

IDENTIFIKASI FUSARIUM DAN NEMATODA PARASITIK YANG BERASOSIASI DENGAN PENYAKIT KUNING LADA DI KALIMANTAN BARAT

FUSARIUM IDENTIFICATION AND PLANT PARASITIC NEMATODE ASSOCIATED WITH PEPPER YELLOWING DISEASE IN WEST KALIMANTAN

Suryanti^{1)*}, Bambang Hadisutrisno¹⁾, Mulyadi¹⁾, & Jaka Widada¹⁾

¹⁾Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jln. Flora 1, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta 55281

*Penulis untuk korespondensi. E-mail: suryanti@faperta.ugm.ac.id

ABSTRACT

Pepper (Piper nigrum), known as the “King of Spices” is one of the most important spices. In the international market, Indonesian pepper has high selling value, due to its flavor characteristics. Pepper yellowing disease is one of the most important disease that caused the decrease of pepper production and become the main problem in the cultivation of pepper in West Kalimantan. This research was conducted to determine the major causal agent of leaf yellowing disease of pepper. The Fusarium associated with diseased plant were isolated from the symptomatic plant and nematodes were isolated from the root with leaf yellowing symptom. The Fusarium isolates were cultured on agar medium, and the nematode was cultured on tomato plant. From diseased pepper in West Kalimantan, it was isolated 4 Fusarium isolates and plant parasitic nematode Meloidogyne. The result showed that H isolate of Fusarium was the most virulent isolate and identified as Fusarium solani. The Meloidogyne was identified by the female perenial pattern. The nematode was identified as Meloidogyne incognita.

Keywords: Fusarium solani, Meloidogyne incognita, pepper yellowing disease

INTISARI

Lada (*Piper nigrum* L.) merupakan salah satu jenis rempah penting yang telah dikenal sebagai “King of Spices”. Di pasar internasional, lada Indonesia mempunyai daya jual tinggi karena cita rasanya yang khas. Salah satu kendala dalam budidaya lada adalah adanya penyakit kuning lada dan sampai saat ini menjadi masalah utama pada pertanaman lada di Kalimantan Barat. Informasi tentang patogen utama yang berinteraksi dengan penyakit kuning lada masih sangat terbatas, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi patogen utama yang berasosiasi dengan penyakit kuning lada. Isolasi Fusarium dilakukan dari batang lada dan isolasi nematoda dilakukan dari akar lada yang bergejala penyakit kuning di Kalimantan Barat. Fusarium hasil isolasi dikulturkan dalam medium agar, sedangkan nematoda hasil isolasi dikulturkan dalam akar tomat. Dari hasil isolasi berhasil didapatkan empat isolat Fusarium dan nematoda Meloidogyne. Identifikasi Fusarium dilakukan secara morfologis dan molekuler, dan identifikasi Meloidogyne dilakukan dengan menggunakan irisan bagian posterior nematoda betina. Dari hasil identifikasi diketahui bahwa patogen yang berasosiasi dengan penyakit kuning lada adalah *Fusarium solani* dan *Meloidogyne incognita*.

Kata kunci: *Fusarium solani*, *Meloidogyne incognita*, penyakit kuning lada

PENGANTAR

Lada (*Piper nigrum* L.) merupakan salah satu jenis rempah yang paling penting di antara rempah-rempah lainnya (*king of spices*), baik ditinjau dari segi perannya dalam menyumbangkan devisa negara maupun dari segi kegunaannya yang sangat khas dan tidak dapat digantikan dengan rempah lainnya. Daerah utama penghasil lada di Indonesia adalah Lampung, Bangka, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Bengkulu, Sulawesi Tenggara, dan Sulawesi Selatan (Anonim, 2006). Areal pengembangan lada tahun 2010 mencapai 186.296 ha dengan produksi sekitar 84.218 ton yang tersebar di 29 provinsi dan hampir seluruhnya dikelola oleh rakyat dengan melibatkan sekitar 324 ribu kepala keluarga petani di lapangan (Anonim, 2012).

Indonesia pernah menjadi negara produsen lada terbesar dan berperan dalam pemenuhan kebutuhan lada di pasar internasional. Berdasarkan data *International Pepper Community* (IPC), pada tahun 2000, Indonesia mampu memenuhi 90% kebutuhan lada dunia, namun setelah itu kondisinya semakin menurun, bahkan menurut laporan IPC pada tahun 2009, Indonesia menempati urutan ke-4 dalam sumbangan produksi lada dunia yaitu sebesar 9%, sedangkan Brazil 13%, India 19%, dan tertinggi Vietnam yaitu sebesar 34% (Anonim, 2009).

Permasalahan yang menonjol di lapangan adalah rendahnya produktivitas lada yang baru mencapai rata-rata 723 kg/ha pada tahun 2010 dari potensi di tingkat lapangan 2,5 ton/ha, atau di tingkat penelitian 4 ton/ha. Kondisi tersebut antara lain diakibatkan

gangguan hama dan penyakit lada, belum menggunakan benih unggul, kurangnya pemeliharaan lada di tingkat lapangan, dan lemahnya permodalan yang dimiliki petani (Anonim, 2012).

Beberapa penyakit pada lada yang dianggap sangat merugikan adalah penyakit busuk pangkal batang yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici*, penyakit kerdil yang disebabkan oleh virus, serta penyakit kuning. Penyakit busuk batang dan penyakit kerdil telah ditemukan hampir di semua pertanaman lada, sedangkan penyakit kuning hanya dilaporkan di Bangka dan Kalimantan Barat (Anandaraj & Sarma, 1995; Manohara & Nurheru, 2002; Manohara & Wahyuno, 2009). Meskipun banyak menyebabkan kehilangan hasil, namun penyakit kuning belum banyak diteliti di Indonesia. Penyakit ini pertama kali ditemukan pada tahun 1930, dan sampai sekarang masih menjadi kendala utama di daerah Bangka dan Kalimantan Barat. Penyakit ini pada tahun 1961 merusak kurang lebih 32% pertanaman lada di Bangka, bahkan tahun 1950 kerusakan yang ditimbulkan mencapai 50% (Nugroho, 1990). Direktorat Jenderal Perkebunan melaporkan, kehilangan hasil akibat penyakit kuning di Bangka dan Kalimantan Barat pada akhir tahun 2007 mencapai Rp 12 miliar (Manohara & Wahyuno, 2009). Tanaman yang sakit menunjukkan gejala berupa daun menguning, daun kaku tergantung tegak lurus pada waktu awal dan makin lama makin mengarah ke batang. Daun sangat rapuh sehingga mudah gugur.

Mustika (1990) melaporkan bahwa penyakit kuning lada di Bangka disebabkan oleh nematoda *Radopholus similis* sebagai penyebab utama, dan sering berinteraksi dengan *M. incognita* dan jamur *Fusarium solani* serta *F. oxysporum*. Beberapa peneliti melaporkan bahwa di Brazil, penyakit kuning disebabkan oleh jamur *F. solani* f.sp. *piperis* (Hamada *et al.*, 1988; Duarte & Archer, 2003; Carnaúba *et al.*, 2007; Vaz *et al.*, 2012). Di Vietnam, Thuy (2010) melaporkan bahwa penyakit kuning disebabkan oleh interaksi antara *M. incognita* dengan *F. solani*. Asosiasi antara lada dengan *M. incognita* dan *M. javanica* telah dilaporkan di India, Thailand, Malaysia, Kamboja, Vietnam, Indonesia, Brunei, Filipina, dan Brazil (Koshy *et al.*, 2005). Pada tahun 2000 Sahoo *et al.* (2000) melaporkan adanya spesies baru *M. piperi* pada lada di India.

Informasi tentang patogen utama yang berinteraksi dengan penyakit kuning lada di Indonesia masih sangat terbatas, sehingga penelitian ini bertujuan untuk identifikasi patogen utama yang berasosiasi dengan penyakit kuning lada di Kalimantan Barat.

BAHAN DAN METODE

Survei dan pengambilan sampel dilakukan pada lahan pertanaman lada di Kalimantan Barat (Kecamatan Capkala, Kabupaten Bengkayang dan Kecamatan Mempawah Timur, Kabupaten Pontianak).

Isolasi *Fusarium spp.*

Jamur diisolasi dari batang lada yang bergejala penyakit kuning dengan mengikuti metode Singleton *et al.* (1992) dan Leslie & Summerell (2006). Isolasi dari tanaman sakit dilakukan dengan cara memotong batang lada yang menunjukkan gejala penyakit kuning pada bagian yang terdapat gejala nekrosis. Pada batas antara bagian yang sakit dan sehat dipotong kecil dengan ukuran kurang lebih 2 mm, dan potongan didisinfeksi dengan cara direndam dalam larutan N-hipoklorit 0,5% selama 2 menit. Selanjutnya potongan sampel diletakkan pada medium PDA dalam cawan petri. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar, dan isolat yang tumbuh diamati secara makroskopik dan mikroskopik. Koloni jamur yang teridentifikasi sebagai *Fusarium* dikulturkan dan disimpan sebagai biakan murni dalam medium PDA dan medium agar ekstrak batang lada (komposisi 50 g batang lada, 200 g dekstros, 20 g agar dan 1 l aquades) untuk digunakan pada pengujian selanjutnya.

Uji Virulensi

Uji virulensi dilakukan dengan menumbuhkan isolat *Fusarium* pada medium agar ekstrak batang lada, dan dengan inokulasi pada bibit lada. Isolat yang memiliki pertumbuhan tercepat, masa inkubasi terpendek dan perkembangan gejala tercepat dipilih sebagai isolat yang digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Identifikasi *Fusarium*

Identifikasi jamur dilakukan dengan dua cara, yaitu secara morfologis dan molekuler.

Identifikasi secara morfologis. Identifikasi jamur terutama dilakukan berdasarkan pengamatan morfologi makrokonidium, mikrokonidium, dan konidiofor yang terbentuk. Identifikasi dilakukan mengikuti kunci identifikasi dari Booth (1971) dan Leslie & Summerell (2006).

Identifikasi secara molekuler. Analisis DNA secara molekuler dilakukan dengan menggunakan primer ITS (*Internal Transcribed Spacer 1 & 2*). Isolasi DNA dilakukan dengan mengikuti metode Leslie & Summerell (2006) dan Arif *et al.* (2011). Amplifikasi DNA dilakukan dengan bantuan mesin PCR. Campuran 7 µl akuabides steril, 10 µl taq

polimerase, 1 µl primer, 1 µl template (DNA sampel) dimasukkan dalam *test tube* 0,2 ml dan dimasukkan dalam mesin PCR. Mesin PCR dijalankan dengan siklus 95°C selama 5 menit satu siklus, dilanjutkan 35 siklus 94°C selama 45 detik untuk denaturasi, 50°C selama 45 detik untuk *anealing*, 72°C selama 90 detik untuk polimerisasi dan 1 siklus terakhir 72°C selama 5 menit.

Elektroforesis menggunakan gel agarose 1% dalam buffer TBE 1x (Tris-Boric EDTA). *Running* dilakukan pada tegangan 80 volt selama 20 menit. Sebagai marker digunakan 1 kb DNA ladder. Gel diangkat dan diamati di bawah *uv transilluminator*. Selanjutnya dilakukan sekuensing DNA hasil elektroforesis untuk melihat urutan susunan basa.

Analisis hubungan kekerabatan dilakukan dengan menggunakan analisis *delta-blast* dari *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI), yang dilanjutkan dengan pembuatan pohon filogenetik dengan menggunakan program MEGA5.

Isolasi dan identifikasi nematoda

Isolasi nematoda dilakukan dari akar tanaman lada bergejala penyakit kuning dengan teknik maserasi mengikuti metode Hooper *et al.* (2005). Akar lada dibersihkan dan dipotong-potong sepanjang kurang lebih 1 cm, kemudian dihancurkan dengan menggunakan blender. Selanjutnya akar diletakkan pada nampan berpori yang dilapisi kertas tisu, dan direndam pada nampan plastik yang berisi air sehingga sampel tanah sedikit tergenang air kemudian diinkubasikan selama 3 hari. Nematoda akan keluar dari tanah dan berpindah ke nampan yang berisi air. Untuk keperluan pengujian nematoda hasil isolasi diperbanyak pada akar tomat. Identifikasi nematoda dilakukan secara morfologis dengan mengikuti metode Eisenback (1985) dan Hunt & Manzanilla-López (2005).

Pembuatan pola perineal (*perineal pattern*) dilakukan dengan mengikuti metode Eisenback (1985). Nematoda betina diletakkan pada gelas obyek, dan bagian leher nematoda dipotong dengan menggunakan ujung pisau atau gelas penutup. Bagian tubuh nematoda (kutikula) ditetesi dengan asam laktat 4,5% pada cawan petri kemudian didiamkan selama 15–30 menit. Selanjutnya setengah kutikula dipotong dengan menggunakan ujung pisau. Kutikula dibersihkan dan dibentuk menjadi persegi serta diambil bagian pola perinealnya. Pola perineal yang didapat, diletakkan pada gelas benda dan diamati di bawah mikroskop dan didokumentasikan dengan menggunakan kamera Optilab®. Pengamatan dilakukan untuk melihat gambaran khas pada kutikula di bagian posterior nematoda betina antara lain pola lengkungan dorsal dan striasi yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat *Fusarium*

Dari sampel tanaman lada yang menunjukkan gejala sakit kuning di Kalimantan Barat berhasil dikoleksi 4 isolat jamur *Fusarium* yang selanjutnya dikulturkan pada medium PDA dan medium agar ekstrak batang lada untuk pengujian selanjutnya. Pada medium agar ekstrak batang lada, isolat *Fusarium* hasil isolasi memiliki koloni yang berwarna putih dengan miselium yang tipis, sedangkan pada medium PDA memiliki koloni berwarna putih dengan sedikit miselium udara seperti ditunjukkan pada Gambar 1.

Uji Virulensi *Fusarium*

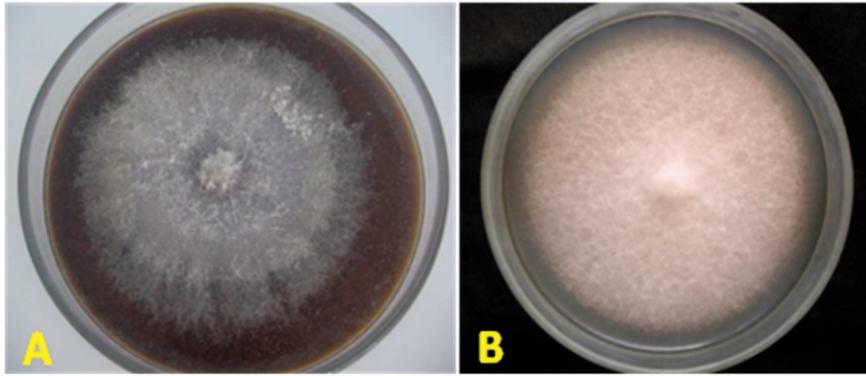
Pertumbuhan *Fusarium* dalam medium agar ekstrak batang lada. Pertumbuhan isolat *Fusarium* pada medium ekstrak batang lada dimaksudkan untuk melihat kemampuan *Fusarium* dalam mengkolonisasi medium tumbuh yang mengandung ekstrak batang lada. Hasil pengamatan pertumbuhan koloni *Fusarium* pada medium ekstrak batang lada ditunjukkan pada Gambar 2.

Gambar 2. menunjukkan bahwa isolat H memiliki perkembangan yang paling cepat, yang berarti memiliki kemampuan paling tinggi untuk mengkolonisasi medium tumbuh yang mengandung ekstrak tanaman lada.

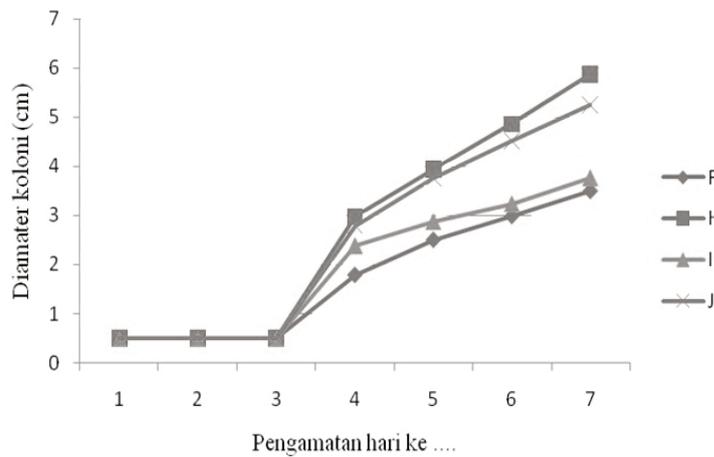
Inokulasi pada bibit lada. Gejala klorosis pada lada yang diinokulasi dengan isolat *Fusarium* ditunjukkan pada Gambar 3.

Dari hasil pengujian yang ditunjukkan dalam Gambar 3 diketahui bahwa isolat H menunjukkan perkembangan gejala nekrosis yang paling parah dibandingkan isolat yang lain. Menurut Duarte dan Archer (2003) *F. solani* f.sp. *piperis* memiliki kemampuan menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat toksik yang menyebabkan gejala diskolorisasi, layu atau nekrosis. Isolat H juga diketahui memiliki masa inkubasi yang paling pendek dibandingkan dengan isolat yang lain, seperti ditunjukkan dalam Tabel 1.

Isolat yang mampu memiliki masa inkubasi dan perkembangan gejala tercepat menunjukkan kemampuan produksi toksin yang tinggi sehingga bisa dikategorikan sebagai isolat yang memiliki virulensi tertinggi. Hasil pengamatan masa inkubasi yang ditunjukkan pada Tabel 1. menunjukkan bahwa isolat H memiliki masa inkubasi selama 8 minggu, sedangkan isolat F memiliki masa inkubasi selama 10 minggu, dan isolat J memiliki masa inkubasi selama 12 minggu, sehingga dapat diketahui bahwa isolat H merupakan isolat yang memiliki masa inkubasi terpendek. Untuk selanjutnya isolat H dikatakan sebagai isolat yang memiliki kemampuan yang paling tinggi untuk menginfeksi tanaman lada, dan digunakan sebagai isolat terpilih untuk diidentifikasi lebih lanjut.



Gambar 1. Koloni *Fusarium* umur 7 hari pada medium agar ekstrak batang lada (A) dan medium *Potato Dextrose Agar* (B)



Gambar 2. Pertumbuhan *Fusarium* isolat lada pada medium agar ekstrak batang lada



Gambar 3. Gejala klorosis pada lada yang diinokulasi dengan isolat *Fusarium*: lada tidak diinokulasi (kontrol) (A); lada diinokulasi dengan *Fusarium* isolat H (B); lada diinokulasi dengan *Fusarium* isolat F (C); lada diinokulasi dengan *Fusarium* isolat J (D); lada diinokulasi dengan *Fusarium* isolat I (E)

Tabel 1. Pengaruh inokulasi *Fusarium* terhadap waktu kemunculan gejala klorosis pada bibit lada

Isolat	Pengamatan minggu ke ...										
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
F	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	
H	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
I	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	
J	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Keterangan: - = tidak muncul gejala
 + = muncul gejala klorosis pada daun

Identifikasi Fusarium

Identifikasi morfologi. Genus *Fusarium* merupakan jamur yang memiliki hifa bersekat, dan menghasilkan spora aseksual yang berupa mikrokonidium dan makrokonidium. Pada umumnya mikrokonidium dibentuk secara kelompok pada ujung konidiofor. Morfologi mikroskopi *Fusarium* isolat H ditunjukkan pada Gambar 4.

Dari hasil pengamatan secara mikroskopi terlihat bahwa isolat H memiliki mikrokonidium berbentuk oval atau elips, tidak bersekat atau bersekat 1–2, Mikrokonidium tersusun pada ujung konidiofor yang panjang, tidak bercabang, bersifat monofialid tunggal (Gambar 4A).

Isolat H memiliki makrokonidium hialin, bersekat 4–7, berbentuk bulan sabit agak datar, berukuran $36,42 \times 4,37 \mu\text{m}$ ($31,1\text{--}42,2 \times 3,6\text{--}5,0 \mu\text{m}$). Sel kaki kurang berkembang sehingga makrokonidium memiliki ujung yang tumpul (Gambar 4B).

Dari pengamatan morfologi mikroskopi mikrokonidium dan makrokonidium, bisa disimpulkan bahwa *Fusarium* isolat H termasuk dalam jenis *Fusarium solani*. (Booth, 1971; Leslie & Summerell, 2006).

Identifikasi molekuler. Hasil elektroforesis DNA *Fusarium* isolat H asal Kalimantan Barat yang dianalisis dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ditunjukkan pada Gambar 5.

Dari hasil analisis PCR menggunakan primer ITS1 dan ITS2 yang merupakan primer universal, diketahui bahwa DNA *Fusarium* isolat H memiliki pita DNA dengan berat molekul sekitar 600 bp. Abd-Elsalam *et al.* (2004) melaporkan bahwa penggunaan primer universal untuk analisis jamur dengan metode PCR akan menghasilkan pita DNA dengan berat molekul 550–570 bp.

Dengan menggunakan analisis *delta-blast* dari *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI), dapat diketahui bahwa dari hasil sekuensing urutan pita DNA *Fusarium* isolat H memiliki tingkat kesamaan sebesar 93–99 % dengan isolat-isolat *Fusarium* koleksi dari *GenBank*.

Hasil analisis hubungan kekerabatan berdasarkan hasil PCR yang ditunjukkan dalam dendrogram pada Gambar 6. Pohon filogenetik dalam bentuk dendrogram disusun berdasarkan hasil sekuensing pita DNA. Dari Gambar 6 terlihat bahwa hasil analisis hubungan kekerabatan berdasarkan hasil PCR, *Fusarium* isolat H memiliki hubungan kekerabatan yang erat dengan *Fusarium solani* dan berada dalam satu kelompok dengan *Fusarium solani* yang diisolasi dari lada di Sarawak Malaysia.

Isolasi Nematoda

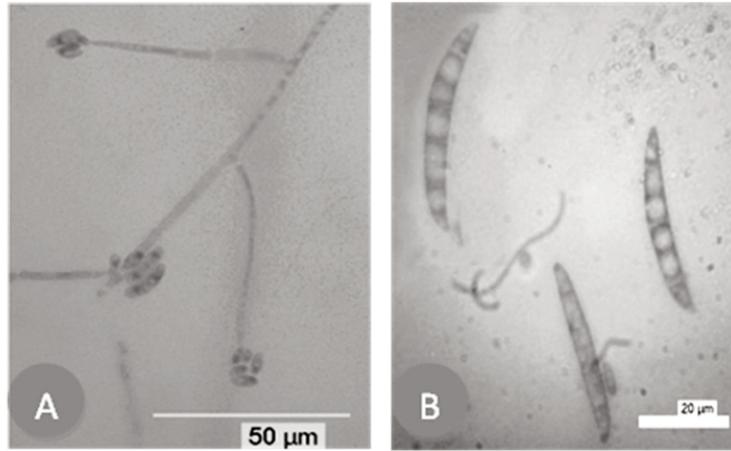
Morfologi nematoda betina hasil isolasi nematoda dari sampel akar tanaman lada yang menunjukkan gejala penyakit kuning ditunjukkan pada Gambar 7A dan 7B. Dari hasil pengamatan morfologi, diketahui bahwa nematoda tersebut merupakan nematoda parasitik, dengan ciri khas tubuh menggelembung dan menempel pada akar tanaman inang.

Nematoda betina hasil isolasi dari akar lada di Kalimantan Barat berbentuk membulat seperti buah pir, dengan leher yang pendek, dan posterior membulat, serta stilet berukuran pendek. Nematoda betina berukuran panjang rata-rata $599,75 \mu\text{m}$ ($540,4\text{--}634,5 \mu\text{m}$) dan lebar rata-rata $358,33 \mu\text{m}$ ($297,5\text{--}407,7 \mu\text{m}$). Menurut Eisenback *et al.* (2003) dan Hunt & Manzanilla-López (2005) morfologi nematoda betina seperti tersebut di atas, merupakan ciri khas dari nematoda dari Genus *Meloidogyne*.

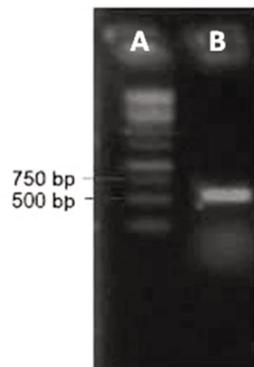
Tubuh nematoda betina membulat dengan massa telur pada bagian posterior yang terlindungi oleh massa gelatin. Nematoda betina memiliki kerangka kepala lembek dengan lubang ekskresi terletak agak anterior sampai pada lempeng klep *median bulbs* dan sering terlihat pada dekat basal stilet. Vulva terletak subterminal dekat anus, kutikula berwarna agak keputihan, tipis dan beranulasi jelas (Hunt & Manzanilla-López, 2005).

Nematoda genus *Meloidogyne* yang telah dilaporkan berasosiasi dengan lada adalah *M. incognita*, *M. javanica*, dan *M. piperi* (Sahoo *et al.*, 2000; Koshy *et al.*, 2005). Untuk menentukan jenis (spesies) nematoda dari genus *Meloidogyne*, selanjutnya dilakukan analisis sidik pantat (*perineal patterns*) dengan melakukan irisan bagian posterior nematoda betina, sehingga didapatkan gambaran khas pada kutikula di bagian posterior nematoda betina yang dapat digunakan sebagai penciri. Setiap spesies memiliki pola sidik pantat berbeda-beda yang merupakan karakter diagnostik.

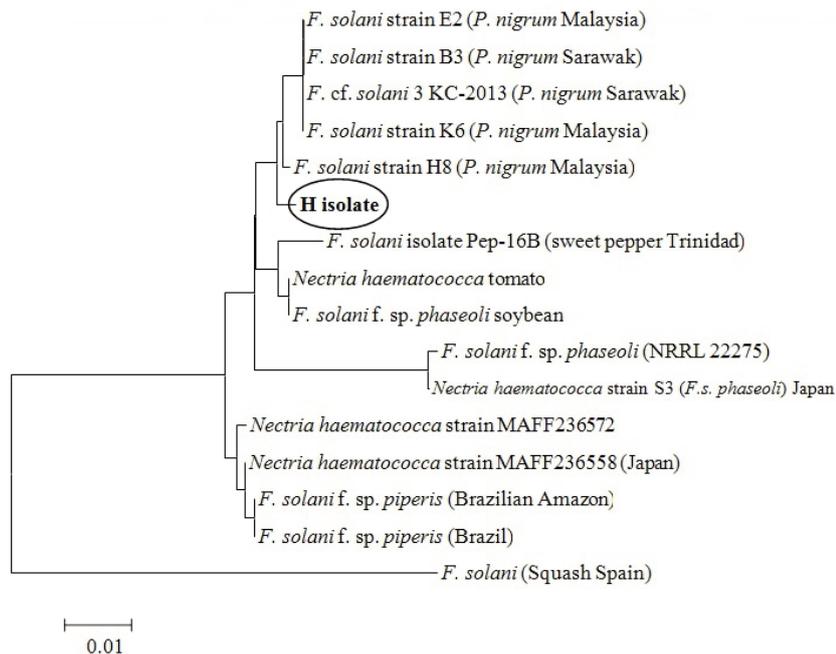
Berdasarkan pada hasil pengirisan posterior nematoda betina, terdapat ciri-ciri khusus yaitu lengkungan dorsal tinggi seperti persegi empat, sedangkan pada bagian paling luarnya sedikit melebar dan agak mendatar, striasi kasar bergelombang, tidak terdapat garis horisontal di atas lubang posterior, sehingga garis-garis yang melingkar di bidang posterior tidak tampak seperti terputus (Gambar 8). Berdasarkan pada karakter diagnostik pola perineal yang terlihat, menurut Eisenback (1985) dapat disimpulkan bahwa nematoda yang diisolasi dari perakaran lada di Kalimantan Barat tersebut termasuk dalam jenis *Meloidogyne incognita*.



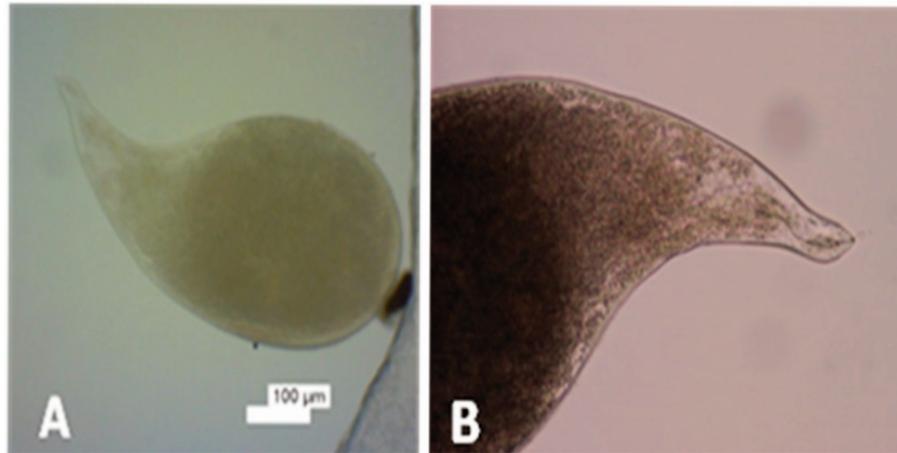
Gambar 4. Morfologi mikrokonidium dan makrokonidium Fusarium isolat H: mikrokonidium (A), makrokonidium (B)



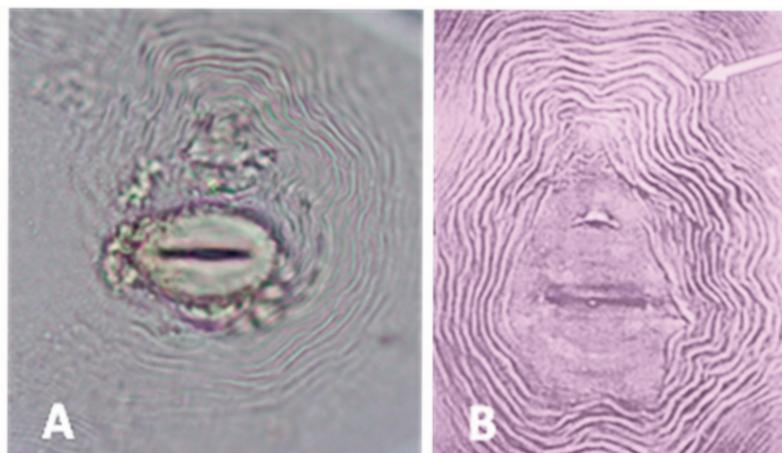
Gambar 5. Pola pita DNA hasil analisis PCR dengan menggunakan primer ITS 1 dan ITS 2 dari Fusarium isolat H yang diisolasi dari lada bergejala penyakit kuning di Kalimantan Barat: penanda 1 kb DNA ladder (A); DNA isolat H (B)



Gambar 6. Konstruksi pohon filogenetik Fusarium isolat H hasil isolasi dari lada bergejala penyakit kuning di Kalimantan Barat berdasarkan analisis PCR dengan menggunakan primer ITS 1 dan ITS 2



Gambar 7. Morfologi nematoda betina yang hasil isolasi dari akar lada bergejala penyakit kuning di Kalimantan Barat: nematoda puru akar betina (A); bagian anterior nematoda betina (B)



Gambar 8. Pola irisan posterior nematoda betina: pola perineal nematoda betina hasil isolasi dari akar lada di Kalimantan Barat (A); pola perineal *Meloidogyne incognita* betina menurut Eisenback (1985) (B)

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa jamur *Fusarium solani* dan nematoda parasitik *Meloidogyne incognita* merupakan mikroorganisme yang berasosiasi dengan tanaman lada bergejala penyakit kuning di Kalimantan Barat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd-Elsalam, K.A., I.N. Aly, M.A. Abdel-Satar, M.S. Khalil & J.A. Verreet. 2003. PCR Identification of *Fusarium* Genus Based on Nuclear Ribosomal-DNA Sequence Data. *African Journal of Biotechnology* 2: 82–85.
- Anandaraj, M. & Y.R. Sarma. 1995. Diseases of Black Pepper (*Piper nigrum* L.) and their Management. *Journal of Spices and Aromatic Crops* 4: 17–23.
- Anonim. 2006. *Statistik Perkebunan Indonesia 2004–2006: Lada*. Direktorat Jenderal Perkebunan Departemen Pertanian, Jakarta. 47 p.
- Anonim. 2009. *Pepper: Again the 'Bull Run' is Expected*. Carvy Special Reports. <http://www.karvycomtrade.com>, diakses 23/2/12.
- Anonim. 2012. *Pedoman Teknis Rehabilitasi dan Perluasan Tanaman Lada*. Direktorat Jenderal Perkebunan. Kementerian Pertanian RI, Jakarta. 45 p.
- Arif, M., D. R. Pani, N. W. Zaidi, & U.S.Singh. 2011. PCR-based Identification and Characterization of *Fusarium* sp. Associated with Malformation. *Biotechnology Research International* 2011: 1–6.
- Booth, C. 1971. *The Genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England. 237 p.
- Carnaúba, J.P., M.F. Sobral, E.P. da Rocha Amorim, & I.O. Silva. 2007. Report of *Fusarium solani* f.sp. *piperis* in *Piper nigrum* in the State of Alagoas. *Summa Phytopatologica* 33: 96–97.
- Duarte, M.L.R. & S.A. Archer. 2003. *In vitro* Toxin Production by *Fusarium solani* f. sp. *piperis*. *Fitopatologia Brasileira* 28: 229–235.

- Eisenback J.D. 1985. Diagnostic Characters Useful in the Identification of the Four Most Common Species of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.), p. 95–112. In J.N. Sasser & C.C. Carter (eds.), *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. I. *Biology and Control*. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.
- Eisenback, D., H. Hirschmann, J.N. Sasser, & A.C. Triantaphyllou. 1981. *A Guide to the Four Most Common Species of Root-Knot Nematodes (Meloidogyne spp.), with a Pictorial Key*. The Department of Plant Pathology and Genetics North Carolina State University and The United States Agency for International Development Raleigh, North Carolina. 52 p.
- Hamada, M., T. Uchida, & M. Tsuda. 1988. Ascospore Dispersion of the Causal Agent of Nectria Blight of *Piper nigrum*. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 54: 303–308.
- Hooper, D.J., 1985. Extraction of Free-living Stages from Soil, p. 5–30. In Southey, J.F. (ed.), *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London.
- Hooper, J.H., J. Hallmann & S.A. Subbotin. 2005. Methods for Extraction, Processing and Detection of Plant and Soil Nematodes, p 53– 6. In M. Luc, R.A. Sikora & J. Bridge. (eds.), *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. 2nd ed. CABI Publ., Wageningen, Netherland.
- Hunt, D.J., M. Luc, & R.H. Manzanilla-López. 2005. Identification, Morphology and Biology of Plant Parasitic Nematodes, p. 11–52. In M. Luc, R.A. Sikora, & J. Bridge (eds.), *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. 2nd ed. CABI Publ., Wallingford, Oxfordshire.
- Koshy, P.K., S.J. Eapen & R. Pandey. 2005. Nematode Parasites of Spices, Condiments and Medicinal Plants, p. 751–792. In M. Luc, R.A. Sikora & J. Bridge. (eds.), *Plant Parasitic Nematodes in Sub-tropical and Tropical Agriculture*. 2nd ed. CABI Publ., Wageningen, Netherland.
- Leslie, J.F. & Summerell, B.A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Victoria. 388 p.
- Manohara, D. & Nurheru. 2002. Hama dan Penyakit Utama Tanaman Lada dan Pengendaliannya. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 29: 5–6.
- Manohara, D. & D. Wahyuno. 2009. Kontroversi Penggunaan Bungkil Jarak (*Ricinus communis*) pada Penyakit Busuk Pangkal Batang dan Penyakit Kuning Tanaman Lada. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* 15: 1–3.
- Mustika, I. 1990. Studies on the Interactions of *Meloidogyne incognita*, *Radopholus similis* and *Fusarium solani* on Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Dissertation. Landbouwniversitet, Wageningen. Unpublish. 127 p.
- Nugroho, S.E. 1990. Penyakit Kuning dan Kerdil Tanaman Lada dan Pengendaliannya. *Berita Perlindungan Tanaman Perkebunan* 2: 6–7.
- Sahoo, N. K., S. Ganguly, S.J. Eapen. 2000. Description of *Meloidogyne piperi* sp.n. (Nematoda: Meloidogynidae) Isolated from the Roots of *Piper nigrum* in South India. *Indian Journal of Nematology* 30: 203–209.
- Singleton, L.L., J.D. Mihail, & C.M. Rush. 1992. *Methods for Research on Soil Borne Phytopathogenic Fungi*. APS. Press, St. Paul Minnesota. 265 p.
- Thuy, T.T.T. 2010. *Incidence and Effect of Meloidogyne incognita (Nematoda: Meloidogyninae) on Black Pepper Plants in Vietnam*. Thesis. Katholieke Universiteit Leuven, België. Unpublish. 138 p.
- Vaz, A. B., V. G. Elizei, S. S. Costa, & L. H. Pfenning. 2012. First Report of Sexual Reproduction of *Fusarium solani* f. sp. *piperis* in Bahia, Brazil. *Plant Disease* 96: 1581–1581.