



EVALUASI KESEHATAN BENIH PADI LOKAL

Perubahan iklim akibat terjadinya pemanasan global dari waktu ke waktu semakin tampak dampaknya pada segala sendi kehidupan. Oleh karena dampak perubahan iklim terjadi pada semua sektor, termasuk pertanian maka salah satu strategi yang harus dilakukan adalah adaptasi. Strategi adaptasi sistem produksi pertanian yang tepat untuk wilayah yang sangat luas dan lingkungan iklim yang berbeda-beda seperti Indonesia adalah perlu dikembangkannya strategi untuk jangka pendek maupun jangka panjang. Pengembangan varietas baru yang mampu beradaptasi membutuhkan waktu yang tidak singkat dengan persentase keberhasilan yang belum tentu sesuai harapan. Sementara, penyediaan bahan pangan bagi rakyat tidak mungkin ditunda karena rawan terjadinya instabilitas dalam kehidupan berbangsa dan bernegara.

Untuk mengantisipasi terjadinya hal tersebut maka pemilihan strategi jangka pendek yang strategis adalah dengan pengembangan varietas lokal. Varietas lokal akan lebih mampu beradaptasi terhadap perubahan iklim yang terjadi dibandingkan varietas introduksi. Beberapa varietas lokal memiliki keunggulan genetik untuk dapat dijadikan sebagai sumber gen dalam perakitan varietas unggul baru, baik toleransinya terhadap keracunan besi, ketahanan beberapa penyakit tanah Fe dan Zn yang tinggi dalam berasnya (Khairullah, 2016). Namun menurut Koesrini *et al.* 2014 dalam Darsani dan Koesrini (2018), kelemahan varietas lokal adalah berdaya hasil rendah (2,0-2,5 ton/ha), umur panjang (8-10 bulan), dan relatif tidak tahan terhadap hama dan penyakit tanaman. Benih dapat terinfeksi oleh penyakit sejak dari pertanaman induk (*seedborne disease*). Namun benih juga dapat terkontaminasi selama proses pemanenan, pengolahan maupun pada saat penyimpanan benih. Patogen yang terbawa benih dapat menimbulkan penyakit pada tanaman itu sendiri dan dapat pula menjadi sumber infeksi pada tanaman lain. Beberapa penyakit yang dilaporkan menyerang di



lapang antara lain blast, hawar pelepah, bercak daun coklat, *BLB (Bakteri Light Blight)*, tungro, bercak daun bergaris, *BRS (Bakteri Red Stripe)*, bakanae, bakteri daun bergaris.

Sebagai salah satu upaya untuk mendukung pengembangan benih padi varietas lokal, maka pada tahun 2019 Balai Besar PPMB-TPH telah melaksanakan kegiatan pengkajian yang berjudul “Evaluasi Kesehatan Benih Padi Lokal”. Tujuannya antara lain: 1) mendeteksi dan menginventarisasi jenis patogen penyebab penyakit blast pada padi varietas lokal yang beredar di beberapa provinsi (cendawan *Pyricularia oryzae*); 2) mendeteksi dan menginventarisasi jenis patogen penyebab penyakit *white tip* pada padi varietas lokal yang beredar di beberapa provinsi (nematoda *Aphelenchoides besseyi*); dan 3) mendeteksi bakteri penyebab penyakit kresek (*Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*) dan busuk bulir (*Burkholderia glumae*) pada padi varietas lokal yang beredar di beberapa provinsi dengan metode PCR.

Kegiatan dilaksanakan pada bulan Januari hingga Desember 2019 di laboratorium pengujian benih Balai Besar PPMB-TPH. Bahan yang digunakan pada pengujian berupa contoh benih padi yang diambil dari lapang berupa padi rawa lokal dan gogo lokal, serta beberapa jenis bahan lain untuk pengujian. Peralatan yang digunakan berupa beberapa peralatan standar yang tersedia di laboratorium yang digunakan untuk pengujian cendawan dengan metode *blotter test*, bakteri dengan metode PCR dan nematoda dengan metode *ISTA Rules*.

Prosedur pelaksanaan kegiatan pengkajian adalah sebagai berikut:

- a. Penentuan tiga provinsi yang diambil sampel benihnya diantaranya: Provinsi Sumatera Selatan (padi rawa lokal), Kalimantan Selatan (padi rawa lokal), dan Jambi (padi gogo lokal).
- b. Pengambilan contoh benih yang digunakan untuk pengujian inventarisasi data patogen dilakukan pada beberapa varietas padi lokal yang banyak beredar di



ketiga provinsi target. Jumlah contoh benih yang diambil dari masing-masing provinsi target tergantung pada ketersediaan benih di lapang (di produsen/penyalur benih/petani).

- c. Pengujian laboratorium dan studi literatur
Pengujian dilakukan oleh analis di laboratorium Balai Besar PPMB-TPH terhadap beberapa jenis patogen terbawa benih diantaranya pengujian cendawan, bakteri dan nematoda yang diduga terbawa benih.
 - 1) Deteksi cendawan terbawa benih
Metode yang digunakan adalah *blotter test* yang mengacu pada *ISTA Rules*. Hasil pengujian cendawan dilakukan melalui pengamatan morfologi dengan variabel yang diamati yaitu persentase infeksi cendawan. Selain cendawan target *Pyricularia oryzae*, juga dilaporkan cendawan lain yang ditemukan.
 - 2) Deteksi bakteri terbawa benih
Pengujian dilakukan pada benih yang *diplating* pada media agar (PDA) dan diinkubasi selama 2-3 hari untuk menumbuhkan koloni bakteri. Koloni bakteri yang muncul kemudian dikelompokkan berdasarkan warna koloninya untuk konfirmasi jenis serta spesiesnya melalui pengujian PCR, apakah terdapat infeksi bakteri target *Xoo* dan *BG*. Pengujian PCR menggunakan prosedur isolasi DNA berdasarkan Schaad (2001).
 - 3) Deteksi nematoda terbawa benih
Pengujian nematoda untuk mengidentifikasi *Aphelenchoides besseyi* menggunakan metode *ISTA Rules* yang dimodifikasi.
- d. Verifikasi hasil uji laboratorium
- e. Inventarisasi patogen terbawa benih yang diduga berperan dalam timbulnya serangan penyakit di lapang
- f. Pengolahan data



Data hasil identifikasi patogen terbawa benih (cendawan dan nematoda) dianalisis secara deskriptif yang disajikan dalam bentuk tabel dan grafik persentase infeksi dari jumlah contoh benih yang terinfeksi terhadap seluruh contoh benih yang diambil dari lapang, serta dilengkapi gambar pathogen dan deskripsi gejala penyakit yang ditemukan.

Pengambilan contoh benih dan dokumentasi gejala penyakit dilakukan di beberapa lahan pertanaman padi lokal di tiga provinsi target. Hasil pengamatan secara visual gejala penyakit yang muncul di beberapa lahan pertanaman padi gogo lokal di dua Kabupaten Provinsi Jambi (Muara Jambi, Sarolangun dan Tebo) menunjukkan adanya gejala serangan penyakit blast. Begitu pula hasil pengamatan ke beberapa lahan di Kabupaten Banyuasin dan Ogan Komering Ilir (OKI) di Provinsi Sumatera Selatan, serta beberapa lokasi pertanaman padi lokal rawa di Kabupaten Tanah Laut dan Banjar (Provinsi Kalimantan Selatan) juga menunjukkan gejala penyakit blast, kresak dan patah leher. Pada Gambar 15 dan 16 dapat dilihat hasil dokumentasi gejala penyakit dan kegiatan pengambilan contoh benih di lahan pertanaman padi lokal di Provinsi Jambi, Sumatera Selatan dan Kalimantan Selatan



Gambar 14. Gejala penyakit *leaf blast* dan *neck blast* pada pertanaman padi gogo lokal di Kab. Merangin-Jambi



Gambar 15. Pengambilan contoh benih bergejala di Provinsi Sumatera Selatan dan Kalimantan Selatan

Contoh benih yang diambil dari lapang kemudian diproses keringanginkan dan dihomogenkan untuk pengujian di laboratorium Balai Besar PPMB-TPH. Selanjutnya dilakukan pengujian untuk mendeksi patogen terbawa benih terhadap contoh benih padi lokal yang telah diambil dari empat provinsi yaitu Jambi, Sumatera Selatan, Kalimantan Selatan dan Kalimantan Tengah. Pengujian di laboratorium dilakukan untuk memeriksa apakah terdapat potensi serangan penyakit di lapang.

Deteksi patogen yang meliputi uji cendawan dilakukan menggunakan metode *blotter test*, uji nematoda berdasarkan *ISTA Rules* dan uji bakteri menggunakan media agar yang dikonfirmasi dengan metode PCR. Berikut adalah hasil pengujian yang telah dilakukan antara lain:

- a. Hasil pengujian cendawan dan nematoda
Hasil uji yang dilakukan terhadap 47 contoh benih yang diambil dari tiga provinsi target dan satu provinsi lain sebagai tambahan (Kalimantan Tengah) terdapat pada Tabel 19.



Tabel 17. Data hasil uji kesehatan benih padi lokal

No	Komoditas	Varietas	Tanggal Panen	Hasil Identifikasi	
				Cendawan <i>P. oryzae</i> (%)	Nematoda <i>A. besseyi</i> (Ekor)
1		Seni Emas	13-03-2019	0	0
2		Seni Lentik	13-03-2019	0	-
3		Seribu Naik 1	20-02-2019	2.75	2
4		Seni	06-03-3019	0	5
5		Seni Sasak	06-03-3019	2.00	0
6		Marinai	05-01-2019	1.00	5
7		Kunungan	15-12-2018	0	0
8		Kuning	13-03-2019	14.75	16
9	Padi Ladang/ Gogo Lokal Jambi	Sikuning	03-03-2019	0	1
10		Tunggung	13-03-2019	4.75	0
11		Seni Mungin Putih	10-03-2019	7.00	27
12		Kasa	10-03-2019	0.25	3
13		Sungkai	10-03-2019	5.00	7
14		Perak	10-03-2019	0	2
15		Sialas	10-03-2019	0	2
16		Simerah	31-01-2019	0	2
17		Seribu Naik 2	06-01-2019	0.25	7
18		Kuku Balam	31-01-2019	0	31
Persentase Infeksi dari Jumlah Benih yang Diambil				50%	76%
19		Siam Udi	Mar-19	0	0
20		Rukut	Feb-19	0	0
21		Siam Mayang	Ags-2018	0	0
22	Padi Rawa Lokal/ Kalimantan	Siam Cantik	Mar-19	0	-
23		Siam Rantau	Mar-19	0	0
24	Selatan	Siam Pandak	13-07-2019	0	0
25		Siam Unus Kuning	17-07-2019	-	-
26		Mayang	19-07-2019	0	0
27		Ketan Siam	Jul-19	-	-
Persentase Infeksi dari Jumlah Benih yang Diambil				0%	0%
28		Melati	Minggu III Mar-2019	1.00	0
29		Sulaiman	Minggu III Mar-2019	0	-
30		Makmur	Minggu III Mar-2019	0	13
31		Bromo	Minggu III Mar-2019	0	3
32		TW	Minggu III Mar-2019	0	0
33		Kuda	Minggu III Mar-2019	0	0
34		Makmur 16	Minggu III Mar-2019	1.25	0
35		Merah Jao	Minggu III Mar-2019	0	0
36	Padi Rawa Lokal/ Sumatera Selatan	Makmur 8	Minggu III Mar-2019	0	-
37		Sungkai	Minggu III Mar-2019	0	9
38		Vietnam 1	Minggu III Mar-2019	0	2
39		Sulaiman 18	Minggu III Mar-2019	0.75	4
40		Makmur 15	Minggu III Mar-2019	0.75	11
41		Kuku Balam	Minggu III Mar-2019	0.0	0
42		Sulaiman 19	Minggu III Mar-2019	0.75	30
43		Sulaiman 20	Minggu III Mar-2019	0.50	0
44		Vietnam 2	Minggu III Mar-2019	0	27
Persentase Infeksi dari Jumlah Benih yang Diambil				35%	53%
45		Raden Ranah	15-03-2019	0	-
46	Padi Rawa Lokal/ Kalimantan	Parukat (Samer)	15-03-2019	0	44
47		Palut	10-03-2019	0	9
48	Tengah	Pandan Wangi	05-03-2019	0	5
49		Dite Dangkak	03-03-2019	0	11
Persentase Infeksi dari Jumlah Benih yang Diambil				0%	100%

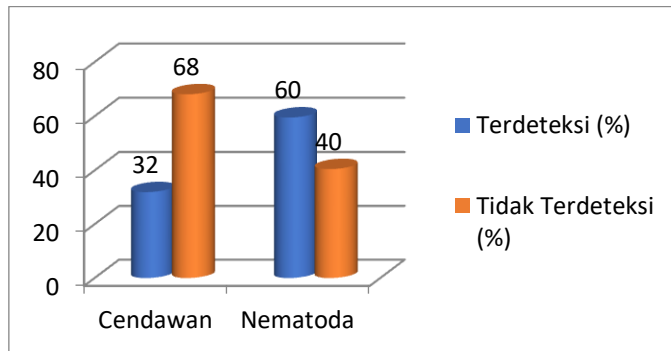
Ket: Tanda (-) = Belum dilakukan pengujian



Sesuai dengan Tabel 19 terdapat 49 varietas padi lokal yang dalam proses pengujian, yaitu terdiri dari padi lokal gogo dari Provinsi Jambi (no. 1-18), lokal rawa dari Provinsi Kalimantan Selatan (no. 19-27), dan padi lokal dari Provinsi Sumatera Selatan (no. 28-44). Selain ketiga provinsi tersebut, juga dilakukan pengujian pada benih padi rawa lokal yang diambil dari Provinsi Kalimantan Tengah (no. 45-49).

Berdasarkan hasil pengujian cendawan yang telah dilakukan pada 47 contoh benih padi lokal gogo dan lokal rawa terdapat 15 contoh yang terdeteksi cendawan target *P. oryzae* (32%) dan 32 contoh tidak terdeteksi (68%). Selain cendawan target juga ditemukan berbagai jenis cendawan lain yang menginfeksi contoh benih padi antara lain: *Acremonium* sp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Bipolaris* sp., *Cercospora* sp., *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* spp., *Gelarchia oryzae*, *Nigrospora* sp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp., *Rhizopus* sp., *Tilletia barclayana.*, *Trichothecium* sp., dan *Trichoderma*, sp.

Sementara itu, hasil pengujian nematoda pada 42 contoh yang diuji terdapat 25 contoh yang terdeteksi nematoda parasit *Aphelenchoides besseyi* (60%) dan 17 varietas tidak terdeteksi (40%). Tingkat infeksi nematoda pada benih tergolong rendah yang berkisar antara 1-44 spesimen.



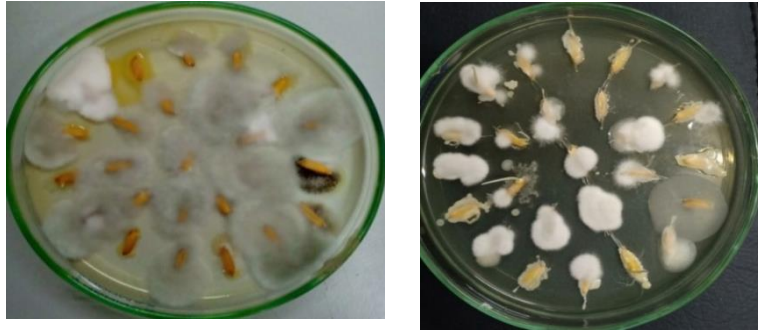
Gambar 16. Benih padi lokal yang terdeteksi cendawan dan nematoda



b. Pengujian bakteri dengan teknik PCR

Pada pengujian bakteri terbawa benih dengan target bakteri *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* (Xoo) dan *Burkholderia glumae* (BG), telah dilakukan pengujian dengan metode PCR untuk mendapatkan metode isolasi DNA. Ekstraksi DNA total bakteri Xoo dan BG diperoleh dari isolasi DNA bakteri yang ditumbuhkan pada media biakan umum yaitu media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan media selektif *Xanthomonas Agar* (XA) untuk Xoo. Pemilihan penggunaan media PDA dan XA dikarenakan media tersebut relatif sederhana dalam proses pembuatannya. Namun untuk menumbuhkan koloni bakteri Xoo dan BG pada media PDA masih terhambat dengan pertumbuhan cendawan terbawa benih pada media agar, sehingga pada proses isolasi DNA sulit mendapatkan DNA bakteri yang murni. Hal ini diduga karena perlakuan sterilisasi permukaan benih menggunakan larutan Clorox 1% selama 1 menit belum cukup optimal untuk menekan pertumbuhan cendawan. Sehingga untuk pengujian berikutnya, perlu dilakukan sterilisasi permukaan dengan menaikkan konsentrasi larutan Clorox 3% selama 1-2 menit.

Pada tahap awal isolasi DNA bakteri Xoo dan BG menggunakan metode Schaad (2011), dilakukan pengambilan koloni bakteri yang berwarna putih pada 2 sampel varietas benih padi lokal yang dibiakkan pada media PDA, kemudian diambil beberapa butir benih yang diduga tumbuh bakteri BG. Pada Gambar 4-5 dapat dilihat tahap pelaksanaan isolasi DNA hingga proses PCR.



Gambar 17. Pertumbuhan koloni bakteri pada media PDA yang terkontaminasi cendawan



Gambar 18. Proses pengujian PCR

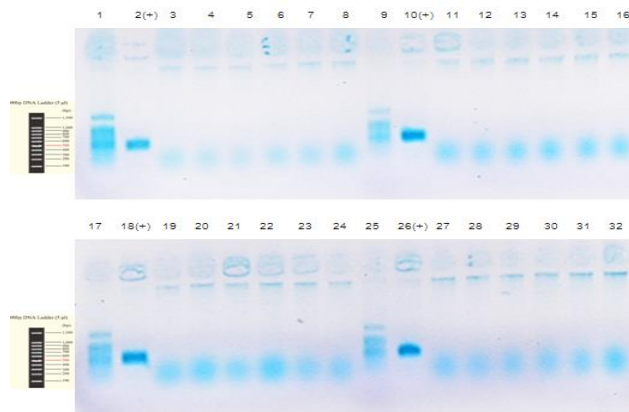
c. Deteksi Xoo dengan teknik PCR

DNA *template* yang diperoleh dari hasil isolasi selanjutnya digunakan untuk proses PCR. PCR dilakukan dengan menggunakan primer spesifik untuk Xoo. Primer spesifik yang digunakan adalah 5'-GCATGACGTCATCGTCCTGT-3' untuk *forward* dan 5'-CTCGGAGCTATATGCCGTGC-3' untuk *reverse* dengan panjang produk 470 bp. PCR dijalankan sebanyak 29 siklus dengan tahapan predenaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit, kemudian denaturasi (fase pemisahan utas DNA) pada suhu 95°C selama 30 detik, suhu 63°C selama 30 detik untuk *annealing* (pengintegrasian primer), ekstensi (sintesis untai DNA baru) pada suhu 72°C selama 1 menit, kemudian dilanjutkan tahap pasca *extention* 72°C selama 7 menit. Hasil PCR terlihat pada Gambar 20.

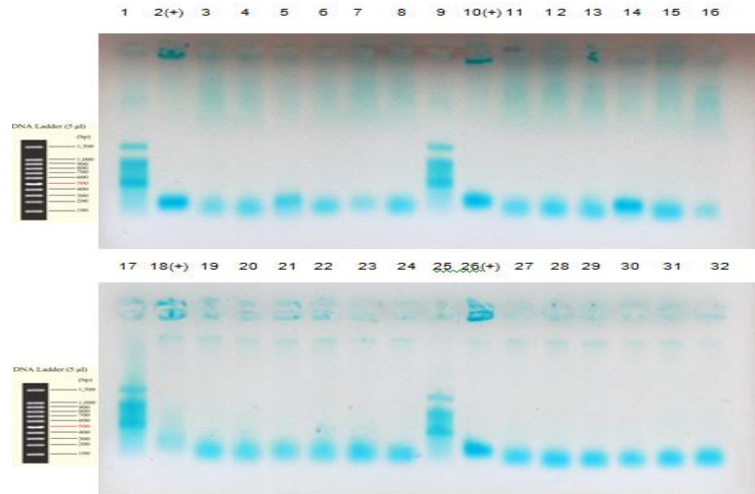


d. Deteksi BG dengan teknik PCR

DNA *template* yang diperoleh dari hasil isolasi selanjutnya digunakan untuk proses PCR. PCR dilakukan dengan menggunakan primer spesifik untuk BG. Primer spesifik yang digunakan adalah 5'TGGGTTAGTCTCTGTAGGGAA-3' untuk *forward* dan 5'-TCATCCTCTGACTGGCTCAA-3' untuk *reverse* dengan panjang produk 164 bp. PCR dijalankan sebanyak 44 siklus dengan tahapan predenaturasi pada suhu 94°C selama 3 menit, kemudian denaturasi (fase pemisahan utas DNA) pada suhu 94°C selama 30 detik, suhu 58°C selama 30 detik untuk *annealing* (pengintegrasian primer), ekstensi (sintesis untai DNA baru) pada suhu 72°C selama 30 detik, kemudian dilanjutkan tahap pasca *extention* 72°C selama 10 menit. Hasil PCR terlihat pada Gambar 21.



Gambar 19. Hasil PCR DNA bakteri Xoo dengan DNA template tanpa diencerkan (1=100bp DNA ladder; 2, 10, 18, 26 = kontrol positif; 3-8, 11-16, 19-24, 27-32 = isolasi DNA Xoo dari koloni bakteri di media PDA



Gambar 20. Hasil PCR DNA bakteri BG dengan DNA template tanpa diencerkan (1=100bp DNA ladder; 2, 10, 18, 26 = kontrol positif; 3-8, 11-16, 19-24, 27-32 = isolasi DNA BG dari koloni bakteri di media PDA

Hasil PCR deteksi molekuler memperlihatkan metode isolasi yang digunakan dapat untuk mengisolasi DNA koloni bakteri Xoo dan BG yang berasal dari benih yang dibiakan pada media PDA. Dalam proses PCR digunakan empat kontrol positif dari isolat bakteri Xoo dan BG. Sesuai Gambar 20-21, proses PCR dinyatakan berhasil ditandai dengan munculnya pita-pita DNA hasil amplifikasi PCR pada keempat kontrol positif dari dua pengujian. Sesuai Gambar 20 hasil pengujian menggunakan primer Xoo, pita DNA kontrol positif (kolom 2, 10, 18, 26) muncul sesuai DNA ladder pada ampikon 470 bp, namun pada 24 sampel yang diuji tidak ada pita DNA yang sama dengan kontrol positif sehingga disimpulkan sampel yang diuji tidak terdeteksi bakteri Xoo.

Pada Gambar 21, hasil uji PCR menggunakan primer BG pita DNA kontrol positif (kolom 2, 10, 18, 26) muncul sesuai DNA ladder pada ampikon 164 bp, meskipun pada kontrol positif (kolom 18) tidak teramplifikasi sempurna. Pada 24 sampel yang diuji juga muncul pita DNA yang sama dengan pita DNA kontrol positif yaitu pada sampel kolom 3-15, 19-24, dan 27-32. Dengan



demikian dapat disimpulkan bahwa metode isolasi dapat digunakan untuk deteksi Xoo dan BG, namun hasil uji PCR terhadap DNA bakteri yang diambil dari koloni yang ditumbuhkan pada media PDA masih memerlukan optimasi program elektroforesis DNA agar separasi ladder dapat terlihat lebih jelas.

Kesimpulan yang diperoleh dari kegiatan pengkajian ini yaitu: 1) hasil identifikasi cendawan penyebab penyakit blast (*Pyricularia oryzae*) pada keseluruhan contoh benih padi yang diuji (47 contoh benih padi lokal gogo dan lokal rawa) terdapat 15 atau 32 % contoh yang terinfeksi dengan persentase infeksi 0,25-14,75%; 2) hasil identifikasi nematoda parasit *Aphelenchoides besseyi* pada keseluruhan contoh benih padi lokal yang diuji (42 contoh benih padi lokal gogo dan lokal rawa) terdapat 25 atau 59,5% contoh yang terinfeksi dengan kisaran infeksi 1-44 spesimen; 3) metode isolasi DNA (Schaad, 2001) yang digunakan pada uji PCR dapat untuk mendeteksi bakteri *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* (Xoo) dan *Burkholderia glumae* (BG) yang ditandai dengan munculnya pita-pita DNA hasil amplifikasi PCR pada kontrol positif sesuai DNA *Ladder*.

Rekomendasi yang diperoleh: 1) beberapa benih padi varietas lokal masih banyak yang terinfeksi penyakit blast, kresek, busuk bulir dan *white tip*; 2) deteksi bakteri Xoo dan BG dengan uji PCR menggunakan metode isolasi DNA (Schaad, 2001) pada koloni bakteri yang ditumbuhkan diatas media PDA masih memerlukan optimasi program elektroforesis DNA untuk mendapatkan separasi Ladder yang lebih jelas.