

PENGEMBANGAN BIOMARKA UNTUK SELEKSI TANAMAN TAHAN PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG PADA KELAPA SAWIT

Rokhana Faizah

Abstrak - Penyakit busuk pangkal batang (BPB) yang disebabkan patogen *Ganoderma boninense* menjadi penyakit utama pada kelapa sawit yang menurunkan produktivitas secara signifikan. Pengembangan varietas kelapa sawit tahan penyakit BPB melalui beberapa tahapan dan evaluasi di setiap prosesnya. Tulisan ini akan menjelaskan hal-hal yang berkaitan dengan respon ketahanan dan tahapan pengembangan biomarka berbasis nukleotida untuk mendapatkan varietas kelapa sawit tahan *Ganoderma*. Evaluasi fenotipe dan genotipe plasma nutfah sebagai sumber material genetik, metode pemuliaan dan seleksi tanaman tahan, respon ketahanan tanaman, dan gen-gen yang terlibat dalam ketahanan penyakit menjadi komponen yang berkaitan dengan efektif dan efisien biomarka pada program pemuliaan kelapa sawit tahan penyakit BPB. Pengembangan biomarka untuk seleksi karakter unggul pada kelapa sawit dan tanaman lain juga dijelaskan pada artikel ini.

Kata kunci: *Ganoderma boninense*, *breeding-assisted selection*, pemuliaan kelapa sawit, respon ketahanan, varietas tahan BPB.

PENDAHULUAN

Kelapa sawit merupakan tanaman perkebunan yang multi manfaat. Produktivitas tinggi kelapa sawit tidak terlepas dari sumber bahan tanaman unggul. Produktivitas kelapa sawit mencapai 51 juta ton *crude palm oil* dengan nilai kontribusi ekspor minyak sawit sebesar 36 miliar USD ([GAPKI] Gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia, 2021). Namun, infeksi *Ganoderma boninense* mampu menyebabkan industri kelapa sawit mengalami kerugian yang tinggi hingga mencapai 80%. Busuk pangkal batang atau sering disebut penyakit *Ganoderma* (GD) pada kelapa sawit disebabkan cendawan *G. boninense* (Yit Kheng Goh et al., 2020). Penyebaran penyakit ini sangat cepat pada daerah endemik di Sumatera Utara atau perkebunan kelapa sawit yang telah ditanami beberapa generasi (Purba et al., 2011; Wiratmoko et al., 2018). Penyebaran penyakit ini terjadi melalui tular tanah dimana terjadi kontak antar akar kelapa sawit, basidiospor, dan sumber inokulum di dalam tanah (Alexander et al., 2017). Vegetatif akar yang terdapat

pada tanah merupakan karakter penting untuk mengetahui tingkat infeksi GD pada kelapa sawit. Gejala yang muncul pada akar yang terinfeksi GD adalah adanya nekrosis, tubuh buah pada pangkal batang dan nekrosis pada tulang daun (Edy et al., 2020).

Teknologi penanda genetik berbasis nukleotida sangat dibutuhkan untuk percepatan perakitan tanaman tahan GD (Murphy, 2007). Berbagai upaya telah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Varietas AVROS menunjukkan lebih tahan GD berdasarkan pada kandungan ergosterol yang tinggi dibandingkan Ekona dan Calabar (Chong et al., 2012). Seleksi projeni hasil persilangan juga dilakukan untuk mendapatkan tanaman tahan pada projeni DxP pada populasi Kongo x Kamerun (Idris et al., 2004).

Dari segi fitohormon, akumulasi asam salisilat dan asam jasmonat mampu meningkatkan resistensi tanaman inang terhadap patogen hemibiotropik, namun meningkatkan kerentanan terhadap patogen yang bersifat netrotrofik (Veronese et al., 2006). GD mampu mendegradasi komponen lignin pada dinding sel inang (Paterson et al., 2009). Penanda DNA yang terkait dengan ketahanan penyakit pada kelapa sawit sangat diperlukan untuk penapisan dan *marker-assisted breeding* (MAS) (C. L. Ho & Tan, 2015), namun belum dilaporkan secara menyeluruh. Hal ini terkendala informasi mekanisme ketahanan kelapa

Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit

Rokhana Faizah(✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamsa No. 51 Medan 20158, Indonesia
Email: rokhanafaizah@gmail.com

sawit dalam menanggapi kolonisasi GD pada berbagai stadia infeksi (C. L. Ho & Tan, 2015). Mekanisme ketahanan molekuler dapat diketahui dengan ekspresi gen-gen minor yang terlibat dalam jalur pertahanan tanaman untuk merakit varietas kelapa sawit dengan ketahanan parsial sebagai sarana untuk solusi jangka panjang dan tidak mudah dipatahkan tingkat ketahanannya (C. L. Ho & Tan, 2015). Sehingga, dari beberapa penelitian tersebut, upaya pengembangan seleksi tanaman tahan GD melalui biologi molekuler perlu dilakukan secara bertahap dan komprehensif.

Salah satu terobosan yang efektif dan efisien dalam pengembangan marker DNA tersebut adalah memanfaatkan satu beda basa *single nucleotide polymorphism* (SNP) dari data transkriptomik tanaman tahan dan rentan terhadap *G. boninense* pada gen target. SNP sangat efektif digunakan sebagai marka molekuler untuk studi genetika (Qi et al., 2017) dan setiap SNP berasosiasi dengan ekspresi gen (J. J. Liu et al., 2020). Penelitian sebelumnya telah mengembangkan marka SNAP (*Single Nucleotide Amplified Polymorphism*) berdasarkan sekuens transkriptomik pada lobak (*Raphanus sativus* L.) Wang et al., 2017), namun informasi SNP dari transkriptomik pada tanaman kelapa sawit untuk marka molekuler ketahanan GD belum dimanfaatkan secara optimal (Rosli et al., 2018).

PEMULIAAN KELAPA SAWIT UNTUK KETAHANAN TERHADAP *G. boninense*

Perakitan varietas kelapa sawit tahan *Ganoderma* dapat dilakukan dengan pendekatan pengujian fenotipe di lapangan maupun dukungan bioteknologi tanaman. Pengamatan fenotipe gejala dilakukan dengan pendekatan skrining dan seleksi genotipe koleksi plasma nutfah yang menunjukkan indeks toleransi tinggi terhadap *Ganoderma* di lapangan maupun pemilihan tetua yang toleran pada kondisi endemik *Ganoderma* (Purba et al., 2011). Kedua, pendekatan bioteknologi tanaman dapat dilakukan dengan melihat potensi gen-gen yang berpengaruh terhadap tingkat toleransi tanaman terhadap infeksi *Ganoderma* (Putranto et al., 2016). Namun, upaya tersebut perlu dioptimalkan dengan pendekatan bioteknologi lain seperti memanfaatkan tanaman tahan *Ganoderma* yang dimodifikasi runutan gen melalui sistem *genome editing* (Budiani et al., 2018)

sehingga diharapkan diperoleh tanaman tahan *Ganoderma* melalui teknologi cisgenik.

Perakitan varietas tahan *Ganoderma* melalui pendekatan cisgenik memerlukan beberapa tahap kegiatan. Teknologi cisgenik merupakan metode baru yang relatif berkembang pada bidang bioteknologi pertanian (Hou et al., 2014) yang mampu memodifikasi variasi genetik plasma nutfah untuk peningkatan kualitas dan kuantitas genetiknya. Prinsip dari teknologi ini mampu memanfaatkan potensi dan memodifikasi fungsi gen-gen yang terkait dengan sistem pertahanan tanaman dalam perakitan tanaman tahan (Hou et al., 2014). Runutan basa nukleotida tersebut berasal dari spesies yang sama, sehingga tidak dikategorikan tanaman transgenik.

Keunggulan teknologi cisgenik di atas masih memiliki beberapa kelemahan yang perlu didukung teknologi lain, yaitu sampel yang digunakan adalah RNA yang bersifat relatif tidak stabil, memerlukan teknologi transformasi yang efektif dan membutuhkan waktu relatif lama untuk pengujian tanaman yang diperoleh, serta tidak mudah untuk mendapatkan sumber tanaman yang memiliki keragaman genetik dalam satu populasi *origin*. Upaya yang dapat dilakukan untuk melengkapi teknologi tersebut adalah terobosan teknologi dalam pengembangan program pemuliaan kelapa sawit untuk mendapatkan metode yang komprehensif dalam seleksi varietas unggul tahan penyakit busuk pangkal batang. Upaya tersebut dilakukan untuk mengetahui faktor-faktor yang berpotensi tinggi berpengaruh terhadap fase pertumbuhan bibit pada karakter vegetatifnya, respon parameter yang berpengaruh pada sistem mekanisme ketahanan terhadap *Ganoderma*, gen-gen potensial yang berpengaruh pada infeksi *Ganoderma* dan resistensi tanaman terhadap penyakit, visualisasi jejaring interaksi gen-gen resistensi yang memberikan efek sinergis dan interaksi antar gen, serta upaya percepatan proses seleksi tanaman tahan dengan teknologi pengembangan marka molekuler berbasis DNA. Hasil akhir dari ulasan ini diharapkan diperoleh biomarker yang efektif dan efisien berdasarkan pada pola ekspresi dari vegetatif, struktural, biokimia, dan ekspresi diferensial gen-gen potensial yang berperan pada sistem mekanisme ketahanan pada kelapa sawit. Upaya-upaya tersebut diuraikan pada sub bab berikut.

KARAKTER VEGETATIF AKAR DAN DAUN PADA BIBIT KELAPA SAWIT YANG DIINFEKSI PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG

Ganoderma sp. yang diinfeksi ke akar tanaman *Crotalaria juncea* mulai menginfeksi melalui stomata pada bagian pangkal batang dan dilanjutkan ke jaringan secara interseluler melalui ruang antar sel (Nursita, 2009). Selanjutnya, sel penjaga stomata melakukan reaksi hipersensitif sebagai bentuk respon ketahanan tanaman terhadap keberadaan *Ganoderma* sp. (Nursita, 2009). Keberadaan basidiomata atau sporofora *Ganoderma* ada sebelum gejala pada daun diketahui (Darus et al., 1989). Basidiomata ini berada pada dasar atau pangkal batang yang akarnya terinfeksi *Ganoderma*, dan munculnya basidiomata ini menjadi gejala yang efektif untuk mengetahui penyakit busuk pangkal batang (Siddiqui et al., 2021). Lamanya waktu muncul basidiomata ini tergantung pada lamanya waktu pembusukan dari dalam ke arah pinggir batang. Keparahan penyakit busuk pangkal batang pada bibit kelapa sawit sudah terjadi pada akar sebesar 8,3%, jaringan pangkal batang berwarna kecoklatan namun tidak menunjukkan gejala pada daun (Naher et al., 2012). Kondisi tersebut merupakan zona reaksi mekanisme ketahanan terhadap infeksi *Ganoderma*.

Akar sebagai kontak awal infeksi penyakit busuk pangkal batang menjadi hal yang sangat penting untuk mengetahui gejala awal infeksi. Gejala infeksi berupa lesio pada permukaan akar muncul pada 6 dan 12 minggu setelah inokulasi (msi) yang diamati menggunakan mikroskop (Y. C. Tan et al., 2013). Adanya hifa di akar pada 2 msi secara visual telah diseleksi menggunakan *green fluorescent protein* (GFP) (Govender & Wong, 2017). Fase biotropik terjadi pada 3 dan 7 hari setelah inokulasi (hsi) dan fase nekrotrofik akhir pada 11 hsi berdasarkan transkriptomik ekspresi diferensial gen-gen spesifik yang terlibat pada infeksi awal *G. boninense* (Bahari et al., 2018). Pada fase biotropik yaitu patogen hidup pada sel inang, *G. boninense* mensekresikan protein efektor yang berinteraksi di inti sel tanaman kelapa sawit (C. L. Ho & Tan, 2015). Respon balik tanaman yang terinfeksi patogen akan mengaktifkan sistem pertahanan sekunder berupa *effector-triggered immunity* (ETI) (C. L. Ho & Tan, 2015; Klopffholz et al., 2011). Kegagalan kelapa sawit untuk mengaktifkan ETI menyebabkan kerentanan inang terhadap patogen *G. boninense* (C. L. Ho & Tan, 2015). Fase

nekrotropik merupakan fase patogen mematikan jaringan inang dengan menghasilkan toksin atau enzim pendegradasi (Laluk & Mengiste, 2010). Berdasarkan hal tersebut, interaksi patogen *G. boninense* dengan inang *Elaeis* sangat aktif dan kompleks 3 hari pasca inokulasi hingga 3 minggu setelah inokulasi yang ditandai munculnya gejala pada akar tanaman inang.

RESPON PARAMETER YANG BERPENGARUH PADA SISTEM MEKANISME KETAHANAN TERHADAP *Ganoderma*

G. boninense merupakan penyebab penyakit busuk pangkal batang yang dominan ditemui pada perkebunan kelapa sawit (Utomo et al., 2018). Penyebaran penyakit ini terjadi melalui *soil borne* dengan kontak langsung antara tanah atau akar sebagai sumber inokulum yang terinfeksi *G. boninense* (Alexander et al., 2017). Sistem pertahanan dini dimulai pada saat hifa putih *G. boninense* pertama kali menginfeksi komponen lignin (Paterson et al., 2009). Respon pertahanan tanaman untuk menekan penyebaran patogen adalah dengan melakukan lignifikasi sel tumbuhan di lokasi infeksi atau pembentukan lesio (K. M. Goh et al., 2018). Selanjutnya cendawan tumbuh dan berkembang pada tanaman dengan memanfaatkan selulosa yang terdapat dalam tanaman (Paterson et al., 2009). Hal utama yang berpengaruh terhadap infeksi *Ganoderma* adalah pertahanan fisik persentase kadar lignin (K. M. Goh et al., 2018; Paterson et al., 2009), selanjutnya mengaktifkan jaringan selulosa (Paterson et al., 2009), yang berpengaruh terhadap aktivitas enzim peroksidase dan jalur pertahanan biokimia asam salisilat yang menstimulasi sinyal gen ketahanan (Idrees et al., 2011). Selain itu juga, peroksidase diperlukan untuk polimerisasi akhir turunan fenolik ke lignin dan diduga terlibat dalam proses pemulihan akibat infeksi (K. M. Goh et al., 2018).

Persilangan yang memiliki respon rentan maupun tahan dapat diamati secara visual pada akar, pangkal batang, maupun daun (Rakib et al., 2015). Pengamatan visual menunjukkan gejala internal maupun eksternal dengan mengetahui persentase tanaman yang sakit dan sehat, atau disebut kejadian penyakit (KP) (Y. K. Goh et al., 2014). Nilai KP tidak cukup untuk menduga respon ketahanan terhadap infeksi *Ganoderma* yang spesifik dan unik. Nilai KP

sangat penting untuk menyeleksi perbedaan respon persilangan yang diuji pada isolat yang sama (Y. K. Goh et al., 2014). Namun, untuk infeksi penyakit BPB tidak cukup dengan nilai KP saja, tetapi diperlukan indeks penyakit *Ganoderma* (IPG) untuk mengetahui respon ketahanan populasi keseluruhan persilangan yang diuji (Durand-gasselin et al., 2015). Sehingga, IPG dapat digunakan sebagai metode yang efektif untuk menentukan respon ketahanan kelapa sawit terhadap infeksi *G. boninense* pada fase pembibitan.

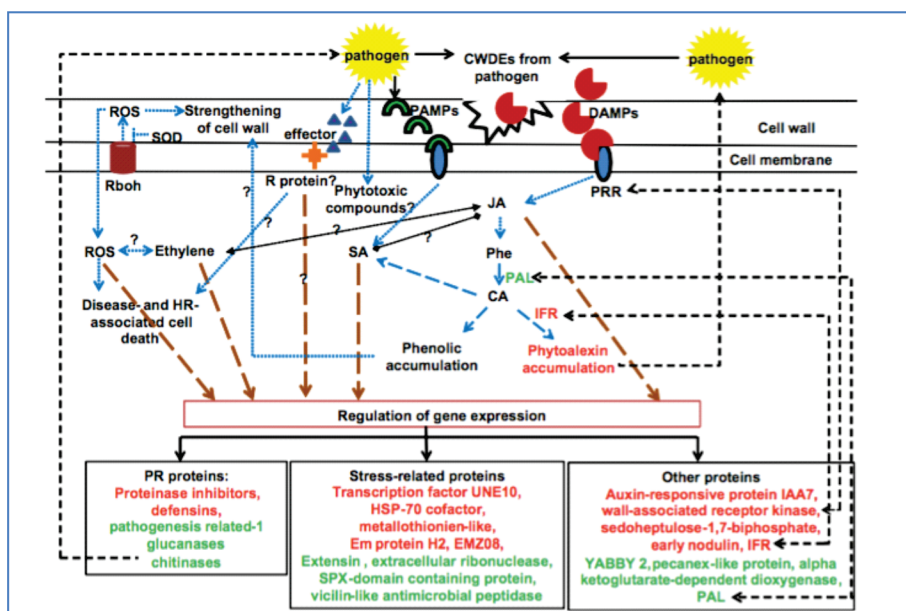
Indeks Penyakit *Ganoderma* (IPG) bertujuan untuk mengetahui konsistensi respon ketahanan penyakit, terutama pada tanaman tahan hingga moderat tahan, rentan, dan sangat rentan berdasarkan prosentase nilai kejadian penyakit per persilangan dengan rerata populasi yang diuji. Bibit yang memiliki IPG lebih dari 100% termasuk rentan, sedangkan di bawah nilai 100% termasuk tahan (Durand-gasselin et al., 2015).

IPG pada 16 msi berkisar antara 3,7-63,3, namun tidak memberikan informasi penentuan kategori respon ketahanan bibit kelapa sawit (Y. K. Goh et al., 2014). Sedangkan berdasarkan kategori rentan dan tahan, diperoleh kategori rentan dari 98 hingga 152, sedangkan bibit tahan berkisar 72-89 (Durand-gasselin et al., 2015). Hasil penelitian tersebut memiliki potensi yang cukup tinggi terhadap respon ketahanan yang berbeda nilai IPG-nya apabila diulang beberapa

kali di *batch* yang berbeda.

GEN-GEN POTENSIAL YANG BERPENGARUH PADA INFEKSI *GANODERMA* DAN RESISTENSI TANAMAN TERHADAP PENYAKIT

Infeksi penyakit busuk pangkal batang baik langsung maupun tidak langsung akan berpengaruh terhadap beberapa respon gen-gen yang berhubungan dengan sistem mekanisme ketahanan tanaman. Ekspresi gen (*fold change*) *Elaeis guineensis* Early methionine-labeled polypeptide (*EgEMLP1*) pada ramet yang dinokulasi *G. boninense* meningkat sejak 3 minggu setelah inokulasi (msi) hingga 7 msi hingga 17,96 (Wulandari et al., 2018). Gen *EgEMLP1* diduga termasuk gen *up-regulated* pada tanaman yang terinfeksi (Wulandari et al., 2018). Terdapat 4 lokus resistensi *Ganoderma* yang teridentifikasi pada 14 *full-sib* famili dari 9 populasi dari tetua populasi Dura Deli (5 tetua) dan La Mé-Yangambi (4 tetua) dengan 2 lokus berfungsi untuk mengendalikan pada saat terjadinya gejala awal atau *time of the first symptom observation* (T1S) dan 2 lokus lainnya berpengaruh terhadap kematian tanaman atau *time of death due to Ganoderma infection* (TD) (Tisné et al., 2017). Kedua grup lokus tersebut tidak saling overlap (Tisné et al., 2017).



Gambar 1. Interaksi molekuler *Ganoderma* dan gen-gen yang merespon interaksi infeksi *G. boninense*. Sumber: C. L. Ho & Tan.(2015).

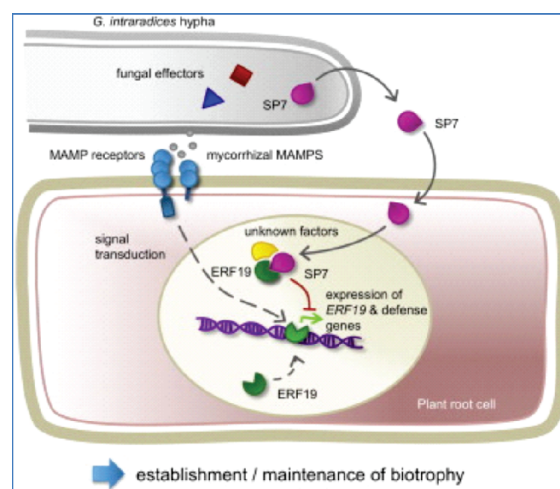


Interaksi molekuler *Ganoderma* dan gen-gen yang merespon interaksi infeksi *G. boninense* ditunjukkan pada Gambar 1. Panah biru di garis putus-putus menunjukkan indikasi beberapa langkah pada sinyal jalur. Panah coklat pada garis putus-putus menunjukkan pendugaan jalur pensinyalan, sedangkan panah hitam pada garis putus-putus mewakili peran protein yang dikodekan oleh beberapa gen *up-regulated* dan *down-regulated*. Panah garis putus-putus biru menunjukkan kemungkinan respons pertahanan di kelapa sawit, sedangkan panah garis putus-putus hitam menunjukkan kemungkinan terjadinya interaksi antar hormon, antara lain sinergi antara SA dan etilen, serta antagonisme antara SA dan JA). Tanda tanya menyoroti kesenjangan yang perlu diisi dalam respon pertahanan molekuler kelapa sawit pada *Ganoderma* sp. Kata-kata dalam warna merah dan hijau menunjukkan gen tanaman *up-regulated* dan *down-regulated* di kelapa sawit yang diinokulasi *Ganoderma* masing-masing dibandingkan dengan jaringan akar kelapa sawit yang tidak diinokulasi. Keterangan: CA, *cinnamate*; HR, *hypersensitive reaction*; IFR, *isoflavone reductase*; JA, *jasmonate*; PAL, *phenylalanine ammonia-lyase*; Phe, *phenylalanine*; ROS, *reactive oxygen species*; SA, *salicylate*; SOD, *superoxide dismutase*.

Infeksi *Ganoderma* berpengaruh terhadap degradasi dinding sel (Alexander et al., 2017). Sebanyak 33 gen laccase telah diidentifikasi berdasarkan genom *de novo* *G. boninense* (J. S. Tan et al., 2018). Gen-gen tersebut mengandung 4 sekuens domain yang mencakup residu sistein dan

histidin dan 7 diantara 33 gen tersebut memiliki kesamaan dengan transkrips yang diekspresikan (Camus-Kulandaivelu et al., 2014). Gen-gen tersebut tidak disebutkan nama gen yang telah teridentifikasi (Camus-Kulandaivelu et al., 2014; J. S. Tan et al., 2018). Namun, penelitian lain menyebutkan berdasarkan identifikasi *differentially expressed genes* (DEGs) terdapat beberapa gen-gen yang terkait dengan pertahanan yang beragam, yaitu *PR-protein* (*EgPR-1*), *protease inhibitor* (*EgBGIA*), *PRR protein* (*EgLYK3*), *chitinase* (*EgCht*) dan *expansin* (*EgEXPB18*) saat 3 dan 7 hari setelah inokulasi (hsi), dan menurun pada 11 hsi (Bahari et al., 2018). Di sisi lain, pada umur 11 hsi, faktor transkripsi *EgERF113* and *EgMYC2* yang menunjukkan ekspresi sangat tinggi sebagai regulator potensial pada sistem pertahanan tanaman. Elisitor *reactive oxygen species* (ROS), yaitu *peroxidase* (*EgPER*) dan *NADPH oxidase* (*EgRBOH*) meningkat pada periode perlakuan tersebut (Bahari et al., 2018).

Gambar 1 menjabarkan secara umum tahap awal interaksi antara patogen dengan tanaman inang. Patogen melepaskan *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) yang dikenali oleh *pattern recognition receptors* (PRRs) yang berada di membran sel (C. L. Ho & Tan, 2015). Pada tahap nekrotik, patogen mengeluarkan *cell wall degrading enzymes* (CWDEs) yang mendegradasi dinding sel (termasuk lignin) yang menghasilkan fragmen polisakarida struktural yang disebut *damage associated molecular patterns* (DAMPs).



Gambar 2. Jalur protein efektor cendawan SP7 yang disekresikan dari hifa *Glomus intraradices* ke sel akar tanaman. Sumber: Klopffholz et al. (2011).

Pengenalan DAMPs oleh PRRs di tanaman inang mengaktifkan jalur sinyal yang mengatur transkripsi gen pertahanan kelapa sawit, termasuk yang mengkode protein yang berhubungan dengan pathogenesis (*pathogenesis-related*, PR). Pada infeksi *Ganoderma* yang termasuk filum *Basidiomycota* belum diketahui efektor yang dilepaskan selama fase biotrofiknya (C. L. Ho & Tan, 2015). Namun, pada spesies *Glomus intraradices* filum *Glomeromycota*, patogen cendawan tersebut bersaing dengan tanaman inang dengan menggunakan protein efektor SP7 yang berinteraksi di inti sel tanaman dengan faktor transkripsi PR ERF19 yang merupakan kelompok *ethylene response factor* (Kloppholz et al., 2011). Jalur protein efektor cendawan SP7 yang disekresikan dari hifa *Glomus intraradices* berinteraksi dengan faktor transkripsi PR ERF19 di dalam sel inti tanaman (Gambar 2). Keberadaan SP7 mampu melemahkan gejala pembusukan akar, namun efektor ini juga berperan mengembangkan status biotropik cendawan AM di akar dengan menangkang sistem pertahanan tanaman (Kloppholz et al., 2011).

VISUALISASI JEJARING INTERAKSI GEN-GEN RESISTENSI YANG MEMBERIKAN EFEK SINERGIS DAN INTERAKSI ANTAR GEN

Data ekspresi diferensial gen spesifik yang diperoleh dari hasil RT-qPCR merupakan langkah awal pada analisis profil transkriptomik (C. Wu et al., 2019). Perbedaan antara dua gen atau lebih dapat dibandingkan dengan metode analisis yang diperkenalkan dengan edgeR (Robinson et al., 2009) maupun DESeq (Anders & Huber, 2010). Perangkat lunak edgeR merupakan paket Biokondutor yang digunakan untuk mengetahui ekspresi diferensial gen dari jumlah replikasi minimal dalam satu fenotipe (Robinson et al., 2009). Sedangkan DESeq termasuk paket R/Biokondutor juga yang mengedepankan pada distribusi binomial negatif dengan variasi dan rerata terkait regresi lokal dan diperoleh implementasi dalam analisis ekspresi diferensial gen (Anders & Huber, 2010). Meskipun kedua perangkat lunak tersebut menyeleksi perbedaan yang signifikan pada ekspresi gennya, namun pengelompokan gen dengan ekspresi yang moderat atau rendah masih belum dapat diketahui. Perubahan fenotipe seringkali berhubungan dengan regulasi gen dan ekspresi gen yang saling berkaitan dalam analisis jejaring biologis antar gen

dibandingkan dengan perubahan signifikan secara statistik pada individu gen (Nam & Kim, 2008).

Analisis jejaring pada bidang farmakologi (*network pharmacology*) mampu dimanfaatkan untuk menentukan gen-gen yang berperan pada penyakit dan mengidentifikasi protein yang mampu menargetkan gen tersebut (Zhang et al., 2013). *Cytoscape* merupakan perangkat lunak yang mampu memvisualisasi, pemodelan, dan analisis jejaring interaksi profil ekspresi mRNA dengan eksperimen genetik fungsional (Shannon et al., 2003). Awalnya perangkat lunak ini dirancang untuk penelitian bioinformatika terutama dalam *biological network analysis* (Shannon et al., 2003), namun sekarang banyak digunakan untuk analisis dan visualisasi jejaring yang kompleks dengan beberapa perangkat lunak pendukung (Cline et al., 2007; Nam & Kim, 2008).

PENGEMBANGAN MARKA MOLEKULER BERBASIS DNA DARI EKSPRESI DIFERENSIAL GEN SPESIFIK

Perkembangan teknologi marka molekuler sangat mendukung percepatan program pemuliaan kelapa sawit, terutama pada seleksi tanaman terpilih dan metode pemuliaan yang strategis untuk mendapatkan tanaman unggul. Terdapat beberapa teknik yang digunakan untuk identifikasi marka molekuler, yaitu berbasis protein dan DNA (Sekhwil et al., 2015; Wang et al., 2017). Penanda berbasis DNA diklasifikasikan berdasarkan hibridisasi *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) seperti *Randomly Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Simple Sequence Repeat* (SSR), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), maupun sekuensing DNA/RNA (Semagn et al., 2006).

Teknologi marka molekuler pada kelapa sawit dimulai dengan eksplorasi probe pada mitokondria dan ribosomal untuk pengembangan marka molekuler RFLP (Low et al., 2017). Aplikasi RFLP mulai dikembangkan untuk program pemuliaan dan kultur jaringan, seperti analisis sidik jari DNA dan evaluasi koleksi plasma nutfah (Mayes et al., 1996) dan seleksi lokus untuk ketebalan cangkang (Mayes et al., 1997). Selanjutnya berkembang marka AFLP

untuk variasi somaklonal *mantled* pada klon kultur jaringan maupun kejadian hipometilasi. Marka SSR pada kelapa sawit mulai diperkenalkan dari *high density linkage map* (Billotte et al., 2005) yang menghasilkan berbagai macam marka molekuler SSR dan banyak dimanfaatkan oleh peneliti lain untuk identifikasi keragaman genetik populasi *Elaeis guineensis*, *E. oleifera*, maupun hibridanya pada program pemuliaan tanaman (Faizah et al., 2017; Ithnin et al., 2017). Marka SNP pada kelapa sawit berkembang mulai 2014 dan diteruskan dengan *genomic selection* di tahun berikutnya untuk seleksi tetua persilangan dan karakter sekunder kandungan minyak yang tinggi. Pada 2017 mulai dieksplorasi lokus-lokus yang terkait dengan resistensi terhadap *Ganoderma* pada tanaman-tanaman tahan di lapangan menggunakan marka SSR dan AFLP (Tisné et al., 2017).

Saat ini, bioteknologi dengan memanfaatkan data RNA sekuensing atau transkriptomik berkembang sangat cepat (C.-L. Ho et al., 2018; Isaac et al., 2018; Rosli et al., 2018). Genomik komparatif dan hasil transkriptomik telah dianalisis pada 2 kelompok gen besar yang berperan pada regulasi kualitas minyak dan gen resisten terhadap penyakit (gen R) (Rosli et al., 2018). Gen-gen yang meregulasi kualitas minyak terutama akumulasi asam oleat yaitu stearoyl ACP desaturases (*SAD*) dan acyl-acyl carrier protein (*ACP*) thioesterases (*FAT*) menunjukkan ekspresi kompleks di berbagai jenis jaringan dan tahapan perkembangan. Sedangkan berdasarkan analisis ortholog menunjukkan 141 dari 210 gen R kelapa sawit diduga memiliki homolog pada pisang dan padi. Sebanyak 141 gen tersebut termasuk dalam kategori *Kinase* (7), *CNL* (95), *MLO-like* (8), *RLK* (3) dan lainnya (28) (Rosli et al., 2018). Gen-gen terkait pertahanan yang aktif secara signifikan pada infeksi *Ganoderma* di awal infeksi 3 dan 7 hari setelah infeksi (hsi) antara lain *PR-protein* (*EgPR-1*), *protease inhibitor* (*EgBGIA*), *PRR protein* (*EgLYK3*) *chitinase* (*EgCht*) dan *expansin* (*EgEXPB18*) namun menurun pada 11 hsi dan terdapat gen lain yang meningkat, yaitu *EgERF113* dan *EgMYC2* (Bahari et al., 2018). Awal infeksi 3 dan 7 hsi disebut fase biotrofik dan 11 hsi termasuk fase nekrotrofik tahap akhir (Bahari et al., 2018). Perubahan peran gen-gen tersebut menunjukkan proses pertahanan tanaman yang sangat dinamis dan berpotensi untuk pengembangan marka molekuler yang semakin spesifik pada fase awal seleksi infeksi *Ganoderma*.

Desain penanda DNA dapat diperoleh dari gen-gen yang menyandi karakter tertentu (Y. C. Tan et al., 2013). Seperti juga pada gen resistensi kelapa sawit yang terlibat pada infeksi *G. boninense* di fase bibit. Informasi gen-gen yang aktif signifikan pasca infeksi *G. boninense* sangat penting sebagai informasi awal untuk pengembangan marka molekuler. Sebanyak 11 gen target yang digunakan sebagai primer qRT-PCR untuk pengembangan biomarker seleksi penyakit busuk pangkal batang (Y. C. Tan et al., 2013) dan satu gen target tersebut digunakan untuk seleksi ekspresi gen pada ramet yang diinfeksi *G. boninense* (Wulandari et al., 2018). Ekspresi gen spesifik pada daun kelapa sawit telah dianalisis menggunakan 10 primer qRT-PCR berdasarkan respon gen-gen yang terlibat dalam pertahanan infeksi *Ganoderma*, pada bibit yang akarnya menunjukkan gejala infeksi (Chai Ling Ho et al., 2019). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa gen-gen yang terlibat pada proses biologis di daun mengalihkan sumber dayanya untuk pertahanan tanaman terhadap infeksi. Selain itu juga *G. boninense* mampu memicu jalur pertahanan yang dimediasi biosintesis asam salisilat dan oksipilin. Penelitian-penelitian tersebut memberikan informasi ekspresi gen yang sangat dibutuhkan untuk pengembangan marka, namun primer berbasis RNA yang relatif tidak stabil untuk preparasi sampel daun maupun akar menjadi potensi peluang yang sangat besar untuk pengembangan marka berbasis DNA. Peluang tersebut dimanfaatkan pada ulasan ini untuk pengembangan marka berbasis DNA berdasarkan informasi gen-gen yang terlibat aktif dan signifikan pada akar pada infeksi *G. boninense* sebagai biomarker seleksi dini tanaman tahan di fase pembibitan.

KAJIAN TERKINI MARKA MOLEKULER UNTUK KARAKTER UNGGUL KELAPA SAWIT DAN TANAMAN LAIN

Penanda biomolekuler untuk penanda yang berharga di kelapa sawit dan tanaman lainnya berkembang biak. Meskipun teknologi molekuler telah mengarah pada penggunaan sekuensing generasi berikutnya (Choi et al., 2020), analisis asosiasi genom (Xia et al., 2019), data transkriptomik (Dhillon et al., 2021; Ma et al., 2021), dan pengeditan genom (Budiani et al., 2019; Yarra et al., 2020; Yeap et al., 2021), namun penanda genetik

biomolekuler masih diaplikasikan untuk proses seleksi karakteristik spesifik dalam pemuliaan tanaman (Bohry et al., 2021; Jang & Lee, 2021; J. J. Liu et al., 2020). Beberapa karakter penting pada kelapa sawit telah diseleksi menggunakan penanda molekuler, antara lain ketebalan cangkang, pertambahan hasil dan tinggi tanaman, konstruksi peta keterkaitan, kandungan asam lemak, morfologi dan sifat terkait hasil, perkembangan kalus, dan tanaman tahan *Ganoderma* (Tabel 1).

Peningkatan ketahanan tanaman terhadap penyakit dapat memanfaatkan gen ketahanan (Tabel 1). Beberapa gen resistensi yang telah digunakan antara lain gen *Pm4b* pada gandum menggunakan marka SNP dan SSR serta gen *PIArg* dan *PI8* pada bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) menggunakan marka SNP untuk ketahanan terhadap penyakit embun tepung (Qi et al., 2017; P. Wu et al., 2018). Gen ketahanan lainnya termasuk gen *xa5* pada padi untuk

penyakit hawar bakteri (Y. Liu et al., 2021), dan gen *katalase-1* (*CAT1*) dapat digunakan sebagai kandidat seleksi berbantuan penanda pada tanaman kopi untuk penyakit busuk buah kakao (Tarigan et al., 2021). Pengembangan marka molekuler untuk identifikasi dan seleksi tanaman tahan BPB masih terus ditingkatkan dan dapat dimanfaatkan dalam program pemuliaan kelapa sawit. Pada kelapa sawit yang terinfeksi *Ganoderma*, terdapat kandidat gen *EgIFR* dan *EgLCC24* yang berpotensi sebagai penanda molekuler untuk identifikasi dan diagnostik tanaman tahan BPB (Faizah et al., 2022; Tee et al., 2013). Kandidat marka-marka tersebut sangat mendukung percepatan program pemuliaan kelapa sawit, terutama dalam pemilihan tanaman tahan *Ganoderma*. Diharapkan akan banyak penanda berbasis nukleotida untuk pemilihan tanaman tahan BPB dalam mempercepat program pemuliaan kelapa sawit.

Tabel 1. Penanda biomolekuler untuk karakter spesifik pada kelapa sawit dan tanaman lain.

No.	Karakter	Tipe penanda molekuler	Nama penanda molekuler	Gen/kandidat gen/ <i>quantitative traits loci</i> (QTL)	Sekuens primer	Referensi
Kelapa sawit						
1	Ketebalan cangkang <i>SHELL</i>	1.000 SNPs	Tidak disebutkan	Gen <i>SHELL</i>	Tidak disebutkan	(Teh et al., 2019)
2	Produksi dan penambahan tinggi tanaman	588 SNP dan 67 SSR	Tabel 2 di artikel	QTL untuk tinggi batang dan korelasinya dengan karakter agronomi	Tabel 2 di artikel	(Teh et al., 2020)
3	<i>Linkage map construction</i>	<i>SPET markers</i> <i>SNP markers</i>	<i>OPGP project</i>	Tidak disebutkan	<i>OPGP project</i>	(Herrero et al., 2020)

(continued)

No.	Karakter	Tipe penanda molekuler	Nama penanda molekuler	Gen/kandidat gen/ <i>quantitative traits loci</i> (QTL)	Sekuens primer	Referensi
4	Kandungan asam lemak	62 marka SNP	<i>FatB1</i>	Gen <i>acylACP thioesterase B</i> (penambahan kandungan asam palmitat)	F: CCGGAATTCAGTGT-CTCCATATCCCCATC R: CCGCTCGAGTCAGT A-TTTCAAACGCAACA	(Xia et al., 2019)
5	Morfologi dan karakter produksi	12 SNPs	Table 2 di artikel	12 kandidat gen	Tidak disebutkan	(Osorio-guarín et al., 2019)
6	<i>Quantitative trait nucleotides (QTNs) for Yield and oil yield related traits</i>	SNP	Tidak disebutkan	<i>mitogen activated protein kinase-5 (MAPK-5)</i>	Tidak disebutkan	(Babu et al., 2020)
7	Oil palm callus development	cDNA	Tabel 1 di artikel	Tabel 1 di artikel	Tabel 1 di artikel	(Ribeiro et al., 2019)
8	Ketahanan kelapa sawit terhadap <i>G. boninense</i>	<i>Biolistic - mediated oil palm transformation</i>	Tidak disebutkan	<i>Basta® resistance gene (bar), alfalfa β- 1,3-glucanase (AGLU1) and rice chitinase (RCH10) genes</i>	Tabel 2 di artikel	(Hanin et al., 2020)
9	Karakter cangkang <i>SHELL</i>	16 SSR CAPS marker	Tabel 2 di artikel	Gen <i>SHELL</i>	Tabel 2 di artikel	(Babu et al., 2017)

(continued)

No.	Karakter	Tipe penanda molekuler	Nama penanda molekuler	Gen/kandidat gen/quantitative traits loci (QTL)	Sekuens primer	Referensi
Tanaman lain						
10	<i>Powdery mildew resistant</i> pada gandum	SNP dan SSR	<i>Xics13</i> dan <i>Xics43</i>	Gen <i>Pm4b</i>	Tambahan Tabel S4	(P. Wu et al., 2018) 112
11	<i>Downy resistant</i> pada bunga matahari	SNP	Tabel 1 di artikel	<i>Pl_{Arg}</i> and <i>Pl_g</i> genes	Tabel 1 di artikel	(Qi et al., 2017)
12	<i>Bacterial blight resistant</i> pada padi	<i>Tetra-primer ARMS</i> dan <i>KASP</i>	Tambahan Tabel 1 dan 2	<i>xa5</i>	Tambahan Tabel 1 dan 2	(Y. Liu et al., 2021)
13	Penyakit <i>Cacao black pod</i>	SNP	Tabel 7 di artikel	Gen <i>catalase-1 (CAT1)</i>	Tabel 7 di artikel	(Tarigan et al., 2021)

KESIMPULAN

Pengembangan marka molekuler untuk tanaman tahan *Ganoderma* dapat dilakukan dengan mengamati struktur dan vegetatif kelapa sawit serta perubahan biologis pada tanaman tahan *Ganoderma*. Gen potensial untuk mengembangkan penanda molekuler dan memvalidasi biomarker sangat penting dalam memilih tanaman tahan BPB. Marka molekuler berbasis nukleotida sangat mendukung dalam proses seleksi karakter potensial, termasuk tanaman tahan *Ganoderma* pada kelapa sawit.

DAFTAR PUSTAKA

[GAPKI] Gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia. (2021). Kinerja Industri Sawit 2021 dan Prospek 2022. In <https://gapki.id/News/20519/Kinerja-Industri-Sawit-2021-Prospek-2022>.

Alexander, A., Sipaut, C. S., Dayou, J., & Chong, K. P. (2017). Oil palm roots colonisation by *Ganoderma boninense*: An insight study using scanning electron microscopy. *Journal of Oil Palm Research*, 29(2), 262–266. <https://doi.org/10.21894/jopr.2017.2902.10>

Anders, S., & Huber, W. (2010). Differential expression and sequence-specific interaction of karyopherin \bar{A} with nuclear localization sequences. *Genome Biology*, 11(R106), 1–12. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.7.4310>

Babu, B. K., Mathur, R. K., Naveen Kumar, P., Ramajayam, D., Ravichandran, G., Venu, M. V. B., & SparjanBabu, S. (2017). Development, identification & validation of CAPS marker for SHELL trait which governs dura, pisifera & tenera fruit forms in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *PLoS ONE*, 12(2), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171933>

- Babu, B. K., Mathur, R. K., Ravichandran, G., Anita, P., & Venu, M. V. B. (2020). Genome wide association study (GWAS) and identification of candidate genes for yield and oil yield related traits in oil palm (*Eleaies guineensis*) using SNPs by genotyping-based sequencing. *Genomics*, 112(1), 1011–1020. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.06.018>
- Bahari, M. N. A., Sakeh, N. M., Abdullah, S. N. A., Ramli, R. R., & Kadkhodaei, S. (2018). Transcriptome profiling at early infection of *Elaeis guineensis* by *Ganoderma boninense* provides novel insights on fungal transition from biotrophic to necrotrophic phase. *BMC Plant Biology*, 18(1), 1–25. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1594-9>
- Billotte, N., Marseillac, N., Risterucci, A. M., Adon, B., Brottier, P., Baurens, F. C., Singh, R., Herrán, A., Asmady, H., Billot, C., Amblard, P., Durand-Gasselin, T., Courtois, B., Asmono, D., Cheah, S. C., Rohde, W., Ritter, E., & Charrier, A. (2005). Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theoretical and Applied Genetics*, 110(4), 754–765. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1901-8>
- Bohry, D., Ramos, H. C. C., dos Santos, P. H. D., Boechat, M. S. B., Arêdes, F. A. S., Pirovani, A. A. V., & Pereira, M. G. (2021). Discovery of SNPs and InDels in papaya genotypes and its potential for marker assisted selection of fruit quality traits. *Scientific Reports*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79401-z>
- Budiani, A., Nugroho, I. B., Sari, D. A., Palupi, I., & Putranto, R. A. (2019). CRISPR/Cas9-mediated knockout of an oil palm defense-related gene to the pathogenic fungus *Ganoderma boninense*. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 24(2), 101–105. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.52170>
- Budiani, A., Putranto, R. A., Riyadi, I., Sumaryono, Minarsih, H., & Faizah, R. (2018). Transformation of oil palm calli using CRISPR/Cas9 System: Toward genome editing of oil palm. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 183(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/183/1/012003>
- Camus-Kulandaivelu, L., Maxime, M., Sheong, T. J., Christophe, K., Durant-Gasselin, T., Alwee, S. S. R. S., & Frédéric, B. (2014). Identification of laccase genes in *Ganoderma boninense* draft genome assembly. *Cirad*, 4, 17–19. <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>
- Choi, S. R., Oh, S. H., Dhandapani, V., Jang, C. S., Ahn, C. H., Rameneni, J. J., Kim, H., Jeon, I., & Lim, Y. P. (2020). Development of SNP markers for marker-assisted breeding in Chinese cabbage using Fluidigm genotyping assays. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 61(2), 327–338. <https://doi.org/10.1007/s13580-019-00211-y>
- Chong, K. P., Markus, A., & Rossall, S. (2012). The susceptibility of different varieties of oil palm seedlings to *Ganoderma boninense* infection. *Pakistan Journal of Botany*, 44(6), 2001–2004. [https://doi.org/https://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/44\(6\)/27.pdf](https://doi.org/https://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/44(6)/27.pdf)
- Cline, M. S., Smoot, M., Cerami, E., Kuchinsky, A., Landys, N., Workman, C., Christmas, R., Avila-Campilo, I., Creech, M., Gross, B., Hanspers, K., Isserlin, R., Kelley, R., Killcoyne, S., Lotia, S., Maere, S., Morris, J., Ono, K., Pavlovic, V., ... Bader, G. D. (2007). Integration of biological networks and gene expression data using cytoscape. *Nature Protocols*, 2(10), 2366–2382. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.324>
- Darus, A., Seman, I. A., & Hassan, A. H. (1989). Significance of the black line within oil palm tissue decayed by *Ganoderma boninense*. *Elaeis*, 1(1), 11–16.
- Dhillon, B., Hamelin, R. C., & Rollins, J. A. (2021). Transcriptional profile of oil palm pathogen, *Ganoderma boninense*, reveals activation of lignin degradation machinery and possible evasion of host immune response. *BMC Genomics*, 22(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07644-9>
- Durand-gasselin, T., Turnbull, N., Franqueville, H. De, & Breton, F. (2015). Findings and advances on *Ganoderma* in oil palm . *Ganoderma* is a major disease to oil palm It causes considerable. 18th

- International Oil Palm Conference*, 37, 63–86.
<https://doi.org/http://web.fedepalma.org/xviii-conferencia/en/presentations>
- Edy, N., Anshary, A., Basir-Cyio, M., . M., Lakani, I., Rahma A. K, S., & Mahmud, S. (2020). Incidence and Severity of Ganoderma Rot Disease in Tropical Land-use Systems and Their Virulence to Palm Oil. *Plant Pathology Journal*, 19(2), 98–105.
<https://doi.org/10.3923/ppj.2020.98.105>
- Faizah, R., Putranto, R. A., Raharti, V. R., Supena, N., Sukma, D., Budiani, A., Wening, S., & Sudarsono, S. (2022). Defense response changes in roots of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings after internal symptoms of *Ganoderma boninense* Pat. infection. *BMC Plant Biology*, 22(1), 1–23.
<https://doi.org/10.1186/s12870-022-03493-0>
- Faizah, R., Wening, S., & Purba, A. R. (2017). Legitimacy of progenies using SSR markers as controlling system and earlier selection in the oil palm nursery (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Penelitian Kelapa Sawit*, 25(1), 21–30.
<https://doi.org/10.22302/iopri.jur.jpks.v25i1.22>
- Goh, K. M., Dickinson, M., & Supramaniam, C. V. (2018). Morphological and transcript changes in the biosynthesis of lignin in oil palm (*Elaeis guineensis*) during *Ganoderma boninense* infections in vitro. *Physiologia Plantarum*, 162(3), 274–289.
<https://doi.org/10.1111/ppl.12645>
- Goh, Y. K., Ng, F. W., Kok, S. M., Goh, Y. K., & Goh, K. J. (2014). Aggressiveness of *Ganoderma boninense* isolates on the vegetative growth of oil palm (*Elaeis guineensis*) seedlings at different ages. *Malaysian Applied Biology*, 43(2), 9–16.
https://doi.org/http://journalarticle.ukm.my/8674/1/43_2_02.pdf
- Goh, Yit Kheng, Zoqratt, M. Z. H. M., Goh, Y. K., Ayub, Q., & Ting, A. S. Y. (2020). Determining soil microbial communities and their influence on ganoderma disease incidences in oil palm (*Elaeis guineensis*) via high-throughput sequencing. *Biology*, 9(12), 1–21.
<https://doi.org/10.3390/biology9120424>
- Govender, N., & Wong, M. Y. (2017). Detection of oil palm root penetration by agrobacterium-mediated transformed *ganoderma boninense*, expressing green fluorescent protein. *Phytopathology*, 107(4), 483–490.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-16-0062-R>
- Hanin, A. N., Parveez, G. K. A., Rasid, O. A., & Masani, M. Y. A. (2020). Biolistic-mediated oil palm transformation with alfalfa glucanase (AGLU1) and rice chitinase (RCH10) genes for increasing oil palm resistance towards *Ganoderma boninense*. *Industrial Crops and Products*, 144(July 2019), 112008.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112008>
- Herrero, J., Santika, B., Herrán, A., Erika, P., & Sarimana, U. (2020). Construction of a high density linkage map in Oil Palm using SPET markers. *Scientific Reports*, 10:9998(788), 1–9.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-67118-y>
- Ho, C.-L., Tan, Y.-C., Yeoh, K.-A., Lee, W.-K., Ghazali, A.-K., Yee, W.-Y., & Hoh, C.-C. (2018). Transcriptional response of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) inoculated simultaneously with both *Ganoderma boninense* and *Trichoderma harzianum*. *Plant Gene*, 13, 56–63.
<https://doi.org/10.1016/j.plgene.2018.01.003>
- Ho, C. L., & Tan, Y. C. (2015). Molecular defense response of oil palm to *Ganoderma* infection. *Phytochemistry*, 114, 160–169.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.10.016>
- Ho, Chai Ling, Tan, Y. C., Yeoh, K. A., Lee, W. K., Ghazali, A. K., Yee, W. Y., & Hoh, C. C. (2019). Leaf transcriptome of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) infected by *Ganoderma boninense*. *Trees - Structure and Function*, 33(3), 943–950.
<https://doi.org/10.1007/s00468-019-01830-9>
- Hou, H., Atlihan, N., & Lu, Z. X. (2014). New biotechnology enhances the application of cisgenesis in plant breeding. *Frontiers in Plant Science*, 5(AUG), 1–5.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00389>
- Idrees, M., Naeem, M., Aftab, T., Khan, M. M. A., & Moinuddin. (2011). Salicylic acid mitigates

- salinity stress by improving antioxidant defence system and enhances vincristine and vinblastine alkaloids production in periwinkle [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(3), 987–999. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0631-6>
- Idris, A. S., Kushairi, ;, Ismail, ;, & Ariffin. (2004). Selection for partial resistance in oil palm progenies to *Ganoderma* basal stem rot. *Journal of Oil Palm Research*, 16, 12–18. <https://doi.org/http://jopr.mpob.gov.my/selection-for-partial-resistance-in-oil-palm-progenies-to-ganoderma-basal-stem-rot/>
- Isaac, I. L., Walter, A. W. C. Y., Bakar, M. F. A., Idris, A. S., Bakar, F. D. A., Bharudin, I., & Murad, A. M. A. (2018). Transcriptome datasets of oil palm pathogen *Ganoderma boninense*. *Data in Brief*, 17, 1108–1111. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.02.027>
- Ithnin, M., Teh, C. K., & Ratnam, W. (2017). Genetic diversity of *Elaeis oleifera* (HBK) Cortes populations using cross species SSRs: Implication's for germplasm utilization and conservation. *BMC Genetics*, 18(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0505-7>
- Jang, Y. E., & Lee, S. (2021). Gene-Based Allele Specific Marker for Resistance to *Phytophthora* Sojae in Soybean (*Glycine Max* L.). *Plant Breeding and Biotechnology*, 9(2), 164–169. <https://doi.org/10.9787/PBB.2021.9.2.164>
- Kloppholz, S., Kuhn, H., & Requena, N. (2011). A secreted fungal effector of *glomus* intraradices promotes symbiotic biotrophy. *Current Biology*, 21(14), 1204–1209. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.06.044>
- Laluk, K., & Mengiste, T. (2010). Necrotroph Attacks on Plants: Wanton Destruction or Covert Extortion? *The Arabidopsis Book*, 8, e0136. <https://doi.org/10.1199/tab.0136>
- Leão, A. P., Filho, J. A. F., Pereira, V. M., Alves, A. A., & Júnior, M. T. S. (2022). Genomic Characterization of SNPs for Genetic Differentiation and Selection in Populations from the American Oil Palm. *Diversity*, 14(270), 1–12. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/d14040270>
- Liu, J. J., Snieszko, R. A., Sissons, R., Krakowski, J., Alger, G., Schoettle, A. W., Williams, H., Zamany, A., Zitomer, R. A., & Kegley, A. (2020). Association Mapping and Development of Marker-Assisted Selection Tools for the Resistance to White Pine Blister Rust in the Alberta Limber Pine Populations. *Frontiers in Plant Science*, 11(September), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.557672>
- Liu, Y., Wang, F., Zhang, A., Kong, D., Liu, G., Luo, L., & Yu, X. (2021). Development and validation of functional markers (Tetra-primer ARMS and KASP) for the bacterial blight resistance gene *xa5* in rice. *Australasian Plant Pathology*, 323–327. <https://doi.org/10.1007/s13313-021-00776-2>
- Low, E. L., Jayanthi, N., Chan, K., Sanusi, N. S. N. M., Halim, M. A. A., Rosli, R., Azizi, N., Amiruddin, N., Angel, L. P. L., Ong-Abdullah, M., Singh, R., Manaf, M. A. A., Sambanthamurthi, R., Parveez, G. K. A., & Khusairi, A. (2017). The oil palm genome revolution. *Journal of Oil Palm Research*, 29(December), 456–468.
- Ma, D., Liu, B., Ge, L., Weng, Y., Cao, X., Liu, F., Mao, P., & Ma, X. (2021). Identification and characterization of regulatory pathways involved in early flowering in the new leaves of alfalfa (*Medicago sativa* L.) by transcriptome analysis. *BMC Plant Biology*, 21(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02775-9>
- Mayes, S., Jack, P. L., Marshall, D. F., & Corley, R. H. V. (1997). Construction of a RFLP genetic linkage map for oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Genome*, 40(1), 116–122. <https://doi.org/10.1139/g97-016>
- Mayes, S., James, C. M., Horner, S. F., Jack, P. L., & Corley, R. H. V. (1996). The application of restriction fragment length polymorphism for the genetic fingerprinting of oil palm (*E. guineensis* Jacq.). *Molecular Breeding*, 2(2), 175–180. <https://doi.org/10.1007/BF00441432>
- Murphy, D. J. (2007). Future prospects for oil palm in the 21st century: Biological and related challenges. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(4), 296–306. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600229>
- Naher, L., Tan, S. G., Yusuf, U. K., Ho, C. L., & Siddiquee, S. (2012). Activities of chitinase

- enzymes in the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) In interactions with pathogenic and non-pathogenic fungi. *Plant OMICS*, 5(4), 333–336.
- Nam, D., & Kim, S. Y. (2008). Gene-set approach for expression pattern analysis. *Briefings in Bioinformatics*, 9(3), 189–197. <https://doi.org/10.1093/bib/bbn001>
- Nursita, E. (2009). *The initial infection process of the root rotting fungus Ganoderma sp as the basis for control with Trichoderma reesei*. Gadjah Mada University.
- Osorio-guarín, J. A., Garzón-martínez, G. A., Delgadillo-duran, P., Bastidas, S., Moreno, L. P., Enciso-rodríguez, F. E., Cornejo, O. E., & Barrero, L. S. (2019). Genome-wide association study (GWAS) for morphological and yield-related traits in an oil palm hybrid (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*) population. *BMC Plant Biology*, 19(533), 1–11.
- Paterson, R. R. M., Moen, S., & Lima, N. (2009). The feasibility of producing oil palm with altered lignin content to control ganoderma disease. *Journal of Phytopathology*, 157(11–12), 649–656. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01553.x>
- Pootakham, W., Uthaisaisanwong, P., Sangsrakru, D., Yoocha, T., Tragoonrung, S., & Tangphatsornruang, S. (2013). Development and characterization of single-nucleotide polymorphism markers from 454 transcriptome sequences in oil palm (*Elaeis guineensis*). *Plant Breeding*, 132(6), 711–717. <https://doi.org/10.1111/pbr.12095>
- Purba, A. R., Setiawati, U., Susanto, A., Rahmaningsih, M., Yenni, Y., Rahmadi, H. Y., & Nelson, S. P. C. (2011). Indonesia's Experience of Developing Ganoderma Tolerant/Resistant Oil Palm Planting Material. In The International Society for Oil Palm Breeders (ISOPB) (Ed.), *Proceedings of the International Seminar on Breeding for Oil Palm Disease Resistance and Field Visits* (pp. 1–22). The International Society for Oil Palm Breeders (ISOPB). [https://doi.org/http://isopb.mpob.gov.my/pdfFile/6th/P6-IOPRI Ganoderma.pdf](https://doi.org/http://isopb.mpob.gov.my/pdfFile/6th/P6-IOPRI%20Ganoderma.pdf)
- Putranto, R. A., Syaputra, I., & Budiani, A. (2016). Differential gene expression in oil palm varieties susceptible and tolerant to Ganoderma. In M. Gozan, A. Yusuf, E. Purwanto, D. Purnomo, S. Setyahadi, D. Indarto, & A. T. Sakya (Eds.), *The 6th Indonesian Biotechnology Conference "Enhancing Industrial Competitiveness Through Biotechnology Innovation"* (Vol. 1, Issue September, pp. 233–243). Faculty of Agriculture, Universitas Sebelas Maret. <https://doi.org/https://iccollic.uns.ac.id/?schedConf=ibc&page=index>
- Qi, L. L., Talukder, Z. I., Hulke, B. S., & Foley, M. E. (2017). Development and dissection of diagnostic SNP markers for the downy mildew resistance genes PIArg and PI8 and marker-assisted gene pyramiding in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Molecular Genetics and Genomics*, 292(3), 551–563. <https://doi.org/10.1007/s00438-017-1290-8>
- Rakib, M. R. M., Bong, C. F. J., Khairulmazmi, A., & Idris, A. S. (2015). Aggressiveness of *Ganoderma boninense* and *G. zonatum* isolated from upper - And Basal stem rot of oil palm (*Elaeis guineensis*) in Malaysia. *Journal of Oil Palm Research*, 27(3), 229–240. <https://doi.org/http://jopr.mpob.gov.my/>
- Ribeiro, D. G., de Almeida, R. F., Fontes, W., de Souza Castro, M., de Sousa, M. V., Ricart, C. A. O., da Cunha, R. N. V., Lopes, R., Scherwinski-Pereira, J. E., & Mehta, A. (2019). Stress and cell cycle regulation during somatic embryogenesis plays a key role in oil palm callus development. *Journal of Proteomics*, 192(May), 137–146. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.08.015>
- Robinson, M. D., McCarthy, D. J., & Smyth, G. K. (2009). edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*, 26(1), 139–140. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>
- Rosli, R., Amiruddin, N., Ab Halim, M. A., Chan, P. L., Chan, K. L., Azizi, N., Morris, P. E., Low, E. T. L., Ong-Abdullah, M., Sambanthamurthi, R., Singh, R., & Murphy, D. J. (2018). Comparative genomic and transcriptomic analysis of selected fatty acid biosynthesis genes and CNL disease resistance genes in oil palm. *PLoS*

- ONE, 13(4), 1–17.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194792>
- Sekhwal, M. K., Li, P., Lam, I., Wang, X., Cloutier, S., & You, F. M. (2015). Disease resistance gene analogs (RGAs) in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(8), 19248–19290.
<https://doi.org/10.3390/ijms160819248>
- Semagn, K., Bjørnstad, Å., & Ndjondjop, M. N. (2006). An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(25), 2540–2568.
<https://doi.org/10.5897/AJB2006.000-5110>
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., & Ideker, T. (2003). Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models. *Genome Research*, 13, 2498–2504.
<https://doi.org/10.1101/gr.1239303.metabolite>
- Siddiqui, Y., Surendran, A., Paterson, R. R. M., Ali, A., & Ahmad, K. (2021). Current strategies and perspectives in detection and control of basal stem rot of oil palm. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.02.016>
- Tan, J. S., Lee, Y. P., Sulaiman, S., Camus-Kulandaivelu, L., Klopp, C., Mercière, M., Breton, F., Durand-Gasselin, T., & Alwee, S. S. R. S. (2018). The route to the development of basal stem rot resistance in oil palm (*Elaeis guineensis*) via the discovery of lignin degradation process in the pathogen *Ganoderma boninense*. *Acta Horticulturae*, 1205, 359–370.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1205.42>
- Tan, Y. C., Yeoh, K. A., Wong, M. Y., & Ho, C. L. (2013). Expression profiles of putative defence-related proteins in oil palm (*Elaeis guineensis*) colonized by *Ganoderma boninense*. *Journal of Plant Physiology*, 170(16), 1455–1460.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.05.009>
- Tarigan, R., Maharijaya, A., & Izzah, N. K. (2021). SNAP markers derived from Catalase-1 gene sequence used for black pod disease resistance in cacao (*Theobroma cacao* L.). *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 53(3), 510–526.
- Tee, S. S., Tan, Y. C., Abdullah, F., Ong-Abdullah, M., & Ho, C. L. (2013). Transcriptome of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) roots treated with *Ganoderma boninense*. *Tree Genetics and Genomes*, 9(2), 377–386.
<https://doi.org/10.1007/s11295-012-0559-7>
- The, C. K., Lee, H. L., Abidin, H., Ong, A. L., Mayes, S., Chew, F. T., & Appleton, D. (2019). A practical genome-enabled legitimacy assay for oil palm breeding and seed production. *BMC Plant Biology*, 19(1), 1–7.
<https://doi.org/10.1186/s12870-019-2062-x>
- Teh, C. K., Ong, A. L., Mayes, S., Massawe, F., & Appleton, D. R. (2020). Major qtls for trunk height and correlated agronomic traits provide insights into multiple trait integration in oil palm breeding. *Genes*, 11(7), 1–15.
<https://doi.org/10.3390/genes11070826>
- Tisné, S., Pomiès, V., Riou, V., Syahputra, I., Cochard, B., & Denis, M. (2017). Identification of *Ganoderma* disease resistance loci using natural field infection of an oil palm multiparental population. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7(6), 1683–1692.
<https://doi.org/10.1534/g3.117.041764>
- Utomo, C., Tanjung, Z. A., Aditama, R., Buana, R. F. N., Pratomo, A. D. M., Tryono, R., & Liwang, T. (2018). Draft genome sequence of the phytopathogenic fungus *Ganoderma boninense*, the causal agent of basal stem rot disease on oil palm. *Genome Announcements*, 6(17), 1–2.
<https://doi.org/10.1128/genomeA.00122-18>
- Veronese, P., Nakagami, H., Bluhm, B., AbuQamar, S., Chen, X., Salmeron, J., Dietrich, R. A., Hirt, H., & Mengiste, T. (2006). The membrane-anchored BOTRYTIS-INDUCED KINASE1 plays distinct roles in Arabidopsis resistance to necrotrophic and biotrophic pathogens. *Plant Cell*, 18(1), 257–273.
<https://doi.org/10.1105/tpc.105.035576>
- Wang, Y., Liu, W., Xu, L., Wang, Y., Chen, Y., Luo, X., Tang, M., & Liu, L. (2017). Development of SNP

- markers based on transcriptome sequences and their application in germplasm identification in radish (*Raphanus sativus* L.). *Molecular Breeding*, 37(3).
<https://doi.org/10.1007/s11032-017-0632-x>
- Wiratmoko, D., Prasetyo, A. E., Jatmiko, R. H., Yusuf, M. A., & Rahutomo, S. (2018). *Identification of Ganoderma boninense Infection Levels on Oil Palm Using Vegetation Index*. 1(3), 110–120.
- Wu, C., Ding, X., Ding, Z., Tie, W., Yan, Y., Wang, Y., Yang, H., & Hu, W. (2019). The class III peroxidase (POD) gene family in cassava: Identification, phylogeny, duplication, and expression. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11), 1–17.
<https://doi.org/10.3390/ijms20112730>
- Wu, P., Xie, J., Hu, J., Qiu, D., Liu, Z., & Li, J. (2018). Development of Molecular Markers Linked to Powdery Mildew Resistance Gene Pm4b by Combining SNP Discovery from Transcriptome Sequencing Data with Bulk Segregant Analysis (BSR-Seq) in Wheat. *Frontiers in Plant Science*, 9(February), 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00095>
- Wulandari, Y. R. E., Felicia, Arifin, A. R., & Suwanto, A. (2018). EgMLP1 Gene Expression in Oil Palm Ramet Infected with *Ganoderma boninense*. *International Journal of Oil Palm*, 1 (2)(51), 71–78.
- Xia, W., Luo, T., Dou, Y., Zhang, W., Mason, A. S., Huang, D., Huang, X., Tang, W., Wang, J., Zhang, C., & Xiao, Y. (2019). Identification and Validation of Candidate Genes Involved in Fatty Acid Content in Oil Palm by Genome-Wide Association Analysis. *Frontiers in Plant Science*, 10(October), 1–10.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01263>
- Yarra, R., Cao, H., Jin, L., Mengdi, Y., & Zhou, L. (2020). CRISPR/Cas mediated base editing: a practical approach for genome editing in oil palm. *3 Biotech*, 10(7), 1–7.
<https://doi.org/10.1007/s13205-020-02302-5>
- Yeap, W. C., Norkhairunnisa Che Mohd Khan, Norfadzilah Jamalludin, Muad, M. R., Appleton, D. R., & Harikrishna Kulaveerasingam. (2021). An Efficient Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR)/CRISPR-Associated Protein 9 Mutagenesis System for Oil Palm (*Elaeis guineensis*). *Frontiers in Plant Science*, 12 (November), 1–13.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2021.773656>
- Zhang, G. B., Li, Q. Y., Chen, Q. L., & Su, S. B. (2013). Network pharmacology: A new approach for Chinese herbal medicine research. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
<https://doi.org/10.1155/2013/621423>