

**DETEKSI CEPAT *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* PENYEBAB
PENYAKIT PEMBULUH KAYU PADA CENGKEH DAN
TANAMAN INANG LAINNYA DENGAN
*POLYMERASE CHAIN REACTION***

**THE RAPID DETECTION OF *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii*
CAUSES OF XYLEM BACTERIAL DISEASE
OF CLOVES AND OTHER HOST PLANTS WITH
*POLYMERASE CHAIN REACTION***

FITRIAH BALOSI

TESIS

**Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Guna Memperoleh Gelar Magister Pertanian
Program Studi Ilmu-Ilmu Pertanian**



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU-ILMU PERTANIAN
PASCASARJANA
UNIVERSITAS TADULAKO
PALU
2020**

**DETEKSI CEPAT *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* PENYEBAB
PENYAKIT PEMBULUH KAYU PADA CENGKEH DAN
TANAMAN INANG LAINNYA DENGAN
*POLYMERASE CHAIN REACTION***

**THE RAPID DETECTION OF *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii*
CAUSES OF XYLEM BACTERIAL DISEASE
OF CLOVES AND OTHER HOST PLANTS WITH
*POLYMERASE CHAIN REACTION***

Oleh

**FITRIAH BALOSI
E 202 18 011**

TESIS

**Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Guna Memperoleh Gelar Magister Pertanian
Program Studi Ilmu-Ilmu Pertanian**



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU-ILMU PERANIAN
PASCASARJANA
UNIVERSITAS TADULAKO
PALU
2020**

PENGESAHAN

DETEKSI CEPAT *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* PENYEBAB PENYAKIT PEMBULUH KAYU PADA CENGKEH DAN TANAMAN INANG LAINNYA DENGAN *POLYMERASE CHAIN REACTION*

Oleh

Fitriah Balosi

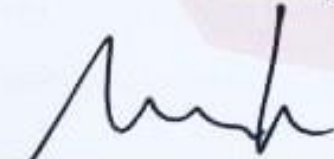
Nomor Stambuk. E20218011

TESIS


Untuk memenuhi salah satu syarat
Guna Memperoleh Gelar Magister Pertanian
Program Studi Magister Ilmu-Ilmu Pertanian

Telah Disetujui Oleh Tim Pembimbing Pada Tanggal
Seperti Tertera di Bawah Ini,

Palu, 30 Juni 2020


(Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si., IPM., ASEAN Eng.)

Ketua Tim Pembimbing


(Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D.)

Anggota Tim Pembimbing

Mengetahui,


(Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si., IPM., ASEAN Eng.)

Direktur Pascasarjana
Universitas Tadulako


(Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si.)

Koordinator Program Studi
Magister Ilmu-Ilmu Pertanian

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Karya ilmiah (tesis) saya ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (magister), baik di Universitas Tadulako maupun perguruan tinggi lainnya.
2. Karya ilmiah ini adalah murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan tim pembimbing.
3. Dalam karya ilmiah ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Palu, Juli 2020

Yang membuat pernyataan,



Fitriah Balosi
E 202 18 011

DETEKSI CEPAT *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* PENYEBAB PENYAKIT PEMBULUH KAYU PADA CENGKEH DAN TANAMAN INANG LAINNYA DENGAN *POLYMERASE CHAIN REACTION*

Fitriah Balosi¹⁾, Alam Anshary²⁾, Nur Edy²⁾

E-mail: fitrabalosi@gmail.co.id

¹⁾Mahasiswa Program Studi Magister Ilmu-Ilmu Pertanian, Pascasarjana Universitas Tadulako

²⁾Dosen Program Studi Magister Ilmu-Ilmu Pertanian, Pascasarjana Universitas Tadulako

ABSTRAK

Bakteri pembuluh kayu cengkeh merupakan salah satu penyakit penting di Indonesia. Penyakit ini disebabkan oleh *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* yang termasuk strain kompleks *R. solanacearum* yang disebarkan melalui vektor *Hindola* spp. dan inang hutan yang belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk deteksi cepat *R. syzygii* pada cengkeh dan tanaman lain yang berpotensi sebagai inang alternatif dengan pendekatan molekuler serta uji patogenisitas *R. syzygii* pada tanaman lain sebagai upaya deteksi cepat *R. syzygii* pada cengkeh dan tanaman lainnya serta berkontribusi pada upaya karantina tanaman. Analisis dilakukan dengan nested PCR menggunakan sepasang primer F/R 16S rRNA dan sepasang primer spesifik UGMRss-F/R dengan membandingkan ada tidaknya pita DNA yang terbentuk pada gel agarose yang divisualisasi dengan gel documentation band pattern pada amplicon 200 bp-400 bp dari sampel DNA cengkeh dan tanaman lain (cabai, tomat, pisang, *Heliconia*, *Mentha canadensis*, *Verbesina alternifolia*) yang berpotensi sebagai inang alternatif. Hasil uji patogenisitas pada tanaman lain tidak menunjukkan adanya gejala bakteri *R. syzygii* tetapi hasil analisis molekuler DNA cengkeh sakit dan DNA tanaman lain hasil uji patogenesis terdeteksi *R. syzygii* yang berhasil di amplifikasi dengan terbentuknya pita DNA pada gel agarose divisualisasikan dengan gel documentation berada pada amplicon 200 bp yang mengindikasikan tanaman lain yang memiliki kekerabatan dekat dengan cengkeh dalam strain kompleks *R. solanacearum* berpotensi sebagai inang alternatif dalam penyebaran *R. syzygii* penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh.

Kata kunci: *R. syzygii* subsp. *syzygii*, Spesies kompleks *R. solanacearum*, Inang alternatif, *Polymerase chain reaction* (PCR), nested PCR

THE RAPID DETECTION OF *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* CAUSES OF XYLEM BACTERIAL DISEASE OF CLOVES AND OTHER PLANTS WITH POLYMERASE CHAIN REACTION

Fitriah Balosi¹⁾, Alam Anshary²⁾, Nur Edy²⁾

E-mail: fitrabalosi@gmail.co.id

¹⁾Students of the Masters Program in Agricultural Sciences, Postgraduate University of Tadulako

²⁾Lecturer of the Agricultural Studies Master Program, Postgraduate University of Tadulako

ABSTRACT

Xylem bacterial disease of cloves is one of the important diseases in Indonesia. This disease is caused by *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* which belongs to a complex strain of *R. solanacearum* which is spread through *Hindola* spp. vector and unknown hosts. This research aims to detect the rapid detection of *R. syzygii* in cloves and other plants that have the potential as alternative hosts with molecular approaches and the pathogenicity test of *R. syzygi* in other plants as an effort to detect *R. syzygii* in cloves and other plants and contribute to plant quarantine efforts. Analysis was performed by nested PCR using a pair primer of F/R 16S rRNA and a specific primer pair of UGMRss-F/R by comparing the presence or absence of DNA bands formed in agarose gel visualized with gel documentation band pattern on amplicon 200 bp-400 bp from DNA samples cloves and other plants (Chili, Tomatoes, Bananas, *Heliconia*, *Menthacanadensis*, *Verbesina alternifolia*) that have the potential as alternative hosts. The results of the pathogenicity test in other plants do not show symptoms of *R. syzygii* bacteria but the results of molecular analysis of the clove DNA of illness and other plant DNA from the results of the pathogenesis were detected by *R. sygii* which was successfully amplified by the formation of DNA bands in agarose gel visualized with gel documentation located at amplicon 200 bp which indicates other plants that have a close kinship with clove in *R. solanacearum* complex strain has the potential as an alternative host in the spread of *R. syzygi* due to xylem bacterial disease of cloves.

Keywords: *R. syzygii* subsp. *syzygii*, *R. solanacearum* complex species, Alternative hosts, Polymerase chain reaction (PCR), nested PCR.



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur atas kehadiran Tuhan yang Maha Esa telah diberikan nikmat iman dan islam serta nikmat kesehatan sehingga masih diberikan kemudahan disetiap pekerjaan terutama dalam penyusunan tesis untuk menyelesaikan gelar magister di Pascasarjana Universitas Tadulako. Tesis ini berjudul **“Deteksi Cepat *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* Penyebab Penyakit Pembuluh Kayu Pada Cengkeh Dan Tanaman Inang Lainnya dengan “*Polymerase Chain Reaction*”**.

Penyusunan tesis ini dapat terselesaikan berkat dukungan dan doa kedua orang tua serta bimbingan dan arahan dari bapak-bapak pembimbing. Oleh karena itu ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada Bapak **Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si, ASEAN Eng.** selaku ketua tim pembimbing dan Bapak **Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D.** selaku anggota tim pembimbing yang senantiasa memberikan waktu dan pikiran untuk membimbing, menuntun, dan mengarahkan penyusunan tesis ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Bapak **Prof. Dr. Ir. Mahfudz, M.P. IPM, ASEAN Eng.** Rektor Universitas Tadulako.
2. Bapak **Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si, ASEAN Eng.** selaku Direktur Pascasarjana Universitas Tadulako.
3. Bapak **Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si.** selaku Koordinator Program Studi Magister Ilmu-Ilmu Pertanian, Pascasarjana Universitas Tadulako.
4. Bapak dan Ibu dosen Pascasarjana Program Studi Ilmu-Ilmu Pertanian yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang sangat berguna selama proses perkuliahan

5. Bapak dan Ibu staf tata usaha dilingkungan Pascasarjana Universitas Tadulako khususnya staf Program Studi Magister Ilmu-Ilmu Pertanian Nur annisa, S.Pd. dan Nurjianti Usmar, SH yang telah membantu dalam keperluan administrasi.
6. Terima kasih kepada keluarga besar dan kepada adik-adikku tercinta Sakip Balosi, S. Adm., dan Moh. Agil Balosi, S. Pd., yang telah banyak memberikan doa, bantuan dan dorongan kepada penulis.
7. Teman-teman mahasiswa seperjuangan khususnya Desi Wahyuni Arsih, S.P., Nur faidah, S.P., Kamsina, S.Pi., Ludia Rustin Palondongan, S.Si., Nana Fitriana, Ladjudo, S.Hut., Early afriani, S.Si., Dyah Hardiyanti Yusnida, S. Pt., Ismail Suaib, S.P., I Made Suanta, S.Pt., Zulfikar, R. Palallo, S.St., Pi., Aditya, S.Hut., Edi Junaedi, S.P., Resky Leme Piri, S.P., I Kadek Yudhana, S.P., yang selalu memberikan semangat dan berjuang bersama di Pascasarjana Universitas Tadulako.
8. Sahabat terdekatku, Sutriani, S.Pt, Dwi Wahyuni, S.Pd., Risdayani, S. Agr., Desi Wahyuni Arsih, S.P., Nova Alvianita Panggalo, S.P., M.P., Masriani, S.P., Nur Fatimah, S.P. yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan serta doa yang tulus kepada penulis.
9. Adik-adik Mahasiswa S1 khususnya kepada Nurhidayanti Zahlin, Nila Wardani, Vinsensia Patto, Magfiratun Nisa Ahmad, Alce Pricilla Molidja, Salmirna Risanti, Hasrawati, Andri Bangkit Matarusu, Dandi Putra Perdana, Angga, Budiman yang senantiasa membantu dalam kelancaran selama proses penelitian.

Akhirnya dengan penuh rasa haru, penulis mempersembahkan tesis ini sebagai pernyataan terimakasih tak terhingga kepada Ayahanda Ismail Balosi dan Ibu Rahma S. Adu yang senantiasa berdo'a dan bekerja keras demi keberhasilan anaknya dalam menyelesaikan studi. Penulis menyadari dalam penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan serta masih banyak kekurangan baik dari segi tata bahasa maupun penulisan sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga tesis ini dapat menambah pemahaman dan wawasan bagi pembaca dan diri penulis khususnya. Harapannya untuk pembaca yang juga membahas seputar isi tesis dikemudian hari, gunakanlah data-data sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan yang ada, mudah-mudahan apa yang penulis susun ini kiranya dapat bermanfaat baik untuk pribadi, teman-teman, serta orang lain yang ingin mengambil referensi dari isi tesis ini sebagai tambahan dalam menambah ilmu pengetahuan.

Palu, Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

Isi	Halaman
SAMPUL LUAR.....	i
SAMPUL DALAM.....	ii
PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN.....	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan Penelitian.....	5
BAB 2 KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS	
2.1 Penelitian Terdahulu.....	6
2.2 Kajian Pustaka	8
2.2.1 Arti penting cengkeh	8
2.2.2 Penyakit Sumatera pada cengkeh	9
2.2.3 Spesies kompleks <i>Ralstonia</i>	9
2.2.4 Biologi <i>R. syzigii</i>	11
2.2.5 Patogenisitas dan virulensi <i>R. syzigii</i>	12
2.2.6 Deteksi molekuler <i>R. syzigii</i> dengan <i>Nested PCR</i>	13
2.3 Kerangka Pikir.....	15
2.4 Hipotesis	17
BAB 3 METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu	18
3.2 Alat dan bahan.....	18
3.3 Pelaksanaan Penelitian	19
3.3.1 Koleksi bahan sumber inokulum patogen dari perkebunan cengkeh	19
3.3.2 Koleksi bahan tanaman lain disekitar perkebunan cengkeh.....	19
3.3.3 Karakteristik bakteri <i>R. syzygii</i> dari cengkeh bergejala.....	20

3.3.4	Perbanyak bakteri <i>R. syzygii</i> pada Media CPG.....	20
3.3.5	Uji reaksi hipersensitive (HR)	21
3.3.6	Uji patogenesis <i>R. syzygii</i>	21
3.3.7	Ekstraksi DNA <i>R. syzygii</i> subsp. <i>syzygii</i> dari akar, batang, daun, ranting dari tanaman lain.....	22
3.3.8	Amplifikasi DNA dengan PCR untuk deteksi cepat <i>R. syzygii</i>	23
3.3.9	Visualisasi DNA dengan gel electrophoresis	24
3.4	Variabel Pengamatan.....	25
3.4.1	Karakteristik bakteri <i>R. syzygii</i> dari Cengkeh bergejala....	25
3.4.2	Hasil analisis DNA pada Cengkeh terinfeksi <i>R. syzygii</i>	25
3.4.3	Patogenesis <i>R. syzygii</i> pada beberapa tanaman inang alternatif.....	25
3.4.4	Hasil analisis DNA <i>R. syzygii</i> pada tanaman lain.....	26
3.5	Analisis Data	26

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Karakteristik Bakteri <i>R. syzygii</i> dari Cengkeh Bergejala	27
4.1.1	Ciri morfologi <i>R. syzygii</i> pada medium <i>Casamino</i> <i>Pepton Acid Glucose</i> (CPG)	27
4.1.2	Hasil uji reaksi hipersensitif (HR)	28
4.1.3	Uji patogenesis <i>R. syzygii</i>	30
4.2	Karakterisasi bakteri yang diisolasi pada medium CPG dengan PCR.....	31
4.3	Uji patogenesis <i>R. syzygii</i> pada beberapa tanaman inang alternatif.....	34
4.4	Deteksi <i>R. syzygii</i> pada tanaman lain menggunakan <i>Polymerase</i> <i>Chain Reaction</i>	40

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1	Kesimpulan.....	46
5.2	Saran	46

DAFTAR PUSTAKA 47

LAMPIRAN..... 57

BIODATA PENYUSUN 57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perbandingan antara penelitian terdahulu dan penelitian yang akan dilakukan	6
2. Karakterisasi bakteri <i>R. syzygii</i> dari cengkeh bergejala	27
3. Uji patogenisitas <i>R. syzygii</i> pada berbagai tanaman uji	35
4. Deteksi PCR pada berbagai tanaman uji	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Diagram Alir Kerangka Pikir Penelitian	16
2.	Morfologi koloni bakteri <i>R. syzygii</i> pada media CPG	27
3.	Uji reaksi hipersensitif (HR) 4 Hsi menunjukkan gejala nekrosis pada daun tomat (A) dan daun cengkeh (B)	28
4.	Cengkeh yang terinfeksi <i>R. syzygii</i> setelah 28 hari diinokulasi dengan suspensi <i>R. syzygii</i> 10 ⁶ CFU ml ⁻¹ suspensi.....	30
5.	Visualisasi hasil amplifikasi DNA isolat <i>R. syzygii</i> menggunakan teknik PCR dengan primer spesifik UGMR _{ss} -F/UGMR _{ss} -R) pada amplicon berukuran 200 bp pasang basa (M: marker 100-bp; 1: DNA bakteri hasil amplifikasi menggunakan primer 16S F/R; 2: Bakteri hasil pengenceran 10x hasil amplifikasi menggunakan primer 16S F/R ; 3: Bakteri menggunakan Primer Spesifik UGMR _{ss} -F/R ; 4. Bakteri hasil pengenceran 10x menggunakan Primer Spesifik (UGMR _{ss} -F/R); 5. Air (kontrol negatif).....	32
6.	Cabai sebelum infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> (a), Cabai tidak menimbulkan gejala setelah infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> pada 48 Hsi (b). ...	36
7.	Tomat sebelum infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> (a), Tomat tidak menimbulkan gejala setelah infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> pada 48 Hsi (b). ...	36
8.	Pisang kepok sebelum infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> (a), Pisang kepok tidak menimbulkan gejala setelah infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> pada 48 Hsi (b).	37
9.	<i>Heliconia</i> sebelum infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> (a), <i>Heliconia</i> tidak menimbulkan setelah infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> pada 48 Hsi (b).....	37
10.	<i>Mentha canadensis</i> sebelum infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> (a), <i>Mentha canadensis</i> tidak menimbulkan setelah infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> pada 48 Hsi (b).....	38
11.	<i>Verbesina alternifolia</i> sebelum infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> (a), <i>V. alternifolia</i> tidak menimbulkan gejala setelah infeksi bakteri <i>R. syzygii</i> pada 48 Hsi (b).....	38
12.	Visualisasi hasil amplifikasi DNA <i>R. syzygii</i> penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh dengan PCR menggunakan primer (UGMR _{ss} -F dan UGMR _{ss} -R) dengan amplicon 200 bp pada beberapa inang alternatif (M: 100 bp, 1: Cabai, 2: Tomat, 3: Pisang, 4: <i>Mentha canadensis</i> , 5: <i>Verbesina alternifolia</i> , 6: <i>Heliconia</i> , 7: DNA <i>R. syzygii</i> subsp. <i>syzygii</i> (+), H ₂ O (-).....	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pucuk cengkeh yang menunjukkan gejala penyakit pembuluh kayu cengkeh yang disebabkan <i>R.syzygii</i> subsp. <i>syzygii</i>	57
2. Sampel akar, batang, ranting, daun cengkeh sakit persiapan isolasi bakteri.....	57
3. Bakteri <i>Ralstonia syzygii</i> pada media kultur cair CPG (A), Bakteri <i>R. syzygii</i> setelah sentrifuge (B).....	58
4. Proses Infeksi <i>R. syzygii</i> pada beberapa tanaman uji (Cabai, Tomat, Pisang, <i>Menthacanadensis</i> , <i>Verbesina alternifolia</i> , <i>Heliconia</i>	58
5. Cabai sebelum infeksi <i>R. syzygii</i> (A), Cabai pada 48 hari setelah infeksi (hsi) <i>R. syzygii</i>	59
6. Tomat sebelum infeksi <i>R. syzygii</i> (A), Tomat pada 48 hari setelah infeksi (hsi) <i>R. syzygii</i>	60
7. Pisang sebelum infeksi <i>R. syzygii</i> (A), Pisang pada 48 hari setelah infeksi (hsi) <i>R. syzygii</i>	61
8. <i>Heliconia</i> sebelum infeksi <i>R. syzygii</i> (A), <i>Heliconia</i> pada 48 hari setelah infeksi (hsi) <i>R. syzygii</i>	62
9. <i>Menthacanadensis</i> (Min canada) sebelum infeksi <i>R. syzygii</i> (A), <i>Menthacanadensis</i> (Min canada) pada 48 hari setelah infeksi (hsi) <i>R. syzygii</i>	63
10. <i>Verbesina alternifolia</i> (mahkota kuning) sebelum infeksi <i>R. syzygii</i> (A), <i>Verbesina alternifolia</i> (mahkota kuning) pada 48 hari setelah infeksi (hsi) <i>R. syzygii</i>	64
11. Persiapan ekstraksi DNA <i>R. syzygii</i> pada sampel tanaman uji hasil infeksi <i>R. syzygii</i>	65
12. Pemanasan sampel tanaman uji pada heating block 65 °C (A), ekstraksi DNA jaringan tanaman uji hasil infeksi <i>R. syzygii</i>	65
13. Pembuatan komponen PCR (A), Proses PCR (B)	65
14. DNA murni (1. Cabai, 2. Tomat, 3. Pisang, 4. <i>Menthacanadensis</i> , 5. <i>V. Alternifolia</i> , 6. <i>Heliconia</i> , 7. Cengkeh (Kontrol positif), 8. H ₂ O (Kontrol negatif)) hasil PCR menggunakan Primer Spesifik <i>R. syzygii</i>	66
15. Proses visualisasi DNA menggunakan gel elektroforesis (Agarose 1%).....	66
16. Proses visualisasi DNA pada gel dokumentasi.....	66

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cengkeh sebagai salah satu tanaman rempah asli Indonesia, penghasil minyak atsiri yang memiliki aroma khas digunakan sebagai bahan campuran penting dalam bidang industri pembuatan rokok, industri farmasi maupun industri makanan (Nurdjannah, 2016; Sharif, *et al.*, 2018). Indonesia merupakan salah satu penghasil cengkeh terbesar di dunia (Alighiri, *et al.*, 2017; Sulistyoningrum, *et al.*, 2017) yang dibudidayakan hampir diseluruh Indonesia (Moningka *et al.*, 2012; Ratnawati, 2016).

Sulawesi tengah termasuk salah satu sentra pertanaman cengkeh khususnya daerah Kabupaten Toli-toli yang merupakan daerah penghasil cengkeh terluas di Sulawesi tengah sebesar 37.718 ha dengan produksi 10.276 ton yang memberikan kontribusi terhadap perekonomian Indonesia (BPS Sulteng, 2017; Lisnawati *et al.*, 2017; Nurmala *et al.*, 2015). Menurut BPS Sulteng (2017) perkembangan produktivitas cengkeh mengalami fluktuasi setiap tahunnya. Secara nasional produksi cengkeh mengalami pasang surut sebagai dampak fluktuasi harga dan produktivitas cengkeh yang berpengaruh pada minat petani untuk melakukan budidaya tanaman cengkeh. Menurut Hananto, *et al.*, (2014), Oku, *et al.*, 2017 dan Pratama & Darwanto (2019), fluktuasi yang terjadi pada produktivitas cengkeh dapat disebabkan cengkeh termasuk jenis tanaman berkayu yang mudah terserang penyakit terutama gangguan oleh penyakit pembuluh kayu yang disebabkan oleh *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii*.

R. syzygii dilaporkan telah menyerang perkebunan cengkeh pertama kali di Indonesia, yakni di Provinsi Sumatera Barat, Sumatera Utara, Bengkulu, dan Lampung pada tahun 1975 (Danaatmadja, *et al.*, 2009; Trianom, *et al.*, 2018). Oleh karenanya, penyakit ini dikenal dengan nama umum sebagai penyakit Sumatera. Penyakit ini juga dikenal sebagai penyakit pembuluh kayu cengkeh karena patogennya hidup di dalam jaringan xilem (Danaatmadja *et al.*, 2009; Sarni, 2018; Yastini & Kamarani, 2018). Penyakit Sumatera termasuk penyakit yang paling merusak karena dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga mencapai 39,01% pertahun (Hariyadi, 2017).

Perkembangan penelitian tentang identitas *R. syzygii* telah banyak dilaporkan dengan tiga subspeciesnya, *R. syzygii* subsp. *syzygii*, *R. syzygii* subsp. *celebesensis*, dan *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* yang merupakan anggota kompleks spesies *R. solanacearum* beragam secara fenotipik, genotipik dan patogenik (Ailloud, 2015; Obrador, *et al.*, 2017; Prior *et al.*, 2016; Safni, *et al.*, 2018; Shamsinah & Suhaimi, 2017) dan telah dikonfirmasi lebih lanjut berdasarkan karakterisasi proteomik dan genom untuk membuktikan bahwa *R. syzygii* strain kompleks *R. solanacearum* (Prior, *et al.*, 2016).

Penyebaran penyakit yang disebabkan *R. syzygii* sulit dideteksi karena gejalanya mirip dengan kekurangan air atau karena terserang penyakit lain, sehingga gejala baru diketahui pada saat musim penghujan (Dwimartina, *et al.*, 2017). Penyakit ini menyerang secara sistemik dan hidup berkoloni di dalam xilem yang ditularkan oleh serangga *Hindola fulva* pemakan getah xilem sebagai vektor alami di Sumatera (Asman, 1991; Safni *et al.*, 2018).

Penyakit cengkeh Sumatera disebabkan oleh beberapa faktor antara lain transfer penyakit dari inang hutan yang tidak diketahui, adanya distribusi awal penyakit yang terlokalisasi dan distribusi spesies vektor lokal yang sesuai sehingga memungkinkan adanya kisaran inang *R. syzygii* subsp *syzygii* yang lebih luas (Safni et al., 2018). Adanya kisaran inang *R. syzygii* yang belum diketahui terhadap tanaman lain sehingga perlu dilakukan deteksi dan identifikasi bakteri patogen menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) melalui amplifikasi gen spesifik dengan nested PCR (Edy et al., 2011; Ismiyatuningsih et al., 2016; Prasetya et al., 2017; Trianom et al., 2018; Windari et al., 2015).

Teknik PCR mampu mendeteksi patogen secara cepat dan akurat melalui penggandaan DNA dengan bantuan enzim dan sepasang primer yang bersifat spesifik terhadap DNA target yang akan digandakan sehingga dapat dianalisis dengan lebih jelas dibandingkan dengan metode konvensional yang sensitivitas dan spesifitasnya masih kurang dan memerlukan waktu yang cukup lama untuk deteksi patogen (Joko et al., 2011; Trianom et al., 2018; Triyani et al., 2016).

Teknik PCR dinilai memiliki cukup banyak keunggulan dalam mendiagnosis penyakit dengan waktu yang relatif singkat, pengembangan metode PCR untuk deteksi *R. syzygii* telah mulai dilakukan, sehingga dengan meningkatkan sensitivitas dan spesifitas untuk mengenali sekuen DNA spesifik pada produk PCR dan untuk meminimalkan kesalahan amplifikasi gen dapat dilakukan dengan nested PCR yang dalam prosesnya dilakukan 2 kali reaksi PCR dengan menggunakan 2 pasang primer (Idar, et al., 2018; Prasetyo, et al., 2017).

Sampai saat ini belum pernah dilaporkan data tentang deteksi cepat menggunakan teknik Polymerase Chain reaction (PCR) dengan nested PCR melalui amplifikasi DNA *R. syzygii* subsp *syzygii* terhadap tanaman lain yang berpotensi sebagai inang alternatif. Oleh karena itu, penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui karakteristik dan kisaran inang *Ralstonia syzygii* subsp *syzygii*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, maka yang dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah cengkeh bergejala penyakit pembuluh kayu dapat diidentifikasi patogennya dengan pendekatan molekuler menggunakan teknik PCR?
2. Apakah tanaman lain disekitar pertanaman cengkeh berpotensi sebagai inang alternatif?
3. Apakah bakteri penyebab patogen pembuluh kayu cengkeh jika menginfeksi tanaman lain dapat menimbulkan gejala dan patogennya dapat dideteksi?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi patogen penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh dengan teknik PCR, menentukan kisaran inang pada tanaman lain yang berpotensi sebagai inang alternatif, menentukan apakah bakteri penyebab patogen pembuluh kayu jika menginfeksi tanaman lain dapat menimbulkan gejala dan patogennya dapat dideteksi.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini untuk memberikan informasi tentang kemampuan deteksi cepat patogen *R. syzygii* pada cengkeh dan tanaman lain yang berpotensi sebagai inang alternatif dengan pendekatan molekuler. Secara lebih luas hasil penelitian ini berkontribusi pada upaya karantina tanaman.

BAB 2

KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS

2.1 Penelitian Terdahulu

Penelitian deteksi cepat *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* penyebab penyakit pembuluh kayu pada cengkeh dan inang lainnya dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) masih sedikit dilakukan, sehingga beberapa penelitian terdahulu diperlukan untuk menunjang proses penelitian ini. Berikut tabel penelitian terdahulu dan penelitian yang akan dilakukan:

Tabel 1. Perbandingan antara penelitian terdahulu dan penelitian yang akan dilakukan

No	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Perbedaan dengan Penelitian Ini
1.	Irda Safni, Siti Subandiyah and Mark Fegan (2018)	Ekologi, Epidemiolog, dan Penyakit Manajemen <i>Ralstonia syzygii</i> di Indonesia	<i>Ralstonia solanacearum</i> spesies kompleks phylotype IV strain, yang telah diisolasi dari Indonesia, Australia, Jepang, Korea, dan Malaysia, telah mengalami perubahan taksonomi dan nomenclatural baru-baru ini untuk ditempatkan pada spesies <i>Ralstonia syzygii</i> . <i>Ralstonia syzygii</i> subsp <i>syzygii</i> , penyebab penyakit sumatra pada pohon cengkeh di Indonesia, <i>Ralstonia syzygii</i> subsp. <i>indonesiensis</i> ,	Pada penelitian ini peneliti bertujuan untuk mengetahui inang alternatif dari <i>Ralstonia syzygii</i> subsp <i>syzygii</i>

			patogen penyebab penyakit layu bakteri pada berbagai tanaman inang.	
2	Bambang Trianom, Triwidodo Arwiyanto, Tri Joko (2018)	Perancangan Primer Spesifik Subspesies Berbasis Gen Endoglukanase untuk Deteksi <i>Ralstonia syzygii</i> subsp. <i>syzygii</i>	Penggunaan data sekuens gen endoglukanase (<i>egl</i>) dari Gen Bank dapat dirancang sepasang primer spesifik dan sensitif untuk deteksi <i>R. syzygii</i> subsp. <i>syzygii</i> pada areal pertanaman yang sudah terserang maupun penyebarannya melalui peredaran bibit dari areal yang endemis penyakit ke daerah non-endemis	Penelitian ini peneliti bertujuan untuk mendeteksi keberadaan <i>R. syzygii</i> subsp. <i>syzygii</i> pada tanaman lainnya disekitar perkebunan cengkeh dengan PCR
3	Nur Edy, Siti Subandiyah, Christanti Sumardiyono, Jaka Widada (2011)	Karakterisasi dan Deteksi Cepat Bakteri Penyebab Penyakit Darah pada Pisang	Deteksi cepat BDB strain indonesia dengan Polymerase Chain Reaction menggunakan primer spesifik mampu mengenali BDB pada total genom DNA-nya yang ditandai terbentuknya fragmen DNA dengan hasil yang positif melalui amplifikasi DNA dan tidak mengamplifikasi fragmen DNA <i>R. solanacearum</i> isolat tembakau dengan hasil negatif yang menjadi indikator penciri khusus sebagai faktor identitas utama dan karakter pembeda dengan bakteri yang lain	Pada penelitian ini bertujuan untuk melakukan deteksi cepat dengan PCR menggunakan primer spesifik untuk melihat keberadaan <i>R. syzygii</i> subsp. <i>syzygii</i> pada tanaman lain disekitar perkebunan cengkeh ditandai dengan terbentuknya fragmen DNA

2.2 Kajian Pustaka

2.2.1 Arti penting cengkeh

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) sebagai salah satu tanaman rempah yang menjadi penyumbang pendapatan petani di Indonesia baik sebagai sarana untuk pemerataan wilayah pembangunan maupun pelestarian sumber daya alam dan lingkungan (Nurdjannah, 2016). Hal ini disebabkan tanaman cengkeh memiliki kandungan minyak atsiri dengan jumlah yang cukup besar, baik dalam bunga, tangkai maupun daun (16-20%) (Hadi, 2012)

Minyak atsiri daun cengkeh memiliki kandungan eugenol, asam oleanolat, asam galotamat, fenilin, karyofilin, resin dan gom yang memiliki banyak manfaat dalam berbagai industri, seperti industri farmasi, kosmetika, makanan, minuman, rokok, pestisida nabati, perikanan, pertambangan, kemasan aktif dan industri kimia lainnya (Sgorbini, *et al.*, 2015). Senyawa eugenol yang terkandung dalam minyak cengkeh berkisar 70-96%, sehingga memenuhi persyaratan mutu minyak daun cengkeh SNI 06-2387-2006 dengan kandungan minimal senyawa eugenol adalah 78% (Khotimah, 2014; Towaha, 2012). Pengolahan isolasi senyawa eugenol dari minyak cengkeh di Indonesia masih sangat terbatas, oleh karena itu Indonesia sebagai negara penghasil utama minyak cengkeh di dunia diharapkan dapat meningkatkan diversifikasi industri hilirnya yang berdampak positif bagi pertumbuhan ekonomi Indonesia (Sgorbini *et al.*, 2015; Towaha, 2012).

2.2.2 Penyakit sumatera pada cengkeh

R. syzygii dikenal sebagai penyakit Sumatera karena pada awalnya dapat menyebabkan penyakit cengkeh di Sumatera, mulai muncul pada tahun 1931 di daerah Sumatera Barat (Arwiyanto, 2018; Prior *et al.*, 2016; Safni *et al.*, 2018). Tahun 1960-an epidemi terjadi di daerah tersebut yang menyebabkan “mati massal” (massdecline) pada cengkeh, sehingga antara tahun 1970 dan 1980, patogen ini telah merusak lebih dari 9 ribu ha cengkeh di wilayah tersebut (Arwiyanto, 2018). Selanjutnya menyebabkan kematian cengkeh yang meluas di Sumatera dan Jawa Barat (Safni *et al.*, 2018). Penyakit ini menyerang jaringan pembuluh kayu pada xilem cengkeh atau dikenal sebagai “penyakit bakteri pembuluh kayu cengkeh” atau BPKC (Danaatmadja, *et al.*, 2009; Hariyadi, 2017; Sarni, 2018; Setiawan, Rosman, R., 2016). Serangga *Hindola* diketahui sebagai vektor penyakit ini yang secara aktif dan spesifik mentransmisikan *R. syzygii* ke cengkeh yang sehat (Remenant, *et al.*, 2011).

Serangan *R. syzygii* subps *syzygii* awalnya menunjukkan gejala eksternal yang ditandai gejala daun layu, menguning berlangsung dalam kurun waktu (3-6) tahun dari gejala awal dan diikuti dengan gugurnya daun secara mendadak dari ujung tanaman atau dari cabang lateral yang tinggi di mahkota pohon dan akhirnya menyebabkan kematian pohon (Safni *et al.*, 2018; Trianom *et al.*, 2019).

2.2.3 Spesies kompleks *Ralstonia*

Ralstonia solanacearum merupakan spesies kompleks yang sangat heterogen karena memiliki kisaran inang yang luas (Da *et al.*, 2019; Morel *et al.*, 2018). Istilah spesies kompleks merujuk pada sekelompok erat

bakteri yang anggota individunya dapat mewakili lebih dari satu spesies (Genin & Denny 2012). Dalam proses patogenesis, bakteri ini menyerang tanaman cengkeh, pisang, tomat dan berbagai tanaman inang solanaceae lainnya (Arwiyanto, 2018). Berdasarkan filotipe, spesies ini terdiri dari empat garis keturunan utama yang berbeda secara filogenetik (Safni *et al.*, 2014). Keempat filotipe merupakan spesies kompleks yang mencakup tiga spesies berbeda dan dapat mewakili lebih dari satu spesies. Setiap filotipe mengandung galur, yang terutama diisolasi dari wilayah geografis tertentu: galur filotipe I berasal dari Asia; filotipe II berasal dari Amerika; filotipe III berasal dari Afrika; dan filotipe IV berasal dari Indonesia, Jepang, Australia, dan Filipina (Safni, *et al.*, 2014).

Ralstonia syzygii masuk ke dalam strain filotipe IV yang merupakan spesies kompleks *Ralstonia solanacearum* dari Indonesia (Arwiyanto, 2018; Danaatmadja *et al.*, 2009). Spesies ini terdiri dari tiga subspecies (Schandry, *et al.*, 2016, Bilt, *et al.*, 2018; García, *et al.*, 2019), yaitu *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii*, patogen penyebab penyakit Sumatera pada cengkeh yang ditransmisikan secara aktif dan spesifik oleh serangga vektor *Hindola* spittlebugs (Denny, 2007; Remenant *et al.*, 2011; Sridhar, 2015), *Ralstonia syzygii* subsp. *celebensis*, patogen penyebab penyakit darah pada *Musa* spp yang ditularkan oleh serangga penyerbuk, dan *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis*, patogen penyebab penyakit layu bakteri pada berbagai tanaman inang solanaceous yang menginfeksi akar tanaman (Prior, *et al.*, 2016; Safni, *et al.*, 2018; Suhaimi *et al.*, 2017; Zhang, Leeuwenhoek, *et al.*, 2016). Di Indonesia, ketiga subspecies ini secara internal

menyerang pembuluh xilem dan telah menghancurkan penanaman tanaman inang rentan yang memiliki nilai ekonomi tinggi (Shamsinah & Suhaimi, 2017; Subedi, 2015).

2.2.4 Biologi *R. syzygii*

R. syzygii merupakan bakteri gram negatif, koloni bakteri berbentuk bulat, berwarna jernih, berukuran sekitar 1 mm mampu memanfaatkan sukrosa dan glukosa, mampu menghidrolisis pati, tumbuh baik pada suhu 27 °C, bersifat aerob dan mampu mengkatalisis dan melepaskan air dan oksigen dari hydrogen peroxide (H₂O₂) (Sridhar, 2015; Trianom *et al.*, 2019). Bakteri tidak mampu tumbuh pada suhu 40 °C, tidak dapat mereduksi nitrat, tidak membentuk gelembung pada medium yang mengandung sukrosa 5%, tidak mampu memanfaatkan gliserol dan maltosa (Danaatmadja, *et al.*, 2009).

R. syzygii secara internal masuk kedalam akar inang tanaman melalui luka atau lubang alami dan menyerang pembuluh xilem (Ferreira *et al.*, 2017; Sridhar, 2015). Kayu yang baru terbentuk yang berdekatan dengan kambium berubah warna menjadi abu-abu pucat (Kressin, 2018). Ketika memotong cabang cengkeh sering menghasilkan bakteri putih susu hingga coklat pucat dari permukaan potongan dengan perubahan warna xilem yang dapat ditelusuri ke dalam batang menjadi satu atau lebih akar utama (Safni *et al.*, 2018; Sing'ombe *et al.*, 2018).

Gejala serangan penyakit cengkeh di Sumatera diawali dengan menguningnya daun yang tidak sesuai musim, gugurnya daun dari ujung cabang tinggi di mahkota (Sarni, 2018). Daun juga bisa layu tiba-tiba dan berubah warna

menjadi coklat, tetapi tetap menempel di dahan. Ranting-ranting yang terpengaruh berubah warna menjadi coklat kemerahan dan semakin mati kembali. Gejala biasanya berkembang ke cabang yang lebih rendah sampai seluruh mahkota terpengaruh, dan pohon itu mati dalam 6-18 bulan (Trianom, *et al.*, 2018).

Penyakit Sumatera juga dapat menyerang pada umur semai 3 bulan ditandai dengan menguningnya daun yang lama kelamaan akan mengering pada 28 hari dan menunjukkan gejala kematian setelah menjadi bibit pada umur 56 hari (Danaatmadja, *et al.*, 2009; Safni, *et al.*, 2018).

2.2.5 Patogenisitas dan virulensi *R. syzigii*

Faktor virulensi dari bakteri patogen diantaranya produksi berbagai enzim ekstraselular seperti β -1,4-endoglukanase, poligalakturonase, pektin metil esterase, pektat liase, dan beberapa enzim lainnya (Joko, *et al.*, 2018; Liu, *et al.*, 2005). Enzim ini memainkan peran penting dalam patogenitas patogen dengan peningkatan penetrasi jaringan inang melalui degradasi komponen dinding sel tanaman (Trianom *et al.*, 2018). Gen yang menyandi enzim β -1,4 endoglukanase (*egl*) telah digunakan untuk mengklasifikasikan *Ralstonia solanacearum* species complex (RSCC) menjadi empat kelompok filotipe (Fegan and Prior, 2006; Trianom *et al.*, 2018.). Endoglukanase dilaporkan menjadi faktor penting dalam virulensi *R. solanacearum* (Lin *et al.*, 2014; Meng, 2013a; Meng, 2013b; Trianom, *et al.*, 2018).

2.2.6 Deteksi molekuler *R. syzigii* dengan *Nested PCR*

Deteksi dan identifikasi bakteri patogen dapat dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) melalui amplifikasi gen spesifik untuk memperoleh informasi yang lebih akurat dari identitas suatu strain dan menduga berbagai ciri-cirinya secara lengkap (Ismiyatuningsih *et al.*, 2016; Windari *et al.*, 2015). Salah satu keuntungan dari analisis ini adalah efisiensi waktu dalam mengidentifikasi strain secara presumptive (biasanya kurang lebih 2 hari) hingga dapat digunakan sebagai alat dalam mempelajari diagnosis dan epidemiologi (Huggett, *et al.*, 2015; Suryadi & Machmud, 2002; Trianom, *et al.*, 2018).

Pengembangan teknik PCR yang sangat spesifik dalam melakukan amplifikasi dapat dilakukan dengan metode nested PCR dengan mengamplifikasi segmen internal (Prasetya *et al.*, 2017). Teknik perbanyakan (replikasi) dengan nested PCR menggunakan 2 pasang primer dan dilakukan 2 kali reaksi PCR sedangkan pada PCR biasa hanya menggunakan 1 pasang primer (Englund *et al.*, 1999; Haff, 1994), sehingga nested PCR memiliki sensitivitas dan spesivitas yang lebih spesifik untuk mengenali DNA target dalam melakukan amplifikasi (Sang *et al.*, 2018). Proses ini memerlukan waktu yang lebih lama daripada PCR biasa, dimana pada reaksi pertama, DNA mengalami denaturasi lalu memasuki fase penempelan (Sadeghi, *et al.*, 2019; Stoeckle, *et al.*, 2018.). Fase Penempelan, sepasang primer pertama melekat di kedua utas tunggal DNA dan mengamplifikasi DNA di antara kedua primer tersebut dan terbentuklah produk PCR pertama (Jackson, *et al.*, 2017; Sang *et al.*, 2018). Fase pemanjangan, produk

PCR pada reaksi pertama tersebut dijalankan pada proses PCR kedua di mana pasangan primer kedua (nested primer) akan mengenali sekuen DNA spesifik yang berada di dalam fragmen produk PCR pertama dan memulai amplifikasi bagian di antara kedua primer tersebut. Hasilnya adalah sekuens DNA yang lebih pendek daripada sekuens DNA hasil PCR pertama (Feronato, *et al.*, 2018; Peniche *et al.*, 2017). Adanya perbedaan target DNA yang ingin diteliti serta pola fragmen yang berbeda menjadikan nested PCR ini banyak digunakan (Jackson, *et al.*, 2017). Dengan adanya perbedaan seperti itu maka teknik nested PCR dikembangkan sesuai tujuan dan kegunaannya (Sobirin, *et al.*, 2017). Nested PCR juga dapat meminimalkan kesalahan amplifikasi, jika ada fragmen yang salah diamplifikasi maka kemungkinan bagian tersebut diamplifikasi untuk kedua kalinya oleh primer yang kedua (Notopuro, *et al.*, 2008).

Salah satu gen universal yang umum digunakan pada deteksi molekuler untuk identifikasi bakteri adalah gen 16S rRNA (Fukuda, *et al.*, 2016). Penggunaan untai gen ribosomal RNA untuk klasifikasi mikroorganisme saat ini merupakan salah satu analisis yang cukup akurat untuk menentukan kekerabatan di antara mikroorganisme (McDonald, *et al.*, 2016; Smith, *et al.*, 2017). Situs DNA di antara molekul 16S, 23S gen rRNA dan gen endoglucanase parsial (gen *egl*) dikenal mempunyai informasi genetik yang cukup lengkap untuk melihat kekerabatan bakteri khususnya untuk spesies kompleks *R. solanacearum* (RSCC) menjadi empat kelompok filotipe (Safni, *et al.*, 2014; Safni, *et al.*, 2018).

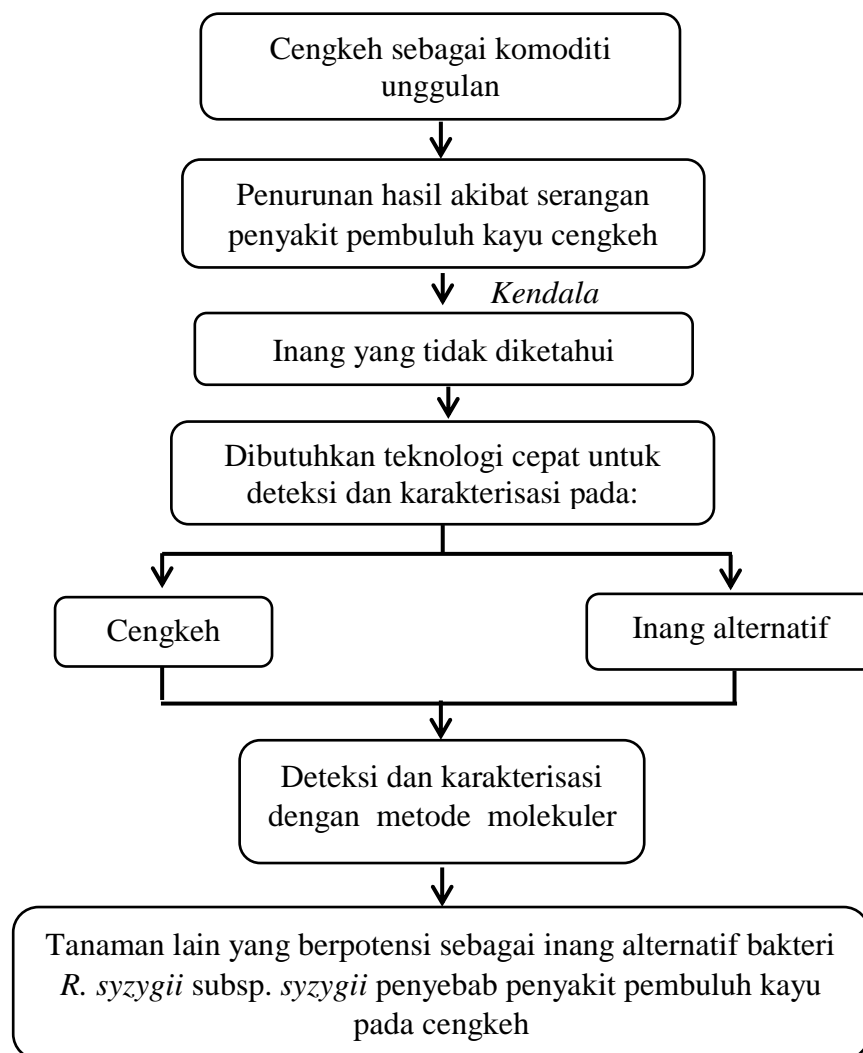
Deteksi cepat dengan PCR telah dilakukan untuk mengamplifikasi genom bakteri penyebab penyakit darah pada pisang di Indonesia menggunakan primer spesifik 121 F/R (Edy, *et al.*, 2011). Deteksi molekuler yang dilakukan Trianom, *et al* (2019) dapat membedakan kelompok bakteri di bawah tingkat spesies (subspesies) khususnya untuk deteksi dan identifikasi *R. syzygii* subsp. *syzygii* dengan merancang primer spesifik berbasis sekuens gen *egl* (UGMRss-F/R) pada amplicon sebesar ~378-bp. Gen *egl* diketahui memiliki homologi yang cukup variatif untuk mendeteksi RSCC sebab enzim endoglukanase dilaporkan menjadi faktor penting dalam virulensi *R. solanacearum* yang dapat mendegradasi komponen dinding sel tanaman sehingga penggunaan gen *egl* sebagai marka molekuler sangat menjanjikan, di antaranya untuk merancang primer spesifik (Arwiyanto, 2018; Trianom, *et al.*, 2018).

2.3 Kerangka Pikir

Cengkeh sebagai salah satu komoditi perkebunan yang bernilai komersial tinggi terutama sebagai bahan campuran dalam bidang industri rokok, makanan, minuman, maupun kesehatan. Budidaya cengkeh saat ini berada hampir diseluruh wilayah Indonesia. Manfaat cengkeh yang begitu besar membutuhkan perawatan yang cukup intensif khususnya dalam pengendalian hama dan penyakit cengkeh.

Ralstonia syzygii subsp. *syzygii* dikenal sebagai salah satu penyebab penyakit yang menyerang pembuluh xilem dan dapat menurunkan produktivitas pertumbuhan cengkeh dan penurunan hasil. Beberapa penelitian mengemukakan bahwa penyebaran penyakit ini diawali dari transfer penyakit dari inang hutan yang tidak diketahui dan adanya vektor lokal yang sesuai (*Hindola vulva*)

sehingga memungkinkan terjadinya kisaran inang *R. syzygii* yang lebih luas. Oleh karenanya, dibutuhkan pengetahuan tentang inang alternatif yang menjadi sumber penyebaran penyakit yang disebabkan *R. syzygii* yang nantinya dapat dijadikan sebagai bahan informasi dan kontribusi pada upaya karantina tanaman, yaitu dengan melakukan penelitian “Deteksi Cepat *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* Penyebab Penyakit Pembuluh Kayu Pada Cengkeh dan Tanaman Inang Lainnya dengan *Polymerase Chain Reaction*”.



Gambar 1. Diagram Alir Kerangka Pikir Penelitian

2.4 Hipotesis

Teknik *Polymerase chain reaction* dengan primer spesifik mampu mengidentifikasi penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh, terdapat kemampuan bakteri penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh hidup pada inang alternatif dan terdapat kemampuan hidup bakteri penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh walaupun tidak menimbulkan gejala (*Asymptomatic Host*).

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Tadulako, Palu Sulawesi Tengah. Sampel inokulum berasal dari Kabupaten Toli-Toli Kecamatan Galang. Penelitian ini berlangsung pada bulan Februari - April, 2020.

3.2 Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik, mortar, tabung 2 ml dengan tutup ulir, tabung 1,5 ml, autoclave (Tomy SX-500, Tokyo, Jepang), ultra low temperature freezer (Binder, Tuttlingen, Jerman), thermo-Shaker (Biosan TS-100, Latvia), vortex (Biosan V-1 Plus, Latvia), microsentrifuge (Kitman T-24, Tokyo, Jepang), microcentrifuge tube, mikro pipet (1000 ul, 200 ul, 100 ul, 20 ul, 10 ul) (Hirschmann Laborgerate, Eberstadt, Jerman), tips mikro pipet (1000 ul, 200 ul, 100 ul, 20 ul, 10 ul), PCR Hood (GLE-UVSC Scie Plas, Cambridge, Inggris), Mesin PCR (Labsyclar 011-103 Sensquest, Gottingen, Jerman), gel doc (Uvitec, Cambridge, Inggris).

Bahan yang akan digunakan yaitu, sampel tanaman cengkeh yang bergejala penyakit Sumatra, tanaman lain yakni cabai, tomat, pisang, *Heliconia*, *Mentha canadensis*, *Verbesina alternifolia*, disposable free powder gloves, ethanol absolute, kit ekstraksi DNA (Qiagen, Hilden, Jerman), DNA Marker Hyperladder 100 bp (Bioline), Sybrgreen (Lonza, Rockland, USA),

Loading dye (Qiagen, Hilden, Jerman), (Rnase A (Qiagen, Hilden, Jerman), Proteinase K (Qiagen, Hilden, Jerman), double destilated water (Orsuka, Lawang, Indonesia), agarose (Lonza, Rockland, ME USA), TBE 1x (Lonza, Rockland, ME USA), PCR mix Top Taq, Primer F 16S (5'-TGGTAGTCCACGCCCTAAAC-3'), Primer R 16S (5'-CTGGAAAGTTCCGTGGATGT-3'), primer spesifik untuk amplifikasi genom *R. syzygii* terdiri atas sepasang primer UGMR_{ss}-F (5'-GCTCACCATCGCCAAGGACAGCG-3') dan UGMR_{ss}-R (5'-TTCGATCGAACGCCTGGTTGAGC-3').

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Koleksi bahan sumber inokulum patogen dari perkebunan cengkeh

Pengambilan sumber inokulum patogen cengkeh dilakukan di Kabupaten Toli-toli. Sampel yang diambil yaitu akar, batang, ranting, daun yang menunjukkan gejala terinfeksi penyakit Sumatera dengan melihat pohon cengkeh ditandai dengan gejala ranting-ranting pada pucuk tanaman mati kemudian diikuti dengan daun yang gugur. Pengambilan akar cengkeh menggunakan *soil corer* dengan panjang 20 cm. Sampel di foto kemudian dimasukkan kedalam kantong plastik.

3.3.2 Koleksi bahan tanaman lain disekitar perkebunan cengkeh

Untuk melihat kisaran inang *R. syzygii* pada tanaman lain disekitar pohon cengkeh sebagai penyebab tanaman sakit pada cengkeh, maka diambil beberapa tanaman lain yang termasuk dalam strain kompleks *R. solanacearum* (cabai, pisang, tomat, *Heliconia*, *Menthacanadensis*, *Verbesina alternifolia*) pada lokasi

yang sama disekitar perkebunan cengkeh yang terinfeksi penyakit Sumatera (*R. syzygii*).

3.3.3 Karakteristik bakteri *R. syzygii* dari cengkeh bergejala

Sampel Cengkeh yang menunjukkan gejala terinfeksi penyakit Sumatera (*R. syzygii*) diisolasi dari bagian akar, batang, ranting dan daun cengkeh sakit menggunakan metode gores (Danaatmadja et al., 2009). Semua organ dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan kemudian sampel disterilkan menggunakan alkohol 70% selama 30 detik dan dibilas kembali dengan aquades, setelah itu memotong sampel menjadi bagian kecil berukuran 5 cm sebanyak 10 gr, masing-masing organ cengkeh dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquadest steril dibiarkan selama 1×24 jam. Kemudian diisolasi pada media CPG dengan pH 7, diinkubasi selama 3×24 jam dan melakukan pengamatan secara makroskopik terhadap bentuk koloni *R. syzygii* berwarna bening, berbentuk bulat, berukuran ± 1 mm, tumbuh 4 hari setelah isolasi dan bersifat gram negatif (Danaatmadja et al., 2009). Bakteri *R. syzygii*, selanjutnya disubkultur kembali ke media padat CPG yang baru untuk mendapatkan biakan murni yang akan digunakan pada uji reaksi hipersensitive, uji patogenisitas dan deteksi PCR *R. syzygii*.

3.3.4 Perbanyak bakteri *R. syzygii* pada Media CPG

Perbanyak bakteri *R. syzygii* pada Media CPG dilakukan untuk keperluan pengujian reaksi hipersensitive (HR) dan uji patogenisitas. Satu koloni tunggal bakteri *R. syzygii* diinokulasi ke dalam 250 ml media cair CPG dan diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}\text{C}$), dengan melihat keruhnya

medium sebagai tanda bakteri telah tumbuh dan dapat disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 2 menit. Pelet bakteri yang terbentuk diukur konsentrasi bakteri untuk selanjutnya digunakan pada pengujian selanjutnya (Trianom, *et al.*, 2018).

3.3.5 Uji reaksi hipersensitive (HR)

Pengujian hipersensitif pada daun tomat dan daun cengkeh bertujuan untuk mengetahui sifat patogenik dari bakteri. Pengujian dilakukan dengan cara sebanyak 100 ml suspensi bakteri dari media CPG cair dengan kerapatan koloni (10^6 CFU/ml⁻¹) disuntikkan secara perlahan ke dalam jaringan epidermis daun hingga membasahi jaringan batas urat-urat daun kemudian mengamati gejala yang ditimbulkan. Reaksi dinyatakan positif jika terbentuk gejala nekrotik pada jaringan daun, sedangkan jika jaringan daun tidak mengalami perubahan dinyatakan negatif (Trianom *et al.*, 2019).

3.3.6 Uji patogenisitas *R. syzygii*

Untuk mengetahui pengaruh gejala infeksi yang ditimbulkan bakteri *R. syzygii* pada cengkeh dan tanaman lain terhadap potensinya menjadi inang alternatif maka dilakukan uji patogenisitas terhadap tanaman yang selalu ada disekitar sentra pertanaman cengkeh (*Mentha canadensis*, *V. alternifolia*) dan memiliki kekerabatan dengan cengkeh yang berpotensi sebagai inang dari spesies kompleks *R. solanacearum* (Tomat, Cabai famili *Solanacearum*) dan (Pisang, *Heliconia* famili *Musaceae*).

Cengkeh dan tanaman non inang (Cabai, Tomat, Pisang, *Heliconia*, *Mentha canadensis*, *V. alternifolia*) yang berumur \pm 4 bulan diuji patogenisitasnya dengan metode *infectivity titration*, yaitu dengan membuat lubang luka ke bagian batang tanaman kemudian dimasukkan tip yang berisi 10– 20 μ l suspensi bakteri ($1,5 \times 10^6$ CFU/ml) panjang gelombang 600 ($OD_{280} = 0,1$) ke bagian lubang tersebut (Danaatmadja *et al.*, 2009). Perubahan fisiologi tanaman diamati selama 48 hari setelah inkubasi dengan melihat gejala daun yang menguning, kering lalu berguguran yang merupakan ciri dari gejala bakteri penyebab penyakit Sumatera (*R. syzygii*).

3.3.7 Ekstraksi DNA *R. syzygii* subsp. *syzygii* dari akar, batang, daun, ranting dari tanaman lain

Sampel bagian tanaman (akar, batang, ranting, daun) tanaman lain dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan, kemudian memotong sampel menjadi bagian kecil (5 mm). Semua organ cengkeh yang telah disteril, digerus hingga halus menggunakan mortar kemudian dilakukan ekstraksi DNANYa menggunakan Dneasy plant mini kit (Qiagen, Hilden, Jerman). Pemanasan heating block pada waterbath 65 °C kemudian sebanyak 20 mg sampel bagian tanaman yang telah dihaluskan ditambahkan (400 μ l AP1+4 μ l Rnase A stock solution 100mg/ml+25 μ l proteinase K). Vortex lalu spindown sebentar kemudian inkubasi campuran tersebut dalam heating block 65°C selama 10 min. Selanjutnya menambahkan 130ul Buffer P3, mix dan inkubasi selama 5 min dalam es. Setelah itu disentrifuge 5 min selama 20.000 xg (14.000 rpm) dan pindahkan lysate ke dalam QIAshredder (lilac), sentrifuge 2 min selama 20.000xg (14.000 rpm). Kemudian memindahkan lysate yang tertampung di collection tube tanpa mengenai pelletnya

ke dalam tube 1.5 ml yang baru, tambahkan 1.5 vol buffer AW1 ke dalam campuran sebelumnya (Misalnya: didapatkan 450ul dari no 7, maka ditambahkan 675ul buffer AW1). Vortex atau pipeting agar menghasilkan larutan yang homogen. Selanjutnya pipet larutan yang telah homogen dan memasukkannya ke dalam Dneasy Mini Column yang ditempatkan dalam 2 ml collection tube. Centrifugasi pada 6000 x g (8000 rpm) selama 1 min kemudian menambahkan 500 µl Buffer AW2, centrifugasi selama 1 min pada 6.000xg (≥ 8.000 rpm), kemudian tambahkan lagi 500 µl Buffer AW2, centrifugasi selama 2 min pada 20,000 x g (14,000 rpm) untuk mengeringkan column membrane dari ethanol dan buang collection tubenya. Tempatkan Dneasy Mini Column ke dalam 2 ml collection tube yang baru, tanpa penambahan apapun lalu centrifugasi selama 1 min pada 20,000 x g (14,000 rpm) untuk mengeringkan membran dan membantu evaporasi ethanol yang ada. Tempatkan Dneasy Mini Column ke dalam tabung 1.5 ml atau 2 ml, pipet 100 µl Buffer AE dan masukkan ke dalam Dneasy Mini Column membrane. Inkubasi pada suhu ruang selama 7 min, sentrifugasi selama 1 min pada 6000 x g (8000 rpm) untuk proses elusi. DNA hasil elusi dapat langsung digunakan untuk proses PCR atau simpan pada suhu -20°C atau -80°C untuk penyimpanan lama.

3.3.8 Amplifikasi DNA dengan PCR untuk deteksi cepat *R. syzygii*

Amplifikasi DNA *R. syzygii* subsp. *syzygii* dilakukan dengan metode *nested*-PCR (Ngaliyatun, *et al.*, 2013.; Pulogu, *et al.*, 2017). Selanjutnya isolat bakteri *R. syzygii* dari cengkeh dan DNA tanaman lain hasil ekstraksi diamplifikasi menggunakan pasangan primer universal bakteri yaitu F

16S rRNA (5'-TGGTAGTCCACGCCCTAAAC-3'), primer R 16S rRNA (5'-CTGGAAAGTTCCGTGGATGT-3'). Produk PCR pertama diamplifikasi menggunakan pasangan primer spesifik untuk amplifikasi genom *R. syzygii* terdiri atas UGMR_{ss}-F (5'-GCTCACCATCGCCAAGGACAGCG-3' dan UGMR_{ss}-R (5'-TTCGATCGAACGCCTGGTTGAGC-3') (Trianom, *et al.*, 2018). Reaksi PCR menggunakan Master Mix Top Taq dengan komposisi 12,5 µl master mix, 2 µl primer forward, 2 µl primer reverse, 2 µl DNA dan 6,5 µl Nuclease Free Water (NFW). Amplifikasi DNA dilakukan sebanyak 2 kali proses PCR dengan mesin PCR (Labsyclar 011-103 Sensquest, Gottingen, Jerman) pada suhu 96 °C selama 5 menit untuk denaturasi awal. Amplifikasi dilakukan sebanyak 30 siklus dengan tahapan sebagai berikut: proses denaturasi pada suhu 94 °C selama 15 detik, proses penempelan (annealing) pada suhu 59 °C selama 30 detik, dan proses pemanjangan pada suhu 72 °C selama 30 detik. Kemudian dilanjutkan dengan pemanjangan akhir pada suhu 72 °C selama 10 menit. Akhir siklus dipertahankan pada suhu 4 °C (Trianom, *et al.*, 2018).

3.3.9 Visualisasi DNA dengan gel electrophoresis

Hasil amplifikasi dianalisis untuk melihat fragmen DNA melalui elektroforesis (Scientific Company, Del mar, California). Elektroforesis digunakan untuk memisahkan molekul-molekul protein atau DNA diatas medan listrik. Elektroforesis menggunakan gel agarose (Lonza, Rockland, USA) 1% dalam buffer TBE (Tris-HCL, boric acid, EDTA) 1 × (Lonza, Rockland, USA) pada tegangan 120 Volt DC dengan beberapa tahapan waktu (15 menit, 10 menit, 5 menit, 5 menit) . Pengukuran fragmen DNA menggunakan penanda marker

100 bp DNA ladder (Bioline) sebanyak 3 μ l. Sampel disiapkan dengan mencampurkan 10 μ l DNA, 1 μ l loading dye (Qiagen, Jerman), 1 μ l ybgreen (Lonza, Rockland, USA) kemudian diisi kedalam sumuran gel sebanyak 7 μ l dan diletakkan di kutub negatif, apabila dialiri arus listrik dengan menggunakan larutan buffer yang sesuai maka DNA akan bergerak ke kutub positif. Laju migrasi DNA dalam medan listrik berbanding terbalik dengan massa DNA (Yusuf et al., 2014). Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan gel doc (Uvitec Cambrige, Inggris).

3.4 Variabel Pengamatan

3.4.1 Karakteristik bakteri *R. syzygii* dari Cengkeh bergejala

Bakteri *R. syzygii* diamati secara makroskopik berdasarkan ciri morfologi (warna, bentuk koloni dan tepi koloni) (Danaatmadja, et al., 2009), gejala nekrotik yang ditimbulkan pada reaksi hipersensitive dan uji patogenisitas (Trianom, et al., 2019).

3.4.2 Hasil analisis DNA pada Cengkeh terinfeksi *R. syzygii*

Deteksi molekuler *R. syzygii* diamati dengan melihat ada tidaknya pita DNA ampikon *R. syzygii* hasil PCR berdasarkan ukuran fragmen DNA yang sama dengan DNA target antara 200 sampai 400 pasang basa dari sampel DNA cengkeh (Trianom, et al., 2018).

3.4.3 Patogenisitas *R. syzygii* pada beberapa tanaman inang alternatif

Uji patogenisitas *R. syzygii* diamati selama 48 hari setelah inokulasi (hsi) dengan melihat perubahan fisiologi tanaman ditandai dengan keadaan layu dan daun menguning yang lama kelamaan akan mengering lalu berguguran hingga

keseluruhan daun tidak ada lagi pada tanaman. Hal ini menunjukkan isolat bakteri tersebut merupakan ciri dari gejala bakteri penyebab penyakit Sumatera (*R. syzygii*) (Danaatmadja, *et al.*, 2009).

3.4.4 Hasil analisis DNA *R. syzygii* pada tanaman lain

Deteksi *R. syzygii* pada tanaman lain hasil elektroforesis yang divisualisasikan pada gel doc, diamati dengan melihat ukuran fragmen DNA dan jumlah primer yang berhasil menempel ataupun jumlah cetakan yang berhasil ditemplei oleh primer ditandai berdasarkan ketebalan dan kejelasan pita DNA pada ampikon hasil visualisasi (Trianom, *et al.*, 2018).

3.5 Analisis Data

Hasil elektroforesis PCR yang divisualisasi dengan DNA *gel documentation band pattern* (Uvitec Cambridge, Inggris) dianalisis dengan membandingkan ada tidaknya pita DNA yang terbentuk pada gel agarose dengan ukuran fragmen DNA antara 200 sampai 400 pasang basa dari sampel DNA cengkeh dan tanaman uji lainnya (Trianom, *et al.*, 2018.)

Hasil uji patogenisitas *R. syzygii* dianalisis dengan membandingkan patogenisitas *R. syzygii* pada cengkeh dan tanaman inang alternatif lainnya (Danaatmadja, *et al.*, 2009).

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Bakteri *R. syzygii* dari Cengkeh Bergejala

4.1.1 Ciri morfologi *R. syzygii* pada medium *Casamino Pepton Acid Glucose* (CPG)

Karakteristik *R. syzygii* pada media CPG dari hasil pengamatan bakteri membutuhkan waktu tumbuh 3 hari setelah inkubasi dengan ciri koloni (Gambar 2) berbentuk bulat cembung, berwarna putih jernih dengan tepian rata dan memiliki ukuran sekitar 1 mm (Tabel 2).

Tabel 2. Karakterisasi bakteri *R. syzygii* dari cengkeh bergejala

Tanaman inang	Isolat	Ciri morfologi	Uji HR	Uji Patogenisitas	Kerapatan Sel Cfu/ml
Cengkeh	Bakteri <i>R. syzygii</i>	Bulat cembung, berwarna putih jernih dengan tepian rata	+	+	1×10^6 cfu/ml

Ket: + : Terinfeksi Patogen

- : Tidak terinfeksi Patogen

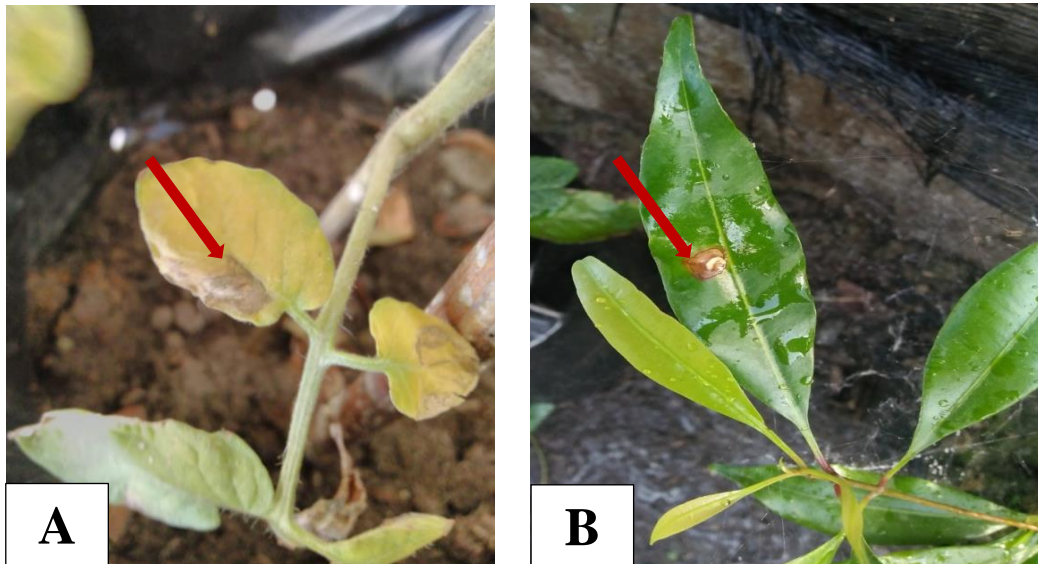


Gambar 2. Morfologi koloni bakteri *R. syzygii* pada media CPG

Bakteri *R. syzygii* memiliki sifat gram negatif, mampu memanfaatkan 0,85% sukrosa dan glukosa, menghidrolisis pati, asam suksinat, Lasparagine, asam L-aspartat, asam L-glutamat, L-prolin dan tumbuh baik pada suhu 27 °C (Danaatmadja, *et al.*, 2009; Safni, *et al.*, 2014).

4.1.2 Hasil uji reaksi hipersensitif (HR)

Berdasarkan hasil pengujian reaksi hipersensitive pada daun tomat dan daun cengkeh (Gambar 3), terdapat bercak kuning hingga kecoklatan disekitar daun yang diinfeksi bakteri pada 4 hari setelah infeksi (hsi) sebagai reaksi tanggapan awal pertahanan tanaman terhadap serangan patogen. Perubahan warna disebabkan adanya kematian sel yang cepat dan terlokalisasi pada tanaman dalam bentuk nekrosis untuk membatasi pergerakan patogen (Danaatmadja, *et al.*, 2009).



Gambar 3. Uji reaksi hipersensitif (HR) 4 Hsi menunjukkan gejala nekrosis pada daun tomat (A) dan daun cengkeh (B)

Gejala nekrotik yang muncul dapat dinyatakan tanaman bereaksi positif (+) (Tabel 2) terhadap keberadaan patogen sebagai tanda bakteri yang diinfeksi adalah patogen sehingga dapat digunakan untuk pengujian selanjutnya pada uji

patogenisitas cengkeh untuk melihat keberadaan *R.syzygii*. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan patogen yang merupakan usaha untuk menghambat pertumbuhan patogen (Arimbawa, *et al.*, 2019).

Respons hipersensitif (*Hypersensitive Response*) terjadi pada tanaman sebagai reaksi kompleks pertahanan awal tanaman (Fanani, *et al.*, 2016) atas infeksi patogen dengan terbentuknya daerah yang mati pada daun (nekrosis) yang menunjukkan gejala nekrosis yang beragam mulai dari kuning, coklat hingga hitam (Yatni, *et al.*, 2018). Patogen melepaskan elisitor berupa enzim untuk melepaskan komponen dinding sel tanaman (Setyorini & Yusnawan, 2018). Dalam hal ini terjadi pengenalan molekul elisitor oleh reseptor tumbuhan yang menghasilkan respon pertahanan pada jaringan tanaman yang terinfeksi maupun respon pada keseluruhan tanaman (Djaenuddin, 2016).

Sel tanaman mengirim sinyal transduksi yang mengaktifkan enzim-enzim untuk membentuk gen ekspresif yang merupakan awal mula pertahanan dengan meningkatkan kadar senyawa fenolik berupa fitoaleksin untuk mencegah perkembangan patogen, infeksi juga mengaktifkan gen yang menghasilkan patogenesis related protein yang berperan sebagai anti mikroba untuk memberi sinyal ke sel-sel tetangga akan adanya infeksi melalui plasmodesmata sehingga merangsang pembentukan polisakarida untuk membentengi dinding sel (Campbell, *et al.*, 2003). Peningkatan produksi fitoaleksin dan protein PR serta penutupan yang membatasi infeksi patogen untuk mengambil nutrisi memberikan respon tanaman mati yang terlokalisir sebagai respon reaksi hipersensitive (Campbell, *et al.*, 2003; Setyorini & Yusnawan, 2018). Respon pertahanan ini

memproduksi suatu sinyal kimia akan pertanda adanya bahaya sehingga sel yang terinfeksi membebaskan suatu sinyal pertahanan berupa hormon asam salisilat yang akan menyebar ke semua tanaman sebagai ketahanan umum tanaman yang dikenal dengan SAR (*Systemic Acquire Resistance*) (Campbell, *et al.*, 2003.; Riedlmeier, *et al.*, 2017)

4.1.3 Uji patogenisitas *R. syzygii*

Hasil pengujian patogenisitas isolat bakteri pada cengkeh menunjukkan bahwa bakteri mampu menginfeksi cengkeh (Tabel 2) sesuai dengan gejala yang ditimbulkan daun menguning yang lama-kelamaan mulai mengering pada 28 hari setelah infeksi (hsi) (Gambar 4).



Gambar 4. Cengkeh yang terinfeksi *R. syzygii* setelah 28 hari diinokulasi dengan suspensi *R. syzygii* 10^6 CFU ml⁻¹ suspensi

Uji patogenisitas dilakukan untuk mengkonfirmasi apakah bakteri patogen yang berhasil diisolasi dari cengkeh sakit bergejala penyakit Sumatera mampu menginfeksi kembali cengkeh sehat dengan gejala yang sama. Menurut Danaatmadja, *et al.*, (2009) dan Trianom, *et al.* (2019) penyakit pembuluh kayu

cengkeh atau dikenal dengan penyakit Sumatera yang disebabkan oleh bakteri *R. syzygii* menyerang cengkeh secara bertahap dengan gejala awal daun menguning lalu gugur bagian demi bagian dan berkembangnya daun muda serta kuncup bunga, akan tetapi jumlahnya sangat sedikit.

4.2 Karakterisasi bakteri yang diisolasi pada medium CPG dengan PCR

Hasil amplifikasi DNA dengan teknik PCR menunjukkan penggunaan metode nested PCR menggunakan 2 pasang primer yaitu sepasang primer universal untuk amplifikasi genom bakteri (F 16S rRNA dan R 16S rRNA) dan sepasang primer spesifik untuk amplifikasi *R. syzygii* subsp. *syzygii* (UGMRss-F dan UGMRss-R) (1: DNA bakteri hasil amplifikasi menggunakan primer F/R 16S) (Gambar 5) sangat memungkinkan untuk deteksi *R. syzygii* pada penelitian ini tanpa harus melakukan adanya pengenceran. Terlihat bahwa hasil pengenceran DNA bakteri dari hasil amplifikasi menggunakan primer F/R 16S (2: Bakteri hasil pengenceran 10x hasil amplifikasi menggunakan primer F/R 16S) dan penggunaan bakteri menggunakan primer spesifik (3: Bakteri menggunakan Primer Spesifik UGMRss-F/R; 4. Bakteri hasil pengenceran 10x menggunakan Primer Spesifik (UGMRss-F/R)) (Gambar 5) tidak terdeteksi adanya bakteri pada hasil amplifikasi DNA *R. syzygii* sesuai dengan kontrol (5. Air) (Gambar 5) yang dinyatakan negatif (-).



Gambar 5. Visualisasi hasil amplifikasi DNA isolat *R. syzygii* menggunakan teknik PCR dengan primer spesifik UGMRss-F/UGMRss-R) pada amplicon berukuran 200 bp pasang basa (M: marker 100-bp; 1: DNA bakteri hasil amplifikasi menggunakan primer 16S F/R; 2: Bakteri hasil pengenceran 10x hasil amplifikasi menggunakan primer 16S F/R ; 3: Bakteri menggunakan Primer Spesifik UGMRss-F/R ; 4. Bakteri hasil pengenceran 10x menggunakan Primer Spesifik (UGMRss-F/R); 5. Air (kontrol negatif).

Penggunaan metode nested PCR menggunakan sepasang primer universal untuk amplifikasi genom bakteri (F 16S rRNA dan R 16S rRNA) dan sepasang primer spesifik untuk amplifikasi *R. syzygii* subsp. *syzygii* (UGMRss-F dan UGMRss-R) berada pada amplicon berukuran 200-bp (Gambar 5) dengan ketebalan yang memperlihatkan jumlah primer yang berhasil menempel dan kejelasan pita DNA hasil visualisasi berada pada intensitas yang cukup baik. Menurut Trianom, *et al.* (2018) sepasang primer spesifik dan sensitif yang dirancang untuk deteksi *R. syzygii* subsp. *syzygii* yaitu: UGMRss-F (5'-GCT CACCATCGCCAAGGACAGCG-3') dan UGMRss-R (5'-TTCGATCGAACGCCTGGTTGAGC-3') menggunakan data sekuens

gen endoglukanase (egl) dari GenBank berada pada amplikon sebesar ~378-bp.

Perbedaan ukuran pada amplikon hasil visualisasi dan tidak terdeteksinya *R. syzygii* pada penggunaan primer sepesifik secara langsung dapat disebabkan adanya optimasi kondisi yang berkaitan erat dengan beberapa faktor seperti jenis sampel, jenis polimerase DNA; suhu; konsentrasi, dalam hal ini berkaitan dengan dNTPs, MgCl₂ dan DNA polimerase; buffer PCR dan waktu (Handoyo, *et al.*, 2000.; Yusuf, *et al.*, 2014). Faktor-faktor tersebut juga menjadi indikator penggunaan nested PCR dalam penelitian ini, untuk mempermudah memisahkan DNA genom bakteri (F 16S rRNA dan R 16S rRNA) dari sampel tanaman untuk selanjutnya diamplifikasi menggunakan primer spesifik untuk amplifikasi *R. syzygii* subsp. *syzygii* (UGMRss-F dan UGMRss-R).

Penggunaan nested PCR dengan bantuan enzim DNA polymerase yang menggunakan dua pasang primer sangat spesifik dalam melakukan amplifikasi dimana proses ini dilakukan dengan dua kali proses PCR dan pasangan primer kedua akan mengenali sekuen DNA spesifik di dalam fragmen produk PCR pertama dan memulai amplifikasi bagian dari kedua primer tersebut (Budiarto, 2015; Kandou, 2019). Proses ini mempermudah untuk mendapatkan DNA target yang diinginkan dan meminimalkan jika terjadi kesalahan amplifikasi DNA (Prasetya, *et al.*, 2018).

Meskipun terdapat perbedaan ukuran pada amplicon, hasil visualisasi DNA primer spesifik teramplifikasi dengan baik menggunakan (primer UGMRss-F dan UGMRss-R) dengan nested PCR dan pada kolom (2, 3 & 4) sesuai dengan kontrol negatif pada kolom (5) tidak dijumpai adanya pita DNA. Hasil ini mengindikasikan bahwa selama proses persiapan ekstraksi DNA dan PCR tidak terjadi kontaminasi. Produk PCR dari masing-masing kolom menunjukkan bahwa pita fragmen DNA primer spesifik telah berhasil diamplifikasi memberikan tampilan yang jelas. Hasil ini diduga karena adanya beberapa faktor, diantaranya kuantitas dan kualitas DNA yang baik, proses ekstraksi DNA, proses amplifikasi, jumlah konsentrasi DNA sampel dan desain primer yang sesuai dengan DNA target (Dewi, *et al.*, 2015) sehingga visualisasi hasil amplifikasi DNA dari sampel cengkeh yang terinfeksi penyakit pembuluh kayu cengkeh mengindikasikan sepasang primer spesifik untuk amplifikasi *R. syzygii* subsp. *syzygii* (UGMRss-F dan UGMRss-R) mampu mendeteksi pita DNA *R. syzygii*.

4.3 Uji patogenisitas *R. syzygii* pada beberapa tanaman inang alternatif

Hasil pengujian patogenisitas pada beberapa tanaman inang alternatif (Cabai, Tomat, Pisang Kepok, *Heliconia*, *Mentha canadensis* dan *Verbesina alternifolia*) selama 48 hari setelah infeksi bakteri *R. syzygii*, setiap tanaman tumbuh dan berkembang dengan baik (Gambar 6-11) dinyatakan negatif (-) (Tabel 3) tanpa menunjukkan adanya gejala eksternal yang ditandai daun menguning, kering lalu berguguran yang merupakan ciri dari gejala bakteri penyebab penyakit Sumatera (*R. syzygii* subsp. *syzygii*) (Danaatmadja *et al.*, 2009.; Safni *et al.*, 2014) seperti yang terlihat pada uji patogenisitas cengkeh

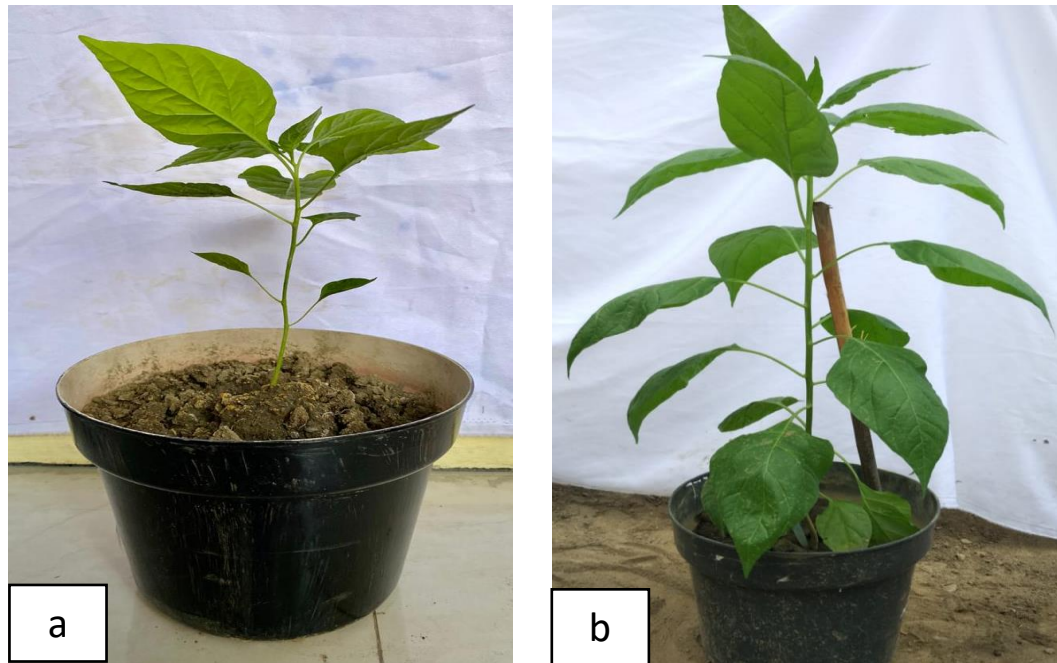
(Gambar 4) yang dinyatakan positif (Tabel 2) terinfeksi *R. syzygii* pada hasil amplifikasi DNA dengan PCR (Gambar 5).

Tabel 3. Uji patogenisitas *R. syzygii* pada berbagai tanaman uji

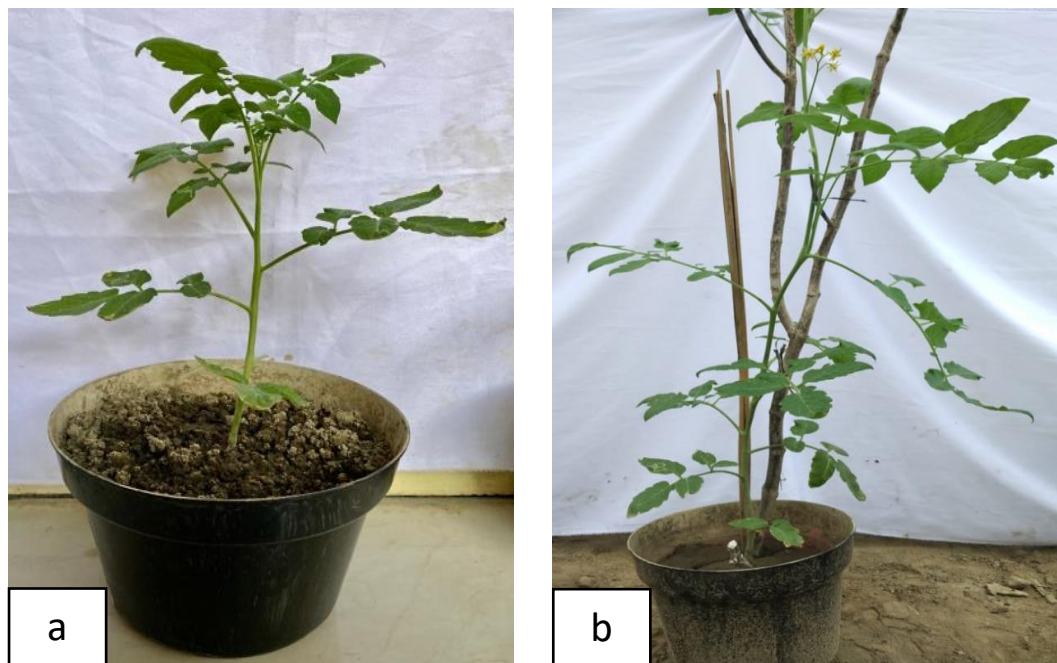
No.	Asal Isolat	Inang yang di uji	Kerapatan Sel (Cfu/ml)	Patogenisitas (+/-)
1.	Sigi, Sidera	Pisang (<i>Musa</i>)	1,5x10 ⁸ cfu/ml	-
		Cabai (<i>Capsicum annuum</i> L.)		-
		Tomat (<i>Solanum Lycopersicum</i>)		-
		<i>Heliconia</i>		-
2.	Toli-toli, Galang	<i>Menthacanadensis</i>		-
		<i>Verbesina alternifolia</i>		-

Keterangan: + = Menunjukkan gejala daun menguning
- = Tidak menunjukkan gejala daun menguning dan layu hingga 48 (hsi)

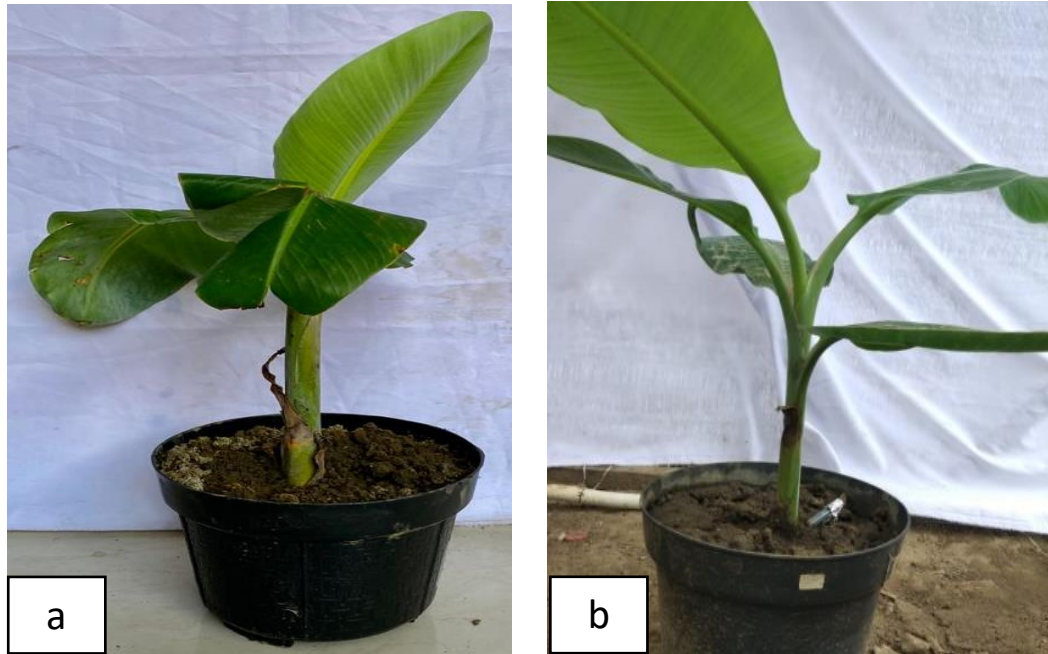
Perkembangan penyakit dan inang pada tahap predisposisi, inokulasi, dan keberhasilan infeksi sangat dipengaruhi oleh lingkungan baik biotik maupun abiotik (suhu, kelembaban, cahaya, dan nutrisi) (Sudir, 2018; Sutarman, 2017). kelembapan yang tinggi dengan suhu yang rendah menyebabkan patogen lebih mudah menginfeksi tanaman (Taufik, 2011). Tidak adanya gejala eksternal yang ditimbulkan pada tanaman lain (Gambar 6-11) setelah infeksi bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan (cuaca, suhu, kelembaban) yang kurang mendukung perkembangan bakteri, sifat tanaman yang tahan terhadap penyakit, kemampuan patogen untuk menginfeksi tanaman dan ketersediaan nutrisi bagi patogen.



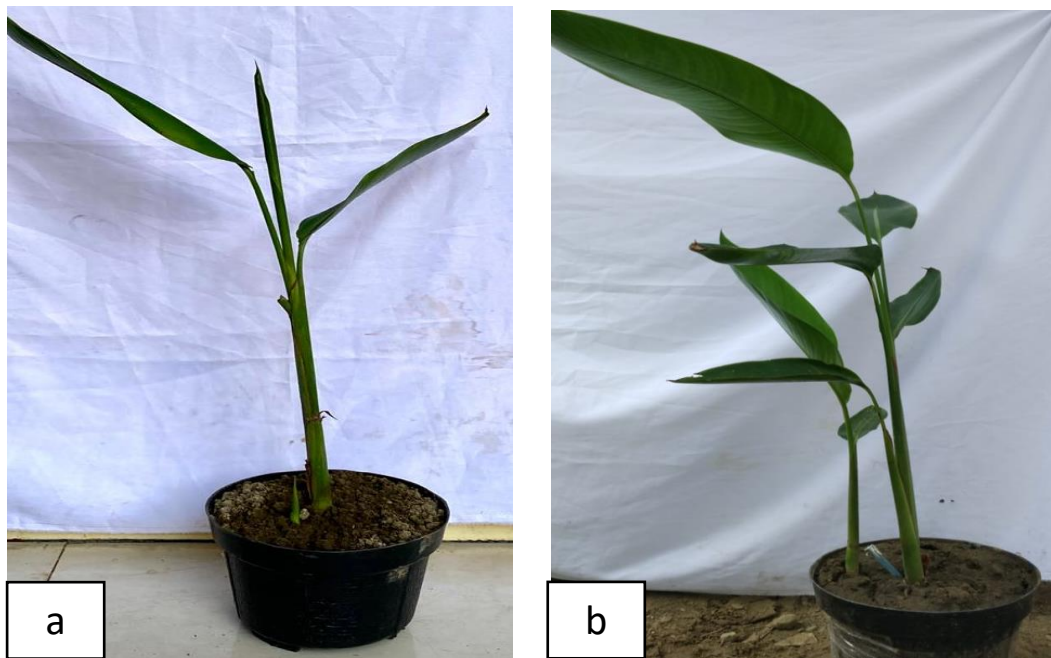
Gambar 6. Cabai sebelum infeksi bakteri *R. syzygii* (a), Cabai tidak menimbulkan gejala setelah infeksi bakteri *R. syzygii* pada 48 Hsi (b).



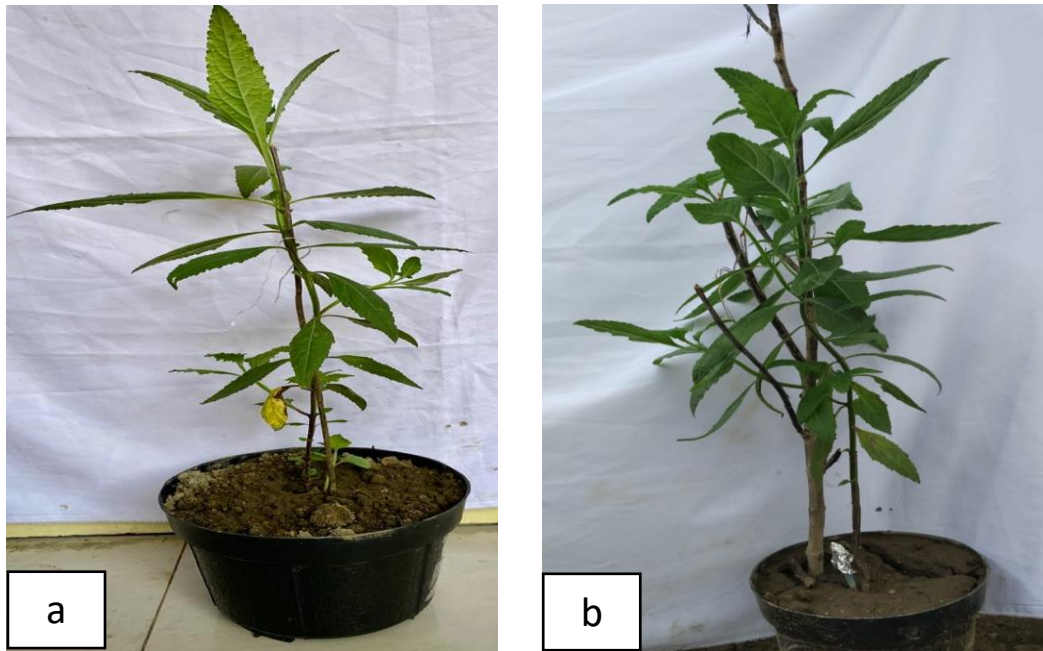
Gambar 7. Tomat sebelum infeksi bakteri *R. syzygii* (a), Tomat tidak menimbulkan gejala setelah infeksi bakteri *R. syzygii* pada 48 Hsi (b)



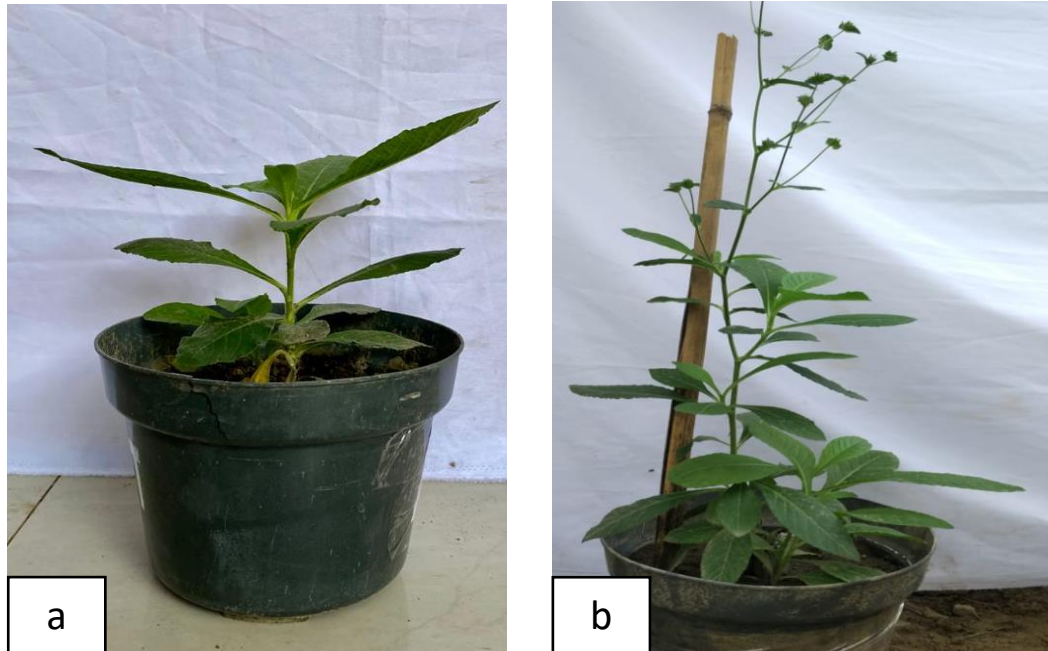
Gambar 8. Pisang kepok sebelum infeksi bakteri *R. syzygii* (a), Pisang kepok tidak menimbulkan gejala setelah infeksi bakteri *R. syzygii* pada 48 Hsi (b).



Gambar 9. *Heliconia* sebelum infeksi bakteri *R. syzygii* (a), *Heliconia* tidak menimbulkan setelah infeksi bakteri *R. syzygii* pada 48 Hsi (b).



Gambar 10. *Menthacanadensis* sebelum infeksi bakteri *R. syzygii* (a), *Menthacanadensis* tidak menimbulkan setelah infeksi bakteri *R. syzygii* pada 48 Hsi (b).



Gambar 11. *Verbena alternifolia* sebelum infeksi bakteri *R. syzygii* (a), *V. alternifolia* tidak menimbulkan gejala setelah infeksi bakteri *R. syzygii* pada 48 Hsi (b).

Menurut Apriyadi, *et al.* (2019) patogen dapat memanfaatkan nutrisi dari tanaman jika dapat menembus sistem pertahanan inang dengan melewati sistem pertahanan penghalang fisik (kutikula, dinding sel) sebagai pemberi respon tanaman terhadap aktivitas patogen (Yanti, *et al.*, 2019) untuk kemudian membentuk sistem pertahanan baik berupa sistem pertahanan struktural maupun pertahanan kimiawi yang menghasilkan zat beracun bagi patogen atau menciptakan kondisi yang menghambat pertumbuhan patogen.

Tidak adanya gejala pada tanaman uji setelah infeksi bakteri patogen (Gambar 6-11 & Lampiran 5-10), juga menunjukkan bahwa mekanisme pertahanan kimia (*preexisting chemical*) dari tanaman lebih bertanggung jawab untuk resistensi tanaman terhadap infeksi yang ditunjukkan oleh tanaman terhadap patogen (Rusae, *et al.*, 2018). Senyawa kimia yang dapat menjadi inhibitor terhadap infeksi patogen diantaranya senyawa protein fenolik, asam salisilat, kitinase, fitoaleksin, serta aldehid pada tanaman. (Taufik, 2011; Pandawani, *et al.*, 2016).

Secara taksonomik berdasarkan pendekatan molekuler melalui hibridisasi DNA karakteristik filotipe IV strain indonesia termasuk dalam kelompok yang paling beragam (Hemelda, *et al.*, 2019; Prior, *et al.*, 2016b) meskipun memiliki perbedaan fenotipik dan genotipik tetapi saling berkaitan dengan sub kelompok spesies kompleks *R. solanacearum* berdasarkan kisaran inang dan kemampuan patogenitasnya, (Safni, *et al.*, 2014) yang dibagi kedalam tiga kelompok subspecies terdiri dari *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* penyebab layu bakteri pada tanaman solanaceae (Horita, *et al.*, 2014), *R. syzygii* subsp.

celebesensis patogen penyebab penyakit darah pada pisang dan dua kerabatnya *Heliconia* sp. dan *Sterlitzia reginae* (Teng, *et al.*, 2016) dan *R. syzygii* subsp. *syzygii* dikenal sebagai patogen penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh (Safni, *et al.*, 2014).

4.4 Deteksi *R. syzygii* pada tanaman lain menggunakan *Polymerase Chain Reaction*

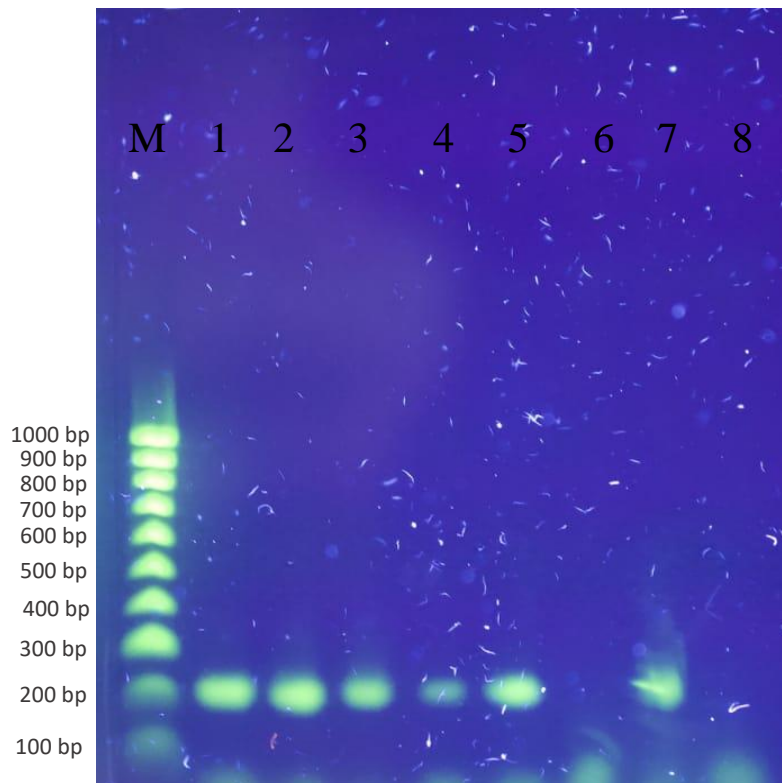
Visualisasi hasil amplifikasi DNA *R. syzygii* subsp. *syzygii* dengan PCR (nested PCR) menggunakan sepasang primer universal untuk amplifikasi genom bakteri (F 16S rRNA dan R 16S rRNA) dan sepasang primer spesifik untuk amplifikasi *R. syzygii* subsp. *syzygii* (UGMRss-F dan UGMRss-R) mampu mendeteksi keberadaan *R. syzygii* penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh pada beberapa tanaman lain (1: Cabai, 2: Tomat, 3: Pisang, 4: *Mentha canadensis*, 5: *Verbena alternifolia*) (Gambar 12) dinyatakan positif *R. syzygii* dengan terbentuknya fragmen DNA yang sesuai dengan kontrol positif (7: DNA *R. syzygii*) dengan amplicon 200 bp. Hal ini dapat menjadi penciri khusus sebagai faktor identitas keberadaan *R. syzygii* sesuai dengan primer spesifik yang digunakan, meskipun fragmen DNA *R. syzygii* tidak sesuai dengan pernyataan Trianom, *et al.* (2018) bahwa DNA *R. syzygii* berada pada amplicon ~378 bp akan tetapi hasil uji pada beberapa DNA tanaman lain menunjukkan hasil positif diperkuat dengan satu tanaman uji (6: *Heliconia*) yang dinyatakan negatif (Tabel 4) dengan tidak terbentuknya fragmen DNA *R. syzygii* yang sesuai dengan kontrol negatif (8: H₂O) (Gambar 6).

Tabel 4. Deteksi *R. syzygii* dengan PCR pada berbagai tanaman uji

Sumber Sampel	Tanaman Sampel	Hasil deteksi PCR
	Cabai (<i>C. Annum</i> L.)	+
Sigi, Sidera	Tomat (<i>S. lycopersicum</i>)	+
	Pisang (<i>Musa</i> sp.)	+
Toli-Toli, Galang	<i>Menthacanadensis</i>	+
	<i>Verbesina alternifolia</i>	+
Sigi, Sidera	<i>Heliconia</i>	-
Toli-Toli, Galang	Cengkeh (<i>S. aromaticum</i>)	+
	(Kontrol positif)	
	Air steril (Kontrol negatif)	-

Ket: + = Terbentuknya fragmen DNA *R. syzygii* pada amplicon 200 bp.
 - = Tidak terbentuk fragmen DNA *R. syzygii* pada amplicon 200 bp.

Salah satu tanaman uji (6: *Heliconia*) (Gambar 12) hasil amplifikasi DNA *R. syzygii* memiliki sistem pertahanan antara inang dan patogen yang mana keberadaan *R. syzygii* tidak terdeteksi dan dinyatakan negatif (Tabel 4) dengan tidak terbentuknya fragmen DNA *R. syzygii*. Mekanisme pertahanan kimiawi yang terjadi antara inang dan patogen juga disebabkan permukaan sel tanaman tidak mempunyai faktor pengenal-spesifik (*specific recognition factor*) yang dapat dikenali oleh patogen sebagai inangnya sehingga patogen tidak menghasilkan zat untuk menginfeksi (Gaswanto, *et al.*, 2016).



Gambar 12. Visualisasi hasil amplifikasi DNA *R. syzygii* penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh dengan PCR menggunakan primer (UGMRss-F dan UGMRss-R) dengan amplicon 200 bp pada beberapa inang alternatif (M: 100 bp, 1: Cabai, 2: Tomat, 3: Pisang, 4: *Menthacanadensis*, 5: *Verbesina alternifolia*, 6: *Heliconia*, 7: DNA *R. syzygii* subsp. *syzygii* (+), H₂O (-).

Meskipun tanaman uji tidak menimbulkan gejala pada hasil pengujian patogenesis seperti yang dicirikan pada cengkeh yang terserang *R. syzygii* (Gambar 6-11 & Lampiran 5-10), tetapi keberadaan DNA *R. syzygii* penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh terdeteksi pada hasil amplifikasi DNA *R. syzygii* pada beberapa tanaman uji (1: Cabai, 2: Tomat, 3: Pisang, 4: *Menthacanadensis*, 5: *Verbesina alternifolia*) (Gambar 12). Berdasarkan sekuen gen endoglukanase (*egl*), *R. syzygii* subsp. *syzygii* memiliki tingkat yang paling beragam tetapi kurang aktif secara metabolik (Prior, *et al.*, 2016; Safni, *et al.*, 2018) sehingga memungkinkan *R. syzygii* untuk berada pada tanaman uji.

Ketidakmampuan patogen menginfeksi tanaman uji menyebabkan patogen avirulen (Nugrahaeni, 2014). Bakteri bersifat avirulen ketika bakteri tidak mampu mengeluarkan toksin atau senyawa berupa enzim yang mendukung virulensinya dan memainkan beberapa peran dalam proses patogenik diantaranya kemampuan bakteri patogen untuk memperoleh nutrisi dengan menembus jaringan tanaman (Oviana, *et al.*, 2015; Utami, *et al.*, 2011).

Perbedaan ras juga menentukan perbedaan phylotipe strain bakteri dalam menyerang inang. Menurut (Safni, *et al.*, 2018) *R. syzygii* yang menyerang cengkeh termasuk dalam spesies kompleks *R. solanacearum* filotipe IV strain indonesia. Spesies kompleks *R. solanacearum* secara fenotipik dan genotipik dikelompokkan menurut ras berdasarkan kisaran inang dan sistem klasifikasi filotipe berdasarkan sebaran geografisnya (Prior, *et al.*, 2016) dimana filotipe I dan III spesies *R. pseudosolanacearum* strain Asia dan Afrika menyebabkan layu bakteri pada solanaceae, jahe dan mulberry, filotipe II spesies *R. solanacearum* strain dari Amerika menyebabkan layu bakteri pada solanaceae dan geranium, busuk coklat kentang, penyakit moko pada pisang, filotipe IV *R. syzygii* strain dari Indonesia juga menyerang di beberapa negara Asia dapat menyebabkan penyakit darah pada pisang dan penyakit Sumatera pada cengkeh juga menyerang filotipe II, I dan III (Horita, *et al.*, 2014; Safni, *et al.*, 2014.; Suga, *et al.*, 2013).

Ada tidaknya gejala tanaman yang disebabkan oleh patogen pada inang alternatif bergantung pada kondisi lingkungan antara inang dan patogen, ketahanan tanaman inang alternatif baik struktural maupun pertahanan kimiawi

(Pandawani, *et al.*, 2016) dan adanya perbedaan ras tanaman yang membedakan kemampuan patogen untuk menginfeksi (virulensi) (Safni, *et al.*, 2018), kemampuan patogen menyerang tanaman (agresivitas) (Prasetya, *et al.*, 2017), kemampuan adaptasi patogen, penyebaran ketahanan hidup dan kemampuan patogen untuk berkembang biak (Salamiah, *et al.*, 2008).

Terdeteksinya patogen secara molekuler dengan PCR pada beberapa tanaman uji (Gambar 5) meskipun tidak menunjukkan adanya gejala pada tanaman (Gambar 6-11 & Lampiran 5-10), akan tetapi keberadaan *R. syzygii* pada tanaman lain juga dapat dikatakan sebagai inang tanpa gejala (*asymptomatic host*) yang dapat berpotensi sebagai inang alternatif dalam penyebaran *R. syzygii* pada cengkeh sebagai penyebab penyakit Sumatera. *R. syzygii* dapat hidup pada tanaman lain (inang alternatif) selain tanaman utama yang juga bisa menjadi inang dan memiliki kekerabatan yang masih dekat dengan inang utama dan termasuk dalam kisaran inang strain kompleks *R. solanacearum*. Menurut (Kolander *et al.*, 2012) spesies tanaman dianggap inang tanpa gejala (*asymptomatic host*) jika, tingkat keparahan penyakit < 2 , tidak ada pengurangan yang signifikan dalam biomassa tanaman, patogen terdeteksi pada tanaman yang diinokulasi dengan isolasi atau PCR dan jumlah DNA patogen terdeteksi berada dalam kisaran jumlah terdeteksi pada bagian tanaman yang diinokulasi.

Malcolm, *et al.* (2013) mengemukakan semua mikroorganisme potensial baik patogen maupun endofit mampu menjadi patogen dalam kondisi tertentu dan gejala penyakit bergantung pada genotipe tanaman, genotipe patogen, kombinasi lingkungan maupun spektrum dari endofit menjadi patogen. Spesies kompleks

R. solanacearum mampu bertahan dalam kisaran inang yang sangat luas bersama dengan inang gulma asimtomatik dan dapat bertahan di dalam tanah untuk jangka waktu yang lama. Kompleksitas yang disebabkan terhadap strain patogen, inang dan interaksi lingkungan membuat perkembangbiakan yang resisten (Setiawan, 2019).

Penggunaan teknik PCR sangat membantu proses deteksi secara cepat untuk mengidentifikasi mikroorganisme tertentu secara spesifik dan sensitif dengan efisiensi waktu dan akurasi yang tepat (Dewi, *et al.*, 2020.). Teknik ini mampu memperbanyak salinan utas DNA menjadi ribuan hingga jutaan salinan fragmen DNA (Nugroho & Rahayu, 2018), terjadi secara enzimatik menggunakan sepasang primer oligonukleotida pendek yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA template untuk mengawali sintesis rantai DNA (Perera, *et al.*, 2018). Keberadaan enzim dan primer spesifik akan mengenali daerah gen target dan mengamplifikasi gen selama proses PCR berlangsung (Nugroho & Rahayu, 2018; Wardani, *et al.*, 2017). Teknik molekuler ini sangat efektif untuk kepentingan diagnosis (Puspitaningrum & Adhiyanto, 2018; Setiawan, 2016) mikroba pengganggu di dalam tanaman baik melalui pengkulturan pada medium buatan maupun langsung melalui bagian tanaman yang terinfeksi patogen (Prasetya, 2018).

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Primer spesifik UGMRss-F dan UGMRss-R mampu mendeteksi *R. syzygii*, penyebab penyakit pembuluh kayu cengkeh dengan pita DNA berukuran 200 bp.
2. Primer spesifik UGMRss-F dan UGMRss-R dapat mendeteksi keberadaan *R. syzygii* pada tanaman lain yang diuji.
3. *R. syzygii* tidak menimbulkan gejala layu setelah 48 HST pada tanaman lain yang diuji dan patogennya terdeteksi pada hasil PCR dengan amplicon 200 bp.

5.2 Saran

Perlu adanya kajian lebih lanjut tentang sebaran spesies kompleks *R. solanacearum* khususnya *R. syzygii* sebagai awal pencegahan dari penyebaran patogen dan optimasi penggunaan PCR secara spesifik terhadap setiap strain *R. syzygii* untuk menghindari kemungkinan adanya error template (dimer, hairpin, mispriming), penentuan konsentrasi DNA yang sesuai, penyimpanan primer dan pengukuran konsentrasi Mg²⁺.

DAFTAR PUSTAKA

- Asman, A., 1991. Kajian *Hindola fulva* Sebagai Vektor Penyakit Bakteri Pembuluh Kayu Cengkeh (BPKC). *Bul Littro*, 6 (1).
- Ailloud, F., 2015. Le Pouvoir Pathogène Chez *Ralstonia solanacearum* Phylotype II Génomique Intégrative et Paysages Transcriptomiques en Relation Avec L'adaptation à L'hôte. Dissertation. Université De La Reunion, France.
- Alighiri, D., Eden, W.T., Supardi, K.I., Masturi, Purwinarko, A., 2017. Potential Development Essential Oil Production of Central Java, Indonesia. *J. Phys. Conf. Ser.* 824, 012021. DOI:10.1088/1742-6596/824/1/012021.
- Asman, A., 2017. Kajian *Hindola fulva* sebagai Vektor Penyakit Bakteri Pembuluh Kayu Cengkeh (BPKC). *Buletin Penelitian Tanaman Obat dan Rempah*, 6 (1): 55-60. DOI:10.21082.
- Arwiyanto, T., 2018. *Ralstonia Solanacearum*: Biologi Penyakit yang Ditimbulkan dan Pengelolaannya. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Arimbawa, I., Wirya, G., Sudana, I., Winantara, I., 2019. Isolasi dan Seleksi Bakteri Antagonis untuk Pengendalian Penyakit Busuk Batang Panili (*Vanilla planifolia* Andrews) Secara In Vitro. *J. Agroekoteknologi Tropik*, 8 (2).
- Apriyadi, Z., Liestiany, E., Rodinah, 2019. Pengendalian Biologi Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Pada Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum*). *Protek Tan. Tropika*, 2 (02):1.
- Budiarto, 2015. Polymerase Chain Reaction (PCR) Perkembangan dan Perannya Dalam Diagnostik Kesehatan. Pusat Penelitian Biologi (LIPI). *BioTrends*, 6 (2).
- Badan Pusat Statistik Prov. Sulawesi Tengah, 2017. Luas Areal dan Produksi Tanaman Perkebunan Rakyat Menurut Jenis Komoditi Dan Kabupaten Kota. <https://sulteng.bps.go.id>.
- Bilt, J. van de, Wolsink, M., P. P.M.A. Gorkink-Smits, N.M. Landman, M. Bergsma-Vlami., 2018, Application of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for rapid and accurate identification of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia pseudosolanacearu*. *Eur J Plant Pathol*. Springer.
- Campbell Neil A., Reece Jane, B., Michell Laurence G., 2003. Biologi. Edisi 5 Jilid 2: 401-402, Penerbit Erlangga. Ciracas, Jakarta.
- Denny, T., 2007. Plant Pathogenic *Ralstonia* Species. *Plant-Associated Bacteria*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 573–644. DOI: 10.1007/978-1-4020-4538-7_16.

- Danaatmadja, Y., Subandiyah, S., Tri, J., Cavrina, U.S., 2009. Isolasi dan karakterisasi *Ralstonia syzygii* (Isolation and characterization of *Ralstonia syzygii*). *J. Perlantan*, 15 (1): 7-12.
- Djaenuddin, N., 2016. Interaksi bakteri antagonis dengan tanaman: ketahanan terinduksi pada tanaman jagung. *Iptek Tan Pangan*. 11(2).
- Dwimartina, F., Arwiyanto, T., Tri, J., 2017. Research Article Potential of Endophytic and Rhizobacteria as an Effective Biocontrol for *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii*. *Asian J. Plant Pathol*, 11 (4): 191-198. DOI: 10.3923/ajppaj.2017.191.198.
- Da, S.X.A., De Almeida, J.C.F., Alessandra, G.D.M., De Melo, Genevieve, M.R., Denise, R.R.D.R., Sylvain, M., Poliane A-Z., 2019. Characterization Of Crispr-Cas Systems In The *Ralstonia Solanacearum* Species Complex. *Europ Molec P Pathol*, 20(2): 223–239 DOI : 10.1111/mpp.12750. Springer.
- Englund, S., Ballagi-Pordány, A., Bolske, G., Johansson, K.E., 1999. Single PCR and Nested PCR With a Mimic Molecule for Detection of *Mycobacterium avium* subsp. Paratuberculosis. *Elsevier*. 33 (3):163-171.
- Edy, N., Subandiyah, S, Christanti, S., Jaka, W.-J.P., 2011. Karakterisasi dan Deteksi Cepat Bakteri Penyebab Penyakit Darah pada Pisang. *J. Perlantan*, 17 (1): 26-30.
- Fegan, M., Prior, P., 2006. Diverse Members of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex Cause Bacterial Wilts of Banana. *Australas. Plant Pathol*, 35: 93-101. DOI: 10.1071/AP05105.
- Fanani, A.K., Abadi, A.L., Aini, L.Q., 2016. Eksplorasi Bakteri Patogen Pada Beberapa Spesies Tanaman Kantong Semar (*Nepenthes* sp.). *J. Hama dan Penyakit Tumbuh*. 3, pp.104-110.
- Fukuda, K., Ogawa, M., Taniguchi, H., Saito, M., 2016. Molecular Approaches to Studying Microbial Communities: Targeting the 16S Ribosomal RNA gene. *J. UOEH*, 38 (3): 223-232.
- Ferreira, V., Pianzola, M.J., Vilaró, F.L., Galván, G.A., Tondo, M.L., Rodriguez, M. V., Orellano, E.G., Valls, M., Siri, M.I., 2017. Interspecific Potato Breeding Lines Display Differential Colonization Patterns and Induced Defense Responses after *Ralstonia solanacearum* Infection. *Front. Plant Sci*. 8. DOI:10.3389/fpls.2017.01424.
- Feronato, C., Leme, R.A., Diniz, J.A., Agnol, A.M.D., Alfieri, A.F., Alfieri, A.A., 2018. Development and Evaluation of a Nested-PCR Assay for *Senecavirus A* Diagnosis. *Trop Anim Health Prod*, 50: 337–344. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1436-z>.
- Genin, S., Denny, T.P., 2012. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. *Ann Rev Phytopathol*, 50: 67-89. DOI:10.1146.

- Gaswanto R., Syukur M., Sri H.H., Gunaeni N., 2016. Identifikasi Gejala dan Kisaran Inang Enam Isolat Begomovirus Cabai di Indonesia (Symptom and Host Range Identification of Six Chilli Begomovirus Isolate in. *J. Hort*, 26 (2): 223-234
- García, R., Kerns, J., Thiessen., 2019. *Ralstonia solanacearum* Species Complex: A Quick Diagnostic Guide. *Am Phytopath Soc.* <https://doi.org/10.1094/PHP-04-18-0015-DG>.
- Haff, L.A., 1994. Improved Quantitative PCR Using Nested Primers. *Genome Res.* 3: 332-337.
- Handoyo, D., Rudiretna, A., 2000. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Unitas*, 9 (1):17-29.
- Hadi, S., 2012. Pengambilan Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (Clove Oil) Menggunakan Pelarut N-Heksana Dan Benzena. *J. Bahan Alam Terbaru*, 1 (2).
- Hananto, P. E., Sasongko, P.S., Sugiharto, A., 2014. Sistem Pakar Diagnosis Penyakit Tanaman Cengkik Dengan Metode Inferensi Forward Chaining. *J. Inform Technol.* 1 (3): p 1-14.
- Horita, M., Tsuchiya, K., Suga, Y., Yano, K., Waki, T., Kurose, D., Furuya, N., 2014. Current classification of *Ralstonia solanacearum* and genetic diversity of the strains in Japan. *J. Gen. Plant Pathol.* 80, 455–465. DOI 10.1007/s10327-014-0537-z
- Huggett, J., Cowen, S., Foy, C., 2015. Considerations For Digital PCR as an Accurate Molecular Diagnostic Tool. *Rev Clinic Chemist.* 61 (1): 79-88. DOI: 10.1373/clinchem.2014.221366.
- Hariyadi, B.W., 2017. Analysis of Results on Crop Loss Cloves Wooden Vessels Due to Attack Bacteria Cloves (Bpkc) Case Study in Sub-District Wonosalam District Jombang. *Gontor Agrotech Sci. J.* 3 (1): 23. DOI: 10.21111/agrotech.V3i1.899.
- Hemelda, N.M., Safitri, R., Suhandono, S., 2019. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum*, A Phytopathogenic Bacterium Infecting Horticultural Plants in Java, Indonesia. *Biodiversitas*, 20 (2): 364-372. DOI: 10.13057
- Ismiyatuningsih, Joko, T., Hartono, S., 2016. Survey and Detection of *Pectobacterium atrosepticum* in Major Potato-Growing Areas in Central Java Province, Indonesia. *Agricult Sci*, 1 (1): 001-006. DOI: doi.org/10.22146/ipas.11654.
- Idar, I., Kusumawardhani, S., Novianti, M.T., 2018. Deteksi Bakteri Patogen *Salmonella typhi* pada Sayuran Mentah Menggunakan Metode nested Polymerase Chain Reaction. *Al-Kimia.* 6 (2):146-154.

- Joko, T., Kusumandari, N., Hartono, S., 2011. Optimasi Metode PCR Untuk Deteksi *Pectobacterium carotovorum*, Penyebab Penyakit Busuk Lunak Anggrek. *J. Perlantan*. 17 (2): 54–59.
- Jackson, M., Myrholm, C., Shaw, C., Ramsfield, T., 2017. Using Nested PCR to Improve Detection of Earthworm eDNA in Canada. *Soil Biol Biochemist*, 113: 215-218. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.06.009>.
- Joko, T., Umehara, M., Murata, T., Etoh, H., Izumori, K., Tsuyumu, S., 2018. Hyperinduction of Pectate Lyase in *Dickeya chrysanthemi* EC16 by plant-derived sugars. *J. Plant Interact.* 13: 141–150. DOI: 10.1080/17429145.2018.1444206.
- Kandou, F.E.F., 2009. Analisis Molekuler Escherichia Coli Serotype O157: H7 Pada Air Minum Dalam Kemasan Dan Isi Ulang Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) dengan rfbE Sebagai Gen Target. *Chem. Prog.* 2 (1).
- Kolander, T.M., Bienapfl, J.C., Kurle, J.E., Malvick, D.K., 2012. Symptomatic and Asymptomatic Host Range of *Fusarium virguliforme*, the Causal Agent of Soybean Sudden Death Syndrome. *Plant Dis.* 96: 1148–1153.
- Khotimah, H., 2014. Penentuan Eugenol Total Dan Uji Kelarutan Minyak Daun Cengkeh (*Eugenia caryophyllata*) Dalam etanol 70%. The University Institutional Repository, Universitas Sumatera Utara.
- Kressin, J., 2018. Resistance Dynamics of Tomato and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex: Assessing Resistance Mechanisms and Methods for Practical Evaluation. Dissertation. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.
- Liu, H., Zhang, S., Schell, M.A., Denny, T.P., 2005. Pyramiding Unmarked Deletions in *Ralstonia solanacearum* Shows That Secreted Proteins in Addition to Plant Cell-Wall-Degrading Enzymes Contribute to Virulence. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 18: 1296–1305. DOI: 10.1094/ MPMI -18-1296.
- Lin, C., Tsai, K., Prior, P., Wang, J., 2014. Phylogenetic Relationships and Population Structure of *Ralstonia Solanacearum* Isolated From Diverse Origins in Taiwan. *Ann Rev Phytopathol* 49, 345–67. DOI: 10.1111/ppa.12209.
- Lisawati, L., Hadayani, Yulianti .K., 2017. Analisis Pemasaran Cengkeh di Desa Jono Oge Kecamatan Sirenja Kabupaten Donggala. *J. Agroland*, 24 (3) : 172 - 180.
- Marwan, H., 2011. Potensi bakteri endofit sebagai agens pengendalian hayati terhadap penyakit darah pada tanaman pisang. Tesis. Institut Pertanian Bogor.

- Moningka, F., Runtuuwu, S., Paulus, J., 2012. Respon Pertumbuhan Tinggi dan Produksi Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Pemberian Paclobutrazol. *Eugenia*, 18 (2). DOI:10.35791/eug.18.2.2012.3565.
- Malcolm, G.M., Kuldau, G.A., Gugino, B.K., Jiménez-Gasco, M. del M., 2013. Hidden Host Plant Associations of Soilborne Fungal Pathogens: An Ecological Perspective. *Phytopathol*, 103, 538–544. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-12-0192-LE>.
- Meng, F., 2013a. *Ralstonia solanacearum* Species Complex And Bacterial Wilt Disease. *J Bacteriol Parasitol*, 4 (2). DOI: 10.4172/2155-9597.1000e119.
- Meng, F., 2013b. The Virulence Factors Of The Bacterial Wilt Pathogen *Ralstonia Solanacearum*. *J. Plant Pathol Microb*, 4:3. DOI: 10.4172/2157-7471.1000168.
- McDonald, J.E., Larsen, N., Pennington, A., Connolly, J., Wallis, C., Rooks, D.J., Hall, N., McCarthy, A.J., Allison, H.E., 2016. Characterising the Canine Oral Microbiome by Direct Sequencing of Reverse-Transcribed rRNA Molecules. *PLoS One*, 11 (6). DOI: 10.1371/journal.pone.0157046.
- Morel, A., Guinard, J., Lonjon, F., Sujeeun, L., Barberis, P., Genin, S., Vailleau, F., Daunay, M.-C., Dintinger, J., Poussier, S., Peeters, N., Wicker, E., 2018. The Eggplant AG91-25 Recognizes the Type III-secreted Effector RipAX2 to Trigger Resistance to Bacterial Wilt (*Ralstonia solanacearum* Species Complex). *Mol. Plant Pathol*. 19: 2459–2472. DOI: 10.1111/mpp.12724.
- Ngaliyatun, N., Tuti, W., Mukh, S., 2013. Uji Daya Infektivitas *Plasmodium berghei* iradiasi pada Hati, Limpa Mencit Menggunakan nested-PCR. *Unnes J Life Sci*, 2 (2).
- Nugrahaeni, N., 2014. Pemuliaan kacang tanah untuk ketahanan terhadap layu bakteri *Ralstonia* di Indonesia. *Bul. Palawija*. 21: 1–12.
- Nugroho, E., Rahayu, D., 2018. Pengantar Bioteknologi: (Teori dan Aplikasi).
- Nurmala, N., Made, A., Hadayani, 2015. Analisis Efisiensi Penggunaan Input Produksi Usahatani Cengkeh Di Kecamatan Dako Pemean Kabupaten Tolitoli. *J. Agroland*, 22 (3) : 226 - 234.
- Nurdjannah, N., 2016. Diversifikasi Penggunaan Cengkeh. *Perspektif*, 3 (2): 61-70.
- Notopuro, P.B., Nugraha, J., Notopuro, H., 2018. Deteksi Molekuler *Mycobacterium tuberculosis* di Dahak Cara Polymerase Chain Reaction. *Indones Journ of Clinic Pathol and Medic Laborat*, 15 (1): 1-42.
- Nugroho, E., Rahayu, D., 2018. Pengantar Bioteknologi:(Teori dan Aplikasi). Penerbit Deepublish. Edisi 1:401 hlm. Sleman, Yogyakarta.
- Oviana, T., Aeny, T.N., Prasetyo, J., 2015. Isolasi Dan Karakterisasi Penyebab Penyakit Busuk Buah Pada Tanaman Nanas (*Ananas comosus* Merr.). *J. Agrotek Tropika*, 3 (2): 220 – 225.

- Obrador-Sánchez, J., Tzec-Sima, Miguel, Higuera-Ciapara, Inocencio, Canto-Canhe, Blondy, 2017. Genetic Diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from Mexico Associated with Moko Disease. Springer. *Eur J Plant Pathol*, 149: 817–830. DOI 10.1007/s10658-017-1228-3.
- Oku, S., Hida, A., Mattana, T., Tajima, T., Nakashimada, Y., Kato, J., 2017. Involvement of Many Chemotaxis Sensors in Negative Chemotaxis to Ethanol in *Ralstonia pseudosolanacearum* Ps29. *Microbiol* 163: 1880–1889. DOI: 10.1099/mic.0.000574.
- Pandawani, N.P., Farida H., Suryani N., 2016. Inang Alternatif Cucumber Mosaic Virus (CMV) Penyebab Penyakit Mosaik pada Tanaman Mentimun. Lembaga Penelitian Dan Pemberdayaan Masyarakat (LPPM) UNMAS Denpasar.
- Prior, P., Ailloud, F., Dalsing, B.L., Remenant, B., Sanchez, B., Allen, C., 2016. Genomic and Proteomic Evidence Supporting the Division of the Plant Pathogen *Ralstonia solanacearum* Into Three Species. *BMC Genomics* 17 (90). DOI: 10.1186/s12864-016-2413-z.
- Peniche, G., Fernandez, J.R., Durrant, C., John, S.K., Macgregor, S.K., Cunningham, A.A., Lawson, B., 2017. Nested PCR for *Suttonella ornithocola* Reveals Widespread Infection in British Paridae Species. *Eur J Wildl Res*, 63 (50). <https://doi.org/10.1007/s10344-017-1105-6>. Springer.
- Pulogu, S., Kikin, H.M., Giyanto., 2017. Cara Preservasi Fitoplasma dari Jaringan Kacang Tanah Bergejala Sapu untuk Deteksi DNA dengan Teknik PCR. *J Fitopatol Indones*, 13 (2): 43–50. DOI: 10.14692/jfi.13.2.43.
- Prasetya, A., Mutaqin, K.H., Sinaga, M.S., Giyanto., 2017. Identifikasi Molekuler Fitoplasma yang Berasosiasi dengan Tanaman Kaktus Hias *Opuntia* sp. *J Fitopatol Indones*, 13 (4): 145–152. DOI: 10.14692/jfi.13.4.145.
- Prasetyo AE., Kikin, H.M., Giyanto, 2017. Karakterisasi Fitoplasma Penyebab Penyakit Layu Kelapa di Pulau Derawan Menggunakan RFLP In Silico. *J HPT*, 17 (2):105-110.
- Perera, A., Weerasena, O., Dasanayaka, P., 2018. Development of a Rapid, Sensitive and Specific DNA-based Method to Detect *Ralstonia solanacearum* in Potato for Quarantine Purposes. *J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka*, 46 (2): 153-158. DOI: <http://dx.doi.org/10.4038/jnsfsr.v46i2.8415>.
- Puspitaningrum, R., Adhiyanto, C., Solihin, 2018. Genetika Molekuler dan Aplikasinya. Penerbit Deepublish. Edisi 1:75 hlm. Sleman, Yogyakarta.
- Pratama, A.P., Darwanto, D.H., 2019. The Competitiveness of Indonesian Cloves Commodity in International Market. IOP Conf. Ser. *Earth Environ. Sci.* 346, 012067. DOI: 10.1088/1755-1315/346/1/012067.

- Remenant, B., de Cambiaire, J.-C., Cellier, G., Jacobs, J.M., Mangenot, S., Barbe, V., Lajus, A., Vallenet, D., Medigue, C., Fegan, M., Allen, C., Prior, P., 2011. *Ralstonia syzygii*, the Blood Disease Bacterium and Some Asian *R. solanacearum* Strains Form a Single Genomic Species Despite Divergent Lifestyles. *PLoS One* 6. DOI: 10.1371/journal.pone.0024356.
- Ratnawati, A.R., 2016. Analisis Biaya Produksi Rokok Djarum di Kabupaten Kudus. *Econom Develop analys j*, 5 (1).
- Rahardianti, R., Nur, E., 2017. Akurasi Metode Real Pcr Untuk Analisa Ekspresi Gen PmVRP15. Prosiding Pertemuan Teknis Teknisi Litkayasa Lingkup BBPBAP. Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau, Jepara.
- Riedlmeier, M., Ghirardo, A., Wenig, M., Knappe, C., Koch, K., Georgii, E., Dey, S., Parker, J.E., Schnitzler, P-J., Corina Vlot, A., 2017. Monoterpenes support systemic acquired resistance within and between plants. *Am Soc Plant Biol*, 29: 1440–1459.
- Rusae, A., Metboki, B., Atini, B., 2018. Identifikasi Cendawan Patogen pada Tanaman Sorgum di Timor Tengah Utara. Savana Cendana, *J Pert Konserv Lahan*, 3 (4): 69-71. DOI: 10.32938/sc.v3i04.463.
- Suryadi, Y., Machmud, M., 2002. Keragaman Genetik Strain *Ralstonia Solanacearum* Berdasarkan Karakterisasi Menggunakan Teknik Berbasis Asam Nukleat. *Buletin Agro Bio*, 5 (2): 59-66.
- Salamiah, Badruzsaufari, Arsyad, M., 2008. Jenis Tanaman Inang Dan Masa Inkubasi Patogen *Botryodiplodia theobromae* Pat. Penyebab Penyakit Kulit Diplodia pada Jeruk. *J. HPT Tropika*, 8 (2): 123 – 131.
- Sudir, Nuryanto, B., Kadir, T.S., 2012. Epidemiologi, Patotipe, dan Strategi Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. *IPTEK Tan. Pangan*, 7 (2).
- Suga, Y., Horita, M., Umekita, M., Furuya, N., Tsuchiya, K., 2013. Pathogenic Characters of Japanese Potato Strains of *Ralstonia solanacearum*. *J. Gen. Plant Pathol.* 79: 110–114. DOI 10.1007/s10327-013-0429-7.
- Safni, I., Cleenwerck, I., De Vos, P., Fegan, M., Sly, L., Kappler, U., 2014. Polyphasic Taxonomic Revision of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex: Proposal to Emend the Descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia*. *Intern J. System Evol Microbiol*, 64: 3087–3103. DOI: 10.1099/ijs.0.066712-0.
- Sridhar, V., 2015. Proteomic Studies of Grape Xylem Tissue and Sap. Thesis. Department of Biological Sciences, Tallahassee, FL Spring.
- Subedi, N., 2015. Characterization and Management of *Ralstonia solanacearum* Populations in South Asia. Subedi, N., 2015. Characterization and Management of *Ralstonia solanacearum* Populations in South Asia.

Dissertation. Graduate Program in Plant Pathology. Ohio State University, Columbus, USA.

- Sgorbini, B., Cagliero, C., Pagani, A., Sganzerla, M., Boggja, L., Bicchi, C., Rubiolo, P., 2015. Determination of free and Glucosidically-Bound Volatiles in Plants. Two Case Studies: L-menthol in Peppermint (*Mentha x piperita* L.) and Eugenol in Clove (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry). Elsevier. *Phytochemist*, 117: 296-305. DOI: 10.1016/j.phytochem.2015.06.017.
- Schandry, N., de Lange, O., Prior, P., Lahaye, T., 2016. Tale-Like Effectors Are an Ancestral Feature of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex and Converge in DNA Targeting Specificity. *Front. Plant Sci*, 7. DOI: 10.3389/fpls.2016.01225.
- Setiawan, S., Rosman, R., 2016. Research Status of Clove, Application of Technology and Development Strategy with Ecological Basic. *Perspektif*, 14 (1): 27-36. DOI: 10.21082/p.v14n1.2015.27-35.
- Setiawan, B., 2016. Karakterisasi Fisiologi dan Molekuler Bakteri Simbion-Nematoda Entomopatogen Berdasarkan Sekuen Gen Pengkode 16S rRNA Dari Bromo Kabupaten. Tesis. Universitas Jember.
- Sutarman, S., 2017. Dasar-Dasar Ilmu Penyakit Tanaman. UMSIDA PRESS. Mojopahit, Sidoarjo.
- Sulistiyono, S.T., 2017. Tracking the Role of Education in Preserving National Identity: Maritime Aspects in the History Subject at Senior High School in Indonesia. *J. Maritime Study Nation Integ*, 1(1): 55-65.
- Shamsinah, N., Suhaimi, M., 2017. Diversity of Bacterial Communities in Bacterial Wilt-Diseased Banana Plants. Thesis. Institute Of Biological Sciences, University Of Malaya, Malaysia.
- Smith, A., Jain, M., Mulrone, L., Garalde, D., Akesson, M., 2017. Reading Canonical and Modified Nucleotides in 16S Ribosomal RNA Using Nanopore Direct RNA Sequencing. *Biorvix*, 1-26. DOI: 10.1101/132274.
- Suhaimi, N., Laboh, R., Ajam, N., Thong, K.L., 2017. Antagonistic Effects of Biofilm-forming Bacterial Strains Co-inoculated with Blood Disease Pathogenic Strain, *Ralstonia Syzygii* Subspecies *Celebesensis* in Banana. Springer. *Europe J. Plant Pathol*, 148: 13-26.
- Sobirin, S., Goran, W., Hanis, G., 2017. Keragaman Plasma Nutfah Padi Lokal Sulawesi Selatan. Edisi, 1:162 hlm. Sah Media, Makassar.
- Sulistiyoningrum, A.S., Saepudin, E., Cahyana, A.H., Rahayu, D.U.C., Amelia, B., Haib, J., 2017. Chemical profiling of clove bud oil (*Syzygium aromaticum*) from Toli-Toli and Bali by GC-MS analysis. p. 030089. *AIP Conf. Proceedings*, 1862, Iss 1. DOI:10.1063/1.4991193.

- Sang, T., Tung, N., Nga, N., Giang, N., Ha, N., Khoa, T., Trang, N., 2018, Establishing Assays for Detecting SMNt Gene Mutation in Single Cell Using Nested-PCR Method. *Gynecologis*, 1.
- Safni, I., Subandiyah, S., Fegan, M., 2018. Ecology, Epidemiology and Disease Management of *Ralstonia syzygii* in Indonesia. *Front. Microbiol*, 9. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00419.
- Sarni, S., 2018. Pengamatan Penyakit Kering Cengkeh Di Kota Ternate. *Saintifik@*, 1 (1): 62–66.
- Sharif, M., Ejaz, R., Pasha, I., 2018. Nutritional And Therapeutic Potential of Spices. Elsevier. *Academic Press*, 181-199. DOI: 10.1016/B978-0-12-814625-5.00011-X.
- Stoeckle, M., Mishu, M., Charlop-Powers, Z., 2018. GoFish: A Versatile Nested PCR Strategy For Environmental DNA Assays For Marine Vertebrates. *PLoS One*, 13(12). DOI: e0198717.
- Sadeghi, N., Jamshidi, A., Seyyedini, M., 2019. Detection of *Mycobacterium avium* Subsp. *paratuberculosis* in Pasteurized Milk Samples by Culture, Direct Nested PCR and PCR methods in Northeast of Iran. *Iran Journ of Chemist and Chemic Engineer (IJCCE)*, 36 (1).
- Setiawan, A., 2019. Epidemiologi Penyakit Layu Bakteri Dan Perkembangan Kompleks Spesies *Ralstonia solanacearum*. *Jurn Galung Tropik*, 8 (3): 243 - 270. DOI: <http://dx.doi.org/10.31850/jgt.v8i3.502>.
- Sing'ombe, O., 2019. Study Of Specific Growth Inhibitors Of *Ralstonia solanacearum*. Dissertation. Graduate School of Environmental and Life Science, Okayama University, Japan.
- Taufik., 2011. Evaluasi Ketahanan Padi Gogo Lokal Terhadap Penyakit Blas (*Pyricularia oryzae*) di lapang. *AGRIPLUS*. 21 (1).
- Towaha, J., 2012. The Benefits of Cloves Eugenol in Various Industries in Indonesia. *Perspektif*, 11 (2): 79-90.
- Teng, S., Aziz, N., Mustafa, M., Laboh, R., Safinar, I., Rohani, S., Azizan, A., Davi, S., 2016. The Occurrence of Blood Disease of Banana in Selangor, Malaysia. *Int. J. Agric. Biol.*, 201x. DOI: 10.17957/IJAB/15.0067.
- Triyani, Y., Nafsi, Yuniarti, L., Sekarwana, N., Sutedja, E., Gurnida, D.A., Parwati, I., Alisjahbana, B., 2018. Primer Spesifik Gen *Macrophage Mannose Receptor* (MMR) untuk *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan Sekuensing *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA). *Ind J of Clinic Pathol and Medic Lab*, 22 (2): 158–162.
- Trianom, B., Arwiyanto, T., Joko, T., 2018. Perancangan Primer Spesifik Subspesies Berbasis Gen Endoglukanase untuk Deteksi *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* Development of Novel Subspecies. *Jurnal Perlintan*, 22 (2): 124–131. DOI: 10.22146/jpti.32217.

- Trianom, B., Arwiyanto, T., Joko, T., 2019. Morphological and Molecular Characterization of Sumatra Disease of Clove in Central Java, Indonesia. *Tropic Life Sci Research*, 30 (2): 107-118. DOI: 10.21315/tlsr2019.30.2.8.
- Utami, D., Kadir, T., Yuriyah, S., 2011. Faktor Virulensi AvrBs3/PthA pada Ras III, Ras IV, Ras VIII, dan IXO93-068 Patogen Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). *J AgroBiogen*, 7(1): 1-8.
- Windari, U., Joko, T., Tanaman, Subandiyah, S., 2015. Deteksi Penyakit Bacterial Fruit Blotch pada Melon Menggunakan ELISA. *Jurnal Perlantan*, 19 (1): 1-5.
- Wardani, A., Alirsyah, A., Fauziah, A., Fa'ida, T.N., 2017. Identifikasi Gen Transgenik pada Produk Susu Bubuk Kedelai dan Susu Formula Soya dengan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *AGRITECH*, 37 (3): 237-245 DOI: <http://doi.org/10.22146/agritech.16656>.
- Yusuf, B., Nur, A.M. , Yunitasari, N.F., Widiastuti, T.A, Puspitasari, E., 2014. Stability of gag-ca gene of Jembrana Virus in pcDNA-ca Recombinant Plasmid Vector in *Escherichia coli* DH5 α which has been Stored for Eight Years. *JSV*, 32 (2).
- Yastini, N.N., Kamarani, N.W., 2018. Analisis Swot Pengembangan Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) di Desa Bhuana Giri, Kecamatan Bebandem, Kabupaten Karangasem. *dwijenAgro* 8 (1).
- Yatni, Y., Tuhumury, G.N.C., Leiwakabessy, C., 2018. Potensi Bakteri Endofit dari Tanaman Sagu (*Metroxylon* spp.) sebagai Agens Pemacu Pertumbuhan Tanaman Padi. *J. Budidaya Pertanian*, 14(2): 75-80 Th. DOI: 10.30598/jbdp.2018.14.2.75
- Yanti, Y., Arneti, Nilisma, M., 2019. Karakterisasi Kemampuan Biokontrol Bakteri Endofit Indigenos untuk Pengendalian *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* pada Cabai. *Sem Nasion Univ Andalas*, 3 (1).
- Zhang, Y., Leeuwenhoek, A. V., 2016. Phylogenomic Analysis of the Genus *Ralstonia* Based on 686 Single-Copy Genes. *Springer. Plant Sci*, 109, 71-82.

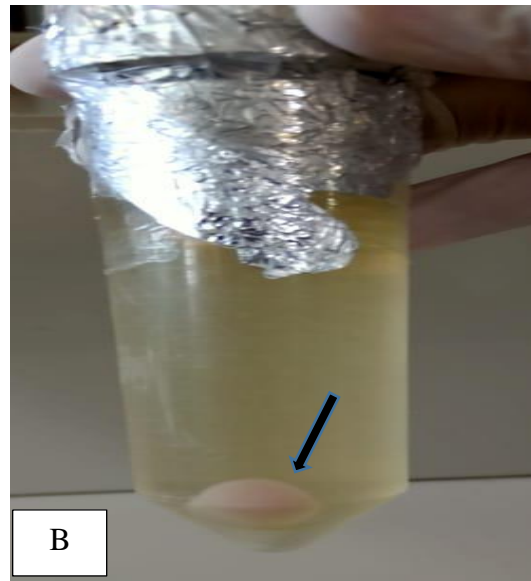
LAMPIRAN



Lampiran 1. Pucuk cengkeh yang menunjukkan gejala penyakit pembuluh kayu cengkeh yang disebabkan *R.syzygii* subsp. *syzygii*



Lampiran 2. Sampel akar, batang, ranting, daun cengkeh sakit persiapan isolasi bakteri.



Lampiran 3. Bakteri *Ralstonia syzygii* pada media kultur cair CPG (A), Bakteri *R. syzygii* setelah sentrifuge (B)



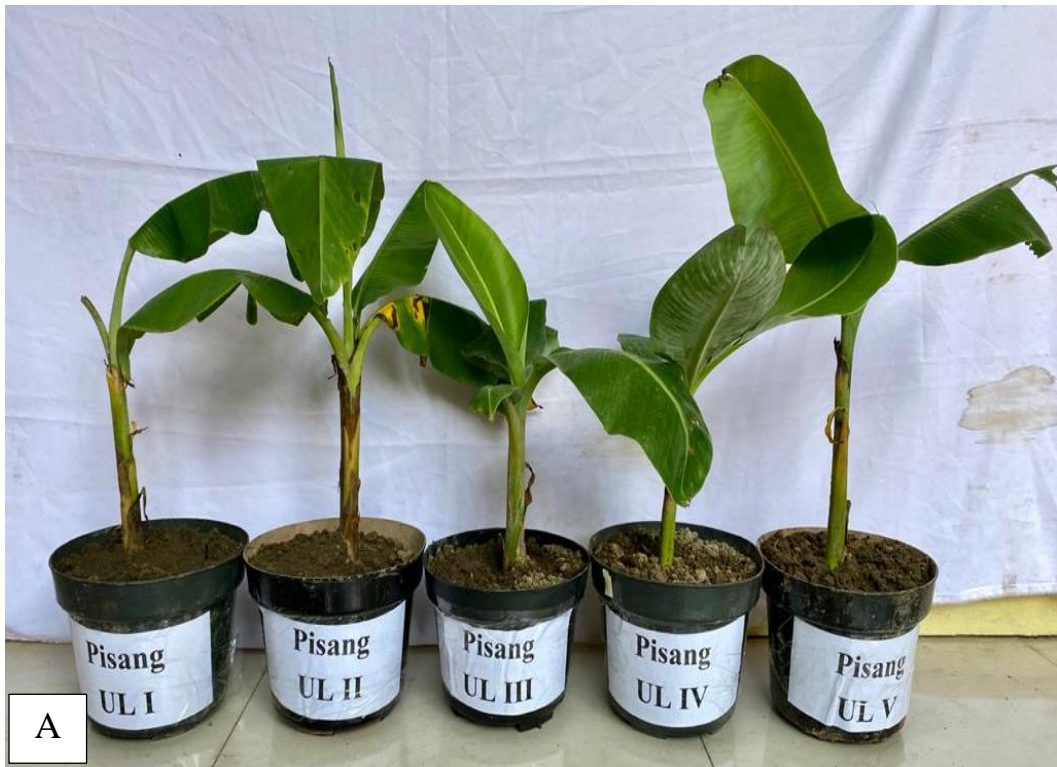
Lampiran 4. Proses Infeksi *R. syzygii* pada beberapa tanaman uji (Cabai, Tomat, Pisang, *Mentha canadensis*, *Verbena alternifolia*, *Heliconia*).



Lampiran 5. Cabai sebelum infeksi *R. syzygii* (A), Cabai pada 48 hari setelah infeksi (hsi) *R. syzygii*



Lampiran 6. Tomat sebelum infeksi *R. syzygii* (A), Tomat pada 48 hari setelah infeksi (hsi) *R. syzygii*



Lampiran 7. Pisang sebelum infeksi *R. syzygii* (A), Pisang pada 48 hari setelah infeksi (hsi) *R. syzygii*



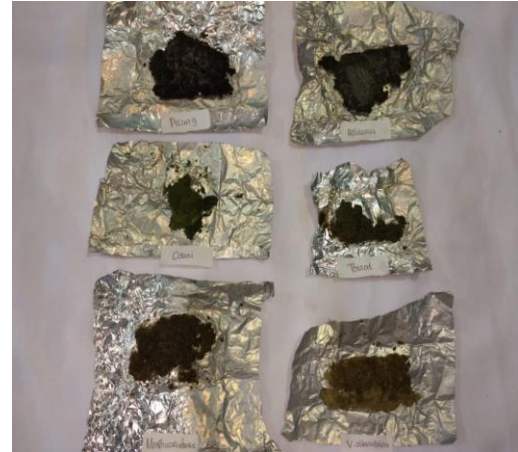
Lampiran 8. *Heliconia* sebelum infeksi *R. syzygii* (A), *Heliconia* pada 48 hari setelah infeksi (hsi) *R. syzygii*



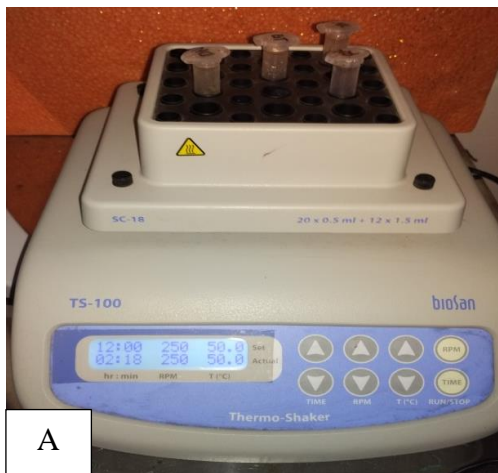
Lampiran 9. *Menthacanadensis* (Min canada) sebelum infeksi *R. syzygii* (A), *Menthacanadensis* (Min canada) pada 48 hari setelah infeksi (hsi) *R. syzygii*



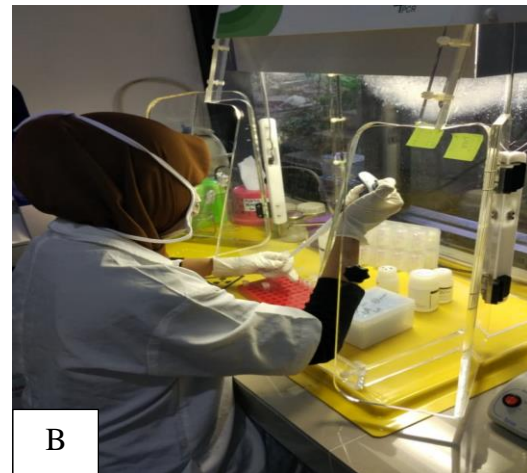
Lampiran 10. *Verbesina alternifolia* (mahkota kuning) sebelum infeksi *R. syzygii* (A), *Verbesina alternifolia* (mahkota kuning) pada 48 hari setelah infeksi (hsi) *R. syzygii*



Lampiran 11. Persiapan ekstraksi DNA *R. syzygii* pada sampel tanaman uji hasil infeksi *R. syzygii*.

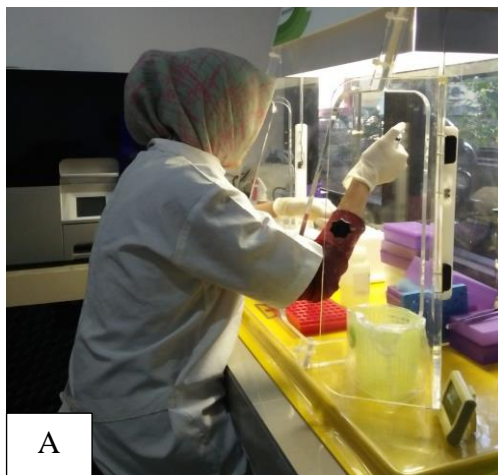


A



B

Lampiran 12. Pemanasan sampel tanaman uji pada heating block 65 °C (A), ekstraksi DNA jaringan tanaman uji hasil infeksi *R. syzygii*



A

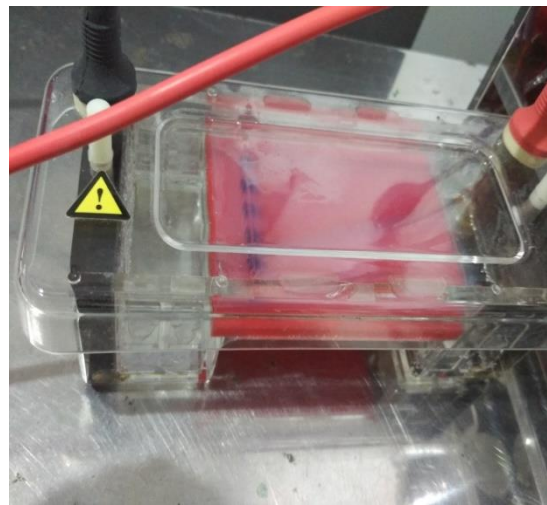


B

Lampiran 13. Pembuatan komponen PCR (A), Proses PCR (B)



Lampiran 14. DNA murni (1. Cabai, 2. Tomat, 3. Pisang, 4. *Mentha canadensis*, 5. *V. Alternifolia*, 6. *Heliconia*, 7. Cengkeh (Kontrol positif), 8. H₂O (Kontrol negatif)) hasil PCR menggunakan Primer Spesifik *R. syzygii*



Lampiran 15. Proses visualisasi DNA menggunakan gel elektroforesis (Agarose 1%)



Lampiran 16. Proses visualisasi DNA pada gel dokumentasi



UNTAD

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO
PASCASARJANA

Kampus Bumi Tadulako Tondo
Jl. Soekarno Hatta Km. 9 Telp: (0451) 429378 Fax: (0451) 455961
email: pasca@untad.ac.id
Palu - Sulawesi Tengah 94118

TANDA PERSETUJUAN PERBAIKAN TESIS

Pada hari ini Selasa tanggal 30 Juni 2020, Jam 09.00 Wita, telah dilaksanakan Ujian Tertutup, a.n. :

Nama : Fitriah Balosi
No. Stambuk : E 202 18 011
Program Studi : Ilmu-ilmu Pertanian
Program Pendidikan : Magister (S2)
Judul Penelitian : Deteksi Cepat *Ralstonia syzggii* subsp. *syzggii* Penyebab Penyakit Pembuluh Kayu pada Cengkeh dan Tanaman Inang Lainnya dengan Polymerase Chain Reaction

Ujian tertutup yang bersangkutan dinyatakan lulus dengan catatan bahwa sebelum Tesis diserahkan sebagai syarat wisuda, yang bersangkutan harus menyempurnakan draft tesisnya sesuai saran dan masukan pada ujian tertutup.

Hasil penyempurnaan tersebut ditunjukkan kepada Komisi Penasihat dan tim penilai. Penyempurnaan draft tesis dinyatakan dipenuhi jika Komisi Penasihat dan tim penilai menandatangani persetujuan perbaikan Tesis di bawah ini.

No.	Nama Tim Penilai	Jabatan	Tanggal	Tanda Tangan
1.	Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si.	Ketua	17/07/2020	
2.	Dr. Ir. Johanis, Panggeso, M.P.	Sekretaris	16/07/2020	
3.	Dr. Irwan Lakani, S.P., M.Si	Anggota	16/07/2020	
4.	Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si., ASEAN Eng	Anggota	15/07/2020	
5.	Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D	Anggota	13/07/2020	

Palu, 2020

Diketahui,
Koordinator Program Studi
Magister Ilmu-ilmu Pertanian



Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si.
NIP. 19690612 199803 1 006



UNTAD

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN

UNIVERSITAS TADULAKO

PASCASARJANA

Kampus Bumi Tadulako Tondo

Jl. Soekarno Hatta Km 9 Telp. (0451) 429378 Fax: (0451) 455961

email: pasca@untad.ac.id

Palu - Sulawesi Tengah 94118

Nomor 1707/UN28 4/TU/2020
Penhal Undangan Pengujian Tesis

Palu, 22 Juni 2020

Kepada Yth:

- 1 Prof. Dr. Shahabuddin M.Si
- 2 Dr. Ir. Johans Panggeso M.P
- 3 Dr. Ir. Irwan Lakani S.P., M.Si
- 4 Prof. Dr. Ir. Alam Anshary M.Si ASEAN Eng
- 5 Nur Edy S.P., M.P., Ph.D

Di -

P A L U

Dengan hormat kami mengundang Saudara untuk menghadiri dan bertindak sebagai penguji dalam sidang Ujian Tesis mahasiswa atas nama

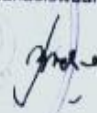
Nama Fitriah Balosi
Nomor Pokok E 202 18 011
Program Studi Ilmu-ilmu Pertanian
Judul Penelitian Deteksi Cepat *Ralstonia solanaceae* subsp. *solanaceae* Penyebab Penyakit Pembuluh Kayu pada Cengkeh dan Tanaman Inang Lainnya dengan Polymerase Chain Reaction

Akan dilaksanakan pada

Hari/Tanggal Selasa, 30 Juni 2020
Jam 09.00 - Selesai
Tempat Dilaksanakan Secara Online (Aplikasi Zoom)

Atas perhatian dan kehadirannya tepat Waktu, disampaikan terima kasih

an Direktur
Wakil Direktur Bidang Akademik dan
Kemahasiswaan


Prof. Dr. Syamsul Bachri, S.E., M.Si.
NIP. 19620911 198910 1 002

Tembusan Kepada Yth:

- 1 Wakil Direktur Bidang Akademik dan Kemahasiswaan PPs UNTAD di Palu.
- 2 Wakil Direktur Bidang Umum PPs UNTAD di Palu.
- 3 Koordinator Program Studi Magister Akuntansi PPs UNTAD di Palu.
- 4 Measng-measng penguji di Palu.
- 5 Mahasiswa yang bersangkutan.
- 6 Arsip



UNTAD

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO
PASCASARJANA

Kampus Bumi Tadulako Tondo
Jl. Soekarno Hatta Km 9 Telp. (0451) 429378 Fax (0451) 455961
email: pasca@untad.ac.id
Palu, Sulawesi Tengah 94118

REKOMENDASI

Setelah mempelajari dan mempertimbangkan penampilan akademik secara keseluruhan serta Tesis yang diajukan oleh

Nama: **Fitriah Balosi**
Stambuk: **1 202 18 011**
Program Studi: **Ilmu-ilmu Pertanian**
Judul Penelitian: **Deteksi Cepat *Ralstonia solanaceae* subsp. *solanaceae* Penyebab Penyakit Pembuluh Kayu pada Cengkeh dan Tanaman Inang Lainnya dengan Polymerase Chain Reaction**

Maka dengan ini kami rekomendasikan bahwa yang bersangkutan dapat menempuh Ujian Tesis, dengan tim penguji sebagai berikut

- | | |
|--|---------------|
| 1. Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si | Ketua |
| 2. Dr. Ir. Johans, Panggawa, M.P | Sekretaris |
| 3. Dr. Irwan Lakani, S.P., M.Si | Penguji Utama |
| 4. Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si ASEAN Eng. | Pembimbing I |
| 5. Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D | Pembimbing II |

Jadual Pelaksanaan Ujian Tesis :

Hari/Tanggal: Selasa, 30 Juni 2020
Jam: 09.00 Wita
Tempat: Dilaksanakan Secara Online (Aplikasi Zoom)

Demikian rekomendasi ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk pengajuan Ujian Tesis, atas kerjasama yang baik diucapkan terima kasih

Palu, 22 Juni 2020

Wakil Direktur Bidang Akademik dan
Kemahasiswaan

Prof. Dr. Syamsul Bachri, S.E., M.Si
NIP. 19620911 198910 1 002



UNTAD

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO
PASCASARJANA

Kampus Bumi Tadulako Tondo
Jl. Soekarno Hatta Km 9 Telp. (0451) 429378 Fax: (0451) 455961
email: pasca@untad.ac.id
Palu - Sulawesi Tengah 94118

KEPUTUSAN
DIREKTUR PASCASARJANA
UNIVERSITAS TADULAKO
Nomor: 1706/JUN28 4/TU/2020

TENTANG

PENETAPAN TIM PENYELENGGARA UJIAN TESIS SEBAGAI TUGAS AKHIR
MAHASISWA PROGRAM PASCASARJANA UNIVERSITAS TADULAKO

Direktur Pascasarjana Universitas Tadulako

- Membaca** Usulan Koordinator Program Studi Magister Ilmu-limu Pertanian tentang Penyelenggaraan dan Komposisi Tim Pelaksana Ujian Tugas Akhir.
Rekomendasi Wakil Direktur Bidang Akademik dan Kemahasiswaan tentang Ketua Tim Penyelenggara Ujian Tugas Akhir.
- Menimbang**
- Bahwa pelaksanaan ujian tesis sebagai tugas akhir mahasiswa Pascasarjana Universitas Tadulako adalah persyaratan akademik untuk memperoleh gelar magister jenjang strata dua (S2).
 - Bahwa mahasiswa yang ditetapkan dalam keputusan ini untuk menempuh ujian tugas akhir telah memenuhi syarat akademik.
 - Bahwa berdasarkan pertimbangan butir a dan b di atas pelaksanaannya ditetapkan dengan keputusan direktur.
- Mengingat**
- Undang-Undang Nomor 20 tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional.
 - Undang-Undang RI Nomor 12 tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi.
 - Peraturan Pemerintah RI Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi.
 - Keputusan Presiden RI Nomor 36 Tahun 1981 tentang Pendirian Universitas Tadulako.
 - Peraturan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 15 Tahun 2015 tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi.
 - Keputusan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 44 Tahun 2017 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Tadulako.
 - Keputusan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 8 Tahun 2015 tentang Statuta Universitas Tadulako.
 - Keputusan Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi Nomor 159/DIT/2007 Tanggal 29 Januari 2007 tentang Tim Penyelenggaraan Program Studi Magister Ilmu-limu Pertanian Jenjang Program Strata Dua (S-2) pada Universitas Tadulako.
 - Keputusan Badan Akreditasi Nasional Perguruan Tinggi Nomor 0545/SK/BAN-PT/Akred/M/V/2016 Tanggal 20 Mei 2016 tentang Status Nilai Peningkat dan Masa Bertaku Akreditasi Program Magister di Perguruan Tinggi Program Studi Ilmu-limu Pertanian pada Universitas Tadulako.
 - Keputusan Rektor Universitas Tadulako Nomor 402/JUN28/KP/2014 tentang Pemberhentian dan Pengangkatan Dosen yang diberi Tugas Tambahan sebagai Direktur Pascasarjana pada Universitas Tadulako periode 2014-2018.
 - Surat Edaran Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Nomor 1 Tahun 2020 Tentang Pencegahan Penyebaran Corona Virus Disease (Covid-19) di Perguruan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan. Butir Nomor 5 (Lima) Menyelenggarakan Pembelajaran Jarak Jauh Sesuai dengan Kondisi PT Masing-Masing dan Menyarankan Mahasiswa untuk Melakukan Pembelajaran dari Rumah.
 - Rektor Nomor 4076/JUN28/SE/2020 Tentang Perubahan Kelima Atas Surat Edaran Rektor Nomor 3981/JUN28/SE/2020 Tentang Penyesuaian Sistem Kerja Aparatur Sipil Negara dan Kewaspadaan dalam Rangka Upaya Pencegahan Infeksi Covid-19 di Lingkungan Universitas Tadulako. Butir nomor 1 Memperpanjang Masa Pembelajaran/ Praktikum/ Ujian Akhir Semester/ Seminar Proposal/ Seminar Hasil/ Ujian Tugas Akhir/ Wisuda dan Kegiatan Akademik Lainnya yang Melibatkan Mahasiswa untuk Dilaksanakan Secara Online/Daring sampai dengan Tanggal 4 Juni 2020 (Akhir Perkuliahan Semester Genap 2019/2020).



UNTAD

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO
PASCASARJANA
Kampus Bumi Tadulako Tondo
Jl. Soekarno Hatta Km. 9 Telp. (0451) 429378 Fax (0451) 455961
email: pasca@untad.ac.id
Palu - Sulawesi Tengah 94118

MEMUTUSKAN

Menetapkan

PERTAMA

Menetapkan mahasiswa peserta ujian Tesis

Nama Fitnah Balosi

Stambuk E 202 18 011

Program Studi Ilmu-ilmu Pertanian

Judul Tesis Deteksi Cepat *Ralstonia solanaceae* subsp. *solanaceae* Penyebab Penyakit
Pembuluh Kayu pada Cengkeh dan Tanaman Inang Lainnya
dengan Polymerase Chain Reaction

Tim penguji

1 Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si

Ketua

2 Dr. Ir. Johanis Panggeso, M.P.

Sekretaris

3 Dr. Ir. Inwan Lakani, S.P., M.Si

Penguji Utama

4 Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si, ASEAN Eng.

Penguji Anggota

5 Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D.

Penguji Anggota

KEDUA

Konsekuensi pembiayaan yang diperlukan atas diterbitkannya keputusan ini
dialokasikan melalui sistem perhitungan pembayaran **Remunerasi** sesuai dengan
ketentuan peraturan Perundang-undangan yang berlaku

KETIGA

Pelaksanaan Ujian Tertutup Secara Online/ Daring Menggunakan Aplikasi Zoom


KETIGA

Keputusan ini berlaku terhitung mulai tanggal **ditetapkan** dengan ketentuan apabila
dikemudian hari ternyata terdapat kekeliruan didalamnya akan diadakan perbaikan
sebagaimana mestinya

Ditetapkan di P A L U

Pada Tanggal : 22 Juni 2020

Direktur


Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si, ASEAN Eng.
NIP. 19621123 198803 1 004

Tembusan Kepada Yth:

1. Rektor Universitas Tadulako (sebagai laporan) di Palu
2. Wakil Direktur Bidang Akademik dan Kemahasiswaan PPs UNTAD di Palu
3. Wakil Direktur Bidang Umum PPs UNTAD di Palu
4. Koordinator Program Studi MIP PPs UNTAD di Palu
5. Tim Penguji di Palu
6. Mahasiswa yang bersangkutan
7. Arsip



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
PASCASARJANA UNTAD

Kampus Bumi Tadulako Tondo
Jl. Soekarno Hatta Km. 9 Telp: (0451) 429378 Fax: (0451) 455961
email: pasca@untad.ac.id
Palu - Sulawesi Tengah 94118

**KEPUTUSAN
DIREKTUR PASCASARJANA
UNIVERSITAS TADULAKO
Nomor: 141/UN28.4/KM/2020**

TENTANG

**PENETAPAN TIM PENYELENGGARAAN PEMBIMBINGAN TUGAS AKHIR
MAHASISWA PASCASARJANA UNIVERSITAS TADULAKO**

Direktur Pascasarjana Universitas Tadulako:

- Membaca** : Rekomendasi Koordinator Program Studi Magister Ilmu-Ilmu Pertanian tentang Komposisi Pembimbing Utama dan Pembimbing Anggota;
- Menimbang** : a. bahwa mahasiswa yang tercantum dalam surat keputusan ini telah memenuhi persyaratan untuk melakukan penelitian dalam rangka penulisan tesis sebagai tugas akhir untuk memperoleh gelar magister;
b. bahwa untuk memenuhi kesempurnaan dalam penulisan tesis ditetapkan tim pembimbing yang memenuhi syarat untuk membimbing dalam penyelesaian tugas akhir;
c. bahwa berdasarkan pertimbangan butir a dan b di atas, penyelenggaraannya ditetapkan dengan keputusan direktur.
- Mengingat** : 1. Undang-Undang Nomor 20 tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan
2. Undang-Undang RI Nomor 12 tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi;
3. Peraturan Pemerintah RI Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
4. Keputusan Presiden R.I. Nomor 36 tahun 1981 tentang Pendirian Universitas Tadulako;
5. Peraturan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 15 Tahun 2015 Tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi
6. Keputusan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi R.I Nomor 44 Tahun 2017 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas
7. Keputusan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi R.I Nomor 8 Tahun 2015 Tentang Statuta Universitas Tadulako.
8. Keputusan Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi Nomor 159/D/T/2007 Tanggal 29 Januari 2007 tentang Ijin Penyelenggaraan Program Studi Magister Ilmu-Ilmu Pertanian Jenjang Program Strata Dua (S-2) pada
9. Keputusan Badan Akreditasi Nasional Perguruan Tinggi Nomor : 0545/SK/BAN-PT/Akred/MN/2016 tanggal 20 Mei 2016 tentang Status, Nilai, Peringkat dan Masa Berlaku Hasil Akreditasi Program Magister di Perguruan Tinggi. Program Studi Ilmu-Ilmu Pertanian pada Universitas Tadulako
10. Keputusan Rektor Universitas Tadulako Nomor: 402/UN28/KP/2014 tentang Pemberhentian dan Pengangkatan Dosen yang diberi Tugas Tambahan sebagai Direktur Pascasarjana pada Universitas Tadulako periode 2014-2018;



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
PASCASARJANA UNTAD

Kampus Bumi Tadulako Tondo
Jl. Soekarno Hatta Km. 9 Telp: (0451) 429378 Fax: (0451) 455961
email: pasca@untad.ac.id
Palu - Sulawesi Tengah 94118

MEMUTUSKAN

Menetapkan :

- PERTAMA** : Menetapkan Sdr:
1. Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si
 2. Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D

sebagai tim pembimbing untuk tugas pembimbing penyelesaian tugas akhir mahasiswa di bawah ini.

Nama : Fitriah Balosi
 Stambuk : E 202 18 011
 Program Studi : Ilmu-ilmu Pertanian
 Judul Tesis : Identifikasi Morfologi dan Molekuler Ganoderma Spp. Di Perkebunan Kelapa Sawit

- KEDUA** : Tugas tim adalah melakukan pembimbingan terhadap mahasiswa dalam penyelesaian tugas akhir maksimal selama 6 (enam) bulan terhitung mulai dieluarkannya surat Keputusan ini;
- KETIGA** : Konsekuensi pembiayaan yang diperlukan atas diterbitkannya keputusan ini, dialokasikan melalui system perhitungan pembayaran **Remunerasi** sesuai dengan ketentuan peraturan Perundang-undangan yang berlaku;
- KEEMPAT** : Keputusan ini berlaku terhitung mulai tanggal **ditetapkan**, dengan ketentuan apabila dikemudian hari ternyata terdapat kekeliruan didalamnya akan diadakan perbaikan sebagaimana mestinya;

Ditetapkan di : P A L U
Pada Tanggal : 22 Januari 2020

Direktur



Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si, ASEAN Eng
NIP. 19621123 198803 1 004

- Tembusan Kepada Yth.:**
1. Rektor Universitas Tadulako (sebagai laporan) di Palu
 2. Wakil Direktur Bidang Akademik dan Kemahasiswaan PPs UNTAD di Palu
 3. Wakil Direktur Bidang Umum PPs UNTAD di Palu
 4. Koordinator Program Studi M IP PPs UNTAD di Palu
 5. Tim Penguji di Palu
 6. Mahasiswa yang bersangkutan
 7. Arsip



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO
PASCASARJANA
 Kampus Bumi Tadulako Tondo
 Jl. Soekarno Hatta Km 9 Telp (0451) 429378 Fax (0451) 455961
 email pasca@untad.ac.id
 Palu - Sulawesi Tengah 94118

Hal : Permohonan Ujian Tertutup TESIS

Dengan hormat, dengan ini saya

Nama Mahasiswa **Fitriah Balosi**
 Nomor Pokok **E 202 18 011**
 Program Studi **Ilmu-ilmu Pertanian**
 Judul Penelitian **Deteksi Cepat Ralstonia syzygi subsp syzygi Penyebab Penyakit Pembuluh Kayu pada Cengkeh dan Tanaman Inang Lainnya dengan Polymerase Chain Reaction**

Komis Penasihat, **Ketua Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si., ASEAN Eng**
 Anggota Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D

Mengajukan permohonan untuk diselenggarakan Ujian Tertutup Tesis. Untuk itu, bersama ini terlampir Naskah Tesis yang telah disetujui oleh Komisi Penasihat

Palu, 22 Juni 2020

Pemohon,

Fitriah Balosi
E 202 18 011

Persetujuan tim penjurii

No	Nama	Jabatan	Tanggal Penerimaan Naskah	Persetujuan Waktu Seminar		Tanda Tangan
				Hari/Tgl	Jam	
1	Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si	Ketua		Selasa, 30-Juni-2020	09 00-selesai	
2	Dr. Ir. Johanis, Panggaso, M.P	Sekretaris		Selasa, 30-Juni-2020	09 00-selesai	
3	Dr. Irwan Lakani, S.P., M.Si	Anggota		Selasa, 30-Juni-2020	09 00-selesai	
4	Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si., ASEAN Eng	Anggota		Selasa, 30-Juni-2020	09 00-selesai	
5	Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D	Anggota		Selasa, 30-Juni-2020	09 00-selesai	

Catatan :

Tanggal penyelenggaraan seminar 7 s/d 15 hari setelah naskah diterima.
 Apabila ada perbedaan waktu dari masing-masing penjurii maka K.P.S akan mengatur sehingga ditemukan waktu yang sesuai oleh seluruh-kurangnya 80% jumlah penjurii

Diketahui
 Koordinator Program Studi
 Magister Ilmu-ilmu Pertanian

Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si
 NIP. 19690612199831006



UNTAD

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO

PASCASARJANA

Kampus Bumi Tadulako Tondo
Jl. Soekarno Hatta km 2 Palu (0451) 429378 Fax (0451) 455961
email: pascas@untad.ac.id
Palu Sulawesi Tengah 94118

BERITA ACARA UJIAN TESIS MAGISTER

Pada hari ini Selasa, tanggal 30 Juni 2020 pukul 09.00 berdasarkan Undangan Ujian Tesis Magister Nomor 1706/UN284/TK/2020 tanggal 27 Juni 2020 telah dilaksanakan Ujian Tesis Magister terhadap mahasiswa

Nama Mahasiswa **Fitriah Baloni**
Nomor Pokok **F 20218 011**
Program Studi **Ilmu-ilmu Pertanian**
Judul Penelitian **Deteksi Cepat Ralstonia solanaceae subsp. solanaceae Penyebab Penyakit Pembuluh Kayu pada Cengkeh dan Tanaman Inang Lainnya dengan Polymerase Chain**

Oleh panitia Ujian Tesis Program Pascasarjana Universitas Tadulako yang sesuai dengan Surat Keputusan Panitia Ujian Tesis Nomor 1706/UN284/TK/2020 tanggal 27 Juni 2020

Ketua **Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si**
Sekretaris **Dr. Johannis Panggeso, M.P**
Anggota
1. **Dr. Irwan Lakani, S.P., M.Si**
2. **Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si, ASEAN Eng**
3. **Nur Fdy, S.P., M.P., Ph.D**

Dengan hasil **Lulus / Tidak Lulus**
Nilai **A / A- / B+ / B / B- / C / D / E / ***
Kategori **Dengan Pujian / Sangat Memuaskan / Memuaskan ***

Yudisium telah diucapkan oleh Panitia Ujian Tesis Program Pascasarjana Universitas Tadulako di depan peserta ujian

Berita acara ini dibuat rangkap dua dan ditanda tangani oleh Ketua, Sekretaris dan Mahasiswa teruji

Palu, 30 Juni 2020

Ketua


Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si

Mahasiswa


Fitriah Baloni

Sekretaris


Dr. Ir. Johannis Panggeso, M.P

* : Ciri yang tidak perlu



UNTAD

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO

PASCASARJANA

Kampus Bumi Tadulako Tondo

Jl. Soekarno Hatta Km. 9 Telp. (0451) 429378 Fax (0451) 455961

email: pascas@untad.ac.id

Palu - Sulawesi Tengah 94118

Nomor 1706/UN28.4/11/2020
Hal Laporan Hasil Ujian Tesis
Lamp Daftar Nilai Mahasiswa

Palu, 30 Juni 2020

Yth Direktur Pascasarjana
Universitas Tadulako
Di Palu

Dengan ini Panitia Ujian Tesis untuk Sdr(i) Fitriah Balosi, Nomor Pokok E 202 18 011 Pascasarjana Universitas Tadulako, Program Magister Ilmu-ilmu Pertanian, melaporkan hasil ujian yang diselenggarakan pada

Hari, Tanggal Selasa, 30 Juni 2020
Pukul 09:00 Wita
Tempat Ruangan Ujian PPS-UNTAD

Bahwa mahasiswa tersebut dinyatakan lulus / tidak lulus dengan nilai (A / A- / B+ / B / B- / C / D / E *).

Panitia Ujian Tesis :

Ketua Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si
Sekretaris Dr. Johans, Pangseso, M.P.
Anggota 1. Dr. Irwan Lakani, S.P., M.Si
2. Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si ASEAN Eng
3. Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D.

Tanda Tangan

1
2
3
4
5



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO
PASCASARJANA

Kampus Bumi Tadulako Tondo
Jl. Soekarno Hatta Km 9 Telp: (0451) 420378 Fax: (0451) 455081
email: pasca@untad.ac.id
Paku - Sulawesi Tengah 94118

LAPORAN DAFTAR HADIR UJIAN TERTUTUP

Nama Mahasiswa: **Fitriah Balosi**
Nomor Pokok: **E 202 18 011**
Program Studi: **Ilmu - Ilmu Pertanian**
Komis Penasihat: **1. Prof. Dr. Ir. Alam Anshary, M.Si, ASEAN Eng (Ketua)**
2. Nur Edy, S.P., M.P., Ph.D (Anggota)
Judul Penelitian: **Deteksi Cepat Ralstonia solanaceae subsp. solanaceae Penyebab Penyakit Pembuluh Kayu pada Cengkeh dan Tanaman Inang Lainnya dengan Polymerase Chain Reaction**
Hari Tanggal: **Selasa, 30 Juni 2020**
Waktu diskusi: **09.00 Wita**
Tempat: **Ruangan Ujian PPS-UNTAD**

NO.	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
2	Prof Dr Shahabuddin, M.Si	Ketua Penguji	1
3	Dr Ir Johans, Panggeso, M.P	Sekretaris Penguji	2
4	Dr Irwan Lakani, S.P, M.Si	Anggota	3
5	Prof Dr Ir Alam Anshary M.Si, ASEAN Eng	Anggota	4
6	Nur Edy, S.P, M.P, Ph.D	Anggota	5

Koordinator Program Studi
Magister Ilmu-Ilmu Pertanian

Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si
NIP. 19690612 190803 1 006



UNTAD

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO
PASCASARJANA

Kampus Baru Tadulako Tando
Jl. Sekeloa Utara Km. 9 Tapp. 0451 470378 Fax. 0451 451500
email: pascas@untad.ac.id
Telp. Tadulako Tanggal: 041 8

TANDA PERSETUJUAN NILAI AKHIR TESIS

Pada hari ini Kamis tanggal 6 Februari 2018 Jam 10:00 Wita telah dilaksanakan Ujian Tertutup a.n.

Nama: Fitriah Balasol
No. Stambul: E 202 18 011
Program Studi: Ilmu Ilmu Pertanian
Program Pendidikan: Magister (S2)
Judul Penelitian: Deteksi Cepat *Ralstonia solanaceae* subsp. *solanaceae* Penyebab Penyakit Pembuluh Kayu pada Cengkeh dan Tanaman Inang Lainnya dengan Polymerase Chain Reaction
Hari/Tanggal: Selasa 30 Juni 2020
Waktu diskusi: 09:00
Tempat: Ruang Ujian PPs UNTAD

Pengantar: (jika ada) komentar lain

No	Nama Tim Penilai	Metode	Hasil	Penulisan	Penggunaan	Core	Jumlah	Rata-rata
		Penelitian	Penelitian	Penelitian	Materi	Presentasi		
2	Prof Dr Shahabuddin M.Si	73	85	88	87	87	450	87,8
3	Dr Ir Joharis, Panggaso, M.P	90	90	90	90	90	450	90
4	Dr Irwan Lakani, S.P, M.Si	86	88	87	87	87	435	87
5	Prof Dr Ir Alam Anshary, M.Si, ASEAN Eng	90	90	85	90	91	450	90
6	Nur Edy S.P, M.P, Ph.D	90	90	90	90	90	450	90
Jumlah							1815	87,5
Rata-rata								87,5

Lulus A/A-/B+/B/B-/C/D/E/*
Pedoman Penilaian:

- 1 A - 85
- 2 A - 80 - 85
- 3 B+ - 75 - 80
- 4 B - 70 - 75
- 5 B- - 65 - 70
- 6 C - 60 - 65
- 7 D - 45 - 50
- 8 E - 0 - 45

Moderator

No.	Nama Tim Penilai	Tanda Tangan
1	Prof Dr Shahabuddin, M.Si	
2	Dr Ir Joharis, Panggaso, M.P	
3	Dr Irwan Lakani, S.P, M.Si	
4	Prof Dr Ir Alam Anshary, M.Si, ASEAN Eng	
5	Nur Edy S.P, M.P, Ph.D	



UNTAD

KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO
PASCASARJANA

Kampus Bumi Tadulako Tondo
Jl. Soekarno Hatta Km. 9 Telp: (0451) 429378 Fax: (0451) 455961
email: pasca@untad.ac.id
Palu - Sulawesi Tengah 94118

SARAN – SARAN TIM PENGUJI
SEMINAR HASIL PENELITIAN
(A.n. Fitriah Balosi)

Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si.

1. Latar Belakang

- Ditambah dgn info. pttas. cengk. d. fultsug.
- Kelelahan hulumat pd. hrg. dlmn.

2. Teknik Pemilihan

- Tabel 4. Diperbaiki Tabelnya

3. Kesimpulan

- Sebaiknya dgn hujus.

Palu, 10 Juni 2020

Penguji,


Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS TADULAKO
PASCASARJANA

Kampus Bumi Tadulako
Jl. Soekarno Hatta Km. 9 Telp: (0451) 429378, Fax : (0451) 459961
Laman : pasca.untad.ac.id, Email : pascasarjana@untad.ac.id
Palu - Sulawesi Tengah 94118

TRANSKRIP AKADEMIK (ACADEMIC TRANSCRIPT)

Number Number : 1706/UN28.4/KM/2020

Nama / Name : FITRIA BALOSI
No. Stambuk / Student Number : E20218011
Program Studi / Study Program : MAGISTER ILMU-ILMU PERTANIAH
Konsentrasi / Concentration : Agroteknologi / Agritechology
ANGKATAN : 2018/2019

No.	KODE	MATA KULIAH	SKS/ Credit	Angka/ Number	K x N / x G	Haruf/ Letter
1	201162001	Filsafat Ilmu dan Metodologi Penelitian / Philosophy of Science and Research Methods	3	3,75	11,25	A-
2	207152002	Ekologi Pertanian / Agriculture Ecology	2	4,00	8	A
3	207152003	Statistika / Statistics	3	4,00	12	A
4	207152004	Klimatologi Pertanian / Agriculture Climatology	2	3,75	7,5	A-
5	207152009	Budidaya Tanaman Tropik / Tropical Plant Cultivation	3	4,00	12	A
6	207152010	Pengembangan Sumber Daya Tanah / Soil Resource Development	3	4,00	12	A
7	207152005	Manajemen Sumberdaya Alam dan Lingkungan Hidup / Natural Resource and Environmental Management	3	4,00	12	A
8	207152006	Teknik Penulisan Ilmiah / Scientific Writing Technique	2	4,00	8	A
9	207152018	Teknologi Perbanyakan Bahan Tanaman / Propagation Technology of Plant Materials	3	4,00	12	A
10	207152019	Perindungan Tanaman / Plant Protection	3	4,00	12	A
11	207152020	Ilmu Gizi Pangan / Nutritional Food Science	3	3,75	11,25	A-
12	207152007	Perencanaan Pengembangan Pertanian / Planning Agricultural Development	3	4,00	12	A
13	207152008	Sistem Pertanian Terpadu / Integrated Farming System	2	4,00	8	A
14	207152027	Bioteknologi Tanaman / Plant Biotechnology	3	4,00	12	A
15	207152032	Pestisida dan Lingkungan / Pesticides and Environment	3	4,00	12	A
16	207152051	Tesis / Thesis	6	4,00	24	A
				3,75	22,5	A-
				3,50	21	B+
				3,00	18	B
				2,75	16,5	B-
				2,50	15	C
				1,00	6	D
				0,00	0	E
JUMLAH SKS, IPK dan NILAI SKS TANPA TESIS			48	3,95	182	
JUMLAH SKS, IPK dan NILAI SKS DENGAN NILAI TESIS A			47	3,96	186	
JUMLAH SKS, IPK dan NILAI SKS DENGAN NILAI TESIS A-			47	3,93	184,5	
JUMLAH SKS, IPK dan NILAI SKS DENGAN NILAI TESIS B+			47	3,89	183	
JUMLAH SKS, IPK dan NILAI SKS DENGAN NILAI TESIS B			47	3,83	180	
JUMLAH SKS, IPK dan NILAI SKS DENGAN NILAI TESIS B-			47	3,80	178,5	
JUMLAH SKS, IPK dan NILAI SKS DENGAN NILAI TESIS C			47	3,77	177	
JUMLAH SKS, IPK dan NILAI SKS DENGAN NILAI TESIS D			47	3,57	168	
JUMLAH SKS, IPK dan NILAI SKS DENGAN NILAI TESIS E			47	3,45	162	

Judul Tesis / Title of Thesis : DETEKSI CEPAT RALSTONIA SYZGII SUBSP. SYZGII PENYEBAB PENYAKIT PEMBULUH KAYU PADA CENGKEH DAN TANAMAN INANG LAINNYA DENGAN POLYMERASE CHAIN REACTION

JIKA NILAI AKHIR TESIS A, MAKA IPK YANG DIPEROLEH = 3,96 YUDISIUM PUJIAN*
 JIKA NILAI AKHIR TESIS A-, MAKA IPK YANG DIPEROLEH = 3,93 YUDISIUM SANGAT MEMUASKAN*
 JIKA NILAI AKHIR TESIS B+, MAKA IPK YANG DIPEROLEH = 3,89 YUDISIUM SANGAT MEMUASKAN*
 JIKA NILAI AKHIR TESIS B, MAKA IPK YANG DIPEROLEH = 3,83 YUDISIUM SANGAT MEMUASKAN*
 JIKA NILAI AKHIR TESIS B-, MAKA IPK YANG DIPEROLEH = 3,80 YUDISIUM SANGAT MEMUASKAN*
 JIKA NILAI AKHIR TESIS C, MAKA IPK YANG DIPEROLEH = 3,77 YUDISIUM SANGAT MEMUASKAN*
 JIKA NILAI AKHIR TESIS D, MAKA IPK YANG DIPEROLEH = 3,57 YUDISIUM SANGAT MEMUASKAN*
 JIKA NILAI AKHIR TESIS E, MAKA IPK YANG DIPEROLEH = 3,45 TUNDACAGAL/TIDAK LULUS*

PEMBIMBING I : Prof. Dr. Ir. ALAM ANSHARY, M.Si., ASEAN Eng

PEMBIMBING II : NUR EDY, S.P., M.P., Ph.D

PROPOSAL : 30 JANUARI 2020

HASIL PENELITIAN : 10 JUNI 2020

TESIS : 30 JUNI 2020

PREDIKAT YUDISIUM : MEMUASKAN / SANGAT MEMUASKAN / PUJIAN*

LAMA TEMPON STUD : 01-07-2019 s.d 30-06-2020 (1 TAHUN 11 BULAN 29 HARI)

*urut yang lebih dahulu dan terakhir adalah yang di atas

PALU, 30 JUNI 2020

a.n. DIREKTUR
WAKIL DIREKTUR BIDANG AKADEMIK
DAN KEMAHASISWAAN

Prof. Dr. SYANSUL BACHRI, S.E., M.Si.
NIP. 196209111989101002



**LEMBAR CLIRING ADMINISTRASI UJIAN AKHIR STUDI
PASCASARJANA**

NAMA : FITRIAH BALOSI
 NOMOR STAMBUK : E20218011
 PROGRAM STUDI : Magister/Doktoral Ilmu Hukum Peradilan

A. REKAPITULASI NILAI

NO	DISTRIBUSI NILAI	JUMLAH	PARAF PETUGAS
1	A	12	/
2	A-	3	
3	B+	-	
4	B	-	
5	B-	-	
6	C	-	
7	D	-	
8	E	-	
Jumlah Mata Kuliah		= 15	/
IPK tanpa Tesis		= 3,95	

B. ADMINISTRASI

NO	PERSYARATAN	Clearing	
		Ada / Tidak Ada	Paraf
1	LEMBAR CLEARING	Ada/tidak Ada	/
2	BUKTI BAYAR SPP DARI AWAL SAMPAI AKHIR YANG (ASLI)	Ada/tidak Ada	
3	SURAT KETERANGAN BEBAS PIN JAM BUKU PERPUS PUSAT DAN PERPUS PPS UNTAD (ASLI)	Ada/tidak Ada	
4	KRS ONLINE 1 SAMPAI TERAKHIR	Ada/tidak Ada	
5	KHS ASLI DARI SEMESTER 1 S/D 3	Ada/tidak Ada	
6	SK UJIAN PROPOSAL, SK SEMINAR HASIL, SK UJIAN TERTUTUP COPYAN	Ada/tidak Ada	
7	BUKTI JURNAL YANG SUDAH TER-UPLOAD	Ada/tidak Ada	
8	SERTIFIKAT MATRIKULASI (ASLI)	Ada/tidak Ada	
9	SERTIFIKAT TOEFL (ASLI)	Ada/tidak Ada	
10	KETERANGAN CUTI AKADEMIK (asli)	Ada/tidak Ada	
11	MELAMPIRKAN BUKTI PERNAH MENGIKUTI SEMINAR SEMINAR MINIMAL 10X BUAT PROPOSAL DAN HASIL 5 KALI	Ada/tidak Ada	
12	MAAP SHELHEKTER SESUAI PRODI	Ada/tidak Ada	

C. KESIMPULAN

NO	URAIAN	KETERANGAN
1	LAMA TEMPUH STUDI	<u>01</u> TAHUN <u>11</u> BULAN <u>29</u> HARI
2	JADWAL UJIAN TESIS/ TERBUKA	
	HARI : <u>SELASA</u>	TGL U. PROPOSAL : <u>30 Januari 2020</u>
	TGL : <u>30 JUNI 2020</u>	TGL U. HASIL : <u>10 JUNI 2020</u>
	JAM : <u>07.00 WITA - SELESAI</u>	TGL U. TERTUTUP :
4	Paraf Petugas Cliring Administrasi	
5	Paraf Petugas Cliring Nilai	<u>Zulwan</u>

Pada 25 Juni 2020

Mengetahui:
Wakil Direktur Bidang Akademik
Dan Kemahasiswaan



Prof. Dr. Syamsul Bachri, S.E., M.Si.
NIP. 19620911 198910 1 002



**Formulir Persetujuan Unggah dan Perencanaan Publikasi Artikel Ilmiah
Program Studi Ilmu-Ilmu Perikanan, Pascasarjana Universitas Tadulako**

Yang beranda tangan di bawah ini:

Nama : Prof. Dr.-Ir. Alom Anshary, M. Gi., ASEAN Eng
NIP : 1980011506031005

adalah pembimbing dari mahasiswa S1/S2/S3*:

Nama : FITRIAH BALOTI
NIM : E 202 18 011

Program Studi : ILMU-ILMU PERTANIAN

Judul Naskah : Dampak Obat Raktinon terhadap Subsp. *Streptococcus* Penyakit Perambatan Kanyu pada Cangkuk dan tanaman yang tumbuh dengan *Streptococcus* *Reaction*

Menyatakan bahwa naskah ini telah diperiksa dan disetujui untuk:

- Akan dipublikasi di Jurnal Mitra Sains.
- Akan dipublikasi di jurnal nasional terakreditasi pada
(Nama jurnal, bulan dan tahun terbit)
- Akan dipublikasi di jurnal internasional bereputasi pada
(Nama jurnal, bulan dan tahun terbit)
- Akan dipresentasikan sebagai makalah pada Seminar Nasional pada
(Nama seminar, bulan dan tahun terbit prosiding)
- Akan ditulis dalam Bahasa Inggris dan dipresentasikan pada konferensi internasional pada
(Nama konferensi, perkiraan bulan dan tahun terbit prosiding).
- Tidak dipublikasikan karena akan/sedang dalam proses Hak Paten/HKI

Pembimbing,

Palu,
Mahasiswa Pengusul Naskah,

Fitriah Baloti

Hasil Pemeriksaan Dewan Redaksi Mitra Sains:

- Naskah telah diterima dan akan diterbitkan pada Jurnal Mitra Sains.
- Naskah telah diterima dan hanya akan diterbitkan di Jurnal Mitra Sains setelah diulas oleh mitra bestari (*reviewer*) dan diperbaiki oleh penulis. Penulis telah menyatakan kesanggupan untuk memperbaiki sesuai mitra bestari dan dewan redaksi.
- Naskah ditolak dan tidak diterbitkan pada Jurnal Mitra Sains.

Mengetahui,
Ketua Program Studi,

Prof. Dr. Shahabuddin, M.Si.



anggota Dewan Redaksi Mitra Sains,

Nur Edy, Ph.D.

BIODATA PENYUSUN



Penulis bernama lengkap Fitriah Balosi, dilahirkan di Poso (Mapane), Provinsi Sulawesi Tengah pada tanggal 19 April 1991 dan merupakan anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan suami istri Ismail Balosi dan Rahma, S. Adu. Penulis memulai pendidikan SD pada tahun 1997 di SD Negeri 5 Inpres Kilo pada tahun 2003 melanjutkan ke jenjang yang lebih tinggi pada tingkat SMP di SMP Negeri 2 Poso Pesisir Utara setelah lulus pada tahun 2006 kemudian melanjutkan pendidikan di tingkat SMA di SMA Negeri 1 Palu dan lulus pada tahun 2009, kemudian pada tahun 2009 masuk ke perguruan tinggi melalui jalur seleksi bersama masuk perguruan tinggi (SBMPTN) yaitu di Program Studi Agroteknologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Tadulako, Palu dan lulus pada tahun 2014. Tahun 2018 masuk ke perguruan tinggi Pasca Sarjana melalui jalur seleksi bersama masuk perguruan tinggi Pasca Sarjana (SBMPTN) yaitu di Program Ilmu-ilmu Pertanian, Pascasarjana, Universitas Tadulako.