

## PERANCANGAN PRIMER UNTUK DETEKSI *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* RAS 4 TROPIKA BERDASARKAN SEKUEN IGS REGION DENGAN METODE PCR-RFLP

Yudha Pratama  
14/376324/PPN/3946

### INTISARI

*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ras 4 tropika (*Foc* TR4) yang termasuk ke dalam kelompok VCG 01213 saat ini menjadi perhatian utama dalam kendala produksi tanaman pisang di berbagai negara. Validasi primer spesifik berbasis PCR menggunakan kontrol positif (*Foc* TR4). Total, 50 isolat *Foc* dikoleksi dari beberapa daerah produksi pisang di Indonesia mewakili kultivar, genotipe dan VCG yang dikonfirmasi sebagai isolat *Foc* berdasarkan pengujian menggunakan primer *FocE*f3, kecuali isolat Cjr-2 dan Lmp-4. *Foc*-1/*Foc*-2 dapat mengamplifikasi 34 isolat *Foc* yang termasuk ke dalam *Foc* ras 4. Selanjutnya tiga pasang primer spesifik yaitu TR4-F/TR4-R, Six-1c, dan TR4-F2/TR4-R1 digunakan untuk mengelompokkan isolat-isolat tersebut ke dalam isolat *Foc* ras 4 tropika. TR4-F/TR4-R diketahui memiliki spesifisitas tertinggi karena dapat mengamplifikasi sebanyak 35 isolat *Foc* termasuk kontrol positif (*Foc* TR4) dibandingkan dengan primer lainnya (Six-1c dan TR4-F2/TR4-R1). Hasil desain primer *FocUGM*-F/*FocUGM*-R yang diperoleh dari sekuen isolat *Foc* TR4 asal Indonesia berdasarkan IGS region tidak dapat membedakan isolat-isolat *Foc* TR4 dengan isolat *Foc* ras 1 yang digunakan sebagai kontrol dalam penelitian ini. Pada sekuen isolat *Foc* TR4 berdasarkan IGS region ditemukan situs pemotongan enzim restriksi BamHI pada situs pemotongan 346 bp tetapi tidak ditemukan pada sekuen isolat *Foc* ras lainnya (*Foc* ras 1, ras 2, maupun ras 4 subtropika). Pengujian dengan metode PCR-RFLP dapat menentukan isolat-isolat *Foc* TR4 (VCG 01213/16) dan pada isolat-isolat *Foc* yang belum diketahui atau tidak kompatibel pada seluruh kelompok VCG, yaitu dengan melihat terpotong atau tidaknya isolat-isolat *Foc* menggunakan enzim restriksi tersebut. Isolat-isolat yang terpotong menggunakan metode PCR-RFLP dapat dikelompokkan ke dalam *Foc* TR4. Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat sejumlah besar keragaman strain yang terlihat pada isolat-isolat *Foc* tersebut untuk dapat dipelajari lebih lanjut. Ras 4 dari *Foc* (STR4 atau TR4) diketahui tersebar luas pada beberapa daerah di Indonesia. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengembangan primer spesifik untuk mendeteksi *Foc* TR4 dan strain yang paling merusak pada *Foc* TR4 berdasarkan data molekuler.

**Kata kunci:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, primer spesifik, desain primer, enzim restriksi, PCR-RFLP

## MOLECULAR MARKER DEVELOPMENT OF *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* TROPIC RACE 4 DETECTION BASED ON IGS REGION SEQUENCE USING PCR-RFLP METHOD

Yudha Pratama  
14/376324/PPN/3946

### ABSTRACT

*Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* tropic race 4 (*Foc* TR4) which belong to the group of VCG 01213 is currently a major concern within the constraints of the banana crop production in many countries. Validation of specific primer pairs using the positive control (*Foc* TR4). In total, 50 isolates of *Foc* were collected from several banana production regions in Indonesia represent the group of VCG, races, genotype, cultivars, were confirmed as *Foc* based on the tested using *FocE*f3 primer pair, except *Cjr*-2 and *Lmp*-4 isolates. *Foc*-1/*Foc*-2 could amplify 34 *Foc* isolates included in *Foc* race 4. Three specific primer pairs i.e. TR4-F/TR4-R, Six-1c, and TR4-F2/TR4-R1 were used to classify the *Foc* isolates into *Foc* race 4 tropic. TR4-F/TR4-R is known have the highest specificity as it could amplify 35 *Foc* isolates including positive controls (*Foc* TR4) compared to the other primer pairs (Six-1c and TR4-F2/TR4-R1). Results of primer design *Foc*UGM-F/*Foc*UGM-R derived from the *Foc* TR4 sequence originated from Indonesia based on the IGS region unable to differentiate *Foc* TR4 and *Foc* race 1 isolates that were used as control in this study. In *Foc* TR4 sequence based on the IGS region was found BamHI restriction enzyme cutting site on 346 bp, but were not found in the other races of *Foc* (*Foc* race 1, race 2, or subtropic race 4). By PCR-RFLP method can determine *Foc* TR4 (VCG 01213/16) and unknown or incompatible *Foc* on a whole group of VCG by the cutting site using the restriction enzyme. The isolates that were cut using PCR-RFLP method can be grouped into *Foc* TR4. This research indicates that there are a large number of diversity strains seen in *Foc* isolates to be studied for further research. Race 4 of *Foc* (STR4 or TR4) was known to be widespread in several regions in Indonesia. Therefore, specific primer pair development needs to be done to detect *Foc* TR4 and the most damaging strains on *Foc* TR4 based on molecular data.

**Keywords:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*, specific primer, design primer, restriction enzyme, PCR-RFLP