

METODE IDENTIFIKASI RAS *PYRICULARIA GRISEA* SACC. PENYEBAB PENYAKIT BLAS PADA TANAMAN PADI

Laila Nur Milati, Anggiani Nasution, dan Sudir

Balai Besar Penelitian Tanaman Padi
Jln. Raya 9 Sukamandi, Ciasem, Subang, Jawa Barat, 41256

ABSTRAK

Pyricularia grisea Sacc, merupakan jamur penyebab penyakit blas pada tanaman padi. Kerusakan padi akibat penyakit blas di Indonesia mencapai 1.285 juta hektar atau kehilangan hasil 50-90%. Penyakit blas sulit dikendalikan di lapangan sehingga memerlukan tindakan pengendalian yang tepat salah satunya dengan penggunaan varietas tahan. Pemilihan varietas tahan disesuaikan dengan jenis ras patogen yang dominan pada suatu tempat. Identifikasi ras *P. grisea* di lapangan sangat berguna untuk menentukan varietas tahan yang akan ditanam sesuai dengan jenis ras dominan setempat. Identifikasi ras dilakukan di Kebun Percobaan Muara, Bogor pada 10 Februari – 27 Maret 2015. Metode yang digunakan dalam identifikasi ras adalah metode isolasi spora tunggal. Inokulasi menggunakan metode semprot pada tanaman padi stadia vegetatif berumur 21 hst. Pengamatan keparahan penyakit dilakukan dengan metode SES IRRI 2014, setelah itu dikelompokkan berdasarkan reaksi ketahanan terhadap varietas diferensial Indonesia, yaitu Asahan, Cisokan, IR 64, Krueng Aceh, Cisadane, Cisanggarung, dan Kencana Bali. Hasil pengamatan dari 2 isolat jamur *P. grisea*, satu isolat menyebabkan reaksi rentan pada varietas Asahan, Cisokan, dan Kencana Bali sehingga dimasukkan dalam kelompok ras 301 sedang yang satu lagi, menimbulkan reaksi rentan pada varietas Asahan dan Kencana Bali sehingga dimasukkan dalam kelompok ras 201. Informasi dominasi ras penting kaitannya dengan program pengendalian dan penggunaan varietas tahan penyakit blas.

Kata Kunci : Blas, *Pyricularia grisea*, spora tunggal, metode identifikasi ras

ABSTRACT

Pyricularia grisea Sacc. is the fungus causing blast disease on rice. Rice damage in Indonesia reached 1,285 million hectares or 50-90% yield loss. Blast disease is difficult to control. It requires appropriate control by use of resistant varieties. Selection of resistant varieties adapted to the type of dominant pathogen race in the field. Identification of *P. grisea* is very useful to determine the resistant varieties will be planted in accordance with the type of local dominant race. The experiment conducted in in Muara Experimental Field, Bogor on February 10 to March 27, 2015. The method used in identification was single spore isolation methods. Inoculation using spray method in vegetative stage of rice 21 DAP. Observations of the disease severity was done by SES IRRI 2014 method, after it

was categorized based on the reaction of resistance to differential varieties, namely Asahan, Cisokan, IR 64, Krueng Aceh, Cisadane, Cisanggarung, and Kencana Bali. The research result obtained 2 isolates of *P. grisea*. One isolates showed susceptible reaction on Asahan, Cisokan, and Kencana Bali so that included in racial groups 301. The other one, susceptible on Asahan and Kencana Bali that included racial groups 201. This information would be important as the basic control and the use of resistant varieties to blast disease.

Keyword : Blast, *Pyricularia grisea*, single spore, race identification method

PENDAHULUAN

Penyakit blas merupakan salah satu penyakit utama pada tanaman padi (Utami 2010). Kerusakan akibat penyakit blas dapat terjadi pada fase pertumbuhan tanaman padi mulai dari persemaian, stadia vegetatif, dan stadia generatif. Pada fase persemaian dan fase vegetatif patogen menyerang pada daun sehingga disebut blas daun (*leaf blast*), sedangkan pada fase generatif patogen menyerang bagian leher sehingga disebut blas leher (*neck blast*). Penyakit blas pertama kali dilaporkan di Asia sekitar tiga abad yang lalu dan sekarang penyakit ini ditemukan pada lebih dari 85 negara. Penyebaran penyakit antarnegara dapat terjadi karena adanya ekspor-impor benih. Spora *P. grisea* dapat terbawa benih dan dapat dengan mudah berpindah tempat (ISTA, 2014). Kerusakan padi akibat penyakit blas di Indonesia mencapai 1.285 juta hektar atau sekitar 12% dari luas total pertanaman padi (Direktorat Jenderal Tanaman Pangan, 2013). Rata-rata luas serangan penyakit blas dalam kurun waktu 10 tahun terakhir mencapai 9.778 ha/tahun. Bahkan pada varietas rentan, serangan blas leher dapat mencapai 90% dan menyebabkan kehilangan hasil padi mencapai 50-90% (Tabloid Sinar Tani, 2014).

Pyricularia grisea Sacc, merupakan jamur penyebab penyakit blas pada tanaman padi. *P. grisea* bersinonim dengan *Pyricularia oryzae* Cavara. *P. grisea* dalam keadaan seksual dikenal sebagai *Magnaporthe grisea*. Secara morfologi, jamur *P. grisea* mempunyai konidia berbentuk bulat, lonjong, tembus cahaya, dan bersekat 2. Jamur *P. grisea* dapat membentuk bercak pada daun padi, buku batang, leher malai, cabang malai, bulir padi, dan kolar daun. Bentuk khas dari bercak blas daun adalah belah ketupat dengan kedua ujungnya meruncing. Bercak bermula kecil berwarna hijau gelap, abu-abu sedikit kebiruan. Bercak yang telah berkembang, bagian tepi berwarna cokelat dan bagian tengah berwarna putih keabu-abuan. Bercak pada daun yang rentan tidak membentuk tepi yang jelas. Bercak tersebut dikelilingi oleh warna kuning pucat (*halo area*) (Ou, 1985).

Serangan *P. grisea* yang serius pada fase vegetatif dapat menyebabkan matinya tanaman dan pada fase generatif dapat menyebabkan patahnya leher malai dan bulir padi yang hampa (Santoso dan Anggiani, 2011, Nasution dan Usyati, 2015). Patogen *P. grisea* sangat mudah membentuk ras baru yang lebih virulen apabila populasi tanaman atau sifat ketahanan tanaman berubah (Ou, 1985). Tingginya tingkat keragaman *P. grisea* karena dapat melakukan perkawinan

antarhaploid hifa yang berlainan materi genetiknya dan tingkat mutasi genetik yang cukup tinggi (Reffinur *et al.*, 2005). Pemantauan populasi dan perkembangan ras baru terus dilakukan sehingga memerlukan metode identifikasi yang tepat dan mudah diterapkan. Penyakit blas sulit dikendalikan di lapangan sehingga memerlukan tindakan pengendalian yang tepat salah satunya dengan penggunaan varietas tahan. Pemilihan varietas tahan disesuaikan dengan jenis ras patogen yang dominan pada suatu tempat. Identifikasi ras *P. grisea* di lapangan sangat berguna untuk menentukan varietas tahan yang akan ditanam sesuai dengan jenis ras dominan setempat.

METODOLOGI

Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan Muara, Bogor pada 10 Februari – 27 Maret 2015. Metode yang digunakan dalam identifikasi ras meliputi beberapa tahapan yaitu persiapan media, isolasi spora tunggal *P. grisea* dan inokulasi pada varietas diferensial, serta pengamatan penyakit dan penghitungan ras.

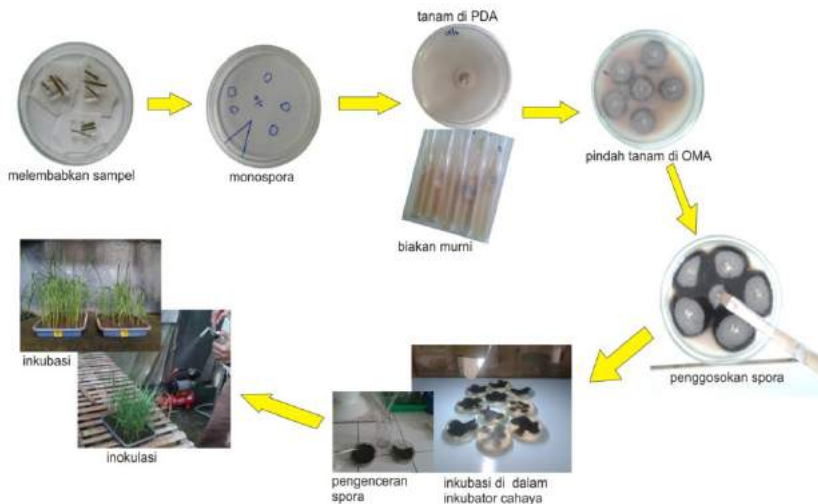
Persiapan Media

Media yang digunakan untuk isolasi *P. grisea* adalah *water agar* (WA), *potato dextrose agar* (PDA), dan *oat meal agar* (OMA). WA merupakan media yang dianjurkan untuk pengamatan spora tunggal karena dapat memperlambat pertumbuhan spora sehingga lebih mudah saat isolasi dan pengamatan jamur. Jamur yang ditumbuhkan dalam WA dapat diamati setelah 42 – 72 jam sejak penanaman. WA dan PDA adalah media yang biasa digunakan karena termasuk media yang murah dan mudah dalam memperoleh bahan-bahannya (Choi *et al.* 1999). PDA digunakan untuk menumbuhkan spora tunggal yang telah diisolasi dari media WA. OMA digunakan karena media ini baik untuk mempercepat pertumbuhan spora *P. grisea*.

Isolasi Spora Tunggal *P. grisea* dan Inokulasi pada Varietas Diferensial

Sampel daun atau malai bergejala penyakit blas dilembabkan di atas kertas saring selama 24 jam setelah itu dilakukan pengambilan spora tunggal (Gambar 1.). Isolasi spora tunggal menggunakan mikroskop cahaya yang telah dimodifikasi dengan jarum kaca di bagian tengahnya. Jarum kaca berfungsi dalam pengambilan spora tunggal. Spora tunggal yang sudah diambil ditanam pada media WA selama 2 – 3 hari. Miselium dari spora tunggal yang sudah tumbuh dipindahkan pada media PDA selama 7 hari. Miselium *P. grisea* dipindahtanamkan pada media OMA untuk mempercepat pertumbuhan spora. Pertumbuhan pada media OMA selama 12 hari. spora pada OMA terlihat berwarna hitam. Miselium yang berada di permukaan media harus dihilangkan dengan cara melakukan penggosokan permukaan media. Media OMA digosok dengan kuas lukis dan pada OMA telah dituangkan larutan akuades dan streptomycin sulfat. Streptomycin sulfat berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri kontaminan pada media OMA. Setelah digosok, media yang terdapat spora *P. grisea* diinkubasi 2x24 jam pada inkubator

cahaya. Tujuannya adalah menciptakan suhu ekstrim sehingga spora *P. grisea* dapat tumbuh dengan maksimal. Spora yang sudah banyak siap untuk diinokulasi pada varietas diferensial. Media OMA dituangkan larutan akuades dan Tween-20 0,01 ml/1 liter akuades lalu digosok pada permukaannya. Suspensi spora dimasukkan dalam botol dan siap diinokulasi pada varietas diferensial.



Gambar 1. Isolasi spora tunggal dan inokulasi *P. grisea* pada varietas diferensial Indonesia

Penelitian dilakukan di rumah kaca dengan suhu berkisar 25-30°C dan kelembapan di atas 90% yang diupayakan dengan penyiraman terus-menerus menggunakan sprinkle embun. Tanaman diferensial diinokulasi pada umur 21 hari kemudian dipindahkan ke kamar lembab selama 48 jam untuk mempercepat penetrasi patogen ke tanaman inang. Inokulasi spora *P. grisea* menggunakan metode semprot. Suspensi spora ditambahkan Tween-20 sebagai perekat spora. Varietas yang digunakan adalah varietas diferensial Indonesia (Mogi *et al.* 1991). Varietas tersebut adalah Asahan, Cisokan, IR 64, Krueng Aceh, Cisadane, Cisanggarung, dan Kencana Bali. Ketujuh varietas tersebut siap untuk diinokulasi pada 21 HST. setiap varietas memiliki nilai yang akan digunakan dalam penghitungan ras *P. grisea*.

Pengamatan Penyakit dan Penghitungan Ras

Pengamatan keparahan penyakit dilakukan dengan metode skoring berdasarkan SES IRRRI 2014. Skor rata-rata yang diperoleh menunjukkan reaksi tahan (R) dan rentan (S) pada setiap varietas diferensial. Jumlah dari skor rata-rata yang menunjukkan reaksi rentan adalah nomor ras *P. grisea*.

Tabel 1. Varietas diferensial untuk pengujian ras penyakit blas (Mogi *et al.* 1991)

No.	Varietas Diferensial	No. Kode	Patogenisitas		
1.	Asahan	200	R	R	R
2.	Cisokan	100	R	R	S
3.	IR 64	040	R	R	S
4.	Krueng Aceh/Repah Aren	020	R	S	S
5.	Cisadane	010	R	R	S
6.	Cisanggarung	002	R	S	S
7.	Kencana Bali	001	S	S	S
Ras			001	023	173

Keterangan : R (Skor 1-3) menunjukkan reaksi tahan dan S (Skor >5) menunjukkan reaksi rentan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil inokulasi pada varietas diferensial mulai menunjukkan gejala pada hari ketiga. Gejala awal berbentuk bintik-bintik hitam. Bintik hitam semakin membesar membentuk bercak berwarna coklat hingga putih keabu-abuan pada bagian tepi daun (Dewi *et al.* 2013). Hasil isolasi dari sampel daun yang terkena penyakit blas diperoleh dua isolat. Isolat selanjutnya diberi nama isolat 1 dan isolat 2. Pengamatan keparahan penyakit dilakukan dengan metode SES IRR1 2014, setelah itu dikelompokkan berdasarkan reaksi ketahanan terhadap varietas diferensial Indonesia (Mogi *et al.* 1991), yaitu Asahan, Cisokan, IR 64, Krueng Aceh, Cisadane, Cisanggarung, dan Kencana Bali. Hasil pengamatan dari 2 isolat jamur *P. grisea* ditunjukkan pada tabel 2. Isolat 1 menunjukkan reaksi rentan pada varietas Asahan, Cisokan, dan Kencana Bali sehingga dimasukkan dalam kelompok ras 301. Isolat 2 rentan pada varietas Asahan dan Kencana Bali sehingga dimasukkan dalam kelompok ras 201.

Tabel 2. Hasil identifikasi ras *P. grisea*

Varietas Diferensial	Skor Sampel										Rata-rata skor keparahan	Kriteria	No. Kode	Keterangan	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10					
Asahan	7	7	3	5	7	7	5	5	7	7	6	S	200		
Cisokan	1	5	5	7	0	0	0	0	0	0	1,8	S	100		
IR 64	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,6	R	0	Isolat Nomor 1	
Krueng Aceh	3	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0,9	R	0		
Cisadane	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	R	0		
Cisanggarung	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	R	0		
Kencana Bali	3	7	7	3	7	7	9	9	0	0	5,2	S	001		
													Nomor Ras 301		
Asahan	5	5	7	0	0	0	0	0	0	0	1,7	S	200		
Cisokan	1	5	5	7	0	0	0	0	0	0	1,8	R	0		
IR 64	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,6	R	0	Isolat Nomor 2	
Krueng Aceh	3	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0,9	R	0		
Cisadane	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2	R	0		
Cisanggarung	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,4	R	0		
Kencana Bali	3	7	7	3	7	7	9	9	0	0	5,2	S	001		
													Nomor Ras 201		

Penomoran ras berdasarkan pada reaksi ketahanan yang ditunjukkan oleh varietas diferensial. Varietas yang menunjukkan reaksi rentan dijumlahkan nilainya sehingga diperoleh nomor ras dari isolat yang diujikan. Varietas Asahan merupakan varietas yang memiliki ketahanan paling baik terhadap ketujuh varietas diferensial. Asahan digunakan sebagai varietas kontrol tahan dalam pengujian blas. Varietas rentan yang digunakan sebagai kontrol dalam pengujian blas adalah Kencana Bali. Kencana Bali memiliki gen ketahanan terhadap *P. grisea*, namun isolat blas yang bersifat avirulen ini belum diketahui (Bustaman *et al.* 2004).

Ou (1985) menyatakan bahwa infeksi blas sangat ditentukan oleh lamanya daun basah karena embun. Cahaya juga mempengaruhi infeksi. Proses penetrasi lebih cepat dalam keadaan gelap, tetapi untuk perkembangan selanjutnya memerlukan cahaya. Infeksi pada persemaian meningkat pada suhu 20-32°C. Peningkatan infeksi berkaitan dengan meningkatnya pertumbuhan jamur. Pengaruh suhu air, tanah, dan udara sangat beragam tergantung pada varietas dan tingkat pertumbuhan tanaman (Qian *et al.* 2014). Kelembapan udara dan kelembapan tanah mempengaruhi patogenisitas dan pertumbuhan jamur. Adanya naungan juga berpengaruh pada perkembangan bercak (Santoso dan Anggiani, 2011).

Pengamatan pada 3 HSI belum bisa dijadikan standar penentuan ketahanan karena penetrasi patogen belum menyeluruh ke jaringan tanaman. Shirasawa *et al.* (2012) menyebutkan, bahwa spora dari bercak akan berkembang hingga sekitar 6 HSI. Pada 15 HSI sebagian besar tanaman mengalami recovery atau kemunculan daun-daun baru yang tidak terinfeksi lagi oleh patogen, sehingga tidak bisa dijadikan standar penentuan tingkat ketahanan. Berdasarkan hal tersebut maka 9 HSI dijadikan waktu yang tepat untuk penentuan tingkat ketahanan karena penetrasi patogen sudah dianggap sempurna dan tanaman sudah cukup kuat untuk menangkal serangan patogen.

Perbedaan ketahanan varietas padi terhadap serangan *P. grisea* disebabkan adanya perbedaan gen yang mengendalikan ketahanan, tingkat patogenisitas ras *P. grisea*, dan faktor lingkungan (Ou, 1985). Tagauchi *et al.*, (2014) mengemukakan bahwa perbedaan tersebut karena adanya interaksi antargen. Keragaman patogen blas sangat tinggi disebabkan *P. grisea* memiliki kemampuan untuk melakukan perkawinan antarhaploid hifa yang berlainan materi genetik dan tingkat mutasi yang cukup tinggi. Perubahan patogenisitas berlanjut seiring pertumbuhan fungi. Konidia dihasilkan pada luka tunggal, kultur konidia tunggal, atau dari pertumbuhan hifa ujung. Pada satu dari tiga sel konidia mungkin bisa berbeda rasnya (Santoso dan Anggiani, 2011 ; Admojo, 2006). Perbedaan jenis haplotip suatu lokasi asal isolate dapat menunjukkan keragaman genetik *P. grisea*. Keragaman haplotip dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu dan kelembapan, baik pada lokasi yang sama maupun berbeda (Reflinur *et al.* 2005)

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian identifikasi ras yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa ditemukan dua ras *P. grisea* yang berbeda berdasarkan reaksi terhadap varietas yang diuji yaitu *P. grisea* ras 301 dan *P. grisea* ras 201. Pengetahuan tentang jenis ras *P. grisea* sangat diperlukan untuk strategi pengendalian dengan penerapan varietas tahan di lapang.

DAFTAR PUSTAKA

- Admojo L, 2006. Uji ketahanan terhadap penyakit blas daun (*Pyricularia oryzae* Cav.) galur-galur padi gogo (*Oryza sativa* L.) F4:6 berdaya hasil tinggi. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Skripsi.
- Bustaman M, Reflinur, Dita A, Suyono, 2004. Variasi genetik padi tahan blas berdasarkan sidik jari DNA dengan markah gen analog resisten. *J. Bioteknologi Pertanian* Vol. 9 (2) : 56-61.
- Choi YW, Kevin DH, Wellcome WH, 1999. Single spore isolation of fungi. *Fungal diversity* 3 : 29-38.
- Dewi IM, Abdul C, Anton M, 2013. Hubungan karakter jaringan daun dengan tingkat serangan penyakit blas daun (*Pyricularia oryzae* Cav.) pada beberapa genotype padi (*Oryza sativa* L.). *J. HPT*. Vol. 1 (2) : 10-18.
- Direktorat Jenderal Tanaman Pangan 2013. Laporan Tahunan Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan Tahun 2012.
- IRRI. 2014. Standard Evaluation System for Rice. Metro Manila : International Rice Research Institute.
- ISTA, 2014. Detection of *Pyricularia oryzae* on *Oryza sativa* (Rice). Chapter 7 Seed Health Testing Methods. Bassersdorf, Switzerland.
- Mogi S, Sugandi Z, Baskon SW, Edwina R, Cahyadi I, 1991. Establishment of the differential variety series for pathogenic race identification of rice blast fungus and the distribution of rice base on the differential in Indonesia. Rice Disease Study Group. P. 30.
- Nasution A, N. Usyati, 2015. Observasi ketahanan varietas padi local terhadap penyakit blas (*Pyricularia grisea*) di rumah kaca. *Pros Sem Nas Masy Biodiiv Indon*. Vol 1 (1): 19-22.
- Ou SH. 1985. Rice Disease. Metro Manila : International Rice Research Institute.
- Qian Q, Lin H, Rong Y, Shuzhen W, Yi D 2014. Enhanced resistance to blast fungus in rice (*Oryza sativa* L.) by expressing the ribosome-inactivating protein alpha-momorcharin. *Plant Science* 217-218 : 1-7.

- Reffinur, Masdiar B, Utut W, Hajriah A, 2005. Keragaman genetic jamur *Pyricularia oryzae* berdasarkan primer spesifik gen virulensi. *J. Bioteknologi Pertanian*. Vol. 10 (2) 55-60.
- Santoso, Anggiani N, 2011. Pengendalian penyakit blas. *Tabloid Sinar Tani*. Edisi 5-11 Januari 2011. No. 3387 : 5-6.
- Shirasawa H, M. Ueno, J. Kihara, S. Arase, 2012. Protective effect of red light against blast disease caused by *Magnaporthe oryzae* in rice. *Crop Protection*. 39 : 41-44.
- Tabloid Sinar Tani, 2014. Cegah blas agar padi tak bablas. [http://m.tabloidsinartani.com/index.php?id=148&tx_ttnews\[tt_news\]=1126&cHash=058bcd59c62bf38fe160af8d2d21cb2d](http://m.tabloidsinartani.com/index.php?id=148&tx_ttnews[tt_news]=1126&cHash=058bcd59c62bf38fe160af8d2d21cb2d). dikases 4 Mei 2015.
- Taguchi Y, Mohsen ME, Naglaa H, Mitsuro H, 2014. A novel method for controlling rice blast disease using fan-forced wind on paddy field. *Crop protection*. 63 : 68-75.
- Utami DW et al. 2010. Keragaan sifat tahan penyakit blas dan agronomi populasi silang balik dan haploid ganda turunan IR64 dan *Oryza rufipogon*. *Bulletin Plasma Nutfah*. Vol 1 (2) : 90-95.