

Analisis Ekspresi Kelompok Gen-Gen Pertahanan Pada Tanaman Pisang Dalam Merespons Bakteri Patogen *Ralstonia solanacearum*

Yunus Effendi¹, Arief Pambudi², Lulu' Nisrina³

^{1,2,3}Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Al Azhar Indonesia, Jalan Sisingamangaraja, Kompleks Masjid Agung Al Azhar, Kebayoran Baru, Jakarta 12110

Penulis untuk Korespondensi/E-mail: effendiy@uai.ac.id

Abstrak - *Blood Disease Bacterium* (BDB) adalah penyakit pada banyak tanaman bernilai ekonomis seperti tanaman pisang yang disebabkan oleh infeksi soil-borne bakteri patogen *Ralstonia solanacearum*. Kemampuan *R.solanacearum* untuk bertahan pada kondisi minimum pada tanah dan luasnya spektrum inang pertumbuhannya termasuk vektor perantara, menyebabkan belum ditemukannya strategi efektif untuk menanggulangi penyebaran penyakit BDB. Pengetahuan tentang respons tanaman pisang terhadap serangan *Ralstonia solanacearum*, merupakan langkah awal untuk memahami strategi tanaman dalam membentuk sistem pertahanan. Dalam penelitian ini, respons ekspresi molekuler gen-gen terkait pertahanan pada tanaman pisang kepok (*Musa paradisiaca*) dianalisis menggunakan teknik semikuantitatif real time PCR. Data pada penelitian ini menunjukkan *WRKY15* memiliki penurunan ekspresi pada hari ke-3 dan ke-7 pasca infeksi. *WRKY18* memiliki ekspresi paling rendah dibandingkan dengan *WRKY15* dan *WRKY23* serta tidak terdeteksi lagi ekspresinya pada hari ke-5 pasca infeksi karena *WRKY18* bersifat represi pada pengaturan sistem pertahanan tanaman basal. Level ekspresi *WRKY23* memiliki pola yang konsisten pada hari ke-1 sampai hari ke-7 pasca infeksi karena *WRKY23* merupakan salah satu early induced gene. Penelitian ini juga didukung dengan data morfologi yang menunjukkan gejala penyakit layu bakteri berupa penguningan daun pada hari ke-5 pasca infeksi dan pada hari-4 pasca infeksi telah terlihat koloni *R.solanacearum* pada pseudostem.

Kata Kunci - Transkriptomik, *WRKY*, *Ralstonia solanacearum*, Penyakit Layu Bakteri

Abstract - *Blood Disease Bacterium* (BDB) is a disease in many economically valuable plants such as banana plants caused by soil-borne infection of pathogenic bacteria *Ralstonia solanacearum*. The ability of *R. solanacearum* to withstand minimum conditions on the ground and the extent of its host growth spectrum including intermediate vectors, has resulted in the lack of effective strategies to combat the spread of BDB. Knowledge about banana plant response to *Ranstonia solanacearum* attack, is the first step to understand crop strategy in forming defense system. In this study, the response of molecular expression of defense-related genes in banana kepok plant (*Musa paradisiaca*) was analyzed using semi-quantitative real time PCR technique. Data in this study showed *WRKY15* had decreased expression on. *WRKY18* has the lowest expression compared to *WRKY15* and *WRKY23* and no longer detected its expression on the 5th post-infection day because *WRKY18* is repressive on the regulation of basal plant defense system. The expression level of *WRKY23* has consistent pattern on the 1st day until the 7th post-infection day because *WRKY23* is one of the early induced gene. This study was also supported by morphological data showing symptom of bacterial wilt disease in the form of yellowing of leaves on the 5th day post infection and on day 4 post infection has seen colonies *R. solanacearum* on pseudostem.

Keywords - Transcriptomic, *WRKY*, *Ralstonia solanacearum*, *Blood Disease Bacterium*

PENDAHULUAN

Blood Disease Banana (BDB) atau penyakit layu bakteri adalah penyakit yang menyebabkan kelayuan pada berbagai tanaman ekonomi penting seperti tomat, kentang, jahe, stroberi dan pisang (Alvarez *et al.* 2010). BDB disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* yang pertama kali ditemukan di Sulawesi pada tahun 1921 oleh Gauman dengan nama *Pseudomonas celebensis* (Hermantoet *et al.* 2013). Saat ini *Ralstonia solanacearum* disebut sebagai *Ralstonia solanacearum species complex* (RSCC) karena kompleksitas yang dimilikinya. Diketahui bahwa RSCC memiliki 5 ras yang setiap rasnya memiliki spesifitas inangnya masing-masing. *R. solanacearum* yang menyerang tanaman pisang termasuk ke dalam ras 2 (Alvarez *et al.* 2010).

BDB yang menyerang tanaman pisang akan menyebabkan kelayuan karena *R. solanacearum* memblok sistem vaskular dari tanaman. Gejala kelayuan pertama kali muncul dengan adanya penguningan daun dari bagian tepi. Gejala kelayuan ini biasanya terdeteksi pada saat tanaman telah dewasa dan akan berbuah sehingga kerugian yang ditimbulkan juga lebih tinggi mengingat biaya produksi yang telah dikeluarkan dan kerugian yang diakibatkan karena gagal panen. Penyakit ini masuk melalui akar tanaman pisang yang mengalami luka lalu berkembang ke sistem vaskular tanaman pisang (NSW Department of Primary Industries 2014).

Sampai saat ini belum ditemukan penanganan yang tepat terhadap BDB yang menyerang tanaman pisang karena ekologi dan epidemiologi dari *R. solanacearum* sangat kompleks dan belum diketahui secara keseluruhan. Sehingga penanganan yang dapat dilakukan pada tanaman pisang dengan BDB adalah mencabut tanaman tersebut apabila telah terdeteksi terserang penyakit. Adapula beberapa penelitian yang menggunakan bakteri antagonistik seperti *Trichoderma harizianum* untuk melawan keberadaan *R. solanacearum* dengan tingkat keberhasilan sebesar $\pm 70\%$ pada skala laboratorium (Hersanti *et al.* 2009). Besarnya tingkat keberhasilan tersebut tidak menutup kemungkinan 30% dari *R. solanacearum* tetap

melakukan penyebaran untuk memperluas wilayahnya.

Oleh sebab itu diperlukan tindakan preventif sebagai salah satu upaya penanganan dari BDB. Tindakan preventif dapat dilakukan dengan menganalisis transkriptomi gen terkait sistem pertahanan pada tanaman pisang yang terserang BDB. Tindakan ini dirasa cukup efektif untuk menekan penyebaran BDB karena dengan melakukan analisis transkriptomik maka tanaman pisang yang terserang BDB lebih cepat diketahui sebelum munculnya tampak visual seperti kelayuan pada daun pisang.

Salah satu kelompok gen pertahanan yang dapat digunakan adalah kelompok gen *WRKY* yang berperan penting dalam perkembangan dan responss cekaman pada tanaman (Goel *et al.* 2016). Gen *WRKY* diketahui terlibat dalam berbagai responss fisiologis seperti pertahanan terhadap patogen, responss cekaman abiotik, penuaan dan pembentukan trikoma (Li *et al.* 2014). Beberapa gen *WRKY* yang telah diketahui merespons patogen adalah *WRKY45*, *WRKY51*, *WRKY63*, *WRKY75* (Zhu *et al.* 2012) dan *WRKY23* (Grunewald *et al.* 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis respon awal ekspresi kelompok gen *WRKY* dan penampakan fenotip pada tanaman pisang pasca infeksi *R. solanacearum*. Data dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai informasi penyusunan *database* profil molekuler ekspresi *early defens related genes* tanaman pisang pasca infeksi *R. solanacearum*. Selain itu, profil responss molekuler tersebut juga diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai kandidat marker molekuler tanaman yang terserang *R. solanacearum* sehingga penyebaran *R. solanacearum* dapat dideteksi lebih awal dan perencanaan penanggulangan *R. solanacearum* dapat disusun dengan cepat

METODOLOGI

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2016 sampai Juli 2017. Penelitian dilakukan di *Green House*, Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Molekuler Universitas Al Azhar

Indonesia, Komplek Masjid Agung Al Azhar, Kebayoran Baru, Jakarta Selatan.

Kultur dan Inokulasi *R. solanacearum* Pada Pisang

Isolat bakteri *R.Solanacearum* didapat dari Laboratorium Agroteknologi Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat. Bakteri dikultur di media *Nutrient Agar* (NA) dengan pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-8} dan dihitung koloninya hingga menemukan 10^8 CFU/ml yang digunakan untuk infeksi pada tanaman pisang. Bakteri kemudian dikultur di media *Nutrient Broth* dan diinkubasi selama 24 jam di stirer incubator pada suhu 37°C dengan kecepatan 120 rpm. Bakteri yang telah diinkubasi kemudian diencerkan dengan NB hingga pengenceran yang menentukan jumlah bakteri sebanyak 10^8 CFU/ml. Hasil pengenceran tersebut digunakan untuk infeksi pada tanaman pisang dengan dosis 2,5 ml yang berisi 10^8 CFU/ml (Ramirez *et al.* 2015).

Pada penelitian ini digunakan 30 tanaman pisang yang akan dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok perlakuan sebanyak 24 tanaman dan kelompok kontrol sebanyak 6 tanaman. Kelompok perlakuan akan dibagi menjadi 8 kelompok yaitu kelompok H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7 pasca inokulasi dan kelompok tanaman pisang untuk pengamatan fenotip. Kelompok kontrol akan dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok tanaman pisang yang akan diambil daunnya untuk isolasi RNA dan kelompok tanaman yang akan diamati penampakan fenotipnya.

Pengamatan Fenotip Tanaman Pisang

Pengamatan fenotip tanaman pisang dilakukan pasca inokulasi *R. solanacearum* yang dilakukan setiap hari selama satu bulan untuk mendokumentasikan perkembangan gejala penyakit layu bakteri dan dilanjutkan setiap satu minggu sekali hingga tanaman pisang menunjukkan gejala kematiannya.

Isolasi RNA

RNA total diisolasi dari bagian daun menggunakan *GENEzolTM Reagent* dan

dimurnikan dengan *phenol:chloroform:isoamil alkohol 1 phase* (PCI) untuk setiap sampel yaitu H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7 dan kontrol. Sebanyak 50-100 mg sampel dihaluskan dengan nitrogen cair lalu dipindahkan ke tabung 1,5 ml steril dan ditambahkan 1 ml *GENEzolTM Reagent* kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang didapat ditambahkan 0,5-1 ml PCI dan disentrifugasi pada 13.000 g selama 5 menit. Pemurnian menggunakan PCI dilakukan sebanyak 2-3 kali sampai warna supernatan yang didapat tidak keruh. Sampel yang telah dimurnikan dengan PCI kemudian ditambah 200 μl kloroform dan divorteks kurang lebih selama 10 detik lalu disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 g selama 10 menit. Supernatan yang didapat dipresipitasi dengan menambahkan 1 volume isopropanol dingin dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang lalu disentrifugasi pada 12.000 g selama 5 menit dan membuang fase supernatnya. *Pellet* yang didapat merupakan RNA total hasil isolasi dicuci dengan 1 ml alkohol 70% dan disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 12.000 g kemudian dikeringkan pada suhu ruang selama 5-10 menit lalu diresuspensi menggunakan 50 μl ddH₂O.

Sintesis cDNA dan Amplifikasi PCR

RNA total yang telah diresuspensi dengan 50 μl ddH₂O dikuantifikasi menggunakan *BioDrop Duo UVI/VIS Spectrophotometer*. RNA yang telah terkuantifikasi kemudian diambil sebanyak 1 μg untuk sintesis cDNA menggunakan *BioLine Tetro cDNA Synthesis Kit*.

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan 1 μl cDNA, 1 μl primer, 10,5 μl ddH₂O dan 12,5 μl *Redmix PCR Kit* dari *BioLine* sebanyak 36 siklus dengan kondisi denaturasi 99°C selama 2 menit, annealing dengan optimasi selama 15 detik, elongasi 72°C selama 15 detik dan pasca elongasi 72°C selama 10 menit. Hasil amplifikasi kemudian divisualisasi dengan elektroforesis menggunakan 25 ml 1% agarose yang dicampur 1 μl *redsafe gel staining* kemudian dijalankan pada 1x buffer TAE 75V selama 45 menit (IPDN 2014).

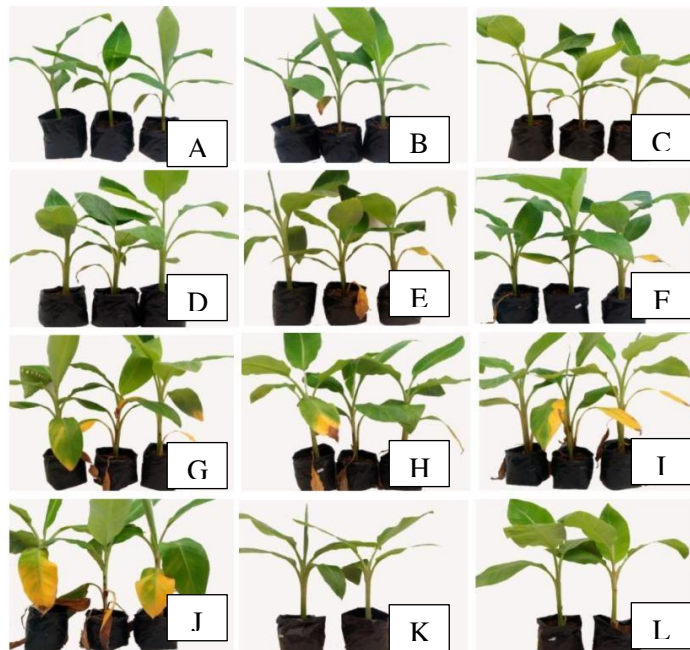
Tabel 1. Sekuens Primer

Gen	Forward	Reverse
ACTIN	GCCAGTGGTCGTACAACCG	TCATGACGTAATCAGTAAGGTCAC
WRKY15	CGACCGAGATTGATCCAAC	CACTTCCATGCTGCTTCCTG
WRKY18	GGAAGAGGAAGATCGAGAGC	CTCGTACGTCCCAACCAAC
WRKY23	CCGAGACGAAAGAATGCAAG	GAGGCGAAAAGACAAACCC

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan yang dilakukan pada tanaman pisang menunjukkan perubahan pada hari ke-5 pasca infeksi *R.Solanacearum*. Gejala yang muncul pertama kali pada tanaman pisang adalah perubahan warna daun menjadi kuning yang muncul dari bagian tepi daun. Hal serupa juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Hadiwiyono *et al.* (2011) bahwa gejala penyakit layu bakteri pertama kali ditunjukkan dengan perubahan warna tepi daun menjadi kuning. Perubahan warna daun semakin jelas seiring dengan bertambahnya waktu pasca infeksi bakteri seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Hal itu dikarenakan *R.solanacearum* yang diinfeksi ke tanaman pisang telah membentuk koloni dan menyebabkan

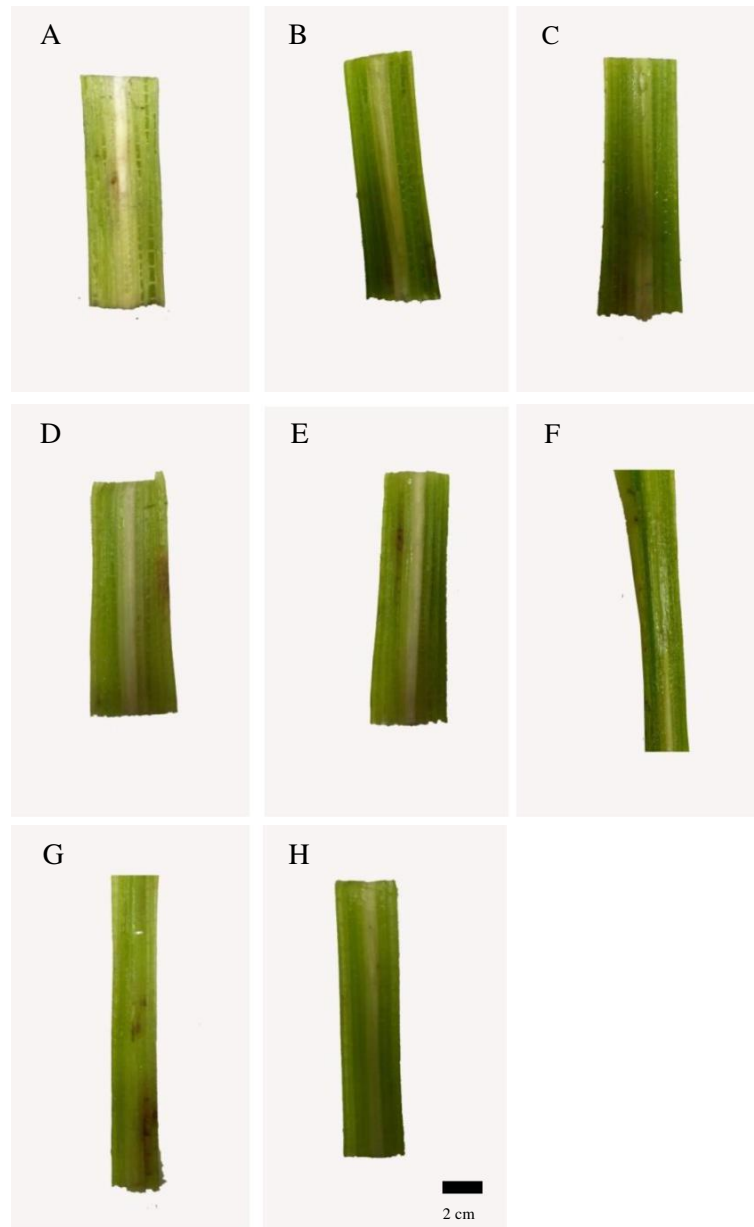
terhentinya sistem vaskular sehingga terjadi kelayuan pada tanaman pisang (Subedi 2015). Meskipun demikian, gejala kerusakan pada tanaman pisang yang diinfeksi oleh *R.solanacearum* relatif lebih lambat jika dibandingkan dengan gejala kerusakan yang diakibatkan oleh cendawan patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* penyebab penyakit layu panama. Lambatnya laju gejala penyakit layu bakteri dapat disebabkan oleh motilitas dari bakteri yang semakin berkurang apabila berada di dalam tanaman. Hal itu disebabkan perilaku *R.solanacearum* menjadi berbeda apabila sudah berada di dalam jaringan pembuluh tanaman yang seharusnya dapat bergerak bebas pada 10^8 CFU/ml (Julie *et al.* 2001).



Gambar 1. Gejala penyakit layu bakteri pada tanaman pisang pasca infeksi (A) hari ke-5 pasca infeksi (B) hari ke-10 pasca infeksi (C) hari ke-15 pasca infeksi (D) hari ke-20 pasca infeksi (E) hari ke-25 pasca infeksi (F) hari ke-30 pasca infeksi (G) 5 minggu pasca infeksi (H) 6 minggu pasca infeksi (I) 7 minggu pasca infeksi (J) 8 minggu pasca infeksi (K) kontrol pada hari ke-30 (L) kontrol pada minggu ke-8.

Selain terjadi penguningan pada daun, gejala penyakit layu bakteri juga ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada jaringan pembuluh yang disertai dengan adanya lendir dan keberadaan ooze dari *R.solanacearum* (Teng *et al.* 2014). Data sayatan membujur

pada pseudostem tanaman pisang menunjukkan bahwa pada hari ke-4 pasca infeksi *R.solanacearum* telah menunjukkan perubahan warna disekitar daerah infeksi menjadi warna coklat (Gambar 2).



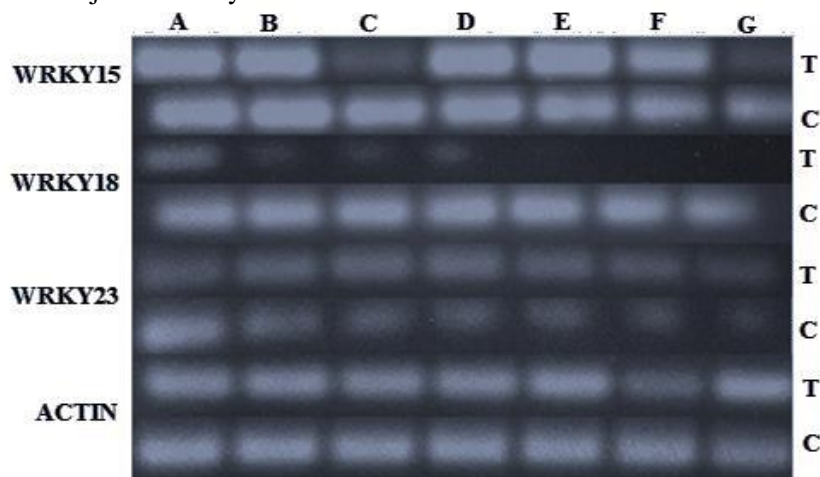
Gambar 2 Sayatan membujur pseudostem pasca infeksi *R.Solanacearum* (A) hari ke-1 pasca infeksi (B) hari ke-2 pasca infeksi (C) hari ke-3 pasca infeksi (D) hari ke-4 pasca infeksi (E) hari ke-5 pasca infeksi (F) hari ke-6 pasca infeksi (G) hari ke-7 pasca infeksi (G) kontrol negatif.

Gen *WRKY* pada *Musa acuminata* dan *Musa balbisiana* telah dilaporkan oleh Goel *et al.* (2016) memiliki 147 dan 132 anggota gen yang dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok I, II dan III. Pengelompokan tersebut dilakukan berdasarkan keberadaan *zinc finger*

(ZnF) pada gen *WRKY*. ZnF adalah motif struktural dari protein-protein kecil yang ditandai dengan adanya koordinasi dari satu atau lebih dari ion Zn yang stabil (McDowall 2007).

WRKY15 termasuk kedalam kelompok IId (Eulgem *et al.* 2000). Kelompok tersebut dapat terekspresi apabila terinduksi oleh cekaman biotik seperti serangan patogen dan cekaman abiotik seperti salinitas, tekanan osmotis, stres oksidatif, temperatur, dan ketersediaan CO₂ yang rendah (Vandirauwera *et al.* 2012). Penelitian ini menunjukkan WRKY15 mengalami penurunan ekspresi pada hari ke-3 dan ke-7 pasca infeksi *R.solanacearum*. Hal itu dapat disebabkan karena sifat WRKY15 yang mampu merespon dua jenis stres yaitu biotik

dan abiotik. Diduga karena sifat tersebut, ekspresi WRKY15 lebih jelas dibandingkan dengan ekspresi gen yang lainnya. Adanya penurunan ekspresi WRKY15 pada hari ke-3 dan ke-7 dapat terjadi dikarenakan tidak ada kombinasi cekaman pada tanaman pisang. Dilaporkan oleh Choudhury *et al.* (2017) bahwa kombinasi cekaman mampu menimbulkan ekspresi transkriptomik yang unik yaitu tidak diubahkannya ratusan transkrip apabila hanya melibatkan satu cekaman saja.



Gambar 3 Ekspresi semi kuantitatif WRKY15, WRKY18, WRKY23 dan ACTIN pada pisang pasca infeksi *R.solanacearum*. (T) treatment (C) kontrol (A) hari ke-1 pasca infeksi (B) hari ke-2 pasca infeksi (C) hari ke-3 pasca infeksi (D) hari ke-4 pasca infeksi (E) hari ke-5 pasca infeksi (F) hari ke-6 pasca infeksi (G) hari ke-7 pasca infeksi.

WRKY18 termasuk ke dalam kelompok IIa. Kelompok ini mampu menanggapi cekaman biotik di jalur asam salisilat dalam pertahanan tanaman (Karim *et al.* 2015). Asam salisilat memiliki peranan penting dalam respons cekaman tanaman karena asam salisilat dapat memediasi respons pertahanan tanaman terhadap patogen. Selain itu, asam salisilat juga merespons cekaman abiotik seperti kekeringan, dingin, keracunan logam berat, panas dan cekaman osmotik (Vincente & Plasencia 2011). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi WRKY18 jauh lebih rendah dibandingkan ekspresi gen yang lainnya karena WRKY18 bersifat represisi yang mengendalikan pertahanan basal (Pandey *et al.* 2010).

WRKY23 termasuk termasuk ke dalam kelompok IIc yang mengatur regulasi etilen dan penuaan sel terkait asetilina (Goel *et al.* 2016). Etilen adalah salah satu hormon yang terdapat di tumbuhan yang bekerja di saat tumbuhan mengalami kondisi kritis seperti merespons

cekaman biotik maupun abiotik (Wang *et al.* 2004). Selain itu, WRKY kelompok II juga dilaporkan mampu menanggapi respons terhadap infeksi patogen seperti jamur ataupun nematoda. Grunewald *et al.* (2008) melaporkan bahwa WRKY23 berperan pada respons pertahanan *Arabidopsis* yang diinfeksi oleh nematoda dan mempengaruhi aktivitas auksin di dalamnya sebagai resistensi terhadap infeksi nematoda.

Konsistennya ekspresi WRKY23 pada hari ke-1 sampai hari ke-7 pasca infeksi *R.solanacearum* dikarenakan WRKY23 adalah *early-induced gene* yaitu gen yang pertama kali diinduksi setelah terjadi cekaman pada tanaman, salah satunya adalah pelukaan yang disebabkan oleh bakteri (Levee *et al.* 2009). WRKY23 yang terkespresi setelah terjadi cekaman pada tanaman akan memodulasi sintesis hormon etilen yang mampu merespons cekaman biotik dan abiotik (Wnag *et al.* 2004) serta hormon auksin yang terakumulasi setelah

terjadi peningkatan level ekspresi *WRKY23* (Grunewald *et al.* 2008).

KESIMPULAN

Infeksi *R.solanacearum* pada tanaman pisang mampu mengubah level ekspresi *WRKY15*, *WRKY18* dan *WRKY23*. *WRKY15* memiliki ekspresi yang fluktuatif dikarenakan *WRKY15* mampu merespon cekaman biotik dan abiotik.

WRKY18 memiliki level ekspresi yang paling rendah dikarenakan *WRKY18* bersifat represi pada sistem pertahanan tanaman basal. Adapun *WRKY23* memiliki level ekspresi yang stabil dikarenakan *WRKY23* merupakan early induced gene yang aktif terhadap cekaman biotik seperti infeksi bakteri.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian transkriptomik lanjutan terhadap level ekspresi gen terkait pertahanan yang melibatkan cekaman abiotik terhadap gen-gen yang telah dilakukan penelitian agar dapat dipastikan bahwa gen tersebut betul-betul terekspresi oleh cekaman biotik ataupun abiotik.

UCAPAN TERIMAKASIH

UCAPAN TERIMAKASIH KAMI
SAMPAIKAN KEPADA LP2M
UNIVERSITAS AL AZHAR INDONESIA
YANG TELAH MEMBERIKAN
DUKUNGAN DANA PADA PENELITIAN
INI.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Alvarez B, Biosca EG, Lopez MM. 2010. On the life of *Ralstonia solanacearum*, a destructive bacterial plant pathogen. *Technology and Education Topics in Applied and Microbial Biotechnology*. Hal 267-279.
- [2] Choundhury FK, Rivero RM, Blumwald E, Mittler R. 2017. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal*. 90: 856-867.
- [3] Eulgem T, Rushton PJ, Robatzek S, Somssich IE. 2000. The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Reviews. Trends in Plant Science*. 5 (5): 199-205.
- [4] Hadiwiyono. 2011. Blood bacterial wilt disease of banana: the distribution of pathogen in infected plant, symptoms, and potentiality of diseases tissues as source of infective inoculums. *Nusantara BIOSIEN*. Vol 3 (3): 112-117.
- [5] Hermanto C, Eliza, Emilda D. 2013. Bunch management of banana to control blood disease. *Australian Plant Pathol*. Vol 42: 653-658.
- [6] Hersanti, R. T., A. Rupendi, Purnama, Hanudin, B. Marwoto and O. S. Gunawan. 2009. Filtration of some isolates *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* Antagonistic to *R. solanacearum* in potatoes. (in Indonesia) *J. Agrikultura* 20(3): 198-203
- [7] [NSW] Department of Primary Industries. 2014. *Exotic Pest Alert. Department of Agriculture Queensland*.
- [8] Goel R, Pandey A, Trivedi PK, Asif H. 2016. Genome-wide analysis of the *Musa WRKY* gene family: evolution and differential expression during development and cekamans. *Frontiers in Plant Science*. Vol 7: 1-13.
- [9] Grunewald W, Karimi M, Wieczorek K, Capelle EVD, Wischnitzki E, Grundel F, Inzé D, Beeckam T, Gheysen G. 2008. A role for *AtWRKY23* in feeding site establishment of plant-parasitic nematodes. *Plant Physiology*. Vol 148: 358-365.
- [10] [IPDN]. The International Plant Diagnostic Network. 2014. *Bacterial Wilt Disease Ralstonia solanacearum*.
- [11] Julie TK, Huang H, Allen C. 2001. *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *Journal of Bacteriology*. 182 (12): 3597- 3602.
- [12] Karim A, Jiang Y, Guo L, Ling Z, Ye S, Duan Y, Li C, Luo K. 2015. Isolation and characterization of a subgroup IIa *WRKY* transcription factor *PtrWRKY40* from *Populus trichocarpa*. *Tree Physiology*.
- [13] Li J. 2014. *Role of WRKY Transcription Factors in Arabidopsis Development and*

- Cekamans *Responssses*. [Disertasi]. Univesity of Helsinki. Finland.
- [14] Levee V, Major I, Levasseur C, Tremblay L, MacKay J, Séguin. 2009. Expression profiling and functional analysis of *Populus WRKY23* reveals a regulatory role in defense. *New Phytologist*. Vol 184: 48-70.
- [15] McDowall J. 2007. *Molecule of the Month: Zinc Fingers*. https://www.ebi.ac.uk/interpro/potm/2007_3/Page1.htm. (Diakses pada 12 Juli 2016)
- [16] Pandey SP, Roccaro M, Schon M, Logemann E, Somssich IE. 2010. Transcriptional reprogramming regulates by WRKY18 and WRKY40 facilities powdery mildew infection of *Arabidopsis*. *The Plant Journal*. 64: 912-923.
- [17] Ramirez JG, Munoz M, Patino LF, Morales JG. 2015. Banana moko disease management with resistance inducers and chlorine dioxide. *Agronomia Columbia*. 33 (2): 194-20
- [18] Subedi N. 2015. Characterization and Management of *Ralstonia solanacearum* Population in South Asia. [Disertasi]. The Ohio State University.
- [19] Teng SK, Aziz NAA, Mustafa M, Laboh R, Ismail IS, Sulaiman SR, Azizan AA, Devi S. 2014. The occurrence of blood disease of banana in Selangor, Malaysia. *International Journal of Agriculture & Biology*. 18(1): 92-97.
- [20] Vanderauwra S, Vandenbroucke K, Inze A, Cotte B, Muhlenbock P, Rycke RD, Naouar N, Gaever TV, Montagu MCEV, Breusegem FV. 2012. AtWRKY15 perturbation abolishes the mitochondrial stress response that steers osmotic stress tolerance in *Arabidopsis*. *PNAS*. 109 (49): 20113-20118.
- [21] Vicente MRS, Plasencia J. 2011. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experiment Botany*. Vol 62 (10): 3321-3338.
- [22] Wang KLC, Yoshida H, Lurin C, Ecker JR. 2004. Regulation of ethylene gas biosynthesis by the *Arabidopsis* ET01 protein. *Nature*. Vol 34: 945-950.
- [23] Zhu QH, Stephen S, Kazan K, Jin G, *et al*. 2012. Characterization of the defense transcriptome responsive to *Fusarium oxysporum*-infection in *Arabidopsis* using RNA-seq. *Elsevier*. 1-14.