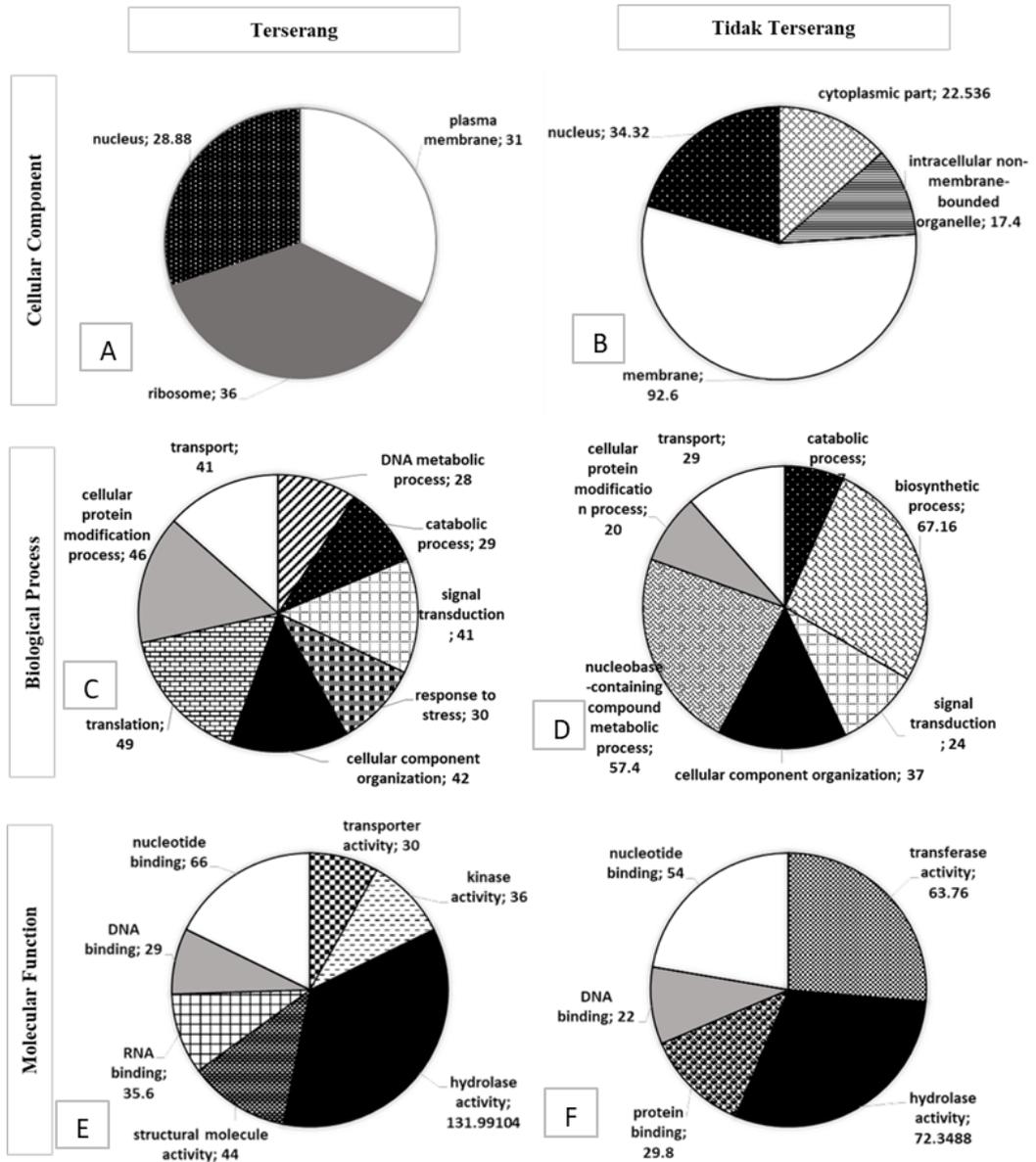
Contig yang sudah terbentuk dari hasil *assembly* kemudian dianalisis lebih lanjut dengan melakukan anotasi pada database Nr NCBI, TrEMBL. Untuk analisis *gene ontology*, dan KEGG *pathway*; contig yang digunakan merupakan contig hasil *merge* yang sudah dianotasikan pada database Nr NCBI. Hasil anotasi dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 *Functional annotation* dari *Contig* kayu sengon

Sumber	Jumlah (%)		Merged
	Terserang	Tidak terserang	
Jumlah contig Database:	72 968	41 332	70 089
Nr NCBI	-	-	68 927 (98.34)
Nt NCBI	61 213 (83.89)	37 986 (91.90)	62 880 (89.71)
SwissProt	40 694 (55.76)	25 633 (62.02)	42 783 (61.04)
TrEMBL	-	-	58 593 (83.59)
Gene ontology	-	-	17 134 (24.45)
KEGG	-	-	3 256 (4.65)

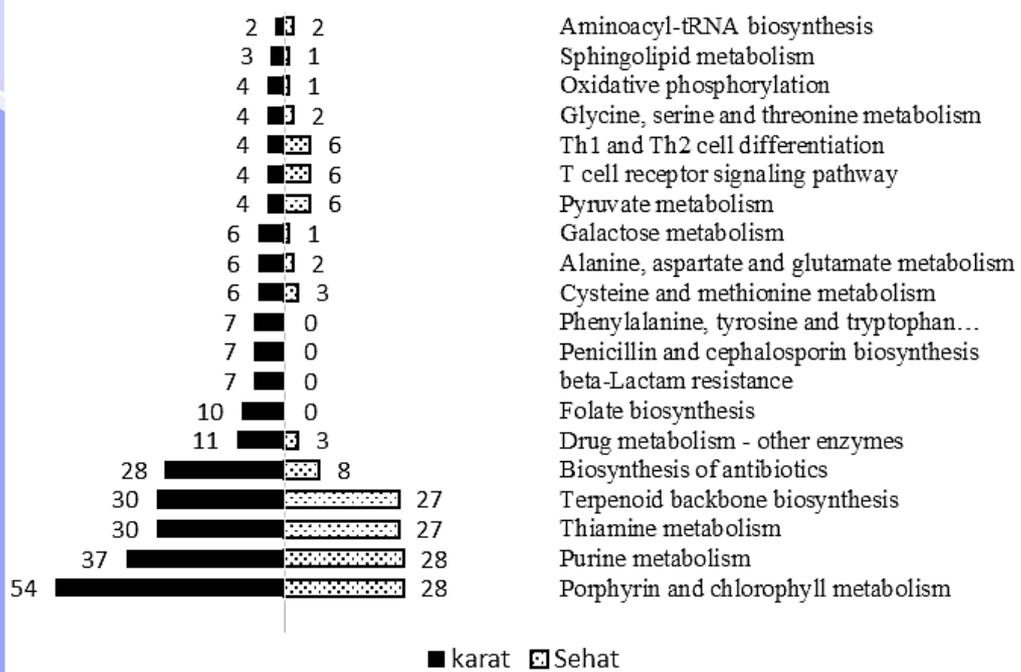
Analisis gen ontologi mengklasifikasikan gen-gen tersebut ke dalam tiga kategori ontologi: proses molekuler, proses biologi, dan lokasi seluler yang disajikan pada Gambar 1. Hasil analisis KEGG *pathway* menunjukkan beberapa perbedaan *pathway* yang dihasilkan oleh contig-contig dari kedua individu. Terdapat 40 kejadian proses seluler yang berbeda pada kedua individu yaitu ada proses yang terjadi pada satu individu dan pada individu lainnya tidak atau jumlah enzim yang terlibat dalam proses seluler tersebut berbeda antara kedua individu. Proses yang berbeda antara lain sintesis antibiotik, *drug metabolism*, sintesis penicillin, sintesis novobiocin, dan *beta-Lactam resistance*. Selain perbedaan jumlah enzim, hasil analisis menunjukkan jumlah *pathway* dan enzim yang sama namun memiliki berbeda jumlah sekuens seperti proses fosforilasi oksidatif, *T-cell receptor signalling pathway*, sintesis butanoate, dan sintesis Galaktosa. 20 *pathway* dengan perbedaan jumlah contig terbesar disajikan pada Gambar 5.1.

Analisis DEG dilakukan dengan membandingkan sekuens transkriptom tanaman sengon yang sehat terhadap tanaman sengon yang terserang karat tumor. Hasil analisis DEG menunjukkan terdapat 5 944 gen yang diekspresikan secara *up-regulated* dan 8 075 gen yang diekspresikan secara *down-regulated* dengan nilai absolut $\log_{FC} \geq 2$ (Gambar 5.2). Daftar 10 gen teratas yang terekspresi secara *up-regulated* dan *down regulated* disajikan pada Tabel 5.3.

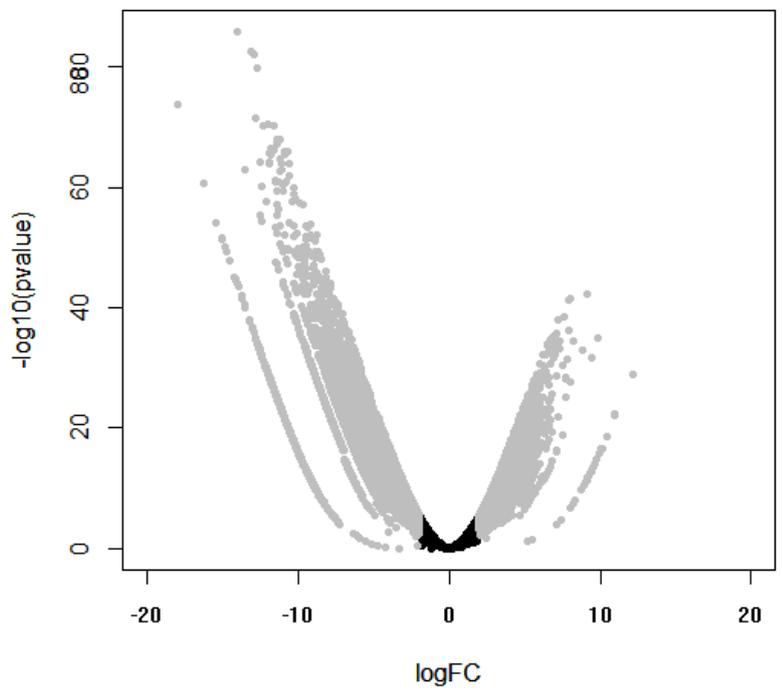


Gambar 5.1 Hasil analisis *gene ontology* kayu terserang dan tidak terserang karat tumor

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



Gambar 5.2 Top-20 Perbedaan jumlah contig terekspresi hasil analisis KEGG Pathway sengon



Keterangan: warna abu-abu menunjukkan gen yang memiliki nilai absolut logFC ≥ 2

Gambar 5.3 Volcano plot hasil analisis DEG kayu sengon

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

Tabel 5.3 Daftar 10 gen dengan ekspresi tertinggi DEG kayu tidak terserang vs terserang karat tumor

ID sekuen	logFC	FDR	Nama Gen
Up-regulated			
FalSK.97594.1.T.79583.c4.g2.i2	12.17	9.7E-28	<i>Transcription factor CPC</i>
FalSK.82701.1.T.79466.c1.g1.i4	10.96	7.7E-21	<i>Serine carboxypeptidase-like 18</i>
FalSK.95586.66090.T.88690.c1.g1.i13	10.40	2.8E-17	<i>Serine carboxypeptidase-like 18 Universal stress protein A-like protein</i>
FalSK.95586.109491.T.81468.c3.g4.i2	10.10	1.9E-15	<i>Cytochrome P450 78A5</i>
FalSK.61811.0.T.83289.c6.g2.i1	10.07	2.6E-15	<i>Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 13</i>
FalSK.95586.84704.T.84126.c0.g1.i4	9.86	1.2E-33	<i>NAD(P)H-dependent 6-deoxychalcone synthase</i>
FalSK.95586.114481.T.84961.c0.g3.i6	9.78	1.3E-13	<i>UPF0057 membrane protein</i>
FalSK.95586.114551.T.84150.c0.g3.i2	9.78	1.3E-13	<i>At2g24040</i>
FalSK.110044.1.T.78909.c1.g1.i2	9.62	9.3E-13	<i>Retrovirus-related Pol polyprotein from transposon RE1</i>
FalSK.110044.0.T.78909.c1.g1.i1	9.54	2.9E-12	<i>Retrovirus-related Pol polyprotein from transposon RE1</i>
Down-regulated			
FalSK.95586.47482.T.84387.c9.g3.i1	-16.27	2.6E-59	<i>Fasciclin-like arabinogalactan protein 12</i>
FalSK.95586.51624.T.88608.c2.g2.i11	-15.41	6.9E-53	<i>ATP synthase protein MI25</i>
FalSK.95586.43003.C22450	-14.55	2.1E-46	<i>Cytochrome c oxidase subunit 1 (Fragment)</i>
FalSK.95586.51538.T.89133.c2.g2.i2	-14.21	6.9E-44	<i>Cytochrome c oxidase subunit 1</i>
FalSK.95586.73299.C24188	-14.19	9.4E-44	<i>RNA-directed DNA polymerase homolog</i>
FalSK.95586.35682.T.89651.c2.g1.i5	-14.12	3.0E-43	<i>NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5</i>
FalSK.95586.60006.T.89651.c2.g1.i8	-14.04	1.1E-42	<i>NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 5</i>
FalSK.95586.39961.T.80573.c3.g1.i8	-13.97	3.8E-42	<i>COBRA-like protein 4</i>
FalSK.95586.49425.T.89133.c2.g1.i6	-13.53	1.1E-61	<i>Cytochrome c oxidase subunit 1</i>
FalSK.95586.58752.T.88479.c6.g3.i6	-13.03	3.4E-35	<i>Photosystem II CP47 reaction center protein</i>

Tabel 5.4 Jumlah dan motif mikrosatelit yang ditemukan dalam transkriptom kambium sengon

Motif	Jumlah Contig (persentase)	
	Terserang	Tidak terserang
Mononukleotida	15,979 (21.90)	18,786 (45.45)
Dinukleotida	7,157 (9.81)	3,879 (9.38)
Trinukleotida	3,676 (5.04)	2,258 (5.46)
Tetranukleotida	216 (0.30)	94 (0.23)
Pentanukleotida	31 (0.04)	6 (0.01)
Heksanukleotida	41 (0.06)	22 (0.05)

Analisis untuk menemukan motif-motif mikrosatelit menghasilkan jumlah proporsi motif dan jumlah yang berbeda antara contig sengon terserang dan tidak terserang karat tumor (Tabel 5.4). Motif mikrosatelit yang terbanyak

ditemukan pada sengon terserang dan tidak terserang secara berturut-turut yaitu untuk single nukleotida A₆ (2115 contig) dan T₈ (1354 contig); untuk dinukleotida yaitu (AG)₆ pada kedua tanaman (434 terserang dan 226 tidak terserang); (GAA)₅ (180 terserang dan 102 tidak terserang).

5.3.2. Hasil NGS Karat Tumor dari Daun dan Kayu Sengon

Data hasil (*RAW data*) memiliki beberapa sekuen dengan kualitas yang kurang baik sehingga perlu dilakukan *trimming*. Persentase sekuen yang dihilangkan dalam proses *trimming* yaitu 0.3-0.5% dengan sekuen yang diperoleh 99.95-99.97% dari total sekuen. Pengolahan data transkriptom dari karat tumor dilakukan secara keseluruhan atau dengan menggunakan sekuen gabungan (*merged*). Hasil sekuen dan *assembly* sekuen disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5.5 Hasil *reads* dan *assembled contigs* karat tumor

Feature	Sekuens				
	Daun 1	Daun 2	Kayu 1	Kayu 2	Merged
<i>Reads</i>					
Jumlah <i>reads</i>	62 075 986	65 045 236	65 208 176	58 893 330	
Jumlah basa (bp)	9 311 397	9 756 785	9 781 226	8 833 999	
Panjang (bp)	900	400	400	500	
GC content (%)	300	300	300	300	
Contig	45.1	46.5	46.3	46.1	
Jumlah contig					94 255
Panjang					201–22 716
Panjang rata-rata					2 072.021
GC content (%)					41.8

Contig yang terbentuk pada sekuen *merge* kemudian dianotasikan dengan *database* SwissProt (Bairoch dan Apweiler 1997) dari UniProt. Selain itu, dilakukan juga analisis dengan *database Gene Ontology dan KEGG pathway* (Kanehisa dan Goto 2000). Hasil anotasi dapat dilihat pada Tabel 6.

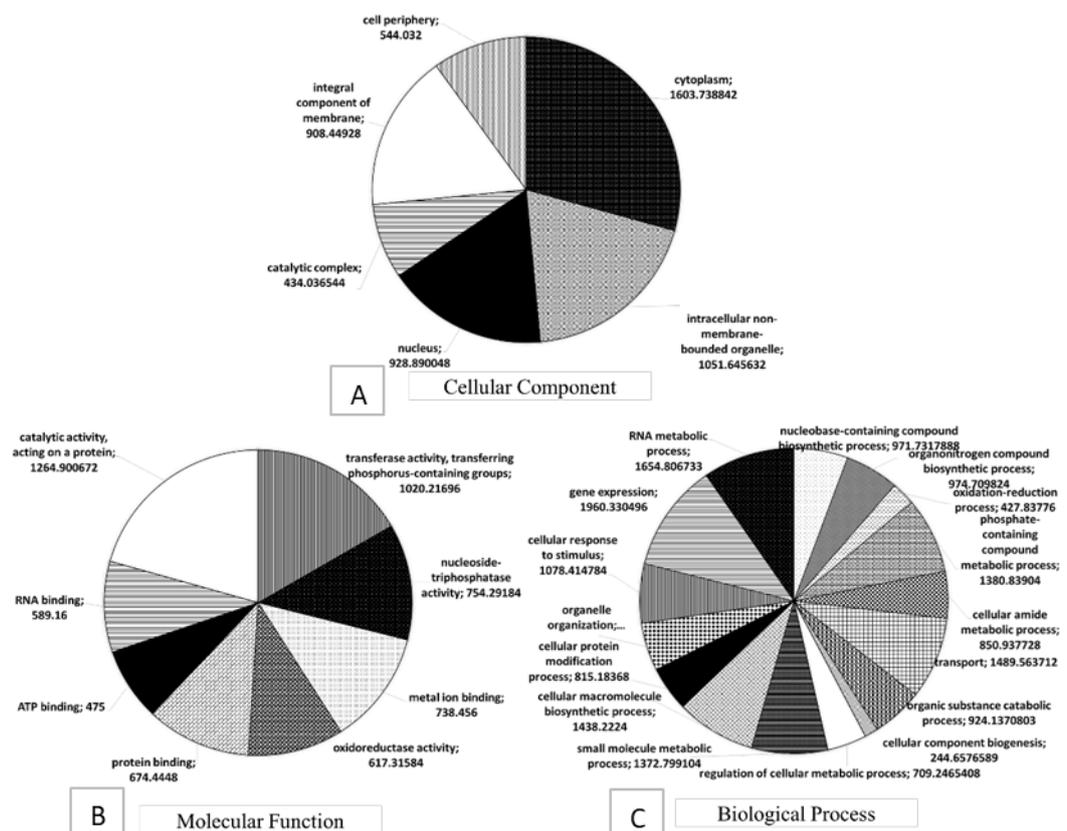
Tabel 5.6 *Functional Annotation contig* karat tumor

	Jumlah	Persentase
Contig	94 255	
Database		
- <i>SwissProt</i>	61 520	65.27
- <i>Gene ontology</i>	12 666	13.44
- <i>KEGG pathway</i>	4 641	4.92

Analisis *gene ontology* menunjukkan gen-gen yang diperoleh paling banyak berada di sitoplasma (skor GO 1603.74). Fungsi molekuler yang terbanyak ditemukan yaitu aktivitas katalitik (skor GO 1264.90). Fungsi molekuler lain yang ditemukan yaitu aktivitas oksidoreduktase (skor GO

617.32). Oksidoreduktase pada tanaman berperan dalam banyak fungsi, termasuk respon terhadap patogen (Lüthje *et al.* 1997). Pada kategori proses biologi contig-contig yang diperoleh paling banyak berperan dalam ekspresi gen (skor GO 1960.33). Selain itu, terdapat juga proses respon seluler terhadap stimulus (skor GO 1078.41). Metal ion binding (skor GO 738.46) menunjukkan adanya kompetisi antara inang dan patogen dalam menyerap metal. Pada inang, senyawa metal berperan dalam resistensi terhadap patogen (Fones dan Preston 2013). Hasil analisis *gene ontology* secara lengkap disajikan pada Gambar 5.4.

Analisis DEG dilakukan dengan membandingkan ekspresi gen pada karat tumor di daun dengan karat tumor pada kayu. Sampel yang digunakan dalam analisis DEG yaitu sampel Daun 2 dan kayu 2. Hasil analisis DEG menunjukkan terdapat 4 883 gen yang terekspresi secara *up-regulated*, 3 609 gen yang terekspresi secara *down-regulated*, dan 53 030 yang terekspresi secara tidak signifikan (nilai absolut $\log_{2}FC \leq 2$). Hasil DEG disajikan pada Gambar 5.5. Sepuluh gen dengan ekspresi paling besar, baik secara *down-regulated* maupun *up-regulated* disajikan pada Tabel 5.7.



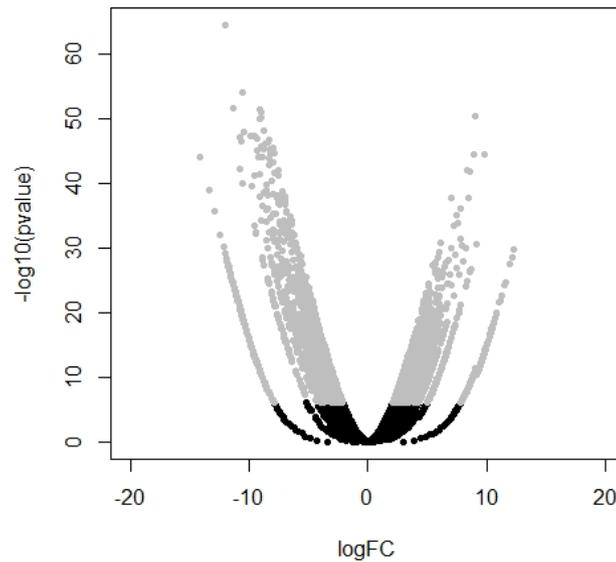
Gambar 5.4 Hasil analisis *gene ontology* karat tumor

Tabel 5.7 Daftar 10 gen dengan ekspresi tertinggi DEG tumor di daun vs kayu

ID sekuen	logFC	FDR	Nama Gen
Down-regulated			
Fm170150.37989.T.115515.c0g1i6	-14.08	4.2E-40	<i>Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5</i>
Fm170150.62813.T.115909.c1g2i2	-13.37	7.4E-35	<i>Anthocyanin regulatory C1 protein</i>
Fm170150.88424.T.115909.c1g2i1	-13.36	7.9E-35	<i>Anthocyanin regulatory C1 protein</i>
Fm170150.33595.T.125735.c4g2i1	-12.92	1.3E-31	<i>Putative F-box/LRR-repeat protein At5g54820</i>
Fm170150.26211.T.128225.c0g1i3	-12.41	6.5E-28	<i>Patatin-like protein 2</i>
Fm124744.1.T.112149.c0g1i2	-12.15	4.8E-26	<i>Cytokinin dehydrogenase 3</i>
Fm170150.70644.T.124396.c1g5i2	-12.04	2.0E-60	<i>Inhibitor of trypsin and hageman factor</i>
Fm12233.0.T.106922.c0g1i1	-12.01	4.5E-25	<i>Superoxide dismutase [Cu-Zn] ATP synthase subunit alpha, mitochondrial</i>
Fm170150.150261.T.108582.c1g3i1	-11.89	3.0E-24	<i>Cold-responsive protein kinase 1</i>
Fm170150.119442.T.92031.c0g2i1	-11.89	3.2E-24	<i>1</i>
Up-regulated			
Fm170150.71692.Fm195586.92343.T.58420.c0g2i1	12.29	9.8E-26	<i>Transcription factor UPBEAT1</i>
Fm44288.2.Fm1113171.0.T.80273.c2g2i3	12.13	1.4E-24	<i>Ribonuclease 3</i>
Fm170150.74932.T.128668.c0g3i1	11.97	1.6E-23	<i>Retrovirus-related Pol polyprotein from transposon RE2</i>
Fm170150.94017.T.124286.c0g3i1	11.57	1.1E-20	<i>Transcription factor MYB41</i>
Fm25315.0.T.125928.c0g1i1	11.49	3.6E-20	<i>Putative ribonuclease H protein At1g65750</i>
Fm88263.0.T.122104.c0g1i1	11.25	1.4E-18	<i>Pectinesterase 3</i>
Fm170150.98825.T.128726.c0g9i2	11.13	8.7E-18	<i>Isoform 2 of (S)-2-hydroxy-acid oxidase GLO1</i>
Fm170150.8904.Fm173583.0.T.86144.c6g2i14	11.11	1.1E-17	<i>Monothiol glutaredoxin-S2</i>
Fm170150.150781.T.125996.c5g12i1	11.09	1.6E-17	<i>Salicylic acid-binding protein 2</i>
Fm53246.1.Fm154062.1.T.79557.c8g4i3	10.85	5.7E-16	<i>Expansin-B3</i>

@Hak cipta milik IPB University

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



Keterangan: warna abu-abu menunjukkan gen yang memiliki nilai absolut $\log_{FC} \geq 2$

Gambar 5.5 *Volcano plot* DEG karat tumor

5.4. Pembahasan

Transkriptom atau RNA adalah hasil transkripsi dari DNA yang terekspresi baik konstitutif maupun diinduksi. Transkrip-transkrip tersebut mengkode gen-gen yang berperan dalam metabolisme tanaman. Proses transkripsi terdiri dari beberapa tahap yaitu penempelan *RNA polymerase*, pemutusan ikatan hidrogen DNA, penempelan nukleotida RNA, penempelan RNA *backbone*, dan pemutusan ikatan hidrogen antara DNA dan RNA. Proses transkripsi RNA dilakukan hanya jika ada kebutuhan. RNA yang sudah terbentuk dapat tetap tinggal di nukleus atau berpindah ke sitoplasma.

Transkriptom yang sudah di-*assembly* mengkode gen yang dibutuhkan oleh tanaman pada kondisi saat sebelum ekstraksi sampel, dalam hal ini gen yang berperan dalam resistensi dan kerentanan senagon terhadap karat tumor. Contig tersebut kemudian di-homologkan pada *database* untuk mengetahui gen apa saja yang terekspresi. Database *non-redundant* (nr) pada NCBI adalah database yang tidak memiliki sekuens yang terduplikasi, baik yang berasal dari data yang diunggah secara bebas maupun yang dikurasi oleh pengelola NCBI (RefSeq). Total contig yang berhasil dipetakan pada database nr NCBI, database protein yang terlengkap saat ini, dari *merged* contig sebanyak 98.34% dengan jumlah *hits* 56.726. Database nt merupakan kumpulan sekuens dari beberapa sumber termasuk GenBank, RefSeq, *Third Party Annotation* (TPA), dan *Protein Data Bank* (PDB). TrEMBL atau *Translated EMBL*, merupakan *database* protein yang merupakan bagian dari Uniprot yang di-*generate* oleh komputer berdasarkan informasi genetik dari database sekuens nukleotida yang terdapat pada *European Molecular Biology Laboratory* (EMBL). SwissProt sendiri merupakan *database* sekuens protein dengan tingkat anotasi yang tinggi (termasuk deskripsi fungsi protein, struktur, modifikasi post-translasi, variasi, dll.) yang telah dikonfirmasi dengan tingkat redundansi yang rendah dan terintegrasi dengan baik dengan *database* yang lain (Bairoch *et al.* 2005). Analisis *gene ontology* bertujuan untuk mengetahui fungsi molekuler dari gen, proses biologi yang terjadi, dan lokasi sintesis kelompok gen tersebut. Database KEGG *pathway* adalah salah satu bagian

dari KEGG database yang berisi kumpulan peta *pathway* yang merepresentasikan interaksi molekuler dalam proses metabolisme, proses informasi genetik, proses informasi lingkungan, proses seluler, sistem organisme, penyakit, dan pembuatan obat-obatan. KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) adalah database yang berisi data-data terkait *high-level function* dan kegunaan suatu sistem biologi seperti sel, organisme, dan ekosistem berdasarkan informasi molekuler khususnya dataset besar hasil sekuensing.

Pada tanaman terserang, aktivitas enzim-enzim hidrolase dalam proses molekuler lebih tinggi dibandingkan tanaman yang tidak terserang. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Chenault *et al.* (2002) yang menunjukkan peningkatan aktivitas enzim *hydrolase* pada tanaman kacang transgenik saat terinfeksi beberapa cendawan karena beberapa jenis *hydrolase* berfungsi untuk mendegradasi dinding sel cendawan. Selain itu, terdapat peningkatan aktivitas transporter pada jaringan tanaman yang terserang seperti pada penelitian Sutton *et al.* (2007) yang menunjukkan peningkatan aktivitas transporter pada jaringan tanaman gandum yang terserang embun tepung akibat peningkatan suplai gula ke jaringan patogen. Pada proses biologi, terdapat peningkatan aktivitas gen-gen yang terkait dengan respon terhadap stres, modifikasi seluler, dan *signal transduction* pada tanaman yang terserang karat tumor. Hal tersebut juga terjadi pada penelitian Kim *et al.* (2004) terkait modifikasi seluler pada buah cabai yang terinfeksi cendawan *Coellethricum*.

Merujuk pada *database* Uniprot (The Uniprot Consortium 2019), beberapa gen dari daftar gen yang terekspresi secara *up-regulated* dan *down-regulated* tersebut sudah diketahui memiliki fungsi tertentu dalam proses kejadian maupun resistansi patogen pada tanaman. *Transcription factor CPC* memiliki peran dalam respon terhadap asam jasmonat dan asam salisilat yang merupakan senyawa respon terhadap serangan penyakit (Yanhui *et al.* 2006). *Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 13* berperan dalam *signaling pathway* dari asam jasmonat (Jeong *et al.* 2017). Selain gen-gen tersebut, ditemukan juga gen-gen lain yang termasuk gen yang berperan penting dalam resistensi tanaman terhadap patogen yaitu *Leucine Rich repeat* (LRR) (Swiderski *et al.* 2009), beberapa *disease resistance protein*, dan beberapa *Transcription Factor* (TF) seperti WRKY (Pandey dan Somssich 2009) dan *Ethylene Responsive* (McGrath *et al.* 2005). Sementara itu, gen *NADH-ubiquinone oxidoreductase* (NUOR) dalam penelitian Kant *et al.* (2019) merupakan factor yang meningkatkan kerentanan tanaman dari genus *Solanum* terhadap patogen *Rhizoctonia solani*.

Selain daftar gen yang terekspresi, ditemukan juga situs-situs mikrosatelit atau *simple sequence repeat* (SSR) yang merupakan salah satu penanda genetik dengan tingkat diskriminasi yang cukup baik. Situs mikrosatelit yang ditemukan memiliki kemungkinan terpaut dengan gen-gen yang terkait sifat resisten tanaman (Gonçalves-Vidigal dan Rubiano 2011). Situs mikrosatelit yang didapatkan akan digunakan untuk desain primer dan primer tersebut selanjutnya digunakan untuk seleksi tanaman resisten dan terserang karat tumor pada penelitian selanjutnya.

Sementara itu, pada jaringan tumor ditemukan gen-gen yang beberapa di antaranya telah diketahui fungsinya. *Patatin-like-protein* merupakan anti-resistan tanaman terhadap fungi *Botrytis cinerea* (La Camera *et al.* 2005). Patatin sendiri merupakan protein yang memiliki fungsi utama untuk penyimpanan hasil metabolisme (Shewry 2003). *Anthocyanin regulatory C1 protein* berperan dalam

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

sintesis *chalcone synthase* yang merupakan senyawa defensif tanaman (The Uniprot Consortium 2019). *Cytokinin dehydrogenase* menyebabkan terjadinya defisiensi sitokinin pada jaringan tanaman (Werner *et al.* 2003). *Retrovirus-related Pol polyprotein from transposon RE2* berperan dalam sintesis *aspartic protease* yang menyebabkan *dwarfing* (Xia *et al.* 2004). *Pectinesterase* berperan dalam degradasi sel tanaman yang menyebabkan jaringan tanaman mengalami pembusukan akibat adanya serangan penyakit (Fries *et al.* 2007). *Salicylic acid-binding protein 2* berperan dalam mengubah metil salisilat menjadi asam salisilat yang berfungsi sebagai senyawa dalam signaling terhadap serangan penyakit (Tripathi *et al.* 2010). *Expansin* berperan dalam biogenesis dan degradasi dinding sel (Lee *et al.* 2001).

Berdasarkan *Qblast* yang dilakukan, perbedaan utama antara jaringan tumor dan bukan tumor yaitu spesies yang *match* dengan sekuens. Pada jaringan kayu dari tanaman sehat dan kayu sekitar tumor, spesies dengan *match* tertinggi hampir seluruhnya berasal dari kingdom Viridiplantae. Hanya ada satu *match* yang berasal dari kingdom lain yaitu alga hijau *Chlamydomonas reinhardtii*. Sementara itu pada jaringan tumor, baik pada daun dan kayu, ditemukan sekuens yang *match* dengan gen-gen yang berasal dari kingdom Fungi, Animalia, Protozoa, dan Eubacteria. Beberapa fungi yang ditemukan berada dalam filum Basidiomycota, filum yang sama dengan fungi patogen karat tumor pada sengon. Salah satu fungi yang *match* yaitu *Puccinia striiformis* merupakan patogen penyebab penyakit *stripe rust* (Liu dan Hambleton 2010) pada tanaman jagung dan gandum (Jin *et al.* 2010).

Berkembangnya teknologi RNA-Seq memungkinkan untuk dilakukannya analisis terhadap gen-gen yang diekspresikan oleh patogen dan tanaman secara bersamaan (Naidoo *et al.* 2018). Selain itu, RNA-Seq juga dapat memberikan informasi interaksi yang terjadi antara patogen dan inang (Kovalchuk *et al.* 2019). Analisis interaksi inang-patogen tersebut juga dapat dikombinasikan dengan *de novo assembly* (Yazawa *et al.* 2013) sehingga memungkinkan untuk dilakukannya penelitian interaksi antara tumbuhan inang dan patogen non-model.

5.5. Kesimpulan

Perbedaan ekspresi gen antara kayu dari tanaman yang terserang dan tidak terserang karat tumor pada level *gene ontology* yaitu pada proses biologis adanya gen-gen yang mengekspresikan respon terhadap cekaman dan pada fungsi molekuler yaitu adanya peningkatan aktivitas hidrolase, kinase dan transporter akibat adanya infeksi. Sementara itu, pada karat tumor, terdapat ekspresi gen-gen yang berperan dalam merespon stimulus atau cekaman pada proses biologis dan gen-gen yang berfungsi mengikat senyawa metal karena adanya interaksi dan kompetisi antara inang dan patogen. Pada jaringan karat tumor, terdapat sekuens gen-gen yang memiliki kesamaan dengan gen-gen yang terekspresi dari spesies di luar kingdom Plantae. Gen-gen yang terekspresi secara *up-regulated* dan *down-regulated* digunakan untuk desain primer untuk pembuatan penanda molekuler untuk seleksi tanaman yang terserang dan tidak terserang.

VI PEMBAHASAN UMUM

Sengon, meskipun menghadapi banyak ancaman patogen, hama, dan rentan patah akibat angin kencang, masih menjadi favorit masyarakat. Hal tersebut berarti sengon memiliki permintaan tinggi di masyarakat sebagai bahan baku untuk berbagai macam produk. Permintaan yang tinggi dan pasar yang luas menunjukkan bahwa sengon masih menjadi jenis yang prospektif untuk pengembangan hutan tanaman. Berdasarkan data statistik produksi kehutanan Indonesia 2012 hingga 2018 (BPS 2019), sengon di tiga tahun terakhir menempati posisi lima besar pemasok kayu produksi.

Selain karena keuntungan finansial yang menjanjikan. Sengon juga merupakan tanaman yang multifungsi sehingga populer di masyarakat. Sengon bersimbiosis dengan rhizobium untuk menambat nitrogen bebas di udara dan mengubahnya menjadi bentuk amonia (Novriani 2011). Penanaman sengon diharapkan mampu menyuburkan tanah untuk kemudian dilakukan tumpang sari atau agroforestry dengan tanaman-tanaman semusim sebagai sumber pemasukan antara. Penelitian Rachman dan Hani (2014) menunjukkan agroforestri cabai dan sengon memberikan hasil yang baik ketika diterapkan di Ciamis, Jawa Barat. Penelitian lain oleh Kusumedi dan Jariyah (2010) menunjukkan pendapatan tahunan dari tanaman kapulaga yang diagroforestrikan dengan sengon dapat mencapai Rp 18 juta.

Resistensi tanaman, baik secara ekologi maupun molekuler merupakan dua hal yang erat keberadaannya dalam menghadapi serangan penyakit. Resistensi ekologi tidak hanya menghambat patogen untuk menginfeksi tanaman, tetapi juga menginduksi produksi senyawa atau sistem resistensi tanaman itu sendiri. Kondisi yang tidak ideal bagi patogen dapat meningkatkan resistensi tanaman yang kurang resisten. Hal tersebut dapat menjadi solusi bagi petani yang tidak memiliki akses untuk mendapatkan benih tanaman resisten.

Berdasarkan hasil penelitian ini, kerapatan dan pemeliharaan tegakan merupakan faktor penting dalam menurunkan tingkat infeksi penyakit karat tumor pada lahan yang berada di daerah yang kurang ideal bagi pertumbuhan patogen. Jika kondisi iklim luar tegakan sudah mendukung untuk menurunkan tingkat serangan penyakit, tetapi perubahan iklim mikro tegakan ketika tanaman sengon sudah mulai tinggi dan kanopinya menutupi lahan tidak diperhitungkan maka kelembaban dalam tegakan akan tetap tinggi dan menjadi lokasi yang ideal untuk infeksi patogen karat tumor. Selain berpengaruh terhadap perkembangan tumor, kerapatan tegakan juga akan berpengaruh terhadap rasio sinar merah (R) dan merah jauh (FR). Semakin rapat tegakan maka semakin banyak sinar R yang terserap oleh daun sehingga rasio R:FR menjadi rendah. Rendahnya rasio R:FR akan berdampak pada menurunnya kandungan asam jasmonat pada tanaman sehingga lebih rentan terserang penyakit (Ballaré dan Austin 2019).

Tidak hanya teknik silvikultur, pengendalian karat tumor dengan sistem silvikultur juga dapat dilakukan yaitu dengan menerapkan sistem silvikultur tebang habis. Sistem tebang habis akan menyebabkan pada satu periode akan terjadi absennya tanaman inang sehingga spora dari patogen tidak dapat berkembang. Spora patogen yang tidak dapat tumbuh dan berkembang sebelum musim tanam baru diharapkan dapat menyelamatkan tanaman generasi berikutnya. Regenerasi tanaman dapat dilakukan baik dengan tanaman asal benih ataupun

dengan *coppice* system atau tunas trubusan dari tunggak kayu. Penerapan sistem *Coppice with Standards* (CWS) telah dilakukan pada tanaman eukaliptus selain untuk menghemat biaya produksi. Metode ini dapat diterapkan jika pada tegakan tidak terdapat karat tumor yang tersisa pada tunggak tanaman yang ditinggalkan. Jika diterapkan bersama dengan sistem agroforestri, pemilihan jenis tanaman sela perlu mempertimbangkan aspek strata dan kerapatan hutan. Tanaman sela yang terlalu tinggi dan rapat akan menyebabkan meningkatnya kelembaban relatif di bawah tegakan. Salah satu jenis tanaman sela yang sudah diterapkan pada tanaman sengon yaitu nanas di Perhutani Kediri dengan jarak tanam yang ideal bagi sengon maupun nanas.

Adanya kecenderungan akan terjadinya *bottleneck* pada sumberdaya genetik tanaman sengon merupakan sesuatu yang harus dihindari. Keragaman genetik merupakan sesuatu yang harus dijaga dan jangan sampai hilang karena merupakan potensi material pemuliaan di masa yang akan datang. Strategi pemuliaan sengon sebaiknya tidak hanya menyeleksi sengon yang cepat tumbuh dan tahan hama penyakit tetapi juga bagaimana meningkatkan keragaman genetik sengon.

Salah satu metode konvensional untuk meningkatkan keragaman genetik yaitu dengan melakukan persilangan. Sengon adalah jenis tanaman yang melakukan penyerbukan dengan tipe penyerbukan *open pollination* dengan perantara angin, air, dan serangga sehingga dapat menerima polen dari individu lain (Baskorowati *et al.* 2017). Salah satu jenis yang sudah berhasil dimuliakan dan mengalami peningkatan keragaman genetik yaitu *Pinus radiata* di Australia yang tidak hanya menyeleksi sifat yang diinginkan tetapi juga mendapatkan tambahan keragaman genetik (McRae *et al.* 2013). Strategi yang sama telah diterapkan pada jenis yang sama di New Zealand (Dungey *et al.* 2009) dengan membuat kebun benih yang terdiri dari puluhan populasi dengan sifat unggul yang beragam sehingga diharapkan dengan semakin banyaknya tetua maka akan muncul lebih banyak sifat-sifat yang superior dan terjadi peningkatan keragaman genetik.

Strategi yang kedua yaitu dengan melakukan mutasi. *Induced mutation* dapat dilakukan secara kimia maupun fisika. Beberapa bahan kimia yang dapat digunakan untuk mutasi yaitu Ethyleneimine (EI), Dimethyl sulphate (DMS), Sodium Azide (NaN_3), dan Ethyl methane sulphonate (EMS) (Ceccarelli *et al.* 2009). Sementara mutasi dengan metode iradiasi mulai banyak digunakan pada tanaman hutan seperti sengon (Zakiah *et al.* 2017) dan Suren (Zanzibar 2011). Dibandingkan dengan metode iradiasi, metode kimia dinilai lebih sedikit merusak DNA (Xu 2010). Metode-metode pemuliaan dengan mutasi tersebut tidak hanya menjaga keragaman genetik, tetapi juga menambah keragaman genetik.

Gen-gen yang terekspresi memiliki peran tersendiri dalam merespon serangan penyakit karat tumor. Gen-gen yang terekspresi secara signifikan dapat menjadi referensi senyawa yang terbentuk dan proses sintesisnya dalam merespon infeksi karat tumor. Untuk pemuliaan dengan tujuan mendapatkan individu yang resisten, penanda berbasis ekspresi gen merupakan sebuah upaya untuk mendapatkan individu dengan sifat resistensi yang spesifik. Gen-gen yang terekspresi tersebut juga berpaut dengan beberapa penanda molekuler seperti mikrosatelit, minisatelit, dan *Inter simple sequence repeat* (ISSR). Penggunaan penanda terpaut gen dapat mempermudah proses seleksi dalam pemuliaan. Penanda SSR dan ISSR contohnya tidak memerlukan waktu, sumberdaya, dan



teknik yang terlalu *advance* sehingga untuk seleksi skala besar akan lebih mudah untuk dilakukan. Oleh karena itu, penanda berbasis situs-situs tersebut yang terkait dengan gen-gen ketahanan juga dapat dikembangkan sebagai penanda molekuler.

Hasil analisis transkriptom sengon mengonfirmasi mengapa terjadi *trade-off* antara ukuran diameter atau pertumbuhan sengon dengan sifat resistensi terhadap penyakit. Beberapa gen yang berperan dalam sintesis asam jasmonat dan asam salisilat ditemukan terekspresi secara *up-regulate*. Asam salisilat diproduksi lebih banyak dengan menghambat *signalling* auksin, brassinosteroid, dan giberelin (Huot *et al.* 2014). Produksi asam jasmonat menghambat proses mitosis sel sehingga jumlah sel baru yang terbentuk lebih sedikit serta ukuran sel baru lebih kecil (Noir *et al.* 2013). Neuser *et al.* (2019) mengemukakan bahwa salah satu penyebab dari adanya *growth-defense trade-off* antara pertumbuhan dan ketahanan tanaman disebabkan oleh mekanisme homeostasis tanaman menghadapi stress yang terkait dengan gen-gen *reactive oxygen species* (ROS) yang juga banyak ditemukan terekspresi secara *up-regulated* pada tanaman yang tidak terserang karat tumor dalam penelitian ini. Gen-gen ROS tersebut menurunkan kemampuan dinding sel untuk meregang saat adanya serangan patogen (Schmidt *et al.* 2016), sehingga dinding sel tetap tebal dan tanaman memiliki pertahanan fisik menghadapi patogen.

Hasil analisis ekspresi gen dan anotasi gen menghasilkan data gen yang terekspresi dan memiliki kemiripan sekuens dengan sekuens yang sudah terkonfirmasi fungsi dan perannya pada tanaman. Akan tetapi, gen-gen yang terekspresi tidak terbatas hanya pada gen yang merespon infeksi karat tumor. Pada sekuens tumor batang, ditemukan kemiripan dengan sekuens gen penyandi protein *Miraculin*. Senyawa tersebut merupakan protein yang termasuk dalam golongan glycoprotein dan berfungsi sebagai *taste modifier* (Koizumi *et al.* 2011). Protein tersebut merupakan produk alami dari tanaman *Synsepalum dulificum*. *Miraculin* bekerja dengan menempel pada reseptor rasa manis sehingga ketika lidah mencecap rasa asam akan terasa manis. Buah *Miraculin* sendiri di Jepang legal digunakan sebagai zat aditif untuk mengurangi konsumsi gula. Terkait adanya ekspresi gen *Miraculin* pada karat tumor, di masa yang akan datang perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait keberadaan senyawa ini pada karat tumor. Jika memang terbukti pada karat tumor terdapat senyawa *Miraculin* dan dapat dimanfaatkan maka karat tumor yang selama ini hanya menjadi penyakit bisa dikembangkan sebagai sumber pemasukan lain dari hutan tanaman.

Dalam penelitian terkait faktor ekologi, penelitian ini hanya di dua wilayah yaitu Bogor dan Ciamis dengan jumlah plot yang terbatas. Pengambilan lokasi Bogor dan Ciamis dilakukan berdasarkan pertimbangan kedua lokasi tersebut berada pada zona iklim yang sama sehingga faktor iklim seperti perbedaan suhu dan curah hujan yang drastis bukan merupakan faktor yang menentukan keparahan dan intensitas serangan penyakit karat tumor dalam penelitian ini. Pengambilan sampel yang digunakan dalam analisis keragaman genetik dilakukan dengan metode *pairing* atau pasangan pohon terserang dan tidak terserang karat tumor dalam satu plot dengan jumlah sampel yang diambil diseragamkan untuk setiap plot. Terdapat satu plot dalam penelitian ini yang memiliki hanya satu pohon yang terserang penyakit sehingga jumlah sampel yang dikumpulkan sebagai aksesori dalam penelitian ini hanya dua kali jumlah plot yang digunakan dalam penelitian faktor lingkungan. Untuk analisis DEG jumlah sampel yang

digunakan hanya satu *pair* untuk masing-masing tahap NGS. Hal tersebut perlu dikonfirmasi lagi dengan jumlah *pair* yang lebih banyak.

Analisis faktor ekologi yang memengaruhi ketahanan tanaman terhadap penyakit dilakukan dengan menggabungkan seluruh faktor yang diamati dilakukan untuk melihat secara sekaligus perbedaan derajat seluruh faktor memengaruhi tingkat serangan penyakit karat tumor. Analisis yang tidak memisahkan faktor-faktor tersebut atau mengategorikan variabel menjadi faktor-faktor iklim, tanah, dan budidaya dilakukan karena ketiga kategori faktor tersebut bertindak secara sekaligus terhadap metabolisme tanaman dan infeksi patogen. Penggunaan gabungan penanda molekuler AFLP dan RAPD dapat meningkatkan kemampuan untuk memisahkan aksesi sengon yang terserang dan tidak terserang karat tumor dibanding penggunaan penanda molekuler tunggal. Penggunaan lebih dari satu penanda molekuler untuk analisis keragaman genetik membuat diperoleh hasil yang lebih meyakinkan karena adanya konfirmasi dengan penanda yang berbeda. Diketuainya ekspresi kandidat gen-gen yang terkait dengan ketahanan sengon terhadap karat tumor merupakan informasi berharga. Tidak hanya untuk pengembangan penanda molekuler, peningkatan ketahanan induksi juga dapat dilakukan dengan mengetahui proses sintesis yang melibatkan gen-gen tersebut.

VII SIMPULAN DAN SARAN

7.1. Simpulan

Pengembangan hutan tanaman sengon yang minim serangan penyakit karat tumor perlu mempertimbangkan resistensi ekologi dan resistensi genetik. Untuk menurunkan dampak serangan penyakit karat tumor dapat menggunakan sistem silvikultur tebang habis dengan masa bera dan juga dikombinasikan dengan agroforestri dengan pertimbangan jenis tanaman dan jarak tanam yang tidak ideal untuk patogen. Hasil analisis genetik menunjukkan sengon resisten berbeda dari sengon yang terserang karat tumor secara genetik sehingga pemuliaan dengan seleksi sifat resisten karat tumor pada sengon cukup menjanjikan. Pemuliaan sengon resisten karat tumor di masa yang akan datang perlu meningkatkan keragaman genetik karena di hutan tanaman keragaman genetik sengon berada pada kelas rendah-sedang sehingga dibutuhkan upaya untuk menambah *genetic gain* seperti persilangan dan mutasi. Hasil analisis ekspresi gen menunjukkan ada gen-gen yang terekspresi secara berbeda pada tanaman yang terserang dan tidak terserang tumor serta pada tumor di bagian batang dan daun. Seleksi berdasarkan penanda berbasis ekspresi gen merupakan metode seleksi yang cukup baik untuk dikembangkan untuk memudahkan kegiatan pemuliaan sengon berbasis molekuler.

7.2. Saran

Perlu dilakukan analisis verifikasi kandidat gen dengan metode *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) pada beberapa tingkat infeksi atau periode pasca infeksi untuk mengetahui jangka waktu gen mulai terekspresi. Transkriptom yang sudah di-*assembly* merupakan sumber data untuk *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) *mining* yang dapat mendeteksi perbedaan hingga satu basa untuk *genome wide association selection* (GWAS).



DAFTAR PUSTAKA

- Aarts MG, Hekkert BL, Holub EB, Beynon JL, Stiekema WJ, Pereira A. 1998. Identification of R-gene homologous DNA fragments genetically linked to disease resistance loci in *Arabidopsis thaliana*. *MPMI*. 11(4): 251–258
- Agrios G. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. London (UK): Elsevier Academic Press
- Akinagbe A, Gailing O., Finkeldey R., Lawal A. 2019. Towards conservation of genetic variation of tropical tree species with differing successional status: The case of *Mansonia altissima* A. Chev and *Triplochiton scleroxylon* K. Schum. *Trop. Conserv. Sci.* 12: 1–9
- Allard RW. 1992. *Principles of Plant Breeding*. Rev. Eds. New York (US): John Wiley and Sons, Inc.
- Al-Qurainy F, Gaafar AZ, Khan S, Nadeem M, Al-Ameri AA, Tarroum M. 2014. Genetic diversity in *Bretonia salicina* based on intra-species sequence variation of chloroplast DNA spacer sequence. *Pak. J. Bot.* 46(2): 599–604
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 215(3): 403–410
- Amtmann A, Troufflard S, Armengaud P. 2008. The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. *Physiologia Plantarum.* 133: 682–691
- Andrew C, Egli S, Heegaard E, Halvorsen R, Martinez-Pena F, Boddy L, Kirk PM, Bassler C, Buntgen U, Aldea J, *et al.* 2016. Climate impacts on fungal community and trait dynamics. *Fungal Ecol.* 22: 17–25
- Andrews S. 2010. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [internet]. Tersedia pada <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>. Diakses tanggal 18 Oktober 2018,
- Anggraeni I, Dendang B, Lelana NE. 2010. Pengendalian karat tumor pada sengon di Panjalu Kabupaten Ciamis, Jawa Barat. *JPHT.* 7(5): 273–278
- Anggraeni I. 2012. *Penyakit Karat Tumor pada Sengon dan Hama Cabuk Lilin pada Pinus*. Bogor (ID): Puslitbang Peningkatan Produktivitas Hutan
- Artati Y, Jaung W, Juniwati KS, Andini S, Lee SM, Segah H, Baral H. 2019. Bioenergy production on degraded land: Landowner perceptions in Central Kalimantan, Indonesia. *Forests,* 10(2): 1–12. <https://doi.org/10.3390/f10020099>
- Astuti T. 2019. Penyakit karat tumor pada sengon umur 7 tahun pada berbagai ketinggian tempat dan kelas diameter di lereng selatan Gunung Merapi [skripsi]. Yogyakarta (ID): Fakultas Kehutanan UGM
- Bachaki SE, Irianto NBE, Widodo SW. Rekayasa ekologi dalam perspektif pengelolaan tanaman padi terpadu. *Iptek Tanaman Pangan.* 11(1): 19–34
- Bairoch A, Apweiler R, Wu CH, Barker WC, Boeckmann B, Ferro S, Gasteiger E, Huang H, Lopez R, Magrane M, Martin MJ, Natale DA, O'Donovan C, Redaschi N, Yeh LS. 2005. The universal protein resource (UniProt). *Nuc Acid Res.* 1(33): 154–159
- Ballaré CL, Austin AT. 2019. Recalculating growth and defense strategies under competition: key roles of photoreceptors and jasmonates. *J of Experimental Botany.* 70(13): 3425–3436

- Baskorowati L, Bush D, Setiadi D, Susanto M. 2017. Genetic variation of growth and disease resistance traits in open-pollinated provenance-progeny trials of *Falcataria moluccana* growing on two rust-affected sites at age-18 months. *JMHT*. 23(1): 1–7
- Baskorowati L, Nurrohmah SH. 2011. Variasi ketahanan terhadap penyakit karat tumor pada sengon tingkat semai. *JPTH*. 5(3):129–138
- Baskorowati L, Susanto M, Charomaini M. 2012. Genetic variability in resistance of *Falcataria moluccana* to gall rust disease. *J Forestry Res*. 9(1): 1–9
- [Beijing genomic Institute] BGI. 2016. RNA Extraction Standard Operating Procedure for Plant Samples. Hongkong: BGI
- Bhat HS, Kumar N. 2010. On the derivation of the Bayesian Information Criterion [internet]. Tersedia pada <https://faculty.ucmerced.edu/hbhat/BICderivation.pdf>. Diakses pada 22 November 2019.
- Bodare S, Tsuda Y, Ravikanth G, Shaanker RU, Lascoux M. 2013. Genetic structure and demographic history of the endangered tree species *Dysoxylum malabaricum* (Meliaceae) in Western Ghats, India: implications for conservation in a biodiversity hotspot. *Ecol Evol*. 3(10): 3233–3248
- Boehmke B, Greenwell B. 2020. Hands-on machine learning with R [internet]. Tersedia pada <https://bradleyboehmke.github.io/HOML/>. Diakses pada 6 Juli 2020.
- Bolger AM, Lohse M, Usadel B. 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics*. 30(15): 2114–2120
- [Badan Pusat Statistik RI] BPS. 2019. Statistik Produksi Kehutanan 2018. Jakarta (ID): Badan Pusat Statistik RI
- Budiman B, Rianti IP. 2012. *Teknik pengendalian karat tumor pada tanaman sengon* [internet]. Tersedia pada <http://bp2sdmk.dephut.go.id/emagazine/index.php/teknis/25-teknik-pengendalian-penyakit-karat-puru-pada-pohon-sengon.html>. Diakses tanggal 21 Mei 2016.
- Caldas DGG, Konzen ER, Recchia GH, Pereira ACVZ, Tsai SM, Shanker AK, Shanker C. 2016. Functional Genomics of Biotic and Abiotic Stresses in *Phaseolus vulgaris*. Di dalam: Shanker AK, Shanker C, editor. *Abiotic and Biotic Stress in Plants*. Intechopen [internet]. Tersedia pada <https://doi.org/10.5772/62051>. Diakses tanggal 20 Agustus 2019.
- Căprar M, Copaci CM, Chende DM, Sicora O, Șumălan R, Sicora C. 2017. Evaluation of Genetic Diversity by DNA barcoding of local tomato populations from North-Western Romania. *Not Bot Horti Agrobo*. 45(1):276–279
- CBOL Plant working Group. 2009. DNA barcode for land plants. *PNAS*. 106(31): 12794–12797
- Ceccarelli S, Guimaraes EP, Weltzein E. 2009. *Plant Breeding and Farmer Participation*. Rome: FAO
- Cervera MT, Gusmao J, Steenackers M, Peleman J, Storme V, Vanden Broeck A, Van Montagu M, Boerjan W. 1996. Identification of AFLP molecular markers for resistance against *Melampsora larici-populina* in Populus. *Theor Appl Genet*. 93: 733–737.
- Chaudhary DK, Prakash A, Johri BN. 2007. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian J of Microbiol*. 47: 289–297



- Chenault KD, Burns JA, Melouk HA, Payton ME. 2002. Hydrolase activity in transgenic peanut. *Peanut Sci.* 29(2): 89–95
- Chu Y, Corey DR. 2012. RNA sequencing: platform selection, experimental design, and data interpretation. *Nucl Acid Therapeutics.* 22(4): 271–274
- Cipta H. 2014. Pengaruh pelaburan terhadap pembentukan sel-sel penyusun kayu sengon yang menunjukkan gejala karat tumor [skripsi]. Yogyakarta (ID): Fakultas Kehutanan UGM.
- Clegg MT, Gaut BS, Learn GH, Morton BR. 1994. Rates and patterns of chloroplast DNA evolution. *PNAS.* 91(15): 6795–801.
- Conesa A, Götz S, García-Gómez JM, Terol J, Talón M, Robles M. 2005. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics.* 21: 3674–3676
- Corryanti, Novitasari D. 2015. *Sengon dan Penyakit Karat Tumor.* Cebu (ID): Puslitbang Perum Perhutani.
- Costa R, Pereira G, Garrido I, Tavares-de-Sousa MM, Espinosa F. 2016. Comparison of RAPD, ISSR, and AFLP Molecular Markers to Reveal and Classify Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) Germplasm Variations. *PLoS One.* 11(4): e0152972
- Daniell H, Lin CS, Yu M, Chang WJ. 2016. Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering. *Genome Biol.* 17: 134
- Davidson NM, Oshlack A. 2014. Corset: enabling differential gene expression analysis for *de novo* assembled transcriptomes. *Genome Biol.* 15: 410
- Demeke T, Adams RP. 1994. The use of RAPDs to determine germplasm collection strategies in the African species *Phytolacca dodecandra* (Phytolaccaceae). Di dalam: Adams RP, Miller JS, Golenberg EM, Adams JE, editor. *Conservation of Plant Genes II: Utilization of Ancient and Modern DNA.* St. Louis (US): Missouri Botanical Garden Press
- Denver DR, Morris K, Kewalramani A, Harris KE, Chow A, Estes S, Lynch M, Thomas WK. 2004. Abundance, distribution, and mutation rates of homopolymeric nucleotide runs in the genome of *Caenorhabditis elegans*. *J of Molec Evol.* 58(5): 584–595. <https://doi.org/10.1007/s00239-004-2580-4>
- Diputra IMMM. 2015. Respons Sengon Respons Sengon (*Falcataria moluccana* (Miq.) Barneby dan J.W. Grimes) provenans Papua dan ras lahan Jawa terhadap penyakit karat tumor [tesis]. Yogyakarta: Program Pascasarjana UGM
- Doebley JF, Gaut BS, Smith BD. 2006. The molecular genetics of crop domestication. *Cell.* 127(7): 1309–1321
- Dordas C. 2008. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture: a review. *Agronomy for Sustain. Develop.* 28(1): 443–460
- Dormontt EE, Boner M, Braun B, Breulmann G, Degen B, Espinoza E, Gardner S, Guillery P, Hermanson JC, Koch G, *et al.* 2015. Forensic timber identification: It's time to integrate disciplines to combat illegal logging. *Biol Cons.* 191: 790–798
- Doungsa-ard C, McTaggart AR, Geering ADW, Dallsay TU, Ray J, Shivas RG. 2015. *Uromycladium falcatarium* sp. nov., the cause of gall rust on *Paraserianthes falcataria* in south-east Asia. *Australasian Plant Pathol.* 44(1): 25–30

- Doyle J. 1991 DNA Protocols for Plants. Di dalam: Hewitt GM, Johnston AWB, Young JPW, editor. *Molecular Techniques in Taxonomy*, Berlin (DE): Springer
- Drescher J, Rembold K, Allen K, Beckschäfer P, Buchori D, Clough Y, Faust H, Fauzi AM, Gunawan D, Hertel D, *et al.* 2016. Ecological and socio-economic functions across tropical land use systems after rainforest conversion. *Phil Transactions Royal Soc. B: Biol Sci.* 371(1694): 1–8
- Du, Z. Y., Qimike, A., Yang, C. F., Chen, J. M., & Wang, Q. F. (2011). Testing four barcoding markers for species identification of Potamogetonaceae. *Journal of Syst Evol.* 49(3): 246–251
- Dungey HS, Brawner JT, Burger F, Carson M, Henson M, Jefferson P, Matheson AC. 2009. A new breeding strategy for *Pinus radiata* in New Zealand and New South wales. *Silvae Genetica.* 58(1): 28–38
- Earld DA, vonHoldt BM. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Res.* 4(2): 359–361
- Elad Y, Pertot I. 2014. Climate Change Impacts on Plant Pathogens and Plant Diseases. *J Crop Improv.* 28(1): 99–139
- Endress, B. A. 2002. The importance of endemic species to forest succession in Palau. *Micronesica.* 34(2): 141–153
- Fageria MS, Rajora OP. 2013. Effects of silvicultural practices on genetic diversity and population structure of white spruce in Saskatchewan. *Tree Genet Genom.* 10: 287–296
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2002. *Criteria and Indicators for Sustainable Forest Management: Assessment and Monitoring of Genetic Variation.* Rome (IT): FAO
- Fern K. 2020. *Tropical Plants Database* [internet]. Tersedia pada <http://tropical.theferns.info/>. Diakses pada 2 Januari 2020.
- Fine PVA, Miller ZJ, Mesones I, Irazuzta S, Appel HM, Stevens MHH, Sääksjärvi I, Schultz JC, Coley PD. 2006. The growth-defense trade-off and habitat specialization by plants in Amazonian forests. *Ecology.* 87(7): 150–162
- Finkeldey R, Leinemann L, Gailing O. 2010. Molecular genetic tools to infer the origin of forest plants and wood. *Appl Microb Biotechnol.* 85: 1251–1258
- Fones HN, Preston GM. 2013. Trade-offs between metal hyperaccumulation and induced disease resistance in metal hyperaccumulator plants. *Plant Pathol.* 62: 63–71
- Fraser S, McTaggart AR, Wingfield MJ, Roux J. 2017. Effect of temperature, leaf wetness and the developmental stage of host tissue on infection of *Acacia mearnsii* by *Uromykladium acaciae* (Pucciniales). *Australasian Plant Pathol.* 46: 407–419
- Fries M, Ihrig J, Brocklehurst K, Shevchik VE, Pickersgill RW. 2007. Molecular basis of the activity of the phytopathogen pectin methyl esterase. *The EMBO J.* 26(17): 3879–3887
- Gailing O, Vornam B, Leinemann L, Finkeldey R. 2009. Genetic and genomic approaches to assess adaptive genetic variation in plants forest trees as model. *Physiologia Plantarum.* 137: 509–519
- Gao T, Ma X, Zhu X. 2013. Use of the *psbA-trnH* region to authenticate medicinal species of Fabaceae. *Biol Pharm Bull.* 36(12): 1975–1979

- García-Guzmán G, Trejo I, Acosta-Calixto I, Sanchez-Coronado ME. 2016. Environmental factors associated with disease incidence in plant species from a Mexican seasonal tropical dry forest. *J of Torrey Botanical Soc.* 143(3): 254–264
- Gonçalves-Vidigal MC, Rubiano LB. 2011. Development and application of microsatellites in plant breeding. *Crop Breed Appl Biotechnol.* 11: 66–72
- Götz S, García-Gómez JM, Terol J, Williams TD, Nagaraj SH, Nueda MJ, Robles M, Talón M, Dopazo J, Conesa A. 2008. High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite. *Nucleic Acids Res.* 36(10): 3420-3435. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn176>
- Grabherr MG, Haas BJ, Yassour M, Levin JZ, Thompson DA, Amit I, Adiconis X, Fan L, Raychowdhury R, Zeng Q, *et al.* 2013. Trinity: reconstructing a full-length transcriptome without a genome from RNA-Seq data. *Nat Biotechnol.* 29(7): 644–652
- Gupta KJ, Brotman Y, Segu S, Zeier T, Zeier J, Persijn ST. 2013. The form of nitrogen nutrition affects resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola* in tobacco. *J. Exp. Bot.* 64, 553–568
- Gutiérrez-López N, Ovando-Medina I, Salvador-Figueroa M, Molina-Freaner FE, Avendaño-Arrazate CH, dan Vázquez-Ovando A. 2016. Unique haplotypes of cacao trees as revealed by trnH-psbA chloroplast DNA. *PeerJ.* 4: e1855 .
- Hamilton MB. 1999. Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. *Mol. Ecol.* 8(3): 521–3
- Haneda NF, Siregar UJ. 2011. Pola RAPD, aktivitas trypsin inhibitor dan α -amylase Inhibitor pada pohon sengon (*Paraserianthes falcataria*) yang Tahan terhadap serangan hama boktor (*Xystrocera festiva*) [internet]. Tersedia pada http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/71972/Noor_dkk_156.pdf?sequence=1&danisAllowed=y. Diakses tanggal 19 Mei 2016.
- Hansch R, Mendel RR. 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Curr. Opin. Plant. Biol.* 12(3): 259–266
- Hartl DL, Clark GC. 1997. Principles of Population genetics. Sunderland (US): Sinauer Associates
- Herburger K, Xin A, Holzinger A. 2019. Homogalacturonan Accumulation in Cell Walls of the Green Alga *Zygnema* sp. (Charophyta) Increases Desiccation Resistance. *Front Plant Sci.* 10: e540
- Herselman L. 2003. Genetic variation among Southern African cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes as revealed by AFLP analysis. *Euphytica.* 133: 319–327
- Hidayat J. 2002. Informasi singkat benih No 23, Juni 2002 *Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen [internet]. Tersedia pada <http://siph.simpdashl.menlhk.go.id/dist/file/seed/f90edc4e99eed7c31cba970cb033d025.pdf>. Diakses tanggal 22 Mei 2016. Jakarta (ID): Direktorat Perbenihan Tanaman Hutan
- Holliday JA, Aitken SN, Cooke JEK, Fady B, Gonzales-Martinez SC, Heuertz M, Jaramillo-Correa JP, Lexer C, Staton M, Whetten RW, Plomion C. 2016. Advances in ecological genomics in forest trees and applications to genetic resources conservation and breeding. *Molecular Ecol.* 26(3): 706–717

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

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

- Huang J, Liang X, Xuan Y, Geng C, Yuxiang G, Li Y, Lu H, Qu S, Mei X, Chen H, *et al.* 2017. A reference human genome dataset of the BGISEQ-500 sequencer. *GigaScience*. 6(5): 1–9
- Huang X, Madan A. 1999. CAP3: A DNA sequence assembly program. *Genome Res*. 9(9):868–77.
- Huber DM, Watson RD. 1974. Nitrogen form and plant disease. *Annu Rev Phytopathol*. 12: 139–165
- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK. 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resource*. 9(5): 1322–1332
- Huot B, Yao J, Montgomery BL, He SY. 2014. Growth–defense tradeoffs in plants: a balancing act to optimize fitness. *Molecular Plant*. 7: 1267–1287
- Hurvich CM, Tsai CL. 1993. A corrected akaike information criterion for vector autoregressive model selection. *J of Time Series*. 14(3): 271–279
- [The International Tropical Timber Organization] ITTO .2018. *Albizia (Albizia chinensis)* [internet]. Tersedia pada <http://www.tropicaltimber.info/specie/albizia-albizia-chinensis/#lower-content>. Diakses pada 11 Februari 2020.
- [The International Tropical Timber Organization] ITTO. 2018. *Falcata (Paraserianthes falcataria)* [internet]. Tersedia pada <http://www.tropicaltimber.info/specie/falcata-paraserianthes-falcataria/> Diakses pada 11 Februari 2020.
- Jeong JS, Jung C, Seo JS, Kim JK, Chua NH. 2017. The deubiquitinating enzymes UBP12 and UBP13 positively regulate MYC2 levels in jasmonate responses. *Plant Cell*. 29(6):1406–1424
- Jin Y, Szabo LJ, Carson ML. 2010. Century-old mystery of *Puccinia striiformis* life history solved with the identification of *Berberis* as an alternate host. *Phytopathol*. 100(5): 432–435
- Julirin M, Hasanuddin, Koto H. Analisis efisiensi dan titik impas industri gergajian (*sawmill*) kayu sengon: studi kasus di UD. *Timber Jaya Makmur, Sukaraja, Seluma, Bengkulu*. *J Agroindustri*. 9(2): 102–108
- Kabata-Pendias A. 2010. *Trace Elements in Soils and Plants*. New York (US):CRC Press
- Kanehisa M, Goto S. 2000. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res*. 28(1): 27–30
- Kant R, Tyagi K, Jha G. 2019. Host alternative NADH-Ubiquinone Oxireductase serves as a susceptibility factor to promote pathogenesis of *Rhizoctonia solani* in plants. *Phytopathol*. 109(10): 1741–1750
- Karasov TL, Chae E, Herman JJ, Bergelson J. 2017. Mechanisms to mitigate the trade-off between growth and defense. *The Plant Cell*. 29: 666–680
- Khorrandelazad M, Bar I, Whatmore P, Smetham G, Bhaaskaria V, Yang Y, Bai SH, Mantri N, Zhou Y, Ford R. 2018. Transcriptome profiling of lentil (*Lens culinaris*) through the first 24 hours of *Ascochyta lentis* infection reveals key defence response genes. *BMC Genomics*. 19(1): e108
- Kim KK, Yoon JB, Park EW, Kim YH. 2004. Structural modifications and programmed cell death of chili pepper fruits related to resistance responses to *Colletotrichum gloeosporioides* infection. *Genetics and Resistance*. 94:1295–1304

- Koizumi A, Tsuchiya A, Nakajima K, Ito K, Terada T, Shimizu-Ibuka A, Briand L, Asakura T, Misaka T, Abe K. 2011. Human sweet taste receptor mediates acid-induced sweetness of miraculin. *PNAS*. 108(40): 16819–16824
- Korpelainen E, Tuimala J, Somervuo P, Huss M, Wong G. 2014. *RNA-Seq Data Analysis: A practical approach*. Florida (US): CRC Press.
- Kovalchuk N, Wu W, Bazanova N, Reid N, Singh R, Shirley N, Eini O, Johnson AAT, Langridge Hermova PM, Lopato S. 2019. Wheat wounding-responsive HD-Zip IV transcription factor GL7 is predominantly expressed in grain and activates genes encoding defensins *Plant Mol Biol*. 101: 41–61
- Kulski JK. 2016. Next-Generation Sequencing — An Overview of the History, Tools, and “Omic” Applications. *Intechopen* [internet]. Tersedia pada <https://www.intechopen.com/books/next-generation-sequencing-advances-applications-and-challenges/next-generation-sequencing-an-overview-of-the-history-tools-and-omic-applications>. Diakses tanggal 19 Mei 2020
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, and Tamura K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molec. Biol. Evol.* 35:1547–1549
- Kunoh H, Ishizaki H. 1975. Silicon levels near penetration sites of fungi on wheat, barley, cucumber, and morning glory leaves. *Physiol. Plant. Pathol.* 5(3): 283–287
- Kusriniati D, Setyowati E, Achmad U. 2008. Pemanfaatan daun sengon (*Albizia falcataria*) sebagai pewarna kain sutera menggunakan mordan tawas dengan konsentrasi yang berbeda. *J Teknobuga*. 1(1):7–14.
- Kusuma FD. 2017. Aplikasi teknologi iradiasi sinar gamma untuk mendapatkan keragaman genetik dan sengon mutan tahan terhadap penyakit karat tumor [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana IPB University.
- Kusumedi P, Jariyah NA. 2010. Analisis finansial pengelolaan agroforestri dengan pola sengon kapulaga di Desa Tirip, Kecamatan Wadaslintang, Kabupaten Wonosobo. *J Penelitian Sosial dan Ekonomi Kehutanan*. 7(2): 93–100
- La Camera S, Balague C, Gobel C, Geoffrey P, Legrand P, Feussner I, Roby D, Heitz T. 2005. *The Arabidopsis* Patatin-like protein 2 (PLP2) plays an essential role in cell death execution and differentially affects biosynthesis of oxylipins and resistance to pathogens. *MPMI* 22(4): 469–481
- Langmead B, Salzberg SL. 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie2. *Nat Methods*. 9: 357–359
- Lee Y, Choi D, Kende H. 2001. Expansins: ever-expanding numbers and functions. *Curr Opin Plant Biol*. 4: 527–532.
- Lelana NE, Anggraeni I, Dendang B. 2014. Efektivitas jenis dan dosis fungisida serta pemangkasan dalam menekan pertumbuhan penyakit karat tumor. *JPHT*. 11(3): 149–155
- Lelana NE. 2018. Epidemiologi dan keragaman patogen karat puru sengon di Indonesia [disertasi]. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana IPB University
- Li W, Godzik A. 2006. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences. *Bioinformatics*. 22(13): 1658–1659
- Liu M, Hambleton S. 2010. Taxonomic study of stripe rust *Puccinia striiformis* sensu lato, based on molecular and morphological evidence. *Fungal Biol*. 114(10): 881–899

- Liu HL, Zhang RQ, Geng ML, Zhu JY, An JC, Ma JL. 2016. Chloroplast analysis of *Zelkova schneideriana* (Ulmaceae): Genetic diversity, population structure, and conservation implications. *Genet Molec Res.* 15(1): 1–9. <https://doi.org/10.4238/gmr.15017739>
- Lu ZX, Sosinski B, Reighard GL, Baird WV, Abbott AG. 1998. Construction of a genetic linkage map and identification of AFLP markers for resistance to root-knot nematodes in peach rootstock. *Genome.* 4: 199–207
- Lüthje S, Döring O, Heuer S, Lüthen H, Böttger M. 1997. Oxidoreductases in plant plasma membranes. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1331(1): 81–102.
- Maher CA, Kumar-Sinha C, Cao X, Kalyana-Sundaram S, Han B, Jing X, *et al.* 2009. Transcriptome sequencing to detect gene fusions in cancer. *Nature.* 458 (7234): 97–101
- Marschner H. 2003. *Mineral Nutrition for Higher Plants.* London (UK): Elsevier Academic Press
- Matra DD, Kozaki T, Ishii K, Poerwanto R, Inoue E. 2019. Comparative transcriptome analysis of translucent flesh disorder in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) fruits in response to different water regimes. *PLoS ONE.* 14(7): e0219976
- McFadden GI. 2001. Chloroplast origin and integration. *Plant Physiol.* 125: 50-53
- McGrath KC, Dombrecht B, Manners JM, Schenk PM, Edgar CI, Maclean DJ, Scheible WR, Udvardi MK, Kazan K. 2005. Repressor- and activator-type ethylene response factors functioning in jasmonate signaling and disease resistance identified via a genome-wide screen of Arabidopsis transcription factor gene expression. *Plant Physiol.* 139(2): 949–959.
- McKinney LV, Nielsen LR, Collinge DB, Thomsen IM, Hansen JK, Kjær ED. 2014. The ash dieback crisis: genetic variation in resistance can prove a long-term solution. *Plant Pathol.* 63: 485–499
- McRae TA, Buxton PA, Pilbeam DJ, Dutkowski GW, Kerr RJ, Ivkovic M, Wu HX. 2013. Breeding of radiata pine in Australia. *Forest Genetics 2013.* British Columbia (CA). Jul 22-27 2013.
- Morrison, D. J., Pellow, K. W., Nemec, A. F., Norris, D. J., dan Semenoff, P. (2001). Effects of selective cutting on the epidemiology of armillaria root disease in the southern interior of British Columbia. *Canadian J Forest Res.* 31(1): 59–70.
- Mueller UG, Wolfenvarger LLR. 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends. Ecol Evol.* 14(10): 389–394
- Munch D, Gupta V, Bachmann A, Busch W, Kelly S, Mun T, Andersena SU. 2018. The Brassicaceae family displays divergent, shoot-skewed NLR resistance gene expression. *Plant Physiol.* 176: 1598–1609.
- Naidoo S, Visse EA, Zwart L, du Toit Y, Bhaduria V, Shuey LS. 2018. Dual RNA-seq to elucidate the plant-pathogen duel. *Curr Issues Mol Biol.* 27: 127–141
- Nair KSS. 2000. *Insect Pests and Diseases in Indonesian Forest.* Bogor (ID): CIFOR.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist.* 106(949): 283–292.



- Neuser J, Metzen CC, Dreyer BH, Feulner C, van Dongen JT, Schmidt RR, Schippers JHM. HBI1 mediates the trade-off between growth and immunity through its impact on apoplastic ROS homeostasis. *Cell Report*. 28(7): 1670–1678
- Noir S, Anthony F, Bertrand B, Combes MC, Lashermes P. 2003. Identification of a major gene (*Mex-1*) from *Coffea canephora* conferring resistance to *Meloidogyne exigua* in *Coffea Arabica*. *Plant Pathol*. 52: 97–103
- Noir S, Bomer M, Takahashi N, Ishida T, Tsui TL, Balbi V, Shanahan H, Sugimoto K, Devoto A. 2013. Jasmonate controls leaf growth by repressing cell proliferation and the use onset of endoreduplication while maintaining a potential stand-by mode. *Plant Physiol*. 161(4): 1930–1951
- Novriani. 2011. Peranan rhizobium dalam meningkatkan ketersediaan nitrogen bagi tanaman kedelai. *AgronobiS*. 3(5): 35–42
- Nurtjahjansih I, Qiptiyah M, Yudohartono TP, Widyatmoko A, Rimbawanto A. Karakterisasi keragaman genetik populasi jabon putih menggunakan penanda random amplified polymorphism DNA. *JPHT* 8(2): 81–92
- Old KM, Cristovao CS. 2003. A rust epidemic of the coffee shade tree (*Paraserianthes falcataria*) in East Timor. *ACIAR Proc*. 13:139–145
- Olivia RD. 2012. Keragaman genetik populasi sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) pada hutan rakyat di Jawa berdasarkan penanda RAPD [skripsi]. Bogor: Fakultas kehutanan IPB University
- Orober M, Siegrist J, Buchenauer H. 2002. Mechanism of phosphate-induced disease resistance in cucumber. *European J of Plant Pathol*. 108(4):345–353.
- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Anthony S. 2009. *Paraserianthes falcataria* [internet]. Tersedia pada http://www.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Paraserianthes_falcataria.PDF. Diakses tanggal 28 April 2016.
- Ota, M. (2019). From joint forest management to more smallholder-based community forestry: prospects and challenges in Java, Indonesia. *Journal of Forest Research*, 24(6): 371–375. <https://doi.org/10.1080/13416979.2019.1685063>
- Pandey MK, Roorkiwal M, Singh VK, Ramalingam A, Himabindu K, Thudi M, Chitkinemi A, Rathore A, Varshney RK. 2004. Emerging genomic tools for legume breeding: current status and future prospects. *Front. Plant. Sci*. 7:455
- Pandey SP, Somssich IE. 2009. The Role of WRKY Transcription Factors in Plant Immunity. *Plant Physiol*. 150: 1648–1655
- Pang X, Liu C, Shi L, Liu R, Liang D, Li H, Cherny SS, Chen S. 2012. Utility of the trnH-psbA Intergenic Spacer Region and Its Combinations as Plant DNA Barcodes: A Meta-Analysis. *PloS ONE*. 7(11): 1–9
- Pavel AB, Vasile CI. 2012. PyElph- a software tool for gel images analysis and phylogenetics. *BMC Bioinformatics*. 13: 9
- Peakall R, Smouse PE. 2012. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. 28, 2537–2539.
- Perrenoud, S. 199. *Potassium and plant health*. IPI Research Topics No. 3, 2nd rev. edition. Basel: Int. Potash Institute

- Pfeiffer F, Grober C, Blank M, Handler C, Schultze JL, Mayer G. 2018. Systematic evaluation of error rates and causes in short samples in next-generation sequencing. *Sci rep.* 8: 10950
- [US Forest Service, Pacific Island Ecosystems at Risk] PIER. 2013. *Albizia chinensis* [internet]. Tersedia pada http://www.hear.org/pier/species/albizia_chinensis.htm. Diakses tanggal 3 Januari 2020.
- [US Forest Service, Pacific Island Ecosystems at Risk] PIER. 2018. *Falcataria moluccana* [internet]. Tersedia pada http://www.hear.org/pier/species/falcataria_moluccana.htm. Diakses tanggal 3 Januari 2020.
- Rachman E, Hani A. 2014. Pola agroforestry sengon (*Falcataria moluccana* L.) dan cabai merah keriting di dataran tinggi Ciamis Jawa Barat. *J Penelitian Agroforestry.* 2(1): 35–44
- Rahayu S, See LS, Shukor NAA, saleh G. 2018. Environmental factors related to gall rust disease development on *Falcataria moluccana* (Miq.) Barneby dan j. W. Grimes at Brumas Estate, Tawau, Sabah, Malaysia. *Appl Ecol Env Res.* 16(6): 7485–7499
- Rahayu S. 2008. Penyakit karat tumor pada sengon (*Falcataria moluccana* Miq.). Makalah penanggulangan serangan karat tumor pada tanaman sengon. 2008 Nov 19. Yogyakarta, Indonesia. Balai Besar Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan: 1–6
- Rahayu S. 2010. *Modul Pelatihan Penyakit Karat Tumor pada Sengon dan Pengelolaannya*. Yogyakarta (ID): Fakultas Kehutanan UGM.
- Rahmawati D. 2017. Evaluasi karakter morfologi, fitokimia, genetik sengon (*Falcataria moluccana*) resisten dan rentan terhadap karat puru [tesis]. Bogor (ID): Sekolah Pascasarjana IPB University
- Ridanovic L, Ridanovic S. 2007. Molecular biology of plant disease resistance to pathogen attacks. Karabegovic I, Dulecek V, Jurkovic M, editor. *Proceeding conference of the 7th International Scientific Conference on Production Engineering Development and Modernization of Production–RIM 2007*. Bihac, Okt 24–26.
- Rietra RPJJ, Heinen M, Dimkpa CO, Bindran PS. 2017. Effects of nutrient antagonism and synergism on yield and fertilizer use efficiency. *Communications in Soil Science and Plant Analysis.* 48:16, 1895-1920
- Rizqi NA. 2018. Tren produksi kayu bulat hutan alam pada unit manajemen bersertifikat PHPL wajib dan sukarela [skripsi]. Bogor: Fakultas Kehutanan IPB University
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. 2010. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics.* 26(1): 139–140
- Rohlf FJ. 2008. NTSYSpc: Numerical Taxonomy System, ver. 2.20. Setauket New York (US): Exeter Publishing, Ltd.
- Rolshausen PE, Gubler WD. 2005. Use of boron for the control of eutypa dieback of grapevines. *Plant Disease.* 89(7): 734–738
- Romeis T, Piedras P, Jones JDG. 2000. Resistance gene-dependent activation of a calcium-dependent protein kinase in the plant defense response. *The Plant Cell.* 12: 803–815



- Rozas J, Ferrer-Mata a, Sanchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sanchez-Gracia A. 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large datasets. *Mol Biol Evol.* 34: 3299–3302
- Saleh N, Hardaningsih S. 2007. Pengendalian penyakit terpadu pada tanaman kedelai. Di dalam: Sumarno, Suyanto, Widjono A, Hermanto, dan Kasim H, editor. *Kedelai: Teknik Produksi dan Pengembangan* [internet]. [Waktu dan tempat pertemuan tidak diketahui]. Bogor (ID): Pusat penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. hlm. 319–344; [diunduh 2020 Jul 6]. Tersedia pada http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id/wp-content/uploads/2016/03/dele_14.nasir_.pdf
- Salim M. 2018. *Host Plant Resistance: Concept and Significance*. Islamabad: Higher Education Commission Islamabad
- Sapariyanto, Yuwono SB, Riniarti M. 2016. Kajian iklim mikro di bawah tegakan ruang terbuka hijau universitas lampung. *J Sylva Lestari.* 4(3): 114–123
- Sari R, Prayudyaningsih R. 2015. Rhizobium: Pemanfaatannya sebagai bakteri penambat nitrogen. *Info Teknis EBONI.* 12(1): 51–64
- Savolainen O, Lascoux M, Merila J. 2013. Ecological genomics of local adaptation. *Nature Review Genetics.* 14: 807–820
- Saxena RK, Saxena KB, Pazhamala LT, Patel K, Parupalii S, Sameerkumar CV, Varshney RK. 2015. Genomics for greater efficiency in pigeon pea hybrid breeding. *Front Plant Sci.* 6: 1–7
- Schmidt R, Kunkowska AB, Schippers JHM. 2016. Role of reactive oxygen species during cell expansion in leaves. *Plant Physiol.* 172(4): 2098 - 2106
- Setiadi D, Susanto M, Baskorowati L. 2014. Ketahanan serangan karat tumor pada uji keturunan sengon (*Falcataria moluccana*) di Bondowoso, Jawa Timur. *JPHT.* 8(1): 1–13
- Shabrina H, Siregar UJ, matra DD, Kamiya K, Siregar IZ. 2019. Short Communication: DNA extraction from stored wood of *Falcataria moluccana* suitable for barcoding analysis. *Biodiversitas.* 20(6). DOI: 10.13057/biodiv/d2006xx
- Shewry PR. 2003. Tuber storage proteins. *Annals of Bot.* 91(7): 755-769
- Shih TH, Lin SH, Huang MY, Sun CW, Yang CM. 2018. Transcriptome profile of cup-shaped galls in *Litsea acuminata* leaves. *PloS ONE.* 13(10): e0205265
- Shu S, Chen B, Zhou M, Zhao X, Xia H, Wang M. 2013. De Novo Sequencing and Transcriptome Analysis of *Wolfiporia cocos* to Reveal Genes Related to Biosynthesis of Triterpenoids. *PloS ONE.* 8(8): e71350. doi:10.1371/journal.pone.0071350
- Singh DP, Singh A. 2005. *Disease and Insects Resistance in Plants*. New Hampshire (US): Science Publishers.
- Siregar UJ, Rachmi A, Massijaya MY, Ishibashi N, Ando K. 2007. Economic analysis of sengon (*Paraserianthes falcataria*) community forest plantation, a fast growing species in East Java, Indonesia. *For. Policy and Economics.* 9: 822–829
- Song BH, Mitchell-Olds T. 2011. Evolutionary and ecological genomics of non-model plants. *J Syst Evol.* 49(1): 17–24
- Song H, Wang P, Lin JY, Zhao C, Bi Y, Wang X. 2016. Genome-Wide Identification and Characterization of WRKY gene family in peanut. *Front Plant Sci.* 7: 534

- Starr F, Martz K, Loope L. 2003. *New Plant Records from the Hawaiian Archipelago*. Maui (US): Bishop Mus. Occas. Pap.
- Steele P, Gibbs M. 2018. *Crop Diseases and Their Control*. Essex: Ed Tech Press
- Storchova H, Olson MS. 2007. The architecture of the chloroplast *psbA-trnH* non-coding region in angiosperms. *Plant Syst Evol*. 268: 235–256
- Street NR, Skogstrom O, Sjodin A, Tucker J, Rodriguez-Acosta M, Nilsson P, Jansson S, Taylor G. 2006. The genetics and genomics of the drought response in populus. *The Plant J*. 48: 321–341
- Suharyanto, Rimbawanto A, Isoda K. 2002. Genetic diversity and relationship analysis on *Paraserianthes falcataria* revealed by RAPD marker. Di dalam: Rimbawanto A, Susanto M, editor. *Proceedings of International Conference on Advances in Genetic Improvement of Tropical Tree Species*. 2002. Oct 1–2. Yogyakarta (ID): Balai Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
- Sun Y, Wang M, Mur LAJ, Shen Q, Guo S. 2020. Unravelling the roles of nitrogen nutrition in plant disease defenses. *Int J Mol Sci*. 21(2): 572
- Surjosatyo, A., Dewantoro, B. R., Saragih, B. R., Nainggolan, F., Dwianto, W., & Darmawan, T. (2018). Selecting and testing of wind turbine blades of the local-wood growing fastly on local wind characteristics. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 105(1), 12095. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/105/1/012095>
- Sutton NP, Gilbert MJ, Williams LE, Hall JL. 2007. Powdery mildew infection of wheat leaves changes host solute transport and invertase activity. *Physiologia Plantarum*. 129: 787–795
- Swiderski RM, Birker D, Jones JDG. 2009. The TIR domain of TIR-NB-LRR resistance proteins is a signaling domain involved in cell death induction. *Mol Plant Microbe Interact*. 22(2): 157–165
- Syakin AM. 2014. Tingkat Keparahan dan Intensitas Penyakit Karat Tumor Tegakan Sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen) pada Hutan Rakyat di Bogor [skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Kehutanan IPB University
- Tamura K. 1992. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+C-content biases. *Mol Biol Evol*. 9: 678–687
- The UniProt Consortium. 2019. UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic Acids Res*. 47: 506–515
- [Tamil Nadu Agricultural University] TNAU. 2011. Insect ecology dan integrated pest management including beneficial insects: host plant resistance [internet]. Tersedia pada <http://eagri.org/eagri50/ENTO232/index.html> . Diakses tanggal 12 Juli 2020
- [Tamil Nadu Agricultural University] TNAU. 2011. Plant pathogens and principles of plant pathology: host plant resistance [internet]. Tersedia pada <http://eagri.org/eagri50/PATH171/lec28.pdf> . Diakses tanggal 12 Juli 2020
- Tripathi D, Jiang YL, Kumar D. SABP2, a methyl salicylate esterase is requires for the systemic acquired resistance induced by acibenzolar-S-methyl in plants. *FEBS Lett*. 584(15): 3458–3463
- Tuller J, Marquis RJ, Andrade SMM, Monteiro AB, Faria LDB. 2018. Trade-offs between growth, reproduction and defense in response to resource availability manipulations. *PloS ONE*. 13 (8): e0201873

- Unamba CIN, Nag A, Sharma RK. 2015. Next Generation Sequencing Technologies: The Doorway to the Unexplored Genomics of Non-Model Plants. *Front Plant Sci.* 6: 1074
- Untung K. 2010. *Diktat Dasar-dasar Ilmu Hama Tanaman*. Yogyakarta (ID): Fakultas Pertanian UGM
- Utama RC, Febryano IG, Herwanti S, Hidayat W. 2019. Saluran pemasaran kayu gergajian sengon (*Falcataria moluccana*) pada industri penggergajian kayu rakyat di Desa Sukamarga, Kecamatan Abung Tinggi, Kabupaten Lampung Utara. *J Sylva Lestari.* 7(2): 195–203
- Van Straalen NM, Roelofs D. 2012. *An Introduction to Ecological Genomics*. Oxford (UK): Oxford University Press
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van der Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23 (44): 07–14.
- Walters D, Walsh D, Newton A, Lyon G. 2005. Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. *Phytopathol.* 95(12): 1368–1373
- Weir B. 1990. Genetic data analysis. Methods for discrete population genetic data. Sunderland Massachusetts, (US): Sinauer Assoc. Inc. Publishers
- Weising K, Nybom H, Wolff K, Kahl G. 2005. *DNA Fingerprinting in Plants Principles, Methods, and Applications*. 2nd ed. Francis (US): CRC press.
- Werner T, Motyka V, Laucou V, Smets R., Van Onckelen H, Schmülling T. 2003. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *Plant Cell.* 15: 2532–2550.
- Wheeler DA, Srinivasan M, Egholm M, Shen Y, Chen L, McGuire A, He W, Chen YJ, Makhijani V, Roth GT, *et al.* 2008. The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature.* 452: 872–876
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18 (22): 6531–6535
- Wiryadiputra S. 2007. Epidemi penyakit tumor pada sengon (*Paraserianthes falcataria*) di Jawa Timur, Indonesia. *JIK.* 1(1):31–39
- Wong MML, Cannon CH, Wickneswari R. 2011. Identification of lignin genes and regulatory sequences involved in secondary cell wall formation in *Acacia auriculiformis* and *Acacia mangium* via *de novo* transcriptome sequencing. *BMC Genomics.* 12: 342
- Wright SI, Gaut BS. 2005. Molecular population genetics and the search for adaptive evolution in plants. *Mol Biol Evol.* 22(3): 506–519
- Xia Y, Suzuki H, Borevitz J, Blount J, Guo Z, Patel K, Dizon RA, Lamb C. 2004. An extracellular aspartic protease functions in *Arabidopsis* disease resistance signaling. *EMBO J.* 23(4) 980–988
- Xu Y. 2010. *Molecular Plant Breeding*. London (UK): CAB International

- Yanhui C1, Xiaoyuan Y, Kun H, Meihua L, Jigang L, Zhaofeng G, Zhiqiang L, Yunfei Z, Xiaoxiao W, Xiaoming Q, Yunping S, *et al.* 2006. The MYB transcription factor superfamily of Arabidopsis: expression analysis and phylogenetic comparison with the rice MYB family. *Plant Mol Biol.* 60(1):107–124
- Yazawa T, Kawahigashi H, Matsumoto T, Mizuno H. 2013. Simultaneous transcriptome analysis of sorghum and *Bipolaris sorghicola* by using RNA-seq in combination with *de novo* transcriptome assembly. *PloS ONE.* 8(4): e62640
- Yeh FC, Boyle TJB. 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian J Bot.* 129: 156–157
- Yu M, Liu K, Zhou L, Zhao L, Liu S. 2016. Testing three proposed DNA barcodes for the wood identification of *Dalbergia odorifera* T. Chen and *Dalbergia tonkinensis* Prain. *Holzforschung.* 70 (2): 127–136.
- Yuskianti V, Shiraishi S .2017. Genetic diversity of sengon (*Falcataria moluccana* (Miq.) Barneby dan J.W.Grimes) revealed using single nucleotide polymorphism (SNP) markers. *Indonesian J Forestry Res.* 4(2): 85–94
- Zabeau M, Vos P, penemu; University of Gent. 1993 Des 31. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. *European Patent Application EP 0534858*
- Zaidem ML, Groen SC, Purugganan MD. 2018. Evolutionary and ecological functional genomics, from lab to the wild. *The Plant J.* 97(1): 40–55
- Zakiah R, Siregar UJ, Hartati NS. 2017. Karakterisasi morfologi sengon (*Paraserianthes falcataria* L. Nielsen) hasil mutasi radiasi sinar gamma. *J Silvikultur Tropika.* 8(1) 41–47
- Zanzibar M. 2011. Pengaruh penuaan dan iradiasi benih dengan sinar gamma (⁶⁰Co) terhadap pertumbuhan bibit suren. *JPHT.* 8(2): 89–96
- Zhang R, Wang YH, Jin JJ, Stull GW, Bruneau A, Cardoso D, De Queiroz LP, Moore MJ, Zhang SD, Chen SY, Wang J, Li DZ, Yi TS, Smith S. 2020. Exploration of Plastid Phylogenomic Conflict Yields New Insights into the Deep Relationships of Leguminosae. *Systematic Biology.* 69(4): 613–622. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syaa013>



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

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



RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Lhokseumawe pada tanggal 5 Juni 1992. Penulis berdomisili di Kota Selong, Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat.

Pendidikan Sarjana ditempuh penulis di Departemen Silviculture Institut Pertanian Bogor dan lulus pada tahun 2015. Penulis mendapatkan kesempatan melanjutkan pendidikan pascasarjana di Institut Pertanian Bogor pada tahun yang sama melalui Beasiswa Program Pendidikan Magister menuju Doktor untuk Sarjana Unggul (PMDSU) dari Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi 2015-2019 tanpa menyelesaikan program magister. Penulis memulai perkuliahan program doktor di tahun 2016.

Selama menjalani perkuliahan, penulis juga berpartisipasi sebagai asisten praktikum mata kuliah yaitu Silviculture (S1), Genetika Hutan (S1), Pemuliaan Pohon (S1), Pemanfaatan Sumberdaya Genetik Tanaman Hutan (S2), dan Pendekatan Molekuler dalam Silviculture (S3). Bagian dari penelitian disertasi penulis telah dipublikasikan di tiga jurnal ilmiah yaitu *Data in Brief* (Scopus Q4), *Biodiversitas* (Scopus Q3), dan *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman* (Sinta 2). Selain itu, penulis juga berkesempatan mempresentasikan bagian dari disertasinya pada *International Conference on Biodiversity* (ICB) yang diadakan oleh Masyarakat Biodiversitas Indonesia pada tahun 2017. Penulis menyelesaikan studinya dengan disertasi yang berjudul “Pendekatan Genomika Ekologi untuk Pemuliaan Sengon (*Falcataria moluccana*) Resisten Karat Tumor (*Uromyces falcatariae*)” di bawah bimbingan Prof Dr Ir Iskandar Z. Siregar, MForSc; Dr Ir Ulfah J. Siregar, MAgr; dan Dr Deden D. Matra, SP, MAgr.