

## Spesies Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* spp.) yang Berasosiasi dengan Penyakit Umbi Bercabang pada Wortel: Penyakit Baru di Indonesia

### (Root Knot Nematode Species, *Meloidogyne* spp. Which Associating With the Branched Tuber Disease of Carrot: a New Disease in Indonesia)

Supramana\*, Gede Suastika

#### ABSTRAK

Penyakit dan hama merupakan salah satu kendala utama dalam bertanam wortel di Indonesia. Penyakit baru yang menimbulkan kerugian besar adalah penyakit umbi bercabang yang disebabkan nematoda puru akar (NPA) *Meloidogyne* spp. Penelitian untuk mengidentifikasi species NPA telah dilakukan dengan mengambil sampel tanaman sakit dan tanah dari pertanaman wortel di empat sentra produksi sayuran di Pulau Jawa, yaitu (1) Kecamatan Pacet, Cianjur, Jawa Barat, (2) dataran tinggi Dieng, Jawa Tengah, (3) Kopeng, Jawa Tengah, dan (4) Kecamatan Bumiaji, Kota Batu, Jawa Timur. Tiga lahan pertanaman wortel dengan ketinggian / elevasi yang berbeda diambil sebagai contoh untuk setiap wilayah pengamatan. Identifikasi species NPA dilakukan dengan pengamatan pola perineal (sidik pantat) betina dan PCR ITS r-DNA nematoda. Empat species *Meloidogyne*, yaitu *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, dan *M. javanica*, berhasil diidentifikasi dari sampel asal Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur, sedangkan *M. fallax* hanya ditemukan di Jawa Barat.

Kata kunci: species *Melidogyne*, umbi bercabang, wortel

#### ABSTRACT

Diseases and pests is one of the main obstacles in the cultivation of carrots in Indonesia. One of the emerging diseases that cause significant losses is branched (forked) tuber caused by root knot nematodes (RKN), *Meloidogyne* spp. Research aimed to identify the species of RKN was carried out by taking samples of diseased plants and soil from the carrot plantation in four vegetable production centers on the island of Java, namely: (1) District Pacet, Cianjur, West Java, (2) Dieng Plateau, Central Java, (3) Kopeng, Central Java and (4) District Bumiaji, Kota Batu, East Java. Three carrot plantations with different altitude / elevation were sampled for each area involved. NPA species identification was done by observation of perineal pattern (fingerprint-like pattern) of females and PCR of nematodes r-DNA ITS. Four *Meloidogyne* species, namely *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, and *M. javanica*, were identified from West Java, Central Java and East Java samples, whereas *M. fallax* found only in West Java.

Keywords: carrots, root branching, species *Melidogyne*

#### PENDAHULUAN

Nematoda adalah binatang mungil (mikrofauna) menyerupai cacing atau belut yang menjadi parasit paling merugikan bagi tanaman wortel. Ada sekitar 90 jenis nematoda yang dapat memarasit wortel, yang paling merusak adalah nematoda puru akar/NPA (*Meloidogyne* spp.). Tanaman wortel yang sakit menjadi kerdil, daunnya kusam dan menguning, mudah layu, serta umbinya bercabang-cabang, bentuknya berubah dan permukaannya kasar atau berambut sehingga tidak laku dijual.

Penyakit umbi bercabang mengakibatkan produksi tanaman wortel di seluruh negara penanam wortel mengalami penurunan. Di Amerika Serikat kerugian akibat NPA mencapai 50% (Ferris 2008). *M. Incognita* dilaporkan menjadi penyebab kehilangan hasil pada tanaman wortel cv Gold pack di Italia, dan di Brazil *M.*

*incognita* dan *M. javanica* menyebabkan kehilangan hasil pada wortel cv Aline (Luc *et al.* 2005). Di Indonesia belum ada data kehilangan hasil akibat prnyakit umbi bercabang. Badan Pusat Statistik (BPS) melaporkan produksi wortel di Indonesia selama 2005–2009 mengalami penurunan 19,78% (dari 440.002 menjadi 352.963 ton/tahun).

Survei yang dilakukan oleh Kurniawan (2010) di wilayah Agropolitan, Kecamatan Pacet, Cianjur melaporkan bahwa kerugian yang ditimbulkan oleh penyakit umbi bercabang berkisar 15–95%. Berbagai tipe gejala malformasi umbi oleh NPA seperti yang telah didiskripsi beberapa peneliti di laur negeri, antara lain: umbi bercabang/menggarpu (*forking*), timbul puru akar (*galling*) (Tanaka *et al.* 1997), umbi membulat dengan ukuran lebih pendek, dan membentuk akar rambut yang cukup banyak (*hairy roots*) (Vrain & Baker 1980; Vrain 1982), juga berhasil ditemukan di wilayah pengamatan.

Beberapa species *Meloidogyne* spp. telah dilaporkan menyebabkan umbi wortel bercabang/menggarpu, antara lain *M. incognita*, *M. javanica*, *M.*

Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

\* Penulis korespondensi: E-mail: mulyads3@yahoo.com

*arenaria*, *M. hapla*, dan *M. chitwoodi*. Walaupun fenomena wortel bercabang telah ditemukan hampir di semua sentra produksi sayuran di Indonesia, identifikasi spesies *Meloidogyne* hingga saat ini belum dilakukan. Untuk mengendalikan parasit ini secara efektif dan efisien, informasi tentang spesies NPA mutlak diperlukan.

Penelitian yang dilakukan di empat sentra produksi wortel di Pulau Jawa bertujuan melakukan identifikasi spesies NPA (*Meloidogyne* spp.) sebagai penyebab penyakit umbi bercabang dan memetakan dominansi spesies *Meloidogyne* berdasarkan lokasi dan ketinggian tempat wilayah pengamatan.

## METODE PENELITIAN

Pengamatan dan pengambilan contoh tanaman sakit telah dilakukan pada lahan pertanaman wortel di empat sentra produksi wortel di wilayah Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur. Identifikasi nematoda secara morfologi dilakukan di Laboratorium Nematologi Tumbuhan, sedangkan identifikasi secara biologi molekuler dilakukan di Laboratorium Virologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB. Penelitian telah dilaksanakan dari bulan April 2011 sampai dengan Oktober 2012.

Penelitian ini terdiri dari 3 kegiatan: survei dan pendataan, identifikasi spesies *Meloidogyne* berdasar karakter morfologi dan identifikasi spesies *Meloidogyne* secara biologi molekuler.

### 1 Survei dan pendataan

Survei telah dilakukan di empat sentra produksi wortel, yaitu di wilayah (1) Agropolitan, Kecamatan Pacet, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat, (2) Dataran Tinggi Dieng, Jawa Tengah, (3) Kopeng, Jawa Tengah, dan (4) Kecamatan Bumiaji, Kota Batu, Jawa Timur. Pada setiap wilayah contoh diambil 3 pertanaman wortel dengan ketinggian tempat / elevasi (m dpl.) yang berbeda. Pada setiap lokasi dilakukan pendataan gejala penyakit dan pengambilan sampel tanah dan tanaman sakit untuk pengujian lebih lanjut di laboratorium. Pendataan dilakukan terhadap tipe gejala penyakit, ketinggian tempat/elevasi, luas kebun, varietas wortel yang ditanam, produksi per hektar, serta kehilangan hasil (intensitas penyakit) akibat penyakit umbi bercabang.

### 2 Identifikasi berdasarkan karakter morfologi

Identifikasi dilakukan terhadap pola perineal/sidik pantat nematoda betina. Sebanyak 150 nematoda betina per wilayah pengamatan diambil sebagai contoh, 50 betina mewakili setiap ketinggian tempat. Pembuatan preparat sidik pantat dengan mengikuti protokol yang disusun oleh Shurtleff *et al.* (2005).

### 3 Identifikasi Biologi Molekuler

Identifikasi biologi molekuler dilakukan dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR) terhadap ITS r-DNA nematoda. Ekstraksi DNA

nematoda dilakukan mengikuti prosedur Zouhar *et al.* (2000). Amplifikasi DNA menggunakan teknik PCR dengan primer spesifik untuk *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. incognita*, dan primer multiplex untuk *M. Chitwood*, *M. hapla*, *M. falax*. PCR reagen: 5,0 ul 10x taq buffer, 4,0 ul dNTP, 0,8 ul primer 1, 0,8 ul primer 2, 0,4 ul taq total, dan 29,5 ul ddH<sub>2</sub>O sehingga total 40,5 ul (Hyman *et al.* 1997). DNA nematoda hasil amplifikasi dianalisis untuk melihat visualisasi DNA melalui elektroforesis menggunakan gel agarose 1% dalam 0,5x buffer TBE (Tris-HCl 45 mM, asam borat 45 mM, dan EDTA 1 mM). Elektroporesis dilakukan dengan tegangan 120 V DC selama 54–60 menit Untuk pengukuran DNA digunakan penanda 1 kb *ladder*. Hasil elektroporesis divisualisasi dengan transiluminator UV dan dpotret dengan kamera.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Gejala Penyakit di Lapangan

Pengamatan pertanaman wortel sakit pada empat wilayah di Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur menemukan pola penyebaran penyakit sangat jelas terjadi pada beberapa titik dan mengelompok pada guludan tertentu. Pola sebaran penyakit seperti ini dikenal dengan pola penyebaran spasial (Barker and Campbell 1981). Pada bagian lahan yang sakit, tajuk tanaman banyak yang berukuran kerdil dan terdapat gejala botak pada lahan di sekitarnya (Gambar 1). Gejala botak pada lahan merupakan ciri khas dari infeksi nematoda yang terjadi karena pertumbuhan tanaman yang lambat (kerdil) dan juga rumpunnya yang sangat jarang. Tingkat infeksi yang tinggi sejak awal pertumbuhan tanaman mengakibatkan banyak benih/bibit yang mati muda.

Gejala penyakit di perakaran berupa perubahan bentuk pada umbi antara lain umbi bercabang/*forking*, umbi berambut, umbi berbintil (Gambar 2), dan timbul puru dengan berbagai bentuk dan ukuran di perakaran.



Gambar 1 Pertanaman wortel terinfestasi NPA, terdapat kelompok-kelompok tanaman kerdil dan menguning serta bagian lahan yang kosong.

**NPA Berdasar Identifikasi Morfologi**

Identifikasi dengan pengamatan sidik pantat (pola perineal) NPA betina (Eisenback *et al.* 1985) menemukan secara konsisten keberadaan empat spesies *Meloidogyne*, yaitu *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* dan *M. javanica* pada semua lokasi pertanaman wortel yang diteliti (Gambar 3). *M. arenaria* dicirikan oleh lengkung dorsal rendah dan ramping di sekitar garis lateral. Bagian lengkung stria bercabang di dekat garis lateral dengan bagian stria atas lebih mendatar. *M. hapla* dicirikan oleh lengkung dorsal yang rendah dengan bagian ujung sering membentuk sayap ke bagian lateral baik pada satu ujung atau pada kedua ujungnya serta terdapat duri-duri yang menonjol di sekitar bekas ujung ekor. *M. incognita* dicirikan oleh lengkung dorsal yang tinggi dan menyempit, sedangkan pada bagian paling luarnya sedikit melebar dan agak mendatar, tidak memiliki garis lateral dan bagian stria terlihat jelas. *M. javanica* dicirikan oleh dua garis lateral yang sangat jelas memisahkan lengkung dorsal dari lengkung ventral (Eisenback *et al.* 1985; Ferris 2008).

**Species NPA Berdasarkan Identifikasi Biologi Molekuler**

Identifikasi biologi molekuler dengan PCR menggunakan tiga pasang primer spesifik untuk spesies *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica* dan satu primer *multiplex* untuk spesies *M. chitwoodi*, *M. falax*, dan *M. hapla* (Adam *et al.* 2007). Primer spesifik untuk *M. arenaria* adalah Far 5'-TCG GCG ATA GAG GTA AAT GAC-3'/Rar 5'-TCG GCG ATA GAC ACT ACA AAC T-3' (Zijlstra *et al.* 2000), *M. incognita* adalah MI-F 5'-GTG AGG ATT CAG TCT CCC AG-3'/MI-R 5'-ACG AGG AAC ATA CTT CTC CGT CC-3' (Meng *et al.*

2004), *M. javanica* adalah Fjav 5'-GGT GCG CGA TTG AAC TGA GC-3'/Rjav 5'-CAG GCC CTT CAG TGG AAC TAT AC-3' (Zijlstra *et al.* 2000), dan primer *multiplex* adalah JMV1 5'-GGA TGG CGT GCT TTC AAC-3'/JMV2 5'-TTT CCC CTT ATG ATG TTT ACC C-3'/JMV-hapla 5'-AAA AAT CC CTC GAA AAA TCC ACC-3' (Wishart *et al.* 2002) yang diproduksi oleh MWG Biotech.

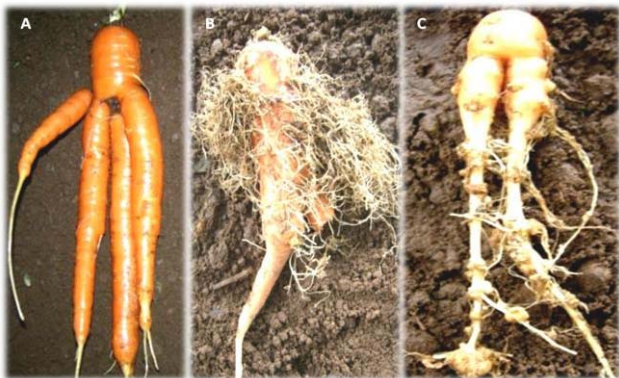
Hasil uji biologi molekuler untuk sampel dari wilayah Jawa Barat teridentifikasi keberadaan lima spesies NPA yaitu, *M. arenaria*, *M. fallax*, *M. hapla*, *M. incognita* dan *M. javanica*. Pada gambar 4 menunjukkan pita DNA tiap spesies dengan ukuran fragmen untuk setiap primer yang digunakan, yaitu untuk spesies *M. hapla* (440 bp), *M. falax* (670 bp), *M. javanica* (720 bp), *M. incognita* (999 bp) dan *M. arenaria* (420 bp).

Hasil uji biologi molekuler sampel asal Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur memperkuat hasil identifikasi spesies *Meloidogyne* secara morfologi tentang keberadaan empat spesies utama NPA yaitu *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, dan *M. javanica*, serta tambahan satu species yaitu *M. fallax* untuk sampel Jawa Barat (Kurniawan 2010; Taher 2012; Hikmia 2012).

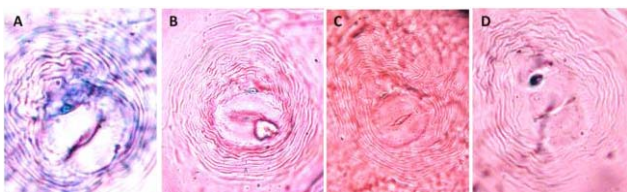
**Distribusi Species NPA Berdasarkan Ketinggian Tempat**

Distribusi spesies *Meloidogyne* pada lokasi pengamatan di wilayah Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan kisaran suhu wilayah pengamatan, hal tersebut menjelaskan bahwa empat species utama *Meloidogyne* berpeluang untuk berkembang baik pada wilayah dataran tinggi di Pulau Jawa.

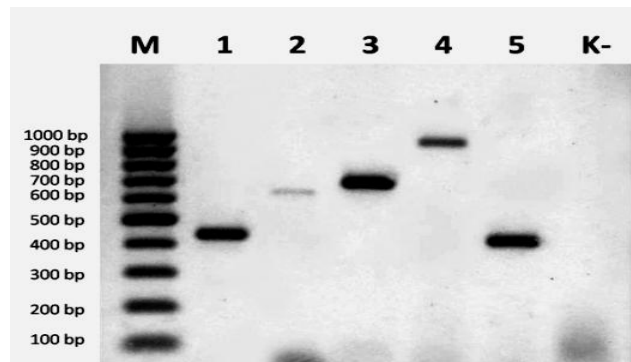
Menurut Feris (2008), suhu optimum untuk *M. arenaria* dan *M. incognita* adalah 15–25 °C serta untuk *M. javanica* 20–30 °C. *M. hapla* secara ekologi hanya dapat hidup dan berkembang biak pada kisaran suhu optimum 15–20 °C, suhu minimum untuk menginfeksi 5 °C dan maksimum 35 °C, suhu minimum untuk pertumbuhan adalah 15 °C dan maksimum 30 °C (Feris 2008). Di daerah subtropis *M.*



Gambar 2 Gejala umbi bercabang pada wortel: bercabang (A), berambut (B), dan berbintil (C).



Gambar 3 Pola sidik pantat spesies *Meloidogyne*: *M. hapla* (A), *M. arenaria* (B), *M. incognita* (C) dan *M. javanica* (D).



Gambar 4 Hasil amplifikasi DNA spesies NPA asal wilayah Jawa Barat: (marker 100 bp). 1= *M. hapla* (440 bp), 2= *M. falax* (670 bp), 3= *M. javanica* (720 bp), 4= *M. incognita* (999 bp), 5= *M. arenaria* (420 bp), dan K-= kontrol negatif.

Tabel 1 Distribusi spesies *Meloidogyne* berdasarkan ketinggian tempat pertanaman wortel pada empat wilayah di Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur

Lokasi	Suhu (°C)	Spesies <i>Meloidogyne</i>	Ketinggian tempat (m dpl)		
			< 1000	1000 - 1600	> 1600
Pacet, Jawa Barat	19–24	<i>M. arenaria</i>	+	+	-
		<i>M. fallax</i>	-	+	+
		<i>M. hapla</i>	+	+	+
		<i>M. incognita</i>	+	+	+
		<i>M. javanica</i>	+	+	+
Dieng, Jawa Tengah <sup>1)</sup>	19–23	<i>M. arenaria</i>			+
		<i>M. fallax</i>			-
		<i>M. hapla</i>			+
		<i>M. incognita</i>			+
		<i>M. javanica</i>			+
Kopeng, Jawa Tengah <sup>2)</sup>	18–26	<i>M. arenaria</i>		+	+
		<i>M. fallax</i>		-	-
		<i>M. hapla</i>		+	+
		<i>M. incognita</i>		+	+
		<i>M. javanica</i>		+	+
Bumiaji, Jawa Timur <sup>1)</sup>	15–17	<i>M. arenaria</i>			+
		<i>M. fallax</i>			-
		<i>M. hapla</i>			+
		<i>M. incognita</i>			+
		<i>M. javanica</i>			+

Keterangan: jumlah sampel 50 betina per lokasi.

*hapla* dapat bertahan pada suhu -15 °C selama musim dingin, dan keberadaannya terbatas pada suhu rata-rata kurang dari 27 °C selama musim panas (Taylor *et al.* 1982).

## KESIMPULAN

Identifikasi spesies *Meloidogyne* pada contoh tanaman wortel sakit dari wilayah Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur menemukan empat (4) spesies utama NPA, yaitu *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, dan *M. javanica*. Satu species tambahan, yaitu *M. fallax* hanya ditemukan dari sampel wortel asal Jawa Barat; Spesies *Meloidogyne* yang dominan sangat ditentukan oleh lokasi pertanaman wortel terutama ketinggian tempat/elevasi dari permukaan laut; *M. hapla* merupakan spesies NPA yang dominan pada pertanaman wortel dataran tinggi di wilayah Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Institut Pertanian Bogor, petani wortel di wilayah Agropolitan, Kecamatan Pacet Cianjur, Dieng, Kopeng dan Kota Batu, dan mahasiswa yang terlibat dalam penelitian: Wawan Kurniawan, Muhammad Taher, Zalzilatul Hikmia, Restu Gilang Pradika dan Halimah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Barker KR, Campbell CL. *Sampling nematode population*. Di dalam: Zuckerman BM and Rohde RA, editor. *Plant Parasitic Nematodes*. Vol. III. New York: Academic Press.
- [BPS] Biro Pusat Statistik. 2008. *Statistik Indonesia 2008*. BPS. Jakarta. Indonesia. Hlm 200–205.
- Davis MR. 1981. *Carrot disease and their management*. Di dalam: Naqvi SAM, editor. *Diseases of Fruits Vegetables Diagnosis and Management*. Ed ke-1. USA: Kluwer Academic Publisher.
- Davis ME, Sorensen E, Nunez J. 2005. *Crop profile for carrots in the United States*. <http://pestdata.ncsu.edu/cropprofiles/Detail.CFM> FactSheets\_RecordID =167.
- Eisenback JD, Triantaphyllou HH. 1991. *Root-knot nematode: Important nematode parasite*. In: Kinloch RA, Barker KR, Pederson GA, Windham GL, editor. *Plant and Nematode Interactions*. USA: ASA, CSSA, SSA, Publishers.
- Eisenback JD, Hirschmann H, Sasser JN, and Triantaphyllou HH. *A Guide to the Most Common Species of Root-knot Nematodes (Meloidogyne species), with a Pictorial Key*. International *Meloidogyne* Project, Dept. Plant Pathol. NC State Univ. Raleigh.
- Ferris H. 2008. *Meloidogyne hapla*. <http://www.nematode.unl.edu/mhap.htm> [20 October 2009].

- Hay F. 2005. *Nematode control in carrots*. Tasmanian Institute of Agricultural Research. <http://www.horticulture.com.au>. [1 September 2009].
- Hikmia Z, Supramana, Suastika G. 2012. Identifikasi species *Meloidogyne* spp. penyebab umbi bercabang pada tanaman wortel di Jawa Timur. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 8(3): 73–78.
- Kurniawan W. 2010. Identifikasi penyakit umbi bercabang pada wortel, *Daucus carota* (L.) di Indonesia. [Thesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Luc M, Sikora RA, Bridge J. 2005. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agricultural*. Ed ke-2. USA: CABI Publishing.
- Meng QP, Long H, Xu JH. 2004. *PCR assays for rapid and sensitive identification of three major root-knot nematodes, Meloidogyne incognita, M. javanica, and M. arenaria*. *Acta Phytopathologica Sinica*. 34: 204–210.
- Orui Y. 1998. Identification of Japanese species of the genus *Meloidogyne* (Nematoda: Meloidogynidae) by PCR-RFLP analysis. *Appl. Entomol. Zool*. 33: 43–51.
- Shurtleff MC, Averre CW. 2005. *Diagnosing Plant Diseases Caused by Nematodes*. USA: APS Press Minnesota.
- Sorensen E, Long G. 2000. Carrot IPM Survey Results <http://ipm.wsu.edu/Surveys/Carrot.html>. [2 September 2009].
- Sorensen EJ. 2002. Crop Profile for Carrots in Washington. Washington State University. <http://caheinfo.wsu.edu>. [2 September 2009].
- Taher M, Supramana, dan Suastika G. 2012. Identifikasi *Meloidogyne* penyebab penyakit umbi bercabang pada wortel di Dataran Tinggi Dieng. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 8(1): 16–21.
- Tanaka JS, Nakagawa Y, Sakuoka R. 1997. *Carrots*. College of Tropical Agriculture and Human Resources University of Hawaii.
- Taylor AL, Sasser JN, Nelson LA. 1982. *Relationship of climate and soil characteristic to geographical distribution of Meloidogyne species in agricultural soils*. Coop. Public. Dept. Plant Pathol. NC State Univ. NC State Graphics.
- Vrain TC. 1982. Relationship between *Meloidogyne* havla density and damage to carrots in organic soil. *J nematol*. 14: 50–57.
- Wishart J, Phillips MS, Blok VC. 2002. *Ribosomal intergenic spacer: a polymerase chain reaction diagnostic for Meloidogyne chitwoodi, M. fallax and M. hapla*. *Phytopathology* 93: 884–892.
- Zijlstra C, Lever AEM, Uenk BJ, Van Silfhout CH. 1995. Differences between ITS regions of isolated of root-knot nematodes *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi*. *Phytopathology*: 85: 1231–1237.