

**IDENTIFIKASI MOLEKULER JAMUR *Purpureocillium lilacinum*
(Syn. *Paecilomyces lilacinus*) DAN UJI PATOGENISITASNYA TERHADAP
Meloidogyne spp. PADA TANAMAN JAMBU KRISTAL**

Skripsi

Oleh

Mei Sri Haryani



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI MOLEKULER JAMUR *Purpureocillium lilacinum* (Syn. *Paecilomyces lilacinus*) DAN UJI PATOGENISITASNYA TERHADAP *Meloidogyne* spp. PADA TANAMAN JAMBU KRISTAL

Oleh

MEI SRI HARYANI

Jambu biji termasuk komoditas hortikultura yang mempunyai nilai ekonomis dan berpotensi untuk dikembangkan di Indonesia. Namun budidaya jambu biji sering kali terserang nematoda puru akar (NPA) *Meloidogyne* spp. yang menyebabkan penurunan produksi. *Purpureocillium lilacinum* (Syn. *Paecilomyces lilacinus*) adalah agensia hayati pengendali *Meloidogyne* spp. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan dan mengetahui identitas molekuler isolat *P. lilacinum* (Syn: *P. lilacinus*) lokal Lampung, serta menguji patogenesisnya terhadap nematoda puru akar. Eksplorasi dilakukan di pertanaman jambu Kristal di Tanggamus, PT GGF Lampung Tengah dan PT NTF Lampung Timur. Percobaan uji patogenesis dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, pada Juli hingga September 2018. Perlakuan untuk uji patogenesis disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 ulangan, menggunakan 5 isolat jamur *P. lilacinum* (Syn. *P. lilacinus*) yaitu isolat

koleksi sebelumnya (BioP, B4120X, B3010) dan isolat hasil eksplorasi (B412G dan B01TG) serta kontrol. Data hasil pengamatan dianalisis dengan uji BNT pada taraf 5% sebagai sarana pembandingan antar perlakuan. Hasil eksplorasi yaitu ditemukan 2 isolat lokal *P. lilacinum* (Syn. *P. lilacinus*) yang berasal dari PT NTF Lampung Timur dan kebun petani di Tanggamus yang diberi kode isolat B412G dan B01TG. Hasil pengujian patogenisitas secara *in-vitro*, menunjukkan bahwa lima isolat bersifat patogenik terhadap massa telur *Meloidogyne* spp. Hasil identifikasi molekuler menunjukkan bahwa lima isolat yang digunakan masuk dalam kelompok *P. lilacinus*, namun pada 2011 *P. lilacinus* diusulkan membentuk genus baru yaitu *Purpureocillium* dengan nama spesies *Purpureocillium lilacinum*.

Kata kunci : *Meloidogyne* spp., patogenisitas, *Purpureocillium lilacinum*

**IDENTIFIKASI MOLEKULER JAMUR *Purpureocillium lilacinum*
(Syn. *Paecilomyces lilacinus*) DAN UJI PATOGENISITASNYA TERHADAP
Meloidogyne spp. PADA TANAMAN JAMBU KRISTAL**

Oleh

MEI SRI HARYANI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN**

pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi : **IDENTIFIKASI MOLEKULER JAMUR
Purpureocillium lilacinum (Syn. *Paecilomyces lilacinus*) DAN UJI PATOGENISITASNYA
TERHADAP *Meloidogyne* spp. PADA
TANAMAN JAMBU KRISTAL**

Nama Mahasiswa : Mei Sri Haryani

Nomor Pokok Mahasiswa : 1414121146

Program Studi : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.
NIP 19810815200812 2001



Dr. Ir. I Gede Swibawa, M.S.
NIP 19601003198603 1003

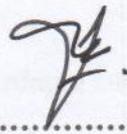
2. Ketua Jurusan Agroteknologi

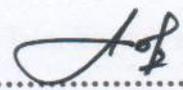


Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.
NIP 19630508198811 2001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

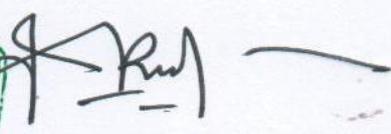
Ketua : Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P. 

Sekretaris : Dr. Ir. I Gede Swibawa, M.S. 

Penguji Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Ir. F.X. Susilo, M.Sc. 

2. Dekan Fakultas Pertanian




Prof. Dr. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 08 Februari 2019

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah dilakukan oleh orang lain dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini sebagaimana yang disebutkan di daftar pustaka. Selain itu, saya menyatakan pula bahwa skripsi ini dibuat oleh saya sendiri.

Apabila pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia dikenai sanksi sesuai dengan hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, Februari 2019



Mei Sri Haryani
NPM 1414121146

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Gumuk Rejo, Pringsewu pada tanggal 24 Juni 1996, sebagai anak pertama dari dua bersaudara, dari bapak Asmarudin dan Ibu Sukarti.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan penulis di TK ‘Aisyiyah Bustanul Athfal Patoman pada tahun 2002, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SDN 1 Patoman, Pagelaran pada tahun 2008, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPN 1 Pagelaran pada tahun 2011 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMAN 1 Pagelaran pada tahun 2014.

Tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN. Penulis melaksanakan Praktik Umum pada 2017 di Laboratorium Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Gadingrejo Kabupaten Pringsewu. Pada tahun 2018, penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Braja Harjosari, Kecamatan Braja Slebah, Kabupaten Lampung Timur. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten Praktikum Pengendalian Hama Tanaman (2017), Bioekologi Penyakit Tanaman (2018), Mikologi Tumbuhan (2018) dan Nematologi Tumbuhan (2018).

Bismillaahirrohmaanirrohim

*Dengan penuh rasa syukur kupersembahkan karya ini sebagai tanda
terimakasihku*

Kepada:

*Kedua orangtuaku Bapak Asmarudin dan Ibu Sukarti serta adikku
tersayang, Muhammad Farhan yang telah mencurahkan kasih sayang,
perhatian, motivasi dan doa-doa terbaik untuk kelancaran penulis*

*Sahabat, kerabat dan teman-teman jurusan yang telah memberikan
motivasi kepada penulis*

*Serta Almamater yang kubanggakan Fakultas Pertanian
Universitas Lampung*

Semoga Karya ini bermanfaat.

MOTTO

*Wahai orang-orang yang beriman,
jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu,
sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar
-QS 2:153-*

*Akan selalu ada balasan dari setiap tindakan
Akan selalu ada hasil dari setiap proses
Dan akan selalu ada konsekuensi dari setiap pilihan
-Wien Kinasih-*

SANWACANA

Segala puji dan rasa syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**IDENTIFIKASI MOLEKULER JAMUR *Purpureocillium lilacinum* (Syn. *Paecilomyces lilacinus*) DAN UJI PATOGENISITASNYA TERHADAP *Meloidogyne* spp. PADA TANAMAN JAMBU KRISTAL**”.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis telah banyak mendapat bimbingan, bantuan, serta dukungan dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S., selaku Ketua Bidang Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
4. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, motivasi, saran, nasihat, pemikiran dan kesabaran selama penulis menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.

5. Dr. Ir. I Gede Swibawa, M.S., selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, motivasi, saran, kesabaran dan nasihat dan fasilitas selama penulis menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.
6. Prof. Dr. Ir. F.X. Susilo, M.Sc., selaku penguji yang telah memberikan bimbingan, saran, nasihat, motivasi selama penulis menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.
7. Radix Suharjo, S.P, M.Agr., Ph.D., selaku Kepala Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah memberikan bimbingan, saran, motivasi, nasihat dan fasilitas yang menunjang selama penulis menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.
8. Prof. Dr. Ir. Muhammad Kamal, M.Sc., selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan bimbingan, saran, motivasi selama penulis menyelesaikan pendidikan di Universitas Lampung.
9. Keluarga tercinta, Ayahanda Asmarudin, Ibunda Sukarti, Adik Muhammad Farhan dan seluruh keluarga besar atas do'a, kasih sayang, dukungan, semangat, motivasi, dan perhatiannya kepada penulis.
10. Asisten Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Bihikmi Semenguk dan Eryka Merdiana yang telah banyak membantu dan memberikan saran serta nasihat selama penulis menyelesaikan penelitian.
11. Teman-teman Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Lita Theresia Pasaribu, Diah Ayu Astuti, Ika Rachma Pangesti, Lily Agustini Waruwu, Hani Anggarainy, Febe Atalia Tambunan, Devita Oqi Wulandara, Hani Listyani, Maya Nuningtyas dan Indah Dewi Saputri yang banyak membantu penulis

selama menyelesaikan penelitian, menemani dan memberikan masukan serta saran, sehingga penulis lebih banyak belajar.

12. Teman-teman tim penelitian nematoda, Ma'ruf Kurniawan, Amirul Syahid, Mutiara Ulfa, Oded Saputra, Ikhwan, Vicli dan Ambar yang telah membantu selama penulis melaksanakan penelitian.
13. Sahabat seperjuangan, Yulia Citra Permatasari, Septiana Putri, Ratna Sari Dewi Marbun, Rinaldi Nur Rahman Putra, Romatua Hasiholan Nainggolan, Rizky Indah Wahyuni, Chintya Anniessa Pasa, Vredighrichal Gurahman, Zakiah Selviani, Erlinda Agustin, Putu Herni Anggraini serta teman-teman Agroteknologi 2014 yang membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi.
14. Penyemangat Oka Ayulestari, Rizky Legowo, Ulfa Tantia, Nur'aini dan Siti Rugayah yang selalu memberikan saran dan motivasi kepada penulis.
15. Pak Maman, Pak Aryo dan Mas Agus yang telah mengizinkan dan membantu penulis dalam pengambilan sampel akar jambu Kristal di PT NTF. Pak Ketut, Pak Haji Soleh dan Pak Buhari yang telah membantu penulis selama pengambilan sampel akar di Desa Braja Harjosari, Lampung Timur dan Desa Sinar Betung, Tanggamus.
16. Semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung untuk penulis dalam melaksanakan dan menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan, Aamiin.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam menjalankan penelitian dan penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun penulis harapkan untuk perbaikan di masa yang akan datang.

Bandar Lampung,
Penulis,

Mei Sri Haryani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kerangka Pemikiran	4
1.5 Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Jambu Biji.....	7
2.2 Nematoda Puru Akar (<i>Meloidogyne</i> spp.).....	9
2.3 Pengendalian Hayati Nematoda Parasit Tumbuhan	12
2.4 Jamur <i>Paecilomyces lilacinus</i>	14
2.5 Identifikasi Jamur <i>P. lilacinum</i> secara Molekuler	17
III. BAHAN DAN METODE	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.3 Metode Penelitian.....	20
3.4 Pelaksanaan Penelitian	21
3.4.1 Eksplorasi Jamur <i>P. lilacinum</i>	21
3.4.1.1 Pembuatan media PSA.....	22
3.4.1.2 Isolasi jamur <i>P. lilacinum</i>	22
3.4.2 Uji Patogenisitas <i>P. lilacinum</i> terhadap massa telur <i>Meloidogyne</i> spp.	23
3.4.2.1 Pembuatan suspensi jamur <i>P. lilacinum</i>	23
3.4.2.2 Uji Patogenisitas	23
3.4.2.3 Variabel pengamatan dan Analisis data.....	24

3.4.3 Identifikasi Molekuler Jamur <i>P. lilacinum</i>	25
3.4.3.1 Ekstraksi DNA secara manual	25
3.4.3.2 Amplifikasi DNA dengan PCR.....	27
3.4.3.3 Elektroforesis dan visualisasi hasil PCR	27
3.4.3.4 Skuensing dan analisis hasilnya.....	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Hasil Penelitian.....	29
4.1.1 Eksplorasi jamur <i>P. lilacinum</i>	29
4.1.2 Patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i>	30
4.1.3 Identifikasi morfologi dan molekuler jamur <i>P. lilacinum</i>	32
4.2 Pembahasan	35
V. SIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Simpulan.....	39
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	45
Tabel 3-17	46-50
Gambar 10-16.....	61-63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tabel isolat <i>P. lilacinum</i> isolat sebelumnya.....	20
2. Persentase tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i>	31
3. Persentase tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 12 jsa.....	46
4. Analisis ragam tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 12 jsa.....	46
5. Hasil uji BNT tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 12 jsa.....	46
6. Persentase tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 24 jsa.....	47
7. Analisis ragam tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 24 jsa.....	47
8. Hasil uji BNT tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 24 jsa.....	47
9. Persentase tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 36 jsa.....	48
10. Analisis ragam tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 36 jsa.....	48
11. Hasil uji BNT tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 36 jsa.....	48

12. Persentase tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 48 jsa.....	49
13. Analisis ragam tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 48 jsa.....	49
14. Hasil uji BNT tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 48 jsa.....	49
15. Persentase tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 60 jsa.....	50
16. Analisis ragam tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 60 jsa.....	50
17. Hasil uji BNT tingkat patogenisitas <i>P. lilacinum</i> pada massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. secara <i>in-vitro</i> pengamatan 60 jsa.	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Meloidogyne</i> spp. betina dan jantan	10
2. Jamur parasit telur NPA <i>P. lilacinum</i>	15
3. Posisi massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. dan <i>P. lilacinum</i> pada cawan petri	24
4. Pelet hasil ekstraksi DNA	26
5. Massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. yang terinfeksi oleh <i>P. lilacinum</i> pada akar jambu kristal	29
6. Isolat yang telah diperoleh	30
7. Koloni dan bentuk mikroskopis <i>P. lilacinum</i> dari setiap isolat	32
8. Visualisasi hasil elektroforesis lima isolat jamur <i>P. lilacinum</i>	33
9. Pohon filogenik yang dibuat dengan menggunakan program MEGA 6	34
10. Telur dan larva instar 2 <i>Meloidogyne</i> spp. yang terinfeksi <i>P. lilacinum</i>	36
11. Massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. yang di aplikasikan dengan <i>P. lilacinum</i> pada pengamatan 12 jsa	61
12. Massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. yang di aplikasikan dengan <i>P. lilacinum</i> pada pengamatan 24 jsa	61
13. Massa telur <i>Meloidogyne</i> spp. yang di aplikasikan dengan <i>P. lilacinum</i> pada pengamatan 36 jsa	62

14. Massa telur *Meloidogyne* spp. yang di aplikasikan dengan *P. lilacinum* pada pengamatan 48 jsa 62
15. Massa telur *Meloidogyne* spp. yang di aplikasikan dengan *P. lilacinum* pada pengamatan 60 jsa 63
16. Tanaman jambu Kristal yang terserang *Meloidogyne* spp. 63

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jambu biji (*Psidium guajava* L.) adalah tanaman buah yang berasal dari Amerika Tengah. Tanaman ini sudah banyak dibudidayakan di negara-negara tropis di dunia, termasuk Indonesia (Hadiati & Apriyanti, 2015). Jambu biji menjadi salah satu produk unggulan yang telah dipasarkan di dalam negeri maupun sebagai komoditas ekspor, sehingga jambu biji memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi (Parimin, 2005).

Jambu biji memiliki karagaman yang tinggi, berdasarkan warna daging buahnya dibedakan menjadi jambu biji dengan daging buah putih dan merah (Hadiati & Apriyanti, 2015). Varietas jambu biji dengan daging buah putih yang sudah dilepas yaitu jambu Mutiara, Deli dan Kristal. Jambu biji Kristal merupakan hasil mutasi dari jambu Bangkok dan masuk ke Indonesia melalui misi teknik Taiwan dalam bidang pertanian (Duryatama *et al.*, 2014).

Menurut Kementerian Pertanian (2016), produksi jambu biji di Indonesia mengalami penurunan pada 2011-2013, dengan angka produksi pertahun berturut-

turut yaitu sebesar 211.836 ton, 208.151 ton dan 181.632 ton. PT Nusantara Tropical Farm (NTF) sebagai salah satu perusahaan agroindustri di Lampung mampu memproduksi jambu biji sebanyak 10 ton/ha/thn (Widodo & Zulefriyenni, 2010). Namun hasil produksi ini masih jauh jika dibandingkan dengan potensi produksi maksimumnya yang dapat mencapai 30 ton/ha/thn.

Penurunan dan rendahnya produksi jambu biji dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satu faktor tersebut adalah serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), seperti jamur, bakteri, dan nematoda. Nematoda parasit tumbuhan yang menyerang pertanaman jambu biji adalah *Meloidogyne* spp. atau dikenal sebagai Nematoda Puru Akar (NPA) karena serangannya menyebabkan terbentuknya puru pada akar (Dropkin, 1991).

Pengendalian nematoda puru akar di lapangan masih cukup sulit, karena biaya pengendalian yang cukup mahal, kisaran inang yang luas dan sifat nematoda yang umumnya persisten di dalam tanah. Strategi pengendalian yang disarankan adalah pengendalian yang berpedoman pada sistem Pengendalian Hama Terpadu (PHT) dan mengutamakan komponen pengendalian yang non kimiawi. Dalam upaya pelestarian lingkungan, pengendalian nematoda parasit tumbuhan pada tanaman buah-buahan perlu diarahkan pada pengendalian secara hayati (Rachmawati & Korlina, 2013).

Pengendalian dengan menggunakan agensia hayati memiliki kelebihan dibandingkan dengan pengendalian kimia, yaitu bersifat selektif, relatif murah,

tidak menimbulkan resistensi terhadap OPT sasaran, tersedia di alam, dan dapat bertahan lama dan berkelanjutan (Sunarno, 2012). Agensia hayati yang efektif untuk mengendalikan *Meloidogyne* spp. adalah jamur *Purpureocillium lilacinum* (Syn. *Paecilomyces lilacinus*). Jamur ini berpotensi sebagai agensia hayati karena selain mematikan, jamur ini juga mampu mengkoloni bahan organik di dalam tanah dan berkembang di dalam rizosfer tanaman.

Pengendalian *Meloidogyne* spp. dengan menggunakan agensia hayati di Indonesia belum banyak diterapkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan tindakan seperti eksplorasi, pengembangan serta uji patogenisitas jamur *P. lilacinum*. Jamur ini diharapkan mampu digunakan sebagai agensia pengendalian alternatif untuk mengatasi masalah *Meloidogyne* spp. secara aman dan berkelanjutan. Selain itu, perlu dilakukan identifikasi molekuler untuk mengetahui secara pasti mengenai identitas setiap isolat *P. lilacinum* yang akan digunakan dalam penelitian ini.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini, sebagai berikut:

- 1) Apakah *P. lilacinum* ditemukan pada sentra pertanaman jambu kristal di Lampung?
- 2) Apakah setiap isolat jamur *P. lilacinum* yang ditemukan bersifat patogenik terhadap NPA?

- 3) Bagaimana identitas molekuler beberapa isolat jamur *P. lilacinum* yang ditemukan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari dilakukannya penelitian ini, yaitu:

- 1) Menemukan isolat jamur *P. lilacinum* lokal pada beberapa sentra pertanaman jambu kristal di Lampung.
- 2) Mengetahui patogenisitas isolat jamur *P. lilacinum* secara *in-vitro* terhadap massa telur *Meloidogyne* spp.
- 3) Mengetahui identitas jamur *P. lilacinum* secara molekuler.

1.4 Kerangka Pemikiran

Meloidogyne spp. termasuk fitonematoda terpenting di dunia yang menyerang berbagai jenis tanaman di daerah tropik (Dropkin, 1991). Nematoda ini dapat ditemukan di beberapa negara, seperti Jepang, Peru, Filipina dan India.

Meloidogyne spp. mampu menyerang tanaman sayuran, buah-buahan dan tanaman tahunan seperti wortel (Supramana & Suastika, 2012), kentang (Jayanti, 2011), jambu biji dan kopi (Wiryadiputra, 2002).

Meloidogyne spp. menyebar dan menginfeksi perakaran tanaman di dalam tanah. Nematoda ini berkembang dan menyelesaikan siklus hidupnya di dalam jaringan tanaman. Hasil dari infeksi tersebut menyebabkan terbentuknya puru pada bagian

akar tanaman. Puru akar memiliki ukuran yang bervariasi dari sangat kecil hingga besar, hal ini tergantung pada jenis tanaman, nematoda yang menyerang dan populasinya di dalam puru tersebut. Menurut Saputri (2017), adanya populasi dari nematoda ini akan diikuti dengan adanya populasi dari agensia hayati yang pola sebarannya mengikuti pola sebaran inangnya.

Agensia hayati yang dapat digunakan untuk mengendalikan *Meloidogyne* spp. adalah *P. lilacinum*. Jamur ini mampu mengkoloni bahan organik yang ada dalam tanah. *P. lilacinum* mampu menghasilkan enzim dan metabolit sekunder seperti protease serin, kitinase, kolagenase (Huang *et al.*, 2004) dan paecilotoxin (Prasad *et al.*, 2015). Enzim dan senyawa metabolit sekunder tersebut mampu menginfeksi telur dan menyebabkan kematian pada larva nematoda.

P. lilacinum strain 251 (PL251) menunjukkan efek yang signifikan dalam pengurangan populasi J2 dalam tanah dan akar serta mengurangi puru akar sebesar 75% dan 51% (Kalele *et al.*, 2010). Penerapan bioformulasi *P. lilacinum* satu atau dua kali pada tanaman tomat terbukti efektif dalam mengurangi puru pada akar dan telur dari nematoda (Udo *et al.*, 2014). Hal ini membuktikan bahwa *P. lilacinum* efektif mengendalikan *Meloidogyne* spp. dengan baik.

Jamur parasit nematoda yang melimpah merupakan salah satu hal penting dalam mempertimbangkan pengendalian hayati. Identifikasi terhadap jamur parasit nematoda, selain dengan pengamatan secara morfologi juga dapat dilakukan dengan menggunakan marka molekuler. Teknik *Polymerase Chain Reaction*

(PCR) seperti sekuen *Internal Transcribe Spacer* (ITS) banyak digunakan dalam mempelajari keragaman genetik suatu populasi. Adanya perbedaan DNA menunjukkan keragaman genetik dan struktur populasi jamur yang berbeda (Aquino *et al.*, 2003 dalam Priyatno *et al.*, 2016).

1.5 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran tersebut maka dapat diajukan beberapa hipotesis sebagai berikut:

- 1) Terdapat jamur *P. lilacinum* pada tanaman jambu biji di Lampung.
- 2) Jamur *P. lilacinum* mampu bersifat patogenik terhadap massa telur *Meloidogyne* spp. secara *in-vitro*.
- 3) Jamur *P. lilacinum* dapat diidentifikasi secara molekuler.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jambu Biji

Nama ilmiah jambu biji adalah *Psidium guajava* L. *Psidium* berasal dari Bahasa Yunani, yaitu *Psidium* yang berarti delima. Sementara *guajava* berasal dari nama yang diberikan oleh orang Spanyol (Parimin, 2005). Klasifikasi tanaman jambu biji menurut USDA (2018), sebagai berikut.

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Rosidae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : *Psidium*
Spesies : *Psidium guajava* L.

Jambu biji merupakan tanaman perdu berbatang banyak dengan tinggi 3-10 m dan umur tanaman dapat mencapai 30-40 tahun. Tanaman ini mampu berbuah pada saat berumur sekitar 2-3 tahun. Batang jambu biji memiliki ciri khusus, yaitu berkayu keras, tidak mudah patah, kuat dan padat. Kulit kayu tanaman jambu biji halus dan mudah terkelupas. Daun jambu biji berbentuk bulat panjang, bulat langsing, atau bulat oval dengan ujung tumpul dan lancip serta panjang helai daun

sekitar 5-15 cm, lebar 3-6 cm dan panjang tangkai daun 3-7 mm. Tanaman jambu biji dapat berbunga dan berbuah sepanjang tahun. Bunga keluar di ketiak daun dengan jumlah bunga pertangkai 1-3 bunga. Buah jambu biji berbentuk bulat atau bulat lonjong dengan warna hijau saat muda dan berubah warna menjadi kuning muda mengkilap setelah matang (Parimin, 2005).

Tanaman jambu biji mampu tumbuh secara optimal di daerah tropis. Tanaman ini tumbuh dengan baik pada suhu berkisar antara 30-35°C, kelembapan udara yang tinggi sekitar 70-80%, dengan curah hujan 2.000 mm/thn dan penyinaran matahari langsung sepanjang hari. Jambu biji cocok ditanam di dataran rendah sampai dataran tinggi dengan ketinggian 0-1.000 mdpl. Ketinggian tempat yang ideal untuk pertumbuhan dan produksi jambu biji secara optimal yaitu 3-500 mdpl (Cahyono, 2010).

Berdasarkan kandungan biji dalam buahnya, jambu biji dibedakan menjadi dua kelompok yaitu jambu biji berbiji dan jambu biji tidak berbiji. Salah satu varietas dari jambu biji berbiji adalah jambu kristal yang memiliki daging buah berwarna putih, berbiji sedikit, rasanya manis dan buahnya berukuran besar. Besar buah dapat mencapai 600-700 gram (Cahyono, 2010). Jambu kristal merupakan salah satu jenis varietas jambu biji daging putih yang sudah dilepas dan banyak dibudidayakan (Hadiati & Apriyanti, 2015).

2.2 Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* spp.)

Meloidogyne merupakan genus fitonematoda yang terpenting di dunia. Nama nematoda puru akar (*Root Knot Nematodes*) menyebabkan terbentuknya puru pada akar yang diserang oleh nematoda tersebut (Dropkin, 1991). Nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.), termasuk dalam Filum Nematoda, Kelas Secernentea, Ordo Tylenchida, Superfamili Tylenchoidea dan Famili Meloidogynidae (Wouts, 1973 dalam Taylor & Sasser, 1978).

Meloidogyne menyerang lebih dari 3000 spesies tanaman di seluruh dunia, termasuk sayuran, kacang-kacangan, biji-bijian dan rerumputan, semak dan pohon buah-buahan, serta herbasius dan tanaman hias berkayu. Terkadang ditemukan dua atau lebih spesies *Meloidogyne* pada inang yang sama (Shurtleff & Averre III, 2000). Tanaman inang *Meloidogyne* spp. meliputi sayur-sayuran, pohon buah dan gulma. *Meloidogyne* spp. menjadi salah satu OPT penting terutama untuk pertanian daerah tropik (Dropkin, 1991).

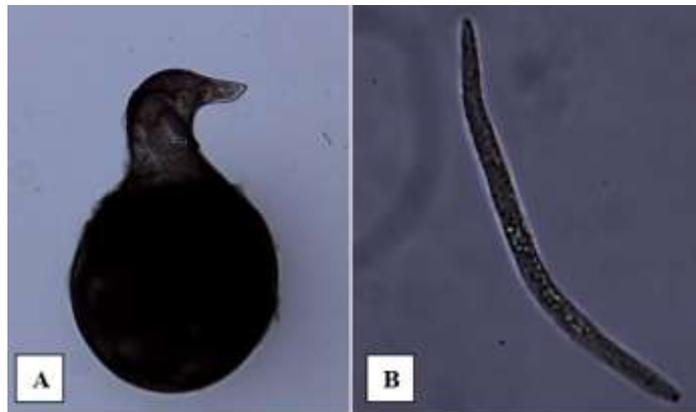
Meloidogyne spp. merupakan nematoda yang bersifat seksual dimorfik.

Meloidogyne spp. betina menambatkan diri pada jaringan akar inangnya, tubuhnya menggelembung dengan diameter 0,5-0,7 mm dan lehernya yang silindris.

Vulvanya terletak pada bagian subterminal dekat anus dan kutikulanya berwarna keputihan, tipis dan beranulasi. Nematoda ini memiliki stilet yang pendek dengan panjang 12-15 μ m. Kerangka kepala yang lembek dan lubang ekskresi terletak agak anterior sampai pada lempeng kelep median bulbus serta sering terdapat di dekat basal stilet. Nematoda ini memiliki dua saluran genital yang menggulung di

dalam tubuhnya dan telur-telurnya diletakkan di luar tubuh *Meloidogyne* di dalam massa gelatinus (Luc *et al.*, 1995). Pada kutikula betina terdapat pola yang jelas pada striasi yang ada di sekitar vulva dan anus yang disebut pola parenial yang dapat digunakan untuk identifikasi jenis (Dropkin, 1991).

Nematoda jantan berbentuk memanjang dan bergerak lambat di dalam tanah. Panjang nematoda jantan bervariasi, maksimum 2 mm, kepalanya tidak berlekuk, panjang stilet hampir dua kali panjang stilet betina. Nematoda jantan memiliki ekor pendek dan membulat, bagian posterior badannya berputar 180°, mempunyai satu atau dua testis dan pada beberapa jenis terdapat jantan yang interseks (Dropkin, 1991).



Gambar 1. *Meloidogyne* spp. betina (A) dan jantan (B) (Yulianti, 2017).

Larva instar kedua (J2) memiliki bentuk silindris, bentuknya seperti cacing dengan panjang 450 μm , memiliki stilet dan kerangka kepalanya mengalami sklerotinisasi yang lembek. Ekor nematoda instar kedua (J2) berbentuk kerucut,

terdapat bagian yang berwarna hialin dimulai dari dekat ujung ekor (Luc *et al.*, 1995).

Infeksi oleh *Meloidogyne* mengubah seluruh fisiologi tanaman yang terinfeksi, jaringan korteks dan perisikel yang dekat dengan jaringan infeksi membesar dan membelah, membentuk puru akar. Juvenil instar kedua (J2) muncul dari telur di permukaan puru dan umumnya menginvasi akar di dekatnya. Setiap juvenil menstimulasi pembesaran puru, yang pada inang tertentu dapat tumbuh hingga 2,5 cm saat terjadi infeksi berat. Puru yang terbentuk terjadi secara tunggal atau menyatu untuk membentuk puru akar yang biasanya mengeras (puru besar). Juvenil infeksi juga dapat menembus antar sel melalui endodermis dan mencapai stele. Sekitar tujuh sel di sekitar kepala nematoda membesar dan menjadi sel raksasa dengan banyak inti yang berdinding tebal dan menyediakan sumber nutrisi bagi seluruh perkembangan nematoda. Sel-sel raksasa hancur ketika nematoda mati (Shurtleff & Averre III, 2000).

Gejala umum yang disebabkan oleh infeksi *Meloidogyne* spp. adalah menguningnya daun pada tajuk, tanaman menjadi kerdil, pertumbuhan terhambat, layu pada siang hari meskipun air tersedia bagi tanaman. Gejala terjadi akibat terhambatnya saluran pengangkut air dan nutrisi. Selain gejala tersebut, infeksi nematoda juga menyebabkan gejala di bawah permukaan tanah, yaitu pada akar tanaman. Tanaman yang terinfeksi oleh *Meloidogyne* spp. menunjukkan gejala hipertropi dan hiperplasia, yaitu membengkaknya jaringan akar tanaman. Jaringan akar tanaman yang bengkak tersebut banyak dikenal sebagai puru. Puru terbentuk

karena terjadi pembelahan sel dan pembesaran sel secara berlebihan pada jaringan perisikel tanaman (Agrios, 2005).

2.3 Pengendalian Hayati Nematoda Parasit Tumbuhan

Nematoda parasit tumbuhan menghabiskan sebagian hidupnya di tanah, yang merupakan salah satu komponen paling kompleks di lingkungan. Aktifitas nematoda parasit tumbuhan tidak hanya dipengaruhi oleh faktor fisik tanah seperti suhu, kelembapan dan aerasi tetapi juga dipengaruhi oleh beberapa organisme lain, termasuk jamur, alga, protozoa, serangga, tungau dan hewan tanah lainnya. Semua organisme tersebut bersaing untuk mendapatkan ruang dan oksigen; serangga dan patogen tumbuhan bersaing dengan nematoda parasit tumbuhan untuk mendapatkan sumber makanan, beberapa bakteri dan jamur menghasilkan produk metabolisme yang dapat mengganggu perilaku nematoda. Tindakan dengan menggunakan organisme dalam mempertahankan kepadatan populasi nematoda agar tetap pada tingkat rata-rata yang lebih rendah disebut pengendalian hayati (Stirling, 1991).

Pengendalian hayati nematoda parasit tumbuhan merupakan cara untuk mengurangi populasi nematoda dengan menggunakan organisme hidup, selain tanaman inang tahan nematoda yang terjadi secara alami atau dengan manipulasi lingkungan dan pengendalian secara antagonis. Pengendalian hayati merupakan hasil dari interaksi mikroorganisme dan mikrofauna tanah melalui beberapa mekanisme seperti parasitisme, predasi, persaingan dan antibiotik. Konsep pengendalian hayati ini hampir sama dengan pengendalian hayati dalam bidang

entomologi dan merupakan konsep yang secara umum diterima masyarakat luas. Organisme bermanfaat yang terlibat dalam pengendalian hayati nematoda sangat bervariasi. Istilah antagonis digunakan untuk menunjukkan organisme yang bersaing dengan organisme lain yang dapat mengurangi ketahanan organisme tersebut untuk bertahan hidup dan bereproduksi (Stirling, 1991).

Agen antagonis nematoda bekerja dengan cara membunuh nematoda, tetapi juga menyerang dengan beberapa cara seperti mengganggu proses penetasan telur, pergerakan nematoda dan penemuan inang. Terdapat tiga jenis organisme antagonis utama bagi nematoda, dan setiap kelompok antagonis memiliki mode serangan yang berbeda-beda. Predator adalah organisme yang aktif mencari nematoda untuk dikonsumsi, predator memiliki beberapa sifat seperti mengonsumsi berbagai spesies mangsa (polifag), memiliki kisaran mangsa yang sempit (oligofag) dan monofag. Organisme oligofag dan monofag cenderung berpotensi sebagai agen pengendali hayati. Parasit merupakan organisme yang tumbuh serta mendapatkan nutrisi dari dalam tubuh inang, serta dapat menyebabkan penyakit dan dikenal sebagai patogen. Organisme ini umumnya menyelesaikan satu siklus hidup dan meningkatkan biomasanya dalam satu nematoda. Kelompok ketiga merupakan kumpulan organisme yang berbeda-beda dan mampu mempengaruhi kelimpahan nematoda melalui mekanisme selain parasitisme dan predasi (Stirling, 1991).

2.4 Jamur *Paecilomyces lilacinus*

Paecilomyces adalah jamur yang bersifat kosmopolitan yang hidup di tanah, sisa tanaman yang telah membusuk dan produk makanan. *Paecilomyces* bersifat antagonistik terhadap jamur lain. Klasifikasi jamur *Paecilomyces lilacinus* menurut Barnett & Hunter (1998) sebagai berikut.

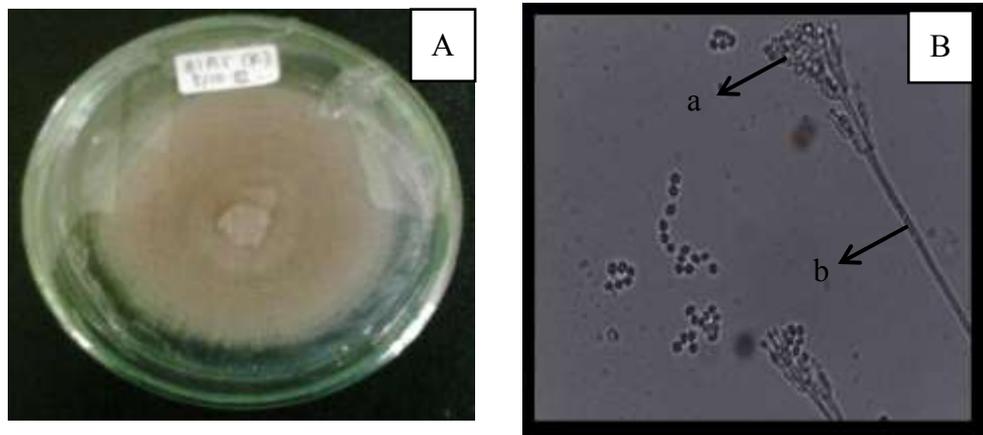
Kingdom : Fungi
Divisi : Deuteromycota
Kelas : Hyphomycetes
Ordo : Moniliales
Famili : Moniliaceae
Genus : *Paecilomyces*
Spesies : *Paecilomyces lilacinus*.

P. lilacinus termasuk dalam kelompok jamur imperfecti atau Deutromycetes. *P. lilacinus* merupakan jamur berfilamen, memiliki askomata, askus dan askospora yang dihasilkan oleh spesies telemorfik. *P. lilacinus* umumnya bersifat saprobik, hidup di berbagai habitat termasuk yang dibudidayakan ataupun tidak seperti tanah, hutan, rumput, gurun dan endapan lumpur. Spesies dapat hidup pada rentang suhu yang luas. Beberapa isolat *P. lilacinus* dapat hidup pada rentang suhu 8-38°C, dengan suhu tumbuh optimal 26-30°C. *P. lilacinus* juga memiliki toleransi rentang pH yang luas dan dapat tumbuh pada berbagai substrat. *P. lilacinus* telah digunakan sebagai agen biokontrol untuk mengendalikan nematoda puru akar. *P. lilacinus* dapat menjadi entomopatogenik, mikoparasitik, saprofitik dan sebagai nematofagus (Ahmad, 2013).

Pengamatan secara makroskopis menunjukkan bahwa koloni *P. lilacinus* tumbuh cepat pada agar maltosa dengan diameter 5-7 cm dalam waktu 14 hari pada suhu

25°C. Koloninya membentuk miselia udara (kapas) dengan pinggiran berbentuk *floocose*. *P. lilacinus* saat awal pertumbuhan berwarna putih, tetapi ketika bersporulasi berubah warna menjadi kuning, kuning kehijauan, kuning kecoklatan, hingga violet. Secara mikroskopis *P. lilacinus* memiliki miselium yang tebal dan membentuk konidiofor, terdapat fialid di ujung spora yang terbentuk dalam rantai panjang. Spora akan berkecambah apabila kelembapan dan nutrisi tersedia. Jamur ini memiliki hifa vegetatif berdinding halus, hialin dengan lebar 2,5-4,0 μm .

Konidiofor muncul dari hifa submerge pada panjang 400-600 μm atau dari setengah panjang hifa di udara. Fialid membengkak pada bagian basal dan meruncing ke leher. Konidia ada yang uniseluler dan berantai, pada rantai yang berbeda berbentuk fusiform elipsoid, oval dan berdinding halus. Klamidospora tidak nampak jelas (Ahmad, 2013).



Gambar 2. Jamur parasit telur NPA *P. lilacinus* yang ditemukan di perkebunan jambu PT NTF; koloni jamur (A) dan bentuk konidia (a) dan hifa (b) (Swibawa *et al.*, 2017)

P. lilacinus menghasilkan appresoria (alat mengisap nutrisi) sederhana pada cangkang telur nematoda juga setelah beberapa hifa tumbuh pada permukaan telur

tersebut setelah jaringan hifa terbentuk pada telur. Kehadiran appresoria mengindikasikan bahwa telur telah atau sedang terinfeksi. Pada kasus yang lain, appressorium muncul ketika pembesaran ujung hifa menempel erat pada cangkang telur. Adhesi antara appressorium dan permukaan telur harus cukup kuat untuk menahan gaya yang berlawanan yang dihasilkan dari perluasan penetrasi oleh ujung hifa (Ahmad, 2013).

P. lilacinus dan beberapa jamur entomopatogen mampu menghasilkan aktivitas lipase dan protease sehingga jamur-jamur tersebut dapat dijadikan sebagai kandidat untuk agen pengendalian serangga (Suciatmih *et al.*, 2015). Enzim protease yang di produksi oleh *P. lilacinus* juga mampu mempengaruhi perkembangan telur nematoda (Bonants *et al.*, 1995 dalam Swibawa *et al.*, 2017). Hasil eksplorasi jamur parasit telur NPA pada pertanaman jambu biji di PT NTF Lampung ditemukan *P. lilacinus* dengan tingkat parasitasi berkisar 16-26% dan sifat sebarannya acak (Swibawa *et al.*, 2017).

P. lilacinus telah dikenal luas sebagai agensia hayati yang efektif sebagai pengendali nematoda parasit tumbuhan. Menurut Luangsa-ard *et al.* (2011), jamur *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson telah berubah nama menjadi *Purpureocillium lilacinum*. Perubahan nama *Paecilomyces lilacinus* menjadi *Purpureocillium lilacinum* karena setelah dilakukan identifikasi secara molekuler dan dibandingkan dengan beberapa strain yang ditemukan. Hasilnya menunjukkan bahwa *P. lilacinus* tidak masuk ke dalam kelompok *Paecilomyces*,

melainkan masuk dalam kelompok *Purpureocillium* sehingga dibuat nama kombinasi menjadi *Purpureocillium lilacinum*.

2.5 Identifikasi Jamur *P. lilacinum* secara molekuler

Identifikasi secara molekuler dilakukan dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan teknik ilmiah dalam biologi molekuler untuk memperkuat satu atau beberapa salinan dari sepotong DNA yang mulai dikembangkan oleh orang Amerika serta ahli biokimia, Kary Mullis pada tahun 1984 (Joshi & Deshpande, 2010).

Prinsip dasar PCR sangat sederhana, yaitu satu molekul DNA digunakan untuk menghasilkan dua salinan, kemudian empat, kemudian delapan dan seterusnya. Penggandaan yang terjadi secara terus menerus dikerjakan oleh protein spesifik yang dikenal dengan polimerase, enzim yang mampu mengikat bersama DNA untuk membentuk untaian molekul yang panjang. Untuk melakukannya, polimerase membutuhkan pasokan dari gugus DNA, yaitu nukleotida yang terdiri dari 4 basa Adenin (A), Timin (T), Sitosin (C) dan guanin (G). Selain itu, dibutuhkan juga fragmen kecil DNA, yang dikenal sebagai primer yang akan mengikat gugus molekul DNA sebagai penyedia cetakan pembentukan untaian DNA baru (Joshi & Deshpande, 2010).

Terdapat tiga langkah utama yang harus dilakukan dalam teknik PCR yaitu denaturasi, *annealing* (penempelan primer) dan *extension* (pemanjangan primer). Denaturasi DNA merupakan proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA

untai tunggal. Ini biasanya berlangsung sekitar 3 menit, waktu denaturasi yang terlalu lama dapat mengurangi aktifitas enzim *Taq polymerase*. Aktifitas enzim tersebut mempunyai waktu paruh lebih dari 2 jam, 40 menit, 5 menit masing-masing pada suhu 92,5 °C; 95 °C dan 97,5°C. Pada tahap annealing, biasa digunakan dalam PCR adalah 30 – 45 detik. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Kisaran temperatur penempelan yang digunakan adalah antara 36°C sampai dengan 72°C, namun suhu yang biasa dilakukan itu adalah antara 50 – 60°C. Selama tahap extension, *Taq polymerase* memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72°C diperkirakan 35 – 100 nukleotida/detik, bergantung pada buffer, pH, konsentrasi garam dan molekul DNA target. Biasanya di akhir siklus PCR waktu yang digunakan untuk tahap ini diperpanjang sampai 5 menit sehingga seluruh produk PCR diharapkan terbentuk DNA untai ganda (Yusuf, 2010).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Juni hingga September 2018. Massa telur *Meloidogyne* spp. diambil dari akar terinfeksi *Meloidogyne* spp. pada lahan pertanaman jambu kristal milik PT Nusantara Tropical Farm (PT NTF) Lampung Timur, PT GGF Lampung Tengah dan pertanaman jambu kristal di Lampung Timur dan Tanggamus. Perbanyakan, identifikasi dan uji patogenesis jamur *P. lilacinum* secara *in-vitro* dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan selama penelitian ini yaitu mikroskop binokuler, mikroskop stereo, timbangan, cawan petri, Bunsen, Erlenmeyer, *aluminium foil*, *Laminar Air Flow*, *Autoclave*, plastik tahan panas, nampan, karet gelang, bor gabus, jarum ose, *drigalsky*, plastik wrap, kertas label, alat tulis, penurus manual, botol steril, mikropipet 0 – 1000 µl, tip 0–1000 µl, *test tube*, mikrosentrifus, UPS, mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR), alat elektroforesis, *Digi-Doc-Imaging System*, tisu dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar tanaman yang terserang *Meloidogyne* spp., massa telur *Meloidogyne* spp., isolat jamur *P.lilacinum* (Tabel 1), media *Potato Sukrose Agar* (PSA), kentang, alkohol 70%, aquades, asam laktat, DNAzol[®], ethidium bromide (EtBr), MyTaq[™] *Red Mix*, DNA primer (ITS1 dan ITS4), *marker DNA leader*, *loading dye*, *buffer* TE dan agarose.

Tabel 1. Isolat *P. lilacinus* yang digunakan

Nama Isolat	Asal Isolat
BioP	PT GGP Lampung Tengah (PT GGF)
B4120X*	PT NTF Lampung Timur (Saputri, 2017)
B3010*	PT NTF Lampung Timur (Saputri, 2017)
B412G	PT NTF Lampung Timur (Eksplorasi)
B01TG	Kebun Petani Tanggamus (Eksplorasi)

Keterangan: *sebelumnya dilaporkan dengan nama isolat PL-41002X dan PL-30101 (Saputri, 2017).

Isolat BioP merupakan isolat yang diberikan oleh pihak GGF kepada kepala Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2017 untuk diteliti lebih lanjut mengenai tingkat patogenisitasnya terhadap nematoda parasit tumbuhan. Isolat B4120X dan B3010 merupakan isolat hasil eksplorasi dari penelitian sebelumnya dan belum diuji tingkat patogenisitasnya (Saputri, 2017).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari eksplorasi, uji patogenisitas dan identifikasi molekuler dari jamur *P.lilacinum*. Eksplorasi jamur *P.lilacinum* dilakukan dengan dua cara, yaitu dengan isolasi massa telur *Meloidogyne* spp. yang terinfeksi *P.lilacinum* secara langsung dan isolasi dengan menggunakan metode inkubasi *keratin baiting*

technique. Setelah isolasi berhasil dan ditemukan koloni jamur *P.lilacinum* maka dilakukan reisolasi untuk mendapatkan isolat murni.

Percobaan uji patogenisitas isolat jamur *P.lilacinum* dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan enam (6) perlakuan yaitu, kontrol dan tiga (3) isolat jamur *P. lilacinus* yang berasal dari koleksi sebelumnya (Bio P, B4120X dan B3010) dan dua (2) isolat hasil eksplorasi (B4120G dan B01TG), masing-masing perlakuan diulang lima kali. Sebagai satuan percobaan adalah massa telur *Meloidogyne* spp. yang diaplikasi suspensi spora jamur *P.lilacinum* sebanyak 1 ml dengan kerapatan 10^8 konidia/ml pada setiap cawan.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Eksplorasi Jamur *P.lilacinum*

Eksplorasi jamur *P. lilacinus* dilakukan dengan mengambil akar terinfeksi dan tanah dari kebun jambu kristal yang terdapat gejala serangan *Meloidogyne* spp., berupa akar berpuru dan dikumpulkan dari beberapa tanaman yang dipilih secara acak. Akar kemudian dibawa ke laboratorium untuk dicuci pada air mengalir untuk menghilangkan tanah pada permukaan akar dan dikeringanginkan. Akar yang telah dicuci, kemudian diambil sebanyak 5 g dan dipotong kecil-kecil \pm 5 cm lalu diamati menggunakan mikroskop binokuler pada perbesaran 60x. Ketika ditemukan telur yang terdapat hifa jamur *P.lilacinum*, segera diisolasikan pada media PSA steril.

3.4.1.1 Pembuatan Media *Potato Sukrose Agar* (PSA)

Pembuatan media PSA dilakukan dengan menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan seperti kentang, agar dan gula. Kentang yang telah dikupas dan ditimbang sebanyak 200 g, gula pasir 20 g, agar batang 20 g, kemudian dilarutkan dalam 1 L aquades dan masak hingga mendidih. Setelah itu, dimasukkan ke disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media PSA ditambahi larutan asam laktat sebanyak 1,4 ml untuk mencegah media terkontaminasi oleh bakteri, selanjutnya dituang secukupnya ke dalam cawan petri.

3.4.1.2 Isolasi Jamur *P.lilacinum*

Isolasi jamur *P.lilacinum* dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu isolasi langsung dan isolasi dengan inkubasi *keratin-baiting technique*. Isolasi langsung yaitu jamur *P.lilacinum* langsung diisolasi dari massa telur. Sampel akar dibersihkan menggunakan air yang mengalir untuk menghilangkan tanah yang menempel. Selanjutnya, sampel akar diamati menggunakan mikroskop binokuler untuk menemukan massa telur nematoda yang terinfeksi jamur. Jamur yang menginfeksi massa telur diambil menggunakan jarum lalu diletakkan pada media PSA di dalam *Laminar Air Flow*.

Isolasi dengan metode inkubasi *keratin-baiting technique*. Metode ini merupakan salah satu cara memancing jamur *P.lilacinum* yang terakumulasi di tanah dengan menggunakan rambut domba steril (Simpanya & Baxter, 1996). Isolasi ini dilakukan dengan cara mencampurkan 30 g tanah dengan rambut domba steril

dalam cawan plastik, kemudian diinkubasi dalam nampan dengan kondisi lembap. Koloni jamur berwarna putih akan tumbuh pada rambut domba selama 1-2 minggu,. Helaian rambut domba yang ditumbuhi jamur, diambil dan disuspensikan menggunakan akuades steril dengan pengenceran berseri 10^{-3} pada tabung reaksi. Suspensi tersebut diambil sebanyak 200 μ l menggunakan mikropipet pada masing-masing tabung reaksi dan disebar pada media PSA-*rosebengal* agar koloni jamur yang tumbuh terbentuk koloni tunggal. Setelah jamur tumbuh, diamati warna koloni jamur yang tumbuh. Jika terdapat koloni yang diduga *P.lilacinum* dengan ciri-ciri berwarna kecoklatan, kemudian diisolasikan pada media PSA untuk mendapat isolat murni.

3.4.2 Uji Patogenisitas *P. lilacinum* terhadap Massa Telur *Meloidogyne* spp. secara *in-vitro*

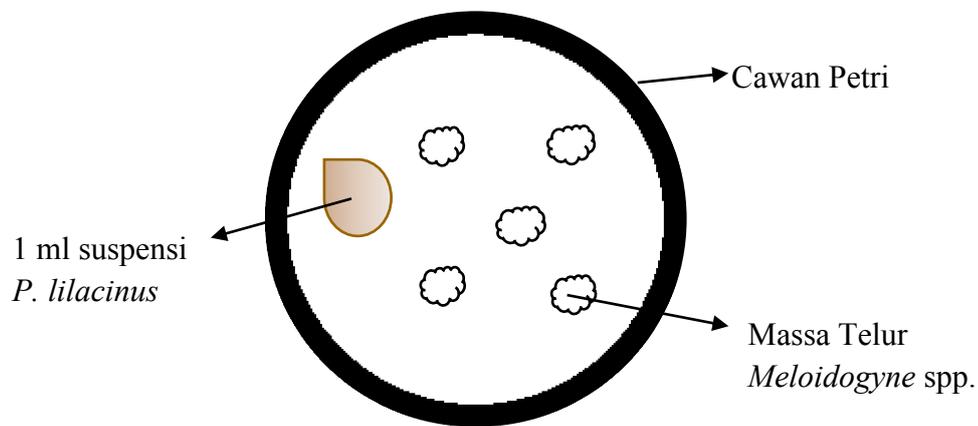
3.4.2.1 Pembuatan Suspensi Jamur

Pembuatan suspensi jamur *P. lilacinum* dilakukan dengan memanen spora *P.lilacinum*. Pemanenan dilakukan dengan cara, sebanyak 10 ml air steril dituang ke dalam cawan petri berisi isolat jamur *P.lilacinum* berumur 2-3 minggu. Spora *P.lilacinum* dipanen dengan menggunakan *drigalsky*, setelah semua spora dipanen kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dan dihomogenkan dengan menggunakan homogenizer.

3.4.2.2 Uji Patogenisitas

Percobaan secara *in vitro* ini dilakukan dengan cara sebanyak lima (5) massa telur *Meloidogyne* spp. yang dikumpulkan dari akar tanaman berpuru diletakkan pada

cawan petri kaca steril berdiameter 7 cm. Massa telur *Meloidogyne* spp. ditetesi dengan suspensi spora jamur *P. lilacinum* sebanyak 1 ml pada setiap cawan petri dan diinkubasi selama 12 jam (Gambar 3).



Gambar 3. Posisi massa telur *Meloidogyne* spp. dan *P. lilacinum* pada cawan petri

3.4.2.3 Variabel Pengamatan dan Analisis Data

Pada percobaan secara *in-vitro*, variabel yang diamati yaitu saat telur mulai terlihat ditumbuhi oleh hifa jamur *P. lilacinum*. Pengamatan dilakukan pada 12, 24, 36, 48 dan 60 jam setelah aplikasi jamur *P. lilacinum* pada massa telur. Pengamatan dilakukan terhadap patogenesis jamur pada masing-masing sampel. Patogenesis merupakan kualitas atau keadaan patogen yang berpotensi untuk menimbulkan penyakit pada suatu organisme. Patogenesis juga termasuk dalam istilah kualitatif dalam sebuah konsep “all-or-none” (Shapiro-Ilan *et al.*, 2005).

Pengamatan dilakukan dengan mengambil 1 massa telur yang telah diaplikasi dengan suspensi jamur *P. lilacinum* dan meletakkannya pada gelas preparat dan ditutup dengan menggunakan *cover glass*, kemudian mengamatinya di bawah

mikroskop majemuk pada perbesaran 40x, 100x dan 400x. Jumlah seluruh telur dan jumlah telur yang terinfeksi dihitung dengan menggunakan *hand counter*. Tingkat patogenisitas jamur *P. lilacinus*, dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Tingkat Patogenisitas} : \frac{\text{Jumlah telur terinfeksi}}{\text{Jumlah seluruh telur}} \times 100\%$$

Data yang diperoleh kemudian dilakukan uji Analisis Ragam (ANARA). Jika berbeda nyata, selanjutnya dianalisis dengan uji menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.4.3 Identifikasi Molekuler Jamur *P. lilacinus*

3.4.3.1 Ekstraksi DNA secara manual

Isolat jamur *P. lilacinus* yang berumur 2-3 minggu dipanen dengan menambahkan 10 ml akuades steril. Suspensi kemudian dimasukkan ke dalam tabung sampel. Tabung sampel kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Setelah disentrifugasi, 1 ml alkohol dingin 70% ditambahkan dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 14.000 rpm. Larutan supernatan selanjutnya dibuang hingga menyisakan pelet di bagian dasar tabung. Pelet kemudian ditambahkan 1 ml *buffer* lalu dipindahkan ke dalam mortar dan diinkubasi di dalam *freezer* selama 1 hari. Hasil inkubasi digerus selama 15 menit dan hasil gerusan sebanyak 500 µl dimasukkan ke dalam tube berukuran 1,5 ml dan ditambahkan CTAB 2% sebanyak 400 µl lalu diinkubasi selama 1 jam dengan suhu 65°C dengan menggunakan *waterbath*. Setelah itu, ditambahkan 500 µl PCI dengan perbandingan 25:24:1 ke dalam tube dan disentrifugasi selama 10 menit

dengan kecepatan 14.000 rpm. Supernatan hasil sentrifugasi diambil sebanyak 600 μ l lalu dipindahkan ke tube baru dan ditambahkan CI sebanyak 600 μ l dan disentrifugasi kembali selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm.

Supernatan diambil kembali sebanyak 400 μ l dan dipindahkan ke dalam tube baru serta ditambahkan isopropanol dingin sebanyak 400 μ l. Tube sampel diinkubasi ke dalam *freezer* selama 20 menit dan disentrifugasi kembali selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Setelah selesai disentrifugasi, supernatan di dalam tube dibuang dan ditambahkan alkohol dingin 70% sebanyak 500 μ l dan disentrifugasi kembali selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm.

Selanjutnya, alkohol dibuang dan pelet (Gambar 4) pada bagian dasar tube diinkubasi selama 1 hari pada suhu ruang. Setelah kering, tube berisi pelet ditambahkan 50 μ l TE.



Gambar 4. Pelet hasil ekstraksi DNA

3.4.3.2 Amplifikasi DNA dengan PCR

Proses amplifikasi DNA dilakukan dengan mencampurkan *Master Mix (Red Mix)* sebanyak 12,5 µl dalam tube kecil, lalu ditambahkan primer ITS 1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG 3') dan ITS 4 (5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3') masing-masing sebanyak 1 µl, larutan ekstraksi DNA jamur sebanyak 2 µl dan akuades steril sebanyak 8,5 µl. Larutan yang sudah dibuat kemudian diamplifikasi menggunakan mesin *CFX Connect Real-Time PCR (Bio-RAD)*. PCR dilakukan dengan 5 tahap, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Tahap inisiasi dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit (1 kali siklus), dilanjutkan dengan 30 siklus tahap denaturasi pada suhu 95° selama 1 menit, annealing pada suhu kisaran 44-56°C selama 1 menit dengan 30 siklus dan ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit dengan 30 kali siklus, serta terakhir tahap elongasi pada suhu 72°C selama 5 menit (1 kali siklus).

3.4.3.3 Elektroforesis dan visualisasi hasil PCR

Tahapan pertama yang dilakukan dalam proses elektroforesis adalah membuat gel agarose. Sebanyak 0,1 g gel agarose 0,5% dilarutkan dengan 10 ml TBE, kemudian dipanaskan dan ditunggu hingga mencapai suhu ruang. Setelah itu, dicampur dengan 1 µl *Ethidium Bromide (EtBr 10 mg/ml)*, lalu dituangkan pada cetakan dengan sisir. Setelah gel agarose padat, kemudian dimasukkan ke dalam alat elektroforesis yang berisi larutan TBE. Pada cetakan sumur pertama gel agarose, dimasukan 3 µl Marker DNA *leader*. Sumur selanjutnya dimasukkan sebanyak 3 µl ekstraksi DNA yang sudah dicampur dengan 1 µl *loading dye*

sebagai pemberat. Setelah itu, dilakukan proses elektroforesis dengan tegangan 50 volt selama 60-70 menit dan ditunggu hingga DNA bergerak sampai ditengah-tengah baris 3 dan 4 dari ujung lawan. Selanjutnya, hasil elektroforesis divisualisasi dengan menggunakan alat *Digi-Doc-Imaging System*, yang hasilnya disimpan dalam komputer. Saat divisualisasi, keberadaan profil DNA antar lokus gen akan terlihat berupa pita terang.

3.4.3.4 Sekuensing dan analisis hasilnya

Sekuensing sampel hasil PCR dikirim ke PT Genetika Science Jakarta. Hasil sekuensing tersebut selanjutnya dianalisis dengan menggunakan program MEGA 6. Hasil dari analisis tersebut berupa pohon filogeni yang dibuat dengan program MEGA 6 menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Grup Method with Arithmetic Mean*).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Simpulan yang didapat berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebagai berikut:

1. Dua isolat jamur *P.lilacinum* (B412G dan B01TG) ditemukan pada sentra pertanaman jambu Kristal di PT NTF Lampung Timur dengan menggunakan metode inkubasi *keratin-baiting technique* dan kebun jambu kristal milik petani di Kabupaten Tanggamus dengan cara isolasi menggunakan metode isolasi langsung.
2. Kelima isolat jamur *P.lilacinum* (BioP, B4120X, B3010, B412G dan B01TG) terbukti bersifat patogenik terhadap massa telur *Meloidogyne* spp. secara *in-vitro* dengan isolat B01TG memiliki patogenisitas yang lebih tinggi daripada isolat lainnya.
3. Hasil identifikasi molekuler menunjukkan bahwa isolat jamur yang ditemukan termasuk dalam *Purpureocillium lilacinum* (Syn: *Paecilomyces lilacinus*).

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji patogenisitas kelima isolat *P.lilacinum* secara *in-planta* untuk mengetahui tingkat patogenisitasnya di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. 2005. *Plant Diseases Caused by Nematodes*. Plant Pathology. Elsevier Academic Press. Burlington.
- Ahmad, R.Z. 2013. Kapang *Paecilomyces lilacinus* dan *Verticillium chlamydosporium* sebagai pengendali hayati fasciolosis. WARTAZOA. 3(23):135-141.
- Barnett, H. L. & Hunter, B.B. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Fourth Edition. Shop APS. USA.
- Cahyono, B. 2010. *Sukses Budidaya Jambu Biji di Pekarangan dan Perkebunan*. Lily Publisher. Yogyakarta.
- Dihingia, S., Das, D.& Bora, S. 2017. Effect of microbial secretion on inhibitory effect of phytonematode: a review. *International Journal of Information Research and Review*. 4(07):4275-4280.
- Dropkin, V.H. 1991. *Pengantar Nematologi Tumbuhan* (Edisi Kedua, alih bahasa oleh Supratoyo). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Duryatama, S., Apriyanti, R. N., Angkasa, S., Raharjo, A. A., Rizkika, K., Rahimah, D. S., Titisari, A., Setyawan, B., Vebriansyah, R., Fadhilah, R. & Susilo, K. R. 2014. *Jambu Kristal*. PT Trubus Swadaya. Depok.
- Hadiati, S & Apriyanti, L. H. 2015. *Bertanam Jambu Biji di Pekarangan*. Agriflo. Jakarta.
- Holland, R.J., Williams, K. L. & Khan, A. 1999. Infection of *Meloidogyne javanica* by *Paecilomyces lilacinus*. *Nematology*. 1(2):131-139.
- Huang, X., Zhao N. & Zhang, K. 2004. Mini review: extracellular enzymes serving as virulence factors in nematophagous fungi involved in infection of the host. *Research in Microbiology*. 155: 811-816.
- Jayanti, W. 2011. Identifikasi spesies nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) pada umbi kentang asal Pangalengan dan Kertasari, Kabupaten Bandung, Jawa Barat. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Joshi, M. & Desphande, J.D. 2010. Polymerase chain reaction: methods, principles and application. *International Journal of Biomedical Research*. 1(5): 81-97.
- Kalele, D.N., Affokpon, A., Coosemans, J. & Kimenju, J.W. 2010. Suppression of root-knot nematodes in tomato and cucumber using biological control agents. *Journal of Horticultural Science*. 3:72-80.
- Kementerian Pertanian. 2016. *Statistika Pertanian 2016*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Jakarta.
- Khan, A., Williams, K.L. & Nevalainen, H.K.M. 2004. Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. *Biological Control*. 31:346-352.
- Luangsa-ard, J., Houbraken, J., van Doorn, T., Hong, S.B., Borman, A. M., Hywel-Jones, N.L. & Samson, R. A. 2011. Research Letter: *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *Federation of European Microbiological Societies (FEMS)*. Microbiol Lett 321. Blackwell Publishing. 141-149.
- Luc, M., Humt, D.J. & Marchon, J.E. 1995. Morfologi, anatomi dan biologi nematoda parasit tumbuhan – sinopsis. dalam Luc, M., Sikora, R.A. & Bridge, J. 1995. *Nematoda Parasitik tumbuhan di Pertanian Subtropik dan Tropik* (diterjemahkan oleh Supratoyo). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Morton, C. O., Hirsch, P.R. & Kerry, B. R. 2004. Infection of plant-parasitic nematodes by nematophagous fungi a review of the application of molecular biology to understand infection processes and to improve biological control. *Nematology*. 6(2):161-170.
- Mycobank. 2018. *Purpureocillium lilacinum*. http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&MycoBankNr_=519530. Diakses pada 23 Oktober 2018.
- Parimin. 2005. *Jambu Biji. Budi Daya dan Ragam Pemanfaatannya*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Prasad, P., Varshney, D. & Adholeya, A. 2015. Whole genome annotation and comparative genomic analyses of bio-control fungus *Purpureocillium lilacinum*. *BMC Genomics*. 16:1004-1017.
- Priyatno, T.P., Samudra, I. M., Manzila, I., Susilowati, D. N. & Suryadi, Y. 2016. Eksplorasi dan karakterisasi entomopatogen asal berbagai inang dan lokasi. *Berita Biologi*. 15(1):69-79.

- Rachmawati, D. & Korlina, E. 2013. Pengaruh jamur antagonis *Paecilomyces lilacinus* (Pl 251) untuk mengendalikan nematoda parasit pada tanaman kopi. Seminar Nasional: *Menggagas Kebangkitan Komoditas Unggulan Lokal Pertanian dan Kelautan*, Juni 2013. Madura.
- Saputri, E.R. 2017. Distribusi Nematoda Puru Akar *Meloidogyne* sp. dan Jamur Parasit *Paecilomyces lilacinus* pada Tanaman Jambu Biji *Psidium Guajava* L. di PT Nusantara Tropical Farm. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Shipora-Ilan, D.I., Fuxa, J.R., Lacey, L.A., Onstand, D.W. & Kaya, H.K. 2004. Devinitions of pathogenicity and virulence in invertebrate pathology. *Journal of Invertebrate Pathology*. 88(2005):1-7.
- Shurtleff, M. C & Averre III, C.W. 2000. *Diagnosis Plant Diseases Caused by Nematodes*. APS Press. USA.
- Simpanya, M.F. & Baxter, M. 1996. Isolation of fungi from soil using the keratin-baiting technique. *Mycopathology*. 136(2):85-90.
- Singh, S., Pandey, R. K. & Goswami, B.K.. 2013. Bio-control activity of *Purpureocillium lilacinum* strains in managing rootknot disease of tomato caused by *Meloidogyne incognita*. *Biocontrol Science and Technology*. 23(12):1469-1489.
- Stirling. G. R. 1991. *Biological Control of Plant Parasitic Nematodes: Progress, Problem and Prospect*. CAB International. Melksham, UK.
- Suciatmih, Kartika, T. & Yusuf, S. 2015. Jamur entomopatogen dan aktivitas enzim ekstraselulernya. *Berita Biologi*. 14(2):134-140.
- Sun, Man-Hon., Li Gao, Yan-Xia Shi, Bao-Jü Li & Xing-Zhong Liu. 2006. Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. *Journal of Invertebrate Pathology*. 93:22-28.
- Sunarno. 2012. Pengendalian hayati (*biology control*) sebagai salah satu komponen pengendalian hama terpadu (PHT). *Journal Uniera*. 1(2):1-12.
- Supramana & Suastika, G. 2012. Spesies nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) yang berasosiasi dengan penyakit umbi bercabang pada wortel: penyakit baru di Indonesia. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*. 17(2):108-112.
- Swibawa, I. G., Saputri, E.R., Yuliana, E., Fitriana, Y. & Solikhin. 2017. Nematoda puru akar dan jamur parasitnya pada pertanaman jambu biji di lampung. Seminar Nasional dan Kongres XIV Perhimpunan Fitopatologi Indonesia, 3-5 Oktober 2017. Kendari.

- Taylor, A. L. & Sasser, J. N. 1978. *Biology, Identification and Control of Root-Knot Nematode (Meloidogyne spp.)*. North Carolina State University Graphics. USA.
- Udo, I. A., Osai, E.O. & Ukeh, D.A. 2014. Management of root-knot disease on tomato with bioformulated *Paecilomyces lilacinus* and leaf extract of *Lantana camara*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 4(57):486-492.
- USDA, 2018. *Psidium*.
<https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=P>
SGU. Diakses pada 9 Juli 2018.
- Widodo S. E. & Zulefryenni. 2010. Jambu Biji Kristal dan Mutiara 45 Ha.
<http://www.trubus-online.co.id/kristal-dan-mutiara-45-ha/>. Diakses tanggal 15 Maret 2018.
- Winarto, Darnetty & Liswarni, Y. 2017. Potensi jamur *Paecilomyces* isolat lokal Sumatera Barat untuk pengendalian nematoda bengkok akar (*Meloidogyne spp.*) pada tanaman sayuran. Laporan Akhir Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi. Universitas Andalas. Padang.
- Wiryadi Putra, S. 2002. Pengaruh bionematisida berbahan aktif *Paecilomyces lilacinus* strain 251 terhadap serangan *Pratylenchus coffeae* pada kopi robusta. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 8(1):18-26.
- Yulianti, E. 2017. Populasi dan tingkat serangan nematoda puru akar (*Meloidogyne spp.*) pada beberapa tingkat umur tanaman jambu biji di PT NTF. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Yusuf, Z.K. 2010. Polymerase chain reaction (PCR). *Saintek*. 6(5):1-6.