



Kajian Penggunaan Acuan Karakter Gejala untuk Deteksi *Seed Borne* pada Benih Padi

Dalam budidaya tanaman padi, tidak akan terlepas dari ancaman penyakit yang sering menyerang tanaman padi. Salah satu kendala untuk meningkatkan produksi padi baik kualitas maupun kuantitasnya adalah masalah penyakit. Sebagai upaya untuk mencegah atau mengurangi gangguan penyakit pada tanaman, maka usaha tani harus menggunakan benih yang bebas dari patogen.

Benih dapat terinfeksi oleh penyakit sejak dari pertanaman induk (*seedborne disease*). Patogen yang terbawa benih dapat menimbulkan penyakit pada tanaman itu sendiri dan dapat pula menjadi sumber infeksi pada tanaman lain. Patogen mungkin dapat menunjukkan gejala penyakit tetapi mungkin pula tidak. Hingga saat ini data di lapang menunjukkan bahwa masih banyak varietas benih padi yang terdeteksi patogen penyebab penyakit seperti cendawan, bakteri dan nematoda. Beberapa penyakit yang dilaporkan menyerang di lapang antara lain blas (*Pyricularia oryzae*), hawar pelepah (*Rhizoctonia solani*), bercak daun coklat, BLB (*Bacterial Leaf Blight*), tungro, bercak daun bergaris, BRS (Bakteri Red Stripe), bakanae, bakteri daun bergaris. Oleh karena itu diperlukan upaya pengendalian untuk menekan penyakit di lapang. Mengenali gejala serangan organisme pengganggu tanaman dengan tepat sangat penting dilakukan karena akan menentukan tindakan pengendalian. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah melalui kegiatan pemeriksaan gejala penyakit pada tanaman di lapang dan mengambil benih dari tanaman bergejala tersebut untuk pemeriksaan lebih lanjut di laboratorium guna mendeteksi keberadaan patogen. Benih yang diambil dari tanaman bergejala



diduga benih tersebut berpotensi terinfeksi suatu jenis penyakit, sehingga patogen dapat dideteksi lebih dini dan diharapkan mampu mencegah benih dari infeksi penyakit yang dapat mengganggu perkecambahan dan pertumbuhan benih yang berakibat merugikan kualitas dan kuantitas hasil.

Pengujian mutu benih di laboratorium dilakukan untuk mengetahui mutu benih yang akan diedarkan. Berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 12/Permentan/TP.020/4/2018 tentang Produksi, Sertifikasi, dan Peredaran Benih Tanaman terdapat pernyataan pada pasal 19 ayat 2b yang menyebutkan bahwa prosedur sertifikasi benih bina sebagaimana dimaksud pada ayat (1) melalui: pengujian laboratorium untuk menguji mutu benih yang terdiri atas mutu fisik, fisiologis, dan/atau tanpa kesehatan benih, sedangkan untuk kemurnian genetik diambilkan dari hasil pemeriksaan lapangan.

Sesuai dengan Permentan tersebut pengujian lebih ditekankan kepada kemurnian (campuran varietas lain), campuran biji gulma dan kotoran, daya tumbuh, dan kadar air benih. Sementara itu, uji kesehatan benih belum sepenuhnya dimasukkan sebagai salah satu kriteria dalam program sertifikasi benih, meskipun pengujian tersebut telah dilakukan secara rutin terhadap contoh benih yang diperiksa. Salah satu alasannya adalah adanya kekhawatiran makin langkanya keberadaan benih bersertifikat di lapang. Dengan pertimbangan bahwa patogen tular benih memegang peran penting dalam penyebaran dan perkembangan epidemik penyakit pada beberapa komoditi, maka secara bertahap uji kesehatan benih perlu dimasukkan ke dalam proses sertifikasi benih.



Pada tahun 2021, salah satu kegiatan pengembangan metode di Balai Besar PPMBTPH adalah melakukan Pengkajian Penggunaan Acuan Karakter Gejala untuk Deteksi *Seed Borne* Patogen Pada Benih Padi. Melalui kegiatan ini diharapkan dapat diperoleh informasi gejala penyakit di lapang yang dapat digunakan untuk menentukan karakter gejala dalam deteksi patogen pada benih padi.

Selama ini, metode kultur merupakan metode standar untuk mendeteksi patogen. Untuk mendukung keakuratan hasil uji metode standar, maka diperlukan konfirmasi melalui metode pengujian yang lebih akurat berbasis asam nukleat menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Salah satu kegiatan pengembangan dan validasi metode pada TA. 2021 adalah melaksanakan Pengkajian Penggunaan Acuan Karakter Gejala untuk Deteksi *Seed Borne* Patogen Pada Benih Padi. Tujuannya adalah 1) Menginventarisasi dan mendapatkan acuan karakter gejala penyakit utama pada benih padi; 2) Mendapatkan metode cepat yang efektif untuk mendeteksi *seed borne* patogen utama pada benih padi.

Pelaksanaan kegiatan pengkajian dilaksanakan mulai bulan Januari-Desember 2021 di Tasikmalaya, Garut, Subang, Boyolali, dan Balai Besar PPMBTPH. Adapun bahan-bahan yang diperlukan antara lain: benih padi dari tanaman bergejala di lapang, bahan-bahan untuk pengujian patogen cendawan, bakteri dan nematoda terbawa benih. Peralatan yang digunakan meliputi peralatan standar di laboratorium mikrobiologi cendawan, bakteri dan nematoda diantaranya adalah *autoclave*, *freezer*, *laminair air flow*, lampu NUV, mikroskop stereo, mikroskop compound, cawan petri, object glass dan *cover glass*, jarum ose, *dreglaski*, *vortex*, jarum probes, gelas ukur, saringan benih,



inkubator, jarum probes, *sprayer bunsen*, *eppendorf*, pipet mikro, dan *sentrifuge*.

Prosedur pelaksanaan pengkajian dilaksanakan dengan metode sebagai berikut:

- a. Pengumpulan data/informasi serangan penyakit pada pertanaman padi di lapang dan penentuan lokasi target pengamatan gejala;
- b. Pengamatan gejala di lapang dan pengambilan sumber inokulum/benih dari lokasi target, pencatatan dan dokumentasi gejala penyakit yang dapat dilihat pada benih;
- c. Identifikasi penyebab gejala melalui pelaksanaan pengujian di laboratorium untuk mendeteksi patogen utama yang terbawa benih padi. Pengujian dilakukan oleh analis di Laboratorium Balai Besar PPMBTPH yang meliputi deteksi patogen (cendawan, bakteri dan nematoda) yang diduga terbawa benih. Pengujian cendawan dilakukan menggunakan metode blotter test, pengujian bakteri menggunakan metode *liquid assay*, sedangkan pengujian nematoda menggunakan metode ISTA Rules/ISTA Rules yang dimodifikasi. Untuk konfirmasi kebenaran patogen yang terdeteksi pada benih dilakukan pengujian berbasis DNA melalui uji PCR khususnya dalam deteksi bakteri *Xanthomonas oryzae pv oryzae* (XOO) dan *Burkholderia glumae* (BG) untuk mendapatkan metode uji alternatif yang lebih cepat dibanding metode konvensional;
- d. Pengamatan secara fisik terhadap beberapa varietas benih yang telah diambil dari tanaman bergejala. Pengamatan fisik dilakukan secara visual sebelum benih diuji dengan metode blotter test. Uji laboratorium ini dimaksudkan untuk



mengkonfirmasi apakah dengan gejala penyakit yang muncul pada tanaman dapat diidentifikasi patogen penyebab penyakit yang menginfeksi benih, selain itu untuk mengetahui apakah benih dengan warna tertentu (seperti bercak coklat) dapat menunjukkan adanya infeksi dari suatu jenis penyakit;

- e. Verifikasi hasil uji laboratorium yang dilakukan oleh Analis;
- f. Inventarisasi data hasil identifikasi patogen yang diduga berperan dalam timbulnya serangan penyakit di lapang;
- g. Pengolahan data berupa hasil identifikasi jenis penyakit yang ditemukan dianalisis secara deskriptif dilengkapi dengan gambar gejala di lapang dan patogen yang ditemukan sehingga tersusun acuan karakter gejala pada benih padi yang berasosiasi dengan patogen tertentu;
- h. Penyusunan laporan dan rekomendasi

Penyakit yang menyerang tanaman padi antara lain; penyakit blas disebabkan oleh *Pyricularia oryzae*, penyakit bercak coklat disebabkan oleh *Helminthosporium oryzae*, penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *Sclerotium oryzae*, dan penyakit hawar daun yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani*. Dengan mengacu pada pernyataan tersebut dapat digunakan sebagai dasar dalam melakukan pengkajian gejala penyakit di lapang.

Hasil Pengamatan Gejala Di Lapang

Lokasi pengambilan sampel merupakan lahan pertanaman padi yang diketahui menunjukkan adanya suatu gejala penyakit tertentu berdasarkan informasi dari pemilik lahan atau Petugas Penyuluh Lapang (PPL)



setempat. Hasil pengamatan di beberapa lokasi pertanaman padi ditemukan berbagai gejala penyakit diantaranya adalah penyakit blas, kressek, bercak coklat sempit, busuk bulir, false smut, busuk pelepah, hawar pelepah dan bulir kotor. Penyakit tanaman di lapangan dapat dikenali berdasarkan tanda dan gejala penyakit. Tanda penyakit merupakan bagian mikroorganisme patogen yang dapat diamati dengan mata biasa yang mencirikan jenis penyebab penyakit tersebut. Misalnya miselia yang berbentuk seperti kapas, merupakan salah satu tanda jamur patogen yang menginfeksi tanaman tersebut. Gejala pada umumnya sangat spesifik tergantung pada spesies yang menginfeksi, sehingga gejala penyakit tersebut dapat dipergunakan untuk mengidentifikasi jenis patogen yang menginfeksi di lapang. Berikut adalah gambaran gejala penyakit yang ditemukan di lapang dengan karakter gejalanya:

a. Penyakit Blast

Pada lahan pertanaman milik CV. Viona di daerah Subang terlihat adanya gejala awal blast daun (*leaf blast*) ditandai dengan timbulnya bercak pada daun yang berbentuk bulat, belah ketupat, melebar, dan meruncing di kedua ujungnya. Bercak yang berkembang bagian tengahnya menjadi warna abu-abu. Penyakit yang disebabkan cendawan *Pyricularia oryzae* ini mulai menyerang padi pada fase vegetatif umur 15-45 HST. Penyakit ini kerap disebut blast daun atau *leaf blast*. Tanaman padi yang terserang blast daun bisa kehilangan hasil 50% karena serangannya lebih awal sehingga tanaman tidak bisa produksi



Gambar 51. Gejala penyakit Blast

b. Penyakit Kresek

Gejala yang terlihat secara visual di salah satu pertanaman padi varietas Cakrabuana milik petani di Kabupaten Garut merupakan gejala penyakit kresek atau hawar daun bakteri (HDB). Gejala yang timbul dimulai dari tepi daun, berwarna keabu-abuan dan lama-lama kedua tepi daun menjadi kering. Pada varietas rentan, gejala menjadi sistemik dan mirip gejala terbakar. Apabila penularan terjadi pada saat tanaman berbunga maka gabah tidak terisi penuh bahkan hampa. Penyakit ini disebabkan karena bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.



Gambar 52. Gejala penyakit Kresek

c. Penyakit Bercak Coklat Sempit

Berdasarkan hasil pengamatan di pertanaman padi Varietas Inpari Blast di daerah Boyolali terlihat



adanya gejala penyakit bercak coklat sempit pada permukaan daun. Bercak coklat sempit ini merupakan salah satu penyakit yang menyerang tanaman padi yang disebabkan oleh jamur *Cercospora oryzae*. Gejala yang mudah dikenali dari penyakit bercak coklat sempit ini adalah pada daun dan pelepah terdapat bercak pendek sempit seperti garis-garis berwarna coklat memanjang sejajar dengan tulang daun, dengan ukuran panjang 2-10 mm dan lebar 1 mm. Penyakit bercak daun coklat sempit ini dilaporkan dapat menyebabkan kerugian sebesar 10% hampir di seluruh wilayah penghasil padi. Penularan biasanya terjadi melalui udara dan inang alternatif. Suhu udara yang panas serta diselingi hujan akan mempercepat pertumbuhan jamur ini. Penyakit bercak daun tersebar diseluruh daerah penghasil padi di Jawa.



Gambar 53. Gejala penyakit bercak coklat sempit

d. Penyakit *False Smut*

Gejala penyakit *false smut* atau biasa disebut dengan jamur oncom ini ditemui di lahan padi di daerah Subang. Penyakit ini disebabkan oleh serangan jamur *Ustilaginoidea virens* yang merupakan salah satu penyakit yang menyerang tanaman padi menjelang panen. Penyakit ini



muncul dengan gejala pada bulir padi seperti meletus dan diselimuti gumpalan bertepung kuning (berjamur) seperti oncom. Pemicunya adalah karena tanaman padi terlalu banyak mendapat pupuk nitrogen (urea). Selain itu juga bisa terjadi karena kondisi tanaman padi yang terlalu lembab sehingga dapat memicu pengembangbiakan jamur ini. Penyakit ini muncul di pertanaman padi pada saat keluar malai dan hanya menyerang pada beberapa bulir padi dalam satu malai. Sehingga tingkat kerugian yang ditimbulkan tidak separah dengan penyakit yang disebabkan oleh blast dan bakteri *Xanthomonas*. Meskipun demikian penyakit ini tetap harus diwaspadai karena bulir padi yang dipenuhi spora kuning membuat hasil panen menjadi kotor dan menurunkan produktivitas tanaman.



Gambar 54. Gejala penyakit Ustilago

e. Penyakit Busuk Bulir

Ciri-ciri yang terlihat pada tanaman padi yang terserang penyakit busuk bulir di daerah Subang terlihat ranting malainya tegak berwarna hijau, tulang cabang malai berwarna hijau, malai membentang ke atas karena biji tidak terisi penuh. Bagian bulir yang berwarna cokelat membusuk dan bila kulit biji padinya (kulit gabah) dibuka kemudian



ditekan, maka bulir menjadi lunak sehingga gejala ini disebut rice grain rot disease. Penyakit busuk bulir (*bacterial grain rot* (BGR)) pada padi disebabkan bakteri *Burkholderia glumae*. Bakteri ini diketahui dapat terbawa benih sehingga berpotensi dapat menyebar dengan cepat. Faktor-faktor seperti importasi benih, perubahan iklim global dan cara budidaya diduga berhubungan dengan terjadinya ledakan penyakit ini.



Gambar 55. Gejala penyakit busuk bulir

f. Penyakit Busuk Pelepah

Gejala penyakit busuk pelepah ini ditemukan di lahan padi di daerah Subang. Gejala secara visual terlihat infeksi pada bagian pelepah yang membungkus malai (daun paling atas). Gejala awal bercak berbentuk bulat atau oval, berukuran 0,5-1,5 cm, warna abu abu di tengahnya dan coklat abu-abu dipinggirnya. Bercak melebar menutupi seluruh pelepah daun. Infeksi yang berat mengakibatkan malai tidak muncul sama sekali, sebagian muncul dan muncul semua tapi hampa. Infeksi penyakit busuk pelepah mengakibatkan bulir hampa dan berpotensi gagal panen apabila infeksi dalam skala luas. Busuk pelepah merupakan penyakit padi yang disebabkan oleh jamur patogen *Sarocladium oryzae* dengan sinonim *Acroclindrium oryzae*. Busuk pelepah merupakan penyakit padi



yang masih tergolong rendah pada saat ini, sehingga masih dikelompokkan dalam minor disease.



Gambar 56. Gejala penyakit busuk pelepah

g. Penyakit Bulir Kotor (*Dirty Panicle*)

Gejala penyakit bulir kotor yang terlihat pada tanaman berupa bulir padi yang berwarna hitam serta beberapa jenis bercak yang ditemukan pada bulir padi. Bercak-bercak pada daun berwarna coklat atau hitam, atau *stripes* berwarna hitam kecoklatan atau *stripes* abu-abu merah muda. Penyakit bulir kotor merupakan salah satu penyakit penting yang terdapat pada tanaman padi. Penyakit bulir kotor disebabkan oleh berbagai jamur patogen diantaranya adalah *Curvularia lunata*, *Cercospora oryzae*, *Altenaria padwickii*, *Fusarium moniliforme*, *Sarocladium oryzae*, *Helminthosporium oryzae* dan *Bipolaris oryzae*. Penyakit bulir kotor dapat merusak hasil padi dan mengurangi kualitas benih seperti persentase perkecambahan dan biasanya menginfeksi tanaman padi sebelum dan sesudah panen.



Gambar 57. Gejala penyakit bulir kotor

h. Penyakit Hawar Pelepah

Penyakit hawar pelepah padi yang disebabkan oleh jamur *Rhizoctonia solani*. Keparahan penyakit hawar pelepah terus meningkat akhir-akhir ini di Indonesia, terutama di daerah pertanian padi yang intensif. Penanaman padi varietas unggul tipe pendek dan beranakan banyak makin tersebar luas; di samping itu, ada kecenderungan pemberian pupuk nitrogen dengan dosis tinggi di lapang. Penyakit hawar pelepah dicirikan bercak pertama timbul dari pelepah daun bagian bawah dan selanjutnya berkembang ke pelepah atau helai daun bagian atasnya. Pada awalnya bercak berwarna kelabu kehijau-hijauan, berbentuk oval atau elips dengan panjang 1-3 cm, pada pusat bercak warna menjadi putih keabu-abuan dengan tepi berwarna coklat.



Gambar 58. Gejala penyakit hawar pelepah

Pengamatan Fisik Benih

Selain pengamatan gejala penyakit juga dilakukan pengambilan contoh benih dari tanaman yang bergejala. Hasil pengambilan contoh benih dari lapang kemudian dirontokkan dari malainya dan dikeringanginkan selama satu hari. Selanjutnya dilakukan pengamatan pada benih secara visual dengan tujuan untuk mengetahui tampilan fisik benih. Hasil pengamatan visual pada contoh benih varietas Inpari 43, terlihat banyak benih dengan bercak coklat di permukaan kulitnya. Bercak coklat tersebut dapat terjadi pada hampir sebagian besar atau sebagian kecil permukaan benih yang tampak seperti spot-spot kecil. Untuk mengetahui apakah bercak coklat tersebut dapat menunjukkan adanya suatu infeksi cendawan tertentu, maka dilakukan pengujian cendawan dengan metode *blotter test*.



Gambar 59. Hasil pengamatan visual pada benih sebelum proses inkubasi



Gambar 60. Pengujian benih dengan metode *blotter* (*plating* benih di atas kertas filter)



Gambar 61. Proses Inkubasi benih dalam ruang inkubator

Tahap pengujian cendawan dilakukan pada 100 butir benih dengan tiap ulangan terdiri dari 25 butir. Pada pengujian cendawan, ketika dilakukan pengamatan secara visual sebelum proses inkubasi, benih yang menunjukkan adanya bercak coklat pada sebagian besar atau sebagian kecil permukaan kulit benihnya (berupa spot), ternyata setelah mengalami inkubasi beberapa hari dan dilakukan pengamatan di bawah mikroskop ternyata pada bercak coklat tersebut tidak selalu menunjukkan infeksi suatu cendawan tertentu. Namun sebaliknya benih yang sebelum diinkubasi terlihat bersih (tanpa bercak coklat), belum tentu setelah diinkubasi benih tersebut tidak terinfeksi suatu jenis cendawan. Benih yang menunjukkan adanya bercak coklat baik pada seluruh atau sebagian besar permukaan kulitnya, namun tidak terdeteksi cendawan yang menginfeksi benih. Hal ini diduga bercak coklat tersebut dapat disebabkan karena manifestasi jenis patogen yang lain seperti bakteri atau nematoda.

Hasil Uji Laboratorium

Benih yang diambil dari lapang yang menunjukkan gejala penyakit tersebut kemudian dikonfirmasi melalui uji laboratorium untuk mengetahui keberadaan patogen penyebab penyakit tersebut dengan metode:



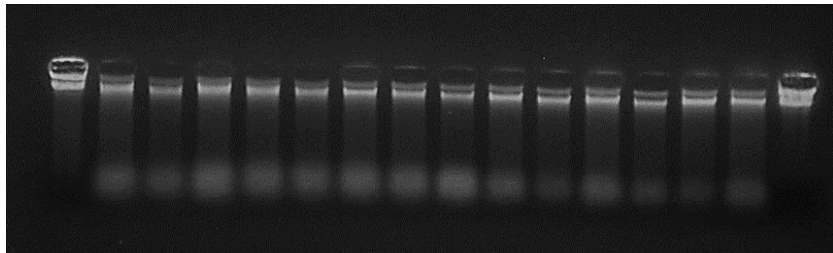
- a. Uji laboratorium berbasis DNA dengan teknik PCR
Pengujian dilakukan menggunakan teknik PCR metode Sambrook (1989) dengan target pengujian bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) dan *Burkholderia glumae* (BG) terhadap lima (5) varietas (Inpari 33, Cakrabuana, Lokal Bengkulu, Lokal Bandawe, dan Inpari Blas).

Tabel 44. Hasil pengujian kualitas kuantitas DNA

No.	Contoh	Varietas	Asal Lokasi	Lamda 260	Lamda 280	Kemurnian DNA (Lamda 260/280)	Konsentrasi DNA ugr/ml
1	L453	Inpari 33	Tasikmalaya	0,340 ; 0,310	0,170 ; 0,152	2,0 ; 2,0	335 ; 310
2	L459	Cakrabuana	Garut	0,362 ; 0,325	0,174 ; 0,162	2,0 ; 2,0	363 ; 323
3	L456	Lokal Bengkulu	Tasikmalaya	0,284 ; 0,321	0,137 ; 0,155	2,0 ; 2,0	288 ; 324
4	L462	Lokal Bandawe	Garut	0,370 ; 0,335	0,178 ; 0,160	2,0 ; 2,0	373 ; 340
5	L471	Cakrabuana	Garut	0,305 ; 0,164	0,098 ; 0,081	2,0 ; 2,0	310 ; 167
6	L474	Lokal Bandawe	Garut	0,203 ; 0,254	0,099 ; 0,105	2,0 ; 2,0	208 ; 219
7	L1680	Inpari Blas	Boyolali	0,206 ; 0,174	0,110 ; 0,086	1,9 ; 2,0	200 ; 175

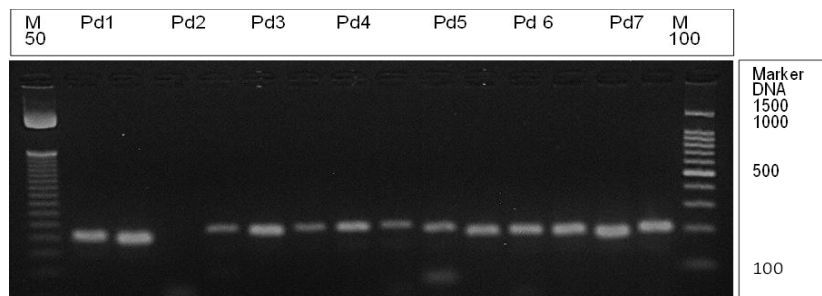
Kualitas DNA bakteri BG hasil ekstraksi dianalisis dengan menggunakan *gel agarose* 3%, kemudian divisualisasikan dengan UV transiluminator. Data tingkat kemurnian DNA dari hasil metode ekstraksi benih pada masing-masing sampel serta hasil visualisasi elektroforesis isolasi DNA terlihat seperti pada Tabel 46 di atas. Berdasarkan data yang diperoleh tingkat kemurnian DNA berkisar antara 1,9-2,0. Hasil ekstraksi dengan rasio 1,8-2,0 merupakan DNA dengan kemurnian yang tinggi dan tidak terkontaminasi dengan residu protein.

λDNA	Pd1	Pd2	Pd3	Pd4	Pd5	Pd6	Pd7	λDNA
------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	------



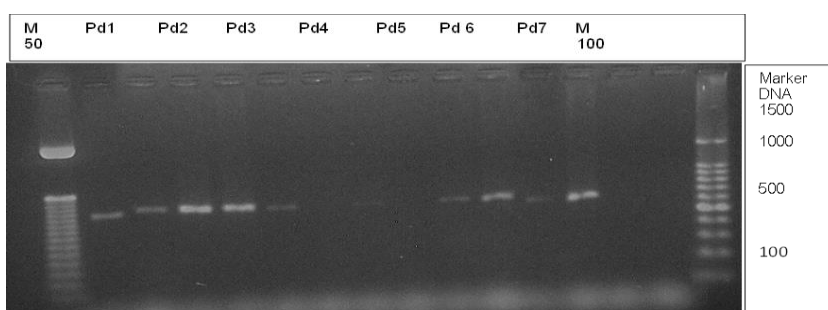
Gambar 62. Visualisasi hasil isolasi ekstraksi padi L 453 (1), L459 (2), L456 (3), L462 (4), L471 (5), L474 (6), L1680 (7)

Visualisasi elektroforesis hasil ekstraksi DNA seperti yang ditampilkan pada Gambar 80, terlihat bahwa semua sampel menunjukkan adanya pita DNA.



Gambar 63. Visualisasi hasil PCR identifikasi BG padi L 453 (1), L459 (2), L456 (3), L462 (4), L471 (5), L474 (6), L1680 (7)

Semua sampel uji terkonfirmasi sebagai bakteri BG. Namun pada sampel uji nomor 459 yang sudah terverifikasi tersebut tidak muncul pada ulangan ke-1. Keberadaan bakteri BG pada sampel tersebut ditunjukkan oleh munculnya pita DNA pada ukuran 200 bp. Hal ini menunjukkan bahwa analisis sampel uji berbasis PCR yang dilakukan pada kegiatan ini telah memberikan hasil yang optimal.



Gambar 64. Visualisasi hasil PCR identifikasi Xoo pada sampel padi L453 (1), L459 (2), L456 (3), L462 (4), L471 (5), L474 (6), L1680 (7)

Terlihat bahwa 5 (lima) sampel uji terkonfirmasi sebagai bakteri Xoo. Namun pada sampel uji nomor 462 dan 1680 tidak muncul pita DNA. Keberadaan bakteri Xoo pada sampel-sampel tersebut ditunjukkan oleh munculnya pita DNA pada ukuran 650 bp.

Tabel 45. Hasil Pengujian PCR identifikasi BG dengan primer (*Burkholderia glumae*) dan Xoo dengan primer (*Xanthomonas oryzae pv oryzae*)

No.	Contoh	Varietas	Asal Lokasi	Identifikasi BG	Identifikasi Xoo	Keterangan
1	L453	Inpari 33	Tasikmalaya	Positif: 200 bp	Positif: 650 bp	Primer spesifik yang digunakan adalah
2	L459	Cakrabuana	Garut	Positif: 200 bp	Positif: 650 bp	<i>Xanthomonas oryzae pv oryzae</i> :
3	L456	Lokal Bengkulu	Tasikmalaya	Positif: 200 bp	Positif: 650 bp	5'-GCATGACGTCATCGTCTGT-3' untuk forward dan 5'-CTCGGAGCTATATGCCGTGC-3' untuk reverse
4	L462	Lokal Bandawe	Garut	Positif: 200 bp	Negatif:-	
5	L471	Cakrabuana	Garut	Positif: 200 bp	Positif: 650 bp	<i>Burkholderia glumae</i> :
6	L474	Lokal Bandawe	Garut	Positif: 200 bp	Positif: 650 bp	5'TGGGTAGTCTCTGTAGGAA-3' untuk forward dan 5'-TCATCTCTGACTGGCTCAA-3' untuk reverse dengan panjang produk 164 bp
7	L1680	Inpari Blas	Bojolali	Positif: 200 bp	Negatif:-	

Hasil identifikasi PCR bakteri Xoo adalah 650 bp, sedangkan sesuai dengan referensi panjang produk bakteri Xoo adalah 470 bp. Perbedaan tersebut diduga karena spesifik suhu melting (spesifikasi primer) program PCR dan produk PCR kit yang digunakan. Sampel-sampel uji tersebut dibandingkan dengan hasil uji secara *liquid assay* terkonfirmasi sebagai sampel uji yang positif



terinfeksi Xoo. Faktor penyebab tidak diperolehnya pita DNA pada sampel nomor 462 dan 1680 kemungkinan terkait dengan kondisi DNA cetakan yang belum optimum, sehingga perlu dilakukan pengecekan ulang baik konsentrasi optimum maupun kemurnian dari sampel DNA yang digunakan dalam analisis PCR.

b. Uji laboratorium secara konvensional

Pengujian dengan metode konvensional meliputi deteksi dan identifikasi patogen yang terbawa benih seperti; cendawan, bakteri dan nematoda. Identifikasi cendawan dilakukan menggunakan metode *blotter test* untuk semua jenis cendawan yang terdeteksi pada benih, sedangkan identifikasi bakteri menggunakan metode *liquid assay* dan teknik PCR dengan target bakteri *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* (Xoo) dan *Burkholderia glumae* (BG), serta identifikasi nematoda *Aphelenchoides besseyi* menggunakan metode *ISTA Rules*. Hasil identifikasi patogen pada beberapa varietas benih padi dengan gejala penyakit di lapang tersebut dapat dilihat pada tabel di bawah ini.



Tabel 46. Hasil identifikasi cendawan pada beberapa varietas benih padi

No.	Varietas/Galur	Asal Lokasi	Gejala Di lapang dan Cendawan Target	Blotter Test
1	Inpari 33	Tasikmalaya	-	<i>Acremonium</i> sp., <i>Alternaria padwickii</i> , <i>Aspergillus</i> sp., <i>Bipolaris oryzae</i> , <i>Botrytis cinere</i> , <i>Cladosporium</i> sp., <i>Curvularia</i> sp., <i>Colletotrichum</i> sp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Phoma</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Tilletia barclayana</i> , <i>Trichothecium</i> sp.
2	Lokal Bengkulu	Tasikmalaya	-	<i>Alternaria padwickii</i> , <i>Aspergillus</i> sp., <i>Bipolaris oryzae</i> , <i>Curvularia</i> sp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Trichothecium</i> sp.
3	Cakrabuana	Garut	Blas (Po)	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Bipolaris oryzae</i> , <i>Cladosporium</i> sp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Pyricularia oryzae</i> , <i>Trichothecium</i> sp.,
4	Lokal Bandawe	Garut	-	<i>Acremonium</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Colletotrichum</i> sp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Trichothecium</i> sp., <i>Sarocladium oryzae</i> .
5	Inpari 32	Subang	Bercak coklat sempit (Co)	<i>Alternaria padwickii</i> , <i>Curvularia</i> sp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Phoma</i> sp.
6	Inpari 42	Subang	Busuk pelepah (So), Hawar pelepah (Rs)	<i>Alternaria padwickii</i> , <i>Cladosporium</i> sp., <i>Curvularia</i> sp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Trichothecium</i> sp.
7	Inpari 43	Subang	Blast (Po)	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Alternaria padwickii</i> , <i>Bipolaris oryzae</i> , <i>Curvularia</i> sp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Trichothecium</i> sp., <i>Tilletia barclayana</i> .

Keterangan :

Co: *Cercospora oryzae*, *Rizoctonia solani* (Rs), So : *Sarocladium oryzae*, Uv: *Ustilagoideia virens*

Tanda -: Tidak muncul gejala pada tanaman

Hasil identifikasi cendawan terbawa benih di laboratorium menunjukkan sebagian besar benih padi yang diuji terdeteksi berbagai jenis cendawan. Secara umum terdiri dari cendawan *Acremonium* sp., *Alternaria padwickii*, *Aspergillus* sp., *Bipolaris oryzae*., *Botrytis cinere*, *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* spp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp., *Rhizopus* sp., *Sarocladium oryzae*, *Tilletia barclayana*, dan *Trichothecium* sp. Beberapa dari jenis cendawan tersebut adalah penyebab penyakit bulir kotor seperti *Curvularia lunata*, *Cercospora oryzae*, *Altenaria padwickii*, dan *Sarocladium oryzae*.

Bulir kotor adalah salah satu penyakit yang paling penting dalam produksi padi di Thailand. Penyakit ini disebabkan oleh beberapa spesies jamur termasuk *Curvularia lunata*, *Bipolaris oryzae*,



Fusarium incarnatum, *Sarocladium oryzae*, *Alternaria padwickii* dan *Cercospora oryzae*.

Data pada tabel menunjukkan pada tanaman bergejala blas, Varietas Cakrabuana terdeteksi cendawan penyakit (*Pyricularia blast*), namun pada varietas Inpari 43 tidak terdeteksi cendawan tersebut. Tabel tersebut juga menunjukkan bahwa tidak semua gejala penyakit yang terlihat pada tanaman terdeteksi cendawan target penyebab penyakit yang menginfeksi benih, seperti penyakit bercak coklat sempit yang disebabkan oleh cendawan *Cercospora oryzae*, busuk pelepah jamur oleh *Sarocladium oryzae* dan hawar pelepah oleh *Rizoctonia solani*.

Sementara itu hasil pengamatan di lapang terkait kemunculan gejala penyakit yang disebabkan oleh bakteri, baik pada tanaman yang bergejala maupun tidak bergejala berdasarkan hasil uji di laboratorium menggunakan metode liquid assay pada semua varietas terdeteksi bakteri penyebab penyakit kresek.

Tabel 47. Hasil identifikasi bakteri pada padi dengan metode *Liquid assay*

No.	Varietas/galur	Asal lokasi	Gejala di lapang dan bakteri target	Liquid Assay
1	Inpari 33	Tasikmalaya	Kresek (XOO)	+ (Xoo)
2	Lokal Bengkulu	Tasikmalaya	Kresek (XOO)	+ (Xoo)
3	Inpari 32	Subang (Panen: 18/5/2021)	-	+ (Xoo)
4	Mekongga	Subang	-	+ (Xoo)
5	Inpari 32	Subang (Panen: 19/5/2021)	-	+ (Xoo)
6	Inpari 43	Subang	-	+ (Xoo)

Tanda +: Positif terdeteksi

Tanda -: Tidak muncul gejala pada tanaman

Namun terlihat berbeda hasil uji dengan menggunakan teknik PCR, dimana benih yang



bergejala kresak atau tidak, pada semua varietas terdeteksi adanya bakteri Xoo. Bahkan dengan metode PCR, hasil uji dapat mendeteksi bakteri BG meskipun pada kelima varietas yang diuji tidak terlihat adanya gejala penyakit tersebut saat pengamatan di lapang.

Tabel 48. Hasil identifikasi bakteri beberapa varietas benih padi dengan teknik PCR

No	Varietas/galur	Asal Lokasi	Gejala di lapang dan bakteri target	Uji PCR
1	Inpari 33	Tasikmalaya	Kresak (Xoo)	+ (BG); + (Xoo)
2	Lokal Bengkulu	Tasikmalaya	Kresak (Xoo)	+ (BG); + (Xoo)
3	Cakrabuana	Garut	Kresak (Xoo)	+ (BG); + (Xoo)
4	Lokal Bandawe	Garut	Kresak (Xoo)	+ (BG); + (Xoo)
5	Inpari Blast	Boyolali dari Biogen	-	+ (BG); - (Xoo)

Tanda +: Positif terdeteksi

Tanda -: Tidak muncul gejala pada tanaman

Hasil uji di laboratorium menggunakan metode ISTA Rules dengan target nematoda penyebab penyakit pucuk putih (*white tip*) yaitu *Aphelenchoides besseyi*. Meskipun tidak terlihat gejala di lapang pada tanaman namun terdeteksi nematoda target pada kelima varietas dengan jumlah spesimen > 300 sebanyak 2 varietas, 4 varietas lainnya dengan jumlah spesimen ≤ 10 spesimen, sedangkan pada 3 varietas tidak terdeteksi (0).

Tabel 49. Hasil identifikasi nematoda beberapa varietas benih padi

No.	Varietas/galur	Asal Lokasi	Gejala di lapang	Nematoda (spesimen)
1	Inpari 33	Tasikmalaya	-	402
2	Lokal Bengkulu	Tasikmalaya	-	418
3	Cakrabuana	Garut	-	1
4	Inpari 32	Subang	-	0
5	Mekongga	Subang	-	0
6	Inpari 42	Subang	-	0
7	Inpari 43	Subang	-	2
8	Ciherang	Subang	-	1
9	Inpari Blas	Boyolali dari Biogen	-	10

Untuk dapat mendeteksi jenis patogen target penyebab penyakit yang menginfeksi benih dari tanaman bergejala di lapang sangat dibutuhkan ketelitian yang



tinggi dari analisis pada saat melakukan pengujian di laboratorium, terutama dalam proses identifikasi cendawan dan nematoda secara mikroskopis.

Berdasarkan hasil pelaksanaan kegiatan diperoleh kesimpulan bahwa:

- a. Beberapa data hasil pemeriksaan gejala di lapang dapat digunakan sebagai acuan penggunaan karakter gejala untuk deteksi patogen penyebab penyakit terbawa benih padi;
- b. Dalam pengujian cendawan, benih dengan bercak coklat atau tanpa bercak coklat dapat terdeteksi beberapa jenis cendawan antara lain: *Acremonium* sp., *Alternaria padwickii*, *Aspergillus* sp., *Bipolaris oryzae*, *Botrytis cinere*, *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* spp., *Nigrospora* sp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp., *Rhizopus* sp., *Tilletia barclayana* dan *Trichothecium* sp;
- c. Benih dengan gejala penyakit kresak di lapangan terkonfirmasi melalui hasil uji laboratorium dengan metode *Liquid Assay*;
- d. Benih dengan gejala penyakit *blast* di lapangan yang terkonfirmasi melalui hasil uji laboratorium hanya varietas Cakrabuana;
- e. Serangan penyakit busuk bulir yang disebabkan oleh bakteri *Burkholderia glumae* banyak ditemukan pada pertanaman padi;
- f. Hasil pengujian berbasis PCR untuk deteksi bakteri *Burkholderia glumae* (BG) dan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) telah memberikan hasil yang optimal dan dapat digunakan sebagai metode alternatif uji cepat yang efektif.

Rekomendasi yang dihasilkan antara lain:

- a. Pada pengujian cendawan, hasil pengamatan benih yang secara visual menunjukkan bercak coklat atau



tanpa bercak coklat tidak dapat digunakan untuk menentukan apakah benih tersebut terinfeksi suatu jenis cendawan tertentu atau tidak.

- b. Benih dengan gejala kresek di lapangan terkonfirmasi bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dengan metode *Liquid Assay*.
- c. Teknik pengujian berbasis PCR dapat digunakan sebagai metode uji cepat yang efektif dalam deteksi bakteri *Burkholderia glumae* dan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.