

**STUDI IN VIVO : ANALISIS KARAKTER AGRONOMIS, MOLEKULAR
DAN RESISTENSI PENYAKIT LAYU FUSARIUM PADA TANAMAN
VANILI (*Vanilla planifolia* Andrews) DENGAN INDUKSI
ASAM FUSARAT**

(Tesis)

Oleh

**RINA MARYANI
2127021010**



**PROGAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

STUDI IN VIVO: ANALISIS KARAKTER AGRONOMIS, MOLEKULAR DAN RESISTENSI PENYAKIT LAYU FUSARIUM PADA TANAMAN VANILI (*Vanilla planifolia* Andrews) DENGAN INDUKSI ASAM FUSARAT

Oleh

RINA MARYANI

Vanilla planifolia Andrews merupakan tanaman yang bernilai ekonomis karena menghasilkan vanilin yang diperoleh dari proses pengeringan biji vanili. Kendala dalam budidaya *V. planifolia* yaitu adanya penyakit busuk batang atau layu fusarium yang menyebabkan produksinya menurun. Salah satu upaya untuk mengatasinya yaitu dengan agen pengimbas berupa asam fusarat (AF), sehingga dihasilkan nantinya akan diasarkan vanili yang tahan layu fusarium. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui: karakter agronomis pada tanaman vanili setelah diinduksi AF, kriteria ketahanan dan aktivitas enzim peroksidase pada tanaman vanili hasil diinduksi AF, karakter molekular dengan membandingkan antara pola DNA vanili yang diberi perlakuan AF dengan tanpa perlakuan AF. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2022 di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Lampung dan di desa Srimenganten, Kecamatan Pulau Panggung, Kabupaten Tanggamus, Provinsi Lampung. Rancangan Penelitian yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu konsentrasi asam fusarat 0 ppm, 90 ppm, 100 ppm, 110 ppm, dan 120 ppm. Analisis data dilakukan dengan ANOVA *oneway* dengan taraf signifikansi $\alpha = 5\%$ dan dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf signifikansi $\alpha = 5\%$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, konsentrasi asam fusarat toleran untuk seleksi tanaman *V. planifolia* pada pertumbuhan optimum adalah 120 ppm. Kriteria ketahanan tanaman *V. planifolia* pada konsentrasi 110 ppm dan 120 ppm lebih efektif dan mampu menekan intensitas penyakit hingga 20%, serta terjadi peningkatan aktivitas enzim peroksidase seiring dengan meningkatnya konsentrasi AF. Pita DNA spesifik dengan ukuran 500 bp dapat diprediksi sebagai kandidat marker RAPD untuk ketahanan vanili terhadap *Fov.*

Kata Kunci: *Vanilla planifolia*, Asam Fusarat, Layu Fusarium, *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*.

ABSTRACT

IN VIVO STUDY: ANALYSIS OF AGRONOMIC, MOLECULAR AND RESISTANCE CHARACTERISTICS OF FUSARIUM WILT DISEASE IN VANILLA (*Vanilla planifolia* Andrews) WITH FUSARIC ACID INDUCTION

By

RINA MARYANI

Vanilla planifolia Andrews is a plant with economic value because it produces vanillin which is obtained from the drying process of vanilla seeds. The obstacle in the cultivation of *V. planifolia* is the presence of stem rot or fusarium wilt which causes decreased production. One of the efforts to overcome this is by using an irritant agent in the form of fusaric acid (FA), to produce seeds that are resistant to fusarium wilt. The purpose of this study was to determine the agronomic characteristics of vanilla after being induced by FA the criteria for resistance and activity of peroxidase enzymes in vanilla after being induced by FA the molecular characteristics by comparing DNA patterns of vanilla treated with FA and without FA treatment. This research was carried out in August - December 2022 at the Botanical Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung and in the village of Srimenganten, Subdistrict of Pulau Panggung, Tanggamus Regency, Lampung Province. The research design was a completely randomized design (CRD) with 5 treatments, namely fusaric acid concentrations of 0 ppm, 90 ppm, 100 ppm, 110 ppm, and 120 ppm. Data analysis was carried out using one way ANOVA with a significance level of $\alpha = 5\%$ and continued with the Tukey test at a significance level of $\alpha = 5\%$. The results showed that the concentration of tolerant fusaric acid for *V. planifolia* plant selection for optimum growth was 120 ppm. Criteria for plant resistance of *V. planifolia* at concentrations of 110 ppm and 120 ppm were more effective and able to reduce disease intensity by up to 20%, and there was an increase in peroxidase enzyme activity along with increasing FA concentrations. A specific DNA band with a size of 500 bp can be predicted as a RAPD candidate marker for *V. planifolia* resistance to *Fov*.

Keywords: *Vanilla planifolia*, Fusaric Acid, Fusarium Wilt,
Fusarium oxysporum f. sp. *vanillae*

**STUDI IN VIVO: ANALISIS KARAKTER AGRONOMIS, MOLEKULAR
DAN RESISTENSI PENYAKIT LAYU FUSARIUM PADA TANAMAN
VANILI (*Vanilla planifolia* Andrews) DENGAN INDUKSI
ASAM FUSARAT**

Oleh

RINA MARYANI

Tesis

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS**

Pada

**Progam Studi Magister Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**PROGAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERISTAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Tesis

: STUDI IN VIVO : ANALISIS KARAKTER
AGRONOMIS, MOLEKULAR DAN RESISTENSI
PENYAKIT LAYU FUSARIUM PADA
TANAMAN VANILI (*Vanilla planifolia Andrews*)
DENGAN INDUKSI ASAM FUSARAT

Nama Mahasiswa

: Rina Maryani

NPM

: 2127021010

Program Studi

: Magister Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Pembimbing I

Dr. Endang Nurcahyani, M. Si.
NIP. 196510311992032003

Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, M.S.
NIP. 196101121991031002

2. Ketua Program Studi Magister Biologi

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 196603051991032001



MENGESAHKAN

1. Tim Pengaji

Ketua

: Dr. Endang Nurcahyani, M. Si.

Ympcajys

Sekretaris

: Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, M.S.

Hardoko

Pengaji

Bukan Pembimbing 1 : Dr. Sri Wahyuningsih, M.Si.

JRF

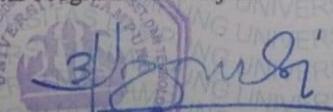
Bukan Pembimbing 2 : Dr. Bambang Irawan, M.Sc.

B.Irawan



3. Direktur Program Pascasarjana

Prof. Dr. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.
NIP. 197104151998031005



Tanggal Lulus Ujian Tesis: 31 Maret 2023

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Nama yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Rina Maryani
NPM. : 2127021010

Dengan ini menyatakan apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya orang lain

demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 10 April 2023
Pembuat Pernyataan,



Rina Maryani
NPM. 2127021010

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Airbakoman pada tanggal 21 Mei 1997, sebagai putri pertama dari dua bersaudara, lahir dari pasangan Bapak Usin dan Ibu Nur Aisah. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar Negeri 1 Srimenganten lulus pada tahun 2009, dan melanjutkan Sekolah Menengah Pertama di Madrasah Tsanawiyah

Nurul Islam Airbakoman lulus pada tahun 2012, serta menyelesaikan Sekolah Menengah Atas di MAN 1 Pringsewu lulus pada tahun 2015. Kemudian penulis melanjutkan Srata-1 di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui Jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN), dan meraih gelar Sarjana Sains (S. Si.) pada tahun 2019. Pada tahun 2021, penulis tercatat sebagai Mahasiswa Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung.

MOTTO

*“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”
(Q.S. Al-Insyirah : 6)*

*Sesungguhnya allah tidak akan mengubah suatu kaum, sebelum mereka mengubah
keadaan mereka sendiri
(Q.S. Ar Rad : 11)*

*“Tidak ada kesuksesan tanpa kerja keras.
Tidak ada keberhasilan tanpa kebersamaan.
Tidak ada kemudahan tanpa do'a.”
(Ridwan Kamil).*

PERSEMBAHAN

Segala puji hanya milik Allah SWT., atas rahmat dan nikmat yang selalu dilimpahkan. Sholawat serta salam selalu tercurah kepada Rasulullah SAW.

Ku persembahkan karya kecilku ini sebagai tanda bakti dan cinta kasihku
yang tulus kepada :

Kedua orang tuaku yang paling berharga, Bapak Usin dan Ibu Nur Aisah
yang telah mendidik dan membeskanku dengan segala doa terbaik mereka,
kesabaran dan limpahan cinta dan kasih sayang dan telah menghantarkanku
sampai ke jenjang ini dengan segala pengorbanan tanpa kenal lelah, semoga
lelah kalian menjadi lillah untuk bekal di akhirat kelak.

Adikku tersayang Rifky Novaldi serta keluarga besarku dan orang terdekatku
yang selalu mendoakan, memberi dukungan, semangat dan motivasi selama
saya menempuh pendidikan hingga sampai tahap ini serta kasih sayangnya
untukku.

Bapak dan Ibu Dosen yang selalu memberikanku ilmu yang bermanfaat, dan
bimbingan dengan tulus dan ikhlas.

Serta Almamater tercinta menjadi kebanggaan saya, Universitas Lampung.

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Magister Sains pada Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung dengan tesis yang berjudul **“Studi *In Vivo*: Analisis Karakter Agronomis, Molekular dan Resistensi Penyakit Layu Fusarium Pada Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia Andrews*) dengan Induksi Asam Fusarat”**. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M. Si., yang didanai oleh Hibah Penelitian Professorship, LPPM, Universitas Lampung, berdasarkan surat Penugasan Penelitian Professorship Nomor Kontrak : 478/UN26.21/PN/2022 Tanggal 17 Mei 2022.

Penulisan tesis ini tidak terlepas dari perhatian, bimbingan, masukan, arahan, nasehat, curahan waktu, serta motivasi yang tiada henti selama dalam penelitian, penulisan, serta dalam proses menyelesaikan studi. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M. Si., selaku pembimbing 1 sekaligus Pembimbing Akademik atas waktu dan tenaga yang telah sabar memberikan ilmu, bimbingan, nasihat, arahan, saran serta masukan kepada penulis dalam proses perkuliahan, penelitian, dan penyusunan tesis ini.
2. Bapak Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, M. S., selaku pembimbing II yang telah membimbing, memberi masukan, kritik dan saran serta membantu penulis menyelesaikan tesis ini.

3. Ibu Dr. Sri Wahyuningsih M. Si., selaku pembahas I yang telah banyak memberikan masukan, arahan,nasehat, dan curahan waktu terhadap penulis dalam penyelesaian tesis ini.
4. Bapak Dr. Bambang Irawan, M. Sc. selaku pembahas II yang telah memberikan saran dan kritik serta koreksi selama penulis dalam penyelesaian tesis ini.
5. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.
6. Bapak Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, M. T., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S. Si., M. Si., selaku Plt. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Jani Master, M. Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
9. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M. Sc., selaku Ketua Prodi Program Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Kedua Orangtuaku tercinta, Bapak Usin dan Ibu Nur Aisah, adikku Rifky Novaldi sebagai penyemangat terbaik dalam hidupku, terima kasih telah membekalkanku dengan penuh kasih sayang, selalu memberikan perhatian, do'a, dukungan dan motivasi.
11. Bapak dan Ibu Dosen seluruh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, terima kasih karena telah memberikan banyak ilmu dan pengetahuan kepada penulis.
12. Kepala Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, yang telah memberikan izin kepada penulis untuk dapat melaksanakan penelitian ini.
13. Teman seperjuangan selama penelitian Intan Okta Nabilla, terima kasih telah menemaniku selama penelitian suka maupun duka, memberikan semangat dan motivasi kepada penulis.

14. Teman – teman dan sahabat Eka, Mai, Agis, mba Septria, Yosi, Bagus, dan Jonathan, terima kasih telah memberi dukungan dan menyemangati selama proses penelitian.
15. Adik – Adik S1 Biologi Terapan (Rara, Ratna, Caca, Tarisa, Nisa dan Herlina) terima kasih telah menemani dan menyemangati selama proses penelitian.
16. Adek sepupu Windi Septiyani dan Kakak Sepupu Siti Mariyam terimakasih dukungan dan semangatnya kepada penulis.
17. Teman – Teman seperjuangan Magister Biologi 2021, terima kasih atas kebersamaan dan persaudaraannya.
18. Serta almamater Universitas Lampung yang tercinta.

Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sampaikan satu per satu atas semua bantuan selama berlangsungnya penelitian hingga sampai terselesaikankannya tesis ini. Semoga Allah SWT. memberikan Rahmat dan Karunia Nya kepada kita semua.

Akhir kata, penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan berguna bagi semua pihak, berguna bagi penulis khususnya dan pembaca umumnya.

Bandar Lampung, 10 April 2023

Penulis

Rina Maryani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	4
1.3. Kerangka Pikir	4
1.4. Hipotesis Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tanaman Vanili (<i>Vanilla planifolia</i> Andrews)	6
2.1.1. Deskripsi Tanaman <i>V. planifolia</i>	6
2.1.2. Syarat Tumbuh Tanaman <i>V. planifolia</i>	8
2.1.3. Manfaat Tanaman <i>V. planifolia</i>	8
2.2. Layu Fusarium	10
2.3. Asam Fusarat	12
2.4. Enzim Peroksidase	13
2.5. Ketahanan Terimbas	14
2.6. Deteksi Mutan dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	17
III. METODE PENELITIAN	
3.1. Waktu dan Tempat.....	20
3.2. Alat dan Bahan.....	20
3.3. Rancangan Penelitian.....	21
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	21
3.5. Diagram Alir	22
3.5.1. Persiapan Lahan dan Medium Tanam.....	23
3.5.2. Pembuatan Larutan Asam Fusarat	23
3.5.3. Penanaman dan Pengimbasan <i>V. planifolia</i> dengan Asam Fusarat.....	23

3.5.4. Analisis Kriteria Ketahanan <i>V. planifolia</i> Terhadap <i>Fov</i>	24
3.5.5. Karakterisasi Tanaman <i>V. planifolia</i> Andrews	25
a. Analisis Karakter Agronomis Tanaman <i>V. planifolia</i>	25
b. Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase	25
c. Pola DNA <i>V. planifolia</i> dengan Metode RAPD	26
3.6. Analisis Data.....	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1.Persentase Tanaman Hidup dan Visualisasi Tanaman <i>V. planifolia</i>	29
4.2.Konsentrasi Asam Fusarat Toleran.....	32
4.3.Analisis Ketahanan Tanaman <i>V. planifolia</i>	34
4.4.Karakterisasi Tanaman <i>V. planifolia</i>	37
4.4.1. Analisis Karakter Agronomis	37
4.4.2. Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase.....	40
4.4.3. Analisis Pola DNA Tanaman <i>V. planifolia</i>	42
4.4.3.1.Analisis Pita RAPD	43
V. KESIMPULAN DAN SARAN	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kriteria Indeks Kelayuan	24
Tabel 2. Tingkat Ketahanan <i>V. planifolia</i>	25
Tabel 3. Primer RAPD	27
Tabel 4. Kondisi Reaksi PCR – RAPD.....	27
Tabel 5. Presentasi Jumlah Hidup <i>V. planifolia</i> Hasil Seleksi dengan Induksi Asam Fusarat	30
Tabel 6. Persentase Visualisasi <i>V. planifolia</i> Hasil Induksi dengan Asam Fusarat.....	31
Tabel 7. Intensitas Penyakit Hasil Uji Ketahanan dan Tingkat Ketahanan <i>V. planifolia</i> pada Setiap Perlakuan Asam Fusarat	36
Tabel 8. Hasil Pengamatan Rata – Rata Tinggi <i>V. planifolia</i> setelah Induksi dan Inokulasi berumur 20 minggu	37
Tabel 9. Hasil Pengamatan Jumlah Helai Daun pada Tanaman <i>V. planifolia</i> berumur 20 minggu setelah Inokulasi <i>Fov</i> setelah 15 Hari	39
Tabel 10. Hasil karakterisasi Enzim peroksidase Tanaman <i>V. planifolia</i> yang diinduksi dengan AF dan diinokulasi <i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>vanillae</i>	41
Tabel 11. Jumlah Pita Hasil Amplifikasi PCR-RAPD pada <i>V. planifolia</i> yang tidak diimbas (Kontrol) dan diimbas Asam Fusarat	43
Tabel 12. Pola Pita DNA <i>V. planifolia</i> yang tidak diimbas (kontrol) dan diimbas Asam Fusarat	45
Tabel 13. Jumlah Tanaman <i>V. planifolia</i> yang hidup per-Hari.....	63
Tabel 14. Visualisasi Tanaman Tanaman <i>V. planifolia</i> per Hari	64

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Vanili <i>V. planifolia</i>	6
Gambar 2. Struktur Kimia Asam Fusarat.....	12
Gambar 3. Diagram Alir Penelitian	22
Gambar 4. Tanaman <i>V. planifolia</i> Hasil Pngimbasan Asam Fusarat.....	33
Gambar 5. Jamur <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vanillae</i>	34
Gambar 6. Tanaman <i>V. planifolia</i> hasil inokulasi <i>Fov</i> selama 15 hari	35
Gambar 7. Histogram Rata- Rata Tinggi Tanaman <i>V. planifolia</i> berumur 20 minggu setelah induksi AF dan Inokulasi <i>Fov</i> 15 Hari.....	38
Gambar 8. Pola pita DNA <i>V. planifolia</i> dengan primer OPB_12	47
Gambar 9. Tanaman <i>V. planifolia</i> di Green House	71
Gambar 10. Konsentrasi Asam Fusarat.....	71
Gambar 11. Konsentrasi Asam Fusarat 0 ppm	71
Gambar 12. Konsentrasi Asam Fusarat 90 ppm	71
Gambar 13. Konsentrasi Asam Fusarat 100 ppm	71
Gambar 14. Konsentrasi Asam Fusarat 110 ppm	71
Gambar 15. Pembuatan Medium PDA.....	72
Gambar 16. Inokulasi Jamur <i>Fov</i>	72
Gambar 17. Ekstrak Enzim Peroksidase	72

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Vanilla planifolia Andrews merupakan tanaman yang bernilai ekonomis karena menghasilkan vanillin yang diperoleh dari proses pengeringan biji vanili. Vanillin adalah bahan baku paling berharga kedua dalam industri makanan dan minuman global. Vanili ditanam di banyak negara, termasuk Indonesia merupakan penghasil vanili terbesar (Divakaran *et al.*, 2008).

Vanili merupakan salah satu anggrek yang dibudidayakan secara komersial. Senyawa vanillin (4-hidroksi-3 metoksibenzaldehida) yang terutama bertanggung jawab atas rasa dan aroma khas vanila, banyak digunakan dalam industri makanan, kerajinan, kosmetik, dan farmasi (Gantait and Kundu, 2017; Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2019). Spesies tanaman vanili diperkirakan ada 150, namun yang mempunyai nilai ekonomi hanya 3 spesies yaitu *V. planifolia* Andrews, *V. tahitensis* J. Wi Moore dan *V. pompona* Schieda (Nurcahyani *et al.*, 2017).

Menurut data *Food and Agriculture Organization* (FAO) (2020), Madagascar menempati urutan pertama sebagai produsen vanili terbesar di dunia dengan produksi mencapai 2.975 ton pada tahun 2020. Indonesia berada di urutan kedua dengan jumlah produksi sebanyak 2.306 ton. Terdapat beberapa sentra produksi vanili di Indonesia yaitu Jawa Timur, Lampung, Jawa Tengah, Jawa Barat, Sumatera Utara, NTT, Yogyakarta, Papua dan beberapa daerah di Pulau Sulawesi. Urutan selanjutnya yaitu Meksiko dengan produksi vanili sebanyak 589 ton, kemudian ada di Papua Nugini dan Tiongkok dengan produksi masing – masing sebesar 495 ton dan 433 ton (Rizaty, 2022).

Permasalahan dalam meningkatkan produksi vanili di negara-negara penghasil vanili utama adalah penyakit yang dikenal sebagai busuk batang

atau layu fusarium yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* (*Fov*) (Thomas *et al.*, 2002; Pinaria, 2020). Di Indonesia, penyakit ini pertama kali dilaporkan di Jawa Tengah pada tahun 1960 dan ketika diidentifikasi penyebab (*agent*) penyakit tersebut ditemukan cendawan *Fov*. Penyakit ini tidak musiman dan tersebar luas di daerah penanaman vanili, seperti Jawa, Bali, Sumatera Utara dan Sulawesi Utara sebagai daerah yang paling terkena dampak dan telah dilaporkan menyebabkan gagal panen yang parah hingga 80% pada petani (Pinaria, 2020).

Salah satu upaya pengendalian *Fov* yaitu dengan pengaktifan gen ketahanan terhadap infeksi mikroba lain atau senyawa kimia. Ketahanan seperti ini disebut dengan induksi resistensi. Induksi resistensi merupakan suatu upaya untuk menstimulasi gen ketahanan tanaman inang tanpa adanya introduksi gen – gen baru, sehingga kondisi fisiologis yang mengatur sistem ketahanan menjadi aktif atau menstimulasi mekanisme resistensi alami pada tanaman inang. Hal tersebut juga dilakukan oleh Nurcahyani *et al.* (2017) dan Nurcahyani *et al.* (2019), yang menggunakan asam fusarat sebagai induksi resistensi dengan menambahkannya pada medium tanam secara *in vitro*. Tanaman yang diperlakukan dengan penginduksi mikroorganisme non-patogen atau bahan kimia tertentu sebelum diinfeksi pathogen memungkinkan tanaman merespon reaksi biokimia yang bertujuan untuk menghambat perkembangan penyakit. Respon ini dikaitkan dengan produksi zat fitotoksik di sekitar lokasi perawatan (Agrios, 2005; Sumardiyono dkk., 2015).

Induksi resistensi terhadap infeksi oleh patogen lain dapat dilakukan dengan beberapa metode, termasuk penggunaan elisitor (seperti patogen mematikan atau non-patogen, fragmen dinding sel, ekstrak tumbuhan, dan senyawa sintetik). Elisitor adalah zat yang dapat menyebabkan tumbuhan memulai metabolisme sekundernya (Jendoubi *et al.*, 2015). Elisitor bekerja dalam mengaktifkan beragam enzim yang berhubungan dengan mekanisme pertahanan tanaman terhadap patogen dan ekspresi gen- gen tahan tanpa menimbulkan kematian jaringan (Inayati, 2016). Enzim peroksidase adalah salah satunya (PR-protein 9). Isozim yang disebut enzim peroksidase ada di

hampir semua tumbuhan. Untuk menjamin vitalitas tanaman, monomer glikoprotein enzim ini menggunakan H_2O^2 atau O^2 untuk mengoksidasi sejumlah bahan kimia, terutama dalam menangkal penyakit yang merusak tanaman tersebut. Resistensi yang didapat dapat berupa perubahan genetik yang dapat diwariskan yang memastikan bahwa keturunannya akan terus resisten. (Lestari dkk., 2006; Swarupa *et al.*, 2014).

Asam fusarat (AF) yaitu senyawa toksik yang diproduksi oleh jamur *Fov*. Asam fusarat dapat digunakan sebagai agen seleksi untuk menghasilkan tanaman yang mutan putatif (Sukmadjaja dkk., 2013). Senyawa toksik ini dapat mengimbangi ketahanan tanaman vanili terhadap penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *Fov* (Sumardiyono dkk., 2015). Asam Fusarat tidak beracun apabila konsentrasi yang diberikan yaitu di bawah $1,89 \times 10^{-1}$ ppm. Asam fusarat berperan penting dalam proses infeksi, tanaman inang yang insensitif terhadap AF juga resisten atau toleran terhadap infeksi *Fov* (Bouizgarne *et al.*, 2006; Wu *et al.*, 2008 ; Singh dan Upadhyay, 2014). Induksi resisten pernah dilakukan pada tanaman vanili (Nurcahyani *et al.*, 2012; Nurcahyani *et al.*, 2014; Nurcahyani *et al.*, 2017; Nurcahyani *et al.*, 2018), *Dendrobium sonia* (Dehgahi *et al.*, 2016); *Phalaenopsis amabilis* L. (Nurcahyani *et al.*, 2020; Nurcahyani *et al.*, 2021). Hasil penelitian para peneliti tersebut menunjukkan bahwa somaklonal dari hasil regenerasi massa sel yang tahan terhadap toksin tersebut juga tahan terhadap patogen, dan sifat ini diwariskan pada generasi berikutnya.

Pada penelitian Nurcahyani *et al.* (2017) identifikasi mutan dihasilkan pita DNA baru berukuran 930 bp (OPB_14), 430 bp (OPB_20), serta 230 bp dan 270 bp (OPD_19) diprediksi sebagai kandidat marker RAPD untuk ketahanan vanili terhadap *Fov*. Berdasarkan hal tersebut mutan pada vanili perlu dilakukan kajian lebih mendalam dalam lingkungan yang relevan yaitu skala *in vivo* dalam rumah kasa.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian sebagai berikut.

1. Mengetahui konsentrasi AF toleran untuk seleksi *V. planifolia* dengan pertumbuhan optimum.
2. Mengetahui karakter agronomis pada *V. planifolia* setelah diinduksiAF.
3. Mengetahui kriteria ketahanan pada *V. planifolia* hasil diinduksi AF yang diinokulasi *Fov*.
4. Mengetahui karakter ekspresi enzim peroksidase pada *V. planifolia* hasil induksi AF yang diinokulasi *Fov*.
5. Menganalisis pola DNA *V. planifolia* tahan *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* bila dibandingkan dengan *V. planifolia* tanpa perlakuan asam fusarat.

1.3. Kerangka Pikir

Vanilla planifolia Andrews merupakan tanaman yang bernilai ekonomis karena menghasilkan vanillin yang diperoleh dari proses pengeringan biji vanili. Senyawa vanillin (4-hidroksi-3 metoksibenzaldehida) yang terutama bertanggung jawab atas rasa dan aroma khas vanila, banyak digunakan dalam industri makanan, kerajinan, kosmetik, dan farmasi. Hambatan utama untuk meningkatkan produksi vanili di negara-negara penghasil vanili utama adalah penyakit yang dikenal sebagai busuk batang yang disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanilla* (*Fov*).

Asam fusarat (AF) adalah senyawa fitotoksik yang diproduksi oleh *Fov*. AF yang dilepaskan dari *Fov* merusak jaringan transportasi dan menyebabkan layu. Senyawa toksik ini berpotensi untuk mengimbangi ketahanan tanaman vanili terhadap penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *Fov*. Ketahanan terhadap penyakit bisa diperoleh dengan cara pengimbangan ketahanan. Ketahanan terimbang adalah suatu ketahanan yang terekspresi setelah tanaman terserang penyakit dan dapat dimanfaatkan sebagai alat penting untuk pengendalian hama. Ketahanan terimbang dapat melalui agen yaitu seperti elisitor yang berupa asam fusarat. Induksi asam fusarat dapat menyebabkan resistensi terhadap patogen tersebut.

Elisitor bekerja dalam mengaktifkan beragam enzim yang berhubungan dengan mekanisme pertahanan tanaman terhadap patogen dan ekspresi gen-gen tahan tanpa menimbulkan kematian jaringan, salah satunya adalah enzimperoksidase (PR-protein 9). Enzim peroksidase merupakan isozim dan ditemukan hampir pada semua tumbuhan. Enzim ini mengandung monomer glikoprotein yang menggunakan H_2O_2 atau O_2 untuk mengoksidasi beberapa molekul, berfungsi untuk mempertahankan kelangsungan hidup tanaman.

Elisitor biotik maupun abiotik bekerja mengaktifkan beragam enzim yang berhubungan dengan mekanisme pertahanan tanaman terhadap patogen dan ekspresi gen-gen tahan tanpa menimbulkan kematian jaringan. Ketahanan yang diperoleh dapat berupa perubahan yang bersifat genetik sehingga dapat diturunkan pada generasi berikutnya yang tetap tahan terhadap patogen.

1.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut.

1. Terdapat konsentrasi AF toleran pada *V. planifolia* dengan pertumbuhan optimum.
2. Terdapat keragaman karakter agronomis pada *V. planifolia* hasil pengimbasan AF.
3. Terdapat kriteria ketahanan pada *V. planifolia* setelah induksi AF yang diinokulasi *Fov*.
4. Terjadi peningkatan aktivitas enzim peroksidase *V. planifolia* hasil induksi AF yang diinokulasi *Fov*
5. Pola pita RAPD-PCR *V. planifolia* tahan *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* dapat dipakai untuk membandingkan ekspresi gen dengan *V. planifolia* tanpa perlakuan asam fusarat

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews)

2.1.1. Deskripsi Tanaman *Vanilla planifolia* Andrews

Tanaman vanili termasuk kedalam familia Orchidaceae dan diperkirakan genus vanili terdiri dari 150 spesies. Tanaman vanili menurut Cronquist(1981), klasifikasi sebagai berikut.

Kingdom : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Classis : Magnoliopsida

Ordo : Asparagales

Familia : Orchidaceae

Genus : *Vanilla*

Species : *Vanilla planifolia* Andrews

Berikut merupakan foto tanaman vanili disajikan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Tanaman Vanili
(Dokumentasi Pribadi).

Vanili adalah jenis tanaman yang memanjang. Memiliki batang gemuk, berair dan lunak, berwarna hijau serta memiliki stomata.

Pertumbuhannya berkelok – kelok mengikuti pohon penegaknya. Daun vanili tersusun tunggal dan letaknya berselang seling pada masing –masing ruas. Panjang daun 10 – 15 cm dan lebar daun 5 – 7 cm. Bentuk daun pipih, berdaging, berjorong atau lanset kemudian ujungnya lancip. Tulang daun sejajar, terlihat setelah daun menua atau mengering (Liunokas dan Billik, 2021).

Vanili termasuk tanaman monokotil, tipe perakarannya serabut. Akar pada vanili terdiri dari akar perekat, akar gantung dan akar tanah. Setiap akar akan muncul pada ruas percabangan. Akar gantung panjangnya mencapai sekitar 1 m. Ketika akar gantung masuk ke dalam tanah, maka akar tersebut akan berfungsi sebagai akar penghisap makanan dari dalam tanah (Nurcahyani, 2022).

Bunga pada tanaman vanili akan muncul setelah berumur 2 tahun dan akan membentuk malai yang terdiri dari 15 – 20 bunga atau juga bisa lebih. Bunga keluar dari ketiak daun dan biasanya berukuran sekitar 4 -8 cm dengan warna kuning kehijauan. Bunga vanili terdiri dari 6 daun bunga yaitu 3 sepala dan 3 petala (Nurcahyani, 2022). Mahkota bunga berukuran lebih kecil dibandingkan dengan kelopak, satu mahkota bunga vanili menggulung mirip corong sehingga disebut dengan labellum atau bibir (Liunokas dan Billik, 2021).

Sebagian labellum menutupi kepala putik. Akibatnya, bunga vanili membutuhkan bantuan untuk menyerbuk. Bantuan itu berguna untuk membuka bibir bunga sehingga kepala putik siap menerima serbuk sari. Kepala sari bunga vanili sendiri terletak lebih tinggi dibandingkan dengan kepala putik. Posisi itu menguntungkan sebab penyerbukan bisa berlangsung cepat. Apalagi kepala putiknya berlumuran cairan sehingga tepung sari mudah menempel (Ramadhan dkk., 2019).

Buah vanili berbentuk polong, kotak, bersiku tiga, dan berdaging. Panjang polong 12 – 25 cm dan tebal 12 – 14 mm. Polong muda berwarna hijau, sedangkan polong tua berwarna cokelat atau kemerahan. Bijinya berwarna hitam dengan ukuran rata-rata 0,2 mm. Polong vanili masak petik mengandung vanillin dengan aroma khas (Ramadhan dkk., 2019).

2.1.2. Syarat Tumbuh Tanaman Vanili

Vanili menyukai lingkungan tumbuh agak lembap, baik udara maupun tanahnya. Mereka hidup nyaman di tempat teduh dengan aliran angin yang lembut. Juga tanah yang subur dan tidak becek. Populasi vanili banyak ditemukan di dataran rendah hingga ketinggian 800 m di atas permukaan laut (mdpl). Tanah yang sesuai untuk menunjang kehidupan vanili adalah tanah lempung, humus, dan berpasir dengan pH 6 – 7 (Ramadhan dkk., 2019)

Tanaman vanili memerlukan cahaya matahari untuk pertumbuhan dan produksi buah. Kebutuhan cahaya matahari berbeda pada setiap fase pertumbuhan tanaman. Cahaya matahari juga diperlukan pada proses pengeringan polong. Pada fase produktif, tanaman membutuhkan intensitas cahaya rendah, sedangkan pada fase generatif tanaman memerlukan setidaknya 55% cahaya matahari. Syarat tumbuh lain yang juga menentukan pertumbuhan dan produksi polong vanili adalah keberadaan tiang panjat (Ramadhan dkk., 2022).

2.1.3. Manfaat Tanaman Vanili

Vanila adalah rempah – rempah paling mahal di dunia karena penggunaannya yang produktif sebagai penyedap, volatilitasnya, aromanya untuk pembuatan wewangian dan parfum, dan fungsinya sebagai perantara penting untuk produk farmasi. Vanilla diperoleh dari biji *V. pompona*, *V. tahitiensis* dan *V. planifolia* Andrews (de Guzman and Zara, 2012).

Biji vanili yang diawetkan merupakan vanillin. Vanilin adalah senyawa volatil yang memberikan aroma manis dan lembut yang secara nyata meningkatkan rasa vanila. Kandungan vanillin berkisar antara 1,2% hingga 2,5% tergantung pada spesies, kematangan tanaman, dan proses pengawetan yang. Hanya 1% dari vanilin yang dikonsumsi di seluruh dunia diperoleh dari biji vanili. Sisanya disintesis secara artifisial dari bahan baku lignin dan eugenol (Gallage and Moller, 2015 ; Harshvardhan *et al.*, 2017).

Dalam bidang industri makanan, vanilin berperan penting dalam produksi es krim dan minuman ringan. Vanilin juga bermanfaat dalam bidang industri perawatan kometik, seperti pembuatan pelembab, sabun aromatik, cologne, dan parfum. Selain itu, vanilin juga diusulkan sebagai pengobatan untuk meningkatkan daya ingat pada orang yang menderita penyakit alzheimer (Jacobson, 2009 ; Hernandez-Fernandez *et al.*, 2019).

Senyawa lain yang ada di dalam vanili adalah p-Hydroxybenzaldehyde yang mempunyai nilai komersial yang tinggi untuk meningkatkan rasa uah dan cokelat dalam makanan, permen dan makanan lainnya. Kandungan lainnya yaitu adanya asam lemak yang memberikan karakteristik seperti lilin dan krim pada oleoresin. Asam lemak digunakan untuk memproduksi emoloen, kondisioner rambut, parfum kulit, pelumas, lipstik, shampo dan sabun (Jacobson, 2009 ; Hernandez-Fernandez *et al.*, 2019).

2.2. Layu Fusarium

Menurut Alexopoulos and Mims (1979), klasifikasi jamur *Fusarium oxysporum* penyebab penyakit layu pada tanaman sebagai berikut.

Kingdom	: Fungi
Divisio	: Eumycota
Classis	: Deuteromycetes
Ordo	: Monilales
Familia	: Tuberculariaceae
Genus	: <i>Fusarium</i>
Species	: <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vanillae</i>

Fusarium oxysporum f. sp. *vanillae* merupakan jamur yang bersifat patogen dan saprofit pada bagian pembuluh tanaman, sehingga tanaman akan mati karena adanya toksik dari fungi tersebut. Fungi menginfeksi akar terutama melalui luka, menetap dan berkembang di berkas pembuluh. Setelah jaringan pembuluh mati dan keadaan udara lembab, fungi membentuk spora yang berwarna putih keunguan pada akar yang terinfeksi. Patogen menginfeksi pada akar terutama melalui luka-luka. Bila luka telah menutup, patogen berkembang sebentar dalam jaringan parenkim, lalu menetap dan berkembang dalam berkas pembuluh. Penyebaran spora dapat terjadi melalui angin, air pengairan dan alat pertanian (Semangun, 2001 ; Corn *et al.*, 2016). Fungi *Fusarium* sp. dapat bertahan di dalam tanah sebagai parasit pada tanaman gulma yang bukan inangnya. Ujung akar atau bagian permukaan rizoma yang luka merupakan daerah awal utama dari infeksi (Semangun, 2007).

Fungi *Fov* mengalami 2 fase dalam siklus hidupnya yakni patogenesis dan saprogenesis. Patogen *Fov* hidupnya sebagai parasit pada tanaman inang yang masuk melalui luka pada akar dan berkembang dalam jaringan tanaman yang disebut sebagai fase patogenesa, sedangkan pada fase saprogenesa merupakan fase bertahan yang diakibatkan tidak adanya inang, hidup sebagai saprofit dalam tanah dan sisa-sisa tanaman dan menjadi sumber inokulum untuk menimbulkan penyakit pada tanaman yang lain (Agrios, 2005).

Layu fusarium umumnya terjadi pada pertengahan musim panas ketika temperatur udara dan tanah tinggi. Awal terbentuknya penyakit tanaman tersebut adalah perubahan warna daun yang paling tua menjadi kekuningan (daun yang dekat dengan tanah). Seringkali perubahan warna menjadi kekuningan terjadi pada satu sisi tanaman. Daun yang terinfeksi akan layu dan mengering, tetapi tetap menempel pada tanaman. Kelayuan berlanjut ke bagian daun yang lebih muda dan tanaman akan segera mati. Batang tanaman akan tetap keras dan hijau pada bagian luar, tetapi pada jaringan vaskular tanaman, terjadi diskolorisasi, berupa luka sempit berwarna coklat (Suwarno dan Masnilah, 2020).

Infeksi *Fov* terjadi pada bagian jaringan pembuluh xylem. Akibat gangguan pada jaringan xylem, tanaman menunjukkan gejala layu, daun mengering, dan akhirnya mati. Gejala layu sering disertai gejala klorosis dan nekrosis pada daun. Gejala yang terjadi pada tanaman cabai merah yang terserang penyakit layu fusarium adalah menguningnya daun dari tepi daun selanjutnya menjadi coklat dan mati secara perlahan hingga tulang daun. Hal tersebut disebabkan patogen menginfeksi tanaman melalui luka pada akar dan masuk kedalam jaringan xylem melalui aktivitas air sehingga merusak dan menghambat proses menyebarnya air dan unsur hara keseluruhan bagian tanaman terutama pada bagian daun yang tua (Semangun, 2001).

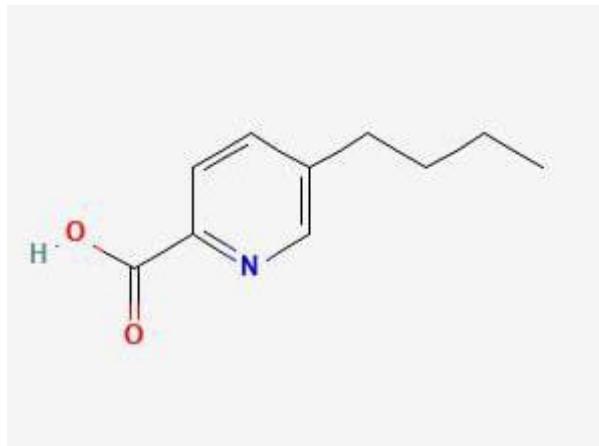
Gejala lain pada organ daun yaitu perubahan bentuk dan ukuran ruas daun yang baru muncul lebih pendek. Gejala yang paling khas adalah gejala pada bagian dalam. Jika pangkal batang terlihat garis-garis cokelat kehitaman menuju ke semua arah, dari batang ke atas melalui jaringan pembuluh ke pangkal daun dan tangkai. Berkas pembuluh akar biasanya tidak berubah warnanya, namun seringkali akar tanaman sakit berwarna hitam dan membusuk (Jayadi dkk., 2018). Pada tanaman yang masih sangat muda, penyakit fusarium dapat menyebabkan matinya tanaman secara mendadak, karena pada pangkal batang terjadi kerusakan. Infeksi patogen menyebabkan gejala busuk akar yang berwarna cokelat kemerahan –merahan yang seringkali diselimuti fungi atau cendawan berwarna keputih – putihan. Tanaman yang

terinfeksi *Fusarium* sp. mudah dicabut karena sebagian akarnya membusuk (Semangun, 2001).

2.3. Asam Fusarat

Asam fusarat (5-n-butylicolic acid) merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* dan bersifat fitotoksin non-spesifik yang menyebabkan gejala layu serta busuk pada berbagai tanaman (Landa *et al.*, 2002 ; Saravanan *et al.*, 2004 ; Nurcahyani *et al.*, 2017). Asam fusarat juga dapat menyebabkan klorosis pada daun muda, bersifat toksin yang berperan menghambat oksidasi sitokinin, menghambat proses respirasi pada mitokondria, menurunkan Adenosin Triposfat (ATP) pada plasma membran serta mereduksi aktivitas polifenol oksidasi sehingga menghambat pertumbuhan dan regenerasi biakan (Sukmadjaja dkk., 2003 ; Nurcahyani dkk., 2012). Namun ada korelasi positif antara ketahanan plantlet terhadap toksin dengan ketahanan tanaman terhadap *Fusarium* (Rasmani dkk., 2020).

Berikut struktur kimia dari asam fusarat disajikan pada **Gambar 3**.



Gambar 2. Struktur Kimia Asam Fusarat
(NCBI, 2022)

Senyawa toksin ini dapat mengimbangi ketahanan vanili terhadap penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *Fov*. Toksin menginduksi polarisasi awal membran sel dan dapat melakukan konjugasi dengan Cu, Co, Fe, dan Zn, kemudian akan membentuk kelat sehingga mineral tidak tersedia untuk tanaman dan mengakibatkan permeabilitas membran dan adanya produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Senyawa yang dibentuk tanaman merupakan

bagian dari respon terhadap serangan patogen sebagai peningkatan ekspresi dan stimulasi pertahanan alami yang dimiliki tanaman oleh agen biotik maupun abiotik untuk menangkal patogen (Sumardiyono dkk., 2015).

Bouizgarne *et al.* (2006) menyatakan konsentrasi asam fusarat toksik menyebabkan kematian tanaman, tetapi konsentrasi non toksik (di bawah $1,76 \times 10^{-1}$ ppm) akan membantu mengimbangi sintesis fitoaleksin, suatu bentuk respon tanaman untuk menghambat aktivitas patogen. Asam fusarat dapat diisolasi dari jaringan tanaman yang terkena penyakit layu fusarium (Dong *et al.*, 2012). Asam fusarat juga dapat menyebabkan hiperpolarisasi awal potensial listrik membran akar (Bouizgarne *et al.*, 2006), pengasaman media ekstraseluler, mengubah permeabilitas membran plasma dan menyebabkan kebocoran elektrolit (Pavlovkin *et al.*, 2004), menghambat enzim pertahanan, dan menurunkan viabilitas sel tanaman.

2.4. Enzim Peroksidase

Enzim adalah molekul protein besar yang mengkatalisis semua reaksi reaksi yang saling berhubungan dalam sel hidup. Untuk setiap reaksi kimia yang terjadi dalam sel, terdapat enzim berbeda yang mengkatalisis reaksi tersebut (Agrios, 2005).

Peroksidase merupakan salah satu PR-protein (*Pathogenesis Related*-protein) yang berperan dalam sistem pertahanan biokimia tanaman dalam melawan patogen. Peroksidase terakumulasi pada saat tanaman yang terserang patogen. Selain itu, peningkatkan aktivitas enzim peroksidase dipengaruhi juga oleh adanya serangan virus. Ekspresi meningkatnya aktivitas peroksidase diakibatkan tanaman terinfeksi patogen termasuk virus yang akan berkorelasi dengan tingkat ketahanan terhadap virus (Nurcahyani dkk., 2014)

Aktivitas enzim *phenol-oxidizing* (enzim pengoksidase fenol contohnya enzim peroksidase) lebih tinggi pada jaringan varietas tahan yang terinfeksi

dibanding dengan jaringan varietas rentan yang terinfeksi. Peranan aktivitas enzim polifenoloksidase dalam ketahanan penyakit mungkin berasal dari sifatnya yang dapat mengoksidase senyawa fenol menjadi kinon, yang sering lebih beracun bagi mikroorganisme. Peningkatan aktivitas polifenoloksidase akan menghasilkan produk toksin yang lebih tinggi dari hasil oksidasi, sehingga akan menghasilkan tingkat ketahanan yang lebih tinggi terhadap infeksi. Enzim fenol oksidase yang lain adalah peroksidase (Rustiani, 2015).

Enzim peroksidase tidak hanya mengoksidasi fenolik tetapi juga meningkatkan laju polimerisasi senyawa-senyawa fenolik menjadi senyawa-senyawa seperti lignin, yang terdeposit dalam dinding sel dan papilla selanjutnya mengganggu pertumbuhan patogen (Agrios, 2005). Peroksidase pada tanaman merupakan isoenzim yang berperan dalam pertumbuhan, diferensiasi dan pertahanan (Pangkey dkk., 2014).

Pada tanaman yang terinfeksi patogen, peningkatan radikal bebas yang selaras dengan peningkatan aktivitas enzim peroksidase berkaitan dengan mekanisme pertahanan. Adanya korelasi menunjukkan peroksidase terlibat dalam perkembangan ketahanan tanaman terhadap penyakit daun tembakau yang mempunyai aktivitas peroksidase tinggi lebih tahan terhadap infeksi penyakit *Pseudomonas tabaci* (Rubiyo *et al.*, 2010).

2.5. Ketahanan Terimbas

Konsep ketahanan terimbas pertama kali dikemukakan oleh Ray dan Beuverie pada tahun 1901. Konsep ketahanan terimbas berasal dari teori bahwa secara alamiah setiap tanaman memiliki kemampuan untuk bertahan terhadap patogen (Suharjono, 2013). Teori *gene for gene* (Floor, 1971) menyebutkan bahwa setiap gen patogenitas yang terdapat pada patogen mempunyai hubungan dengan gen ketahanan yang ada pada tanaman inang (Hamidson dkk., 2021). Hubungan antara inang dan patogen bersifat dinamis meskipun terjadi perubahan pada tanaman, dengan memperhatikan hal ini maka upaya

untuk mengekspresikan ketahanan terhadap cekaman pada tanaman sangat mungkin dilakukan (Inayati, 2016).

Ketahanan terimbas didefinisikan sebagai peningkatan ekspresi dan atau stimulasi pertahanan alami yang dimiliki tanaman oleh agens biotik maupun abiotik untuk menangkal serangan patogen (Edvera, 2004 ; Permatasari, 2018). Dapat disimpulkan bahwa ketahanan terimbas berasal dari ketahanan alami yang dimiliki tanaman, namun masih bersifat laten, lemah, bahkan tidak muncul dan akan terekspresi jika ada aksi dari agens pengimbas (Inayati, 2016).

Pemakaian istilah imunisasi dalam beberapa hal kurang tepat karena proses ketahanan terimbas pada tanaman berbeda dengan proses imunisasi pada hewan maupun manusia. Pada imunisasi terjadi proteksi silang dari strain virus lemah untuk menghalangi virus yang ganas dari strain yang sama atau dari strain yang sekerabat dan imunisasi dengan strain lemah juga menghasilkan antibodi spesifik, sedangkan ketahanan terimbas bersifat nonspesifik (Permatasari, 2018).

Ketahanan terimbas sebenarnya memunculkan potensi ketahanan yang dimiliki tanaman untuk menghentikan perkembangan patogen. Untuk memicu munculnya ketahanan alami tersebut diperlukan agens pengimbas (*inducer* atau *elisitor*). Agens pengimbas atau disebut juga *elisitor* adalah molekul yang dapat menstimulasi dan mengaktifkan respon ketahanan tanaman. Berdasarkan kemampuannya untuk memicu respon ketahanan, *elisitor* dibagi menjadi dua kelompok, yaitu *elisitor* yang bersifat umum (*general elicitors*) dan spesifik (*race specific elicitors*). *Elisitor* umum mampu memicu respon ketahanan pada tanaman inang maupun bukan inang (Boller and Felix, 2009 ; Perangin-angin dkk., 2019), sedangkan *elisitor* spesifik hanya mengimbas ketahanan tanaman tertentu (Angelova *et al.*, 2006).

Sebagian besar *elisitor* bersifat umum karena mekanisme ketahanan tanaman pada umumnya melalui mekanisme yang sama, di antaranya melalui penghalang yang bersifat fisik seperti penebalan dinding sel melalui

lignifikasi. Salah satu contoh elisitor spesifik adalah TMV dan Avr gen yang hanya mengimbas ketahanan pada tanaman tomat, dan *Syringolids- acyl glycosides* hanya mengimbas ketahanan kedelai (Perangin – angin dkk., 2019).

Elisitor dapat berasal dari bakteri, jamur, maupun virus dan bahan-bahan yang dihasilkan olehnya seperti polimer karbohidrat, protein, lemak, dan mikotoksin yang dikenal sebagai elisitor biotik (Larroque *et al.*, 2013 ; Walters *et al.*, 2013). Selain itu, terdapat pula elisitor abiotik seperti sinar UV, ion-ion dari logam maupun komponen atau bahan kimia yang dapat berperan sebagai hormon maupun molekul-molekul pengkode ketahanan pada tanaman (Lancioni, 2008 ; Larroque *et al.*, 2013).

Hingga saat ini telah ditemukan lebih dari 60 elisitor, baik yang bersifat biotik maupun abiotik, yang mampu mengimbas ketahanan tanaman terhadap patogen maupun melindungi dari serangan hama. Elisitor biotik maupun abiotik bekerja mengaktifkan beragam enzim yang berhubungan dengan mekanisme pertahanan tanaman terhadap patogen. Jenis pertahanan tanaman yang diaktifkan berbeda, bergantung pada elisitor yang digunakan sehingga penentuan jenis elisitor yang digunakan dan informasi mekanisme ketahanan terhadap suatu patogen sangat diperlukan untuk menjamin keberhasilan pengimbasan ketahanan. Elisitor yang sama digunakan pada patogen yang sama namun pada tanaman yang berbeda dapat memberikan dampak yang berbeda (Perangin – angin, 2019).

Bentuk pertahanan yang dilakukan tanaman yaitu dengan adanya lapisan lilin, *phenolic, cutin, phenolic glycosides, phenols, quinones, steroid dan terpenoid*. Bentuk lain dari pertahanan tanaman bersifat dinamis seperti meningkatnya konsentrasi enzim-enzim pertahanan setelah terjadinya infeksi oleh patogen seperti fitoaleksin, radikal bebas yaitu *Reactive Oxygen Species* (ROS), kalsium, silikon dan silikat, peroksidase, hidroksiprolin, glikoprotein, tionin, kitinase, β -1,3-glukanase, ribonuklease, proteases, callose, lignin, lipoxygenase dan phospholipase (Lancioni, 2008 ; Abdel-Monaim, 2011 ; Abdel Monaim *et al.*, 2012 ; Permatasari, 2018).

Pada ketahanan terimbas, bentuk pertahanan yang dihasilkan dari pengimbasan ketahanan bervariasi, bergantung pada bentuk pertahanan alami yang dimiliki tanaman, baik bersifat pasif maupun dinamis, misalnya meningkatkan konsentrasi lapisan lilin dan chutin atau meningkatkan konsentrasi enzim-enzim pertahanan seperti fitoaleksin dan lainnya (Permatasari, 2018).

Sistem pertahanan tanaman terdiri atas dua lapis. Lapisan pertama dikenal sebagai ketahanan basal (*bassal immunity*) yang merupakan fase pengenalan tanaman terhadap molekul patogen. Lapisan kedua merespon faktor virulensi dari patogen dengan adanya gen tahan (gen R) yang dimiliki tanaman (Lee *et al.*, 2009). Ketika terinfeksi patogen, reaksi pertama tanaman adalah berupaya untuk mengenali “benda asing” tersebut melalui molekul pengenal pola patogen atau *Pathogen Associated Molecular-Pattern* (PAMP) (Inayati, 2016).

Pada ketahanan terimbas, elisitor berperan mengenali kemudian mengaktifkan mekanisme ketahanan tanaman seperti menginduksi peningkatan aktifitas ROS, deposisi enzim kalose, dan ekspresi gen-gen tahan tanpa menimbulkan kematian jaringan (Boller and Felix, 2009). Selanjutnya, patogen berupaya menghindari tekanan dari respon tanaman dengan meningkatkan virulensinya. Sesuai dengan teori gene for gene maka gen tahan dan R protein pada tanaman juga berupaya menekan gen virulen pada patogen. Mekanisme seperti ini disebut model zig-zag, di mana elisitor PAMP bertindak sebagai pendorong reaksi pertahanan tanaman dari patogen yang menginfeksi (Edvera, 2004 ; Zipfel and Robatzek, 2010).

2.6. Deteksi Mutan dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan di bidang Biologi Molekular, penanda molekular berupa DNA banyak digunakan untuk mengetahui urutan genom tanaman dan menjadikan revolusigenetika molekular serta efisiensi dalam program pemuliaan tanaman. Penanda DNA

merupakan pendekatan untuk lebih meningkatkan informasi genetik yang belum dapat diperoleh dengan penanda protein. Kelebihan penanda DNA adalah dapat digunakan untuk jumlah yang tidak terbatas dan dapat mencakup seluruh genom tanaman, tidak dipengaruhi oleh regulasi perkembangan tanaman, serta memiliki kemampuan tinggi untuk menggambarkan keragaman karakter antar individu (Sihotang dkk., 2022).

Penanda molekular merupakan urutan nukleotida dan bisa diketahui dengan adanya polimorfisme antara urutan nukleotida individu yang berbeda. Polimorfisme didasarkan karena adanya mutasi insersi, delesi, mutasi titik dan translokasi, tetapi belum tentu mempengaruhi aktivitas gen. Jenis penanda molekular DNA telah dikembangkan dan berhasil diterapkan dalam genetika dan pemuliaan tanaman dalam bidang pertanian (Nadeem *et al.*, 2018).

Penanda molekular yang banyak digunakan dalam analisis keragaman genetik tumbuhan, salah satunya adalah *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Marka molekuler ini dapat berbasis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang banyak digunakan dalam mengidentifikasi keragaman pada tingkat intraspesies maupun antarspesies. Teknik ini digunakan untuk mengidentifikasi genotipe tumbuhan, karena memiliki kelebihan dalam pelaksanaan dan analisisnya. Dibandingkan dengan penanda DNA yang lain, seperti *Restriction Fragment Length Polymorphisms* (RFLP) dan *Simple Sequence Repeats* (SSR), teknik RAPD lebih murah, mudah dilakukan, cepat memberikan hasil, menghasilkan polimorfisme pita DNA dalam jumlah banyak dan mudah memperoleh primer acak yang diperlukan untuk menganalisis genom semua jenis organisme (Langga dkk., 2012).

Teknik RAPD tidak membutuhkan informasi awal tentang urutan basa suatu spesies, yang diperlukan adalah DNA yang relatif murni dan dalam jumlah yang relatif kecil dibandingkan RFLP. Oleh karenanya RAPD dapat diterapkan pada hampir semua jenis tanaman. DNA sebagai pembawa informasi genetik terdapat pada semua makhluk hidup, terdapat di dalam sel

khususnya di dalam inti sel. DNA dapat diperoleh dari suatu makhluk hidup dengan suatu proses ekstraksi, sehingga memudahkan untuk mengidentifikasi DNA yang disebut proses isolasi DNA (Langga dkk., 2012).

Ada tiga langkah utama dalam ekstraksi DNA, yaitu perusakan dinding sel (lisis), pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA. Melalui proses tersebut DNA dipisahkan dari komponen seluler lain seperti protein, RNA dan lemak (Shehadul Islam *et al.*, 2017).

Kelebihan RAPD yaitu analisis keragaman menggunakan teknik molekular yang memanfaatkan teknologi RAPD adalah kuantitas DNA yang diperlukan hanya sedikit, tingkat kemurnian DNA yang dibutuhkan tidak perlu terlalu tinggi, atau dengan kata lain teknik ini toleran terhadap tingkat kemurnian DNA yang beragam. Teknik RAPD juga terdapat kelemahan antara lain yaitu tingkat reproduksibilitas pola marka dari laboratorium ke laboratorium berbeda dari antara hasil percobaan dalam laboratorium itu sendiri yang sama, serta memerlukan konsentrasi primer dan kondisi siklus suhu yang optimal pada saat pengujian. Kekurangan lain yaitu tidak mampu menampilkan perbedaan sekuen DNA yang homolog, di antara pita-pita yang ukurannya hampir sama (Bardakci, 2001; Semangun, 2006).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2022 sampai Desember 2022 di Desa Srimenganten, Kecamatan Pulau Panggung, Kabupaten Tanggamus dan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah paronet, tajar bambu, plastik *polybag*, sekop kecil, botol semprot, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAF), *autoclave*, spektrofotometer, hemositometer, mikroskop, *hot plate*, timbangan analitik Ohaus, botol kultur berukuran 250 ml, gelas ukur bervolume 100 ml dan 500 ml, cawan petri berdiameter 10 cm, labu ukur berukuran 50 ml, *beaker glass*, corong, batang pengaduk, kertas saring, *hot plate*, saringan, *alumunium foil*, pinset, *scalpel*, pipet tip, mikropipet, *mortar dan pestle*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tisu, kertas label, mikroskop, tabung eppendorf, *water bath*, *centrifuge*, vortex, *microwave*, mesin PCR, Tube PCR. Alat untuk elektroforesis yaitu sisir pencetak sumuran dan untuk melihat hasilnya yaitu UV transiluminator dan kamera.

Bahan – bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah vanili berumur 4 bulan, kentang, *dextrose*, agar murni, asam fusarat murni yang diproduksi oleh Sigma chemical Co. (Fusaric acid (5-butylpicolinic acid) from Giberella fujikuroi. alkohol 96%, glukosa, pirogalol, Hidrogen Peroksidase (H_2O_2), aquades, buffer ekstraksi (2% CTAB, 100 μ m Tris-HCl pH 8, 1.4 NaCl, 2-mercaptoethanol, 20 μ m EDTA pH 8), kloroform : isoamil alkohol

(24:1),ethanol 70, akuabides steril, TE, primer OPB_14, OPB_20, Premix PCR (Kit bio line 12,5 μ L, primer 2,0 μ L pada konsentrasi 100 μ M, DNA template 2,0 μ L pada konsentrasi 40 ng/ μ L dan Nuclease Free Wate 8,5 μ L). Elektroforesis dengan buffer (500 mL buffer 1x, minigelagarose 1,5 % (g/v), good view).

3.3. Rancangan Penelitian

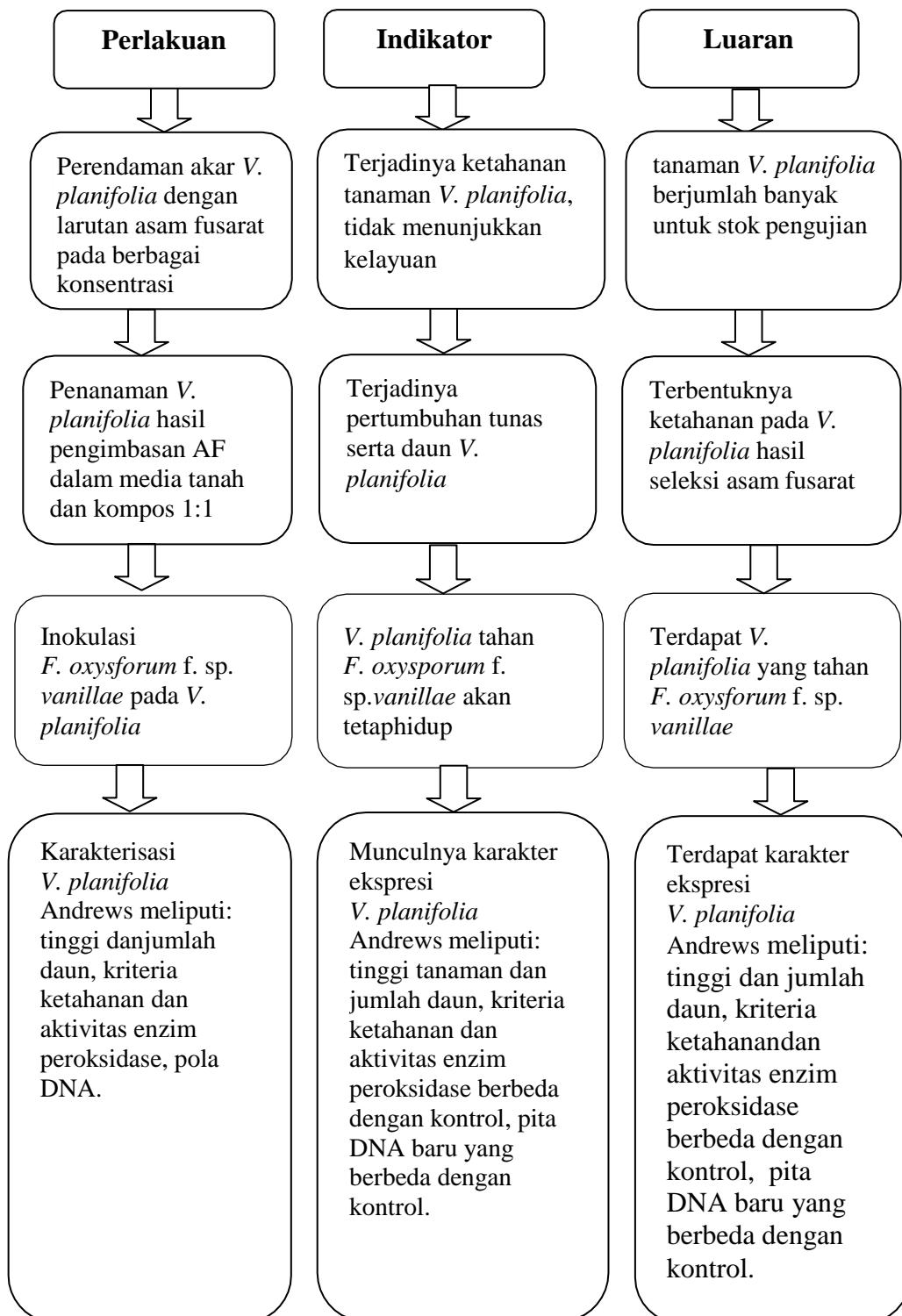
Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu konsentrasi asam fusarat yang dibagi atas 5 taraf, yaitu 0 ppm, 90 ppm, 100 ppm, 110 ppm, dan 120 ppm. Masing-masing dari konsentrasi tersebut dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali, dan pada setiap ulangan terdiri dari 1 tanaman vanili dalam *polybag*. Parameter yang diuji yaitujumlah tanaman hidup, tinggi tanaman, jumlah daun, kriteria ketahanan, aktivitas enzim peroksidase, dan analisis pola DNA.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan, yaitu 1). Penanaman *V. planifolia* yang berumur 4 bulan (yang sebelumnya telah direndam asam fusarat) ke dalam tanah steril sesuai konsentrasi; 2). Penentuan kisaran konsentrasi asam fusarat toleran untuk seleksi *V. planifolia* secara *in vivo*; 3). Analisis ketahanan *V. planifolia* setelah diinokulasi *F. oxysporum* f. sp *vanillae*; 4) Analisis karakter ekspresi pada *V. planifolia* yang meliputi tinggi dan jumlah daun, aktivitas enzim peroksidase dan analisis pola pita DNA. Tahapan penelitian ini disajikan dalam bentuk bagan alir pada

Gambar 3.

3.5. Diagram Alir Penelitian



Gambar 3. Diagram Alir Penelitian

3.5.1. Persiapan Lahan dan Medium Tanam

Pada penelitian ini menggunakan lahan dengan ukuran 3 x 3 m.

Sebelumnya lahan diratakan dan dibersihkan dari rumput. Lahan kemudian diberi tegakkan dengan bambu untuk menyangga paranet sebagai naungan untuk tanaman. Media tanam yang digunakan yaitu tanah dan pupuk organik dengan perbandingan 1 : 1, kemudian media yang sudah siap dimasukkan ke dalam *polybag* sebanyak 25 buah yang berukuran satu kg dan disusun pada masing – masing petakan.

3.5.2. Pembuatan Larutan Asam Fusarat

Asam fusarat yang digunakan pada penelitian ini yaitu 5 taraf konsentrasi meliputi 0 ppm, 90 ppm, 100 ppm, 110 ppm dan 120 ppm dari larutan stok 1000 ppm. Stok larutan dibuat dengan sebanyak 0,1 g asam fusarat dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan dilarutkan dengan aquades sampai tanda batas, kemudian dihomogenkan. Selanjutnya dilakukan pengenceran asam fusarat dengan konsentrasi meliputi 0 ppm, 90 ppm, 100 ppm, 110 ppm dan 120 ppm.

3.5.3. Penanaman dan Pengimbasan *V. planifolia* dengan Asam Fusarat

Vanili yang berumur 4 bulan kemudian dilakukan pengimbasan dengan AF yaitu dengan merendam akar tanaman ke dalam larutan AF sebanyak 100 ml selama 30 menit. Masing – masing tanaman yang telah direndam kemudian ditanam pada media tanah dengan yang telah siapkan sebanyak 25 buah, setiap *polybag* berisi 1 tanaman. Pengamatan visualisasi tanaman dikategorikan berdasarkan Nurcahyani *et al.* (2012) yaitu hijau, hijau dengan bagian tertentu berwarna cokelat, dan cokelat.

Perhitungan jumlah tanaman yang hidup menggunakan **Rumus 1**, menurut Nurcahyani *et al.*, (2014) yaitu:

Rumus 1.

Persentase Jumlah Tanaman Hidup :

$$\frac{\text{jumlah tanaman Hidup}}{\text{jumlah seluruh tanaman}} \times 100 \% \quad (1)$$

3.5.4. Analisis Ketahanan *V. planifolia* Terhadap *Fov*

Analisis ketahanan *V. planifolia* dilakukan dengan menggunakan metode Hadisutrisno (1995), diawali dengan melakukan inokulasi *F. oxysporum* f. sp. *vanillae*. Jamur *Fov* dibiakkan pada mediumPDA selama 5 – 7 hari, kemudian spora diambil dengan menggunakan jarum ose. Spora dilarutkan ke dalam akuades dalam tabung reaksi. Pengenceran larutan dilakukan untuk mendapatkan suspensi dengan kerapatan spora 10^{-4} per ml (Herlinda dkk., 2006).

Inokulasi *Fov* dilakukan pada batang *V. planifolia* yang terlebih dahulu dilukai menggunakan suntikan steril, kemudian suspensi spora disuntikkan pada batang tanaman vanili sebanyak 2 ml. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari sekali setelah inokulasi selama 2 minggu, dengan mengamati daun yang menunjukkan gejala layu dengan indeks kelayuan menurut He *et al.* (2007) disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Kriteria Indeks Kelayuan

Skor	Keterangan
0	Tidak ada gejala kuning (layu atau tanaman sehat)
1	1-2 daun kuning (layu)
2	3 daun kuning (layu)
3	4 daun kuning (layu)
4	Lebih dari 4 daun kuning (layu) atau tanaman mati

Intensitas penyakit dihitung berdasarkan jumlah daun yang menunjukkan gejala kuning (layu) dengan indeks kelayuan menurut He *et al.* (2007)

Intensitas Penyakit (IP) dihitung dengan **Rumus 2**.

$$IP = \frac{\Sigma(n \times v)}{N \times z} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan :

- IP : Intensitas Penyakit
- n : Jumlah tanaman pada skor v
- v : Nilai skor tertentu
- N : Jumlah tanaman yang diuji
- z : Nilai skor tertinggi

Tingkat ketahanan tanaman ditentukan berdasarkan skoring dengan mengacu pada ketentuan Wibowo (2002), seperti ditunjukkan pada **Tabel 2.**

Tabel 2. Tingkat Ketahanan Tanaman

IP (%)	Kriteria Ketahanan
≤ 25	Tahan
$25 < IP \leq 50$	Moderat
> 50 atau mati	Rentan

Keterangan:
P : Intensitas Penyakit

3.5.5. Karakterisasi Tanaman *V. planifolia* Andrews

Karakter tanaman *V. planifolia* yang tahan dengan *Fov* dapat dilihat dari aktivitas enzim peroksidase dan pola DNA.

a. Analisis Karakter Agronomis

Pengamatan tinggi dan jumlah daun dilakukan pada tanaman setelah pengimbasan AF yaitu selama 15 hari dan dilakukan setiap 3 hari sekali. Kemudian setelah tanaman dilakukan inokulasi diamati kembali setiap 3 hari sekali selama 15 hari, dan diamati perubahan tinggi dan jumlah daun pada tanaman yang diimbas dan tidak diimbas AF.

b. Analisis Aktivitas Enzim Peroksidase

Aktivitas enzim peroksidase dapat dianalisis dengan menggunakan metode Saravanan *et al.* (2004). Daun segar sebanyak 0,5 g digerus dengan aquades 10 ml kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat ditambahkan 1,5 ml 0,05 M pirogalol, dan 0,5 ml. 1% H₂O₂, Campuran disentrifus pada kecepatan 5.000 rpm dengan suhu 25°C selama 10 menit, kemudian larutan dimasukkan ke dalam kuvet sebanyak 2 ml. Spektrofotometer diatur dengan panjang gelombang 420 nm dan dibaca dari nol. Pada tahap awal ditambahkan 100 µL 1% H₂O₂ pada kuvet yang sudah terisi campuran sampel. Aktivitas enzim

dihitung dalam (u/mg)/min. Satu unit adalah aktivitas berubahnya OD 420 nm pada spektrofotometer per menit.

c. **Pola DNA *Vanilla planifolia* dengan metode RAPD**

1. **Isolasi DNA *Vanilla planifolia***

Ekstraksi DNA dilakukan berdasarkan metode Doyle dan Doyle (1990) yang dimodifikasi. Sebanyak 0,1 gram sampel daun vanili segar ditimbang dan digerus dengan menggunakan mortar dan pestle, ditambah 1,5 ml buffer ekstraksi (2% CTAB, 100 mM Tris-HCl pH 8, 1,4 M NaCl, 2 mercaptoethanol, 20 mM EDTA pH 8) dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Suspensi tersebut diinkubasi pada suhu 65 °C selama 40 menit dalam *waterbath* dan dibolak-balik secara kontinyu, kemudian disentrifuse pada 14.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dipindahkan ke dalam tabung eppendorf baru sebanyak 1,5 µl, dan ditambahkan 1x campuran kloroform : isoamilalkohol (24:1).

Tabung eppendorf divortex hingga homogen dan disentrifuse pada 14.000 rpm selama 10 menit. diambil lapisan bagian atas (supernatan), kemudian ditambahkan sebanyak 0,6x volume Isopropanol dingin (-20°C). Campuran tersebut diinkubasi pada -20 °C selama 1 jam, kemudian tabung disentrifuse pada kecepatan 14.000 rpm selama 4 menit dan supernatan dibuang. Pelet DNA yang terbentuk di dasar tabung eppendorf dicuci dengan etanol 70% sebanyak 500 µl lalu disentrifuse pada 14.000 rpm selama 3 menit. Cairan etanol 70% dibuang dan pelet DNA yang dihasilkan dikeringanginkan kemudian pelet DNA ditambah 100 µl air steril dan disimpan pada suhu -20 °C.

2. Analisis Pola DNA *V. planifolia* dengan Metode RAPD (PCR-RAPD)

Untuk analisis PCR menurut metode William *et al.* (1990), disiapkan DNA *template* yang telah dilarutkan dalam TE, *ice box*, dan primer yang digunakan (Tabel 3). Premix PCR dibuat dengan komposisi: kit Bio Line sebanyak 12,5 µL, primer 2,0 µL pada konsentrasi 100 µM, DNA *template* 2,0 µL pada konsentrasi 40 ng/µL, dan *Nuclease Free Water* sebanyak 8,5 µL, sehingga volume totalnya adalah 25,00 µL. Primer RAPD disajikan pada

Tabel 3.

Tabel 3. Primer RAPD

No	Primer	Urutan Nukleotida (5' – 3')	Referensi
1	OPB_12	CCT TGA CGC A	Hartati <i>et al.</i> , 2014

Primer diamplifikasi dengan mesin PCR (*GenAmp 2400*). Kondisi reaksi untuk pelaksanaan proses PCR RAPD mengikuti metode William *et al.* (1990) yang dimodifikasi pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Kondisi Reaksi PCR – RAPD

Reaksi	Temperatur (°C)	Waktu (Detik)	
Predenaturasi	95	180	Siklus 45
Denaturasi	95	15	
Annealing	36	15	
Elongasi	72	30	
Post-elongasi	72	420	

3. Elektroforesis

Elektroforesis menggunakan metode Sambrook *et al.* (1989) yang dimodifikasi, Elektroforesis dilakukan dengan pembuatan 500 mL buffer TBE 1x dengan cara diambil 50 mL larutan buffer TBE 10x, kemudian diencerkan pada gelas ukur 500 mL dengan ditambahkan akuades sampai tanda 500 mL lalu dihomogenkan. Minigel agarose 1,5 % (g/v) dibuat dengan cara 1,5 g agarose

dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 100 mL TBE IX lalu dihomogenkan, kemudian dipanaskan menggunakan *microwave* ($t=100^{\circ}\text{C}$; sekitar 2 menit) sampai semua larut.

Larutan selanjutnya didinginkan sampai suhu lebih kurang $50-55^{\circ}\text{C}$, lalu ditambahkan *Good View* sebanyak 5 μl . Agarose cair tersebut dituangkan ke dalam *glassplate* dengan sisir tegak lurus. Gel ditunggu sampai menjendal selama sekitar 30 menit dan setelah dingin sisir diangkat. Sampel DNA sebanyak 25 μL (hasil running PCR) dimasukkan ke dalam sumuran yang terdapat dalam gel tersebut dengan menggunakan mikropipet. Sebanyak 10 μL DNA marker selanjutnya dimasukkan pada sumuran di ujung kiri gel. Gel kemudian dimasukkan ke dalam tangki elektroforesis yang telah diisi buffer TBE 1% (v/v). Proses running dilakukan pada tegangan 100 volt selama sekitar 30 menit. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan sinar UV dari UV Transiluminator.

3.6. Analisis Data

Analisis data secara kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif yang didukung oleh foto. Data kuantitatif ditabulasi dengan faktor konsentrasi yang berbeda. Analisis data dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam (*Analysis of Variance*) atau Anova. Analisis ragam (Anova) dilakukan pada taraf nyata 5% dan uji lanjut dengan uji Tukey pada taraf nyata 5%.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian ini sebagai berikut.

1. Konsentrasi asam fusarat toleran untuk seleksi tanaman *V. planifolia* pada pertumbuhan optimum adalah 120 ppm.
2. Karakter agronomis pada tinggi dan jumlah daun *V. planifolia* tidak ada berpengaruh nyata antara kontrol dan perlakuan asam fusarat, namun secara angka cenderung mengalami peningkatan.
3. Kriteria ketahanan tanaman *V. planifolia* secara *in vivo* pada konsentrasi 110 ppm dan 120 ppm lebih efektif menekan perkembangan infeksi *Fov* dan mampu menekan intensitas penyakit hingga 20% dengan kriteria tahan.
4. Aktivitas enzimperoksidase meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi asam fusarat.
5. Pita DNA spesifik dengan ukuran 500 bp (OPB_12) dapat diprediksi sebagai kandidat marker RAPD untuk ketahanan *V. planifolia* terhadap *Fov*. Pita DNA spesifik tersebut dapat dijadikan sebagai karakter untuk mengelompokkan dan memisahkan *V. planifolia* yang tidak diimbas (kontrol) dan diimbas AF (konsentrasi 90, 100, 110 dan 120 ppm).

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan secara *in vivo* pada tanaman *V. planifolia*, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis kimia seperti kandungan fenol, dan analisis molekular lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Monaim, M.F. 2011. Role Of Riboflavin and Thiamine In Induced Resistance Against Charcoal Rot Disease of Soybean. *African Journal of Biotechnology*. 10 (5) : 10842-10855.
- Abdel-Monaim, M.F., Ismail, M.E. and Morsy, K.M. 2012. Induction of Systemic Resistance in Soybean Plants Against Fusarium Wilts Disease By Seed Treatment With Benzothiadiazole and Humic Acid. *African Journal of Biotechnology*. 1 (10) : 2454-2465.
- Alexopoulos, C. J. and Mims, C. W. 1979. *Introductory Mycology*. Third edition John Wiley and Sons. New York. Pp 869. 922 p.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology 5th Edition*. Academic Press Inc. San Diego. USA.
- Angelova, Z., Georgiev, S. and Roos, W. 2006. *Elicitation of plants*. Biotechnol. and Biotechnol. Eq. 20 : 72-83.
- Bardakci, F. 2001. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Turkish Journal of Biology*. 25(2) : 185-196.
- Boller, T. and Felix, G. 2009. A Renaissance of Elicitors: Perception of Microbe-Associated Molecular Patterns and Danger Signals By Pattern-Recognition Receptors. *Annual Rev. of Plant Biology*. 60 : 379-406.
- Bouizgarne, B, Bouteau H. E. M., Frankart, C., Reboutier, D., Madiona, K., Pennarun, A.M., Monestiez, M., Trouverie, J., Amiar, Z., Briand, J., Brault, M., Rona, J.P., Ouhdouch, Y. and Hadrami, E.I. 2006. Early Physiological Responses Of *Arabidopsis thaliana* Cells To Fusaric Acid. Toxic and Signallling Effects. *New Phytologist*. 169: 209–218.
- Corn, O. F., Metboki, C. B., Astiti, N. P. A. and Proborini, M. W. 2016. The Effectivity of Ampunu (*Eucalyptus alba* Reinw. Ex. Blume) Bark Extract to Inhibit The Growth Of Fungus *Fusarium* Sp. Causing Rot Disease. *Metamorfosa: Journal Of Biological Sciences*. 3 (2) : 59-64.
- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press. New York. 477 p.

- Dehgahi, R., Zakaria, L., Mohamad, A., Joniyas, A., dan Subramaniam, S. 2016. Effects of Fusaric Acid Treatment on the Protocorm-Like Bodies of *Dendrobium sonia*-28. *Protoplasma*. 253 : 1373-1383.
- De Guzman, C. C. and Zara, R. R. 2012. *Vanilla. Handbook Of Herbs And Spices*. Woodhead Publishing In Food Science, Technology And Nutrition. UK. Pp. 547–589
- Dong, X., Ling, N., Wang, M., Shen, Q. and Guo, S. 2012. Fusaric Acid Is A Crucial Factor In The Disturbance Of Leaf Water Imbalance In Fusarium-Infected Banana Plants. *Plant Physiology And Biochemistry*. 60 : 171–179.
- Dong, X., Xiong, Y., Ling, N., Shen, Q., and Guo, S. 2014. Fusaric acid accelerates the senescence of leaf in banana when infected by Fusarium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 30 : 1399-1408.
- Doyle, J.J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12 : 13-15.
- Divakaran, M., Pillai, G.S., Nirmal Babu K. and Peter, K.V. 2008. Isolation and Fusion Protoplast in Vanilla Species. *Current Science*. 94. 115-120.
- Edvera, A. 2004. A Novel Strategy For Plant Protection. Induced Resistance. *J. Of Cell and Molecular Biol.* 3 : 61-69.
- Flor, H. H. 1971. Current status of the gene-for-gene concept. *Annu Rev Phytopathol*. 9 : 275- 296.
- Food and Agriculture Organization of United Nation (FAO). 2021. https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity. Diakses tanggal 21 November 2022
- Gallage, N. J. and Moller, B. L. 2015. Vanillin–Bioconversion and Bioengineering Of The Most Popular Plant Flavor and Its De Novo Biosynthesis in The Vanilla Orchid. *Molecular Plant*. 8 : 40-57
- Gantait, S. and Kundu, S. 2017. *In Vitro* Biotechnological Approaches On *Vanilla planifolia* Andrews: Advancements and Opportunities. *Acta Physiologiae Plantarum*. 39 (9) : 1-19.
- Gusmiaty, G., Sari, N. A., Safira, T. N., Budiman, A., dan Larekeng, S. H. 2021. Polimorfisme Penanda RAPD Untuk Analisis Keragaman Genetik Kemiri (*Aleurites mollucana*) di Kabupaten Maros. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*. 6(1) : 22-30.
- Hadisutrisno, B. 1995. Kajian pengendalian hayati penyakit busuk batang vanili dengan isolat lemah Fusarium batatas Tucker. *Buletin Ilmiah Azolla*. 21 : 27-35.

- Hamidson, H., Singarimbun, M. dan Umayah, A. 2021. Inokulasi Silang Patogen *Collectotrichum gloeosporioides* Pada Tanaman Karet, Cabai Merah, Pepaya, Dan Pisang. In *Seminar Nasional Lahan Suboptimal*. 9 . Pp. 145-153.
- Harshvardhan, K., Suri, M., Goswami, A. and Goswami, T. 2017. Biological Approach For The Production Of Vanillin From Lignocellulosic Biomass (*Bambusa tulda*). *Journal Of Cleaner Production*. 149 : 485-490.
- Hartati, S., Tarina, L., Yulia, E., Yunus, A., and Djoar, D. W. 2014. Genetic Diversity of Orchid *Coelogyne* spp. by Molecular RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) Markers. *International Journal of Applied Agricultural Research*. 9(2) : 147- 154.
- Hartati, S., Tarina, L., Yulia, E., dan Djaya, L. 2019. Pengaruh Induksi Resistensi oleh Khamir Candida tropicalis terhadap Pertumbuhan Tanaman Cabai Terinfeksi *Colletotrichum acutatum*. *Agrikultura*. 30(1) : 17-24.
- He, C. Y., Hsiang, T. and Wolyn, D.J., 2007. Induction of Systemic Disease Resistance and Pathogen Defence Responses in *Asparagus officinalis* Inoculated with Pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathology*. 51:225 -230.
- Herlinda, S., Utama, M. D. dan Pujiastuti, Y. 2006. Kerapatan dan Viabilitas Spora *Beauveria bassiana* Bals. Akibat Subkultur dan Pengayaan Media, Serta Virulensinya Terhadap Larva *Plutella xylostella* Linn. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 6 (2) : 70-78.
- Hernández-Fernández, M. Á., Rojas-Avila, A., Vazquez-Landaverde, P. A., Cornejo-Mazón, M. and Dávila-Ortiz, G. 2019. Volatile Compounds and Fatty Acids in Oleoresins From *Vanilla planifolia* Andrews Obtained By Extraction With Supercritical Carbon Dioxide. *Cyta-Journal Of Food*. 17 (1) : 419-430.
- Inayati, A. 2016. Ketahanan Terimbas Tanaman Kacang-kacangan terhadap Penyakit. *Iptek Tanaman Pangan*. 11 (2) : 175-186
- Jacobson, M. Z. 2009. Review of Solutions To Global Warming, Air Pollution, and Energy Security. *Energy and Environmental Science*. 2 (2) : 148-173.
- Jayadi, I., Sudantha, I. M. dan Fauzi, T. 2018. Potensi Kompos Hasil Fermentasi Jamur Endofit dan Saprofit *Trichoderma* Spp. dalam Meningkatkan Ketahanan Terinduksi Beberapa Varietas Pisang Terhadap Penyakit Layu *Fusarium*. *Jurnal Sangkareang Mataram*. 4 (1) : 29-35.
- Jendoubi, W., Harbaoui, K. and Hamada, W. 2015. Salicylic Acid-Induced Resistance Against *Fusarium oxysporum*. *Pradicis lycopercisi* In Hydroponic Grown Tomato Plants. *Journal Of New Sciences*. 21.

- Kaisah, F., Agustrina, R., Ernawati, E., Lande, M. L., dan Chrisnawati, L. 2021. The Resistance of Chilli (*Capsicum annuum* L.) From Seeds Induced by 0.2 mt Magnetic Field and Infected by *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*. 8(2) : 24-30.
- Laksono, F. P., dan Fanata, W. I. D. 2022. Pengaruh Induksi Mutasi dengan Mutagen EMS (Ethyl Methane Sulfonate) Terhadap Hasil dan Kualitas Kedelai Hitam (*Glycine soja* (L) Merrit). *Berkala Ilmiah Pertanian*. 5(2) : 120-126.
- Lancioni, P. 2008. *Studies on biotik and abiotik elicitors inducing defense responses in tomato*. Thesis. Università di Bologna. 125 p.
- Landa, B.B., Cachinero-Diaz, J.M., Lemanceu, P., Jimenez-Diaz, R.M. and Alabouvette, C. 2002. Effect Of Fusaric Acid and Phytoanticipins on Growth of Rhizobacteria and *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Microbiology*. 48: 971-985.
- Langga, I. F., Restu, M. dan Kuswinanti, T. 2012. Optimalisasi Suhu dan Lama Inkubasi Dalam Ekstraksi DNA Tanaman Bitti (*Vitex cofassus* Reinw) serta Analisis Keragaman Genetik dengan Teknik RAPD-PCR. *J Sains dan Teknologi*. 12 (3) : 265-276.
- Larekeng, S. H., Dermawan, R., Iswoyo, H., and Mustari, K. 2019. RAPD primer screening for amplification on Katokkon pepper from Toraja, South Sulawesi, Indonesia. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 270 (1) : 012 - 023
- Larroque, M., E., Belmas, T., Martinez, S., Vergnes, N., Ladouce, C., Lafitte, E., Gaulin, B. and Dumas. 2013. Patogenassociated Molecular Pattern-Triggered Immunity and Resistance to the Root Pathogen *Phytophthora* Parasitica in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*. 64 (12) : 3615–3625.
- Lee, S.W., Han, S.W., Sririyannum, M., Park, C.J., Seo, Y.S. and Ronald, P.C. 2009. A Type I-Secreted, Sulfated Peptide Triggers Xa21-Mediated Innate Immunity. *Science*. 326 : 850–853.
- Lestari, E.G., Sukmadjaja, D., Mariska, I., Hobir., Tombe, M., Kosmiatin., Rusyadi, Y. dan Rahayu, S . 2006. Perbanyak *In Vitro* dan Pengujian Lanjutan Pada Nomor-Nomor Harapan Panili dan Lada Yang Tahan Penyakit. In *Prosiding Seminar Hasil Peneliti Tian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Bogor. Pp. 109-118.
- Liunokas, A. B., dan Billik, A. H. S. 2021. *Karakteristik Morfologi Tumbuhan*. Deepublish. Sleman. 108 hlm.
- Mukarlina, Khotimah, S., dan Rianti, R. 2010. Uji Antagonis *Trichoderma harzianum* terhadap *Fusarium* spp. Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Cabai (*Capsicum annuum*) secara *In Vitro*. *Jurnal Fitomedika*. 7(2): 80-85.

- Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M. dan Baloch, F. S. 2018. Dna Molecular Markers in Plant Breeding: Current Status and Recent Advancements in Genomic Selection and Genome Editing. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 32 (2) : 261-285.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fusaric-acid>. Diakses pada tanggal 18 Oktober 2022.
- Nurcahyani, E., Issirep, S., Bambang, H. dan Suharyanto, E. 2012. Penekanan Perkembangan Penyakit Busuk Batang Vanili (*Fusarium oxysporum* f.sp.*vanillae*) Melalui Seleksi Asam Fusarat Secara *In Vitro*. *J. HPT Tropika*. 12 (1): 12 – 22.
- Nurcahyani, E., Hadisutrisno, B., Sumardi, I. dan Suharyanto, E. 2014. Identifikasi Galur Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Resisten Terhadap Infeksi *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vanillae* Hasil Seleksi *In Vitro* Dengan Asam Fusarat. In *Prosiding seminar Nasional PFI Komda Joglosemar 2014*. 1 (1). Pp. 272-279.
- Nurcahyani, E., Agustrina, R., dan Handayani, T. T. 2016. The Protein Profile of the Plantlets of *Spathoglottis plicata* Bl. Induced Resistance to *Fusarium oxysporum*. *Journal of Plant Sciences*. 4 (5) : 102-105.
- Nurcahyani, E., Sumardi, I. Hadisutrisno, B. dan Suharyanto, E. 2017. DNA Pattern Analysis Of *Vanilla planifolia* Andrews Plantlet Which Resistant To *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vanillae*. *World Journal Of Pharmaceutical And Life Sciences WJPLS*. 3 (4) : 27-34
- Nurcahyani, E. 2019. Analisis Kandungan Karbohidrat Terlarut Total Planlet Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) Menggunakan Metode Fenol-Sulfur Secara in Vitro. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*. 4 (1) : 73-80.
- Nurcahyani, E., Sumardi, S., dan Hardoko, I. Q. 2019. Analysis of chlorophyll *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. results of the resistance to *Fusarium oxysporum* and drought stress. *IOSR Journal of Research & Method in Education (IOSR-JRME)*, 12(11-I) : 41-46.
- Nurcahyani, E., Sumardi, Qudus, H.I., Wahyuningsih, S., Sholekhah, dan Palupi, A. 2020. In Vitro Selection *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl. Plantlets Result of Induced Resistance With Fusaric Acid. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences. WJPLS*. 6 (2) : 25-28.
- Nurcahyani, E., dan Qudus, H. I. 2021. Analysis of Total Carbohydrate and Chlorophyll Content of The Orchid Plantlet *Phalaenopsis amabilis* (L.) Bl.] Resistant Fusarium Wilt Disease. In *Journal of Physics: Conference Series*. 1751 (1)

- Nurcahyani, E. 2022. *Varietas Unggul Vanili Tahan Busuk Batang Berbasis Teknik Molekular dan Induced Resistance*. Plantaxia. Bandar Lampung. 68 hlm.
- Nurzannah, S. E., Lisnawita, L. dan Bakti, D. 2014. Potensi Jamur Endofit Asal Cabai Sebagai Agens Hayati Untuk Mengendalikan Layu Fusarium (*Fusarium oxysporum*) Pada Cabai Dan Interaksinya. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*. 2 (3) : 100-407.
- Ojha, S., and Chatterjee, N. C. 2012. Induction of Resistance in Tomato Plants Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Mediated Through Salicylic Acid and *Trichoderma harzianum*. *Journal of plant protection research*. 52 (2).
- Pangkey, M., Wahibah, N.N., dan Sofiyanti, N. 2014. Polimorfisme Ramin Peroksidase (*Gonystylus bancanus* (Miq.) Kurz) di PT Forest. Intan Raya Timber Provinsi Riau. Disertasi. Universitas Riau.
- Pavlovkin, J., Mistrik, I. and Prokop, M. 2004. Some Aspects of the Phytotoxic Action of Fusaric Acid on Primary Ricinus Roots. *Plant Soil And Environment*. 50 (9) : 397-401.
- Permatasari, G. 2018. *Potensi Vitamin B1 dalam Menurunkan Intensitas Serangan Bean Common Mosaic Virus (BCMV) pada Tanaman Kacang panjang (Vigna sinensis L.)*. Doctoral dissertation. Universitas Brawijaya.
- Perangin-Angin, Y., Purwaningrum, Y., Asbur, Y., Rahayu, M. S. dan Nurhayati, N. 2019. Pemanfaatan Kandungan Metabolit Sekunder yang Dihasilkan Tanaman pada Cekaman Biotik. *Agriland: Jurnal Ilmu Pertanian*, 7 (1) : 39-47.
- Pinaria, A. 2020. *Jamur Fusarium yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Batang Vanili di Indonesia*. Unsrat Press. Manado. 181 hlm.
- Ramadhan, M. F., Setyorini, E., Rachmawati, N. dan Andriati, E. 2019. *Ayo Berkebun Vanili*. Pusat Perpustakaan dan Penyebaran Teknologi Pertanian. Bogor. 112 hlm.
- Ramírez-Mosqueda, M., Iglesias-Andreu, L., Noa-Carrazana, J., Armas-Silva, A. 2018. Selection of *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews genotypes resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*, by biotechnoloAgroproductivgy. idad. 11 : 70–4.
- Ramírez-Mosqueda, M. A., Iglesias-Andreu, L. G., Favián-Vega, E., Teixeira Da Silva, J. A., Leyva-Ovalle, O. R. and Murguía-González, J. 2019. Morphogenetic Stability Of Variegated *Vanilla planifolia* Jacks. Plants

- Micropropagated in A Temporary Immersion System (TIB). *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche E Naturali.* 30 (3) : 603-609.
- Rasmani, R., Nurcahyani, E., Sumardi, S. dan Wahyuningsih, S. 2020. Gen Ketahanan Penyakit Pada Familia Orchidaceae. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar.* 5 (2) : 169-175.
- Resti, Z., Habazar, T., dan Putra, D. P. 2016. Aktivitas Enzim Peroksidase Bawang Merah yang diintroduksi dengan Bakteri Endofit dan Tahan terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. Allii). *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika.* 16(2) : 131-137.
- Rizaty, M. A. 2022. <https://databoks.katadata.co.id/datapublish/2022/04/19/10-negara-penghasil-vanili-terbesar-indonesia-urutan-kedua>. Diakses pada tanggal 14 November 2022.
- Rohmah, S. 2019. *Pengaruh induksi mutasi radiasi sinar gamma cobalt-60 terhadap keragaman fenotip tanaman lidah mertua (Sansevieria trifasciata Prain).* Doctoral dissertation. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Rubiyo, R., Purwantara, A. dan Sudarsono, S. 2010. Chitinase and Peroxidase Activities, Stomatal Density and Resistance of Cocoa Against Black Pod Disease. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal).* 26 (2).
- Rustiani, U. S. 2015. *Keragaman dan Pemetaan Penyebab Penyakit Bulai Jagung di 13 provinsi Indonesia.* Disertasi. Jurusan Agroteknologi FP Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sambrook, J., Fritsch, E. R., and Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2nd Edition.* Cold Spring Harbor Laboratory . New York. pp. 323-358.
- Saravanan, T., Bhaskaran, R. and Muthusamy, M. 2004. *Pseudomonas fluorescens* Induced Enzymological Changes in Banana Roots (Cv. Rasthali) Against Fusarium Wilt Disease. *Plant Pathology Journal.* 3 : 72-80.
- Sastrahidayat, I. R. 2016. Peramalan Penyakit Tumbuhan. UB Press. Malang. 158 hlm.
- Semangun, H. 2001. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan.* Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Semangun, H. 2006. *Penyakit – Penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia.* Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Semangun, H. 2007. *Penyakit-Penyakit Hortikultura Di Indonesia (Edisi Kedua).* Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 845 hlm.

- Shehadul Islam, M., Aryasomayajula, A. dan Selvaganapathy, P. R. 2017. A Review on Macroscale and Microscale Cell Lysis Method. *Micromachine*. 8 (3) : 83.
- Singh, V. K., dan Upadhyay, R. S. 2014. Fusaric Acid Induced Cell Death and Changes In Oxidative Metabolism of *Solanum lycopersicum* L. *Botanical Studies*. 55 : 1-11.
- Sihotang, S., Prasetyo, D., Noer, Z., Setiyabudi, L., Sari, D. N., Munaeni, W. dan Rohmah, M. K. 2022. *Pengantar Biotehnologi*. CV. Tohar Media. Makassar.
- Suharjono, S. 2013. Pengaruh Rotasi Tanaman dan Agen Pengendali Hayati Terhadap Nematoda Parasit Tanaman. *Biotropika Journal Of Tropical Biology*. 1 (5) : 211-215.
- Sukmadjaja, D., Mariska, I., Lestari, E.G., Tombe, M. dan Kosmiatin, M. 2003. Pengujian Planlet Abaka Hasil Seleksi Terhadap *Fusarium oxysporum*. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Biotehnologi Tanaman*. Balai Penelitian Biotehnologi dan Sumber Daya Genetika. Bogor.
- Sukmadjaja, D., Purnamaningsih, R., dan Priyatno, T.P. 2013. Seleksi *In Vitro* dan Pengujian Mutan Tanaman Pisang Ambon Kuning untuk Ketahanan terhadap Penyakit Layu Fusarium. *Jurnal AgroBiogen*. 9(2): 66-76.
- Sumardiyono, C., Suharyanto, S., Suryanti, S., Rositasari, P. dan Chinta, Y. D. 2015. Deteksi Pengimbasan Ketahanan Pisang Terhadap Penyakit Layu Fusarium dengan Asam Fusarat. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 19 (1) : 40-44.
- Suwarno, S. J. dan Masnilah, R. 2020. Potensi *Bacillus* Spp. Sebagai Agen Biokontrol Untuk Menekan Layu Fusarium (*Fusarium oxysporum*) Pada Tanaman Melon (*Cucumis melo* L.). *Jurnal Pengendalian Hayati*. 3 (1) : 22-28.
- Swarupa, V., Ravishankar, K. V. and Rekha, A. 2014. Plant Defense Response Against *Fusarium oxysporum* and Strategies to Develop Tolerant Genotypes in Banana. *Planta*. 239 (4) : 735-751.
- Thomas J, Vijayan, A.K. and Bhai, R.S. 2002. Vanilla Disease in India and Their Management. *Indian Journal Of Areca Nut Spices dan Medical Plants*. 4 : 143-149.
- Walters, D.L., Ratsep, J. and Havis, N.D. 2013. Controlling Crop Diseases Using Induced Resistance Challenges for the Future. *Journal of Experimental Botany*. 18.
- Wibowo, A. 2002. Pengendalian Penyakit Layu Fusarium pada Pisang Dengan Menggunakan Isolat Non Patogenik *Fusarium* sp. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 6 : 65-70.

- Williams, J G., Kubelik, A. R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl Acid Res.* 18: 6531-353.
- Xie, X. G., Huang, C. Y., Cai, Z. D., Chen, Y., dan Dai, C. C. 2019. Targeted Acquisition of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* Toxin-Deficient Mutant and its Effects on Watermelon Fusarium Wilt. *Journal of agricultural and food chemistry*. 67(31) : 8536-8547.
- Zipfel, C. and S. Robatzek. 2010. Pathogen Associated Molecular Pattern-Triggered Immunity: Veni, Vidi *Plant Physiology*. 154 (2) : 551-554.
- Zribi, I., Ghorbel, M., and Brini, F. 2021. Pathogenesis related proteins (PRs): From cellular mechanisms to plant defense. *Current Protein and Peptide Science*. 22(5) : 396-412.