



PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tanaman pisang (*Musa spp.*) termasuk komoditas buah yang penting di Indonesia. Pisang memberikan sumbangan ekspor nonmigas terhadap pendapatan devisa negara. Menurut Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (2016) di Indonesia terdapat 11 provinsi sentra produksi pisang. Total produksi di Indonesia sebesar 1.9 juta ton serta peningkatannya sebesar 1.98% per tahun. Permintaan pisang yang terus meningkat mendorong pemerintah meminta Badan Usaha Milik Negara (BUMN) untuk memperluas areal pertanaman pisang. Hal ini juga sesuai arahan pemerintah Nomor 86/Permentan/OT.140/8/2013 untuk melakukan swasembada buah.

BUMN khususnya PTPN VIII sejak tahun 2014 telah menanam beberapa kultivar pisang, antara lain Cavendish, Barang, Emas Kirana, dan Raja Buluh. Hasil produksi tanaman pisang ini di harapkan dapat menopang penghasilan perkebunan. Beberapa tahun terakhir produksi pisang di kebun PTPN VIII mengalami penurunan. Faktor penyebab penurunan produksi pisang dapat dari faktor biotik, abiotik dan lingkungan. Faktor abiotik merupakan gangguan pada tanaman yang tidak menular misalnya kekurangan unsur hara, sedangkan faktor biotik yaitu adanya gangguan (OPT) yang sifatnya menular. Terlihat di lapangan penyebab dari penurunan produksi tanaman pisang disebabkan oleh patogen *Fusarium oxysporum*.

Cendawan *F. oxysporum* termasuk salah satu patogen penting pada tanaman pisang dari kelompok cendawan. Cendawan ini termasuk patogen tular tanah, yang hidup dalam jangka waktu yang panjang pada tanah karena mampu menghasilkan struktur untuk bertahan (Agrios 2005). Patogen ini terbagi beberapa ras yaitu ras 1, 2, 3 dan 4 yang diklasifikasikan menurut kemampuannya menyebabkan penyakit dalam satu kultivar pisang yang berbeda (Siamak dan Sijun 2018). Apabila dilihat dari sejarah lahan yang digunakan untuk penanaman pisang di PTPN VIII adalah tanah supresif. Lahan yang dimanfaatkan untuk penanaman pisang sebelumnya ditanam tanaman teh yang bukan termasuk tanaman inang *F. oxysporum*. Mobilitas *F. oxysporum* terbatas karena tidak dapat bergerak dengan sendirinya. Hal ini dibuktikan dari beberapa penelitian yang telah dilakukan terdapat organisme pengganggu tanaman (OPT) yang diduga berasosiasi dalam menginfeksi layu fusarium seperti kumbang, mikroorganisme tanah serta nematoda (Dita *et al.* 2018). OPT penting yang menyebabkan penyakit pada pisang dari kelompok nematoda antara lain *Radopholus* sp., dan *Meloidogyne* spp.

Menurut Morrel dan Bloom (1981) nematoda memberikan titik masuk potensial (luka) untuk cendawan. Selain itu Hwang (1980) menyatakan bahwa nematoda *Radopholus similis* membantu *F. oxysporum* untuk menginfeksi tanaman pisang. Berdasarkan penelitian-penelitian yang dilakukan sebelumnya, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan bagaimana peran faktor biotik dan hubungan kedua patogen dalam proses *F. oxysporum* menginfeksi tanaman pisang.

Penelitian ini bertujuan menganalisis kelimpahan *F. oxysporum* dan fitonematoda di dalam tanah pada tanaman pisang yang sehat dan terserang layu fusarium dengan pendekatan kuantitatif serta melihat korelasi hubungan keduanya dengan keparahan penyakit yang terjadi di lapangan.

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 kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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



Tujuan Penelitian

- Penelitian ini bertujuan :
1. Mendapatkan data kelimpahan *F. oxysporum* dan fitonematoda pada tanah tanaman pisang dengan tingkat keparahan penyakit layu fusarium yang berbeda.
 2. Mendapatkan korelasi antara populasi *F. oxysporum* dengan fitonematoda terhadap tingkat keparahan penyakit layu fusarium.

Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah kehadiran fitonematoda dalam tanah akan semakin meningkatkan keparahan penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh *F. oxysporum*. Semakin tinggi populasi fitonematoda semakin tinggi pula tingkat keparahan penyakit layu fusarium di pertanaman pisang.

Manfaat Penelitian

Hasil dari data antara kuantitas *F. oxysporum* dan fitonematoda pada tingkat keparahan penyakit yang berbeda pada pertanaman pisang terjadi di lapangan diharapkan menjadi bahan pertimbangan untuk pengendalian layu fusarium di lapangan.

Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini meliputi :

1. Kejadian penyakit layu fusarium di lokasi PTPN VIII Parakansalak cukup tinggi, padahal lahan yang digunakan untuk budidaya tanaman pisang sebelumnya tidak ditanami pisang.
2. Ada rumpun tanaman yang masih sehat dan ada rumpun yang keparahannya rendah dan ada rumpun yang keparahan penyakitnya tinggi.
3. Penyebab terjadinya perbedaan tingkat keparahan penyakit antar rumpun pertanaman pisang belum diketahui.
4. Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa kehadiran fitonematoda turut meningkatkan keparahan penyakit layu fusarium di lapangan.

Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian meliputi isolasi *F. oxysporum* dan isolasi fitonematoda dari pertanaman pisang dan menganalisis kelimpahannya (Gambar 1).

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 kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

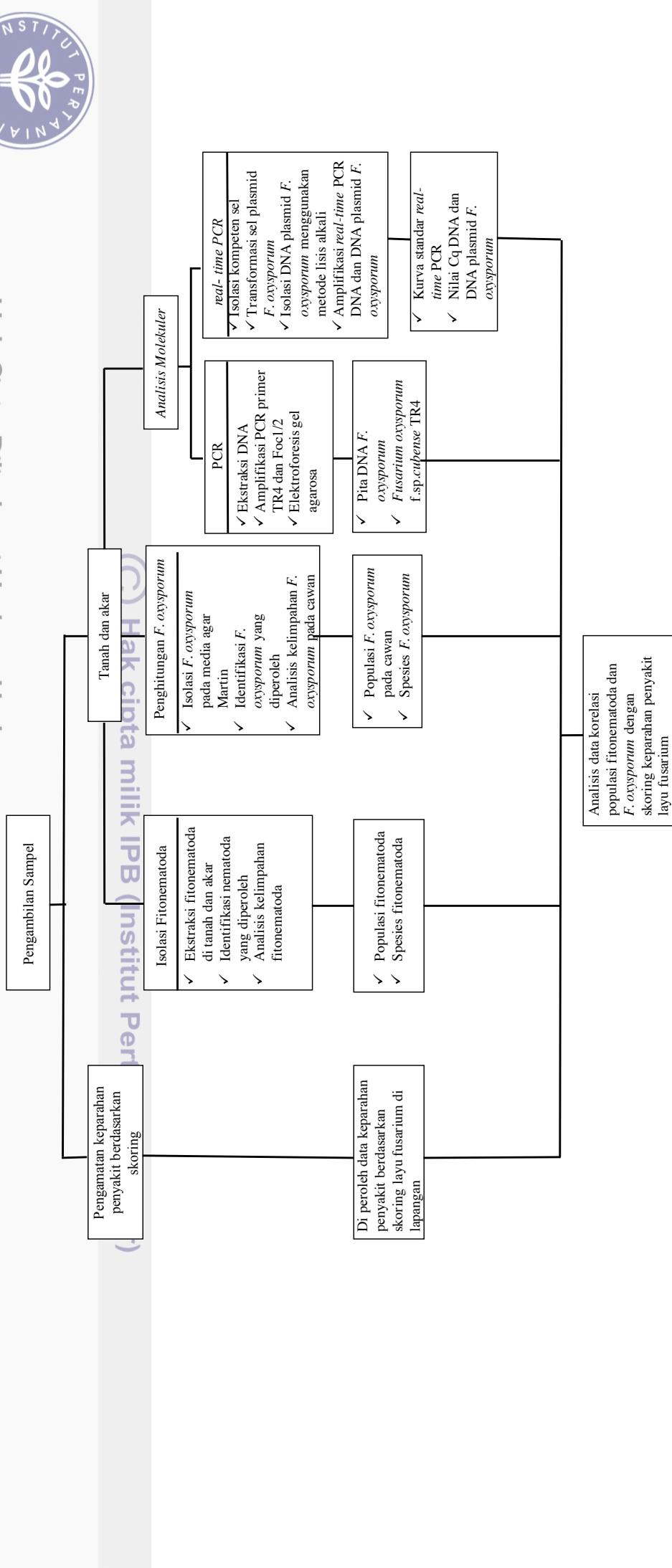
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

© Hak Cipta milik Institut Pertanian Bogor

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



- 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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

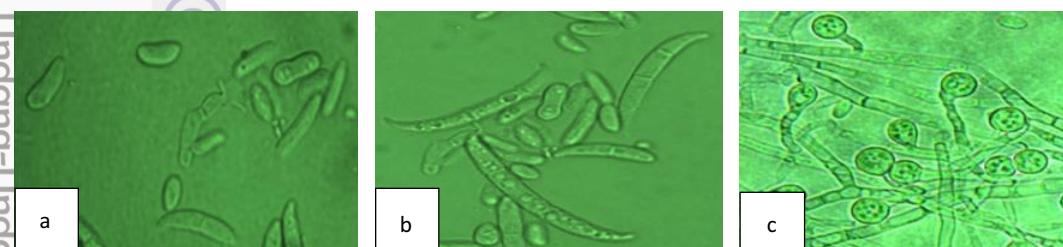


Gambar 1. Diagram alir penelitian yang dilakukan

TINJAUAN PUSTAKA

Deskripsi *F. oxysporum*

F. oxysporum dapat ditemukan pada akar, bonggol dan batang palsu tanaman pisang sakit layu fusarium. Umumnya patogen ini menyerang tanaman pisang yang berumur muda. Klasifikasi dari *F. oxysporum* pada situs CABI, patogen ini termasuk kelompok cendawan filum Ascomycota, kelompok Nectriaceae dan genus *Fusarium*. Cendawan patogen ini mempunyai koloni pada media PDA mencapai diameter 3.5-5.0 cm. Francis dan Burgess (1975) menyatakan bahwa cendawan *F. oxysporum* hidup di tanah dan tersebar di seluruh dunia, beberapa spesiesnya terbatas di daerah tropis dan beberapa dominan di daerah beriklim sedang. Cendawan *F. oxysporum* menghasilkan 3 jenis spora aseksual yaitu klamidospora, makrokonidia dan mikrokonidia.



Gambar 2. Morfologi *F. oxysporum* penyebab penyakit layu fusarium pada pisang. (a) Spora patogen *F. oxysporum*, (b) makrokonidia dan mikrokonidia *F. oxysporum*, (c) Hifa patogen *F. oxysporum* (Dita 2018).

Klamidospora dapat berupa hifa atau konidia, berdinding halus hingga agak kasar, berbentuk semi bulat dengan diameter $5.0 \times 15 \mu\text{m}$. Mikrokonidia bersel tunggal, tidak bersekat, tidak berwarna, berdinding tipis, bentuknya bulat telur sampai lurus dengan ukuran $2-5 \times 2.3-3.5 \mu\text{m}$. Makrokonidia berbentuk lancip, ujungnya melengkung seperti bulan sabit, bersekat 3-5 dengan ukurannya $20-46 \times 3.2-8 \mu\text{m}$. Walduck dan Daly (2007) menyatakan spora yang diproduksi oleh *F. oxysporum* dapat ditemukan dalam jaringan pembuluh tanaman. Patogen ini hidup bersifat kosmopolit dan termasuk saprofit tanah dapat bersifat patogen pada banyak tumbuhan dan dapat tumbuh dalam lingkungan anaerob serta mempunyai arti ekonomi penting (Gandjar 1999).

Menurut Ploetz dan Pegg (2000) *F. oxysporum* terbagi atas beberapa ras, mengikuti respons kultivar tanaman pisang. Ras yang telah dikonfirmasi ada 4 yaitu strain ras 1 penyebab penyakit pada tanaman pisang Gros Michel (AAA), strain ras 2 menyerang pisang kultivar Bluggoe. Menurut Waite (1963) strain ras 3 dilaporkan dapat menginfeksi spesies *Heliconia*, kultivar pisang Gros Michel dan benih *Musa balbisiana*. Ras 4 menyerang kultivar pisang Cavendish yang awalnya ditemukan di Australia, Pulau Canary dan Afrika Selatan Ras 4 sering juga disebut dengan *tropical race 4* (TR4) yang paling membahayakan karena tingkat virulensi yang tinggi (Ploetz *et al.* 1990).

- 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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Dalam beberapa penelitian TR4 dipengaruhi faktor lingkungan seperti faktor predisposisi, seperti suhu rendah di subtropik dan faktor edapik di daerah tropis (Ploetz 2005). TR4 juga menyerang kultivar rentan pada ras 1 dan ras 2 seperti Barang (AAA) dan pisang Emas. Menurut Ploetz (2009) strain *F. oxysporum* tidak dapat dikontrol menggunakan fungisida dan fumigan, karena *F. oxysporum* TR4 dapat bertahan bertahun-tahun di dalam tanah dan dapat menginfeksi inang secara luas. Hal ini menjadikan alasan mengapa layu fusarium sebagai ancaman besar untuk produksi pisang.

Lievens *et al.* (2008) menyatakan apabila dilihat secara morfologis akan sulit dibedakan strain patogenik dan non patogenik. Oleh karena itu identifikasi forma spesialis sangat dibutuhkan. Hingga saat ini identifikasi strain *F. oxysporum* menggunakan uji patogenitas dan pengujian VCG (*Vegetative Compatibility Group*). Identifikasi keragaman *F. oxysporum* secara molekuler yang dilakukan oleh Dita *et al.* (2010) dengan mendiagnosa patogen *F. oxysporum* TR4 pada pisang menggunakan 2 pasang primer yaitu Foc1/Foc2 dan TR4R/TR4F dan amplifikasi dengan PCR multipleks. Hasil yang diperoleh dari prosedur tersebut dapat menjadi pilihan terbaik untuk mendeteksi dan pemantauan TR4 dengan cepat dan handal, untuk mendukung penanggulangan layu fusarium dan karantina.

Gejala Penyakit Layu Fusarium

Penetrasi dimulai pada saat miselia masuk ke dalam korteks dalam jaringan intraseluler (Bishop dan Cooper 1983). Proses penetrasi kemungkinan ditingkatkan oleh enzim hidrolisa tertentu yang disekresikan oleh *F. oxysporum* (Walter *et al.* 2009). Cendawan ini menginfeksi lewat akar lateral atau cabang-cabang pendek akar lalu melakukan penetrasi ke dalam jaringan pengangkutan dan berkembang luas dalam jaringan xilem (Brown dan Ogle 1997). Miselia membentuk mikrokonidia dan menyebar mengikuti aliran transpirasi lalu berkecambah kembali dan menembus jaringan tanaman lainnya untuk meningkatkan infeksi (Schnathorst 1981).

Mengikuti hipotesis Dickman (2004) bahwa cendawan melepaskan toksin ke dalam sel tanaman dan membunuh sel-sel jaringan tanaman dengan memicu proses kematian alami sel terprogram, dengan menghilangkan sel-sel yang tidak diinginkan dan menyebabkan jaringan tanaman rusak dan membusuk. Selain itu, Semangun (2001) menyatakan cendawan mengeluarkan toksin yang dapat mengganggu permeabilitas membran plasma tanaman dan menimbulkan gejala layu. Ding *et al.* (2018) menyatakan bahwa asam fusarat (FA) bersifat sangat fitotoksin dan dapat menginduksi *F. oxysporum* menyebabkan penyakit layu fusarium. Hasil dari percobaan yang dilakukan, FA berperan dalam virulensi dan sumber nitrogen mengatur biosintesis FA di *F. oxysporum*. Hifa menyebar dalam apoplast sel menyebabkan perubahan sitologi yang signifikan dan menimbulkan gejala (Walter *et al.* 2009).

Kombinasi penyumbatan pembuluh oleh miselia yang mengganggu aliran air tanaman dan menghancurkan pembuluh xilem. Hal tersebut menyebabkan sel mengalami tilosis yang merupakan respon pertahanan tanaman terhadap patogen. Kiswanti (2010) menyatakan bahwa patogen *F. oxysporum* pertama kali akan menyebabkan layu pada daun, yang disebabkan oleh banyak faktor antara lain umur daun, kondisi kesuburan tanaman dan akibat patogen itu sendiri.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kr
 - Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Gambar 3 Gejala tanaman pisang yang terserang *F. oxysporum*, penyebab layu fusarium. (a) daun mengering, (b) pelepas pecah, dan (c) batang dipotong membujur terlihat garis coklat (David 2018).

Layu fusarium terlihat mulai tampak pada tanaman pisang yang berumur 5-10 bulan. Bagian bawah daun berwarna kuning oranye lalu menjadi cokelat dan mengering, tangkai daun patah, perubahan bentuk dan ukuran ruas daun yang baru muncul yaitu lebih pendek (Kiswanti 2010). Gejala yang paling khas yaitu jika pangkal batang dibelah membujur, terlihat garis-garis cokelat kehitaman dari batang (bonggol) di jaringan pembuluh ke pangkal daun dan tangkai akar berwarna hitam dan membusuk (Semangun 2007).

Teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan teknik perbanyak sekuen DNA utas tunggal secara *in vitro* yang berlangsung cepat dengan enzim DNA polimerase (Sambrook dan Russel 2001). Prinsip dari PCR yaitu perbanyak segmen DNA spesifik dengan pelekatan dua jenis primer yang berkomplementer pada sekuen gen target. Dua primer akan melekat pada untaian DNA target, sehingga untaian DNA dapat melakukan pemanjangan (Lodish *et al.* 2004). Teknik PCR memerlukan beberapa komponen yaitu DNA kromosom yang mengandung gen target, DNA polimerase untuk perbanyak gen baru menggunakan primer oligonukleotida, *kation bivalen* ($MgCl_2$) berfungsi sebagai aktifator dan membantu pada proses penempelan, *buffer PCR* membantu dalam menjaga kestabilan pH dan *deoxysiribonukleoside Triphospates* (dNTPs) merupakan basa-basa nukelotida untuk sintesis DNA yang baru (Sambrook dan Russel 2001).

Proses amplifikasi PCR merupakan proses yang berulang meliputi denaturasi, *annealing* dan *elongasi*. Sepasang primer akan digunakan untuk memberikan tanda *hybrid* dengan ujung 5' menuju ujung 3'. Siklus PCR terdapat 30-35 siklus (Fachtiyah *et al.* 2011). Tahap denaturasi terjadi pada suhu 90 °C-94 °C dimana untaian ganda DNA akan terpisah menjadi untai tunggal dan seluruh proses enzimatis akan berhenti. Selanjutnya tahapan pelekatan primer ke sekuen komplementer pada sisi sekuen gen target, terjadi pada suhu 50 °C-65 °C. Proses *annealing* sebaiknya terjadi pada suhu di bawah T_m (*Temperature Melting*) yaitu pada suhu 5-10 °C. Proses *elongasi* terjadi pada suhu 72 °C merupakan proses perpanjangan untaian DNA yang diawali dengan perpanjangan primer oleh DNA *polymerase* yaitu Taq DNA *polymerase*, dari arah 5' ke 3' (Klug dan Chummings 1994).

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 kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Elektroforesis adalah teknik pengukuran laju perpindahan molekul bermuatan dalam medium gel agarosa, dan medium cair (larutan *buffer*) pada muatan listrik. Teknik ini digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mempurifikasi fragmen DNA. Kecepatan gerakan molekul dipengaruhi oleh muatan listrik dan laju molekulnya. Molekul DNA memiliki kutub negatif sehingga akan berpindah pada kutub positif (Klug dan Chummings 1994). Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas perpindahan molekul DNA dalam hasil pemisahan konsentrasi agarosa yaitu ukuran molekul DNA, voltase dan suhu. Proses elektroforesis gel agarosa diperlukan pewarnaan *Gel Red* untuk menentukan panjang fragmen DNA hasil elektroforesis. Pewarnaan tersebut dapat memberikan efek fluoresen pada DNA, dan dapat diukur menggunakan DNA penanda standar (Fatchiyah *et al.* 2011).

Teknik *Real-Time PCR*

Real-time PCR dapat dilakukan untuk pengamatan pada saat reaksi berlangsung. DNA hasil amplifikasi dapat dilihat pada grafik yang muncul sebagai hasil akumulasi flourensensi dari penanda yang digunakan. Teknik ini tidak memerlukan tahap elektroforesis sehingga tidak membutuhkan gel agarosa (Fatimi 2010). Menurut Bleve *et al.* (2003) primer yang digunakan dalam teknik *real-time* PCR spesifik sehingga elongasi salinan DNA sesuai dengan DNA target tertentu. Menurut Levin (2004) *real-time* PCR memungkinkan setiap siklus amplifikasi DNA diobservasi dengan sistem komputer untuk melihat sekuen dari hasil PCR tersebut. Penanda fluoresen akan menghasilkan sensitivitas yang berikatan dengan DNA target yang dikenal.

Selama uji *real-time* PCR akan dilakukan tahapan-tahapan umum seperti isolasi DNA atau RNA dan analisis data. Prinsip kerja mendeteksi dan menguantifikasi fluoresen, reaksi selama fase eksponensial. Peningkatan hasil amplifikasi PCR pada fase eksponensial berhubungan dengan jumlah inisiasi target gen, makin tinggi tingkat ekspresi gen deteksi emisi fluoresen makin cepat terjadi (Pardal 2010).

Pada awal fase eksponensial dalam uji *real-time* jumlah siklus amplifikasi diperlukan untuk menghasilkan produk *real-time* PCR berdasarkan fluoresen untuk melewati garis ambang siklus *threshold* (*C_t*). Nilai *C_t* akan berkorelasi dengan kuantitas urutan DNA target yang diuji (Giglio *et al.* 2003). Terdapat 2 tahap pada reaksi *real-time* PCR yaitu *one step real-time* PCR dan *two step real-time* PCR. *One step real-time* PCR memungkinkan dapat meminimalkan variasi perlakuan laboratorium karena reaksi kedua enzim terjadi dalam satu tabung.

Prosedur *real-time* PCR dua tahap akan bekerja lebih baik ketika menggunakan suatu DNA *binding dye* seperti SYBR green I karena akan lebih mempermudah untuk mengeliminasi primer-dimer melalui manipulasi Tm. SYBR green I yaitu DNA *binding dye* yang memiliki kemampuan mengikat 100 kali lebih tinggi dan lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan senyawa ethidium bromide. SYBR green I lebih mudah digunakan karena tidak memerlukan probe yang spesifik dan biaya yang terjangkau (Vandesompele *et al.* 2002).

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 kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.



Asosiasi Nematoda dan *F. oxysporum*

Menurut Yulipriyanto (2010) setiap tanah mempunyai populasi organisme yang berbeda dan membentuk ekosistem. Dalam satu ekosistem mikroba dapat hidup dan berkompetisi dalam memperoleh ruang, oksigen, air, hara dan kebutuhan hidup lainnya. Interaksi ini dapat terjadi secara simbiotik atau non simbiotik antara mikroba. Agus dan Subiksa (2008) menyatakan bahwa organisme tanah terdapat di serasah organik atau lapisan permukaan tanah dan horizon tanah biasanya diatur oleh temperatur, kandungan air dan tekstur tanah. Distribusi organisme tanah mempunyai hubungan erat dengan pori tanah, partikel tanah dan akar tanaman.

Menurut Back *et al.* (2002) kejadian penyakit yang kompleks karena adanya sinergi interaksi antara dua organisme. Sinergi interaksi yang positif ketika asosiasi antara nematoda dan cendawan menyebabkan keparahan yang tinggi. Sebagai contoh yang dilakukan oleh Atkinson (1892) mengobservasi layu fusarium pada kapas yang disebabkan oleh *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* keberadaannya berbanding lurus dengan adanya nematoda *Meloidogyne* spp.

Mekanisme interaksi fitonematoda dan cendawan dikemukakan oleh Back *et al.* (2002). Fitonematoda dapat menyebabkan berbagai jenis luka, sebagai contoh nematoda ektoparasit memakan sel-sel epidermis akar dan meninggalkan luka tipe *micropuncture* sederhana. Sedangkan nematoda endoparasit jauh lebih mengganggu akar inangnya karena menyerang sel raksasa (*syncytia*) yang diketahui zona metabolisme tinggi dan badan golgi serta mitokondria. Sel-sel tersebut dapat menjadi substrat untuk kolonisasi cendawan (Jones 1981). Contohnya *Pratylenchus* spp. adalah nematoda lesi akar kelompok endoparasit yang bergerak secara intraseluler melalui korteks akar dengan memotong dinding sel dengan stiletnya untuk membuat jalur.

Taylor (1990) menyatakan saluran invasi nematoda sebagai faktor penting dalam etiologi penyakit yang disebabkan oleh cendawan. Terdapat beberapa laporan bahwa kerusakan yang disebabkan oleh nematoda berperan dalam pembentukan dan perkembangan penyakit oleh patogen tular tanah. Orion *et al.* (1999) menyatakan bahwa miselium dari cendawan terdapat saluran invasi dan lesi yang disebabkan oleh nematoda *Helicotylenchus multicinctus*.

Penelitian yang dilakukan oleh Almeida *et al.* (2018) mengidentifikasi keberadaan fitonematoda pada pertanaman pisang diverifikasi adanya korelasi dengan layu fusarium yang didukung oleh keadaan tanah seperti pH, tekstur, nutrisi. Populasi nematoda yang dominan adalah *Meloidogyne* sp. dan *Rotylenchus* sp. pada penelitian tersebut keberadaan *Pratylenchus* dapat meningkatkan populasi dari *F. oxysporum*. Meldrum *et al.* (2013) melaporkan bahwa kutu hitam *Cosmopolites sordidus* dapat membawa spora *F. oxysporum* TR4 pada eksoskeletonya. Nematoda mungkin berperan pada layu fusarium pada pisang, dibuktikan dari co-infeksi *R. similis* dengan *F. oxysporum* dalam kultivar rentan Gros Michel tidak memiliki keparahan penyakit yang signifikan berbeda pada kultivar Cavendish yang rentan. (Chaves *et al.*, 2014).

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 kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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



BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Nematologi Tumbuhan Departemen Proteksi Tanaman IPB dan Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Al Azhar Indonesia Jakarta. Sampel tanah dan akar tanaman pisang diperoleh dari perkebunan PTPN VIII yang terletak di Kecamatan Parakansalak, Kabupaten Sukabumi - Jawa Barat. Penelitian dimulai pada bulan Maret 2018 sampai bulan Desember 2019.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu erlenmeyer, timbangan analitik, *autoclave* (*EYELA autoclave MAC-501*), tabung *Ependorf*, *grinder*, mikropipet (*glison*), sentrifugasi (*Thermo scovall legend micro17*), mesin pendingin (*Modena*), gelas ukur, penangas elektrik, mesin elektroforesis (*Powerpac basic Bio-Rad*), cetakan agarosa, kotak steroform, mesin PCR (*MWG Biotech Primus 96 plus*), spektrofotometri UV (*UV star Biotrema 312mm*), thermal cycler *real-time* PCR, cawan petri, mikroskop streoskopik dan compound, corong baerman modifikasi, *mist chambers* dan saringan nematoda (20, 50, dan 500 mesh), pengait nematoda, bor tanah, cawan petri.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel jaringan akar pisang yang sakit dan sehat, tanah sekitar perakaran, *aquadest*, larutan spiritus, alkohol 90%, aluminium foil, plastik wrap, larutan natrium hipoklorid, kapas, nitrogen cair, PVP, CTAB, isopropanol, buffer TE, Na-asetat, etanol absolut, kloroform, isoamilalkohol, *Nuclease Water Free*, TBE, agarosa, marker DNA, master mix primer Foc1/2 set (*forward* dan *reverse*) (Tabel 1). KAPA SYBR FAST qPCR Kit Master Mix (2x) ROX Low, alkohol 70%, air, parafin, FAA, bor tanah, gelas plastik bersaring, media martin.

Tabel 1 Urutan nukleotida primer amplifikasi PCR dan *real-time* PCR untuk *F. oxysporum* TR4

Nama Primer	Urutan Nukleotida	Referensi
Foc1/F	5'-CAGGGGATGTA TGAGGAGGCT-3'	Dita <i>et al.</i> (2010)
Foc2/R	3'-GTGACAGCGTCGTCTAGTTCC-5'	Dita <i>et al.</i> (2010)

Metode Penelitian

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara purposif pada tanaman pisang varietas Emas Kirana. Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 25 sampel tanah perakaran tanaman pisang. Sampel diambil pada 5 blok berbeda, sebagai ulangan. Dari tiap blok diambil sampel pada tanaman dengan 5 tingkat/skor keparahan penyakit yang berbeda. Selanjutnya 25 sampel tersebut dikelompokkan sesuai dengan skor keparahan penyakit sumbernya.

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 kr

- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.



Sampel dengan skor yang sama dari blok berbeda dikompositkan untuk pengujian selanjutnya. Pengambilan sampel skoring keparahan penyakit dengan kriteria skoring mengikuti Mak *et al.* (2004) sebagai berikut :

Tabel 2 Skoring keparahan penyakit layu fusarium pada pisang sebagai dasar pengambilan sampel di lapangan

Skala	Keterangan
0 (kontrol)	Tidak ada warna kuning pada daun, tanaman sehat
1	Sedikit penguningan pada daun bagian bawah
2	Penguningan pada sebagian besar daun bagian bawah
3	Penguningan meluas pada sebagian besar daun
4	Tanaman mati

Isolasi dan Penghitungan Fitonematoda pada Tanah di Pertanaman Pisang

Ekstraksi Fitonematoda dari Tanah

Ekstraksi nematoda dari sampel tanah dilakukan dengan metode flotasi sentrifugasi menurut Luc *et al.* (2001). Sebanyak 100 g sampel tanah dimasukkan ke dalam wadah yang berisi 800 ml air diaduk dan didiamkan selama 20 detik. Air kemudian dituang ke dalam ember plastik menggunakan saringan 20 mesh dan didiamkan selama 1 menit. Setelah itu suspensi disaring kembali menggunakan saringan 500 mesh dan 400 mesh dengan posisi agak miring.

Suspensi nematoda hasil saringan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Larutan bening dibuang dan bagian tanah ditambahkan larutan gula 40%, dihomogenkan lalu disentrifugasi kembali dengan kecepatan 1700 rpm selama 1 menit. Suspensi disaring menggunakan saringan 500 mesh, lalu dibilas dengan air dan dituang ke dalam botol koleksi.

Ekstraksi fitonematoda dari Akar

Ekstraksi nematoda akar menggunakan metode pengabutan (*mist chamber*). Sebanyak 5 g akar pisang yang terinfeksi layu fusarium dibersihkan dengan air kemudian akar dipotong sepanjang ± 1 cm. Akar diletakkan di atas saringan kasar, lalu diletakkan pada corong yang telah dilengkapi dengan gelas plastik untuk menampung suspensi nematoda. Nematoda yang tertampung di wadah plastik dalam tempat pengabutan selama 48 jam, setelah itu nematoda dipanen menggunakan saringan 500 mesh dengan posisi agak miring. Hasil saringan disimpan di botol koleksi untuk identifikasi (Luc *et al.* 2001).

Identifikasi dan Penghitungan Kelimpahan Fitonematoda

Identifikasi fitonematoda sampai tingkat genus didasarkan pada ciri morfologi secara urut dari anterior (kepala) ke posterior (Eisenback 2003). Penghitungan nematoda dilakukan dengan mengamati suspensi nematoda diletakkan pada cawan sirokus, kemudian jumlah nematoda dihitung di bawah mikroskop. Jumlah sampel diambil 1 ml tiap perhitungan dan dilakukan 3 kali ulangan. Rumus kelimpahan fitonematoda menurut Norton (1978) dan selanjutnya dikonversi ke per g tanah.

- 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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



$$\text{Populasi absolut (PA)} = \sum_{i=0}^n \frac{\left(\frac{PxV_i}{v}\right)}{n}$$

P : Populasi spesies fitonematoda teramati

V: Volume suspensif fitonematoda hasil ekstraksi

v : Volume suspensif fitonematoda

n : Jumlah pengamatan tiap sampel (ulangan)

Isolasi dan Penghitungan *F. oxysporum* pada Tanah Tanaman Pisang

Metode Cawan Tuang

Isolasi cendawan dilakukan pada sampel tanah rizosfer, dengan pengenceran berseri. Pengenceran dengan membuat suspensi tanah dalam air steril dengan perbandingan 1:100 berat tanah per volum air. Dari suspensi ini diambil 1 ml dan dimasukkan ke tabung reaksi berisi air steril 9 ml, hingga pengenceran ketiga. Sebanyak 0.1 ml suspensi diambil dari masing-masing pengenceran dan disebar pada permukaan media *Martin Agar* (MA) dengan menggunakan kaca penyebar. Hasil pencawangan kemudian diinkubasi pada suhu 27 °C selama 3-5 hari dengan posisi terbalik (Smith dan Dawson 1944). Identifikasi dilakukan dengan melihat karakter morfologi, warna dan tipe koloni serta bentuk konidia. Isolat yang memenuhi karakter sebagai *F. oxysporum* diberi tanda dan dihitung jumlah koloninya, selanjutnya digunakan untuk menghitung propagul *F. oxysporum* dalam tanah tersebut dengan menggunakan rumus berikut. Hasil yang diperoleh selanjutnya dikonversi ke g tanah.

$$\text{CFU/ml} = \frac{\text{Jumlah rata-rata koloni}}{\text{Volum inkokulum} \times \text{faktor pengenceran}}$$

Metode Molekuler

Ekstraksi DNA dari Tanah

Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode CTAB (Delaporta *et al.* 1983) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 1 g sampel tanah hasil penggerusan masing-masing dipindahkan ke 1.5 ml tabung koleksi yang berisi 1 ml buffer ekstraksi (CTAB) yang telah dihangatkan sebelumnya. Campuran larutan divortex kemudian dipanaskan pada suhu 65 °C selama 2 jam dengan dibolak-balik tiap 15 menit. Selanjutnya dibiarkan pada suhu ruang selama 3-5 menit, lalu ditambahkan larutan kloroform:isoamilalkohol (24:1) sebanyak 700 µl.

Tahap selanjutnya larutan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Supernatan yang dihasilkan diambil lalu ditambahkan 330 µl larutan isopropanol lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu -30 °C. Setelah itu disentrifugasi kembali dengan kecepatan 13.000 rpm selama 10 menit. Pelet diambil dan dicuci dengan 200 µl larutan TE lalu dicampur sampai larut selanjutnya diinkubasi selama 30 menit.

Pelet ditambahkan dengan Na-asetat 3 M pH 5.2 sebanyak 17 µl, lalu ditambahkan 300 µl 95% etanol absolut dingin kemudian disimpan pada suhu dalam lemari pendingin selama 30 menit. Campuran disentrifugasi kembali selama 5 menit dengan kecepatan 10.000 rpm, peletnya dicuci dengan etanol 70%

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kr
 - Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



sebanyak 1 ml. Larutan etanol dibuang, pelet yang tersisa dikeringanginkan dan ditambahkan larutan TE sebanyak 100 μ l dan diinkubasi pada suhu -20 °C.

Amplifikasi PCR dan Visualisasi Hasil PCR

Amplifikasi DNA menggunakan metode Dita *et al.* (2010) campuran PCR sebanyak 132 μ l mengandung 75 μ l GoTaq Green Master Mix 2x, 6 μ l 50 pmol primer *forward* dan *reverse*, 1 μ l DNA 15 ng per μ l dan ditambahkan air sampai 45 μ l. Optimasi PCR meliputi pre denaturasi pada 95 °C selama 5 menit, kemudian diikuti 35 siklus dengan denaturasi pada 95 °C selama 60 detik, *annealing* 58 °C selama 60 detik dan elongasi pada 72 °C selama 3 menit.

Visualisasi hasil PCR dilakukan dengan elektroforesis gel menggunakan gel agarosa 0.8%. Hasil isolasi DNA dicampur dengan *loading buffer* sebanyak 1 μ l. Setelah itu, hasil campuran diambil sebanyak 1 μ l dimasukkan ke dalam sumur pada *agarose gel*, kemudian dialirkan arus listrik dengan tegangan sebesar 75 V selama 30 menit. DNA isolat cendawan pada gel agarosa diamati dengan menggunakan transluminator ultraviolet.

Pembuatan Kurva Standar *real-time* PCR

Jumlah absolut *copy number* dari *F. oxysporum* pada sampel diukur dengan menggunakan teknik *real-time* PCR. Nilai absolut diperoleh dengan mendesain kurva standar *real-time* PCR yang dibuat dengan melakukan perhitungan konsentrasi fragmen gen *F. oxysporum* terpilih dan disisipkan ke dalam plasmid. Untuk itu dilakukan transformasi plasmid berisi fragmen DNA *F. oxysporum* terpilih, sebelum melakukan analisis kuantitatif menggunakan *real-time* PCR.

Sel Kompeten Bakteri DH5 alpha dan Transformasi Sel

Sel bakteri DH5 alpha ditumbuhkan pada media Luria Bertani (LB) dan diinkubasi selama 24 jam dengan di goyangkan dengan suhu 34 °C, kemudian bakteri diremajakan kembali mengikuti langkah sebelumnya. Sel dikoleksi dengan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm pada suhu 4 °C lalu supernatan dibuang. Sel yang diperoleh di resuspensi dengan 0.1ml CaCl₂ dan 15% gliserol lalu diinkubasi pada suhu -48 °C (Chang *et al.* 2017).

Sel yang diperoleh dari metode kompeten sel diletakkan dalam es dibiarkan pada suhu ruang sampai cair dengan sendirinya. Sel ditambahkan plasmid rekombinan yang mengandung insersi gen sistesis spesifik *F. oxysporum* sebesar 40 ng per μ l sebanyak 5 μ l lalu dilakukan *heat-shock* menggunakan *waterbath* yang telah diatur suhunya 42 °C selama 45 detik. Setelah itu, diinkubasi dalam es selama 20 menit lalu ditambahkan 500 μ l media LB dan disentrifugasi selama 60 detik dan supernatan dibuang. Media LB ditambahkan kembali sebanyak 500 μ l selanjutnya digoyangkan dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 37 °C selama 2 jam, lalu ditanam pada media LB agar diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C (Chang *et al.* 2017).

Isolasi DNA Plasmid dengan Alkaline Lysis.

Sel transformasi di kultur dalam media LB selama 24 jam dengan digoyangkan. Lalu disentrifugasi 14.000 rpm selama 1 menit dan supernatan dibuang. Larutan buffer I ditambahkan sebanyak 150 μ l dan divortex sampai homogen. Selanjutnya ditambahkan 200 μ l buffer lisis II disentrifugasi 14.000 rpm

- 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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



selama 5 menit supernatan diambil. Selanjutnya ditambahkan buffer lisis III dan isopropanol sebanyak 300 μ l lalu diinkubasi pada suhu -80 °C selama 30 menit. Larutan solusi disentrifugasi kembali dengan kecepatan yang sama, supernatan dibuang dan ditambahkan 600 μ l EtOH 70% disentrifugasi kembali. Supernatan yang dihasilkan dibuang, pelet yang dikeringanginkan lalu ditambahkan 40 μ l TE pH 8.0.

Analisis Kuantitatif *real-time* PCR

Kuantitatif *real-time* PCR menggunakan metode Dita *et al.* (2010). Campuran *real-time* PCR sebanyak 275 μ l mengandung *mastermix reagen SYBR Green qPCR* sebanyak 137.5 μ l, primer *forward* dan *reverse* 11 μ l dan ddH₂O 22 μ l, DNA yang digunakan masing-masing sebanyak 2 μ l. Program *real-time* PCR meliputi pre denaturasi pada 95 °C, kemudian diikuti 40x siklus dengan denaturasi pada 95 °C selama 10 detik, *annealing* 58 °C selama 10 detik dan *elongasi* pada 72 °C selama 15 detik. Pre *melt-hold* dengan suhu 72 °C selama 3 menit. Estimasi jumlah sel plasmid dari *F. oxysporum* dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Copies number plasmid} = \frac{\text{Amount (ng)} \times 6022 \times 10^{23}}{\text{Length plasmid (bp)} \times 1 \times 660 \times 10^9}$$

Amount (ng)
6022 $\times 10^{23}$

: berat DNA yang digunakan

: nilai konstanta

Length plasmid (bp)
660 $\times 10^9$

: panjang plasmid yang digunakan pada transformasi sel

: nilai konstanta

Analisis Statistik

Perhitungan dan analisis statistik menggunakan analisis regresi dan korelasi pada software Microsoft Excel. Aplikasi PLS-SEM (*Partial Least Square Structural Equation Model*) untuk melihat hubungan antara kelimpahan *F. oxysporum*, fitonematoda dan keparahan penyakit.

1.

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

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kr
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

Hak Cipta
Dilindungi Undang-Undang

© Hak cipta milik IPB Institut Pertanian Bogor)

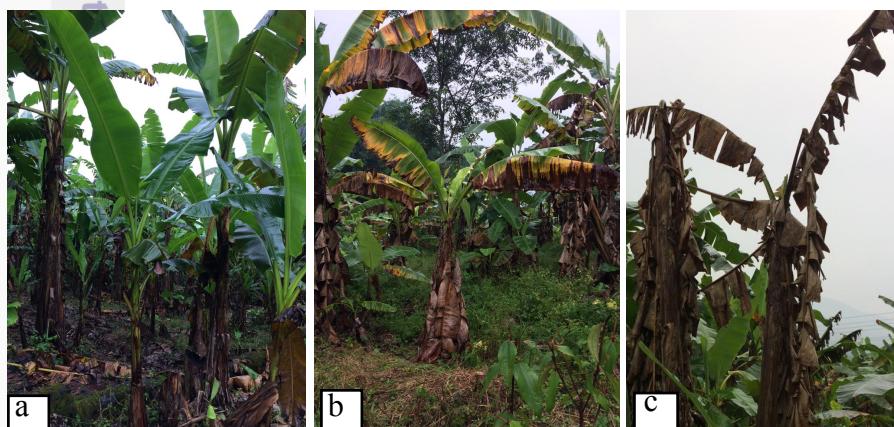
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Pertanaman Pisang dan Keparahan Penyakit Layu Fusarium di Lapangan

PTPN VIII merupakan perusahaan yang bergerak dalam bidang agroindustri. Komoditi utama yang dibudidayakan perusahaan ini yaitu tanaman teh sebesar 19 ribu ha, sawit seluas 20 ribu ha, karet 19.5 ribu ha dan tanaman kopi sebesar 806 ha. PTPN VIII Sukabumi membudidayakan beberapa varietas pisang yang telah dilakukan sejak tahun 2013 untuk mengisi lahan yang sudah tidak memungkinkan untuk tanaman teh yang disebabkan iklim yang sudah tidak ideal. Selain itu, instruksi menteri pertanian untuk melakukan swasembada buah yang tertera pada Peraturan Menteri Pertanian Nomor 86/Permentan/OT.140/8/2013 tentang rekomendasi impor produk hortikultura. Alasan lain memilih komoditi tanaman pisang karena dapat dipanen tiap 2 tahun sekali.

Bibit yang dimanfaatkan untuk budidaya pisang diperoleh dari pasar bebas dan hasil kultur jaringan. Varietas pisang yang ditanam adalah pisang Cavendish (7.54 ha), pisang Barang (10.81 ha), pisang Emas Kirana (4.17 ha), dan pisang Raja Buluh (4.17 ha). Umur tanaman pisang berkisar antara 80 hari sampai 2 tahun. Cara budidaya yang dilakukan secara tumpang sari di antara tanaman teh yang masih muda. Setelah tanaman pisang dewasa dipindahkan pada areal lain. Langkah meminimalisasi infeksi patogen pada tanaman pisang dengan membatasi hanya 4 kali berbuah dalam tiap pohon.

Nilai keparahan penyakit di lahan pisang PTPN VIII dari 25 tanaman yang diamati sudah mencapai 80%. Infeksi *F. oxysporum* di lahan sudah sangat berat dan menyebabkan kerugian yang besar dan kesulitan untuk dilakukan penanaman ulang. Kondisi tanaman pisang di lapangan terlihat sebagian besar tanaman yang sehat masih berusia muda, sedangkan pada tanaman tua dengan kondisi tanaman sudah layu dan mengalami kematian (Gambar 4).



Gambar 4. Tanaman pisang yang terserang layu fusarium di Perkebunan PTPN VIII. (a) Tanaman pisang sehat (b) tanaman pisang terinfeksi *F. oxysporum* (c) tanaman pisang mati.

- 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:**
- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kr
 - Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Keparahan penyakit yang tinggi dapat terjadi karena beberapa patogen memiliki kesesuaian sifat fisik dan kimia tanaman. Penanggulangan penyakit yang dapat dilakukan adalah dengan pemberian senyawa fungisida atau agens hidup. Lindsay *et al.* (2002) melaporkan penggunaan herbisida glifosat dengan cara injeksi dapat digunakan untuk eradikasi lahan tanaman pisang yang terserang nematoda pengorok akar dan layu fusarium. Penelitian yang dilakukan oleh Kristiawati *et al.* (2014) menunjukkan penggunaan fungisida asam fosfit (Agrifos) dapat menghambat pertumbuhan patogen *F. oxysporum* dengan meningkatkan ketahanan tanaman pisang dan bekerja secara sistemik.

Hasil Identifikasi Morfologi dan Penghitungan Populasi Fitonematoda

Spesies fitonematoda yang diperoleh dari penelitian ini adalah *Helicotylenchus* sp., *Criconemoides* sp. dan *Radopholus* sp. (Gambar 5). Fitonematoda yang paling dominan ditemukan adalah *Helicotylenchus* sp. dan *Radopholus* sp. pada tanah dan akar. Fitonematoda *Criconemoides* sp. merupakan nematoda ektoparasit bermigrasi yang memakan akar tanaman terutama tanaman berkayu. Nematoda ini dianggap sebagai patogen yang signifikan di kebun buah (Odendaal 2018). Proses infeksi diawali dengan adanya kontak labial dan bagian luar akar lalu diikuti penetrasi stilet pada jaringan (Ciancio dan Grasso 1998).

Helicotylenchus sp. menyerang bagian eksterior akar menggunakan stilet pendeknya. Proses makan ini dapat menghancurkan sistem perakaran tanaman dan mereduksi penyerapan air dan nutrisi (Singh dan Phulera 2015). Fitonematoda tanah dapat menerima respons beberapa zat kimia yang dihasilkan oleh tanaman sebagai stimulus untuk melukai inang (Callahan 1976). Fitonematoda menggunakan stilet untuk menghancurkan jaringan tanaman dengan menghisap semua jaringan pada kantong *esophagae*. Proses itu akan berlangsung sampai sel *hyphal* menjadi kosong (Dropkin 1976).

Radopholus sp. merupakan parasit penting pada pertanaman pisang. Fitonematoda ini dapat menurunkan produksi pisang sebesar 30-50%. Cara penyerangan yang dilakukan yaitu dengan membuat rongga pada jaringan tanaman (Indarti *et al.* 2011). Dropkin (1992) menyatakan bahwa larva *Radopholus* sp. masuk dalam jaringan akar yang masih lunak lalu mengeluarkan cairan sekresi dari kelenjar esofagusnya. Semangun (1996) menyatakan bahwa cairan sekresi berfungsi pada proses pre-pencernaan dan pencairan sebelum jaringan tanaman masuk ke dalam saluran pencernaan fitonematoda. Setelah jaringan akar rusak, larva akan berpindah ke korteks akar dan berkembang biak.



Gambar 5 Fitonematoda yang ditemukan di lapangan. (a) *Helicotylenchus* sp, (b) *Criconemoides* sp. dan (c) *Radopholus* sp.

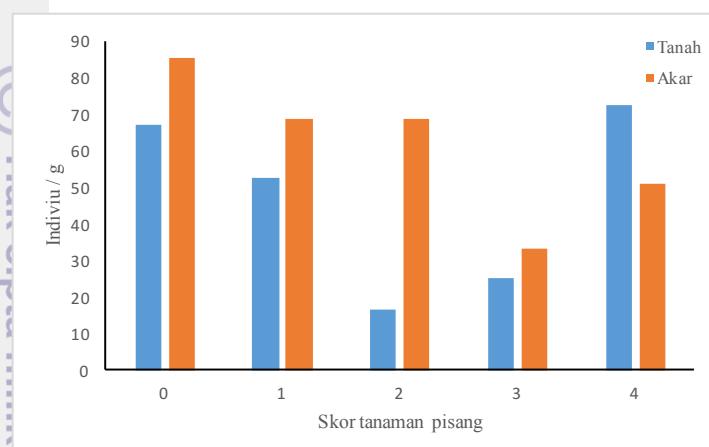
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kr

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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



Populasi fitonematoda tertinggi pada tanaman skor 4 yaitu 77 individu per g tanah dan terendah pada skor 2 yaitu sebesar 16 individu per g tanah. Tanaman kekurangan nutrisi karena akar diinfeksi oleh nematoda seperti yang dinyatakan oleh Williamson dan Hussey (1996) molekul sinyal nematoda dikeluarkan melalui *esophagus* dan diinjeksikan melalui stilet dalam jaringan inang, kemudian nematoda merubah sel inang menjadi *feeding site*. Sedangkan pada sampel akar populasi fitonematoda tertinggi pada tanaman skor 0 sebanyak 85 individu per g tanah. dan yang terendah pada skor 3 sebanyak 33 ekor per g tanah. Trudgill (1991) mengemukakan bahwa eksudat yang diproduksi oleh akar dapat menjadi penarik atau penolak bagi nematoda. Secara fisiologis tanaman akan mencegah proses makan nematoda. Menurut Blake (1966) hal ini terjadi disebabkan kerusakan jaringan sitoplasma, diskolorisasi dan nekrosis sehingga munculnya titik infeksi untuk patogen lain.



Gambar 6 Populasi fitonematoda pada sampel tanah dan akar pada 25 rumpun tanaman pisang yang terinfeksi layu fusarium di lapangan.

Hasil Identifikasi dan Penghitungan Populasi *F. oxysporum*

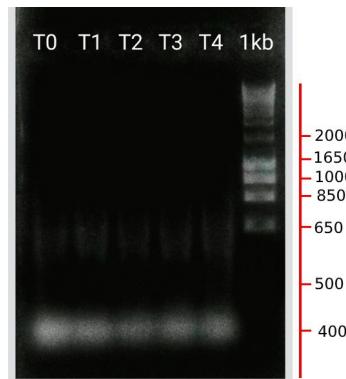
Cendawan *F. oxysporum* tumbuh pada cawan setelah diinkubasi selama 3 hari. Ciri-ciri morfologi koloni cendawan berwarna putih dan terdapat siluet warna merah muda-merah pada bagian tengah, mikrokonidia berbentuk oval jumlah sekat 2-3.



Gambar 7 Morfologi *F. oxysporum* pada cawan petri. (a) *F. oxysporum* pada media Martin Agar. (b) Morfologi *F. oxysporum* pembesaran 4x10 dan (c) Konidia *F. oxysporum*.

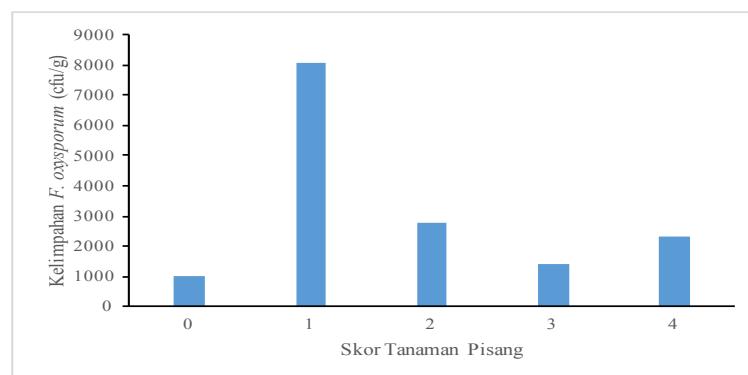
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan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

Secara molekuler identifikasi *F. oxysporum* yang di lapangan menggunakan primer spesifik Foc1/2 dan TR4. Kemampuan primer ini dapat mengidentifikasi *F. oxysporum* ras 4, jenis patogen utama penyebab penyakit layu fusarium. Lin *et al.* (2008) menyatakan primer TR4 dapat mengidentifikasi *F. oxysporum* ras 4 dengan panjang basa 463 bp. Dita *et al.* (2010) melaporkan bahwa primer TR4 dapat mengidentifikasi *F. oxysporum* ras 4 secara spesifik. Primer TR4 mengidentifikasi nukleotida *polymorphism* pada daerah IGS (Kai-li *et al.* 2019). Visualisasi hasil ekstraksi yang diperoleh pada gel agarosa terbentuk pita DNA yang membuktikan bahwa cendawan Fusarium yang diamati adalah benar *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) TR4 dengan panjang amplikon 400bp.



Gambar 8 Visualisasi pita DNA *F. oxysporum* hasil amplifikasi PCR pada tanah dengan panjang amplikon 400 bp menggunakan primer spesifik Foc1/2 menggunakan marker *loading dye* 1kb. (Ket : T0: Tanah skor 0, T1: Tanah skor 1, T2: Tanah skor 2, T3: Tanah skor 3 dan T4: Tanah skor 4).

Pada penelitian ini dilakukan juga isolasi dan penghitungan *F. oxysporum* pada akar tetapi tidak didapatkan cendawan yang tumbuh. Hal ini mungkin disebabkan umur sampel yang sudah terlalu lama sehingga *F. oxysporum* yang terdapat pada akar sudah mati dan tidak bisa ditumbuhkan lagi pada media buatan.



Gambar 9 Populasi *F. oxysporum* pada tanah dari 25 rumpun tanaman pisang yang terinfeksi layu fusarium di lapangan.

- Hal Cipta Diindungi 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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Kelimpahan *F. oxysporum* tinggi pada skor 1 dan skor 2 sebesar 8.1×10^3 cfu per g tanah dan 2.8×10^3 cfu per g tanah tetapi pada skor pada skor 3 dan 4 menurun dengan masing-masing nilai kelimpahan 1.4×10^3 cfu per g tanah dan 2.3×10^3 cfu per g tanah. Populasi terendah pada tanaman skor 0 sebesar 1.0×10^3 cfu per g tanah. Metode cawan tuang ini memungkinkan menghitung keseluruhan propagul *F. oxysporum* yang masih hidup. Selain itu, metode ini memungkinkan semua bagian cendawan terhitung seperti klamidospora, mikrokonidia dan makrokonidia, pada sel cendawan potongan hifa sebagai satu propagul dengan menghitung jumlah koloni yang terbentuk. Satu koloni berasal dari satu propagul cendawan. Kekurangan dari metode ini yaitu membutuhkan waktu yang lebih lama serta butuh ketelitian dan keterampilan yang memadai untuk mengenal koloni Fusarium.

Data yang tersaji pada gambar 9 terlihat cendawan sudah dapat menyebabkan penyakit pada tanaman yaitu 10^3 cfu per g tanah seperti yang dikemukakan Riska *et al.* (2012) bahwa tanaman pisang kultivar yang rentan terdapat gejala nekrosis pada akar tanaman dengan konsentrasi propagul sebesar 2.3×10^4 konidia/ml. Selain itu, pada keadaan tersebut cendawan juga mampu melakukan *quorum sensing* pada permukaan jaringan tanaman dengan mengirimkan beberapa senyawa sinyal antar propagul cendawan yang menyebabkan kumpulan propagul tersebut mengeluarkan senyawa tertentu untuk dapat menginfeksi tanaman inang. Seperti yang dinyatakan oleh Albuquerque dan Casadevall (2012) bahwa proses komunikasi antar mikroba dan memiliki kemampuan sekresi pada faktor virulensi. Proses ini akan terus muncul dan mengontrol hormon seperti molekul yang disebut *quorum sensing molecule* (QSM).

Pada cendawan *F. oxysporum* belum ada yang melaporkan tentang proses ini tetapi terdapat kasus pada bakteri seperti *Ralstonia solanacearum* membentuk sistem QS PhcBSR yang berfungsi sebagai regulator utama untuk mengatur sebagian besar sifat yang diperlukan untuk infeksi dan virulensi (Schell 2000). Li *et al.* (2017) menyatakan senyawa PhcBSR digunakan cendawan *R. solanacearum* sebagai sinyal komunikasi antar spesies yang terkait dengan persaingan dalam lingkungannya. Selain itu, bakteri ini juga menghasilkan ralsolamycin untuk mengatur sistem QS PhcBSR untuk melemahkan aktivitas bakteri yang mengganggu klamidospornya yang dapat sehingga menghambat bakteri bertahan hidup di jaringan tanaman.

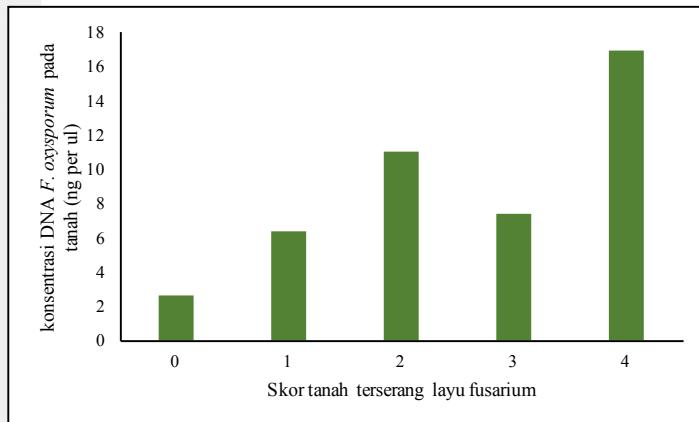
Ekstraksi DNA *F. oxysporum* dari Tanah Pertanaman Pisang

Hasil ekstraksi DNA dari 5 sampel konsentrasi yang diperoleh berbeda-beda. Konsentrasi DNA disetarakan menjadi 30 ng per ml, agar kenaikan tiap siklus pada proses *real-time PCR* terjadi karena kenaikan DNA sampel yang digunakan. Menurut Levin (2004) setiap siklus hasil amplifikasi uji *real-time PCR* memungkinkan DNA diobservasi dengan sistem komputer untuk melihat sekuen dari hasil PCR tersebut.

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 kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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

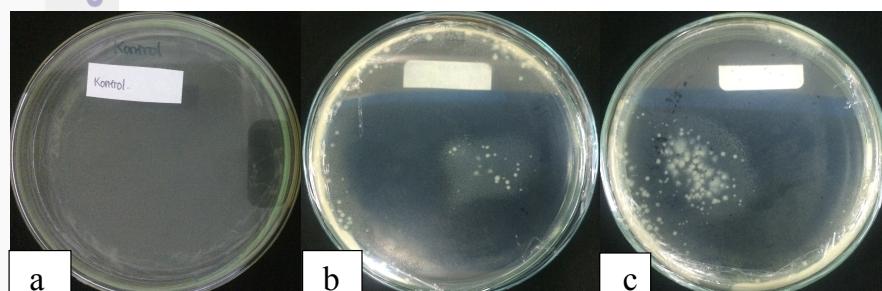


Gambar 10. Konsentrasi DNA *F. oxysporum* yang diperoleh dari ekstraksi DNA dari tanah.

Kompeten Sel Bakteri DH5 alpha dan Transformasi Sel

Kompeten sel bakteri *E.coli* DH 5 alpha yaitu sel bakteri akan dibuat kompeten untuk dimasukkan DNA plasmid Foc1/2 menggunakan metode *heat shock*. Pada tahap ini plasmid akan membuka agar dapat dilakukan insersi gen sintesis *F. oxysporum*. Menurut Liu (2017) sel kompeten memiliki kapasitas yang jauh lebih tinggi untuk mengikat DNA ke permukaan sel, dalam populasi yang kompeten hanya sebagian kecil yang dapat ditransformasi yaitu sekitar 0.1-1.0%.

Sel kompeten yang mengandung plasmid gen sintesis spesifik *F. oxysporum* lalu diisolasi kembali pada media LB. Setelah itu DNA diekstraksi menggunakan metode lisis alkali. Hardianto *et al.* (2015) menyatakan bahwa metode lisis alkali sangat umum dilakukan untuk isolasi plasmid, karena metode ini sangat mudah dilakukan, murah, waktu yang efisien dan reproduksibilitas.



Gambar 11. Sel kompeten bakteri *E.coli* yang diperoleh pada media LB menggunakan antibiotik *chloramphenicol*. (a) Kontrol negatif, (b) hasil inkubasi 24 jam, dan (c) hasil inkubasi 48 jam.

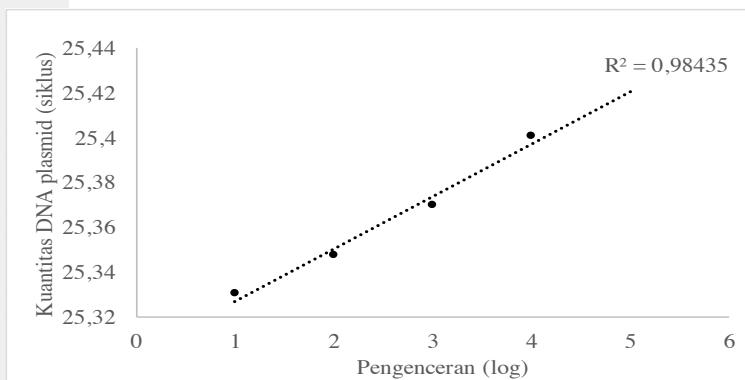
Analisis Kuantitatif *real-time PCR*

Kuantifikasi teknik *real-time PCR* dibedakan menjadi 2 jenis yaitu kuantifikasi relatif untuk menganalisis perubahan ekspresi gen, dan kuantifikasi absolut untuk mengetahui kuantitas suatu bahan dengan menggunakan kurva standar dari DNA plasmid, yang berfungsi sebagai acuan dari DNA sampel. Menurut Larionov *et al.* (2005) kurva standar berdasarkan prosedur untuk memproses data hasil *real-time PCR* dengan tujuan memvalidasi hasil konsentrasi DNA. Persamaan hasil regresi nilai Cq DNA plasmid gen sintesis Y= -1064.2 – 42.06x.

- 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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Pengenceran yang dilakukan dari 141 ng per ul, 14.1 ng per ul, 1.41 ng per ul dan 0.141 ng per ul.



Gambar 12. Kurva standar *real-time* DNA plasmid gen sintesis spesifik *F. oxysporum* dengan persamaan $Y = -1064.2 - 42.06x$.

Tabel 3 Nilai Cq DNA *F. oxysporum* hasil amplifikasi *real-time* PCR (ng per ul)

Skor	Nilai Cq	Kuantitas <i>F. oxysporum</i> *
0	27.00	71.516
1	26.53	51.621
2	26.59	54.145
3	26.40	46.154
4	25.69	16.291

*angka diperoleh dari konversi nilai Cq ke persamaan kurva standar $Y = -1064.2 - 42.06x$.

Pada dasarnya klamidospora cendawan *F. oxysporum* memiliki struktur sel yang sulit dihancurkan sehingga tidak ikut hancur pada proses ekstraksi DNA. Kelebihan dari metode ini dapat mengetahui jumlah sel cendawan *F. oxysporum* lebih akurat dan prosesnya tidak membutuhkan waktu yang lama. Dalam metode ini bagian dari klamidospora tidak masuk dalam hitungan *real-time* PCR, sel cendawan yang telah mati juga ikut serta terhitung. Propagul seperti makrokonidia yang bersel banyak akan terhitung sesuai jumlah selnya walaupun hanya satu propagul.

Tabel 4 Kelimpahan dan estimasi DNA sel *F. oxysporum* pada tanah tanaman pisang yang terserang layu fusarium (ng per ul)

Skor	Kuantitas <i>F. oxysporum</i>	Estimasi sel <i>F. oxysporum</i>
0	71.516	2.663×10^{14}
1	51.621	1.922×10^{14}
2	54.145	2.016×10^{14}
3	46.154	1.718×10^{14}
4	16.291	6.06×10^{13}

F. oxysporum yang diperoleh pada sampel tanah tertinggi pada skor 0 sebanyak 71.516 dengan estimasi sel *F. oxysporum* 2.663×10^{14} ng per ul dan terendah skor 4 kuantitas *F. oxysporum* 16.291 estimasi sel 6.06×10^{13} ng per ul (Tabel 4). Metode ini menghitung keseluruhan sel-sel cendawan *F. oxysporum*,

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

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

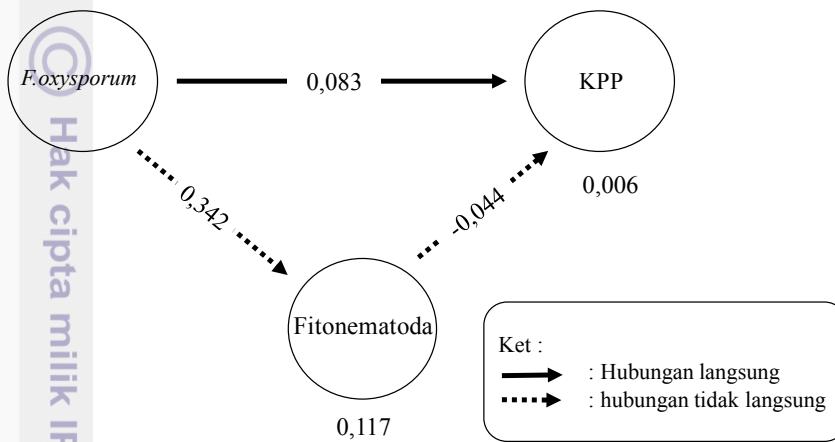
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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

karena jumlah estimasi yang terlalu tinggi. Hal ini mungkin terjadi karena tiap sel terhitung, seperti satu propagul makrokonidia yang bisa terdiri dari 3-5 sel, akan terhitung 5 sel. Propagul cendawan yang sudah mati juga akan dihitung dengan metode ini. Selain itu, belum diketahui apakah untuk satu sel hanya tersekuens sekali atau beberapa kali tergantung gen apa yang disekuens.

Patogen *F. oxysporum* diduga mendapatkan nutrisi pada tanaman sehat dan dapat berkembang biak dengan baik di dalam tanah. Sedangkan pada tanaman terserang parah sebagian besar *F. oxysporum* kekurangan nutrisi karena tanaman sudah tidak mampu memberikan eksudat akar yang mencukupi ke dalam tanah. Perubahan fisiologis pada jaringan tanaman juga dapat mempengaruhi menurunnya kepadatan jumlah *F. oxysporum* di dalam tanah.

Hubungan Fitonematoda dan *F. Oxysporum* Berdasarkan Skoring Keparahan Penyakit



Gambar 13 Hubungan langsung dan tidak langsung fitonematoda dan *F. oxysporum* terhadap keparahan penyakit di lapangan menggunakan metode PLS-SEM.

Pada Gambar 13 terlihat bahwa patogen *F. oxysporum* pada tiap skoring keparahan penyakit layu fusarium tanpa bantuan dari fitonematoda sudah meningkatkan keparahan penyakit layu fusarium sebesar 8.3 %, sedangkan keberadaan fitonematoda tidak memiliki kontribusi dalam meningkatkan penyakit layu fusarium dengan nilai negatif 4.4%. Dalam hal ini fitonematoda tidak berperan dalam proses infeksi penyakit layu fusarium pada pisang.

Apabila dilihat dari data sebelumnya terdapat 2 pengaruh yang terjadi : Pertama, lingkungan yang meliputi ketahanan tanaman di lapangan. Pada penelitian ini tanaman yang diamati adalah pisang Emas Kirana. Menurut Prahardini *et al.* (2010) pisang Emas Kirana termasuk yang tidak tahan terhadap serangan patogen *F. oxysporum*, karena pisang Emas Kirana termasuk genom AA (buah segar). Handayani *et al.* (2017) menyatakan beberapa pisang yang memiliki genom AA memiliki tingkat ketahanan agak rentan sampai rentan terhadap penyakit layu fusarium. Vicente dan Dita (2014) menyatakan faktor yang penting dalam terjadinya penyakit adalah tingkat resistensi atau kerentanan genotip tanaman pisang.

- 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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Selain varietas pisang kemungkinan lain yaitu ras dari *F. oxysporum* yang menyerang tanaman pisang. Telah diketahui pada penjelasan sebelumnya patogen *F. oxysporum* pada penelitian ini adalah ras 4. Keadaan lapangan mendukung untuk terjadinya proses infeksi layu fusarium. Menurut Mehrotra (1980) kelembapan tanah yang sangat rendah atau tinggi dapat mempengaruhi perkembangan penyakit. Infeksi akan lebih rendah pada tanah dengan pH 7 atau lebih tinggi (Vicente dan Dita 2014).

Pérez *et al.* (2003) menyatakan *F. oxysporum* dapat tumbuh pada suhu 9 dan 38 °C pada kondisi *in vitro* tetapi suhu yang paling optimal yaitu 23 sampai 27 °C. Suhu udara pada perkebunan pisang di Parakansalak rata-rata 29 °C, masih mendekati suhu yang dibutuhkan patogen ini untuk tumbuh dengan optimum. Bahkan, suhu tanah dapat saja lebih rendah dari suhu udara, sehingga berpeluang berada pada suhu optimum bagi perkembangan patogen.

Kekurangan unsur-unsur yang terkandung secara alami dalam tanah seperti kapasitas nitrogen lebih banyak dibandingkan kalium juga dapat membantu patogen *F. oxysporum* berkembang biak. Selain unsur hara alami pada tanah, lahan dengan tanah yang supresif secara alami memiliki mikronutrien yang dibutuhkan oleh tanaman dan mikroflora pada tanah tersebut. Effendi *et al.* (2019) menyatakan 2 faktor tanah supresif dapat menekan pertumbuhan patogen yaitu pertama, mekanisme yang terjadi karena adanya kompetisi nutrisi karena seluruh mikroflora tanah dan kedua adanya spesifik kompetisi antara mikroba patogen dan non patogen.

Struktur tanah dan spesies fitonematoda yang ada di lahan pertanaman pisang diduga menjadi faktor tidak berperannya fitonematoda dalam keparahan penyakit di lapangan. Apabila dilihat dari struktur tanah sampel, 48% tanah pada lahan didominasi liat. Hal ini menyebabkan mobilitas fitonematoda terbatas. Selain itu pada penelitian ini tanah yang digunakan sebagai sampel kadar airnya sudah tidak optimum untuk kehidupan fitonematoda yaitu sebesar 7.30%. Berbeda dengan tanaman yang tumbuh pada lahan berpasir peran fitonematoda berpengaruh pada proses infeksi penyakit. Sebagai contoh *Meloidogyne* sp. memiliki kisaran inang yang sangat beragam dan tersebar luas pada daerah tropik dan subtropik. Fitonematoda ini berkembang dengan baik pada tanah berpasir dengan pH 5.0-6.6 (Luc *et al.*, 1995).

Pada penelitian ini tidak ditemukan spesies *Meloidogyne* karena lahan yang digunakan merupakan tanah liat bukan tanah berpasir. Lahan berpasir memiliki pori tanah lebih besar yang memungkinkan fitonematoda memiliki mobilitas gerak yang tinggi. Menurut Sastrahidayat (1991) pori-pori tanah dan kelembapan sangat berpengaruh terhadap aktivitas nematoda. Ukuran dan sebaran ruang antar partikel tanah dan kemampuannya menyerap air sangat mempengaruhi gerak nematoda.

Penelitian yang dilakukan oleh Suryanti *et al.* (2017) dengan mengaplikasikan kedua patogen *M. incognita* dan *Fusarium solani* pada tanaman lada. Pengaplikasian keduanya dapat meningkatkan keparahan penyakit kuning pada lada tersebut. Bila diaplikasikan dengan cara tunggal masing-masing patogen, maka keparahan penyakitnya akan lebih rendah. Selain menyebabkan luka pada inang sebagai jalur masuk Fusarium. Mulyadi (2009) menyatakan pada saat penetrasi *Meloidogyne* pada jaringan akar, akan mengeluarkan beberapa enzim antara lain selulase dan hemiselulase. Kedua enzim tersebut akan menghancurkan dinding sel akar sehingga plasma sel akan keluar. Plasma sel ini dapat menjadi

- 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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

kemoatraktan bagi Fusarium sehingga patogen Fusarium akan makin mendekati akar dan semakin menginfeksi akar.

Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Dinesh *et al.* (2014) dengan kombinasi inokulasi *R. similis* dan *F. oxysporum* pada tanaman pisang meningkatkan kejadian penyakit 100% dengan kepadatan masing-masing patogen 75% dan 83.33%. Data tersebut menunjukkan hubungan positif antara patogen karena fitonematoda bertindak sebagai faktor predisposisi. Meskipun demikian, Maheshwari *et al.* (1995) menyatakan mekanisme yang terjadi karena adanya fitonematoda mengubah fisiologi atau reaksi biokimia tanaman yang memungkinkan perubahan pada ekspresi gen resistensi tanaman inang.

LaMondia (2015) menyatakan bahwa fitonematoda akar dapat meningkatkan keparahan penyakit yang disebabkan oleh *F. oxysporum* f.sp. *niveum* (Fon) pada semangka, *Globodera tabacum*, yang berasosiasi dengan *F. oxysporum* f.sp. *nicotianae* juga menyebabkan keparahan penyakit tertinggi pada tembakau. Menurut Ravichandra (2014), *R. similis* menciptakan keadaan yang baik untuk cendawan patogen yang lemah seperti *F. oxysporum* TR4. Apabila patogen *F. oxysporum* tidak berhasil membuat lesi pada akar, maka *R. similis* memiliki peran untuk membuat luka pada sel jaringan tanaman. Kedua patogen ini akan berkembang biak dengan cepat dan *R. similis* akan terus berpindah pada sel jaringan tanaman yang sehat atau akan mencari inang yang baru.

Penelitian oleh Almeida *et al.* (2018) menunjukkan pada tanah lahan pertanaman pisang yang terserang *F. oxysporum* dan terdapat kehadiran *Pratylenchus* sp. akan menyebabkan populasi *F. oxysporum* meningkat. Selain itu, de Jesus Rocha *et al.* (2020) menyatakan interaksi antara *F. oxysporum* ras 1 dan *R. similis* pada satu kultivar pisang menunjukkan hasil yang cukup peka. Adanya perubahan keparahan gejala dan pola resistensi pada perlakuan inokulasi yang berbeda, kombinasi atau tunggal. Bergeson (1972) menyatakan interaksi *F. oxysporum* dan fitonematoda juga dapat berupa perubahan kuantitatif dan kualitatif pada eksudat akar yang diinduksi oleh nematoda tertentu yang dapat merangsang perkecambahan, pertumbuhan dan reproduksi cendawan di rizosfer tanaman.

Menurut diPietro *et al.* (2003) proses infeksi oleh patogen *F. oxysporum* terhadap tanaman akan terjadi setelah adanya stimulus dari akar. Hifa akan menembus jaringan lalu menembus korteks sampai *pseudostem*. Pada tahap ini *F. oxysporum* akan berkembang biak dengan membentuk hifa dan mikrokonidium yang menghambat transportasi hara dan air. Gejala pada tanaman ditandai dengan adanya nekrosis pada jaringan akar dan penguningan pada daun. Gejala penguningan daun tersebut disebabkan oleh patogen *F. oxysporum* yang mengeluarkan senyawa asam fusarat. Bacon *et al.* (1996) menyatakan asam fusarat dikeluarkan oleh *F. oxysporum* untuk merusak jaringan pengangkutan air dan menyebabkan kelayuan. Asam fusarat juga diketahui mengganggu respirasi mitokondria (Agrios 1997). Senyawa ini diproduksi *F. oxysporum* dalam proses invasi pada tanaman pisang, dan dapat menjadi indikator tingginya virulensi *F. oxysporum* TR4. Hal ini dibuktikan dengan percobaan penghapusan gen FUB pada *F. oxysporum* TR4 yang berfungsi memproduksi asam fusarat dan di uji coba pada planlet tanaman pisang. Hasil pengujian menunjukkan bahwa tingkat virulensi *F. oxysporum* berkurang sejalan dengan berkurangnya produksi asam fusarat dan mengurangi patogen tumbuh dalam jaringan akar tanaman pisang (Liu *et al.* 2019).

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kr
 - Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Selain serangan dari *F. oxysporum* keberadaan patogen lain juga dapat melemahkan tanaman. Luka alami pada tanaman pisang juga dapat menjadi pemicu masuknya patogen *F. oxysporum* masuk ke dalam jaringan tanaman. Mekanisme infeksi pada akar diawali oleh adanya luka karena pembelahan sel maristem pada saat proses ini jaringan akar akan terbelah untuk melakukan pemanjangan. Penelitian yang dilakukan oleh Warman dan Aitken (2018) melihat pergerakan patogen *F. oxysporum* pada kultivar pisang yang rentan yaitu Musa AAA dan Musa AAB menunjukkan keberadaan patogen *F. oxysporum* pada jaringan akar tanaman pisang sebelum adanya gejala luar. Jaringan pisang menunjukkan perubahan warna walaupun tampak sehat dan klamidospora berkembang pada saat jaringan mengalami.

Booth (1971) menyatakan belum ada metode yang berhasil secara efektif untuk mengendalikan penyakit layu fusarium. Hal ini dikarenakan *F. oxysporum* termasuk patogen yang kompleks dan akan membentuk klamidospora secara berkala untuk bertahan. Sebagai bentuk pertahanan, tanaman akan membentuk tilosis, yaitu pembengkakan pada jaringan xilem sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan penyebaran spora. Pada sifat alamiahnya tanaman pisang akan mengeluarkan beberapa senyawa seperti fitoaleksin, lignin, asam salisilat, asam jasmonat dan hidrogen peroksida (Agrios 1997).

Tinggi rendahnya kejadian dan keparahan penyakit di suatu lahan juga dipengaruhi oleh kehadiran mikroba lainnya. Interaksi antara mikroba dan tanaman dapat terjadi secara mutualisme, netral atau membahayakan bagi tanaman dan dapat berkembang sesuai dengan lingkungan tumbuh tanaman (Bais *et al.* 2011). Pada lokasi penelitian yang sama Effendi *et al.* (2019) menyatakan bahwa komunitas bakteri lebih tinggi pada tanah yang terserang penyakit layu fusarium dibandingkan dengan tanah yang sehat. Komunitas bakteri ini diduga berperan positif dalam perkembangan penyakit layu fusarium.

KESIMPULAN

Fitonematoda yang ditemukan pada pertanaman pisang varietas Emas Kirana di PTPN VIII adalah *Helicotylenchus* sp., *Criconemoides* sp. dan *Radhopoulus* sp. Hasil penghitungan fitonematoda dan *F. oxysporum* menunjukkan bahwa populasi kedua patogen dalam tanah pertanaman pisang tidak dapat menggambarkan tingkat keparahan penyakit layu fusarium pada pisang. Pada pertanaman pisang di perkebunan PTPN VIII Parakansalak ditemukan bahwa fitonematoda tidak berperan dalam terjadinya penyakit dan tinggi rendahnya keparahan penyakit layu fusarium, hanya *F. oxysporum* yang berperan.

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 kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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



DAFTAR PUSTAKA

- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*. Ed ke-5. California (CA) : Academic Press inc.
- Agrios GN. 1997. *Plant Pathology* Ed ke-4. London (US): Academic Press inc.
- Aguayo J, Diane M, Céline FJ, Isabelle CW, Bruno H, Altus V, Renaud L. 2017. Developoment of a hydrolysis probe-based real-time assay for the detection of tropical strains of *Fusarium oxysporum* f.sp.*cubense* race 4. *PLoS One*. 12(2): e0171767.
- Agus F, Subiksa IG. 2008. Lahan gambut: potensi untuk pertanian dan aspek lingkungan. Balai Penelitian Tanah. *Badan Litbang Pertanian*. Bogor (ID): *World Agroforestry Centre*.
- Akila R, Rajendran L, Harish S, Saveetha K, Raguchander T, Samiyappan R. 2011. Combined application of botanical formulations and biocontrol agents for the management of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) causing fusarium Wilt in banana. *Biological Control* (57): 175-183.
- Albuquerque P and Casadevall A 2012 Review article : Quorum sensing in Fungi. *Medical Mycology* (50): 337-345
- Almeida NO, Teixeira RA, Carneiro FA, de Oliveira CM, Ribeiro VA, Júnior ML, da Rocha MR. 2018. Occuraence and correlations of nematodes, *Fusarium oxysporum* and edhaptic factor on banana plantation. *Journal of Phytopathology*. (166)
- Atkinson GF. 1892. Some diseases of cotton. *Alabama Polytechnical Institute of Agriculture-Expremental Station Bulletin* (41):61-5.
- Back MA, Haydock PPJ, Jenkinson P. 2002. Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. *Plant Pathology*. (51): 683-697.
- Bacon CW, Porter JK, Norred WP, Leslie JF. 1996. Production of fusarium acid by Fusarium species. *Appl Environ Microbiol*.(62)11: 4039-43.
- Bais HP, Weir TL, Perry LG, Gilroy S, Vivanco JM. 2011. The role of root exudates in rhizosphere interaction with plants and other organism. *Annu rev Plant Biol*. 57:233-266.
- Bergeson GB. 1972. Concepts of nematode-fungus associations in plant disease complex : A review. *ScienceDirect*. (32)2: 301-314.
- Bishop CD, Cooper RM. 1983. An ultrastructural study of vascular colonization in three vascular wilt diseases I. Colonization of susceptible cultivars. *Physiological Plant Pathology*. (23)3: 323-343.
- Blake CD. 1966. The Histological Changes in Banana Roots Caused by *Radopholus similis* and *Helicotylenchus multicinctus*. *Nematologica*. (12): 129-137.
- Bleve G, Rizzotti L, Dellaglio F, Torriani S. 2003. Development of Reverse Transcription (RT)-PCR and Real-Time RT-PCR Assay for Rapid Detection and Quantification of Viable Yeast and Molds Contaminating Yogurts and Pasteurized Food Product. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(7):4116-22.
- Booth S. 1985. *The Genus Fusarium*. England (LD): The Lavenham Press Ltd
- Booth C. 1971. *The Genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew.
- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS and Morse SA. 2007. *Jawetz, Menick and Adelberg's Medical Microbiology*. 24th ed. United States of America (US): The McGraw-Hill Companies Inc.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kr
 - Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



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 kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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

- Brown J, Ogle H. 1997. *Fungal Disease and Their Control*. In J. Brown and H. Ogle (eds.). Plant Pathogens and Plant Diseases. The University of New England Printery, Armidal.
- Buddenhagen I. 2009. Understanding strain diversity in *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* and history of introduction of tropical race 4 to better manage production. *Acta Horticulturae*.828:193-204.
- Callahan PS. 1976. Insect molecular bioelectronics: a theoretical and experimental study of insect sensillae as tubular waveguides, with particular emphasis on their dielectric and thermoelectret properties. *Misc.Publ. Entomol. Soc Am.*(5): 315-347.
- Campbell NA, JB Reece LG, Mitchell. 2003. *Biologi*. Alih Bahasa : L. Rahayu, E.I.M Adil, N Anita, Andri, W.F Wibowo, W. Manalu. Jakarta (ID) : Penerbit Erlangga.
- Ciancio A, Grasso G. 1998. Endomigratory feeding behavior of *Mesoceiconema xenoplax* parasitizing walnut (*Juglans regia* L.). *Fundam.appl.Nematol.* 21(1): 63-68.
- Chang, Angela Y, Chau, Vivia WY, Landas, Julius A, Pang, Yvonne. 2017. Preparation of calcium competent *Escherichia coli* and heat-shock transformation. *JEMI methods* (1): 22-25.
- Chaves N, Staver C, Dita MA. 2014. Interaction of *Radopholus similis* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in banana. Conference 29th Internasional Horticultural Congress Brisbane Australia.
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB. 1983. A plant DNA minipreparation: Version II. *Plant Molecular Biology Report* (1)4:19-21.
- De Jesus Rocha A, Dos Santos Ferreira M, De Souza Rocha L, Oliveira SAS, Amorim EP, Mizubuti ESG, Haddad F. 2020. Interaction between *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* and *Radopholus similis* can lead to change in the resistance of banana cultivars to *Fusarium* wilt. *European Journal of Plant Pathology*. (158): 403-417.
- Dickman MB. 2004. Can model plants help banana improvement through biotechnology . *InfoMusa*. 13(2):6-11.
- Di Pietro, Madrid MP, Caracual Z, Delgado-Jarana, Roncero MIG. 2003. *Fusarium oxysporum*: exploring the molecilar arsenal of vascular wilt fungus. *Molecular Plant Pathology*.(4):315-325.
- Dinesh BM, Ravichandra NG, Somasekhara YM, Reddy BMR, Kumar KMH. 2014. Interaction between *Radopholus similis* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* causing wilt complex on banana. *Mysore J.Agric.Sci.* 48(4) : 506-513.
- Dita MA, Waalwijk C, Buddenhagen IW, Souza Jr MT, Kema GHJ. 2010. A molecular diagnosis for tropical race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen. *Plant Pathol.* 59(2):348–357.
- Dita M, Barquero M, Heck D, Mizubuti ESG, Staver CP. 2018. *Fusarium* wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Front. Plant.*
- Dropkin VH. 1992. *Pengantar Nematologi Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh UGM. Yogyakarta.
- Dropkin VH. 1976. Nematode parasite of plants, their ecology and the process of infection. *Physiological Plant Pathology*.(4): 222-246.



- Doyle JJ, Doyle JI. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13-15.
- Ed-Har AA, Rahayu W, Gunawan D. 2017. Isolasi dan identifikasi mikroba tanah pendegradasi selulosa dan pektin dari rhizosfer *Aquilaria malaccensis*. *Buletin Tanah dan Lahan*. 1(1): 58-64.
- Eisenback JD. 2003. *Nematology*. Blacksburg (US) : Mactode Publication.
- Effendi Y, Pambudi A, Pancoro A. 2019. Metagenomic analysis of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*-infected soil in banana plantation, Sukabumi, Indonesia. *Biodiversitas*. 20(7):1939-1945.
- Fatchiyah, Arumingtyas EL, Widjarti S. 2011. *Biologi Molekular: Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta (ID): Penerbit Erlangga.
- Fatimi H. 2010. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Program Studi Ilmu Biomedik. Program Pasca Sarjana. Malang (ID): Universitas Brawijaya.
- Francis RG, Burgess LW. 1975. Surveys of fusaria and other fungi associated with stalk rot of maize in Eastern Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*. 26:801-807.
- Gandjar I. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik*. Depok (ID): Yayasan Obor Indonesia.
- Giglio S, Monis PT, Saint CP. 2003. Demonstration of preferential binding of SYBR Green I to specific DNA fragments in *real-time* multiplex PCR. *Nucleic Acids Res*. 31:136.
- Hardianto D, Indarto A, Sasongko ND. 2015. Optimasi metode lisis alkali untuk meningkatkan konsentrasi plasmid. *J Bioteknol Biosains Indonesia*. 22(2): 60-64.
- Hall TA. 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acid Symp*. Ser.41:95-98.
- Handayani T, Martanti D, Poerba YS, Witjaksono. 2017. Deteksi awal ketahanan beberapa aksesi pisang lokal dan hasil persilangan terhadap penyakit layu fusarium (Foc VCG 01213/16 TR4). *J.Hort.Indonesia*.8(2):88-96.
- Hwang SC. 1980. Incidence, spread, and control of fusarium wilt of banana in Taiwan. *SEA Symp. Pl. Dis. Tropics II*, Bangkok, Okt. 1980:63.
- Indarti S, Rahayu B, Subandiyyah S, Indarti L. 2011. Prevalensi nematoda parasit pada pertanaman pisang di daerah Istimewa Yogyakarta. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*.17(1): 36-40.
- Jones MGK. 1981. Host cell responses to endoparasitic attack : structure and function of giant cells and syncytia. *Annals of Applied Biology* (97): 353-72.
- Jumjunidang, Edison, Riska C, Hermanto. 2012. Penyakit layu fusarium pada tanaman pisang di Propinsi NAD: sebaran dan identifikasi isolat berdasarkan analisis *vegetative compatibility group*. *J Hort*.22(2): 164-171.
- Kai-li WU, Wei-Zhoung Chen, Shuai Yang, Ya Wen, Yu-ru Zheng, Anjago WM, Ying-zhi Yun, Zong-hua Wang. 2019. Isolation and identification of *Fusarium* f.sp. *cubense* in Fujian Province China. *Journal of Integrative Agriculture*.18(8):1905-1913.
- [KEMENTERIAN] 2016. *Outlook komoditas pertanian sub sektor hortikultural*. Jakarta(ID): Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian.
- Kiswanti D, Suryanti, Christanti S. 2010. Identifikasi dan virulensi *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* RAS 4. *Jurnal perlindungan Tanaman Indonesia*.16(1): 28-32.

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 kr

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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



- Kristiawati Y, Sumardiyono C, Wibowo A. 2014. Uji pengendalian penyakit layu fusarium pisang (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) dengan asam fosfit dan aluminium-fosetil. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 18(2):103-110.
- Klug WS and Cummings MR. 1994. *Concept of Genetics. 4th Edition*. New Jersey (US): Prentice-Hall Englewood.
- LaMondia JA. 2015. Fusarium wilt of tobacco. *Crop Prot.* 73:73-77.
- Larionov A, Krause A, Miller W. 2005. A standard curve based method for relative real time PCR data processing. *BMC Bioinformatics*. (21)6:62.
- Levin R. 2004. The application of real time PCR to food and agriculture system. *Food Biotechnology*. 18(1):97-133.
- Li P, Yin W, Yan J, Chen Y, Fu S, Song S, Zhou J, Lyu M, Deng Y, Zhang LH. 2017. Modulation of inter-kingdom communication by PhcBSR quorum sensing system in *Ralstonia solanacearum* phylotype I strain GMI1000. *Front Microbiol.* 8: 1172.
- Lin YH, Chang JY, Liu ET, Chao CP, Huang JW, Chang PFL. 2008. Development of a molecular marker for specific detection of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4. *European Journal of Plant Pathology*. (123): 353-65.
- Lindsay S, Pattison, Murad Z. 2002. Eradicating Banana Crops with Herbicide Injection for Better IPM and Environmental Outcomes. *Bananatopics* (31): 5-7.
- Lievens B, Rep M, Thomma BP. 2008. Recent developments in the molecular discrimination of formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Pest Management Science* (64): 545-561.
- Liu S. 2017. Evolution and Genetic Engineering. *Bioprocess Engineering* (Second Edition). New York(US): *ScienceDirect*.
- Liu S, Li J, Zhang Y, Liu N, Viljoen A, Mostert D, Zou C, Hu C, Bi F, Gao H, Sheng O, Deng G, Yang Q, Dong T, Dou T, Yi G, Ma LJ, Li C. 2019. Fusaric acid instigates the invasion of banana by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* TR4. *New Phytologist Trust*. 225(2): 913-929.
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* (25)4:402-408.
- Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Zipursky L, Darnell J. 2004. *Molecular Cell Biology, 5th edition*. New York (NY):W.H. Freeman.
- Luc M, Sikora RA, Bridge J. 2001. *Nematoda Parasit Tumbuhan di Pertanian Subtropik dan Tropik*. Supratoyo, penerjemah. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press. Terjemahan dari: *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*.
- Luc M, Sikora RA, Bridge J. 1995. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.
- Maheshwari TU, Sharma SB, Reddy DDR, Haware MP. 1995. Co-infection of wilt-resistant chickpeas by *Fusarium oxysporum* f.sp.*ciceri* and *Meloidegyne javanica*. *J.Nematol.* 27 : 649-653.

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 kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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



- Mak C, AA Mohamed, KW Liew, YW Ho. 2004. *Early screening technique for fusarium wilt resistance in banana micropropagated plants*. Banana Improvement Cellular, Molecular Biology and induced mutation. Italy (ITA) : FAO Sceince Publisher Inc.
- May WF, Lyon HH. 1996. *Pictorial Key to Genera of Plant Parasitic Nematodes*. Edisi ke-5. New York (US): Cornel University.
- Meldrum RA, Daly AM, Tran-Nguyen LTT, Aitken EAB. 2013. Are banana weevil borers a vector in spreading *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* in Australia. *Australia Journal of Experimental Agriculture*. 33(6): 797-802.
- Mehrotra RS. 1980. *Plant Pathology*. New Delhi (IDN): Tata McGrw Hill Publ.Lim.
- Minz G, Ziv D, Strich-Harari D. 1960. Decline of Banana Plantations Caused by Spiral Nematodes in the Jordan Valley and its Control by DBCP. *Ktavim*.(10):147-157.
- Morrell JJ, Bloom JR. 1981. Influence of *Meloidogyne incognita* on fusarium wilt of tomato at or below the minimum temperature for wilt development. *Journal of Nematology*. 1(1):57-60.
- Mulyadi. 2009. *Nematologi Pertanian*. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.
- Nichols R, Jack E, Dixon. 1989. Rapid Identification of DNA Clones : Utilization of Same Degerate Oligonucleotides for Both Screening and Sequencing. *Methods in Neurosciences* (1): 319-328.
- Norton DC. 1978. *Ecology of Plant-Parasitic Nematodes*. New York (US): John Wiley & Sons Inc.
- Odendaal M. 2018. Ring nematode (*Cricconemoides xenoplax*) distribution, characterisation and culture methods [Tesis]. Western Cape(SA): Stellenbosch University
- Orion D, Lavy Y, Israeli Y, Fischer E. 1999. Scanning electron microscope observation on spiral nematode (*Helicotylenchus multicinctus*) infested banana roots. *Nematropica* (29): 179-83.
- Pardal SJ. 2010. Menguji ekspresi gen menggunakan real time PCR. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 32:13-14.
- Ploetz RC. 1990. Variability in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Can J Bot*. 68(6):1357–1363.
- Ploetz RC & Pegg KG. 2000. *Disease of Abaca and Enset*. New York (US): Cabi Publisher.
- Ploetz RC. 2005. Panama disease, an old nemesis rears its ugly head: part 1, the beginnings of the banana export trades. *Plant Health Progress*:1-10.
- Ploetz RC. 2009. Assessing threats posed by destructive banana pathogen. *Acta Horticulturae*. (828): 245-252.
- Prahardini PER, Yuniarti, Krismawati A. 2010. Karakterisasi varietas unggul pisang Mas Kirana dan Agung Semeru di Kabupaten Lumajang. *Buletin Plasma Nutfah*.16(2): 126-133.
- Ravichandra NG. 2014. *Horticultural Nematology*. Bangalor India (IND). Publisher.

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 kr

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.



- Riska, Jumjunidang, Hermanto C. 2012. Hubungan antara tingkat konsentrasi inokulum *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* VCG 01213/16 dengan perkembangan penyakit layu pada kultivar pisang rentan. *J Hort.* 22(2):155-163.
- Robert PA. 2002. *Concepts and Consequences of Resistance*. Dalam Plant Resistance to Parasitic Nematodes. *CABI Publishing*. 23-42.
- Sambrook J and Russel DW. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd edition*. New York (US) : Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sastrahidayat IR. 1990. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Surabaya (ID) : Usaha Nasional.
- Schell MA. 2000. Control of virulence and pathogenicity genes of *Ralstonia solanacearum* by an elaborate sensory network. *Annu.Rev.Phytopathol.*(38): 263-292.
- Schnathorst WC. 1981. Life cycle and epidemiology of *Verticillium*. New York (US): Academic Press.
- Semangun H. 2001. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Yogyakarta (ID) : Gadjah Mada University Press.
- Semangun H. 2007. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.
- Semangun H. 1996. *Pengantar Ilmu Penyakit Tanaman*. Yogyakarta (ID): Gadjah Mada University Press.
- Siamak SB dan Sijun Z. 2018. Banana fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) control and resistance in the context of developing wilt resistant bananas within sustainable production system. *Horticultural Plant Journal*. 4(5):208-218.
- Singh R dan Phulera S. 2015. Plant Parasitic Nematodes : The Hidden Enemies of Farmers. *ResearchGate*.68-80.
- Sitepu FE, Lisnawita, Mukhtar IP.2014. Penyakit layu fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp.*cubense* (E.F.Smith) Synd.&Hans.) pada tanaman pisang (*Musa spp.*) dan hubungannya dengan keberadaan nematoda *Radopholus similis* di lapangan. *J. Online Agroekoteknologi*. 2(3): 1204-1211.
- Smith NR, Dawson VT. 1944. The bacteriostatic action of rose bengal in media used for the plate counts of soil fungi. *Soil Sci.* 58:467-471.
- Sukmadjaja. 2002: Pengujian planlet abaka hasil seleksi terhadap *Fusarium oxysporum*. *Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian*. (32:38).
- Suryanti, Hadisutrisno B, Mulyadi, Widada J. 2017. Interaksi *Meloidogyne incognita* dan *Fusarium solani* pada penyakit kuning lada. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*.21(2): 127-134.
- Taylor CE. 1990. Nematoda interactions with other pathogens. *Annals of Applied Biology* (166): 405-16.
- Trudgill DL. 1991. Resistance to and Tolerance of Plant Parasitic Nematodes in Plants. *Annual Review of Phytopathology*. (29):167-192.
- Vandesompele J, Preter KD, Pattyn F, Poppe B, Roy NV, Paepa AD, Speleman F. 2002. Accurate normalization of real time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology*.(8)5:532-538

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 kr
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

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



- Vicente LP, Dita MA. 2014. Fusarium wilt of banana disease by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*: A review on history, symptoms, biology, epidemiology and management. Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- Waite BH. 1963. Wilt of *Heliconia* spp. caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* Race 3. *Trop Agric* (40):299-305.
- Warman NM, Aitken EAB. 2018. The Movement of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Sub-Tropical Race 4) in susceptible cultivars of banana. *Front Plant Sci.*(9): 1748.
- Walduck G, Daly A. 2007. *Banana tropical Race 4 management disease management*. Northern Territory Department of Primary Industry, Fisheries & Mines Primary Industries. Tech. Annu. Rep: 7-11.
- Walter S, Nicholson P, Dooha FM. 2009. Action and reaction of host and pathogen during fusarium head blight disease. *New Phytologist*. 185:54-66.
- Williamson VM, Hussey RS. 1996. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *Plant Cell*.(10)8: 1735-45.
- Yulipriyanto H. 2010. *Biologi Tanah dan Strategi Pengelolaannya*. Yogyakarta (ID): Graha Ilmu.

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Langsa, Kabupaten Langsa Kota, Provinsi Nanggroe Aceh Darussalam pada tanggal 8 Mei 1994 sebagai anak keempat dari lima bersaudara pasangan bapak Erianto Rusbi Tanjung dan ibu Murtinem. Tahun 2012 penulis lulus dari MA Ulumul Quran Langsa dan pada tahun yang sama melanjutkan pendidikan ke Universitas Syiah Kuala, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Jurusan Biologi lulus tahun 2017. Selama menempuh pendidikan di Universitas Syiah Kuala , penulis pernah menjadi asisten praktikum Mata Kuliah Biomolekuler dan Genetika dan aktif dalam berbagai kegiatan organisasi dan keagamaan.

Pada tahun 2017, penulis berkesempatan melanjutkan pendidikan Magister pada Program Studi Fitopatologi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (IPB University) dengan sponsor pribadi. Pada saat menempuh pendidikan Magister Fitopatologi di IPB, penulis pernah berpartisipasi pada Seminar Internasional Southeast Asia Plant Protection Conference tahun 2019 di IPB Internasional Convention Centre Bogor

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

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 kr
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.