

Deteksi dan Identifikasi Nematoda *Radopholus similis* Cobb pada Tanaman Hias *Anthurium andreaeanum*

Nursusilawati^{1*}, Toto Sunarto², dan Hersanti²

¹ Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

² Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Jatinangor-Sumedang Km 21, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat

*Alamat Korespondensi: ussy.46@gmail.com

INFO ARTIKEL	ABSTRACT/ABSTRAK
Diterima: 22-12-2023 Direvisi: 04-02-2024 Dipublikasi: 30-04-2024	Detection and Identification of Burrowing Nematode (<i>Radopholus similis</i>) Cobb on <i>Anthurium andreaeanum</i>
Keywords: Monitoring, Mystifying chamber, Specific primer, Sequence analysis	<i>Radopholus similis</i> is a quarantine pest for several countries. It is a problem of ornamental plant export from Indonesia. Reports regarding nematode attacks on ornamental plants are still very limited in Indonesia. This research aims to identify burrowing nematodes in <i>Anthurium andreaeanum</i> by morphology, morphometry, and molecular method. Monitoring for the presence of this nematode was conducted by taking 50 pots samples randomly in a <i>A. andreaeanum</i> nursery in Ciherang Village, Cipanas District, Cianjur Regency. Nematode extracted from 5 g root samples from each plant using the mystifying chamber method for 48 hours. Morphological and morphometrical identification were conducted by observing ten male and female nematodes under the microscope. DNA of a single nematode was extracted with a <i>DNeasy Blood and Tissue Kit</i> (Qiagen). Molecular identification by Polymerase Chain Reaction (PCR) technique was conducted using specific primers RsF1/RsR1. The results showed that the nematode was confirmed as <i>R. similis</i> based on the morphology, morphometry, and molecular identification. DNA amplification using specific primers RsF1/RsR1 obtained a 271 bp DNA band. Nucleotide sequence analysis showed that <i>R. similis</i> from Indonesia is closely related to the same species from China, Malaysia, Belgium, Australia, Taiwan, India, Mexico, Tanzania, and Spain with a 100% homology level. The detection of <i>R. similis</i> on <i>A. andreaeanum</i> in the field increase awareness for all stakeholders to put controlling methods into actions to increase the chance of ornamental plants export from Indonesia.
Kata Kunci: Analisis sekuen, Metode pengkabutan, Monitoring, Primer spesifik	<i>Radopholus similis</i> merupakan organisme pengganggu tumbuhan karantina di beberapa negara. Nematoda tersebut menjadi salah satu kendala ekspor tanaman hias dari Indonesia. Laporan mengenai serangan nematoda pada tanaman hias masih sangat terbatas di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengonfirmasi keberadaan nematoda <i>R. similis</i> pada tanaman <i>Anthurium andreaeanum</i> dengan mengidentifikasinya secara morfologi, morfometri, dan molekuler. Monitoring keberadaan nematoda tersebut dilakukan dengan pengambilan sampel secara acak sebanyak 50 pot di lahan pembibitan <i>A. andreaeanum</i> Desa Ciherang, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Cianjur. Ekstraksi nematoda dilakukan pada sampel akar dengan metode pengkabutan selama 48 jam. Sepuluh ekor nematoda jantan dan betina diidentifikasi secara morfologi dan morfometri dengan pengamatan di bawah mikroskop. DNA satu ekor

nematoda betina dewasa diekstraksi dengan DNeasy *Blood and Tissue Kit* (Qiagen). Identifikasi secara molekuler dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer spesifik RsF1/RsR1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa spesies nematoda adalah *R. similis* berdasarkan karakter morfologi, morfometri, dan molekuler. Amplifikasi DNA menggunakan primer spesifik RsF1/RsR1 berhasil mendapatkan pita DNA berukuran 271 bp. Analisis runutan nukleotida menunjukkan bahwa *R. similis* asal Indonesia berkerabat dekat dengan spesies yang sama yang berasal China, Malaysia, Belgia, Australia, Taiwan, India, Mexico, Tanzania dan Spanyol dengan tingkat homologi 100%. Terdeteksinya *R. similis* pada *A. andreaeanum* di lapangan dapat menjadi perhatian bagi seluruh stakeholder untuk segera melakukan pengendalian agar dapat meningkatkan ekspor tanaman hias Indonesia.

PENDAHULUAN

Radopholus similis adalah jenis nematoda invasif, destruktif, dan juga merupakan *quarantine pest* (QP) atau organisme pengganggu tumbuhan karantina (OPTK) di Tiongkok, Jepang, Korea dan sebagian besar negara Eropa (EPPO, 2008). *R. similis* adalah nematoda *migratory endoparasite* yang tersebar di banyak negara, baik yang beriklim tropis maupun subtropis. Nematoda bersifat polifag dengan inang utama tanaman pisang dan inang lain yang dilaporkan berjumlah kurang lebih dari 250 jenis tanaman (Haegeman *et al.*, 2010).

Nematoda *R. similis* merupakan nematoda kosmopolitan di Indonesia. Suyadi (2013) melaporkan bahwa nematoda tersebut tersebar merata di lahan pertanaman pisang wilayah Kalimantan Timur dan mengakibatkan kehilangan hasil pada komoditas pisang kurang lebih sebesar 50%. *R. similis* juga termasuk nematoda parasit yang dominan pada kopi arabika di wilayah Jawa Timur (Budiman dkk., 2020). Pertanaman lada di Bangka dan rimpang jahe di Bogor juga tidak luput dari serangan nematoda tersebut (Suryanti dkk., 2013; Almursyidi *et al.*, 2023; Lesta *et al.*, 2023). Belum ditemukan referensi mengenai sebaran *R. similis* pada tanaman hias di Indonesia.

Anthurium merupakan salah satu tanaman hias yang populer di pasaran. Jenis tanaman hias tersebut adalah genus terbesar dari famili Araceae yang mencakup lebih dari 1500 spesies. *A. andreaeanum* merupakan *Anthurium* bunga yang paling populer, signifikan secara ekonomi, memiliki daya tarik dan berumur panjang (Venkat *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2019). Badan Pusat Statistik (2023) menyatakan bahwa pada tahun 2022 Provinsi Jawa Barat merupakan produsen *Anthurium* bunga terbanyak kedua di Indonesia dengan jumlah

produksi 503.396 tangkai setelah Jawa Timur dengan jumlah produksi 866.254 tangkai. Produksi *Anthurium* bunga menurun sebanyak 70% jika dibandingkan dengan produksi pada lima tahun sebelumnya (BPS, 2023). Menurut Sipes & Lichty (2002) *R. similis* telah menurunkan jumlah produksi bunga pada *A. andreaeanum* sebesar 50% di Hawaii, Amerika Serikat. Oleh karena itu, dengan adanya laporan sebaran *R. similis* pada komoditas lain di Jawa Barat, maka potensi penularan nematoda tersebut pada tanaman hias sangat tinggi.

Informasi mengenai adanya serangan nematoda *Radopholus similis* pada tanaman hias di Indonesia masih sangat terbatas. Menurut laporan Badan Karantina Pertanian, pada tahun 2020-2022 Indonesia pernah menerima *Notification of Non-Compliance* dari Jepang dan Korea Selatan karena adanya temuan *R. similis* pada *Anthurium*, *Philodendron* dan jahe yang diekspor ke negara tersebut (Badan Karantina Pertanian, 2022). Untuk mengatasi hal tersebut diperlukan adanya pencegahan agar hal tersebut tidak terulang, salah satu langkah awalnya adalah dengan memastikan status penyebaran *R. similis* pada tanaman hias di lapangan. Identifikasi secara morfologi memerlukan ketelitian yang tinggi untuk mendapatkan hasil identifikasi yang praktis, cepat dan akurat. Hasil identifikasi secara morfologi dapat diperkuat dengan identifikasi molekuler dengan *polymerase chain reaction* (PCR) dan sikuensing (Mgonja *et al.*, 2020). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi dan mengidentifikasi *R. similis* pada *Anthurium andreaeanum* secara morfologi dan molekuler di Desa Ciherang Kecamatan Cipanas Kabupaten Cianjur yang merupakan salah satu produsen tanaman tersebut.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel dan Ekstraksi Nematoda

Lima puluh pot tanaman *A. andreaeanum* hasil propagasi stek batang yang rata-rata berumur enam bulan diambil secara acak di lahan pembibitan tanaman hias petani lokal di Desa Ciherang, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat. Lokasi tersebut adalah kebun milik perorangan dengan luas kurang lebih 800 m². Sampel tanaman dibawa ke Laboratorium Nematologi Balai Uji Terap Teknik dan Metode Karantina Pertanian Bekasi untuk dilakukan pengamatan gejala penyakit, proses ekstraksi dan penghitungan jumlah kepadatan nematoda, dilanjutkan dengan identifikasi secara morfologi dan molekuler di Balai Besar Uji Standar Karantina Pertanian Jakarta.

Ekstraksi nematoda endoparasit pada *A. andreaeanum* menggunakan metode *mystified chamber* (MC) atau pengkabutan dengan alat sesuai prinsip pada standar PM7/119 EPPO (2013). Seluruh tanaman dipisahkan dari media tanam dengan hati-hati agar tidak ada akar tanaman yang terpotong. Setelah itu bagian akar dicuci bersih pada air mengalir untuk membersihkan sisa-sisa media tanam yang menempel pada akar. Kemudian akar tanaman dipisahkan dari batangnya dengan cara dipotong satu persatu dan ditimbang sebanyak 5 g, lalu dipotong kecil-kecil secara horizontal (kurang lebih 0,5 cm) menggunakan pisau. Sampel akar dari masing-masing tanaman dimasukkan ke dalam alat pengkabutan dalam kondisi gelap selama 48 jam.

Penghitungan nematoda

Setelah 48 jam proses ekstraksi, nematoda dipanen dari wadah plastik yang terisi penuh dengan air yang merembes dari corong yang berisi potongan akar tanaman pada MC. Air pada wadah plastik tersebut kemudian disaring menggunakan saringan bertingkat ukuran 150, 45 dan 20 µm; jaringan atau sisa-sisa akar yang terkumpul pada saringan 150 µm dibuang. Nematoda pada saringan 45 dan 20 µm dibilas dan dipindahkan ke dalam gelas plastik, diberi label dan siap dihitung pada cawan hitung di bawah mikroskop stereo (Nikon SMZ745T).

Pembuatan preparat nematoda

Preparat nematoda dibuat secara semi permanen dan non-permanen. Sebanyak sepuluh ekor nematoda jantan dan betina dibuat preparat semi permanen untuk identifikasi morfologi dan morfometri mengikuti metode yang dideskripsikan

oleh Stirling *et al.*, (2002) menggunakan larutan fixatif FAA (*Formaldehyde Acetic Acid*) dengan formulasi yang terdiri dari 2,5 ml 37% formalin, 1 ml asam asetat glasial dan 20 ml etanol 95% ditambah akuades 39,5 ml (Southey, 1986 dalam Van Bezooijen, 2006). Preparat nonpermanen dibuat untuk pengamatan morfologi yang kemudian digunakan untuk proses identifikasi molekuler (Mngonja, 2020) dengan modifikasi. Preparat non-permanen dipersiapkan dengan mengaitkan lima ekor nematoda betina hasil ekstraksi dan diletakkan ke dalam gelas objek yang telah diberi satu tetes akuades. Empat bulatan kapas kecil diletakkan pada empat sudut untuk menyangga gelas penutup agar nematoda dapat dikeluarkan lagi setelah pengamatan morfologi untuk dilanjutkan ke proses PCR.

Identifikasi Morfologi

Identifikasi secara morfologi menggunakan kunci identifikasi aplikasi *Description Language for Taxonomy (DELTA Key)* versi 1.02 dan deskripsi morfologi dan morfometri Elbadri (1999). Gambar nematoda didokumentasikan menggunakan mikroskop kompon Nikon tipe Eclipse Ni-U, kamera DS Fi3 dengan perangkat Nikon Imaging System (NIS) Elements.

Identifikasi Molekuler

Teknik PCR dipilih untuk mengidentifikasi nematoda secara molekuler. Lima ekor nematoda betina yang telah diidentifikasi secara morfologi dipancing dan dipindahkan pada gelas objek cekung yang berisi beberapa tetes aquades steril untuk membilas nematoda, pembilasan diulang 3 kali. Masing-masing nematoda yang sudah dibilas dipindahkan ke tabung berukuran 1,5 ml yang telah ditetesi 20 µl aquades. Selanjutnya nematoda tersebut diekstraksi DNA-nya menggunakan *DNeasy Blood and Tissue Kit* (Qiagen). Proses ekstraksi dilakukan sesuai dengan protokol pada kit tersebut sehingga menghasilkan suspensi DNA. DNA nematoda dibekukan pada suhu -20°C selama 24 jam.

Amplifikasi DNA nematoda dilakukan pada mesin Thermocycler PCR (Effendorf Mastercycler 50X). Primer yang digunakan adalah primer spesifik *R. similis* RsF1/RsR1 (5'-TGTCATCGCCTTTGGCAGCT-3' dan 5'-TGGTAAACGACCCTGAACCAG-3') yang mengamplifikasi region *Internal Transcribed Spacer/ITS* (Wang *et al.*, 2011). Sebanyak 1 µl suspensi DNA ditambahkan ke dalam campuran yang terdiri atas 12,5 µl MyTaq HS red PCR master mix 2x

(Bioline), primer reverse dan forward masing-masing sebanyak 1 µl dengan konsentrasi 10 µM, dan 9,5 µl ddH₂O, sehingga diperoleh volume 25 µl pada masing-masing tabung mikro. Reaksi amplifikasi terdiri atas 1 siklus pada 95°C selama 2 menit; dilanjutkan dengan denaturasi pada suhu 94 °C selama 35 detik, annealing pada suhu 59 °C selama 30 detik, dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 30 detik; siklus ini berlangsung sebanyak 30 kali dengan ekstensi terakhir pada suhu 72 °C selama 10 menit dan *holding temperature* 10°C. Pita DNA hasil amplifikasi divisualisasi melalui elektroforesis. Sebanyak 5 µL sampel DNA dimasukkan ke dalam sumuran gel agarosa. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 V DC selama 35 menit, kemudian gel agarosa direndam ke dalam larutan etidium bromida selama 30 menit, selanjutnya dibilas dalam air steril selama 1 menit. Visualisasi dan dokumentasi dilakukan dengan menggunakan alat GelDoc Imaging System.

Analisis Sekuen

Sekuensing produk PCR dilakukan dengan mengirimkan hasil amplifikasi PCR ke PT. Genetika Science Indonesia (1st Base Malaysia). Hasil peruntukan nukleotida dianalisis menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Runutan nukleotida yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan penyejajaran berganda *Clustal W* pada perangkat lunak *Bioedit Sequence Alignment Editor* versi 7.1.3. Hubungan kekerabatan antar isolat dikonstruksi menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* versi 11 (MEGA11) dengan pendekatan *neighbour joining tree* dengan bootstrap 1000 kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Penyakit, Kepadatan dan Morfologi serta Morfometri Nematoda

Berdasarkan pengamatan secara visual pada akar tanaman *A. andreaeanum* dari Desa Ciherang, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Cianjur, seluruh sampel akar *A. andreaeanum* yang diambil memiliki gejala lesi dan busuk akar berwarna coklat sampai hitam (Gambar 1c dan 1d). Akar *A. andreaeanum* terlihat busuk dengan tingkat keparahan yang bervariasi. Terdapat bintik-bintik coklat sampai hitam pada sekeliling jaringan akar dan ujung akar yang membusuk. Pada inang tanaman hias, deteksi

awal penyakit akibat nematoda *R. similis* sangat sulit dilihat dan sulit diprediksi jika hanya diamati pada bagian tanaman yang berada di bagian atas permukaan tanah. Klorosis pada daun terjadi jika serangan pada akar sudah parah (Gambar 1b). Perlu digarisbawahi bahwa lokasi pengambilan sampel pada penelitian ini adalah kebun tanaman hias milik perorangan, bukan milik perusahaan eksportir tanaman hias.

Kepadatan *R. similis* pada *A. andreaeanum* di lahan pembibitan petani lokal Desa Ciherang, Kec. Cipanas, terdeteksi rata-rata sebanyak 278 ekor per 5 g akar. Nematoda tersebut terdeteksi pada seluruh sampel tanaman. Populasi terendah adalah 150 ekor dan tertinggi 596 ekor per 5 g akar. Uchida *et al.* (2003) menyatakan bahwa serangan *R. similis* pada *Anthurium* relatif lambat. Ketika akar yang lebih tua terinfeksi dan membusuk, tanaman menghasilkan akar baru dan tanaman sering kali terus tumbuh dengan baik. Namun, jika dibandingkan dengan tanaman sehat jumlah fungsional akar pada tanaman yang sakit sangat berkurang. Menurut Castillo *et al.* (2022) serangan *R. similis* pada akar dapat menurunkan tingkat fotosintesis pada daun sehingga dapat menghambat pertumbuhan tanaman dan menimbulkan gejala klorosis pada daun.

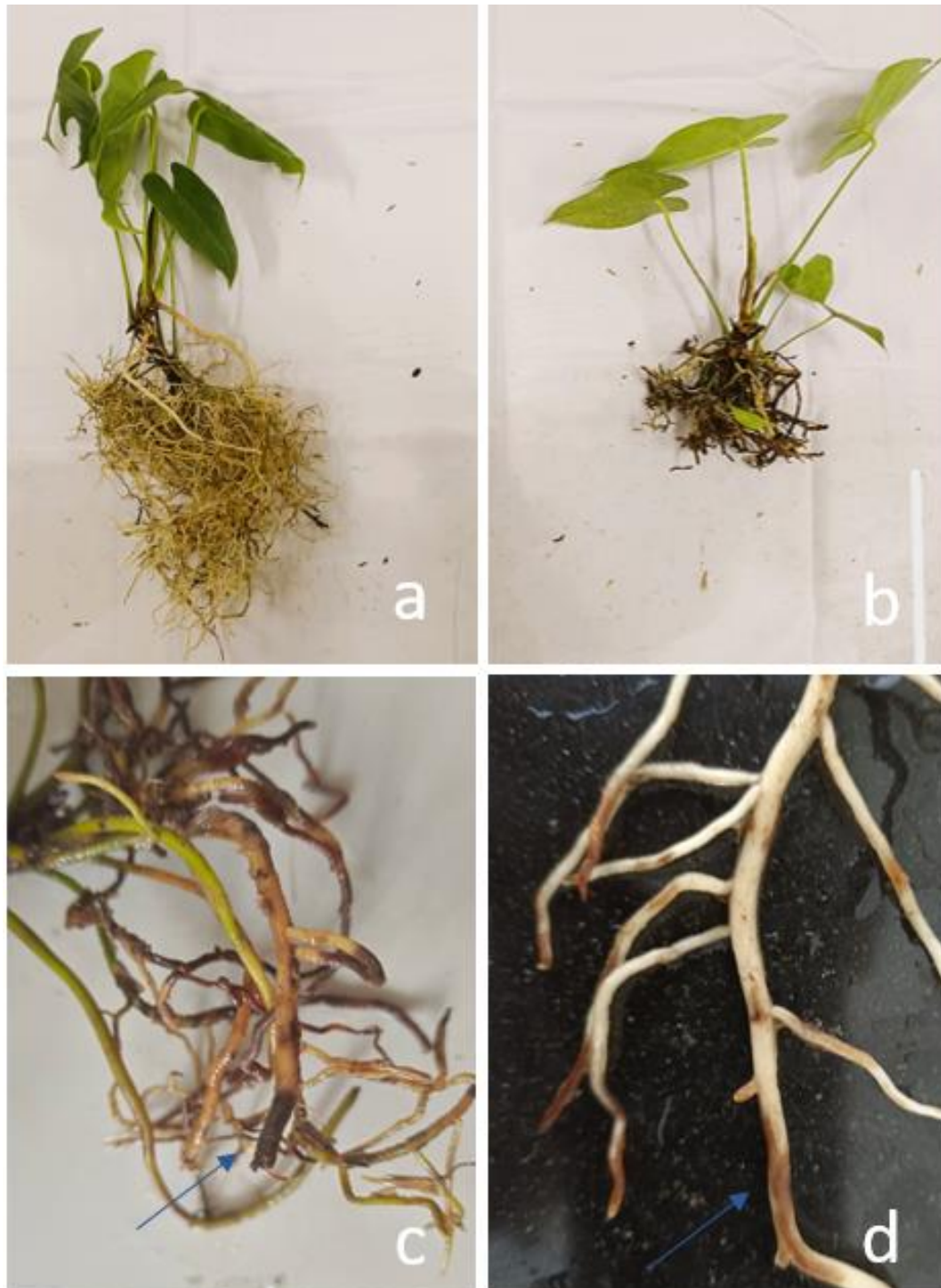
Kemampuan *R. similis* dalam menimbulkan gejala penyakit pada tanaman berbeda-beda tergantung asal lokasi geografis dan tanaman inangnya (Cobon *et al.*, 2019). Berdasarkan uji patogenesitas pada tembakau, beberapa isolat *R. similis* yang berasal dari inang yang berbeda menunjukkan variasi tingkat virulensi yang berbeda nyata (Yang *et al.*, 2022). Pada hasil penelitian lainnya, isolat *R. similis* asal Fiji yang diisolasi dari jahe tidak dapat bereproduksi dan menimbulkan gejala penyakit pada tanaman pisang, sebaliknya isolat *R. similis* asal Australia yang diisolasi dari pisang mampu menginfeksi jahe (Cobon *et al.*, 2019).

Di lapangan, *R. similis* seringkali ditemukan berasosiasi dengan organisme lain yang memperparah gejala penyakit pada tanaman. Misalnya pada penyakit kuning pada tanaman lada *R. similis* berasosiasi dengan *Meloidogyne* spp. (Lesta *et al.*, 2023). Serupa dengan tanaman lada, kedua nematoda tersebut juga mendominasi sebagai fitonematoda pada tanaman kopi robusta di Jawa Timur (Budiman dkk., 2020). Keberadaan *R. similis* juga mampu mematahkan ketahanan tanaman pisang yang resisten terhadap layu fusarium (Rocha *et al.*, 2020).

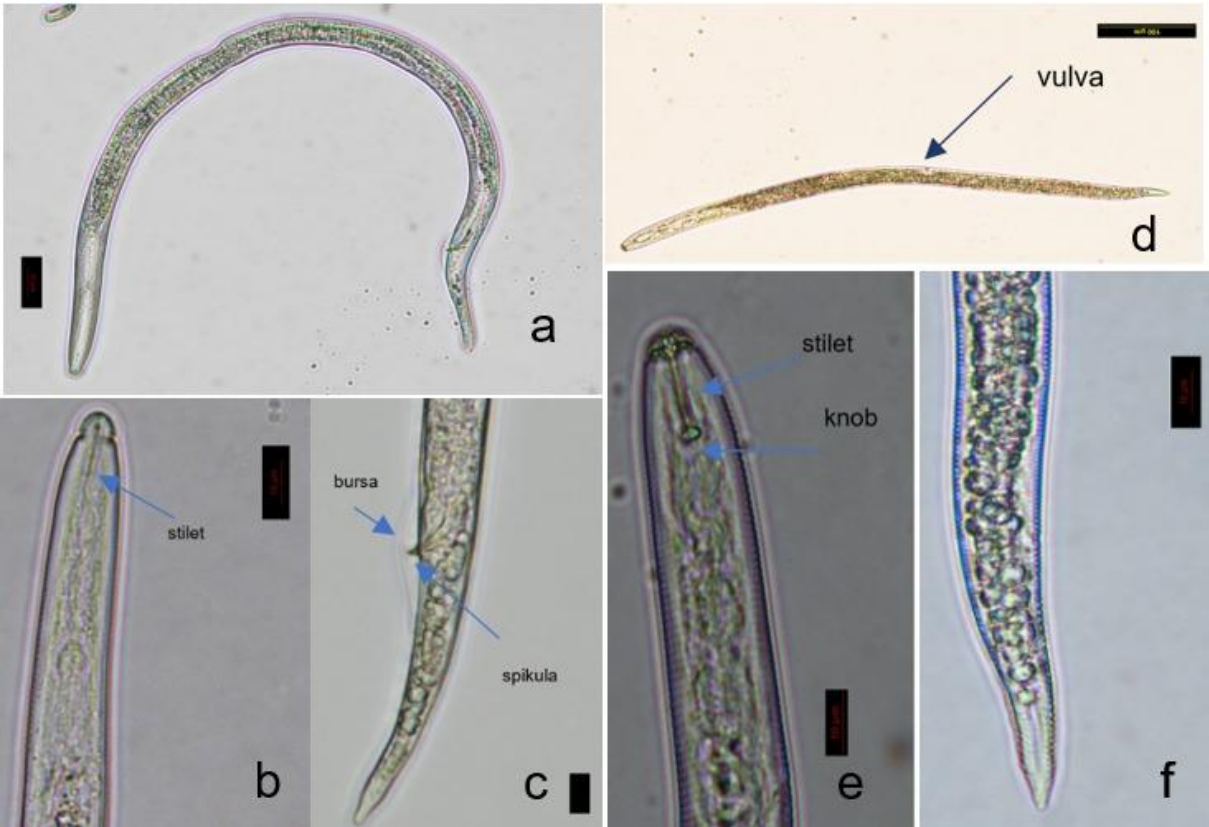
Morfologi nematoda *R. similis* yang ditemukan pada akar *A. andreaeanum* di Desa

Ciherang, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Cianjur ditunjukkan pada Gambar 2. Ukuran tubuh rata-rata nematoda jantan relatif lebih kecil daripada nematoda betina (Tabel 1). Nematoda jantan memiliki daerah bibir yang tebal, dan perkembangan stilet dan esofagus mengalami degeneratif sehingga hampir tidak terlihat (Gambar 2b). Ekor nematoda jantan memiliki bursa yang khas dengan bentuk yang

memanjang dua pertiga dari panjang ekor (Gambar 2c). Nematoda betina tidak memiliki bentuk bibir yang tebal. Stiletnya kuat dengan *knob* yang terlihat jelas (2e). Vulvanya terletak di bagian tengah tubuh ($\pm 54-57\%$ dari kepala) (Gambar 2d). Bentuk ekor jantan dan betina cenderung mengerucut ke ujung bagian bawah dan memiliki sisi tumpul pada ujungnya (Gambar 2c dan 2f).



Gambar 1. Tanaman hias *A. andreaeanum*. a) Tanaman sehat; b) Tanaman sakit terinfeksi *R. similis*; c) Gejala busuk pada akar yang dimulai dari ujung akar; dan d) Gejala lesi berwarna coklat kehitaman pada akar.



Gambar 2. Nematoda *R. similis* pada *A. andreanum*. a) tubuh jantan b) kepala jantan c) ekor jantan d) tubuh betina e) kepala betina f) ekor betina. Skala: a, b, c, e dan f = 10 μ m; d=100 μ m

Tabel 1. Morfometri 10 ekor *R. similis* asal *A. andreanum* asal Cipanas (RAC) dibandingkan dengan literatur (Elbadri *et al.*, 1999)

Kriteria	<i>R. similis</i> isolat Cipanas (μ m)		<i>R. similis</i> isolat Bangka (μ m) (Elbadri, 1999)	
	Jantan	Betina	Jantan	Betina
Panjang total	537,59 $\pm$ 6,43	630,03 $\pm$ 8,63	600,1 $\pm$ 37,7	686 $\pm$ 35,7
Lebar badan maksimum	12,97 $\pm$ 0,25	19,37 $\pm$ 0,13	18,8 $\pm$ 1,4	26 $\pm$ 2,4
Panjang stilet	13,1 $\pm$ 0,49	19,45 $\pm$ 0,03	13,3 $\pm$ 1,0	18,3 $\pm$ 0,8
Panjang esofagus	62,98 $\pm$ 0,49	62,73 $\pm$ 0,94	72 $\pm$ 4	81,4 $\pm$ 3,8
Panjang ekor	52,48 $\pm$ 0,37	70,67 $\pm$ 1,04	73,4 $\pm$ 4,9	77,7 $\pm$ 5,7
Lebar badan pada anus	17,74 $\pm$ 0,08	16,23 $\pm$ 0,07	14,2 $\pm$ 0,9	19,5 $\pm$ 2,1
Panjang kepala	6,57 $\pm$ 0,04	3,16 $\pm$ 0,04	5,6 $\pm$ 0,6	4,9 $\pm$ 0,3
Lebar kepala	9,53 $\pm$ 0,01	9,16 $\pm$ 0,83	8,2 $\pm$ 0,6	10,5 $\pm$ 0,6
Panjang ovary anterior	-	195,3 $\pm$ 0,84	-	190 $\pm$ 21
Panjang ovary posterior	-	124,15 $\pm$ 0,92	-	185 $\pm$ 29,5
Panjang testis	216,67 $\pm$ 0,43	-	194 $\pm$ 29,7	-
Panjang spikula	17,64 $\pm$ 0,21	-	16 $\pm$ 1,4	-
Gubernaculum	11,83 $\pm$ 0,11	-	8,8 $\pm$ 0,8	-

Keterangan: Data yang ditampilkan adalah rata-rata hasil pengukuran diikuti standar deviasi.

Secara umum morfologi dan morfometri *R. similis* pada *A. andreanum* asal Cipanas (RAC) serupa dengan yang telah dideskripsikan oleh EPPO (2008) dan Elbadri *et al* (1999). Perbedaan yang paling tampak adalah pada bentuk ujung ekor nematoda

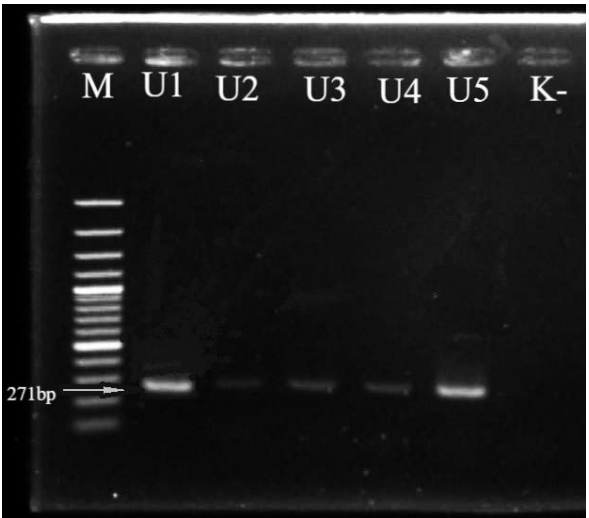
tersebut dengan isolat yang berasal dari Bangka. Pada penelitian tersebut disebutkan bahwa isolat dari Bangka Indonesia memiliki 2 bentuk ujung ekor, 76% mengerucut ke bagian ujung dan 24% bercabang dua (Elbadri *et al.*, 1999). Pada penelitian ini, seluruh

ujung ekor sampel nematoda yang diamati berbentuk mengerucut ke bagian ujung.

Secara morfometri, umumnya ukuran nematoda jantan dan betina *R. similis* asal Cipanas (RAC) lebih pendek daripada nematoda *R. similis* asal Bangka yang dideskripsikan oleh Elbadri *et al.* (1999) pada hampir seluruh kriteria pengukuran, kecuali ukuran stilet betina, ovary anterior dan alat kelamin jantan (spikula, testis dan gubernaculum). Variasi morfologi dan morfometri pada *R. similis* umum terjadi karena perkembangan *R. similis* dipengaruhi oleh inang, lokasi geografi, iklim dan tingkat patogenesitasnya (Elbadri *et al.*, 1999; Xu *et al.*, 2014; Pinili *et al.*, 2018). Oleh karena itu, untuk memastikan keakuratan suatu spesies nematoda sangat penting untuk dianalisis lebih lanjut dengan metode molekuler.

Amplifikasi DNA *R. similis* dengan PCR dan Analisis Sekuensing

Sampel DNA nematoda *R. similis* terdeteksi positif berhasil teramplifikasi dengan PCR, dibuktikan dengan keberadaan pita DNA 271 bp (Gambar 3). Metode pendeteksian melalui PCR dengan primer RsF1/RsR1 dinilai cepat dan akurat sekaligus meningkatkan sensitivitas pendeteksian molekul dan memiliki nilai penerapan yang tinggi dalam aspek deteksi penyakit yang disebabkan oleh *R. similis* karena hanya dapat mengamplifikasi sampel DNA *R. similis* saja (Wang *et al.*, 2011).



Gambar 3. Hasil PCR menunjukkan hasil positif *R. similis* pada 5 ekor nematoda (U1-U5) yang berasal dari *A. andreaum* yang diuji. M=marker, K-= kontrol negatif.

Ekstraksi DNA pada penelitian ini menggunakan sampel *single nematode* sehingga ekstraksi DNA diulang sebanyak 5 kali (U1-U5). Salah satu produk PCR yang menunjukkan garis paling tegas (U1) pada visualisasi elektroforesis dipilih untuk dilakukan analisis sekuensing. Hasil BLAST menunjukkan bahwa *R. similis* pada *A. andreaum* isolat Cipanas (RAC01) memiliki homologi yang tinggi (100%) dengan isolat-isolat dengan spesies yang sama yang ada di luar negeri (Tabel 2). Hal tersebut menguatkan bahwa isolat nematoda tersebut merupakan spesies yang sama.

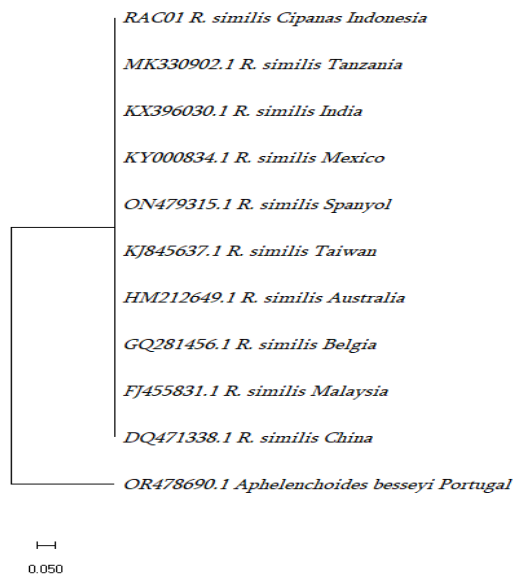
Tabel 2. Homologi *R. similis* pada *A. andreaum* asal Cipanas (RAC01) dengan spesies sejenis yang mengamplifikasi region ITS pada data Genbank, *A. besseyi* sebagai perbandingan outgroup.

No	Akresi_Spesies_Asal Negara	Homologi (%)
1	DQ471338.1 <i>R.similis</i> China	100
2	FJ455831.1 <i>R.similis</i> Malaysia	100
3	GQ281456.1 <i>R.similis</i> Belgia	100
4	HM212649.1 <i>R.similis</i> Australia	100
5	KJ845637.1 <i>R.similis</i> Taiwan	100
6	KX396030.1 <i>R.similis</i> India	100
7	KY000834.1 <i>R.similis</i> Mexico	100
8	MK330902.1 <i>R.similis</i> Tanzania	100
9	ON479315.1 <i>R.similis</i> Spanyol	100
10	OR478690.1 <i>A. besseyi</i> Portugal	40,8

Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa *R. similis* asal *A. andreaum* isolat Cipanas (RAC01) berkerabat dekat dengan isolat asal China, Malaysia, Belgia, Australia, Taiwan, India, Mexico, Tanzania dan Spanyol (Gambar 4). Berdasarkan data BPS (2023b), negara-negara tersebut merupakan negara mitra dagang Indonesia sehingga memungkinkan nematoda *R. similis* masuk ke Indonesia atau sebaliknya melalui komoditas pertanian yang menjadi inang *R. similis*.

Berdasarkan hasil identifikasi morfologi, morfometri dan molekuler terkonfirmasi bahwa *R. similis* telah terdeteksi menyerang tanaman *A. andreaum* di wilayah Desa Ciherang, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Cianjur. Nematoda tersebut diketahui dapat menyebar melalui alat-alat pertanian, percikan air, tanah dan stek batang

(Gebremichael, 2015). Potensi penularan penyakit dan tersebarnya nematoda sangat besar melalui transaksi perdagangan ditambah dengan maraknya *e-commerce* yang turut memperjualbelikan tanaman hias secara bebas baik di dalam negeri maupun ke luar negeri. Oleh karena itu, pengendalian di lapangan harus menjadi perhatian utama seluruh stakeholder agar tanaman hias Indonesia tetap eksis di pasar global.



Gambar 4. Hasil analisis filogenetik *R. similis* dari *A. andreanum* asal Cipanas (RAC01) terhadap spesies negara lain yang terdapat pada Genbank berdasarkan runutan nukleotida menggunakan program MEGA 11 dengan pendekatan *neighbour joining tree* bootstrap 1000x. *A. besseyi* sebagai perbandingan outgroup.

Menurut Torres *et al.* (2022) informasi mengenai keanekaragaman molekuler nematoda parasit tumbuhan dapat membantu untuk memahami distribusi, cara ekspansi, metode pengendalian, tingkat patogenesis, dan program pemuliaan tanaman berkelanjutan. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut mengenai keanekaragaman molekuler nematoda *R. similis* pada komoditas pertanian sangat penting dilakukan agar populasi nematoda tersebut dapat terkendali dan tidak terbawa pada komoditas ekspor pertanian Indonesia. Teknik identifikasi yang akurat dan cepat dapat menjadi acuan dalam melakukan pemeriksaan kesehatan tanaman sebelum tanaman tersebut diekspor.

SIMPULAN

Berdasarkan karakter morfologi, morfometri dan molekuler, nematoda *Radopholus similis* terdeteksi pada seluruh sampel akar tanaman hias *A. andreanum* di wilayah Desa Ciherang, Kecamatan Cipanas, Cianjur Jawa Barat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kementerian Pertanian yang telah memberikan dana untuk membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Almursyidi, HH, A Munif, and H Triwidodo. 2023. The abundance of phytonematodes associated with ginger plants in the district of Bogor, Cianjur, and Sukabumi, West Java. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing. 1133. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1133/1/012033>.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2023a. Produksi tanaman hias menurut provinsi dan jenis tanaman tahun 2022. Tersedia online pada <https://www.bps.go.id/>. Diakses tanggal 12 September 2023.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2023b. Statistik Perdagangan Indonesia tahun 2022. Tersedia online pada <https://www.bps.go.id/>. Diakses tanggal 3 Februari 2024.
- Badan Karantina Pertanian. 2022. Laporan tahunan 2021. Kementerian Pertanian. Jakarta. 311 pp. Tersedia online pada <https://karantina.pertanian.go.id/>. Diakses tanggal 3 Maret 2023.
- Budiman, A, Supramana, Giyanto, dan F Kurniawati. 2020. Komunitas fitonematoda pada pertanaman kopi robusta dan arabika di Jawa Timur. Jurnal Fitopatologi Indonesia. 16: 207–215. <https://doi.org/10.14692/jfi.16.5>.
- Castillo, A, R Astúa, W Jiménez, J Delgado, E Salas, and M Araya. 2022. Reduction of banana (*Musa* AAA cv Grande Naine) leaf photosynthesis by *Radopholus similis*. Journal of Applied Biosciences. 169: 17617–17635. <https://doi.org/10.35759/jabs.169.7>.
- [CABI] Center of Agriculture Bioscience International. 2019. *Radopholus similis* Cobb. CAB Publisher. 1–54.

- Cobon, JA, AB Pattison, LDJ Penrose, KA Chandra, WT O'Neill and MK Smith. 2019. Comparison of the reproduction and pathogenicity of isolates of *Radopholus similis* (burrowing nematode) from Australia and Fiji on ginger (*Zingiber officinale*) and banana (*Musa* spp.). Australasian Plant Pathology. 48: 529–539. <https://doi.org/10.1007/s13313-019-00656-w>.
- Elbadri, GAA, E Geraert and M Moens. 1999. Morphological differences among *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 populations. Russian Journal of Nematology. 7: 139–153.
- [EPPO] European-Mediterranean Plant Protection Organization. 2008. *Radopholus similis* synonyms. EPPO Bulletin. 38: 374–378.
- [EPPO] European-Mediterranean Plant Protection Organization. 2013. PM7/119 Nematode Extraction. EPPO Bulletin. 43: 471–495. <https://doi.org/10.1111/epp.12077>
- Gebremichael, GN. 2015. A Review on biology and management of *Radopholus similis*. Advances in Life Science and Technology. 36: 91–96.
- Haegeman, A, A Elsen, D De Waele, and G Gheysen. 2010. Emerging molecular knowledge on *Radopholus similis*, an important nematode pest of banana. Molecular Plant Pathology 11 (3): 315–23. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00614.x>.
- Huettel, RN, and DW Dickson. 1981. Parthenogenesis in the two races of *Radopholus similis* from Florida. Journal of Nematology. 13: 13–5.
- Lesta, A Munif, and A Nurmansyah. 2023. Yellow disease on pepper in Bangka, Indonesia: The symptoms, diversity and population of nematodes. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing. 1133. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1133/1/012027>.
- Mgonja, DM, GE Temu, JC Ndunguru, MF Mziray, SL Lyantagaye, and ND Luambano. 2020. Molecular approach to confirm traditional identification of *Radopholus similis* sampled in Tanzania. Journal of Nematology. 52. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2020-020>.
- Pinili, MS, RA Zorilla, I Van den Bergh, and D De Waele. 2018. Comparative study of morphology, morphometrics, reproductive fitness on carrot discs and pathogenicity on *Musa* genotypes of *Radopholus similis* Philippine populations. Journal of the International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences. 24: 79–92.
- Rocha, A de J, M dos S Ferreira, L de S Rocha, SAS Oliveira, EP Amorim, ESG Mizubuti, and F Haddad. 2020. Interaction between *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and *Radopholus similis* can lead to changes in the resistance of banana cultivars to Fusarium wilt. European Journal of Plant Pathology. 158: 403–417. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02081-y>.
- Singh, P, A Arhar, and A Bhardwaj. 2019. Role of growing medium in yield and quality of *Anthurium*: a review. Agricultural Reviews. 40: 229–233. <https://doi.org/10.18805/ag.r-1918>.
- Sipes, BS, and JS Lichty, 2002. *Radopholus similis* Damage To *Anthurium andreanum*. Nematropica. 32: 77–81.
- Suryanti, B Hadisutrisno, Mulyadi, and J Widada. 2013. Survey of distribution pepper yellowing disease and pathogens associated. Jurnal Budidaya Pertanian, 9: 60–63.
- Stirling, G., J Nicol, and F Reay. 2002. Advisory services for nematode pests: a report for the rural industries and development corporation. Biological Crop Protection Pty. Ltd. pp 119.
- Torres, PE, R Segura, J Sandoval, C Cantalapiedra-Navarrete, I Clavero-Camacho, P Castillo, and JE Palomares-Rius. 2022. Molecular diversity of *Radopholus similis* (Cobb 1913) Thorne (1949) (Nematoda: Pratylenchidae) affecting banana from Costa Rica. European Journal of Plant Pathology. 164: 439–446. <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02558-y>.
- Uchida, JY, BS Sipes, CY Kadooka, and EP Sciences. 2003. Burrowing Nematode on *Anthurium*: recognizing symptoms, understanding the pathogen, and preventing disease. University of Hawaii. Manoa. Tersedia online <https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/bitstream/10125/12383/1/PD-24.pdf>. Diakses pada 30 Maret 2022.
- Van Bezooijen, J. 2006. Methods and Techniques for Nematology. Wageningen University. 1–118. Tersedia online <https://www.wur.nl/en/show/manual-methods-and-techniques-for-nematology-1.htm>. Diakses pada 20 januari 2023.
- Venkat, SK, P Bommisetty, MS Patil, L Reddy and A Chennareddy. 2014. The genetic linkage maps of *Anthurium* species based on RAPD, ISSR and SRAP markers. Scientia Horticulturae.

- 178: 132–137.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.08.017>.
- Wang, Q, LF Geng, DS Zhang and DL Peng. 2011. Species specific molecular diagnosis of burrowing nematode (*Radopholus similis*). *Acta Phys Sin.* 41: 171–177.
- Xu, CL, Y Li, H Xie, X Huang, WJ Wu, L Yu and DW Wang. 2014. Morphological and karyotypic differences within and among populations of *Radopholus similis*. *ZooKeys.* 93: 69–93.
<https://doi.org/10.3897/zookeys.444.8186>.
- Yang, SH, LR Zhao, S Ding, SQ Tang, C Chen, HX Zhang, CL Xu and H Xie. 2022. Study on burrowing nematode *Radopholus similis*, pathogenicity test system in tobacco as host. *Journal of Integrative Agriculture.* 21: 2652–2664. <https://doi.org/10.1016/j.jia.2022.07.021>.