

Identifikasi Intraspesifik *Fusarium oxysporum* asal Subtrat Nonpisang dan Kemampuan Pindah Inangnya ke Tanaman Pisang

Infra-specific Identification of *Fusarium oxysporum* from Nonbanana Substrates and Its Ability to Move Hosts to Banana Plants

Gayuh Rahayu*, Ni Putu Winda Mahasari, Widodo
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Fusarium oxysporum dapat hidup sebagai saprob, endofit, dan patogen. *F. oxysporum* dibagi dalam banyak forma spesialis bergantung pada inangnya dan salah satunya ialah f. sp. *cubense* (Foc), penyebab penyakit layu pada pisang. Penelitian bertujuan menentukan identitas intraspesifik *F. oxysporum* asal nonpisang dan mengevaluasi kemampuannya untuk pindah inang ke tanaman pisang. Identitas intraspesifik ditetapkan melalui pendekatan molekuler dengan menggunakan 3 primer spesifik untuk mengenali ras TR4 (TR4 F/R, TR4 F/R1, dan FocSc-1/FocSc-2), sedangkan kemampuan pindah inangnya diujikan terhadap 2 kultivar pisang, yaitu pisang Ambon dan pisang Tanduk. Sebanyak 11 galur yang diteliti ialah IPBCC 88.012, IPBCC 07.328, IPBCC 07.540, IPBCC 08.561, IPBCC 08.562, IPBCC 08.568, IPBCC 10.674, IPBCC 14.1236, IPBCC 14.1237, IPBCC 14.1238 dan IPBCC 14.1239 tergolong dalam Foc TR4; serta IPBCC 07.338 dan IPBCC 14.1242 tergolong dalam Foc ras 4. Uji patogenisitas Foc IPBCC 88.012, 07.328, 08.561, 10.674, dan 14.1236 yang berturut-turut berasal mentimun, tanah, gubal gaharu, sarang serangga dan endofit pohon kina menunjukkan bahwa galur tersebut mampu pindah inang ke tanaman pisang. Hal ini menunjukkan bahwa Foc tidak bersifat spesifik inang dan penggunaan terminologi forma spesialis dapat diperdebatkan.

Kata kunci: kespesifikan inang, layu panama, patogenisitas, ras

ABSTRACT

Fusarium oxysporum has various life style, i.e. saprobe, endophyte and pathogen. Plant pathogenic *F. oxysporum* are divided into many forma specialis (f. sp.) depending on the host, for instance *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), a causal agent of Panama disease of banana. The study aimed to determine the infraspecific identity of *F. oxysporum* from non-banana host and evaluate its ability to jump banana plants. Infraspecific identity was determined through a molecular approach using 3 specific primers to recognize TR4 race (TR4 F/R, TR4 F/R1, and FocSc-1/ FocSc-2), while the host's transfer ability was tested on 2 banana cultivars namely cv. Ambon and Tanduk. Eleven strain studied i.e IPBCC 88,012, IPBCC 07,528, IPBCC 07,561, IPBCC 08,562, IPBCC 08,568, IPBCC 10.674, IPBCC 14.1236, IPBCC 14.1237, IPBCC 14.1238 and IPBCC 14.1239 were TR4 Foc; IPBCC 07,338 and IPBCC 14.1242 are race Foc 4. The pathogenicity test of Foc IPBCC 88,012, 07,328, 08,561, 10,674 and 14.1236 derived from cucumbers, soil, agarwood sapwood, insect nests and quinine tree endophytes showed that these strains were able to move to banana plant. This shows that Foc may not host-specific and the infaspecific term forma specialis is therefore debatable.

Key word: host specificity, panama disease, pathogenicity, race

*Alamat penulis korespondensi: Gedung Biologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Jalan Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia. Tel: 0251-8622833, Faks: 0251-8622833, Surel: gayuhrahayu@gmail.com.

PENDAHULUAN

Pisang merupakan salah satu komoditas buah unggulan Indonesia (Departemen Pertanian 2005). Luas panen pisang di Indonesia menurun drastis pada tahun 1992-1996 dari 157 ribu hektar pada tahun 1980 menjadi sekitar 45 ribu hektar pada tahun 1992-1996 (Rohmah *et al.* 2016). Salah satu penyebab penurunan luas panen pisang ialah serangan *Fusarium oxysporum*.

Fusarium oxysporum merupakan cendawan yang dapat hidup sebagai patogen, endofit, dan saprob (Tunarsih *et al.* 2015). Correll (1991) mengidentifikasi 120 forma spesialis dalam *F. oxysporum* sebagai patogen yang salah satunya ialah f. sp. *cubense*, penyebab layu fusarium pada pisang (Bentley *et al.* 1998; Dita *et al.* 2010). Pembagian ke dalam forma spesialis atau infraspesifik didasarkan pada kespesifikan inang (Correll 1991). Bentley *et al.* (1998) membagi *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) ke dalam 4 ras berdasarkan pada patogenisitasnya terhadap kultivar pisang. Foc ras 1 bersifat patogen terhadap pisang *Gross Michel*, seperti pisang kultivar Ambon Kuning dan pisang Barangan. Ras 2 menyerang pisang kultivar *Silk*, seperti pisang Kepok. Ras 3 merupakan Foc yang hanya bersifat patogen terhadap tanaman hias *Heliconia caribea*, sedangkan ras 4 merupakan jenis Foc yang paling ganas karena dapat menginfeksi kultivar pisang yang diserang oleh Foc ras 1 dan ras 2 (Ploetz 2006). Foc ras 4 dibagi ke dalam dua sub-ras, yaitu STR4 (Sub-tropical ras 4) dan TR4 (*Tropical Race 4*) (Dita *et al.* 2010). Foc TR4 dilaporkan mempunyai tingkat virulensi yang tinggi dan tersebar di seluruh pertanaman pisang di Indonesia (O'Neill *et al.* 2011).

Selain tanaman pisang, *F. oxysporum* juga dapat hidup pada berbagai substrat sebagai endofit maupun saprob. *F. oxysporum* yang tidak berasosiasi dengan tanaman sakit, belum memiliki identitas infraspesifik yang jelas sehingga informasi potensinya menjadi bersifat patogen terhadap tanaman pisang belum tersedia. Salah satu cara cepat untuk identifikasi infraspesifik ialah menggunakan

primer spesifik. Identifikasi *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ke dalam ras 4 atau TR4 dapat dilakukan menggunakan primer spesifik TR4 F/R (Dita *et al.* 2010), TR4 F22/R1 (Wibowo *et al.* 2011), dan FocSc-1/FocSc-2 (Lin *et al.* 2013), sedangkan identifikasi infraspesifik ke dalam ras ini perlu dikonfirmasi dengan uji patogenisitas pada tanaman pisang. Informasi peralihan infraspesifik galur-galur diperlukan sebagai dasar pertimbangan penanaman pisang di areal baru, upaya rotasi tanaman, dan strategi pengendalian penyakit layu fusarium yang tepat. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi forma spesialis dan ras dari galur-galur *F. oxysporum* yang berasal dari berbagai sumber bukan tanaman pisang menggunakan primer spesifik TR4 R/F, TR4 F2/R1 dan FocSc-1/FocSc-2 serta menganalisis kemampuannya dalam menginfeksi tanaman pisang.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Inokulum

Biakan stok *F. oxysporum* dari lima belas nomor aksesori IPBCC (Tabel 1) diremajakan dan diperbanyak pada agar-agar dekstrosa kentang cawan dan diinkubasi pada suhu ruang untuk kultur kerja. Kultur berumur 5 hari dijadikan sumber DNA dan sumber inokulum untuk produksi filtrat.

Ekstraksi DNA

DNA genom diekstraksi dengan metode CTAB (Zhang *et al.* 2010) yang dimodifikasi komposisi bufer lisisnya. Sebanyak 500 μ L bufer lisis (CTAB 2%, 5 M NaCl, 1 M Tris HCl pH 7.5, 0.5 M EDTA pH 8.0) yang sebelumnya telah dipanaskan selama 30 menit ditambahkan ke dalam tabung berisi massa miselium yang telah digerus, diinkubasi selama 30 menit pada suhu 65 °C, dan disimpan dalam kotak berisi es selama 5 menit. Sebanyak 500 μ L kloroform-isoamil alkohol (24:1) ditambahkan ke dalam suspensi miselium (dibolak-balik sebanyak 50 kali), kemudian disentrifugasi pada 120 000 rpm selama 15 menit. Lapisan atas suspensi dipindahkan ke dalam tabung baru, ditambahi 500 μ L PCI (fenol, kloroform-isoamil alkohol) sebelum di-

sentrifugasi pada 120 000 rpm selama 15 menit. Lapisan atas larutan hasil sentrifugasi diambil, lalu ditambahi 50 µL NaOAc dan 500 µL EtOH 99.9%. Larutan didiamkan semalam pada suhu -20 °C, kemudian disentrifugasi selama 30 menit pada 15 000 rpm. Supernatan dibuang, pelet ditambahi 500 µL EtOH 70% dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 10 000 rpm. Supernatan yang terbentuk dibuang dan peletnya dikeringkan dalam *vacuum* selama 30 menit pada suhu 30 °C. Pelet DNA ditambahi 50 µL TE dan 10 µL RNase 1 mg mL⁻¹. Selanjutnya, suspensi tersebut diinkubasikan berturut-turut selama 10 menit pada 37 °C dan 10 menit pada suhu 70 °C, kemudian disimpan dalam suhu -20 °C. Kualitas DNA dicek menggunakan nanodrop ketika akan digunakan.

Identifikasi Ras *F. oxysporum*

Identifikasi dilakukan dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) pada daerah

IGS menggunakan primer spesifik, yaitu TR4 F/R, TR4F/R1, serta FocSc-1/FocSc-2 (Tabel 2). Amplifikasi dilakukan pada 10 µL total reaksi untuk primer TR4 F/R dan TR4 F2/R1, yang terdiri atas *dream Taq buffer* 1x, 0.2 mM dNTP, masing-masing primer 0.4 µM, 5 U (0.25 µL) *dream Taq DNA polymerase*, 1 µL templat DNA (10 ng). Amplifikasi dengan primer FocSc-1/ FocSc-2 dilakukan pada 10 µL total reaksi dengan 5 µL *mastermix* 2x, masing-masing primer 0.4 µM, 1 µL templat DNA (50 ng) pada kondisi optimumnya (Tabel 3).

Produk PCR dielektroforesis pada gel agarosa 1% dengan bufer TAE. Elektroforesis dilakukan selama 30 menit pada 70 volt, lalu gel direndam dalam larutan EtBr2 selama 30 menit, dicuci dalam akuades dan divisualisasikan menggunakan gel imaging SYNGENE. Amplikon dari Foc 38 atau Foc 10 digunakan sebagai pembanding.

Tabel 1 Daftar galur *Fusarium oxysporum** yang digunakan dalam penelitian

No	No Akses	Substrat/Inang	Lokasi asal	Gaya hidup
1	IPBCC 88.012	<i>Cucumis sativus</i>	-	Patogen
2	IPBCC 07.328	Tanah	Jambi	Saprob
3	IPBCC 07.338	Tanah	Jambi	Saprob
4	IPBCC 07.540	Serasah <i>Shorea</i>	Kalimantan	Saprob
5	IPBCC 08.561	Gubal gaharu	Bangka	Endofit
6	IPBCC 08.562	Gubal gaharu	Bangka	Endofit
7	IPBCC 08.568	Gubal gaharu	Sukabumi	Endofit
8	IPBCC 08.582	Serasah <i>Shorea</i>	Tarakan	Saprob
9	IPBCC 10.656	Sarang Serangga	Pangandaran	Saprob
10	IPBCC 10.674	Sarang Serangga	Pangandaran	Saprob
11	IPBCC 14.1236	Akar <i>Cinchona</i>	Bandung	Endofit
12	IPBCC 14.1237	Akar <i>Cinchona</i>	Bandung	Endofit
13	IPBCC 14.1238	Akar <i>Cinchona</i>	Bandung	Endofit
14	IPBCC14.1239	Akar <i>Cinchona</i>	Bandung	Endofit
15	IPBCC 14.1242	Akar <i>Cinchona</i>	Bandung	Endofit

* Tunarsih *et al.* (2015); (-) tidak diketahui.

Tabel 2 Primer yang digunakan untuk identifikasi ras *Fusarium oxysporum* dalam penelitian ini

Nama Primer	Sikuen (5'-3')	Sumber
TR4 F/R	F (CACGTTTAAGGTGCCATGAGAG) R (CGCACGCCAGGACTGCCTCGTGA)	Dita <i>et al.</i> (2010)
TR4 F2/R1	F (CGCCAGGACTGCCTCGTGA) R (CAGGCCAGAGTGAAGGGGAAT)	Wibowo <i>et al.</i> (2011)
FocSc-1/ FocSc-2	F (CAGGGGATGTATGAGGAGGCTAGGCTA) R (GTGACAGCGTCGTCTAGTTCCTTGGAG)	Lin <i>et al.</i> (2013)

Tabel 3 Kondisi optimum amplifikasi untuk masing-masing pasangan primer

Primer	Pra-denaturasi	Denaturasi	Penempelan	Pemanjangan	Pemanjangan akhir
TR4 F/R	95 °C, 5'	35x siklus 1', 95 °C	55 °C, 1'	72 °C, 3'	10', 72 °C
TR4 F2/R1	95 °C, 5'	35x siklus, 1', 95 °C	55 °C, 1'* 57 °C, 1'***	72 °C, 3'* 72 °C, 1'***	10', 72 °C * 5', 72 °C **
FocSc-1/ FocSc-2	94 °C, 1'	35x siklus, 30", 94 °C	64 °C, 30"	72 °C, 1'	10', 72 °C

*IPBCC 88.012 dan IPBCC 08.568; ** IPBCC 07.328, IPBCC 07.338, IPBCC 07.540, IPBCC 08.561, IPBCC 08.562, IPBCC 08.568, IPBCC 08.582, IPBCC 10.656, IPBCC 10.674, IPBCC 14.1236, IPBCC 14.1237, IPBCC 14.1238, IPBCC 14.1239, IPBCC 14.1242.

Produksi Filtrat

Filtrat diproduksi hanya dari *F. oxysporum* yang teridentifikasi sebagai galur *Foc* TR4. Filtrat diproduksi dengan menumbuhkan 3 potong koloni miselium (0.5 cm) pada 100 mL medium larutan dekstrosa kentang dalam erlenmeyer 250 mL dan diinkubasi pada suhu ruang selama 21–30 hari dalam kondisi statis. Pada akhir masa inkubasi, filtrat dipisahkan dari biomassa cendawan menggunakan kertas saring Whatman no 1. Filtrat kemudian disimpan dalam ruangan bersuhu ± 10 °C sampai digunakan dalam uji patogenisitas.

Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas digunakan untuk menetapkan kemampuan pindah inang. Tanaman pisang ditanam pada pot plastik (8 L) dengan medium tanam campuran tanah dan kompos steril. Sebanyak 0.5 mL filtrat yang telah disaring disuntikkan pada bagian tulang daun tanaman pisang berumur 5 bulan. Larutan kentang dekstrosa dijadikan kontrol negatif. Tanaman uji yang digunakan ialah pisang kultivar Ambon dan pisang Tanduk. Pengamatan gejala infeksi dilakukan 3 minggu setelah penyuntikan. Tingkat keparahan penyakit ditetapkan berdasarkan pada sistem skoring (Smith *et al.* 2008) yang dimodifikasi, yaitu 0, tanaman sehat, tidak ada gejala; 1, gejala bercak-bercak; 2, sedikit bagian daun menguning; 3, banyak bagian daun menguning disertai layu; 4, seluruh bagian daun menguning disertai layu. Tingkat keparahan penyakit (KP) pada tanaman pisang yang ditimbulkan oleh *Foc* TR4 dihitung dengan rumus:

$$KP = \frac{\sum_{i=0}^i (n_i \times s_i)}{N \times S} \times 100\%, \text{ dengan}$$

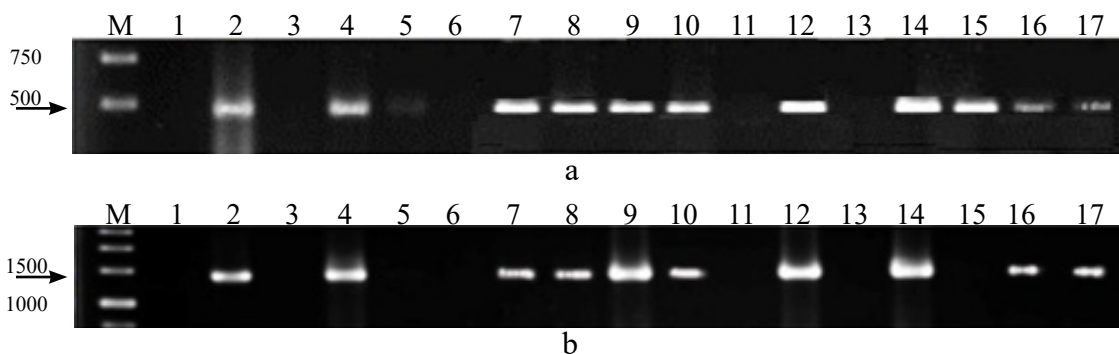
n_i , jumlah daun dengan skor gejala i ; s_i , skor gejala i ; N , jumlah total daun yang diamati; S , skor gejala tertinggi (Cachinero *et al.* 2002).

HASIL

Identifikasi Ras *Foc* dengan Primer Spesifik

Terdapat 11 dari 15 galur *F. oxysporum*, yaitu IPBCC 88.012, IPBCC 07.328, IPBCC 07.540, IPBCC 08.561, IPBCC 08.562, IPBCC 08.568, IPBCC 10.674, IPBCC 14.1236, IPBCC 14.1237, IPBCC 14.1238 dan IPBCC 14.1239 diidentifikasi sebagai *Foc* TR4 menggunakan dua set primer TR4 1/2 dan TR4 F2/R1. Amplifikasi dengan primer TR4 1/2 menghasilkan ampikon dengan ukuran fragmen berkisar 479–504 pb (Gambar 1a), sedangkan dengan primer TR4 F2/R1 menghasilkan ampikon sebesar 1291–1437 pb (Gambar 1b) yang sesuai dengan ukuran ampikon *Foc* ras TR4 (Tabel 4). Sebelas galur tersebut berasal dari tanah, serasah *Shorea*, gubal gaharu, tanaman timun sakit, dan akar tanaman kina sehat.

Empat galur yang tidak teridentifikasi sebagai *Foc* TR4 oleh primer spesifik TR4 F/R dan TR4 F2/R1 dianalisis menggunakan primer *FocSc* 1/2. Dua galur (IPBCC 07.338 dan IPBCC 14.1242) teridentifikasi sebagai *Foc* ras 4 berdasarkan pada ukuran ampikon *Foc* ras 4, yaitu sekitar 242 pb (Gambar 2). Galur yang teridentifikasi sebagai *Foc* ras 4 ini berasal dari tanah dan akar tanaman kina sehat. Galur *F. oxysporum* IPBCC 08.582 dan IPBCC 10.656 yang masing-masing berasal dari serasah *Shorea* dan sarang serangga bukan merupakan kelompok *Foc* TR4 dan ras4 (Gambar2).



Gambar 1 Elektroforegram daerah IGS *Fusarium oxysporum* dengan primer: a, TR4 F/R dan b, TR4 F2/R1 . M, Marka 1kb; 1, kontrol negatif; 2, kontrol positif Foc38; 3-17 berturut-turut: galur *Fusarium oxysporum* IPBCC 10.656, IPBCC 08.561, IPBCC 08.568, IPBCC 07.338, IPBCC 07.540, IPBCC 08.562, IPBCC 14.1237, IPBCC 88.012, IPBCC 14.1242, IPBCC 14.1239, IPBCC 08.582, IPBCC 14.1236, IPBCC 07.328, IPBCC 10.674, IPBCC 14.1238.

Tabel 4 Pengelompokan *Fusarium oxysporum* ke dalam ras berdasarkan amplifikasi dengan primer TR4 F/R, TR4 F2/R1 dan FocSc-1/ FocSc-2

No aksesori IPBCC	Amplikon dengan primer			Ras	
	TR4 F/R	TR4 F2/R1	FocSc 1/2	TR4	4
88.012	+	+		Ya	
07.328	+	+		Ya	
07.338	-	-	+	Bukan	Ya
07.540	+	+		Ya	
08.561	+	+		Ya	
08.568	+	+		Ya	
08.562	+	+		Ya	
08.582	-	-	-	Bukan	Bukan
10.656	-	-	-	Bukan	Bukan
10.674	+	+		Ya	
14.1236	+	+		Ya	
14.1237	+	+		Ya	
14.1238	+	+		Ya	
14.1239	+	+		Ya	
14.1242	-	-	+	Bukan	Ya

Ket: -, tidak terbentuk pita; +, terbentuk pita.

Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas hanya dilakukan pada lima galur *Foc* TR4 terpilih yang berasal dari sumber yang berbeda, yaitu tanaman timun sakit dari lokasi yang tidak diketahui (IPBCC 88.012), tanah di daerah Jambi (IPBCC 07.328), gubal gaharu di Bangka (IPBCC 08.561), sarang serangga di Pangandaran (IPBCC 10.674), dan akar pohon kina sehat di Bandung (IPBCC 14.1236). Daun tanaman yang disuntik filtrat galur-galur *Foc* TR4 memperlihatkan gejala sakit (Gambar 3a-c)

dibandingkan dengan daun yang disuntik dengan suspensi PDB (kontrol), yang tetap berwarna hijau segar hingga 3 minggu setelah penyuntikan (Gambar 3d). Gejala bervariasi mulai dari nekrosis di bagian tengah dengan ujung daun berwarna sedikit kuning (Gambar 3a), bercak coklat dengan tepi daun berwarna kuning (Gambar 3b), sampai gejala menguning pada seluruh bagian daun (Gambar 3c).

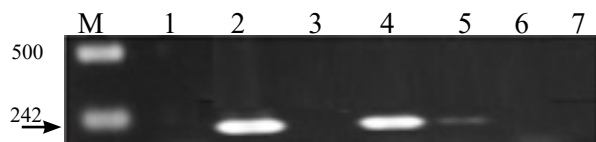
Analisis molekuler mendukung hasil uji patogenisitas ini. Semua galur *F. oxysporum* yang secara molekuler teridentifikasi sebagai

TR4 atau ras 4 menyebabkan gejala sakit pada pisang Ambon dan pisang Tanduk. Tingkat keparahan penyakit akibat penyuntikan filtrat *Foc* TR4 bervariasi (Tabel 5) bergantung pada galur yang digunakan, masa inkubasi, dan

kultivar pisang. Pada 3 minggu setelah penyuntikan, tingkat keparahan penyakit pada pisang Ambon (22.22–47.22%) relatif sama dengan pisang Tanduk (19.44–44.44%).

PEMBAHASAN

Tiga primer spesifik yang digunakan dalam penelitian ini berhasil mengidentifikasi galur-galur *Foc* yang berkembang di Indonesia. Ketiga pasangan primer tersebut berhasil mengamplifikasi gen target dengan ukuran yang sesuai ukuran amplicon dari galur-galur *Foc* dari berbagai negara sebagaimana dilaporkan oleh peneliti sebelumnya, yaitu 463 pb dari primer TR41/2 (Dita *et al.* 2010)



Gambar 2 Elektroforegram daerah IGS *F. oxysporum* dengan primer FocSc-1/FocSc-2. M, Marka 1kb; 1, kontrol negatif; 2, kontrol positif Foc 10; dan 4-7, berturut-turut *Fusarium oxysporum* IPBCC 10.656, IPBCC 07.338, IPBCC 14.1242, dan IPBCC 08.582.



Gambar 3 Gejala klorosis pada daun pisang pada 3 minggu setelah penyuntikan. a, Larutan dekstrosa kentang (kontrol negatif); b dan c, Filtrat *Foc* TR4; dan d, tanpa penyuntikan (kontrol).

Tabel 5 Tingkat keparahan penyakit pada daun pisang Ambon dan pisang Tanduk akibat penyuntikan filtrat beberapa galur *Foc* TR4 3 minggu setelah penyuntikan

Perlakuan/ Kode galur	Tingkat keparahan (%)	
	Pisang Ambon	Pisang Tanduk
Kontrol -	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Kontrol +	27.78 ± 4.81	19.44 ± 4.81
88.012	33.33 ± 8.33	44.44 ± 4.81
07.328	33.33 ± 0.00	44.44 ± 4.81
08.561	47.22 ± 9.62	25.00 ± 8.33
10.674	22.22 ± 4.81	25.00 ± 8.33
14.1236	36.11 ± 4.81	27.78 ± 9.62

dan 1400 pb dari primer TR4 F2/R1 (Wibowo *et al.* 2011). Bahkan pasangan primer FocSc-1/FocSc-2 berhasil mengidentifikasi dua galur lainnya sebagai *Foc* Ras 4. Primer spesifik FocSc-1/FocSc-2 merupakan pengembangan dari primer spesifik Foc1/2 (Lin *et al.* 2009). Primer FocSc-1/FocSc-2 memiliki kespesifikan yang tinggi, dan lebih sensitif daripada primer Foc-1/Foc-2 (Lin *et al.* 2013).

Hasil penelitian ini mengonfirmasi bahwa tidak semua *F. oxysporum* yang diteliti adalah *Foc* TR4 dan Ras 4. Disamping itu, dalam satu habitat yang sama dapat ditemukan *Foc* TR4 dan *F. oxysporum* yang berbeda, seperti sampel yang berasal dari sarang serangga dan serasah *Shorea*. Menurut Validov *et al.* (2011) *F. oxysporum* patogen dan nonpatogen dapat berada dalam relung ekologi yang sama dan interaksi keduanya akan mengurangi tingkat keparahan penyakit. Adanya ragam sifat *F. oxysporum* di serasah *Shorea* sebaiknya dijadikan bahan pertimbangan ketika melakukan konversi lahan atau rotasi tanaman.

Hasil inokulasi filtrat *Foc* yang dapat menimbulkangejalalayu(skor4)membuktikan bahwa *Foc* yang bukan dari habitat pisang dapat menjadi patogen pada tanaman pisang. Filtrat tersebut diduga mengandung racun yang spesifik dihasilkan *Foc*. *Foc* menghasilkan *fusaric acid* dan *beauvericin* yang berperan dalam mekanisme patogenesisnya (Li *et al.* 2013). Sebelumnya, penggunaan filtrat dalam uji patogenitas *Foc* terhadap pisang pernah dilakukan oleh Jumjunidang *et al.* (2005), namun berbeda dalam cara pengujiannya, mereka menuangkan filtrat ke dalam medium tumbuh planlet pisang. Gejala muncul berupa perubahan warna daun dari kuning hingga kehitaman dan daun layu. Gejala layu lebih sering ditemukan pada pisang Ambon daripada pisang Tanduk. Infeksi *Foc* pada pisang Tanduk (*plantain*) pernah ditemukan di Indonesia (Hermanto *et al.* 2011), meskipun pisang Tanduk tergolong toleran terhadap *Foc* ras 4 (Nasir *et al.* 2005). Sistem skoring untuk gejala pada daun ini dapat digunakan untuk mengevaluasi respons kultivar selama beberapa waktu inkubasi karena tidak merusak tanaman (Nasir *et al.* 2003). Namun, korelasi

skor pada daun dengan hasil uji keparahan penyakit di lapangan bergantung pada kultivar pisang yang digunakan. Oleh sebab itu, tingkat keganasan *Foc* TR4 yang diteliti masih perlu dikonfirmasi dengan uji lapangannya.

Hasil identifikasi dengan tiga primer spesifik menunjukkan bahwa 11 dari 15 galur *F. oxysporum* yang berasal dari berbagai substrat, yaitu tanah, serasah *Shorea*, gubal gaharu, tanaman timun sakit, dan akar pohon kina sehat, tergolong *Foc* TR4. Hal ini menunjukkan bahwa *Foc* TR4 memiliki gaya hidup yang fleksibel dan memiliki kemampuan untuk pindah inang dari bukan pisang ke tanaman pisang. Kemampuan pindah inang juga membuktikan bahwa *Foc* TR4 tidak spesifik inang sehingga konsep pembagian ke dalam infraspesifik pada *Foc* perlu ditinjau ulang dengan melibatkan lebih banyak sampel dari berbagai lokasi di dunia. Peninjauan ulang forma spesialis juga diusulkan oleh Šišić *et al.* (2018) untuk *F. solani* berdasarkan hasil penelitiannya pada f. sp. *pisi*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kemenristek dikti yang mendanai penelitian ini dengan nomor kontrak 1479/IT3.11/PN/2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Bentley S, Pegg KG, Moore NY, Davis R D, Buddenhagen IW. 1998. Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* analyzed by DNA finger printing. *Phytopathology*. 88:1283–1293. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.12.1283>.
- Cachinero JM, Hervás A, Jiménez-Díaz RM, Tena M. 2002. Plant defence reactions against fusarium wilt in chickpea induced by incompatible race 0 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and non-host isolates of *F. oxysporum*. *Plant Pathol*. 51:765–776. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2002.00760.x>.

- Correll JC. 1991. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility group in *Fusarium oxysporum*. *Am Phytopathol Sci*. 81(9):1061-1063.
- Departemen Pertanian. 2005. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Pisang*. Jakarta (ID): Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian.
- Dita MA, Waalwijk C, Buddenhaugen IW, Souza MT, Kema GHJ. 2010. A molecular diagnosis for tropical race 4 of the banana *Fusarium* wilt pathogen. *Plant Pathol*. 59(2):348–357. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02221.x>.
- Hermanto C, Sutanto A, Jumjunidang, Edison Hs, Daniells JW, O'Neill W, Sinohins VG, Molina AB and Taylor P. 2011. Incidence and distribution of fusarium wilt disease of banana in Indonesia. Di dalam: *Proceedings of International ISHS-ProMusa Symposium on Global Perspectives on Asian Challenges*; 2009 Sept 14–18; Guangzhou (CN): Acta Horticulturae 897. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.897.43>.
- Jumjunidang, Nasir N, Riska, Handayani H. 2005. Teknik pengujian *in vitro* ketahanan pisang terhadap penyakit layu fusarium menggunakan filtrat toksin dari kultur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *J Hort*. 15(2):135–139.
- Li C, Zou C, Deng G, Kuang R, Yang Q, Hu C, Sheng O, Zhang S, Ma L, Wei Y. 2013. Contamination of bananas with beauvericin and fusaric acid produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *PloS ONE*. 8(7):1–11. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070226>.
- Lin HY, Chang YJ, Liu TE, Chao PC, Huang WJ, Chang LFP. 2009. Development of a molecular marker for specific detection of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4. *Eur J Plant Pathol*. 123:353–365. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9372-4>.
- Lin HY, Su CC, Chao PC, Chen YC, Chang JC, Huang WJ, Chang LFP. 2013. A Molecular diagnosis method using real-time PCR for quantification and detection of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4. *Eur J Plant Pathol*. 135:395–405. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0096-0>.
- Nasir N, Pittaway AP, Pegg GK, Lisle TA. 2003. A foliar rating system for comparing the resistance of banana cultivars grown as tissue-cultured plantlets in the laboratory to fusarium wilt. *Aust Plant Pathol*. 32:521–526. DOI: <https://doi.org/10.1071/AP03065>.
- Nasir N, Jumjunidang, Riska. 2005. Deteksi dan pemetaan distribusi *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* pada daerah potensial pengembangan agribisnis pisang di Indonesia. *J Hort*. 5:50–57.
- O'Neill WT, Pattison AB, Daniells JW, Hermanto C, Molina A. 2011. Vegetative compatibility group analysis of Indonesian *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* isolates. Di dalam: *Proceedings of International ISHS-ProMusa Symposium on Global Perspectives on Asian Challenges*; 2009 Sept 14–18; Guangzhou (CN): Acta Horticulturae 897. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.897.47>.
- Ploetz RC. 2006. Fusarium wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Phytopathology*. 96(6):653–656. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0653>.
- Rohmah Y, Nuryati L, Waryanto B, Suwandi. 2016. *Outlook Komoditas Pertanian Subsektor Hortikultura: Outlook Komoditas Pisang*. Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Kementerian Pertanian.
- Smith JL, Smith MK, Tree D, O'Keefe D, Galea VJ. 2008. Development of a small-plant bioassay to assess banana grown from tissue culture for consistent infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Aus Plant Pathol*. 37:171–179. DOI: <https://doi.org/10.1071/AP08006>.
- Šišić A, Baćanović-Šišić J, Al-Hatmi AMS, Karlovsky P, Ahmed SA, Maier W, de Hoog GS, Finckh MR. 2018. The 'forma specialis' issue in *Fusarium*: a case study in *Fusarium solani* f. sp. *pisi*. *Nat Scien*

- Rep. 8:1252. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19779-z>.
- Tunarsih F, Rahayu G, Hidayat I. 2015. Molecular phylogenetic analysis of Indonesian *Fusarium* isolates from different lifestyles, based on ITS sequence data. *Plant Pathol Quarantine*. 5(2):63–72. DOI: <https://doi.org/10.5943/ppq/5/2/5>.
- Validov ZS, Kamilova DV, Lugtenberg JJB. 2011. Monitoring of pathogenic and non-pathogenic *Fusarium oxysporum* strains during tomato plant infection. *Microb Biotechnol*. 4(1):82–88. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00214.x>.
- Wibowo A , Subandiyah S, Sumardiyono C, Sulistyowati L, Taylor P, Fegan M. 2011. Occurrence of tropical race 4 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* in Indonesia. *Plant Pathol*. 27(3):280–284. DOI: <https://doi.org/10.5423/PPJ.2011.27.3.280>.
- Zhang YJ, Zhang S, Liu XZ, Wen HA, Wang M. 2010. A simple method of genomic DNA extraction suitable for analysis of bulk fungal strains. *Lett Appl Microbiol*. 51:114–118. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02867.x>.