

## Spesies *Meloidogyne* Penyebab Ubi Kentang Berbintil pada Tiga Sentra Produksi di Sumatra

### *Meloidogyne* Species Cause Pimple-like Swelling on Potato Tuber in Three Production Centers in Sumatra

Ilmi Hamidi, Supramana\*, Kikin Hamzah Mutaqin, Fitrianingrum Kurniawati  
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

#### ABSTRAK

Nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) merupakan penyebab ubi berbintil yang menurunkan kualitas dan kuantitas produksi kentang di wilayah Sumatra. Identifikasi spesies *Meloidogyne* diperlukan dalam merancang strategi pengendaliannya yang efektif. Penelitian ini bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi spesies *Meloidogyne* pada kentang secara morfologi, morfometri, dan molekuler. Sampel ubi kentang bergejala bintil, malformasi bentuk ubi, permukaan ubi tidak rata, serta permukaan ubi bergelombang dikumpulkan dari tiga sentra produksi kentang di wilayah Sumatra, yaitu Karo (Sumatra Utara), Solok (Sumatra Barat), dan Kerinci (Jambi). Ekstraksi nematoda dilakukan dengan teknik pembedahan jaringan ubi berbintil. Identifikasi morfologi dilakukan berdasarkan pola *perineal* nematoda betina. Pengukuran morfometri dilakukan terhadap juvenil 2 berdasarkan formula de Man. Identifikasi molekuler dilakukan dengan teknik PCR dilanjutkan dengan perunutan nukleotida dan analisis filogenetika. Tiga spesies *Meloidogyne* yang diidentifikasi ialah *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, dan *M. javanica*. Amplifikasi DNA menggunakan primer spesifik CO1 berhasil mengamplifikasi pita DNA sebesar  $\pm 360$  pb untuk *M. arenaria*,  $\pm 326$  pb untuk *M. incognita*, dan  $\pm 170$  pb untuk *M. javanica*. Hasil perunutan nukleotida menunjukkan bahwa isolat *M. incognita* asal Karo-Indonesia berkerabat sangat dekat dengan spesies sejenis dari negara Cina, Amerika Serikat, Vietnam, Inggris, Brazil, dan Afrika Selatan. *M. javanica* asal Solok-Indonesia berkerabat sangat dekat dengan spesies sejenis dari negara Amerika Serikat, Afrika, Cina, Jerman, dan Inggris.

Kata kunci: analisis filogenetika, gen CO1, morfologi, morfometri, pola *perineal*

#### ABSTRACT

The root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) is the cause of pimple-like swelling symptoms, which results in a decrease in the quality and quantity of potato production in the Sumatra region. Identification of the *Meloidogyne* species is necessary for designing its effective control strategies. This study aimed to detect and identify *Meloidogyne* species in potatoes morphologically, morphometry, and molecularly. Potato tubers with pimple-like swelling symptoms, tuber shape malformations, uneven tuber surface, and corrugated tuber surface were collected from 3 potato production centers in Sumatra, i.e., Karo (North Sumatra), Solok (West Sumatra), and Kerinci (Jambi). Nematode extraction was conducted by a surgical technique of spotted tuber tissue. Morphological identification was conducted based on the *perineal* patterns of females. Morphometric measurements were carried out on juvenile 2 based on the de Man formula. Molecular identification was conducted by PCR technique, followed by nucleotide sequencing and phylogenetic analysis. Three species of *Meloidogyne* identified were *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, and *M. javanica*. DNA amplification using a CO1-specific primer successfully amplified

\*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper, Kampus Dramaga IPB, Bogor 16680  
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: supramana@ipb.ac.id

DNA bands of  $\pm 360$  bp for *M. arenaria*,  $\pm 326$  bp for *M. incognita*, and  $\pm 170$  bp for *M. javanica*. The sequencing results showed that *M. incognita* isolates from Karo-Indonesia were very closely related to *M. incognita* isolates from China, the United States, Vietnam, the United Kingdom, Brazil, and South Africa. *M. javanica* isolates from Solok-Indonesia were very closely related to *M. javanica* from the United States, Africa, China, Germany, and the United Kingdom.

Key words: CO1 gene, morphology, morphometry, perineal pattern, phylogenetic analysis

## PENDAHULUAN

*Meloidogyne* spp. yang dikenal sebagai nematoda puru akar (NPA) merupakan salah satu parasit penting pada tanaman kentang (Moens *et al.* 2009). Gejala khas infeksi *Meloidogyne* spp. pada ubi kentang berupa bintil pada permukaan ubi. Utami *et al.* (2017) melaporkan terdapat gejala yang bervariasi: malformasi bentuk ubi, permukaan ubi tidak rata, serta permukaan ubi bergelombang. Apabila kulit ubi kentang yang terinfeksi *Meloidogyne* spp. dikupas akan terlihat adanya bercak kecokelatan atau nekrotik. Gejala tersebut ditemukan pada ubi kentang di daerah Sumatra. Serangan *Meloidogyne* spp. menurunkan kualitas maupun kuantitas hasil panen sehingga menyebabkan kerugian secara ekonomi. Selain menyebabkan penurunan hasil panen, *Meloidogyne* spp. juga mengurangi kualitas ubi akibat pembentukan bintil pada permukaan kulit yang mengurangi nilai jual.

Genus *Meloidogyne* memiliki lebih dari 80 spesies (Hunt dan Hundoo 2009). Spesies terpenting yang menyerang tanaman kentang ialah *M. arenaria*, *M. chitwoodi*, *M. fallax*, *M. hapla*, *M. incognita* dan *M. javanica* (Adam *et al.* 2007). Nematoda yang menyerang tanaman kentang di Kabupaten Karo, Sumatra Utara ialah *M. arenaria*, *M. incognita*, dan *M. javanica* (Lisnawita *et al.* 2014), di Pulau Jawa ialah *M. arenaria*, *M. incognita*, dan *M. javanica* (Aprilyani *et al.* 2015), dan di Sulawesi Utara ialah *M. incognita* dan *M. javanica* (Utami *et al.* 2017).

Selain gejala yang ditemukan pada ubi kentang di daerah Sumatra, informasi mengenai spesies *Meloidogyne* yang menginfeksi tanaman kentang di Indonesia khususnya di wilayah Sumatra masih sangat kurang. Hal ini disebabkan identifikasi berdasarkan morfologi juvenil, jantan dan pola *perineal* betina

cukup sulit karena memerlukan keahlian dan ketelitian yang tinggi, serta waktu yang cukup lama. Dengan demikian, diperlukan cara identifikasi baru yang lebih akurat dengan kombinasi morfologi, morfometri dan molekuler. Penelitian ini bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi spesies *Meloidogyne* kentang menggunakan metode morfologi, morfometri, dan molekuler pada gen *cytochrome oksidase* sub-unit 1 (CO1).

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan Sampel Ubi

Sampel ubi kentang diperoleh dari lahan petani kentang di Karo (Sumatra Utara), Solok (Sumatra Barat), dan Kerinci (Jambi). Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive* berdasarkan pada gejala spesifik serangan *Meloidogyne* spp., yaitu ubi berbintil, malformasi bentuk ubi, permukaan ubi tidak rata, serta permukaan ubi bergelombang.

### Ekstraksi Nematoda Asal Ubi kentang

Permukaan ubi kentang yang memiliki gejala bintil dibedah dan diamati menggunakan mikroskop stereo. Nematoda betina diambil menggunakan jarum pengait. Nematoda betina dengan massa telur dimasukkan ke dalam botol koleksi yang berisi air. Juvenil 2 yang muncul dari massa telur diamati beberapa hari setelah dipisahkan dari jaringan tanaman.

### Fiksasi Nematoda dan Pembuatan Preparat

Preparat dibuat mengikuti metode Ryss (2017). Sebanyak 10–20 ekor juvenil 2 dikumpulkan dalam tabung 1.5 mL berisi akuades sebanyak 150  $\mu$ L. Tabung ditambahkan dengan larutan FA 4:1 (formalin 4% dan asam asetat 1%) sebanyak 850  $\mu$ L yang telah dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 90 °C. Tabung dimasukkan ke dalam air yang

telah dipanaskan selama satu jam dengan suhu tidak melebihi 85 °C. Tabung didinginkan pada suhu ruang dan nematoda dicuci dengan akuades 4-5 kali untuk menghilangkan larutan FA.

Nematoda direndam dalam campuran gliserol dan akuades dengan perbandingan 1:3 selama 24 jam pada suhu ruang. Selanjutnya nematoda ditempatkan pada kaca objek yang telah ditetesi gliserol 15 µL dan dibuat preparat untuk diidentifikasi. Morfologi nematoda yang diamati ialah bentuk tubuh, morfologi bibir, rongga mulut dan bentuk stilet, bentuk median *bulb*, esofagus, dan bentuk ekor.

### Pembuatan Preparat Pola *Perineal*

Preparat pola *perineal* nematoda betina dibuat dengan memisahkan nematoda dari jaringan ubi, kemudian nematoda diletakkan pada kaca objek. Bagian anterior dipotong dan cairan tubuhnya dikeluarkan. Bagian *perineum* diambil lalu ditetesi asam laktat 45% untuk menghilangkan isi tubuh yang melekat. Bagian *perineum* dipindahkan ke kaca objek yang telah ditetesi gliserin. Bagian muka *perineum* diarahkan menghadap ke atas, kemudian ditutup dengan kaca penutup. *Meloidogyne* diidentifikasi dengan mengacu pada Eisenback *et al.* (1981).

### Pengukuran Morfometri Juvenil 2

Morfometri *Meloidogyne* juvenil 2 diukur berdasarkan pada formula de Man yang meliputi panjang tubuh total, panjang stilet, diameter tubuh terlebar, jarak dari dasar knob stilet ke *dorsal pharyngeal gland orifice* (DGO), panjang ekor, hialin, rasio antara panjang tubuh dan lebar tubuh maksimal, rasio antara panjang tubuh dan jarak dari ujung anterior ke *pharyngo-instenstinal junction*, rasio antara ujung anterior dan ujung posterior kelenjar *pharyngeal*, serta rasio antara panjang tubuh dan panjang ekor (Zuckerman *et al.* 1985).

### Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA nematoda dilakukan mengikuti metode Holterman *et al.* (2006). Satu ekor nematoda juvenil 2 dicampur dengan 25 µL air bebas nuklease dan 25 µL bufer ekstraksi (200 mM NaCl, 200 mM

Tris-HCL pH 8, 2-merkaptotanol 1%, dan 800 µg mL<sup>-1</sup> proteinase K). Suspensi DNA dikocok kuat selama satu menit dan diinkubasi pada suhu 65 °C selama 1.5 jam, serta dilanjutkan dalam 99 °C selama 5 menit dalam penangas air. Suspensi DNA disimpan pada suhu -20 °C sampai akan digunakan sebagai templat dalam PCR.

### Amplifikasi Gen CO1

Amplifikasi gen CO1 menggunakan primer spesifik *M. incognita* CO1SIF (5'-GCCTGCATTTGGTTAG-3') dan CO1SIR (5'-TCAAACCAGTCCT-3'), *M. arenaria* CO1SAF (5'-GGGTACTGGATGAA CATT-3') dan CO1SAR (5'-ACTTCAG GATGACCAAA-3') (Pratiwi *et al.* 2020). Primer spesifik untuk *M. javanica* CO1SJF (5'-CATGATTCTCGGGCTTAT-3') dan CO1SJR (5'-CCAGAAAGTCCTCCAAC-3'). Setiap reaksi PCR terdiri atas 12.5 µL 2× Go Taq® Green Master mix (Promega), 1 µL *primer forward* 10 µM, 1 µL *primer reverse* 10 µM, 2 µL templat DNA, dan 8.5 µL air bebas nuklease sehingga volume menjadi 25 µL. Program PCR terdiri atas pradenaturasi pada suhu 94 °C selama 4 menit, 30 siklus untuk denaturasi pada suhu 94 °C selama 1 menit, penempelan primer pada suhu 55 °C selama 1 menit, ekstensi DNA baru pada suhu 72 °C selama 2 menit, ekstensi akhir pada 72 °C selama 10 menit, dan disimpan pada suhu 4 °C. Produk PCR dielektroforesis dalam gel agarosa 1% dengan bufer TAE dan divisualisasi dengan UV transiluminator.

### Analisis Nukleotida dan Analisis Filogenetika

Perunutan nukleotida dilakukan dengan mengirim fragmen DNA hasil amplifikasi ke PT. Genetika Science Indonesia. Hasil perunutan nukleotida dianalisis menggunakan program BLAST dalam situs NCBI. Runutan nukleotida dianalisis menggunakan penyejajaran berganda *ClustalW* pada perangkat lunak *Bioedit sequence alignment* editor versi 7.2. Hubungan kekerabatan antarisolat dikonstruksi menggunakan perangkat lunak MEGA versi 11.0.10 dengan *bootstrap* 1000 kali ulangan.

## HASIL

### Gejala Penyakit *Meloidogyne* spp.

Gejala penyakit oleh *Meloidogyne* spp. pada ubi kentang yang teramati berupa bintil, ubi bergelombang, permukaan tidak rata, dan malformasi ubi (Gambar 1). Gejala pada ubi kentang dari tiga lokasi bervariasi. Pada sampel ubi asal Karo tidak ditemukan gejala bintil, namun terdapat gejala malformasi ubi serta permukaan ubi cekung disertai dengan tonjolan. Gejala bintil dan malformasi ubi ditemukan pada sampel asal Solok dan Kerinci. Gejala bintil yang ditemukan di Solok berukuran lebih besar dibandingkan dengan gejala bintil di Kerinci.

Ubi kentang yang terinfeksi oleh *Meloidogyne* spp. bila kulit luarnya dikupas akan terlihat adanya bintik nekrotik berwarna coklat. Apabila dilihat menggunakan mikroskop, bagian tersebut merupakan massa telur yang menempel pada nematoda betina dewasa (Gambar 2).

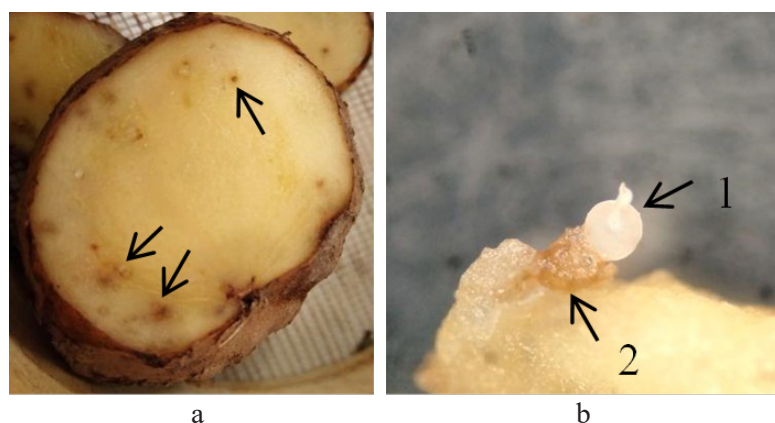
### Morfologi dan Morfometri *Meloidogyne*

Morfologi *Meloidogyne* juvenil 2 pada fase istirahat memiliki bentuk tubuh yang relatif lurus. Tipe bibir tidak *set-off* dan dilengkapi stilet yang relatif panjang dengan tipe *stomato stylet*. Stilet dan *knob* terbentuk dengan baik dan terlihat jelas. Median *bulb* berbentuk oval. Kelenjar esofagus menjorok pada usus bagian ventral. Ujung ekor terlihat bergerigi serta hialin yang terlihat jelas serta memiliki anulasi tubuh yang halus (Gambar 3).

Panjang tubuh nematoda *Meloidogyne* juvenil 2 dari tiga populasi berkisar antara 264  $\mu\text{m}$  dan 375  $\mu\text{m}$ . Diameter tubuh (11–18  $\mu\text{m}$ ), *dorsal pharyngeal gland orifice* (DGO) (2–5  $\mu\text{m}$ ), dan hialin (6–11  $\mu\text{m}$ ) memiliki nilai yang bervariasi. Panjang stilet dan ekor populasi nematoda Kerinci relatif lebih besar, namun memiliki panjang tubuh yang relatif lebih pendek dibandingkan dengan populasi asal Karo dan Solok. Rasio a, b, b', dan c juga bervariasi, namun pada populasi asal Kerinci memiliki nilai yang relatif lebih



Gambar 1 Variasi gejala penyakit oleh *Meloidogyne* pada ubi kentang di wilayah Sumatra. a, Malformasi ubi; b, Ubi berbintil; c, Ubi bergelombang; dan d, Permukaan ubi tidak rata.



Gambar 2 Gejala dan tanda penyakit *Meloidogyne* pada ubi kentang. a, Nekrosis; b1, Betina dewasa; dan b2, Massa telur.

kecil dibandingkan dengan populasi asal Karo dan Solok (Tabel 1).

**Spesies *Meloidogyne* Berdasarkan Karakter Pola *Perineal***

*Meloidogyne* yang ditemukan pada ubi kentang ialah *M. arenaria*, *M. incognita*, dan *M. javanica*. Pola *perineal* nematoda betina dewasa menunjukkan *M. arenaria* memiliki ciri lengkung dorsal yang rendah dan membulat, serta tidak terdapat garis pada bidang lateral (Gambar 4). Ciri lengkung dorsal pada *M. incognita* tinggi, bagian paling luar sedikit melebar dan agak mendatar membentuk sudut 90°, tidak memiliki garis lateral serta pola striasinya terlihat jelas (Gambar 5). Pada *M. javanica* terdapat garis lateral yang memisahkan bagian striasi dorsal dan ventral (Gambar 6).

**Spesies *Meloidogyne* Berdasarkan Karakter Molekuler**

Amplifikasi gen CO1 dengan primer spesifik berhasil mengamplifikasi runutan nukleotida berukuran 360 pb, 326 pb, dan 170 pb yang mengindikasikan pada *M. arenaria*, *M. incognita*, dan *M. javanica*. Sampel positif dirunutkan nukleotidanya. Karena sampel terbatas, dalam penelitian ini hanya dua sampel dirunut nukleotidanya, yaitu *M. incognita* yang berasal dari Karo dan *M. javanica* dari Solok.

Analisis homologi runutan nukleotida menunjukkan bahwa isolat *M. incognita* asal Karo-Indonesia memiliki homologi yang sangat tinggi (100%) dengan *M. incognita* asal Cina, Amerika Serikat, Vietnam, Inggris, Brazil dan Afrika Selatan. *Globodera ellingtonae*

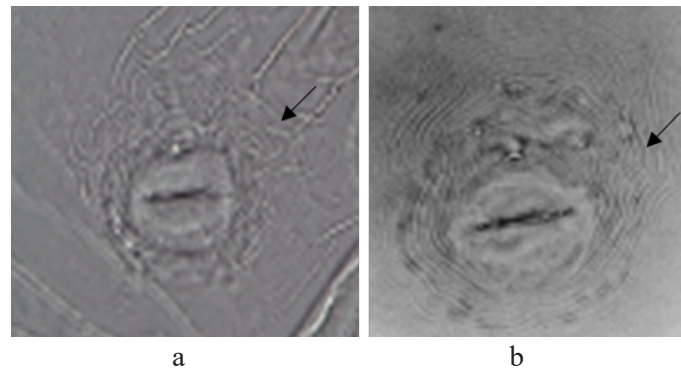


Gambar 3 Morfologi *Meloidogyne* juvenil 2 dari tiga daerah di Sumatra.

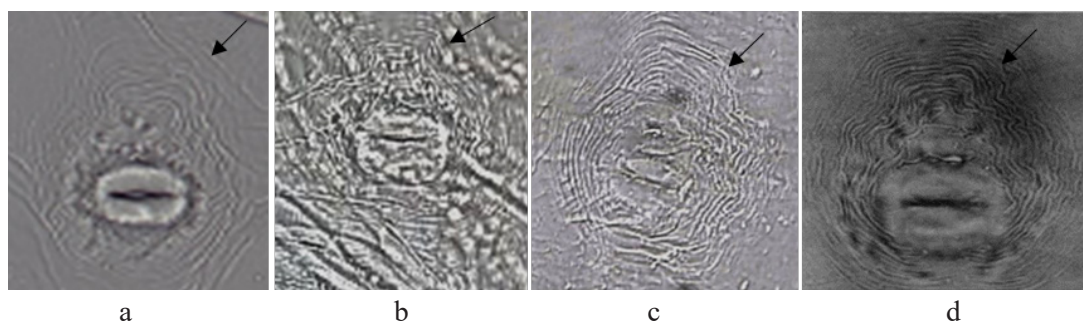
Tabel 1 Hasil morfometrik nematoda juvenil 2 dari tiga daerah di Sumatra berdasarkan formula de Man

Karakter	Ukuran nematoda (µm)		
	Karo	Solok	Kerinci
Jumlah sampel	24	21	20
Panjang tubuh	285.58 – 375.52	288.61 – 355.84	264.85 – 314.46
Diameter tubuh	11.30 – 18.98	11.68 – 17.82	12.78 – 17.92
Panjang stilet	5.84 – 9.97	6.13 – 9.98	7.36 – 10.27
Panjang ekor	34.71 – 58.57	41.02 – 56.18	44.17 – 63.92
Hialin	8.03 – 11.58	6.32 – 9.95	7.10 – 11.18
DGO	2.12 – 5.69	2.12 – 3.82	2.33 – 4.90
a	18.77 – 30.07	16.94 – 26.62	17.08 – 22.98
b	6.00 – 8.43	6.44 – 8.29	5.52 – 7.90
b'	4.57 – 8.76	6.18 – 8.25	4.87 – 9.93
c	4.90 – 9.72	5.32 – 7.50	4.22 – 7.11

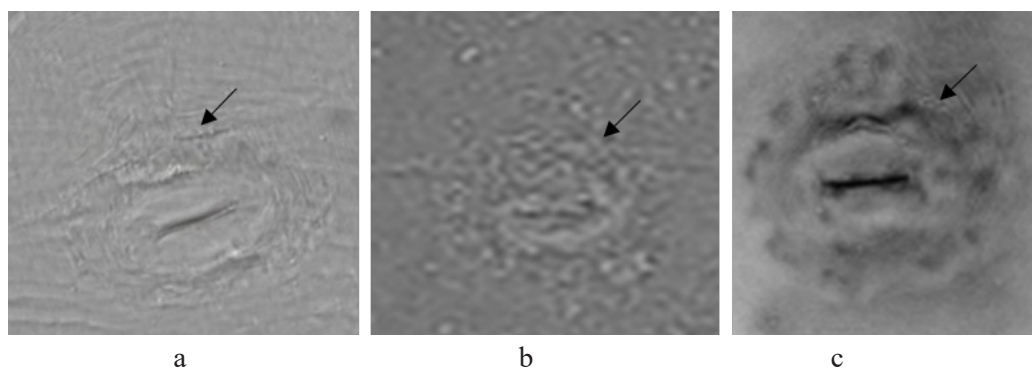
Keterangan: DGO. jarak dari dasar knob stilet ke dorsal pharyngeal gland orifice; a. rasio panjang tubuh dan lebar tubuh maksimal; b. rasio panjang tubuh dan jarak dari ujung anterior ke pharyngo-intestinal junction; b'. rasio panjang tubuh dan jarak dari ujung anterior ke ujung posterior kelenjar pharyngeal; c. rasio panjang tubuh dan panjang ekor.



Gambar 4 Pola *perineal* nematoda betina dewasa *Meloidogyne arenaria* (Perbesaran 400×). a, *M. arenaria* asal Karo; dan b, *M. arenaria* menurut Eisenback dan Triantaphyllou (1991).



Gambar 5 Pola *perineal* nematoda betina dewasa *Meloidogyne incognita* (perbesaran 400×). a, *M. incognita* asal Karo; b, *M. incognita* asal Solok; c, *M. incognita* asal Kerinci; dan d, *M. incognita* menurut Eisenback dan Triantaphyllou (1991).



Gambar 6 Pola *Perineal* nematoda betina dewasa *Meloidogyne javanica*. a, *M. javanica* Solok; b, *M. javanica* asal Kerinci; dan c, *M. javanica* menurut Eisenback dan Triantaphyllou (1991).

yang masih satu famili dengan *M. incognita* memiliki kesamaan homologi sebesar 65.5%. Spesies *Aphelenchoides besseyi* asal Taiwan yang tidak termasuk ke dalam famili yang sama dengan *M. incognita* memiliki homologi sebesar 51.3% (Tabel 2). Hal ini didukung dengan analisis filogenetiknya (Gambar 7).

Isolat *M. javanica* asal Solok-Indonesia memiliki nilai homologi sebesar 100% dengan isolat *M. javanica* asal Amerika Serikat,

Afrika, Cina, Jerman, dan Inggris. Spesies *G. ellingtonae* yang masih satu famili dengan *M. javanica* memiliki kesamaan homologi sebesar 66.2%. Spesies *A. besseyi* asal Taiwan yang tidak termasuk ke dalam famili yang sama dengan *M. javanica* memiliki homologi sebesar 53.9% dengan *M. javanica* asal Solok-Indonesia. Hal ini didukung juga dengan analisis filogenetiknya (Gambar 8).

**PEMBAHASAN**

*Meloidogyne* juvenil 2 memiliki karakteristik yang khas pada bagian ekor, yaitu ujung ekor terlihat bergerigi. Kisaran panjang tubuh total 264.85 – 375.52 µm. Nilai tersebut berada pada kisaran ukuran yang dilaporkan oleh Ghaderi dan Karssen (2020), bahwa *Meloidogyne* juvenil 2

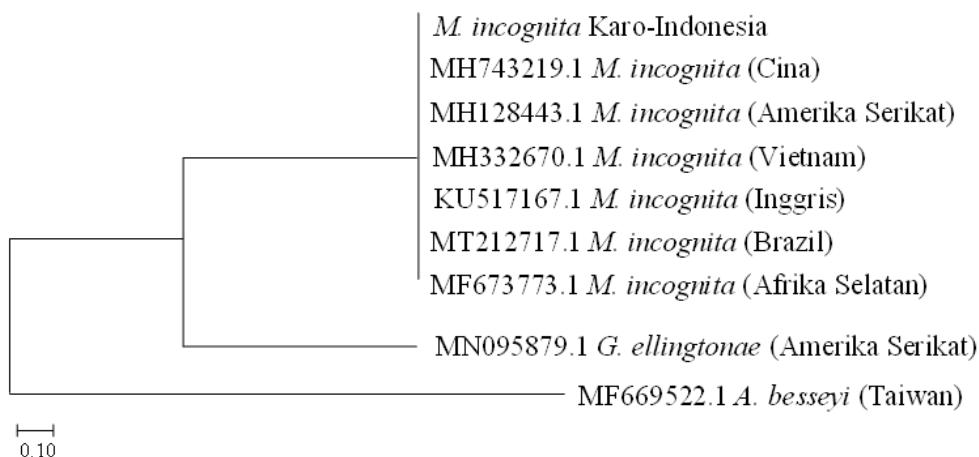
memiliki panjang tubuh total berkisar antara 250 µm dan 760 µm. Morfometrik populasi *Meloidogyne* asal Karo, Solok, dan Kerinci sesuai dengan penelitian sebelumnya, yakni dari populasi *Meloidogyne* pada tanaman wortel di Dataran Tinggi Malino, Sulawesi Selatan (Mirsam *et al.* 2015). Data morfometri populasi *Meloidogyne* yang ditampilkan pada pengukuran morfometri belum spesifik

Tabel 2 Homologi *Meloidogyne incognita*-Karo dan *Meloidogyne javanica*-Solok dengan spesies sejenis dari negara lain yang ada di GenBank

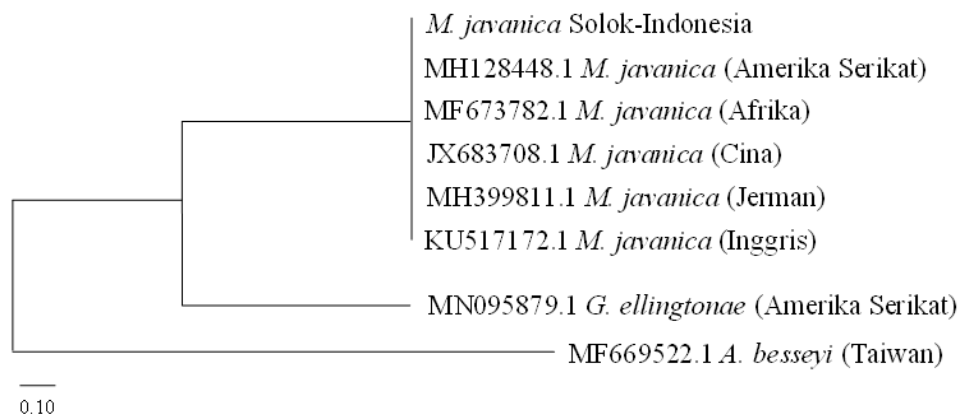
Spesies	Asal	Nomor Aksesi	Homologi <sup>a</sup> (%)
<i>Meloidogyne incognita</i>	Karo	— <sup>b</sup>	ID
	Cina	MH743219.1	100
	Amerika Serikat	MH128443.1	100
	Vietnam	MH332670.1	100
	Inggris	KU517167.1	100
	Brazil	MT212717.1	100
	Afrika Selatan	MF673773.1	100
<i>Globodera ellingtonae</i>	Amerika Serikat	MN095879.1	65.5
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	Taiwan	MF669522.1	51.3
<i>Meloidogyne javanica</i>	Solok	— <sup>b</sup>	ID
	Amerika Serikat	MH128448.1	100
	Afrika	MF673782.1	100
	Cina	JX683708.1	100
	Jerman	MH399811.1	100
	Inggris	KU517172.1	100
	Amerika Serikat	MN095879.1	66.2
<i>Aphelenchoides besseyi</i>	Taiwan	MF669522.1	53.9

<sup>a</sup>Matriks identitas runutan nukleotida diperoleh dengan menggunakan *software* Bioedit 7.2;

<sup>b</sup>Isolat koleksi Laboratorium Nematologi Tumbuhan IPB dan belum didaftarkan di GenBank.



Gambar 7 Pohon filogeni *Meloidogyne incognita* dengan metode *maximum likelihood* dengan model HKY (BIC= 2104.595) dan 1000 ulangan bootstrap. Skala di bawah gambar adalah skala nilai koefisien jarak genetik yang menggambarkan jumlah rata-rata perubahan nukleotida di antara isolat.



Gambar 8 Pohon filogeni *Meloidogyne javanica* dengan metode *maximum likelihood* dengan model T92 (BIC= 1196.464) dan 1000 ulangan bootstrap. Skala di bawah gambar adalah skala nilai koefisien jarak genetik yang menggambarkan jumlah rata-rata perubahan nukleotida di antara isolat.

terhadap spesies pada masing-masing lokasi pengambilan sampel sehingga perlu diteliti lebih lanjut.

Rusique *et al.* (2018) menyatakan bahwa identifikasi morfologi dan morfometrik cukup sulit dilakukan. Nilai yang diperoleh dari pengukuran morfometrik dapat tumpang tindih dengan spesies lain. Penelitian Janssen *et al.* (2017) menunjukkan adanya karakteristik morfologi yang sama antara *M. delineata* dan *M. javanica* juvenil 2. Panjang ekor, panjang ujung hialin, panjang stilet, dan DGO adalah karakter morfometrik yang paling penting untuk identifikasi *Meloidogyne* (Eisenback *et al.* 1981; Ghaderi dan Karssen 2020).

Pengamatan karakter pola *perineal* pada penelitian ini sesuai dengan yang dilaporkan Eisenback dan Triantaphyllou (1991). Pola *perineal Meloidogyne* spp. betina merupakan teknik identifikasi yang umum dilakukan karena nematoda betina ukurannya relatif besar serta mudah ditemukan dalam jaringan yang terinfeksi (Kurniawati *et al.* 2017). Teknik ini diperkenalkan oleh Eisenback *et al.* (1981).

Hasil identifikasi morfologi yang dikonfirmasi dengan PCR menggunakan primer spesifik CO1 menunjukkan bahwa spesies nematoda *M. incognita* asal Karo-Indonesia berada dalam satu kelompok dengan negara Cina, Amerika Serikat, Vietnam, Inggris, Brazil dan Afrika Selatan, sedangkan *M. javanica* asal Solok-Indonesia berada dalam satu kelompok dengan negara Amerika Serikat, Afrika, Cina, Jerman, dan

Inggris. Khan *et al.* (2012) mengemukakan nilai tingkat kesamaan yang lebih besar dari 90% pada peruntukan nukleotida antara satu nematoda dan nematoda lainnya merupakan spesies yang sama dan tidak ada perbedaan genetika walaupun terdapat pada komoditas yang berbeda. Hasil identifikasi spesies *Meloidogyne* pada ubi kentang di tiga sentra produksi di Sumatra berhasil dilakukan berdasarkan pola *perineal* dan molekuler.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam MAM, Phillips MS, Blok VC. 2007. Molecular diagnostic key for identification of single juveniles of seven common and economically import species of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). *Plant Pathology*. 56:190–197. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01455.x>.
- Aprilyani, Supramana, Suastika G. 2015. *Meloidogyne incognita* penyebab umbi berbintil pada kentang di beberapa sentra produksi kentang di Jawa. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 11(5):143–149. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.11.5.143>.
- Eisenback JD, Hirschman H, Sasser JN, Triantaphyllou AC. 1981. A Guide to The Four Most Common Species of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.), With a Pictorial Key. Washington DC (US): Cooperative Publication Department of Plant Pathology an US Agency International Development.



- Ghaderi R, Karrsen G. 2020. An updated checklist of *Meloidogyne* Göldi, 1887 species, with a diagnostic compendium for second-stage juveniles and males. *Journal of Crop Protection*. 9(2):183–193.
- Holterman M, van der Wurff A, van den Elsen S, van Megen H, Bongers T, Holovachov O, Bakker J, Helder J. 2006. Phylum-wide analysis of SSU rDNA reveals deep phylogenetic relationships among nematodes and accelerated evolution toward crown clades. *Molecular Biology and Evolution*. 23(9):1792–800. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msl044>.
- Hunt DJ, Handoo ZA. 2009. Taxonomy, identification and principal species. Di dalam: Perry RN, Moens M, Starr JL, editor. *Root-knot Nematodes*. Maryland (US): CAB International. Hlm 55–88. DOI: <https://doi.org/10.1079/9781845934927.0055>.
- Janssen T, Karssen G, Topalovic O, Coyne D, Bert W. 2017. Integrative taxonomy of root-knot nematodes reveals multiple independent origins of mitotic parthenogenesis. *Plos One*. 12(3): e0172190. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172190>.
- Khan MR, Handoo ZA, Rao U, Rao SB, Prasad JS. 2012. Observations on the foliar nematode *Aphelenchoides besseyi*, infecting tuberose and rice in India. *Journal of Nematology*. 44(4):391–398.
- Kurniawati F, Supramana, Munif A. Spesies *Meloidogyne* penyebab puru akar pada seledri di Pacet, Cianjur, Jawa Barat. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 13(1):26–30. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.13.1.26>.
- Lisnawita, Nainggolan HEA, Wardhani AK. 2014. Identifikasi spesies nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) pada tanaman kentang di Kabupaten Karo, Sumatra Utara. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Dekan Bidang Ilmu Pertanian BKS-PTN Wilayah Barat*; 19–21 Agustus 2014; Bandar Lampung (ID): Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Hlm 828–831.
- Mirsam H, Supramana, Suastika G. 2015. Deteksi dan identifikasi spesies *Meloidogyne* pada tanaman wortel dari Dataran Tinggi Malino, Gowa, Sulawesi Selatan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 11(1):1–8. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.11.1.1>.
- Moens M, Perry RN, Starr JL. 2009. *Meloidogyne species, a Diverse Group of Novel and Important Plant Parasites*. London (UK): British Library.
- Pratiwi NWK, Auly FE, Amrulloh R, Kurniawati F. 2020. Deteksi dan Identifikasi Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* spp.) pada Tanaman Bit Menggunakan Metode DNA Barcoding. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 16(1):1–8. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.16.1.1-8>.
- Rusique L, Inácio ML, Mota M dan Nóbrega F. Morphological, biochemical and molecular characterisation of *Meloidogyne javanica*, from North Portugal, in tomato. *Revista de Ciências Agrárias*. 41(1): 193–198. DOI: <https://doi.org/10.19084/RCA17078>.
- Ryss AY. 2017. A simple express technique to process nematodes for collection slide mounts. *Journal of Nematology*. 49(1):27–32. DOI: <https://doi.org/10.21307/jofnem-2017-043>.
- Utami BS, Supramana, Giyanto. 2017. Deteksi dan identifikasi spesies *Meloidogyne* penyebab umbi berbintil pada kentang asal Sulawesi Utara. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 13(3):98–104. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.13.3.98>.
- Zuckerman BM, Mai WF, Harrison MB. 1985. *Plant Nematology, Laboratory Manual*. Massachusetts (US): The University of Massachusetts.