

KORELASI ANTARA AGRESIVITAS INOKULUM SPORANGIA DENGAN TOKSISITAS FILTRAT *Phytophthora capsici* ASAL TANAMAN LADA (*Piper nigrum* L.)

Correlation between sporangial inoculum aggressiveness and culture filtrate toxicity of Phytophthora capsici from black pepper (Piper nigrum L.)

CHAERANI¹⁾ dan DYAH MANOHARA²⁾

¹⁾Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

Jalan Tentara Pelajar no 3A, Bogor 16111

²⁾Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

Jalan Tentara Pelajar No 3, Bogor 16111

e-mail: chaeran1@yahoo.com; dyah_manohara@yahoo.com

(Diterima Tgl. 21 - 2 - 2012 - Disetujui Tgl. 13 - 8 - 2012)

ABSTRAK

Penggunaan varietas lada tahan penyakit paling praktis dan efektif untuk menekan serangan *Phytophthora capsici*, penyebab penyakit busuk pangkal batang (BPB) lada, tetapi varietas lada tersebut belum tersedia. Seleksi dini ketahanan lada dapat dilakukan di laboratorium menggunakan inokulum sporangia atau filtrat biakan *P. capsici*. Tujuan penelitian ini ialah membandingkan agresivitas inokulum sporangia dengan toksisitas filtrat biakan (FB) *P. capsici*. Penelitian dilakukan dari bulan Juni sampai September 2009 di laboratorium Biokimia BB Biogen dan Hama dan Penyakit Balitro. Penelitian menggunakan 50 isolat *P. capsici* dari berbagai daerah pertanaman lada yang diisolasi tahun 1982 sampai 2009. Daun-daun lada yang diambil dari varietas Natar-1 (agak tahan terhadap *P. capsici*) dan Petaling-1 (rentan terhadap *P. capsici*) diinokulasi dengan potongan agar mengandung sporangia atau 20 µl FB *P. capsici*. Percobaan dilakukan secara faktorial (2 varietas × 50 isolat) dengan rancangan acak kelompok dan tiga ulangan. Derajat agresivitas isolat dan toksisitas FB diukur berdasarkan luas bercak nekrotik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa agresivitas inokulum sporangia dan toksisitas FB bervariasi antar isolat *P. capsici*. Bercak nekrotik yang disebabkan oleh inokulum sporangia lebih luas (0,0–2.535,2 mm²) dibandingkan dengan FB (0,7–233,0 mm²). Derajat agresivitas isolat dan toksisitas FB sangat dipengaruhi oleh asal isolat ($P < 0,0001$), tetapi tidak dipengaruhi oleh varietas dan interaksi isolat×varietas ($P > 0,05$). Derajat ketahanan pada varietas tahan Natar-1 diduga tidak berbasis genetik dan tidak berbeda nyata dari varietas rentan Petaling-1 sehingga kedua metode seleksi ketahanan tidak dapat dibedakan keefektifannya. Luas bercak nekrotik yang diinduksi oleh FB tidak berkorelasi nyata dengan yang ditimbulkan oleh inokulum sporangia ($R^2 = 0,002$; $P > 0,05$), sehingga secara umum FB *P. capsici* tidak dapat digunakan sebagai standar pengujian ketahanan lada. Oleh karena itu masih perlu dikembangkan metode inokulasi yang konsisten untuk seleksi dini ketahanan lada.

Kata kunci: lada, penyakit busuk pangkal batang, *Phytophthora capsici*, agresivitas, filtrat biakan, seleksi dini

ABSTRACT

Resistant varieties are the most practical and effective means to control *Phytophthora capsici*, the pathogen of foot rot disease of black pepper. However, no resistant cultivars are available. Early selection of black pepper resistance can be performed in laboratory using *P. capsici* inocula or culture filtrate. The objective of this study was to compare *P. capsici* isolate aggressiveness with culture filtrate (CF) toxicity. The study was conducted from June until September 2009 at the Biochemistry Laboratory of the Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development and the Plant Pest and

Disease Laboratory of the Indonesian Research Institute of Spice and Medicinal Crops. The study used 50 *P. capsici* isolates collected from various black pepper plantations during 1982 until 2009. Detached leaves of two black pepper cultivars, i.e. moderately resistant cv. Natar-1 and susceptible cv. Petaling-1, were inoculated with agar blocks containing sporangia or 20 µl CF of *P. capsici*. The experiments were designed as factorial experiments (2 cultivars × 50 isolates) under a randomized completely block design. Isolate aggressiveness and CF toxicity were measured based on the necrotic area of the inoculated leaves. The results from the two inoculation methods showed varying levels of aggressiveness and CF toxicity among isolates. Necrotic lesions incited by sporangial inoculum were more extensive (0.0-2,535.2 mm²) than those induced by CF (0.7-233.0 mm²). Degree of isolate aggressiveness and CF toxicity were significantly affected by origins of isolate ($P < 0.0001$), but not by cultivar and isolate×cultivar interaction ($P > 0.05$). Resistance degree in the moderately resistant cv. Natar-1 was presumably not genetically based and was not different to that in the susceptible cv. Petaling-1, and hence both selecting agents were unable to discriminate resistance level between the two cultivars. Necrotic sizes induced by CF did not well correlate with those incited by sporangial inocula ($R^2 = 0.002$; $P > 0.05$), indicating that CF is generally not suitable to be used as early selection agent of resistant plants. Therefore, further study is justified to find more reliable inoculation method for early detection of resistant black pepper.

Key words: black pepper, foot rot disease, *Phytophthora capsici*, aggressiveness, culture filtrate, early selection in laboratory

PENDAHULUAN

Penyakit busuk pangkal batang (BPB) pada tanaman lada telah ada di Indonesia sejak tahun 1852, dan saat ini tersebar di seluruh daerah pertanaman lada (MANOHARA *et al.*, 2005). Penyebabnya adalah jamur *Phytophthora capsici* yang dapat menyerang semua stadia dan bagian (organ) tanaman lada. Serangan pada akar atau pangkal batang menyebabkan kerusakan paling fatal, yaitu tanaman layu dan mati dengan cepat (ALCONERO *et al.*, 1971). Berdasarkan data DIREKTORAT PERLINDUNGAN PERKEBUNAN (2011), kehilangan hasil lada akibat penyakit BPB pada triwulan ketiga tahun 2010 diperkirakan sebesar 16 milyar rupiah.

Jamur *P. capsici* sukar dikendalikan karena patogen tular tanah ini membentuk struktur istirahat yang mampu bertahan lama di dalam tanah (MANOHARA *et al.*, 2005) dan inang alternatifnya banyak, mencakup 5 famili tanaman (KASIM dan PRAYITNO, 1991; CHOWDAPPA *et al.*, 2003). Penanaman varietas lada tahan penyakit merupakan cara yang lebih praktis dan efektif untuk menekan serangan *P. capsici* dibandingkan dengan pengelolaan tanaman yang dikombinasikan dengan aplikasi fungisida. Namun, varietas lada tahan BPB belum ada di Indonesia karena sempitnya basis genetik tetua-tetua yang digunakan dalam persilangan (MANOHARA *et al.*, 2006; WAHYUNO *et al.*, 2009).

Menurut ALCONERO *et al.* (1971) sifat rentan tanaman lada terhadap serangan *P. capsici* di lapangan mulai terlihat pada saat tanaman lada pertama kali berbuah atau berumur ≥ 2 tahun. Oleh karena itu penapisan ketahanan klon-klon lada hasil persilangan di lapangan endemik *P. capsici* baru akan terlihat hasilnya minimal dua tahun setelah tanam. Seleksi ketahanan lada terhadap *P. capsici* di laboratorium menggunakan bagian tanaman dapat mempersingkat waktu penapisan dan mengurangi banyaknya genotipe yang perlu diseleksi lanjut di rumah kaca atau lapangan. Metode ini telah dilakukan oleh SITEPU dan PRAYITNO (1979) serta WAHYUNO *et al.* (2009) yaitu menggunakan daun lepas (*detached leaf*) yang diinokulasi dengan sporangia *P. capsici*.

Penggunaan inokulum jamur patogen tanaman sebagai agen seleksi ketahanan dapat terkendala oleh ketidakstabilan genetik patogen setelah penyimpanan *in vitro* dan peremajaan berulang, yang berpotensi menyebabkan hilangnya patogenisitas, virulensi, dan kemampuan bersporulasi (DAHMAN *et al.*, 1983; BORBA dan RODRIGUEZ, 2000; SMITH dan RYAN, 2004; ELLIOTT, 2005; WEBB *et al.*, 2011). Pada *P. capsici* perubahan patogenisitas dapat terjadi jika patogen ini ditumbuhkan dalam jangka waktu lama pada media yang sama (QI, 2001).

Filtrat biakan (FB) dapat menimbulkan sebagian atau seluruh gejala penyakit yang sama dengan yang disebabkan oleh inokulum patogen, sehingga dapat menjadi alternatif agen seleksi di laboratorium (WENZEL, 1985; LEBEDA dan ŠVÁBOVÁ, 2010). Penggunaan FB *P. capsici* sebagai agen seleksi *in vitro* akan mempercepat siklus seleksi rutin klon-klon lada baru, terutama varian somaklonal atau hibrida somatik. FB *P. capsici* telah digunakan untuk seleksi *in vitro* ketahanan kalus lada. Penelitian oleh LIU dan ZHENG (2004) serta HUSNI dan KOSMIATIN (2005) menunjukkan bahwa kalus lada yang tahan (insensitif) dan mampu bertunas dapat diperoleh pada konsentrasi FB $\geq 75\%$.

Metode baku seleksi ketahanan lada menggunakan FB *P. capsici* belum tersedia dan belum ada data pendahuluan untuk mengetahui korelasi antara toksisitas FB *P. capsici* dengan agresivitas isolat yang memproduksi-

nya. Pada beberapa interaksi inang-patogen, antara lain *Sarocladium oryzae* pada padi, telah diketahui bahwa variasi virulensi isolat ditentukan oleh karakter fisiologi dan biokimia isolat, terutama enzim penghancur dinding sel dan produksi metabolit toksik penyebab nekrosis jaringan tanaman (NANDAKUMAR *et al.*, 2007). Pada spesies *P. ramorum*, produksi protein elisitin kelas I (*ram- α 2*) berhubungan linier dengan virulensi isolat dan produksi sporangia (MANTER *et al.*, 2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi antara agresivitas sporangia dengan toksisitas FB isolat-isolat *P. capsici* asal lada dengan menggunakan teknik inokulasi daun lepas di laboratorium.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan September 2009 di Laboratorium Biokimia BB Biogen serta laboratorium Hama dan Penyakit Balitro. Varietas lada yang digunakan dalam penelitian ini adalah Natar-1 dan Petaling-1, yang berturut-turut dikategorikan agak tahan dan rentan terhadap *P. capsici* (HAMID *et al.*, 1991). Daun-daun yang berada pada posisi ke-3 dan ke-4 dari ujung sulur tanaman kedua varietas tersebut dipetik sehari sebelum digunakan dalam penelitian. Daun-daun tersebut berasal dari tanaman lada koleksi KP. Sukamulya, Sukabumi. Daun dibungkus dengan kertas koran, dimasukkan ke dalam kotak es, kemudian dibawa ke laboratorium dan disimpan dalam lemari pendingin (6-8°C).

Isolat *P. capsici*

Lima puluh isolat *P. capsici*, yang dikoleksi dari tanaman lada sakit di Jawa, Sumatera, dan Kalimantan pada tahun 1982 sampai 2009, digunakan dalam penelitian ini (Tabel 1). Tiga puluh empat isolat di antaranya telah diteliti sebelumnya oleh WAHYUNO *et al.* (2007). Tiap isolat diremajakan pada media agar V8 *juice* yang dijernihkan (RIBEIRO, 1978) dan diinkubasi di bawah pencahayaan lampu TL secara terus menerus selama 5-7 hari. Media agar V8 *juice* jernih dibuat dengan cara mencampur V8 *juice* dengan CaCO₃ (1,4%), menyaringnya dengan kain kasa, mengendapkannya melalui sentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 4.000 *rpm*, kemudian mencampur supernatan yang diperoleh dengan agar (1,5%) dan akuades sebanyak volume yang telah ditetapkan. Agresivitas (keganasan) tiap isolat dipulihkan terlebih dahulu dengan cara menginokulasikan satu potongan biakan berukuran 0,5 cm \times 0,5 cm yang mengandung sporangia pada daun lada varietas Petaling-1. Reisolasi dilakukan pada media agar V8 *juice* jernih.

Tabel 1. Isolat *Phytophthora capsici* dari lada (*Piper nigrum*) yang diuji
 Table 1. *Phytophthora capsici* isolates from black pepper (*Piper nigrum*) used in the study

Isolat <i>Isolate</i>	Sumber isolasi <i>Source of isolation</i>	Lokasi, <i>Location/Province</i>	Tahun koleksi <i>Year collected</i>	Tipe kawin <i>Mating type</i>
B3	1	Petaling, Bangka-Belitung	2000	A1
B64	1	Petaling, Bangka-Belitung	2009	A1
B4	1	Puput, Bangka-Belitung	1989	A1
B12	2	Nangka, Bangka-Belitung	2001	A1
B33	1	Tukak, Bangka-Belitung	1989	A1
B35	3	Tukak, Bangka-Belitung	1989	A1
B36	3	Tukak, Bangka-Belitung	1989	A1
B40	2	Tukak, Bangka-Belitung	1989	A1
B41	4	Tebet Apin, Bangka-Belitung	1989	A1
B44	1	Simpangkates, Bangka-Belitung	1992	A1
B57	1	Simpangkates, Bangka-Belitung	1992	A1
B48	1	Nadung, Bangka-Belitung	1992	A1
B56	1	Toboali, Bangka-Belitung	1992	A1
B62	2	Kenanga, Bangka-Belitung	2002	A1
B63	1	Bemban, Bangka-Belitung	2001	A1
T16	2	Bemban, Bangka-Belitung	2001	A1
T28	2	Belinyu, Bangka-Belitung	2001	A1
Bd1	2	Bengkulu	2001	A1
Bd2	2	Manna, Bengkulu	2001	A1
Lp3	2	Sukadana, Lampung	2002	A1
N1	1	Sukadana, Lampung	1990	A1
Lp7	2	Sukadana, Lampung	2002	A1
Lp6	2	Menjukul, Lampung	2002	A1
Lp14	2	Negeri Toho, Lampung	2002	A1
Lp1	1	Cahayanegeri, Lampung	2007	A1
Lp30	1	Cahayanegeri, Lampung	2003	A1
Lp36	1	Cahayanegeri, Lampung	2004	A1
Lp41	1	Cahayanegeri, Lampung	2007	A1
Lp43	1	Cahayanegeri, Lampung	2007	A1
Lp48	1	Cahayanegeri, Lampung	2008	A1
Lp52	1	Cahayanegeri, Lampung	2006	A1
N2	4	Tanjungraja, Lampung	1982	A1
N4	1	Natar, Lampung	1992	A2
S4	4	Sukamulya, Jawa Barat	1997	A2
J2	4	Karawang, Jawa Barat	2001	A2
R2	5	Bogor, Jawa Barat	1990	A1
S5	4	Bogor, Jawa Barat	2004	A2
S1	1	Sumedang, Jawa Barat	1989	A2
K2	1	Sanggauledo, Kalimantan Barat	1989	A1
K4	1	Capkala, Kalimantan Barat	1989	A1
K7	1	Lamat Selamat, Kalimantan Barat	1990	A1
K8	1	Ketiak, Kalimantan Barat	1990	A1
K10	1	Mandor, Kalimantan Barat	1990	A1
K13	1	Kaliasin Luar, Kalimantan Barat	1990	A1
K18	1	Roban, Kalimantan Barat	1990	A1
K19	1	Sekip Baru 1, Kalimantan Barat	1990	A1
K20	1	Sekip Baru 1, Kalimantan Barat	1990	A1
K38	1	Batuah, Kalimantan Timur	2004	A1
K39	1	Batuah, Kalimantan Timur	2004	A1
K40	1	Batuah Kalimantan Timur	2004	A1

Keterangan: 1 = daun, 2 = tanah, 3 = batang, 4 = pangkal batang, dan 5 = buah

Note: 1 = leaf, 2 = soil, 3 = stem, 4 = stem base, and 5 = fruit

Penyiapan Inokulum Sporangia dan FB *P. capsici*

Inokulum sporangia *P. capsici* diperoleh dari biakan berumur 5-7 hari pada media agar V8 juice jernih dalam cawan petri yang telah diinkubasi di bawah cahaya lampu. Untuk penyiapan FB, 50 ml media cair V8 juice jernih dalam erlenmeyer 250 ml diinfestasi dengan potongan biakan *P. capsici* berumur 5-7 hari (1 cm x 1 cm) dari

media agar V8 juice jernih pada bagian miselia yang aktif tumbuh. Setelah 14 hari diinkubasi dalam keadaan gelap tanpa digoyang, filtrat dikumpulkan dengan cara penyaringan biakan cair menggunakan kertas saring Whatman nomor 1 steril. FB disimpan dalam lemari pendingin (6-8°C) selama 2-3 hari sebelum digunakan. Masing-masing inokulum sporangia dan FB disiapkan dalam tiga tahap (pada tiap tahap dibiakkan 16-17 isolat).

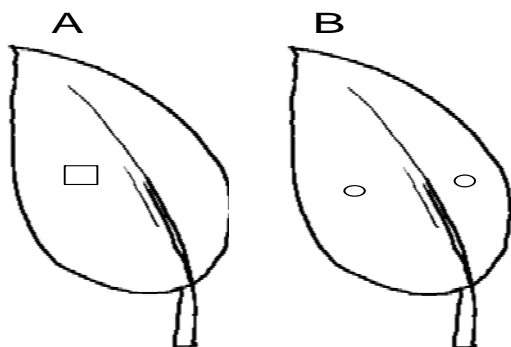
Bioesei Agresivitas Isolat dan Toksisitas FB *P. capsici*

Teknik bioesei yang digunakan mengikuti prosedur inokulasi pada helaian daun lepas dari WAHYUNO *et al.* (2007). Permukaan daun disterilisasi dengan alkohol 70%, dibilas dengan air steril, dikeringkan dengan kertas tisu, kemudian diletakkan dalam kotak-kotak plastik yang telah dialasi dengan kertas tisu lembap dengan sisi permukaan bawah daun menghadap ke atas.

Untuk uji agresivitas isolat, daun diinokulasi dengan potongan biakan *P. capsici* (0,5 cm × 0,5 cm) yang mengandung sporangia pada permukaan bawah daun pada salah satu sisi tengahnya tanpa perlakuan pelukaan (Gambar 1A). Air steril diteteskan pada inokulum untuk menciptakan kondisi yang sesuai untuk proses infeksi. Sebagai kontrol positif potongan media agar V8 juice diletakkan pada permukaan bawah daun.

Bioesei toksisitas FB dilakukan dengan meneteskan 20 µl FB pada permukaan bawah daun pada kedua sisi tulang tengahnya (Gambar 1B). Setelah itu epidermis daun dilukai menggunakan jarum steril tepat di tengah tetesan FB. Daun-daun yang ditetesi dengan media cair V8 juice jernih dan air saja, digunakan secara berurutan sebagai kontrol positif dan negatif. Semua kotak bioesei ditutup (tembus cahaya) dan diinkubasi dalam kondisi pencahayaan alami.

Bioesei sporangia dilakukan dalam kotak-kotak terpisah dari bioesei FB. Kedua varietas lada diinokulasi dalam kotak-kotak terpisah. Untuk tiap-tiap isolat digunakan tiga daun sebagai ulangan. Di dalam tiap kotak bioesei, selain daun-daun yang digunakan sebagai kontrol, juga diletakkan daun-daun yang diinokulasi dengan sporangia atau FB isolat B40 dan S5, yang berturut-turut mewakili



Gambar 1. Skema letak inokulum sporangia (A, dilambangkan oleh tanda □) dan filtrat biakan (B, dilambangkan oleh tanda ○) pada permukaan bawah daun lada (*Piper nigrum*)

Figure 1. Schematic diagram of sporangial inoculum (A, represented by symbol □) and culture filtrate (B, represented by symbol ○) position on abaxial side of black pepper (*Piper nigrum*) detached leaves

isolat dengan agresivitas yang tinggi dan rendah, sebagai pembanding. Percobaan dilaksanakan dalam tiga tahap. Pada tiap tahap percobaan diuji 16-17 isolat, termasuk kedua isolat pembanding. Isolat pembanding berfungsi untuk mengoreksi perbedaan kondisi lingkungan yang mungkin terjadi antar kotak inokulasi dan percobaan. Pengamatan dilakukan terhadap panjang dan lebar bercak nekrotik setelah 4 hari inkubasi, yang kemudian nilainya dikonversi menjadi luas area bercak nekrotik (mm²).

Analisis Data

Percobaan menggunakan rancangan perlakuan faktorial dengan dua perlakuan varietas lada dan 50 perlakuan isolat *P. capsici* (2 × 50) yang disusun dalam rancangan dasar acak kelompok dengan tiga ulangan. Data luas bercak nekrotik (panjang×lebar bercak) ditransformasi untuk mendapatkan homogenitas galat sebelum dianalisis menggunakan prosedur *univariate* ANOVA dari modul GLM pada piranti lunak SPSS 12.0. Jika hasil uji *F* menunjukkan perbedaan keragaman yang nyata antar perlakuan, maka dilakukan uji lanjutan untuk membedakan rata-rata antar perlakuan menggunakan uji jarak berganda Duncan (DMRT) pada *P*=0,05.

Pengelompokan isolat berdasarkan kesamaan tingkat agresivitas atau toksisitas filtrat biakan dilakukan dengan menghitung koefisien kedekatan jarak *euclidean* antar isolat menggunakan luas bercak nekrotik dengan rumus:

$$E_{ij} = \sqrt{\{\sum(x_i - y_j)^2\}}$$

keterangan : *x* dan *y* adalah nilai dari unit sampel; *i* = 1, 2, ..., *n*₁; dan *j* = 1, 2, ..., *n*₂.

Penghitungan jarak *euclidean* dilakukan dengan bantuan modul SimInt pada piranti lunak NTSYSpc 2.02 (*Applied Biostatistics*). Selanjutnya matrik kesamaan jarak *euclidean* digunakan untuk pengelompokan isolat menggunakan prosedur SAHN (*Sequential Agglomerative Hierarchical Nested clustering method*) dan divisualisasi dalam dendrogram yang dibuat dengan menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method based on Arithmetic mean*). Kedua prosedur ini juga terdapat dalam NTSYSpc 2.02 (*Applied Biostatistics*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Agresivitas Isolat *P. capsici*

Agresivitas isolat-isolat *P. capsici* yang diinokulasi pada daun lada mulai terlihat 2 hari setelah inokulasi (HSI) yang ditandai dengan gejala bercak nekrotik. Bercak

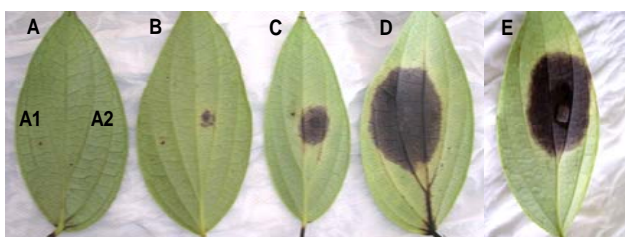
nekrotik tersebut berwarna hitam dengan tepian bergerigi seperti renda (Gambar 2E). Pada isolat-isolat yang agresif, bercak meluas hingga ke tepi daun jika inkubasi dilanjutkan hingga lebih dari 4 hari, sehingga data luas bercak yang digunakan adalah yang diukur pada 4 HSI. Luas bercak nekrotik yang disebabkan oleh inokulum sporangia *P. capsici* sangat bervariasi (0,0 sampai 2.535,2 mm²; Tabel 2). Luas bercak nekrotik secara nyata dipengaruhi oleh asal isolat ($P=0,000$), tetapi tidak dipengaruhi oleh varietas lada maupun interaksinya dengan isolat ($P<0,05$).

Tidak berpengaruhnya perlakuan varietas lada terhadap luas bercak diduga karena derajat ketahanan kedua varietas ini sebenarnya tidak jauh berbeda. Natar-1 merupakan klon hasil seleksi dari varietas Belantung, sedangkan Petaling-1 dari varietas Lampung Daun Lebar (LDL) (WAHID *et al.*, 2006). LDL dikategorikan peka (rentan) terhadap serangan *P. capsici* oleh SITEPU dan PRAYITNO (1979) berdasarkan pengujian ketahanan pada daun lepas. Belantung dikategorikan memiliki sifat ketahanan yang baik oleh SITEPU dan PRAYITNO (1979), tetapi sebenarnya juga bersifat rentan karena derajat ketahanannya tidak berbeda nyata dari LDL. Lebih lanjut, penilaian derajat ketahanan Natar-1 dan Petaling-1 oleh HAMID *et al.* (1991) dilakukan di bawah kondisi epidemi alami *P. capsici* di lapangan. Spora *P. capsici* tersebar mengikuti aliran air, sehingga penyebaran penyakit bisa saja tidak merata dalam satu kebun (HAUSBECK dan LAMOUR, 2004). Varietas lada agak tahan yang terseleksi pada kondisi epidemi alami penyakit BPB seperti yang dilaporkan oleh HAMID *et al.* (1991) diragukan tingkat ketahanannya karena berpeluang terhindar dari infeksi oleh *P. capsici* (ketahanan bersifat *escape*). Dengan demikian ketahanan yang dimiliki Natar-1 mungkin saja tidak berbasis genetik sehingga sifat ketahanan yang sebenarnya tidak berbeda dengan yang dimiliki Petaling-1. Pernyataan

WAHYUNO *et al.* (2009) bahwa variasi ketahanan lada-lada budidaya di Indonesia tidak berbeda jauh karena berasal dari hasil seleksi perbanyak vegetatif dari satu atau beberapa lada budidaya yang semuanya rentan serangan *P. capsici*, mendukung hasil penelitian ini, yang tidak menemukan perbedaan luas bercak antar varietas Natar-1 dan Petaling-1 yang nyata.

Dari hasil pengelompokkan isolat *P. capsici* berdasarkan matriks kedekatan jarak *euclidean* dari rata-rata luas bercak nekrotik pada kedua varietas lada didapatkan empat kelompok isolat pada koefisien 0,546 (Gambar 3). Isolat dengan kisaran luas bercak <5,0 mm² digolongkan sebagai tidak agresif; 5,0–50,0 mm² termasuk beragresivitas rendah; 51,0–500,0 mm² beragresivitas sedang; dan >500,0 mm² sangat agresif (Tabel 2, Gambar 3). Lima belas isolat tidak agresif, 11 isolat menunjukkan agresivitas rendah, 15 isolat menunjukkan agresivitas sedang, dan 9 isolat sangat agresif. Pengelompokkan agresivitas isolat tidak berkaitan dengan asal lokasi, sumber isolasi, dan tipe kawin *P. capsici*. Tidak adanya korelasi antara agresivitas dengan asal lokasi isolat juga dilaporkan oleh WAHYUNO *et al.* (2007).

Dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh WAHYUNO *et al.* (2007) yang juga menggunakan 34 isolat yang sama, dua isolat *P. capsici* yaitu (B4 dan N2) telah kehilangan agresivitasnya, lima isolat (B3, B36, B62, Lp6, dan Lp36) mengalami penurunan agresivitas, dan empat isolat (B33, J2, K39, dan Lp14) menunjukkan peningkatan agresivitas, sedangkan sisanya menunjukkan agresivitas yang relatif tetap. Selama ini, koleksi *P. capsici* di Balitro dipelihara melalui penyimpanan dalam media agar V8 dan diremajakan secara berkala. Menurut GOTH (1981) dan SMITH dan RYAN (2004) metode pemeliharaan seperti ini selain rawan kontaminasi, juga meningkatkan peluang terseleksinya varian yang tidak virulen dan terjadinya mutasi genetik yang mengarah pada hilangnya ataupun diperolehnya virulensi (*loss or gain of virulence*).



Gambar 2. Gejala bercak nekrotik pada daun lada (*Piper nigrum*) yang diinduksi dengan filtrat biakan dan sporangia *Phytophthora capsici*.

Keterangan :Daun A ditetesi dengan media cair V8 juice (A1) dan air (A2); daun B, C, dan D diinokulasi dengan berturut-turut filtrat biakan isolat N2, K4, dan Lp43; dan daun E diinokulasi dengan inokulum sporangia isolat Lp48

Figure 2. Necrotic lesion symptoms on black pepper (*Piper nigrum*) leaves induced following the inoculation with culture filtrate and sporangia of *Phytophthora capsici*.

Note :Leaf A was inoculated with V8 juice medium (A1) and water (A2); B, C, and D were inoculated with culture filtrate of isolate N2, K4, and Lp43, respectively; and E was inoculated with sporangial inoculum of isolate Lp48

Toksisitas Filtrat Biakan

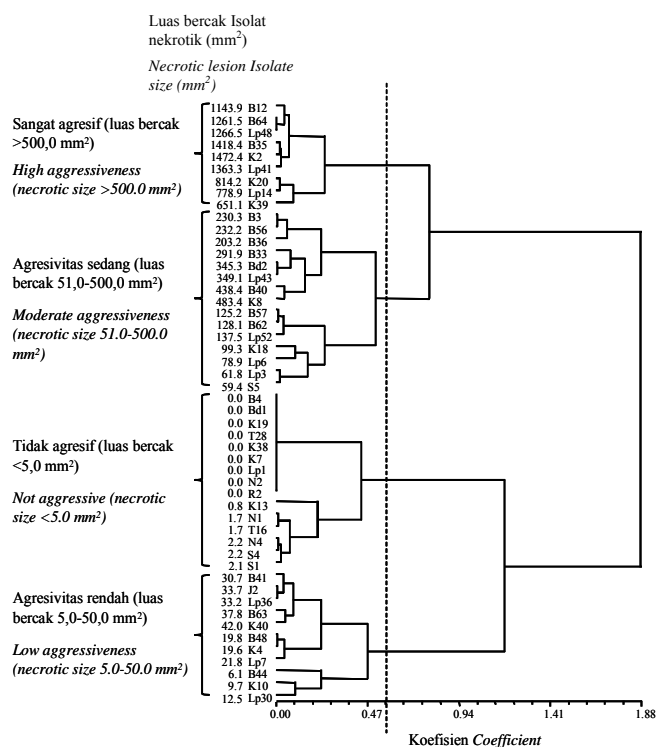
Filtrat Buatan (FB) menimbulkan bercak nekrotik (Gambar 2C dan 2D) yang penampilannya mirip dengan infeksi oleh inokulum sporangia (Gambar 2E). Gejala ini mulai tampak pada 2 HSI tetapi tidak berkembang lebih lanjut setelah 4 HSI. Pada umumnya luas bercak yang ditimbulkan oleh FB lebih kecil daripada yang diakibatkan oleh inokulum sporangia, yaitu berkisar antara 0,7–233,0 mm² (Tabel 2). Kadang kala bercak nekrotik akibat inokulasi dengan FB dikelilingi oleh halo berwarna kuning seperti yang juga diakibatkan oleh inokulum sporangia. Daun yang ditetesi dengan air atau media cair saja menunjukkan bercak dengan luas ≤1,1 mm², yaitu seukuran bekas luka tusukan jarum dan tidak berkembang lebih lanjut (Gambar 2 A dan B). Luas bercak nekrotik dipengaruhi secara nyata oleh perlakuan isolat ($P=0,000$), tetapi tidak dipengaruhi oleh varietas dan interaksi varietas×isolat *P. capsici* ($P<0,05$).

Tabel 2. Luas bercak nekrotik yang diakibatkan oleh inokulum sporangia dan filtrat biakan (FB) *Phytophthora capsici* pada daun lada varietas Natar-1 (agak tahan) dan Petaling-1 (rentan)
 Table 2. Necrotic lesion size induced by sporangial inoculum and culture filtrate (CF) of *Phytophthora capsici* on detached leaf of black pepper (*Piper nigrum*) cv. Natar-1 (moderately resistant) and Petaling-1 (susceptible)

Isolat <i>Isolate</i>	Luas bercak nekrotik <i>Necrotic lesion size (mm²)</i>		Rata-rata luas bercak isolat <i>Mean of necrotic lesion size of isolate (mm²)</i>		Kategori agresivitas isolat ³ <i>Category of isolate aggressiveness</i>	Luas bercak <i>Necrotic lesion size (mm²)</i>		Rata-rata luas bercak isolat <i>Mean of necrotic lesion size of isolate (mm²)</i>		Kategori toksisitas FB <i>Category of CF toxicity</i>
	Natar-1	Petaling-1				Natar-1	Petaling-1			
K2	657,0	557,1	1472,4	a	Ti Hi	2,1	0,7	1,1	i-t	Ren Lo
B35	466,3	535,8	1418,4	a	Ti Hi	1,4	1,2	0,6	o-t	T.t. N.t
Lp41	480,4	592,9	1363,3	a	Ti Hi	1,7	0,7	1,0	j-t	T.t. N.t
Lp48	2535,2	1397,7	1266,5	ab	Ti Hi	6,1	5,0	5,7	bc	Sed Mod
B64	602,4	445,9	1261,5	ab	Ti Hi	2,3	2,9	2,3	d-n	Ren Lo
B12	465,4	348,9	1143,9	abc	Ti Hi	1,4	2,1	0,9	k-t	T.t. N.t
K20	157,6	520,6	814,2	a-d	Ti Hi	1,1	0,7	0,4	t	T.t. N.t
Lp14	372,4	274,6	778,9	a-e	Ti Hi	1,6	1,6	1,4	h-t	Ren Lo
K39	345,3	151,9	651,1	a-f	Ti Hi	1,5	1,4	0,8	m-t	T.t. N.t
K8	288,6	99,9	483,4	a-f	Sed Mod	1,3	1,6	0,8	n-t	T.t. N.t
B40	218,4	431,7	438,4	a-g	Sed Mod	3,5	2,6	2,5	d-m	Ren Lo
Lp43	437,6	46,3	349,1	a-h	Sed Mod	72,2	233,0	117,1	a	Ti Hi
Bd2	39,4	501,0	345,3	a-h	Sed Mod	1,5	3,6	2,1	d-p	Ren Lo
B33	46,5	305,0	291,9	a-h	Sed Mod	1,6	1,5	1,6	g-t	Ren Lo
B56	132,2	68,1	232,2	a-i	Sed Mod	2,7	1,0	1,4	h-t	Ren Lo
B3	42,3	152,7	230,3	a-i	Sed Mod	1,1	1,1	0,5	q-t	T.to N.to
B36	43,4	157,9	203,2	a-k	Sed Mod	3,9	1,1	1,9	e-r	Ren Lo
Lp52	69,6	32,9	137,5	a-k	Sed Mod	1,4	1,0	0,6	o-t	T.t. N.t
B62	21,4	125,1	128,1	a-k	Sed Mod	1,5	1,7	1,3	h-t	Ren Lo
B57	38,0	900,9	125,2	a-k	Sed Mod	3,0	1,7	2,4	d-n	Ren Lo
K18	177,7	6,0	99,3	a-k	Sed Mod	1,7	1,1	0,7	n-t	T.t. N.t
Lp6	41,0	11,9	78,9	a-k	Sed Mod	0,8	1,0	0,4	t	T.t. N.t
Lp3	689,6	11,6	61,8	b-k	Sed Mod	3,4	3,3	3,5	c-h	Sed Mod
S5	74,4	19,6	59,4	c-l	Sed Mod	3,1	3,3	2,6	c-l	Ren Lo
K40	38,0	7,0	42,0	d-m	Ren Lo	1,7	1,4	1,6	g-t	Ren Lo
B63	36,4	87,9	37,8	e-m	Ren Lo	3,3	6,1	4,7	bcd	Sed Mod
J2	26,3	270,3	33,7	f-n	Ren Lo	1,9	2,6	2,7	c-k	Ren Lo
Lp36	73,1	96,2	33,2	f-n	Ren Lo	2,3	2,3	2,8	c-j	Ren Lo
B41	3,1	29,5	30,7	f-n	Ren Lo	1,9	3,9	1,7	f-s	Ren Lo
Lp7	182,4	0,4	21,8	g-n	Ren Lo	1,2	1,0	0,5	q-t	T.t. N.t
B48	54,1	16,4	19,8	h-n	Ren Lo	2,0	3,5	2,8	c-j	Ren Lo
K4	3,3	15,6	19,6	h-o	Ren Lo	6,0	0,7	2,1	d-o	Ren Lo
Lp30	83,6	6,6	12,5	i-o	Ren Lo	2,3	2,2	2,3	d-n	Ren Lo
K10	0,1	15,0	9,7	j-o	Ren Lo	1,4	1,5	1,2	i-t	Ren Lo
B44	7,4	12,0	6,1	k-o	Ren Lo	3,0	0,9	1,7	f-s	Ren Lo
N4	2,7	0,4	2,2	lm	T.a. N.a.	1,0	1,0	0,5	st	T.t. N.t
S4	2,1	0,6	2,2	lm	T.a. N.a.	2,8	1,7	1,9	e-r	Ren Lo
S1	2,6	0,4	2,1	mno	T.a. N.a.	1,1	1,0	0,9	i-t	T.t. N.t
T16	2,0	0,4	1,7	mno	T.a. N.a.	2,3	2,3	2,0	d-q	Ren Lo
N1	2,0	0,4	1,7	mno	T.a. N.a.	1,7	1,7	1,4	h-t	Ren Lo
K13	4,0	0,5	0,8	no	T.a. N.a.	4,2	4,4	4,5	b-e	Sed Mod
B4	0,0	0,0	0,0	o	T.a. N.a.	1,3	1,0	0,6	p-t	T.t. N.t
Bd1	0,0	0,0	0,0	o	T.a. N.a.	2,1	2,0	1,2	i-t	Ren Lo
K19	0,5	0,5	0,0	o	T.a. N.a.	10,3	5,6	7,9	b	Sed Mod
K38	0,5	0,5	0,0	o	T.a. N.a.	2,7	4,8	3,8	c-g	Ren Lo
K7	0,5	0,5	0,0	o	T.a. N.a.	3,9	2,0	3,0	c-i	Sed Mod
Lp1	0,5	0,5	0,0	o	T.a. N.a.	3,6	4,3	4,1	b-f	Ren Lo
N2	0,0	0,0	0,0	o	T.a. N.a.	2,5	2,3	2,5	d-l	Sed Mod
R2	0,0	0,0	0,0	o	T.a. N.a.	1,5	1,8	0,9	k-t	T.t. N.t
T28	0,0	0,0	0,0	o	T.a. N.a.	1,1	1,0	0,5	rst	T.t. N.t
Rata-rata luas bercak varietas	22,8	16,5				2,3	2,1			
Mean of necrotic lesion size of cultivar (mm ²)										

Keterangan: Angka-angka merupakan hasil transformasi balik dari $\log(x + 1)$. Angka yang diikuti oleh huruf sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada $P = 0,05$ berdasarkan uji DMRT. Pengelompokan agresivitas isolat didasarkan pada matriks kesamaan jarak *euclidean* antar luas bercak nekrotik: $<5,0 \text{ mm}^2 = \text{T.a.}$ (tidak agresif); $5,0-50,0 \text{ mm}^2 = \text{Ren}$ (agresivitas rendah); $50,0-500,0 \text{ mm}^2 = \text{Sed}$ (agresivitas sedang); dan $>500,0 \text{ mm}^2 = \text{Ti}$ (agresivitas tinggi). Pengelompokan toksisitas filtrat biakan didasarkan pada matriks kedekatan jarak *euclidean* antar luas bercak nekrotik: $<1,1 \text{ mm}^2 = \text{T.t.}$ (tidak toksik); $1,1-3,0 \text{ mm}^2 = \text{Ren}$ (toksisitas rendah); $3,1-10,0 \text{ mm}^2 = \text{Sed}$ (toksisitas sedang); dan $>10,0 \text{ mm}^2 = \text{Ti}$ (toksisitas tinggi)

Note : Data are back transformation of $\log(x + 1)$. Numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different at $P = 0,05$ according to DMRT. Groupings of isolate aggressiveness were based on euclidean distance similarities between necrotic lesion sizes: $<5,0 \text{ mm}^2 = \text{N.a.}$ (not aggressive); $5,0-50,0 \text{ mm}^2 = \text{Lo}$ (low aggressiveness); $50,0-500,0 \text{ mm}^2 = \text{Mod}$ (moderate aggressiveness); and $>500,0 \text{ mm}^2 = \text{Hi}$ (high aggressiveness). Groupings of culture filtrate toxicity were based on euclidean distance similarities between necrotic lesion sizes: $<1,1 \text{ mm}^2 = \text{N.t.}$ (not toxic); $1,1-3,0 \text{ mm}^2 = \text{Lo}$ (low toxicity); $3,1-10,0 \text{ mm}^2 = \text{Mod}$ (moderate toxicity); and $>10,0 \text{ mm}^2 = \text{Hi}$ (high toxicity).



Gambar 3. Pengelompokan agresivitas 50 isolat *Phytophthora capsici* asal lada (*Piper nigrum*) berdasarkan matriks kesamaan jarak euclidean antar luas bercak nekrotik

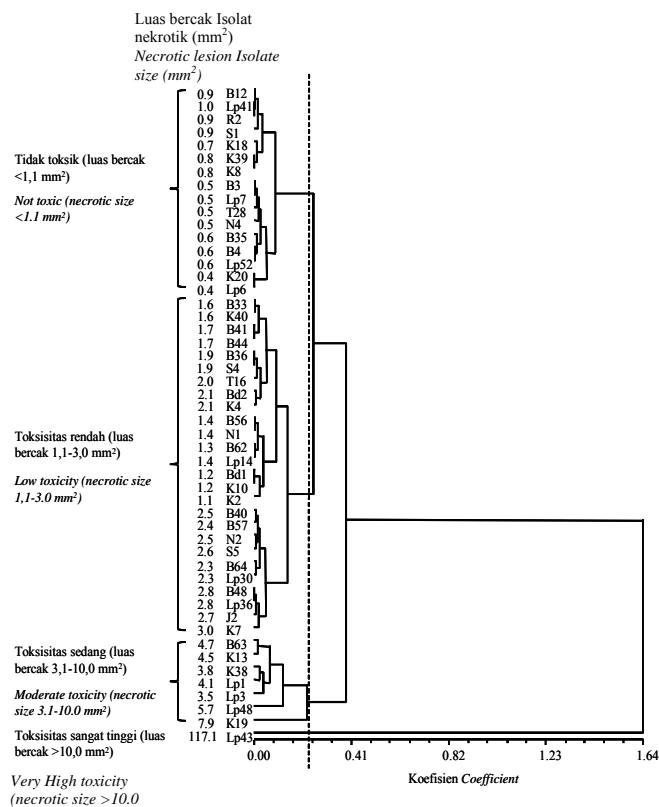
Figure 3. Grouping of aggressiveness of 50 *Phytophthora capsici* isolates from black pepper (*Piper nigrum*) based on euclidean distance similarities of necrotic lesion sizes

Pada koefisien sebesar 0,246 terdapat empat kelompok isolat (Gambar 4). Enam belas isolat mengelompok sebagai isolat dengan FB tidak toksik (luas bercak nekrotik <1,1 mm²), 26 isolat menghasilkan FB dengan toksisitas rendah (luas bercak nekrotik 1,1–3,0 mm²), tujuh isolat menghasilkan FB dengan toksisitas sedang (luas bercak nekrotik 3,1–10,0 mm²), dan satu isolat menghasilkan FB dengan toksisitas sangat tinggi dengan luas bercak nekrotik >10,0 mm² (Tabel 2, Gambar 4). Hanya sebagian kecil (8) isolat yang menghasilkan FB dengan toksisitas sedang sampai tinggi, sehingga variasi toksisitas FB lebih sempit dibandingkan dengan inokulum sporangia.

Korelasi antara Luas Bercak Nekrotik yang Diakibatkan oleh Inokulum Sporangia dengan yang Diakibatkan oleh Filtrat Biakan

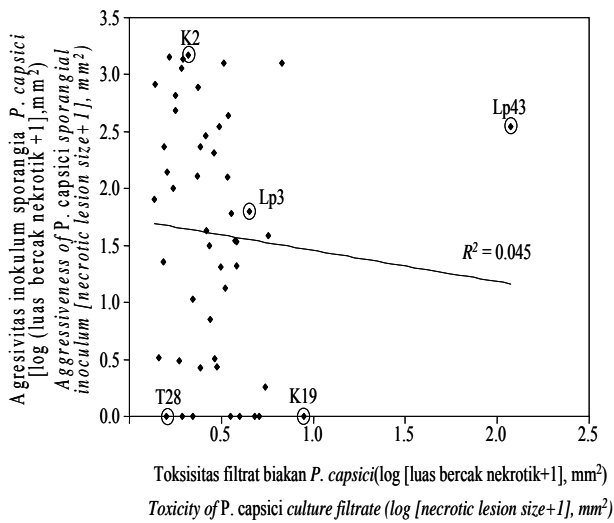
Dendrogram pengelompokan isolat berdasarkan jarak euclidian antar luas bercak nekrotik memperlihatkan bahwa agresivitas isolat tidak berkaitan dengan toksisitas FB (Gambar 3 dan 4). Isolat K19 yang tidak agresif (luas bercak 0,0 mm²) memiliki derajat toksisitas FB sedang

(luas bercak 7,9 mm²), sebaliknya isolat K2 dengan agresivitas tinggi (luas bercak 1.472,4 mm²) ternyata mempunyai derajat toksisitas FB yang rendah (luas bercak 1,1 mm²). Isolat Lp43 mempunyai inokulum sporangia yang beragresivitas sedang (luas bercak 349,1 mm²) dan juga menghasilkan FB dengan derajat toksisitas paling tinggi (luas bercak 117,1 mm²); isolat Lp3 memperlihatkan derajat agresivitas dan toksisitas FB dengan kategori sama-sama sedang (luas bercak berturut-turut 61,8 dan 3,5 mm²); sedangkan isolat T28 memperlihatkan derajat agresivitas dan toksisitas FB yang sama-sama rendah (luas bercak berturut-turut 0,0 dan 0,5 mm²). Uji Mantel (Mantel test) untuk membandingkan kedua matriks jarak euclidean menunjukkan tidak ada korelasi kuat antar kedua matriks ($r = 0,00661$; $P > 0,05$). Analisis korelasi sederhana juga menunjukkan bahwa toksisitas FB *P. capsici* berkorelasi negatif dan tidak signifikan dengan agresivitas inokulum sporangia ($r = -0,045$; $P > 0,05$; Gambar 5). Tidak adanya korelasi positif antara kedua agen seleksi ketahanan ini menunjukkan bahwa FB yang berasal dari isolat yang paling agresif tidak selalu dapat digunakan sebagai agen seleksi ketahanan lada.



Gambar 4. Pengelompokan toksisitas filtrat biakan 50 isolat *Phytophthora capsici* asal lada (*Piper nigrum*) berdasarkan matriks kesamaan jarak euclidean antar luas bercak nekrotik

Figure 4. Grouping of culture filtrate toxicity obtained from 50 *Phytophthora capsici* isolates from black pepper (*Piper nigrum*) based on euclidean distance similarities of necrotic lesion sizes



Gambar 5. Diagram sebar menggambarkan korelasi antara luas bercak nekrotik yang ditimbulkan oleh inokulum sporangia dan filtrat biakan *Phytophthora capsici* pada daun lada (*Piper nigrum*) varietas Natar-1 dan Petaling-1.

Figure 5. Scatter plot depicting correlation between necrotic lesion sizes induced by *Phytophthora capsici* sporangial inocula and culture filtrate on detached leaves of black pepper (*Piper nigrum*) cv. Natar-1 and Petaling-1.

Rendahnya korelasi antara agresivitas sporangia dengan toksisitas FB dapat disebabkan oleh dua hal. Pertama, metabolit di dalam FB *P. capsici* lebih berperan dalam perkembangan luas nekrosis dan bukan merupakan senyawa-senyawa *de novo* yang diproduksi oleh *P. capsici* selama proses infeksi atau penetrasi awal jaringan tanaman. Keadaan tersebut terungkap pada percobaan pendahuluan, bahwa FB tidak dapat menimbulkan nekrosis jika epidermis daun tidak dilukai (data tidak diperlihatkan), sedangkan inokulum sporangia mampu menghasilkan gejala nekrotik meskipun tanpa perlakuan pelukaan epidermis daun. Kedua, produksi senyawa metabolit yang toksik dipengaruhi oleh status nutrisi media pertumbuhan. Walaupun FB dalam percobaan ini disiapkan dari media cair V8 juice yang kadar nutrisinya tidak terukur/terstandardisasi (*undefined medium*), namun media ini juga telah digunakan untuk produksi toksin *P. capsici* oleh XIE dan ZHU (1997). Media terbaik untuk produksi optimal toksin *P. capsici* adalah media Plich dan Colonization Factor Broth (CFB) (XIAO *et al.*, 2002; LI *et al.*, 2004).

Tidak berkorelasi positifnya derajat agresivitas *P. capsici* dengan derajat toksisitas FB-nya menunjukkan bahwa secara umum FB *P. capsici* tidak dapat digunakan untuk seleksi dini ketahanan lada menggunakan teknik evaluasi daun lepas maupun untuk pendugaan derajat agresivitas isolat *P. capsici*. Namun demikian terdapat satu isolat (Lp43) yang memiliki toksisitas FB paling tinggi yang sebanding dengan derajat agresivitas inokulum sporangianya, sehingga FB yang diproduksinya berpotensi sebagai agen seleksi dini ketahanan lada (Gambar 5).

Beberapa senyawa metabolit yang bersifat toksik telah diidentifikasi dari FB *P. capsici*. Contohnya, glikoprotein dan protein dengan berat molekul berturut-turut 39,8 dan 41,9 kDa yang dihasilkan oleh *P. capsici* dapat menginduksi bercak lesio pada daun *Capsicum* dan dilaporkan dapat membedakan *Capsicum* yang telah diketahui tingkat ketahanannya terhadap *P. capsici* (XIE dan ZHU, 1997; ZHAO *et al.*, 2005). Protein elisitn *capsicein* berberat molekul ~10 kDa juga telah diisolasi dari FB *P. capsici* oleh KIM *et al.* (2010). Protein elisitn *palmivorein* dari *P. palmivora*, yang memiliki homologi 60% dengan *capsicein* dan protein-protein elisitn yang dihasilkan oleh spesies-spesies *Phytophthora* lain, dilaporkan dapat membedakan ketahanan tanaman karet pada dosis tertentu (CHURNGCHOW dan RATTARASARN, 2000). Dari ke-50 isolat *P. capsici* yang dianalisis, isolat K2 dan K19 memiliki derajat agresivitas berkebalikan dengan derajat toksisitas FB-nya; sedangkan Lp43, B63, dan T28 memiliki derajat agresivitas relatif sebanding dengan derajat toksisitas FB-nya. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk isolasi dan karakterisasi senyawa-senyawa toksik dari kelima isolat tersebut. Metabolit yang telah dipurifikasi akan memudahkan kuantifikasi dan pengulangan aplikasinya sebagai agen seleksi dini ketahanan dibandingkan dengan inokulum patogen atau FB-nya yang virulensinya bersifat kurang stabil (LEBEDA dan ŠVÁBOVÁ, 2010).

KESIMPULAN DAN SARAN

Sebanyak 24 dari 50 isolat *P. capsici* yang berasal dari pertanaman lada di Pulau Sumatera, Jawa, dan Kalimantan mempunyai agresivitas inokulum sporangia yang sedang sampai tinggi dengan luas bercak nekrotik >51,0 mm². Sebelas isolat mengalami penurunan, peningkatan, bahkan kehilangan agresivitas dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya, sehingga metode penyimpanan koleksi isolat perlu diperbaiki. Empat puluh dua isolat menghasilkan FB yang tidak toksik hingga bertoksitas rendah dengan luas bercak nekrotik <3,1 mm². Agresivitas inokulum sporangia tidak berkorelasi erat dengan toksisitas filtrat biakannya ($r = -0,045$; $P < 0,05$) sehingga seleksi dini ketahanan lada tidak dapat dilakukan dengan menggunakan filtrat biakan *P. capsici*. Oleh karena itu masih perlu dikembangkan metode inokulasi yang efektif dan konsisten untuk mendeteksi ketahanan lada secara dini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh program SINTA DIKTI dengan nomor proyek 939/KPTS/KP.340/I.9/05/2009. Kami berterima kasih pada Sdr. Sutrasman dan Wartono, MSi. atas bantuan di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- ALCONERO, R.M., F. ALBUQUERQUE, N. ALMEYDA, and A.G. SANTIAGO. 1971. *Phytophthora* foot rot of balck pepper in Brazil and Puerto Rico. *Phytopathology*. 62: 144-148.
- BORBA, C.M. and K.F. RODRIGUEZ. 2000. Viability and sporulating ability of Coelomycetes preserved under a range of different storage regimes. *Revista Iberoamericana de Micologia*. 17: 142-145.
- CHOWDAPPA, P., D. BRAYFORD, J. SMITH, and J. FLOOD. 2003. Molecular discrimination of *Phytophthora* isolates on cocoa and their relationship with coconut, black pepper and bell pepper isolates based on rDNA repeat and AFLP fingerprints. *Current Science*. 84: 1235-1238.
- CHURNGCHOW, N. and M. RATTARASARN. 2000. The elicitor secreted by *Phytophthora palmivora*, a rubber tree pathogen. *Phytochemistry*. 54: 33-38.
- DAHMEN, H., T.H. STAUB, and F.J. SCHWINN. 1983. Technique for long-term preservation of phytopathogenic fungi in liquid nitrogen. *Phytopathology*. 73:241-246.
- DIREKTORAT PERLINDUNGAN PERKEBUNAN. 2011. Rekapitulasi data Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) tahun 2010. Direktorat Jenderal Perkebunan, Departemen Pertanian. Jakarta. 54 hlm
- ELLIOTT, M.L. 2005. Survival, growth, and pathogenicity of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* with different methods of long-term storage. *Mycologia*. 97(4): 901-907.
- GOTH, R.W. 1981. An efficient technique for prolonged storage of *Phytophthora infestans*. *American Journal of Potato Research*. 58 (5): 257-260.
- HAMID, A., Y. NURYANI, R. KASIM, D. SITEPU, P. LAKSMANAHARDJA, dan P. WAHID. 1991. Natar-1, Natar-2, Petaling-1, dan Petaling-2 adalah varietas-varietas lada yang cocok untuk daerah Lampung dan Bangka. *Media Komunikasi Litbang Tanaman Industri*. 7: 42-52.
- HAUSBECK, M.K. and K.H. LAMOUR. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: research progress and management challenges. *Plant Disease*. 88(2): 1292-1303.
- HUSNI, A. dan M. KOSMIATIN. 2005. Seleksi *in vitro* tanaman lada untuk ketahanan terhadap penyakit busuk pangkal batang. *Jurnal Agrobiogen*. 1 (1): 13-19.
- KASIM, R. dan PRAYITNO. 1991. Inang pengganti *Phytophthora capsici* asal tanaman lada. Prosiding Seminar Sehari Penanggulangan Masalah Lada di Lampung. Bandar Lampung, 19 September 1991.
- KIM, Y.T., O. JONGHEE, K.-H. KIM, J.-Y. UHM, and B.-M. LEE. 2010. Isolation and characterization of NgRLK1, a receptor-like kinase of *Nicotiana glutinosa* that interacts with the elicitor of *Phytophthora capsici*. *Molecular Biology Reporter*. 37:717-727.
- LEBEDA, A. and L. ŠVÁBOVÁ. 2010. *In vitro* screening methods for assessing plant disease resistance. In: *Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Diseases*. IAEA. Vienna. pp. 5-46.
- LI, H.Y., W.Q. ZHAO, and X.M. YU. 2004. Study on the cultivation and distraction method of *P. capsici* toxin. *Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University* 1 (abstract). http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-HLJK200401002.htm (21 Maret 2012).
- LIU, J.P. and C.M. ZHENG. 2004. *In vitro* selection of black pepper (*Piper nigrum* Linn.) somaclones resistant to foot rot using culture filtrat of *Phytophthora capsici*. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*. 6 (abstract). <http://www.china-papers.com/?p=69795>. (19 Maret 2012).
- MANOHARA, D., D. WAHYUNO, dan R. NOVERIZA. 2005. Penyakit busuk pangkal batang tanaman lada dan strategi pengendaliannya. *Perkembangan Teknologi TRO*. XVII(2): 41-51.
- MANOHARA, D., P. WAHID, D. WAHYUNO, Y. NURYANO, I. MUSTIKA, I.W. LABA, J.T. YUHONO, A.M. RIVAL, dan SAEFUDIN. 2006. Status teknologi tanaman lada. Prosiding Status Teknologi Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri. Parungkuda-Sukabumi, 26 September 2006. pp. 1-57.
- MANTER, D.K., E.H. KOLODNY, E.M. HANSEN, and J.L. PARKE. 2010. Virulence, sporulation, and elicitor production in three clonal lineages of *Phytophthora ramorum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 74(5-6): 317-322.
- NANDAKUMAR, R., S. BABU, G. AMUTHA, T. RAGUCHANDER, and R. SAMIYAPPAN. 2007. Variation in toxin production among isolates of *Sarocladium oryzae*, the rice sheath rot pathogen. *Plant Pathology Journal*. 6(2): 120-126.
- QI, R. 2001. Effects of media on pathogenicity of *Phytophthora capsici*. *Journal of Agricultural Sciences* (abstract). http://en.cnki.com.cn/Journal_en/D-D000-AHNY-2001-01.htm (Mei 2012).
- RIBEIRO, O.K. 1978. A source book of the genus *Phytophthora*. J. Cramer. London. 417 p
- SITEPU, D. dan PRAYITNO. 1979. Uji resistensi varietas lada terhadap *Phytophthora palmivora* *in vitro*. *Pemberitaan L.P.T.I.* No. 35: 15-21.
- SMITH, D. and M.J. RYAN. 2004. Current status of fungal collections and their role in biotechnology. In: D.K. Arora (Ed.): *Handbook of Fungal Biotechnology*. Marcel Dekker. New York. pp. 527-538.
- WAHID, P., D. MANORHARA, D. WAHYUNO, dan A.M. RIZAL. 2006. Booklet pedoman budidaya tanaman lada

- (*Piper nigrum* Linn). Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri. 21 hlm.
- WAHYUNO, D. MANOHARA, D. dan R.T. SETIYONO. 2009. Ketahanan beberapa lada hasil persilangan terhadap *Phytophthora capsici* asal lada. Jurnal Littri. 15(2): 77-83.
- WAHYUNO, D., D. MANOHARA, N. SUSILOWATI. 2007. Variasi morfologi dan virulensi *Phytophthora capsici* asal lada. Buletin Plasma Nutfah. 13(2): 70-81.
- WEBB, K.M., A.L. HILL, J. LAUFMAN, L.E. HANSON, and L. PANELLA. 2011. Long-term preservation of a collection of *Rhizoctonia solani* using cryogenic storage. Annals of Applied Biology. 158:297-304.
- WENZEL, G. 1985. Strategy in unconventional breeding for disease resistance. Annual Review of Phytopathology 23: 149-172.
- XIAO, S.Q., T.R. LIU, and Y.H. ZUO. 2002. Preliminary study on toxin of *Phytophthora capsici*. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University. http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-HLJK200203007.htm (Maret 2012).
- XIE, B.Y. and G.R. ZHU. 1997. Phytophthora capsici phytotoxin. Mycosystema 4 (abstract). http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-JWXT199704009.htm (Maret 2012).
- ZHAO, W.Q., X.M. YU, and H.Y. LI. 2005. Purification and pathogenicity detection of the toxin produced by *Phytophthora capsici*. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University 1 (abstract). http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-HLJK200501004.htm (Maret 2012).