

Research Article

**Laporan Pertama di Sulawesi Selatan: Karakter Morfologi dan Molekuler
Nematoda Puru Akar yang Berasosiasi dengan Akar Padi
di Kabupaten Wajo, Sulawesi Selatan**

***First Report in South Sulawesi: Morphological and Molecular Characters of
Root Knot Nematodes Associated with Rice Root
in Wajo, South Sulawesi***

Hishar Mirsam^{1)*} & Fitrianingrum Kurniawati²⁾

¹⁾Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Cokroaminoto Palopo
Jln. Lamaranginang Kampus II UNCP, Palopo, Sulawesi Selatan 91911

²⁾Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jln. Meranti, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat 16680

*Penulis untuk korespondensi. E-mail: hisharmirsam@yahoo.co.id

Diterima 6 Februari 2018; diterima untuk diterbitkan 6 Juni 2018

ABSTRACT

*Root Knot Nematode (RKN) is one of the most important cosmopolite parasitic nematode species. Reports on RKN associated with rice root in Indonesia are still limited in West Java and Yogyakarta. This study aimed to identify the RKN associated with rice root in Sub-district of Bola, District of Wajo, South Sulawesi, based on morphological and molecular characters. Sampling was carried out by purposive method based on specific criteria of sample, i.e. root knot. Identification of root knot nematode (RKN) infestation in field was done by observing the primary and secondary symptoms. Morphological identification was carried out based on characters of juvenile 2 and the female perineal pattern. Molecular identification was based on amplification of r-DNA by polymerase chain reaction technique using primers rDNA2 and rDNA 1.58s. RKN were detected associated with the incidence of root knot in rice plant. RKN was identified as *Meloidogyne graminicola* based on morphological characters of juvenile 2 and the female perineal pattern. PCR using primer rDNA 2/rDNA 1.58s successfully amplified a DNA band of RKN of \pm 500 bp. Nucleotide sequence analysis showed that RKN isolated from Wajo was closely related to *M. graminicola* isolated from Nepal, China, India, Madagascar, and USA with homology of 98.1–100.00%.*

Keywords: juvenile 2, Meloidogyne graminicola, nucleotide, perineal pattern

INTISARI

Nematoda puru akar (NPA) merupakan salah satu jenis nematoda parasit penting yang bersifat kosmopolit. Laporan NPA yang berasosiasi dengan akar tanaman padi di Indonesia masih terbatas di Jawa Barat dan Yogyakarta. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi NPA yang berasosiasi dengan akar tanaman padi di Kabupaten Wajo, Sulawesi Selatan berdasarkan karakter morfologi dan molekuler. Pengambilan sampel dilakukan secara purposif dengan memilih sampel berdasarkan pada kriteria gejala spesifik penyakit puru akar. Identifikasi serangan dilakukan dengan mengamati gejala primer dan gejala sekunder. Identifikasi morfologi dilakukan dengan pengamatan karakter morfologi juvenil 2 dan pola perineal NPA betina. Identifikasi molekuler dilakukan dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) untuk mengamplifikasi wilayah *internal transcribed spacer* (ITS) *ribosomal DNA* (rDNA) menggunakan pasangan primer rDNA2 dan rDNA1.58s. NPA ditemukan berasosiasi dengan akar tanaman padi yang memperlihatkan gejala puru akar. NPA diidentifikasi sebagai *Meloidogyne graminicola* berdasarkan karakter morfologi juvenil 2 dan pola perineal NPA betina. PCR menggunakan primer rDNA2/rDNA1.58s berhasil mengamplifikasi pita DNA NPA dengan ukuran sekitar 500 bp. Analisis runutan nukleotida menunjukkan isolat NPA asal Wajo-Indonesia memiliki tingkat kekerabatan yang sangat dekat dengan isolat *M. graminicola* asal Nepal, Cina, India, Madagaskar, dan Amerika Serikat dengan nilai homologi berkisar 98,1–100,0%.

Kata kunci: juvenil 2, *Meloidogyne graminicola*, nukleotida, pola perineal

PENDAHULUAN

Nematoda puru akar (NPA) merupakan salah satu jenis nematoda parasit penting yang bersifat kosmopolit atau memiliki tanaman inang yang luas. Salah satu tanaman inang yang dapat diserang oleh nematoda ini adalah tanaman padi. Pada tanaman padi, nematoda ini dapat menyebabkan gejala primer berupa puru akar. Gejala khas tanaman padi yang terinfeksi oleh nematoda puru akar ialah terbentuknya puru yang terletak di bagian ujung akar padi yang bengkak dengan membentuk seperti pengait (*hook*).

NPA yang berasosiasi dengan akar tanaman padi di Indonesia, yaitu spesies *Meloidogyne graminicola* telah dilaporkan di Pulau Jawa antara lain di Yogyakarta, Bogor, Cirebon, dan Sukabumi (Mulyadi, 1994; Febriyani, 2003; Nujayadi *et al.*, 2015). Di Sulawesi Selatan, keberadaan nematoda ini dianggap tidak penting oleh beberapa petugas yang bekerja di bidang pertanian sehingga serangan NPA ini kurang disadari. Kehilangan hasil akibat infeksi NPA ini telah banyak dilaporkan pada pertanaman padi di seluruh dunia. Di beberapa kawasan Asia Selatan dan Tenggara nematoda ini dilaporkan menyebabkan kerugian antara 20–80% (Erlan *et al.*, 1993; Padgham *et al.*, 2004; Pokharel *et al.*, 2007; Jaiswal *et al.*, 2011).

Kabupaten Wajo adalah salah satu daerah penghasil beras di Sulawesi Selatan. BPS Kabupaten Wajo (2017) melaporkan peningkatan produksi padi pada tahun 2014, 2015, dan 2016, berturut-turut sebesar 731.387 ton, 756.387 ton, dan 788.953 ton. Peningkatan produksi padi tersebut tidak menggambarkan kondisi pertanaman padi pada seluruh daerah di Kabupaten Wajo. Penyakit puru akar ditemukan menyerang tanaman padi di Kecamatan Bola, Kabupaten Wajo dan diduga disebabkan oleh NPA. Berdasarkan pengamatan langsung di lapangan, serangan NPA di Kabupaten Wajo masih tergolong rendah atau di bawah ambang luka ekonomi. Namun demikian, kondisi ini dapat menjadi buruk jika tidak dilakukan pengendalian sejak dini. Oleh karena itu, perlu dilakukan observasi dan identifikasi lebih lanjut tentang keberadaan NPA yang berasosiasi dengan akar tanaman padi di Kabupaten Wajo, Sulawesi Selatan sebagai upaya pencegahan dan pengendalian NPA tersebut.

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi NPA pada tanaman padi asal Kabupaten Wajo, Sulawesi Selatan berdasarkan karakter morfologi juvenil 2, pola perineal, dan molekuler, serta mengetahui tingkat

kekerabatan NPA asal Wajo dengan isolat pada Gen-Bank melalui analisis filogenetika.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada pertanaman padi di Desa Lempong, Kecamatan Bola, Kabupaten Wajo, Sulawesi Selatan. Pengambilan sampel dilakukan secara purposif dengan memilih sampel berdasarkan pada kriteria gejala spesifik penyakit puru akar. Sampel yang diambil berupa akar padi yang bergejala puru akar. Sampel disimpan dalam kantong plastik secara terpisah dan dibungkus dengan pelepah pisang agar kelembapannya terjaga sehingga nematoda dapat bertahan hidup, kemudian disimpan dalam kotak pendingin (*cooling box*).

Pengamatan Gejala Serangan NPA

Kegiatan identifikasi gejala penyakit pada pertanaman padi dilakukan terhadap tanaman bergejala pada bagian tajuk (di atas permukaan tanah) dan terhadap perakaran tanaman. Gejala pada bagian tajuk yang diamati berupa tinggi tanaman (kerdil), warna daun (menguning, klorosis), kelayuan pada siang hari, dan pertumbuhan tanaman padi yang tidak merata, sedangkan gejala pada bagian perakaran berupa bentuk, dan keberadaan puru yang berbentuk pengait (*hook*).

Ekstraksi Nematoda dengan Teknik Pengabutan

Ekstraksi nematoda dilakukan dengan metode pengabutan yang merujuk pada metode Hooper *et al.* (2005). Akar tanaman padi yang bergejala puru akar dibersihkan dengan air mengalir, kemudian dipotong-potong sekitar ± 1 cm. Potongan akar padi tersebut diletakkan di atas saringan kasar yang terletak di atas corong. Gelas plastik diletakkan di bagian bawah corong untuk menampung nematoda hasil ekstraksi. Proses ini dilakukan di dalam ruang pengabutan, air melalui *nozzle* dialirkan ke potongan akar padi. Proses pengabutan dibiarkan selama 48 jam. Setelah itu, gelas plastik yang berisi air disaring dengan menggunakan penyaring 500 *mesh* untuk memperoleh nematoda. Nematoda yang akan diperoleh adalah juvenil instar ke-2. Hasil ekstraksi nematoda ini dibuat preparat untuk pengamatan morfologi.

Inkubasi Nematoda

Inkubasi nematoda dilakukan berdasarkan metode Mirsam *et al.* (2015) yaitu nematoda dibilas menggunakan air steril pada saringan 500 *mesh* dan di-

masukkan ke dalam botol gelas. Nematoda diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruangan dan diberi udara menggunakan aerator. Inkubasi dilakukan agar sistem pencernaan tubuh nematoda bebas dari sisa-sisa makanan untuk memudahkan pengamatan ciri morfologi dan pengukuran bagian tubuh nematoda.

Pembuatan Preparat Nematoda

Preparat semipermanen. Preparat semipermanen dibuat mengikuti metode Goodey (1973) yang telah dimodifikasi yaitu tanpa menggunakan *glass woll*. Lingkaran parafin dibuat di atas gelas obyek menggunakan bor gabus dengan ketebalan yang sama, kemudian ditetaskan laktofenol pada bagian tengah lingkaran parafin. Sebanyak 3–5 ekor nematoda juvenil 2 diletakkan pada larutan laktofenol dengan posisi yang sama sejajar, selanjutnya ditutup dengan gelas penutup. Preparat kemudian dipanasi sampai cincin parafin meleleh kembali dan kaca penutup merekat bersama.

Preparat pola perineal. Pembuatan preparat pola perineal dilakukan berdasarkan metode Mirsam *et al.* (2015), yaitu akar dengan gejala puru dicuci untuk membersihkan tanah yang menempel. Puru dipisahkan dari akar, kemudian direndam selama kurang lebih 24 jam. Setelah puru melunak, nematoda betina dicongkel perlahan dari puru dan dipindahkan ke dalam cawan sirakus yang telah berisi asam cuka. Asam cuka berguna untuk menghilangkan lemak yang berada dalam tubuh nematoda betina. Setelah itu, nematoda betina dipindahkan ke gelas objek. Bagian anterior dipotong dengan pisau khusus, kemudian bagian posterior ditekan agar sisa kotoran dan lemak dalam tubuh nematoda keluar. Potongan direndam dalam laktofenol 0,03% dan dibiarkan sebentar. Bagian posterior disayat dan jaringan di dalam dibuang secara hati-hati, kemudian dipindahkan ke gelas objek lain dengan ditetesi laktofenol dan ditutup dengan gelas penutup. Preparat diamati menggunakan mikroskop kompon. Identifikasi dilakukan mengikuti panduan Eisenback *et al.* (1981) serta Shurtleff dan Averre (2005).

Pengamatan Morfologi Juvenil 2

Pengamatan dan identifikasi morfologi juvenil 2 dilakukan dengan melihat ciri dari fase juvenil 2 nematoda tersebut. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop dan mendokumentasikan dengan menggunakan kamera. Identifikasi dilakukan dengan mengacu pada buku identifikasi nematoda

Plant Parasitic Nematodes: A Pictorial Key to Genera (Mai & Lyon, 1996) dan dengan mencocokkan beberapa gambar-gambar pada beberapa literatur.

Identifikasi Karakter Molekuler

Ekstraksi DNA nematoda. Ekstraksi DNA nematoda dari sampel puru mengikuti metode Zouhar *et al.* (2000). Sebanyak 0,5 g puru akar ditambahkan dengan nitrogen cair, digerus dengan *mortar* dan *pestle*. Kemudian ditambahkan bufer ekstrak (50 mM Tris-HCl pH 8,0; 0,7 NaCl; 10 mM EDTA; 1% CTAB; dan 1% β -merkaptotanol) 500 μ l hingga menjadi homogen dengan pistil. Hasil gerusan dimasukkan ke dalam tabung mikro 2 ml, kemudian diinkubasi dalam penangas air (*water bath*) pada suhu 60°C selama 2 jam (setiap 10 menit tabung mikro dibolak-balik untuk membantu proses lisis). Tabung mikro dari penangas selanjutnya didinginkan sekitar 3–5 menit pada suhu ruang. Sebanyak 500 μ l larutan kloroform:isoamilalcohol (24:1) ditambahkan dan dicampurkan hingga homogen dengan divorteks selama 5 menit. Suspensi yang terbentuk disentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 11.000 rpm. Supernatan hasil sentrifugasi diambil dan dipindahkan ke dalam tabung mikro yang baru. Sodium asetat 3M (pH 5,2) ditambahkan ke dalam supernatan dengan perbandingan 1:10 dan dicampur hingga homogen. Isopropanol sebanyak 2/3 volume supernatan ditambahkan ke dalam tabung dan dicampur hingga homogen. Tabung diinkubasi pada suhu -20°C selama semalam. Suspensi kemudian disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Cairan dalam tabung dibuang dan pelet (endapan DNA) yang terbentuk dicuci dengan etanol 80% sebanyak 500 ml, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit. Cairan alkohol yang digunakan untuk mencuci pelet dibuang dan endapan DNA dikeringkan. Bufer Tris EDTA ditambahkan pada tabung mikro sebanyak 30–100 μ l sesuai dengan ketebalan endapan DNA.

Amplifikasi DNA. Hasil ekstraksi DNA dilanjutkan dengan melakukan amplifikasi DNA dengan metode PCR. Reaksi PCR dilakukan dengan mencampur *go tag green* sebanyak 12,5 μ l, ddH₂O 8,5 μ l, primer rDNA2 1 μ l, primer rDNA1,58s 1 μ l, dan DNA *template* 2 μ l. Primer yang digunakan berasal dari Powers *et al.* (1997) dan Pokharel *et al.* (2007), yaitu rDNA2 (5'-TTG ATT ACG TCC CTG CCC TTT-3') dan rDNA1,58s (5'-ACG AGC CCG AGT GAT CCA CCG-3'). Siklus PCR terdiri dari tahap inisiasi pada suhu 94°C selama 2 menit yang di-

lanjutkan oleh 25 siklus dari suhu 94°C selama 1 menit, 47°C selama 1 menit dan 72°C selama 1 menit dan ekstensi akhir selama 5 menit pada 72°C (Pokharel *et al.*, 2007). DNA nematoda hasil amplifikasi dianalisis dengan elektroforesis. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 V selama 60 menit kemudian dilanjutkan pada 100 V selama 5 menit. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan UV transiluminator dan diambil foto dengan kamera.

Analisis runutan nukleotida. Produk amplifikasi dikirim ke 1stBase (Malaysia) untuk disekuen. Hasil sekuen dianalisis menggunakan program *basic local alignment search tool* (BLAST) dengan program optimasi untuk mendapatkan urutan basa DNA yang terdapat dalam situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Hasil sekuen nukleotida yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan penyejajaran berganda *ClustalW* pada perangkat lunak Bioedit *Sequence Alignment Editor* versi 7.1.3. Hubungan kekerabatan antarisolat dikonstruksi menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolutionary Genetic Analysis Software* versi 6.06 (MEGA6) dengan *bootstrap* 1000 kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala NPA di Pertanaman Padi

Gejala sekunder oleh NPA di pertanaman padi pada umumnya menyebabkan pertumbuhan tanaman tidak merata, tanaman kerdil, daunnya menguning, dan tanaman yang bergejala mudah tercabut (Gambar 1).

Tanaman padi yang teramati tersebut dalam kondisi tidak tergenang oleh air. Gejala tersebut sama dengan gejala yang dijelaskan oleh Bird (1972) bahwa pada umumnya nematoda puru akar menyebabkan gejala sekunder berupa gejala tanaman menjadi kerdil, daunnya pucat, dan layu.

Gejala primer oleh NPA menyebabkan perubahan morfologi akar. Pembentukan puru akar menunjukkan gejala khas tanaman padi terinfeksi oleh NPA. Puru yang terbentuk berada di bagian ujung akar padi yang bengkak dan bengkok dengan membentuk seperti pengait (*hook*) (Gambar 2). Gejala tersebut menunjukkan gejala yang mirip dengan laporan Mulyadi dan Triman (1995) bahwa NPA menyebabkan terjadinya puru (bengkak) pada akar (ujung akar menjadi membengkak dan membengkok) dan pertumbuhan tanaman terhambat.

Karakter Morfologi NPA Juvenil 2

Karakter NPA juvenil 2 diidentifikasi sebagai *Meloidogyne graminicola*. NPA juvenil 2 memiliki khas pada bagian posterior, yaitu ujung ekor terlihat runcing, bergelombang, bulat, serta terdapat bagian *hyaline tail terminus*. Bagian anterior ditandai dengan *set off* dan datar. Bagian rongga mulut dilengkapi dengan stilet dengan tipe *stomatostylet* yang dilengkapi dengan knob. Pada saluran pencernaan terdapat faring yang menghubungkan antara stilet dengan *median bulb* ke bagian *pharyngeal gland lobe*. Kelenjar faring ini memiliki posisi tumpang tindih (*overlapping*) dengan usus (*intestine*). Karakter



Gambar 1. Gejala pertanaman padi yang terinfeksi nematoda puru akar di Kabupaten Wajo, Sulawesi Selatan; lingkaran merah merupakan gejala spot-spot akibat pertumbuhan tanaman tidak merata

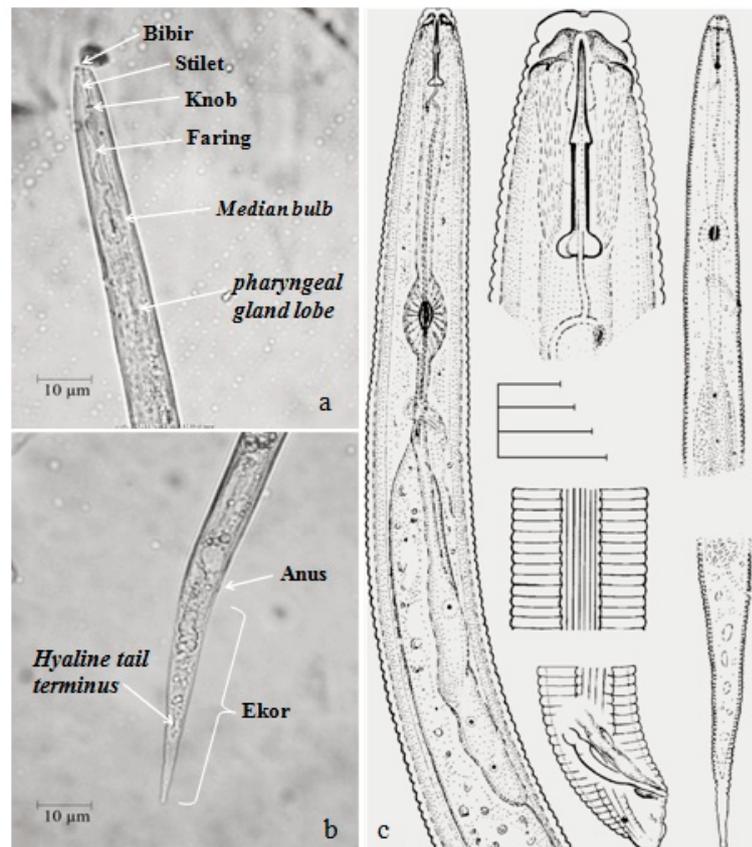


Gambar 2. Gejala puru akar pada akar tanaman padi

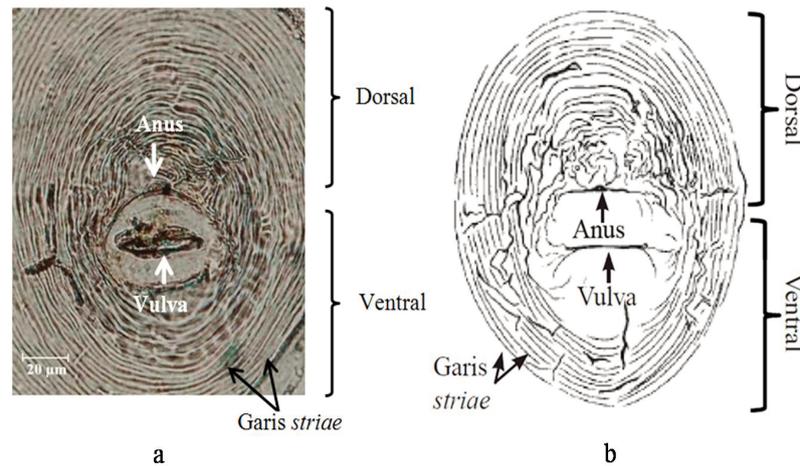
morfologi yang diperoleh menunjukkan kemiripan dengan karakter yang dilaporkan oleh Golden dan Birchfield (1965), yaitu *M. graminicola* memiliki ciri bibir yang berbentuk *set off* dan bagian ekor runcing dengan bagian ujung ekor bulat halus, stilet dilengkapi knob dengan tipe *stomato stylet*, ujung ekor bergelombang, runcing, dan terdapat bagian *hyaline tail terminus*, serta kelenjar faring yang *overlapping* dengan usus (Gambar 3).

Karakter Pola Perineal NPA Betina

Pola perineal NPA betina yang diidentifikasi terindikasi sebagai spesies *M. graminicola*. Pola perineal sangat khas berupa garis *striae* yang halus dengan pola berbentuk oval. Garis lengkungan saling terhubung membentuk piramida yang terpusat di bagian tengah (ekor terminus). Pola *striae*-nya tidak dipisahkan atau tidak memiliki garis lateral. Kemiripan sketsa pola perineal yang diperoleh terlihat jelas dengan sketsa yang dilaporkan oleh Hunt dan Handoo (2009) pada Gambar 4.



Gambar 3. Morfologi *Meloidogyne graminicola* juvenil 2 dari akar tanaman padi asal Wajo, Sulawesi Selatan dengan perbesaran mikroskop 1000× [(a) bagian anterior; (b) bagian posterior; (c) karakter morfologi *M. graminicola* juvenil 2 menurut Golden dan Birchfield (1965)]

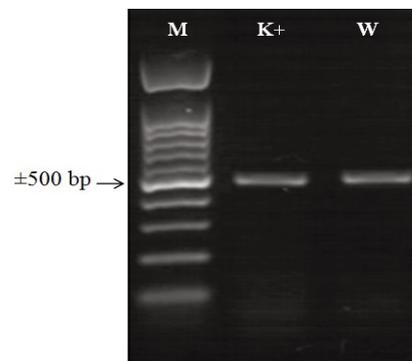


Gambar 4. Pola perineal *Meloidogyne graminicola* [(a) isolat asal Wajo, Sulawesi Selatan dengan perbesaran 400×; (b) sketsa pola perineal *M. graminicola* menurut Hunt dan Handoo (2009)]

Karakter NPA Berdasarkan Runutan Nukleotida

Pita DNA NPA yang berasosiasi dengan akar tanaman padi asal Wajo, Sulawesi Selatan berukuran ± 500 bp berhasil teramplifikasi menggunakan pasangan primer rDNA2 dan rDNA1.58s (Gambar 5). Hal ini memperkuat hasil identifikasi morfologi juvenile 2 dan pola perineal NPA betina yang dilakukan sebelumnya. Esbendshade dan Tirantaphyllou (1990) menjelaskan bahwa pengujian dengan pendekatan biologi molekuler diyakini lebih cepat dan lebih akurat dibandingkan dengan identifikasi karakter morfologi dan pola perineal. Pasangan primer rDNA2/rDNA1.58s dapat mengenali dan memperbanyak DNA NPA betina dewasa di wilayah *internal transcribed spacer* (ITS) *ribosomal* DNA (rDNA). Wilayah ITS terletak pada susunan berulang antara inti 18S dan 28S dari gen DNA ribosom dan digunakan sebagai penanda genetik. Menurut Powers *et al.* (1997), wilayah ITS sangat *conserve* atau stabil sehingga dapat memberikan penanda genetik yang kuat untuk mengidentifikasi spesies nematoda parasit. Data runutan ITS digunakan untuk membuat pohon filogenetik, mengestimasi struktur populasi genetik, mengevaluasi proses evolusi pada tingkat populasi, dan menentukan identitas taksonomi.

Analisis homologi runutan nukleotida menunjukkan bahwa NPA isolat Wajo-Indonesia memiliki tingkat homologi tertinggi dengan isolat



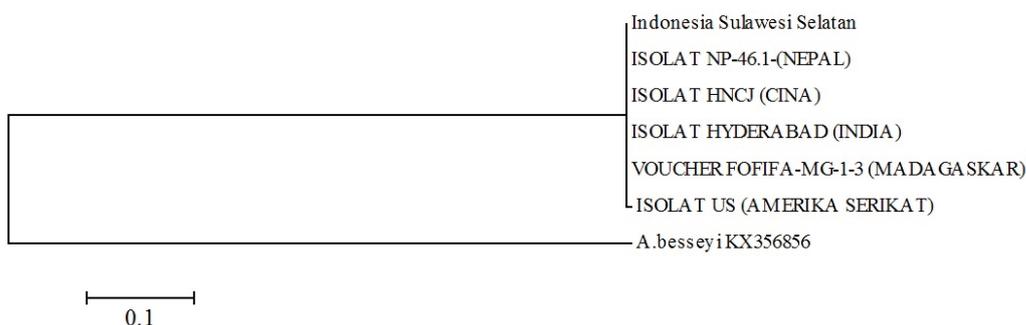
Gambar 5. Hasil amplifikasi DNA NPA yang berasosiasi dengan akar tanaman padi asal Wajo, Sulawesi Selatan pada 1% gel agarosa; [(M) penanda DNA 100 pb; (K+) kontrol positif isolat Bogor; (W) isolat Wajo]

Meloidogyne graminicola asal Nepal, Cina, India, dan Madagaskar, yaitu sebesar 100%. NPA isolat Wajo-Indonesia juga memiliki tingkat homologi yang cukup tinggi dengan isolat *M. graminicola* asal Amerika Serikat sebesar 98,1% dan homologi sangat rendah dengan isolat pembanding, yaitu isolat *Aphelenchoides besseyi* asal Costa Rica sebesar 24,7% (Tabel 1). Hasil amplifikasi DNA NPA isolat Wajo (Indonesia) dikonfirmasi melalui analisis filogenetika. Analisis filogenetika memperlihatkan NPA isolat Wajo berada satu kelompok dengan *M. graminicola* asal Nepal, Cina, India, dan Madagaskar dengan nilai koefisien jarak genetik 0.00 (Gambar 6).

Tabel 1. Tingkat homologi *Meloidogyne graminicola* isolat Indonesia Sulawesi Selatan dibandingkan dengan isolat yang berasal dari GenBank

Asal isolat	Akses No.	Tingkat homologi (%)						
		1	2	3	4	5	6	7
Wajo-Indonesia	Na	ID						
Nepal	DQ909044	100	ID					
Cina	KY020414	100	100	ID				
India	MF320126	100	100	100	ID			
Madagaskar	KX372253	100	100	100	100	ID		
Amerika Serikat	EF432571	98,1	98,1	98,1	98,1	98,1	ID	
<i>Aphelenchoides besseyi</i> Costa Rica	KX356856	24,7	24,7	24,7	24,7	24,7	24,7	ID

Keterangan: Na (no accession number)



Gambar 6. Pohon filogenetika NPA yang berasosiasi dengan akar tanaman padi asal Wajo, Sulawesi Selatan dengan analisis *maximum likelihood tree* menggunakan program Bioedit 7.1.3. dan MEGA 6.06; skala di bawah gambar adalah skala nilai koefisien jarak genetik yang menggambarkan jumlah rata-rata perubahan nukleotida di antara isolat

KESIMPULAN

Nematoda puru akar (NPA) yang berasosiasi dengan akar tanaman padi asal Kabupaten Wajo, Sulawesi Selatan teridentifikasi sebagai spesies *Meloidogyne graminicola* berdasarkan karakter morfologi juvenil 2, pola perineal NPA betina, dan runutan nukleotida. Analisis runutan nukleotida menunjukkan bahwa NPA asal Wajo-Indonesia memiliki tingkat kekerabatan yang sangat dekat dengan isolat *M. graminicola* asal Nepal, Cina, India, Madagaskar, dan Amerika Serikat dengan nilai homologi berkisar antara 98,1–100%.

Hasil penelitian ini dapat dijadikan data primer untuk menentukan strategi pengendalian *M. graminicola* yang berasosiasi dengan akar padi di Kecamatan Bola, Kabupaten Wajo, Sulawesi Selatan sehingga nematoda parasit ini tidak menyebar lebih luas di wilayah Kabupaten Wajo lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Bird, A. F. 1972. *The Structure of Nematodes*. Academic Press, New York, US. 318 p.
- Badan Pusat Statistik [BPS] Wajo. 2017. *Wajo dalam Angka 2017*. BPS Kabupaten Wajo, Makassar, Indonesia. 58 hlm.
- Eisenback, J.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*. Department of Plant Pathology and Genetic North Carolina University and the United States Agency for International Development, North Carolina, US. 48 p.
- Erlan, Supratoyo, Mulyadi, & C. Netscher. 1993. Penyebaran dan Patogenesis Nematoda Puru Akar Padi (*Meloidogyne graminicola*) di D.I. Yogyakarta. BPPS-UGM 6 (4B): 439–452.
- Esbenshade, P.R. & A.C. Triantaphyllou. 1990. Isozyme Phenotypes for the Identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*. 22: 10–15.

- Febriyani, D. 2003. *Nematoda Puru Akar (Meloidogyne spp.) pada Tanaman Padi Sawah di Kelurahan Situ Gede, Bubulak, Kecamatan Bogor Barat dan Desa Caringin, Kecamatan Darmaga, Bogor*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 46 hlm.
- Golden, A.M. & W. Birchfield. 1965. *Meloidogyne graminicola* (Heteroderidae), a New Species of Root Knot Nematode from Grasses. *Proceeding Helminthological Society of Washington* 32: 228–231.
- Goodey, T. 1973. Two Methods for Staining Nematodes in Plant Tissue. *Journal of Helminthology* 15: 137–144.
- Hooper, D.J., J. Hallmann, & S.A. Subbotin. 2005. Methods for Extraction, Processing and Detection of Plant and Soil Nematodes, p. 53–86. In M. Luc, R. A. Sikora, & J. Bridge (ed). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. Ed ke-2. CABI., London, UK.
- Hunt, D.J. & Z.A. Handoo. 2009. Taxonomy, Identification, and Principal Species, p. 55–88. In R.N. Perry, M. Moens, & J.L. Starr (eds.), *Root Knot Nematode*. CABI, Cambridge.
- Jaiswal, I.R.K., K.P. Singh, & R.K. Mishra. 2011. A Technique for the Detection of Soil Infestation with Rice Root-knot Nematode, *Meloidogyne graminicola* at Farmer's Field. *Academic Journal Plant Science* 4: 110–113.
- Mai, W.F. & H.H. Lyon. 1996. *Pictorial Key to Genera of Plant Parasitic Nematodes*. 5th Edition. Cornell University, New York. 277 p.
- Mirsam, H., Supramana, & G. Suastika. 2015. Deteksi dan Identifikasi Spesies *Meloidogyne* pada Tanaman Wortel dari Dataran Tinggi Malino, Gowa, Sulawesi Selatan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 11: 1–8.
- Mirsam, H., Supramana, & G. Suastika. 2015. Identifikasi Nematoda Parasit pada Tanaman Wortel di Dataran Tinggi Malino, Sulawesi Selatan Berdasarkan pada Ciri Morfologi dan Morfometrik. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 11: 85–90.
- Mulyadi. 1994. *Nematoda Puru Akar Padi (Meloidogyne graminicola) di DI Yogyakarta dan Usaha Pengendaliannya*. Lembaga Penelitian UGM, Yogyakarta. 23 hlm.
- Mulyadi & B. Trimana. 1995. Kajian Tanaman Inang Nematoda Puru Akar Padi (*Meloidogyne graminicola*). *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 7: 79–85.
- Nurjayadi, M.Y., A. Munif, & G. Suastika. 2015. Identifikasi Nematoda Puru Akar, *Meloidogyne graminicola*, pada Tanaman Padi di Jawa Barat. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 11: 113–120.
- Padgham, J.L., J.M. Duxbury, A.M. Mazid, G.S. Abawi, & M. Hossain. 2004. Yield Loss Caused by *Meloidogyne graminicola* on Lowland Rainfed Rice in Bangladesh. *Journal of Nematology* 36: 42–48.
- Pokharel, R.R., G.S. Abawi, N. Zhang, J.M. Duxbury, & C.D. Smart. 2007. Characterization of Isolates of *Meloidogyne* from Rice-Wheat Production Fields in Nepal. *Journal of Nematology* 39: 221–230.
- Powers, T.O., T.C. Todd, A.M. Burnell, P.C.B. Murray, C.C. Fleming, A.L. Szalanki, B.A. Adams, & T.S. Harris. 1997. The rDNA Internal Transcribed Spacer Region as a Taxonomic Marker for Nematodes. *Journal of Nematology* 29: 441–450.
- Shurtleff, M.C. & C.W. Averre. 2005. *Diagnosing Plant Disease Caused by Nematodes*. APS Press, St. Paul, Minnesota, US. 187 p.
- Zouhar, M., P. Ryšánek, & M. Kočová. 2000. Detection and Differentiation of the Potato Cyst Nematodes *Globodera pallida* and *Globodera rostochiensis* by PCR. *Plant Protection Science* 36: 81–84.