

**PENGIMBASAN KETAHANAN PLANLET CASSAVA
(*Manihot esculenta* Crantz.) TERHADAP *Fusarium oxysporum*
SECARA IN VITRO BERDASARKAN ANALISIS FENOL**

Endang Nurcahyani*, Bambang Irawan, Sumardi

Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung, Bandar Lampung, Indonesia

email@korespondensi: endang_nurcahyani@yahoo.com

ABSTRAK

Ketela pohon, ubi kayu, singkong atau *Cassava* (*Manihot esculenta* Crantz. atau *Manihot utilissima* Pohl.) adalah perdu tahunan tropika dan subtropika dari suku *Euphorbiaceae*. Umbinya dikenal luas sebagai makanan pokok penghasil karbohidrat dan daunnya sebagai sayuran. Indonesia adalah negara terbesar kedua penghasil *Cassava* setelah Nigeria dengan rata-rata total penyediaan selama lima tahun sebesar 9,67 juta ton, atau 10,61% dari total penyediaan singkong dunia. Sentra lahan *Cassava* di Indonesia dikuasai oleh provinsi Lampung dengan produksinya di tahun 2013 mencapai 8,33 juta ton. Keadaan ini menjadikan Lampung sebagai penyuplai sepertiga produksi *Cassava* nasional dari produksi nasional sebesar 23,92 juta ton. Namun demikian, masih banyak kendala produksi dalam budidaya *Cassava*, antara lain penyakit layu *Fusarium*, disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* (Fo). Penggunaan kultivar *Cassava* yang tahan penyakit tersebut diharapkan merupakan alternatif pengendalian penyakit yang penting. Planlet *Cassava* telah diseleksi dalam medium Murashige and Skoog (MS) dengan penambahan asam fusarat (AF) konsentrasi 0 ppm (kontrol), 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm secara *in vitro*. Tahapan kegiatan yang dilakukan meliputi: (1) Pengujian ketahanan *Cassava* terhadap Fo secara *in vitro*, dan (2) Analisis total fenol. Tujuan penelitian ini 1) menguji ketahanan planlet *Cassava* tahan Fo secara *in vitro*; 2) mengetahui karakter ekspresi spesifik planlet *Cassava* tahan Fo yaitu total fenol. Hasil penelitian menunjukkan: 1) secara *in vitro*, perlakuan AF 80 ppm mampu mengimbas ketahanan planlet *Cassava* paling baik, dapat menekan intensitas penyakit hingga 25% dan menaikkan kriteria menjadi tahan. 2) semakin meningkat konsentrasi AF maka meningkat pula kandungan total fenol pada planlet *Cassava* tahan Fo.

Kata kunci: Asam Fusarat, *Cassava*, *Fusarium oxysporum*, *in vitro*, Penyakit layu fusarium,

ABSTRACT

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz. or *Manihot utilissima* Pohl.) are annual tropical and subtropical shrubs from the *Euphorbiaceae* tribe. Bulbs is widely known as a staple food producing carbohydrates and leaves as vegetables. Indonesia is the second largest country producing *Cassava* after Nigeria with an average of five years of total supply of 9.67 million tons, or 10.61% of the total supply of world cassava. Central *Cassava* land in Indonesia is controlled by Lampung province with production in 2013 reaching 8.33 million tons. This situation makes Lampung a supplier of one third of the national *Cassava* production from national production of 23.92 million tons. However, there are still many production constraints in *Cassava* cultivation, including *Fusarium* wilt, caused by *Fusarium oxysporum* (Fo). The use of *Cassava* cultivars that are resistant to the disease is expected to be an important disease control alternative. Planlet *Cassava* has been selected in Murashige and Skoog (MS) medium with the addition of fusaric acid (AF) concentration of 0 ppm (control), 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, and 80 ppm *in vitro*. Stages of activities carried out include: (1) Testing of *Cassava* resistance to Fo *in vitro*, and (2) Analysis of total phenol. The purpose of this study 1) to test the resistance of *Cassava* plantlets resistant to Fo *in vitro*; 2) knowing the specific expression character of Fo-resistant *Cassava* plantlet which is total phenol. The results showed that: 1) *in vitro*, the 80 ppm AF treatment was able to mitigate the resistance of the *Cassava* plantlets best, to reduce disease intensity by up to 25% and increase the criteria of being resistant. 2) the higher the concentration of AF, the higher the total phenol content of the *Cassava* plantlets increases Fo.

Keywords: Fusaric Acid, *Cassava*, *Fusarium oxysporum*, *in vitro*, fusarium wilt,

PENDAHULUAN

Sentra lahan Cassava di Indonesia dikuasai oleh Provinsi Lampung dengan luas lahan panen 324,100 ha pada tahun 2012. Tahun 2013, produksi singkong di Provinsi Lampung mencapai 8,33 juta ton. Keadaan ini menjadikan Lampung sebagai penyuplai sepertiga produksi Cassava nasional dari produksi nasional sebesar 23,92 juta ton (Badan Pusat Statistik, 2015). Namun demikian, masih banyak kendala produksi dalam budidaya Cassava, antara lain penyakit layu *Fusarium*. Penyakit ini disebabkan oleh jamur *Fusarium oxysporum* yang sampai sekarang masih belum bisa diatasi secara efektif. Penggunaan kultivar Cassava yang tahan penyakit tersebut dengan hasil tinggi diharapkan merupakan alternatif pengendalian penyakit yang penting.

Arinze (2005) dan Okigbo *et al.* (2009) melaporkan bahwa 50% umbi Cassava yang diproduksi dan dipanen di Nigeria hilang karena penyakit. Penyebab utama yang menyebabkan pembusukan Cassava meliputi: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Botryodiplodia theobromae*, *Collectotrichum* spp, *Geotrichum candidum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium oxysporum* (Ogunleye *et al.*, 2014; Okigbo *et al.*, 2015; Gwa *et al.*, 2015). Organisme ini mengurangi kuantitas dan juga kualitas umbi tanaman tersebut (Amusa *et al.*, 2003).

Bahan kimia telah terbukti membantu pengendalian penyakit Cassava terutama saat umbi sudah terserang pathogen (Markson *et al.*, 2012). Masalah utama bahan kimia adalah bahwa hal itu merupakan tantangan besar bagi ekosistem dan juga penggunaan bahan kimia yang sering menjadi predisposisi organisme target terhadap resistensi. Salah satu alternatif cara pengendalian penyakit yang aman, efisien, efektif dan aman terhadap lingkungan, antara lain menggunakan varietas yang tahan (resisten) dan tidak menimbulkan dampak negatif seperti penggunaan pestisida. Pengembangan kultivar Cassava tahan *Fo* tersebut dapat dilakukan antara lain dengan metode seleksi *in vitro* yaitu mengkulturkan eksplan berupa jaringan atau organ pada medium yang mengandung asam fusarat konsentrasi selektif (Bouizgarne *et al.*, 2006).

Asam fusarat (AF) merupakan metabolit yang dihasilkan oleh beberapa spesies jamur dari genus *Fusarium*. Asam ini dapat bersifat toksin (konsentrasi

lebih dari 10^{-5} M) sehingga menghambat pertumbuhan dan regenerasi biakan (Landa *et al.*, 2002; Bouizgarne *et al.*, 2006), tetapi pada konsentrasi yang non toksik (di bawah 10^{-6} M) justru membantu mengimbangi sintesis fitoaleksin, suatu bentuk respon tanaman untuk menghambat aktivitas patogen (Bouizgarne *et al.*, 2006). Beberapa parameter dapat menggambarkan terjadinya mekanisme ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen antara lain peningkatan senyawa fenol, peningkatan enzim peroksidase (termasuk kelompok PR-protein), dan adanya lignifikasi (Vidhyasekaran, 1997; Agrawal *et al.*, 1999; Lea & Leegood, 1999).

Identifikasi mutan atau varian yang insensitif terhadap AF dengan seleksi *in vitro* pernah dilakukan pada tanaman tomat (Toyoda *et al.*, 1984), pisang (Morpurgo *et al.*, 1994; Matsumoto *et al.*, 1995), gladiol (Remotti *et al.*, 1997), nanas (Borras *et al.*, 2001), *Spathoglottis plicata* (Nurcahyani *et al.*, 2016a; Nurcahyani *et al.*, 2016b) dan vanili (Nurcahyani *et al.*, 2012; Nurcahyani, 2013; Nurcahyani *et al.*, 2014; Nurcahyani *et al.*, 2017). 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 diturunkan pada generasi berikutnya.

Penggunaan AF dalam konsentrasi yang toleran sejauh ini belum pernah dilaporkan secara pasti dan tepat dalam pengimbasan ketahanan (*Induced Resistance*) planlet Cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) terhadap *Fo*. Oleh karena itu, penelitian tentang peranan AF sebagai pengimbas ketahanan secara *in vitro* perlu dilakukan. Pengendalian penyakit layu *Fusarium* pada Cassava dengan AF sepanjang pengetahuan penulis belum pernah dilakukan dan belum diketahui: Karakter spesifik Cassava yang tahan terhadap *F. oxysporum* berdasarkan kandungan fenol total.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan mulai bulan April 2018 sampai dengan bulan Oktober 2018 di Laboratorium Botani ruang *In Vitro*, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Lampung; Laboratorium Rekayasa Genetika, Pusat Studi Bioteknologi, UGM; Bahan penelitian berupa planlet Cassava yang dimbas asam fusarat.

1. *In vitro* propagasi planlet Cassava

Dari penelitian pendahuluan yang telah dilakukan diperoleh bahwa medium dengan komposisi MS+BAP 1 mg/l dihasilkan planlet dengan pertumbuhan paling cepat dibandingkan dengan yang lain.

2. Seleksi Planlet Cassava dengan Asam Fusarat

Seleksi planlet Cassava dengan AF konsentrasi 0, 20, 40, 60, dan 80 ppm diperoleh hasil bahwa konsentrasi AF toleran untuk pertumbuhan optimum adalah 20 ppm–80 ppm. Hasil seleksi *in vitro* dengan AF yang disubkultur pada medium multiplikasi menghasilkan jumlah planlet Cassava hidup sebesar 22,24% (20 ppm), 17,10% (40 ppm), dan 15,69% (60 ppm), 10,59% (80 ppm) yang insensitif terhadap AF. Selanjutnya planlet-planlet tersebut disubkultur untuk mendapatkan kandidat yang stabil. Kandidat tersebut akan diseleksi pada tahap berikutnya dengan inokulat *F. oxysporum*, kemudian di analisis aktivitas enzim peroksidase, ketebalan lignin, kandungan fenol, kandungan klorofil, dan pola DNA nya.

3. Pengujian ketahanan planlet Cassava terhadap *F. oxysporum*

Inokulasi dilakukan menurut teknik Hadisutrisno (1995). Inokulasi *Fo* dilakukan secara langsung pada planlet dalam botol kultur. Mikrokonidium jamur *Fo* dengan kerapatan spora $1,7 \times 10^4$ per mL diteteskan pada planlet 1-2 tetes. Kemudian diinkubasikan pada suhu kamar (25 °C) selama 24 jam. Pengamatan dilakukan mulai hari ke-3 setelah inokulasi selama 4 minggu. Intensitas penyakit dihitung berdasarkan indeks kelayuan menurut He *et al.* (2002) yang telah dimodifikasi. Tingkat ketahanan tanaman ditentukan berdasarkan skoring dengan mengacu pada ketentuan Wibowo (2002).

4. Analisis Fenol Total

Analisis senyawa fenol total menggunakan metode Singleton & Rossi (Aberouman & Deokule, 2008). Penyiapan kurva kalibrasi standar senyawa fenol asam galat digunakan sebagai larutan standar. Penyiapan planlet sampel disiapkan menurut metode Ozygi *et al.* (2007). Pengukuran fenol total dilakukan dengan mengambil supernatan sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambah 250 µL reagen *Folin-Ciocalteu*, setelah didiamkan selama 5 menit lalu

ditambahkan 1 mL Na₂CO₃. Sesudah tercampur rata, dimasukkan ke dalam kuvet dengan volume 5 mL dan diamati nilai serapan pada panjang gelombang 765 nm menggunakan spektrofotometer (*Beckman DU-65*), sebagai kontrol digunakan akuades. Berdasarkan nilai serapan kemudian ditentukan kandungan senyawa fenol berdasarkan persamaan regresi asam galat yaitu hubungan antara nilai serapan ekstrak planlet dan seri kepekatan asam galat.

Analisis data

Data yang diperoleh dari pertumbuhan planlet *Cassava* selama seleksi dengan AF berupa data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif komparatif dan di dukung foto. Data kuantitatif ditabulasi dengan faktor konsentrasi yang berbeda dan ulangan 30 eksplan per perlakuan.

Analisis data pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), sedangkan data kuantitatif dari setiap parameter dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam (*Analysis of Variance*) atau Anova dengan tingkat kepercayaan 95%. Apabila ada beda nyata dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda dari Duncan atau DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf kepercayaan 95% (Gomes & Gomes, 1984).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Ketahanan

Berdasar pengamatan terhadap planlet *Cassava* hasil pengimbasan yang diuji tampak bahwa pada hari ke-4 setelah inokulasi muncul gejala daun layu pada kontrol. Gejala daun layu juga muncul pada perlakuan 0, 20, 40 dan 60 ppm pada hari ke- 12, 20 dan 28. Gejala tersebut merupakan karakteristik layu *Fusarium* (Hadisutrisno, 2004), sehingga dapat dilakukan perhitungan persentase daun layu atau kuning (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase daun layu atau kuning pada setiap perlakuan asam fusarat

| Perlakuan | Persentase daun layu atau kuning pada hari pengamatan ke- | | | | |
|-----------|---|-------|-------|-------|--------|
| | 0 | 4 | 12 | 20 | 28 |
| Kontrol | 0 | 26,00 | 46,00 | 93,00 | 100,00 |
| 20 ppm | 0 | 00,00 | 06,00 | 60,00 | 86,00 |
| 40 ppm | 0 | 00,00 | 00,00 | 13,00 | 13,00 |
| 60 ppm | 0 | 00,00 | 00,00 | 00,00 | 13,00 |
| 80 ppm | 0 | 00,00 | 00,00 | 00,00 | 03,00 |

Berdasarkan Tabel 1, gejala daun layu atau kuning yang muncul pada hari ke-4 setelah inokulasi menunjukkan bahwa persentase daun layu atau kuning pada kontrol telah mencapai rata-rata 26,00% dan hari ke-12 meningkat menjadi 46%. Pada perlakuan 20 ppm persentase daun layu atau kuning baru muncul pada hari ke-12 mencapai 06,00%, sedangkan perlakuan 40 ppm baru menunjukkan gejala daun layu pada hari ke-20 dengan persentase 13%. Konsentrasi 60 ppm gejala daun kuning baru muncul pada hari ke-28 dengan persentase 13%. Kenaikan persentase daun layu atau kuning pada pengamatan hari ke-20 terjadi pada kontrol, perlakuan 20 ppm dan 40 ppm (93,75%; 60,00%; dan 13,00%). Persentase daun layu atau kuning pada hari ke-28 setelah inokulasi, pada kontrol meningkat menjadi 100% dan pada perlakuan 20 ppm terjadi peningkatan pula menjadi 86,00%, sedangkan pada perlakuan 40 dan 60 ppm tidak mengalami kenaikan persentase tetap 13,00%. Pada konsentrasi 80 ppm hanya 3% planlet yang menunjukkan gejala kuning atau layu setelah satu bulan diinokulasi dengan *Fusarium*.

Selanjutnya, berdasarkan skoring terhadap gejala daun layu atau kuning yang muncul maka dapat diketahui persentase intensitas penyakit dan kriteria ketahanan dari masing-masing perlakuan (Tabel 2).

Tabel 2. Intensitas penyakit hasil uji ketahanan dan tingkat ketahanan planlet *Cassava* pada setiap perlakuan asam fusarat

| Perlakuan | Hari pengamatan | | | | | | | |
|-----------|-----------------|--------------------|--------|--------------------|--------|--------------------|--------|--------------------|
| | 4 | | 12 | | 20 | | 28 | |
| | IP (%) | Kriteria Ketahanan | IP (%) | Kriteria Ketahanan | IP (%) | Kriteria Ketahanan | IP (%) | Kriteria Ketahanan |
| Kontrol | 33,00 | Moderat | 83,00 | Rentan | 91,00 | Rentan | 100,00 | Rentan |
| 20 ppm | 00,00 | Tahan | 33,00 | Moderat | 66,00 | Rentan | 83,00 | Rentan |
| 40 ppm | 00,00 | Tahan | 00,00 | Tahan | 33,00 | Moderat | 33,00 | Moderat |
| 60 ppm | 00,00 | Tahan | 00,00 | Tahan | 00,00 | Tahan | 33,00 | Moderat |
| 80 ppm | 00,00 | Tahan | 00,00 | Tahan | 00,00 | Tahan | 25,00 | Tahan |

Keterangan: IP= Intensitas Penyakit

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa pada hari ke-28, intensitas penyakit tertinggi ditunjukkan oleh kontrol (100%) disusul konsentrasi 20 ppm (83,00%) sehingga dinyatakan rentan terhadap penyakit layu *Fusarium*, sedangkan perlakuan 40 dan 60 ppm memiliki intensitas penyakit 33,00%, dan kriteria ketahanannya adalah moderat. Pada perlakuan 80 ppm intensitas penyakit sebesar 25% sehingga kriteria ketahanannya adalah tahan. Berdasar hal tersebut dapat diketahui bahwa intensitas penyakit perlakuan AF 80 ppm tidak mengalami perubahan sejak hari ke-4 hingga ke-20.

Berdasarkan data intensitas penyakit dan kategori ketahanannya, dapat diketahui pula bahwa perlakuan AF 40 ppm mampu mengimbas ketahanan yang paling baik, dapat menekan intensitas penyakit hingga 25% dan menaikkan kriteria menjadi tahan. Hal ini menunjukkan bahwa AF mampu mengimbas ketahanan planlet *Cassava* terhadap penyakit layu *Fusarium*.

Analisis Fenol Total

Analisis senyawa fenol total menggunakan metode Singleton & Rossi (Aberouman & Deokule, 2008). Penyiapan kurva kalibrasi standar senyawa fenol asam galat digunakan sebagai larutan standar. Penyiapan planlet sampel disiapkan menurut metode Ozygi *et al.* (2007).

Penambahan kandungan fenol total pada planlet *Cassava* hasil pengimbasan AF yang di inokulasikan *F. oxysporum* juga merupakan salah satu indikator adanya mekanisme ketahanan secara *in vitro*. Pengukuran kadar fenol total pada planlet *Cassava* menggunakan metode Aberouman and Deokule (2008). Hasil dari pengukuran kurva standar asam galat diperoleh persamaan garis regresi linier $y = 0.001x + 0.002$ dan memiliki nilai kolerasi ($R^2 = 0.998$) yang menunjukkan keragaman antara konsentrasi asam galat dengan absorbansi bersifat homogen. Berdasarkan kurva standar asam galat tersebut maka dapat dicari kadar fenol total dari masing-masing perlakuan berdasarkan persamaan garis regresinya Tabel 3.

Tabel 3. Kadar fenol total (%) planlet *Cassava* hasil pengimbasan asam fusarat

| Perlakuan | Rata-rata Kandungan fenol total (%) |
|-----------|-------------------------------------|
| 0 ppm | 10,13 ± 4.1111E-02 ^a |
| 10 ppm | 27,19 ± 1.2287E-01 ^b |
| 20 ppm | 31,33 ± 5.2689E-01 ^c |
| 30 ppm | 34,93 ± 3.0111E-01 ^d |
| 40 ppm | 35,53 ± 4.1111E-02 ^d |

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada derajat kepercayaan 95% BNT

Pada Tabel 3 di atas terlihat peningkatan kadar fenol total dari sekitar 10,13 % pada kontrol, meningkat menjadi 27.19% pada perlakuan AF 10 ppm, diikuti 31.33% pada 20 ppm, 34.93% pada 30 ppm dan 35,53% pada 40 ppm. Peningkatan fenol total sejalan dengan semakin meningkatnya konsentrasi AF. Vidhyasekaran (1997) berpendapat, bahwa salah satu parameter terjadinya peningkatan ketahanan tanaman terhadap patogen adalah meningkatnya senyawa fenol.

Menurut Bouizgarne *et al.* (2006), AF pada konsentrasi non-toksik (10^{-7}) merangsang pembentukan H_2O_2 yang sangat berkaitan dengan enzim peroksidase. Selanjutnya, enzim ini akan mengoksidasi senyawa fenol. Hasil penelitian ini serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Khan *et al.* (2005) pada tanaman *Chickpea* yang diinfeksi dengan *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa terjadi peningkatan fenol total sekitar 16-17%. Peningkatan senyawa fenol total pada planlet *Cassava* yang diimbasi AF, merupakan bukti yang lain dari peningkatan ketahanan tanaman dalam menahan laju infeksi *Fo*.

KESIMPULAN

1. Kisaran konsentrasi Asam Fusarat toleran untuk seleksi planlet *Cassava* adalah 20-80 ppm
2. Secara *in vitro* penekanan jamur *Fo* menggunakan Asam Fusarat konsentrasi 80 ppm lebih efektif dibandingkan dengan konsentrasi 20, 40 dan 60 ppm, konsentrasi AF 80 ppm mampu mengimbas ketahanan yang paling baik

sehingga mampu menekan intensitas penyakit hingga 25%, dan menaikkan kriteria ke tahan

3. Semakin meningkat konsentrasi Asam Fusarat maka meningkat pula kandungan fenol total, pada planlet *Cassava* tahan *Fo*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada LPPM Universitas Lampung yang telah membiayai penelitian ini melalui kompetensi Hibah Pascasarjana BLU-UNILA Tahun Anggaran 2018, berdasarkan Surat Penugasan Penelitian PASCASARJANA Nomor Kontrak: 1344/UN26.21/PN/2018 Tanggal 25 Juni 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal AA, Tuzun S, & Bent E. 1999. *Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores, Biochemistry, Ecology, and Agriculture*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 390 p.
- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Academic Press. New York. 922 p.
- Alkahtani M, Omer SA, El-Naggar MA, Abdel-Kareem EM, & Mahmoud MA. 2011. Pathogenesis-related Protein and Phytoalexin Induction Against Cucumber Powdery Mildew by Elicitors. *International Journal of Plant Pathology* 2(2): 63-71.
- Arai M & Takeuchi M. 1993. Influence of Fusarium Wilt toxin(s) on Carnation cell. *Plant Cells, Tissue and Organ Culture* (34): 287 – 293.
- Bouizgarne, B, Bouteau HEM, Frankart C, Rebutier D, Madiona K, Pennarun AM, Monestiez M, Trouverie J, Amiar Z, Briand J, Brault M, Rona JP, Ouhdouch Y, & Hadrami EI. 2006. Early Physiological Responses of *Arabidopsis thaliana* Cells to Fusaric Acid : Toxic and Signalling Effects. *New Phytologist* 169: 209 – 218.
- Boras O, Santos R, Matos A, Cabral P, & Arzola RS. 2001. A First Attempt to Use A *Fusarium subglutinans* Culture Filtrate For The Selection of Pineapple Cultivar to Fusariose Disease. *Plant Breeding* 120(5): 345-438.
- Djatinika I. 2012. Seleksi Bakteri Antagonis untuk Mengendalikan Layu *Fusarium* pada Tanaman *Phalaenopsis*. *J.Hort.* 22(3):276-284.

- Hadisutrisno B. 2004. *Taktik dan Strategi Perlindungan Tanaman Menghadapi Gangguan Penyakit Layu Fusarium*. Makalah Simposium Nasional I di Purwokerto, 2-3 Maret.
- He CY, Hsiang T, & Wolyn DJ. 2002. Induction of Systemic Disease Resistance and Pathogen Defence Responses in *Asparagus officinalis* Inoculated with Pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathology* 51: 225-230.
- Khan IA, Alam SS, Haq A, & Jabbar A. 2005. Biochemistry of Resistance in *Chicpea* Against Wilt Disease Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Pak. J. Bot.* 37: 97-104.
- Landa BB, Cachinero-Diaz JM, Lemanceu P, Jimenez-Diaz RM, & Alabouvette C, 2002. Effect of Fusaric Acid and Phytoanticipins on Growth of Rhizobacteria and *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Microbiology* 48: 971-985.
- Leelasuphakul W, Sivanunsakul P, & Phongpaichit S. 2006. Purification, Characterization and Synergistic Activity of β -1,3-glucanase and Antibiotic Extract From an Antagonistic *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 Against Rice Blast and Sheath Blight. *Enzyme and Microbial Technology* 38: 990-997.
- Matsumoto K, Barbosa ML, Souza LAC, & Teixeira JB. 1995. Race 1 *Fusarium* Wilt tolerance on banana plants selected by Fusaric Acid. *Euphytica* 84: 67-71.
- Morpurgo R, Lopato SV, Afza R, & Novak FJ. 1994. Selection parameters for Resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 1 and 4 on Diploid Banana (*Musa acuminata* Colla). *Euphytica* 75: 121-129.
- Nurcahyani E**, Sumardi I, Hadisutrisno B, & Suharyanto E. 2012. Penekanan Perkembangan Penyakit Busuk Batang Vanili (*Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*) Melalui Seleksi Asam Fusarat Secara *In Vitro*. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. Terakreditasi SK No. 110/DIKTI/Kep/2009. ISSN: 1411-7525. Vol. 12 /No. 1: 12-22
- Nurcahyani E**. 2013. Karakterisasi Planlet Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) Hasil Seleksi Asam Fusarat Secara *In Vitro* Terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. *Disertasi*. Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 201 p. Tidak Dipublikasikan.
- Nurcahyani, E.**, Hadisutrisno, B., Sumardi, I., & 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. *Prosiding Seminar Nasional: "Pengendalian Penyakit Pada Tanaman Pertanian Ramah Lingkungan"*. Perhimpunan

Fitopatologi Indonesia Komda Joglosemar-Fakultas Pertanian UGM.
ISBN 978- 602-71784-0-3./2014 Hal. 272- 279.

- Nurcahyani E.**, R. Agustrina, & T.T. Handayani. 2016a. The Protein Profile of the Plantlets of *Spathoglottis plicata* Bl. Induced Resistance to *Fusarium oxysporum*. *Journal of Plant Science* 4(5): 102-105.
- Nurcahyani E.**, Rochmah Agustrina, Erdi Suroso, & Gardis Andari. 2016b. Analysis of Peroxidase Enzyme and Total Phenol from Ground Orchid (*Spathoglottis plicata* Bl) as Result of the *In Vitro* Fusaric Acid Selection Toward To *Fusarium oxysporum*. *International Journal of Applied Agricultural Science* 2(6): 79-82.
- Nurcahyani E.**, Sumardi I., Hadisutrisno B., & Suharyanto E., 2017. DNA Pattern Analysis of *Vanilla planifolia* Andrews Plantlet which Resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. *WJPLS* 3(4): 27-34.
- Toyoda H, Hayashi H, & Yamamoto K. 1984. Selection of Resistance Tomato Calli to Fusaric Acid. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan*. 50: 538-540.
- Vidhyasekaran P. 1997. *Fungal Pathogenesis in Plants and Crops, Molecular Biology and Host Defense Mechanism*. Marcel Dekker. New York. 553 p.
- Wibowo A. 2002. Pengendalian Penyakit Layu Fusarium pada Pisang dengan Menggunakan Isolat Nonpatogenik *Fusarium* sp. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 6: 65-70.