



Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Jamur *Pyricularia oryzae* Penyebab Penyakit Blas pada Tanaman Padi di Kediri, Jawa Timur

*Isolation, Identification and Characterization of *Pyricularia oryzae* that Causing Rice Blast Disease in Kediri, East Java*

Author(s): Yohana Avelia Sandy^{(1)*}; Fibrianti Shinta Dewi⁽¹⁾; Arrohmatus Syafaqoh Li'aini⁽²⁾

⁽¹⁾ Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya

⁽²⁾ Research Center for Applied Botany, National Research and Innovation Agency (BRIN), Indonesia

*Corresponding author: yohana_avelia@ub.ac.id

Submitted: 2 Jul 2024

Accepted: 13 Sep 2024

Published: 30 Sep 2024

ABSTRAK

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman penting dan termasuk komoditas pangan utama di Indonesia. Salah satu penyakit yang dapat menurunkan produktivitas padi dan menimbulkan kerugian besar yaitu penyakit Blas yang disebabkan oleh jamur *Pyricularia oryzae*. Tujuan penelitian ini adalah untuk identifikasi dan karakterisasi jamur *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit Blas pada tanaman padi. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Juni - Oktober 2023. Kegiatan penelitian ini terdiri dari isolasi jamur patogen *Pyricularia oryzae* dari tanaman padi yang bergejala Blas, kemudian dilakukan identifikasi dan karakterisasi secara morfologi dengan mikroskopis dan makroskopis serta molekuler. Hasil yang didapatkan yaitu dari pengamatan morfologi secara makroskopis dan mikroskopis, jamur patogen penyebab penyakit pada tanaman padi adalah *P. oryzae*. Pada uji molekuler, diketahui jamur yang diisolasi memiliki panjang 500 bp serta memiliki homologi terdekat (Per Ident.) sebesar 94.44% dengan *Pyricularia oryzae* strain B71 (CP060330.1). Pada pengujian patogenisitas, jamur patogen ini juga memberikan gejala yang sama dengan serangan *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blas.

Kata Kunci:

Blas;
Identifikasi;
Karakterisasi;
Pyricularia oryzae

ABSTRACT

Keywords:

Blast,
Characterization,
Identification,
Pyricularia oryzae

Rice (*Oryza sativa* Linnaeus) is an important crop and is one of the main food commodities in Indonesia. One disease that can reduce rice productivity and cause major losses is blast disease caused by the fungus *Pyricularia oryzae*. The aim of this research is to identify and characterize the fungus *Pyricularia oryzae* which causes blast disease in rice plants morphologically and molecularly. This research was carried out at the Plant Disease Laboratory, Department of Pests and Plant Diseases, Faculty of Agriculture, Brawijaya University, Malang in June - October 2023. This research activity consisted of isolating the pathogenic fungus *Pyricularia oryzae* from rice plants with blast symptoms taken from rice plantations in Mrican, Kediri. Then identification and characterization were carried out morphologically using microscopic, macroscopic and molecular methods. The results obtained were from macroscopic and microscopic morphological observations, the pathogenic fungus that causes disease in rice plants is *P. oryzae*. In molecular tests, it was discovered that the isolated fungus was 500 bp long (base pair) and had the closest homology (Per Ident.) of 94.44% with *Pyricularia oryzae* strain B71 (CP060330.1). In pathogenicity testing, this pathogenic fungus also gives the same symptoms as the *Pyricularia oryzae* attack that causes blast disease.

PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman penting dan menjadi komoditas pangan utama di Indonesia. Produksi padi di Indonesia belum mencukupi tingkat konsumsi masyarakat, sehingga usaha untuk meningkatkan produksi padi terus dilakukan. Salah satu tantangan dalam budidaya padi adalah adanya penyakit Blas yang disebabkan oleh jamur *Pyricularia oryzae*. Penyakit ini dapat menyebabkan kerugian besar karena merusak berbagai bagian tanaman padi seperti daun, batang, bunga, malai, dan biji. Gejala yang khas dari penyakit Blas meliputi busuknya ujung tangkai malai dan busuk leher, yang dapat mengakibatkan hampir semua biji pada malai menjadi hampa dan tangkai malai mudah patah. Akibat serangan penyakit ini, kerugian dapat terjadi dari ringan sampai gagal panen tergantung dari tingkat serangan dan ketahanan varietas padi yang dibudidayakan (Budiarti *et al.*, 2022). Penelitian terkait identifikasi dan karakterisasi jamur *Pyricularia oryzae* sebagai penyebab penyakit Blas pada tanaman padi telah dilakukan. Studi oleh Sucipto *et al.*, (2015) mengeksplorasi cendawan endofit dari padi sawah sebagai agens pengendali penyakit Blas. Mereka menggunakan varietas padi Kencana Bali yang rentan terhadap penyakit Blas dalam pengujian penghambatan terhadap *Pyricularia oryzae*. Selain itu, penelitian oleh Nguyen *et al.*, (2021) juga menyoroti pentingnya penyakit Blas pada tanaman padi di Indonesia dan dampaknya terhadap produksi padi.

Selain itu, penelitian terkait isolasi senyawa antibakteri dan antijamur dari tanaman *Praxelis clematidea* juga relevan dalam konteks pengendalian penyakit pada tanaman padi. Studi oleh Nguyen *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa ekstrak *Praxelis clematidea* memiliki potensi efek antibakteri dan antijamur yang dapat digunakan sebagai perlakuan yang efektif terhadap patogen pada tanaman padi.

Dengan demikian, identifikasi, karakterisasi, dan pengendalian penyakit Blas pada tanaman padi, terutama yang disebabkan oleh jamur *Pyricularia oryzae*, merupakan topik penelitian yang penting dalam upaya meningkatkan produksi padi di Indonesia. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan identifikasi secara morfologi yaitu makroskopis dan mikroskopis serta karakterisasi dari jamur *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit Blas pada tanaman padi.

METODOLOGI

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Oktober 2023 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan 3, Departemen HPT, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi, dan mengkarakterisasi jamur *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blas pada tanaman padi di wilayah Kediri, Jawa Timur. Tahapan metodologi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi beberapa proses penting, yaitu pengambilan sampel tanaman padi yang terinfeksi, isolasi patogen dari jaringan yang terinfeksi, serta identifikasi morfologi dan molekuler serta uji patogenesitas. Seluruh tahapan penelitian ini dilaksanakan di laboratorium dengan mengikuti prosedur standar dalam mikologi dan fitopatologi, dengan tujuan mendapatkan hasil yang akurat.

Pengambilan sampel tanaman padi yang terinfeksi dan isolasi patogen

Sampel daun tanaman padi bergejala Blas diambil di Daerah Mrican Kabupaten Kediri, Jawa Timur. Pengambilan sampel dilaksanakan dengan metode sampling yaitu mengambil daun tanaman padi bergejala pada lima titik pada petak sawah.

Sampel daun tanaman padi bergejala Blas dipotong 1-2 cm² lalu direndam kloroks 1% selama satu-tiga

menit (Salimah *et al.*, 2021). Potongan daun bergejala kemudian dibilas dengan direndam dalam air steril selama satu menit lalu ditiriskan. Setelah itu masing-masing 5 potongan sampel disusun pada media PDA (*Potato Dextrose Agar* + 1 tetes asam laktat). Setelah beberapa hari, jamur yang tumbuh dimurnikan dan diidentifikasi menggunakan mikroskop.

Perbanyakan dan Peremajaan Patogen *P. oryzae*

Isolat patogen *Pyricularia oryzae* diperoleh dari hasil isolasi dari tanaman bergejala. Perbanyakan dan peremajaan dilakukan dengan cara mengambil hifa pada isolat menggunakan jarum ose, kemudian diinokulasikan pada media PDA baru dan diinkubasi 5 hari pada suhu ruang.

Identifikasi Berdasarkan Ciri Morfologi

Identifikasi berdasarkan ciri morfologi dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Untuk identifikasi makroskopis, dilakukan dengan mengamati morfologi koloni berupa warna dan tampilan permukaan setiap isolat jamur yang didapatkan pada medium PDA. Untuk identifikasi mikroskopis, biakan murni jamur hasil isolasi konidium tunggal dipotong kecil dan diletakkan pada gelas benda, kemudian ditambah *lactophenol cotton blue*, setelah itu dipanaskan di atas bunsen agar media PDA yang ikut serta dengannya mencair. Setelah media PDA mencair dan tidak panas, preparat ditutup dengan gelas penutup. Kemudian diamati bentuk, warna, dan ukuran konidia *Pyricularia oryzae* dengan menggunakan mikroskop.

Identifikasi Secara Molekuler Amplifikasi Gen

Identifikasi secara molekuler diawali dengan isolasi DNA sampel jamur patogen dengan menggunakan kit dan kemudian dilakukan PCR menggunakan Primer ITS1 (5'-TCT GTA GGT GAA

CCT GCG G-3') dan ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') ((Sandy *et al.*, 2015). Selanjutnya proses menggunakan mesin PCR dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu tahap denaturasi awal 95°C selama 3 menit. Proses denaturasi pada suhu 95°C adalah 15 detik, annealing 52°C adalah 30 detik, ekstensi 72°C adalah 45 detik dengan masing-masing langkah diulang selama 35 siklus. Kemudian untuk final extension pada suhu 72°C selama 3 menit dan dilanjutkan dengan hold pada suhu 4°C. Hasil amplifikasi gen selanjutnya dielektroforesis dalam gel agarose selama 50 menit pada voltase 100 dan 200 A.

Sequencing dan Blast

Analisis kekerabatan sekuen nukleotida didapatkan dari proses sequencing produk PCR. Identifikasi molekuler dilakukan dengan mengirimkan sampel hasil PCR untuk dilakukan sequencing di Genetika Science Indonesia, Jakarta. Setelah itu hasil sequencing dicocokkan dengan data GenBank menggunakan program BLAST pada website *National Center of Biotechnology Information* (NCBI) <http://ncbi.nlm.nih.gov> untuk mengetahui tingkat kesesuaian urutan basa nukleotida (Sandy *et al.*, 2022). Bila potongan nukleotida hasil sequencing cocok dengan potongan nukleotida *Pyricularia oryzae* yang tersimpan di GenBank maka sampel tersebut teridentifikasi sebagai *Pyricularia oryzae*.

Uji Patogenisitas Jamur Patogen *P. oryzae*

Uji patogenesitas jamur *Pyricularia oryzae* bertujuan untuk membuktikan bahwa jamur tersebut merupakan jamur bersifat patogen pada tanaman padi. Suspensi jamur patogen *P. oryzae*. Suspensi tersebut dibuat dengan memasukkan jamur patogen *Pyricularia oryzae* yang telah diremajakan di cawan Petri selama 7 hari pada 100 ml media

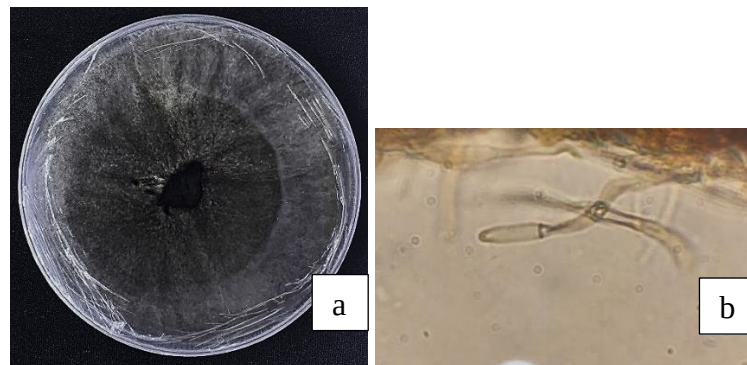
Potato Dextrose Broth (PDB) dalam labu Erlenmeyer 250 ml. Langkah selanjutnya menginkubasi selama 10 hari (Malinda & Suryanto, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bagian ini, dipaparkan hasil isolasi, identifikasi, dan karakterisasi jamur *Pyricularia oryzae* yang berhasil diperoleh dari sampel tanaman padi yang terinfeksi di Kediri, Jawa Timur. Hasil

penelitian mencakup deskripsi morfologi jamur, karakteristik koloni, serta hasil identifikasi molekuler serta uji patogenesitas yang mendukung kesesuaian patogen dengan spesies *Pyricularia oryzae*. Selanjutnya, hasil-hasil tersebut dianalisis dan dibahas berdasarkan literatur terkini serta perbandingan dengan penelitian sebelumnya.

Morfologi *P. oryzae*



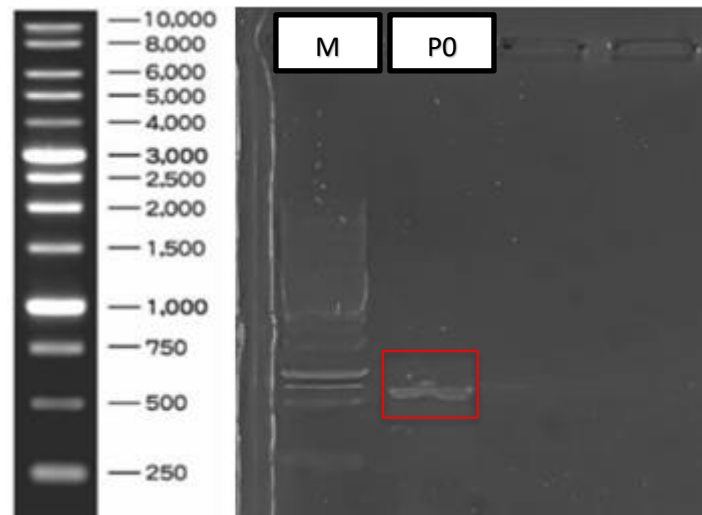
Gambar 1. Koloni *Pyricularia oryzae* pada media PDA, (a) Pengamatan Makroskopis, (b) Mikroskopis

Figure 1. *Pyricularia oryzae* colonies on PDA medium, (a) Macroscopic (b) Microscopic

Pengamatan morfologi jamur hasil isolasi diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa jamur memiliki warna hitam keabu-abuan dan tumbuh memenuhi cawan petri (Gambar 1a). Menurut Wicaksono *et al.* (2017), morfologi koloni *Pyricularia oryzae* yang diperoleh berwarna hitam keabuabuan, berbentuk tipis tanpa miselium udara, membentuk lingkaran menyerupai cincin setelah tumbuh hampir memenuhi cawan Petri dalam media PDA. *Pyricularia oryzae* mempunyai konidiofor bersekat-sekat, jarang bercabang, berwarna kelabu membentuk konidium pada ujungnya. Konidium bulat telur dengan ujung runcing, jika masak bersekat dua dengan ukuran 20-22 x 10-12 μm .

Hasil Identifikasi Molekuler

Setelah dilakukan PCR dengan menggunakan primer ITS1 dan ITS4, sampel hasil PCR dikirimkan ke untuk dilakukan Genetika Science Indonesia, Jakarta untuk Sekuensing. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari elektroforesis hasil PCR, diketahui bahwa ukuran pita DNA yang didapatkan pada panjang 500 bp (*base pair*). Hal tersebut dapat dilihat dari pita DNA sampl P0 yang terbentuk pada area dengan panjang 500 bp (Gambar 2). Menurut Porter dan Golding (2011), primer ITS dapat menangkap secara spesifik jamur yang memiliki panjang rata-rata 500-600 bp masing-masing untuk jamur pada filum Ascomycota dan Basidiomycota.



Gambar 2. Pita DNA Hasil Elektroforesis Produk PCR. M : Marker dan P0 : isolat jamur patogen.

Figure 2. DNA Bands from PCR Product Electrophoresis Results. M: Marker and P0: pathogenic fungal isolates

Analisis Kekerbatan Sekuen Nukleotida

Berdasarkan hasil yang diperoleh setelah sekuensing hasil PCR dan BLAST,

diketahui bahwa isolat P0 memiliki homologi terdekat (Per Ident.) sebesar 94.44% dengan *Pyricularia oryzae* strain B71 (CP060330.1) (Tabel 1).

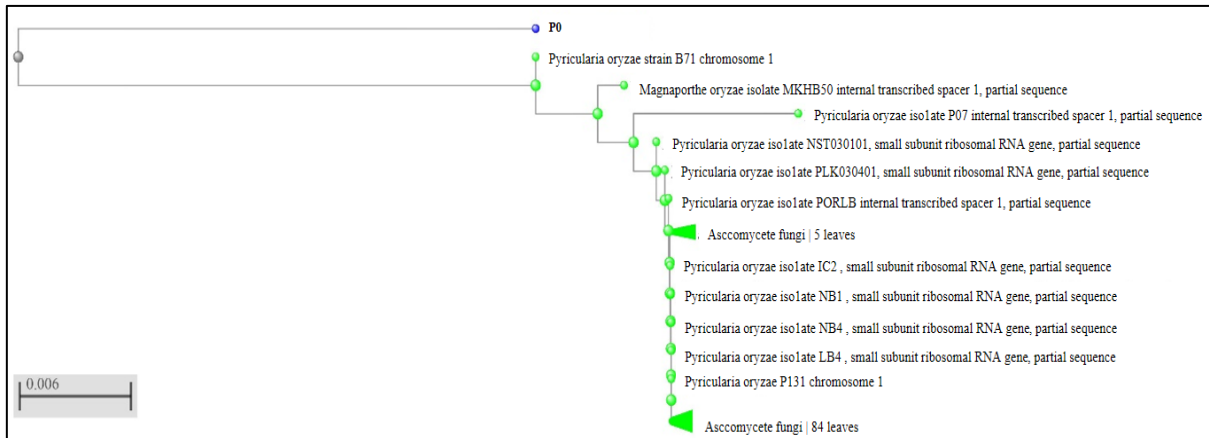
Tabel 1. Hasil Identifikasi Molekuler Isolat jamur pathogen

Table 1. Molecular Identification Results of pathogenic fungal isolates

Kode Isolat	Nama Spesies	Per Ident.	Accession
P0	<i>Pyricularia oryzae</i>	94.44%	CP060330.1

Selanjutnya, hasil sekuen isolat jamur dianalisis tingkat kekerabatannya menggunakan metode pendekatan pohon filogenetik. Pohon filogenetik ini dibuat menggunakan *neighbor-joining method* pada *website* NCBI. Metode ini dapat menjadi acuan untuk melihat jarak

kekerabatan yang nyata diantara sekuen (Lestari *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa isolat P0 memiliki kekerabatan yang dekat dengan *Pyricularia oryzae* dan ditunjukkan pada pohon filogenetik dibawah ini (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil analisis filogenetik hubungan kekerabatan antara isolat jamur pathogen dengan *Pyricularia oryzae*

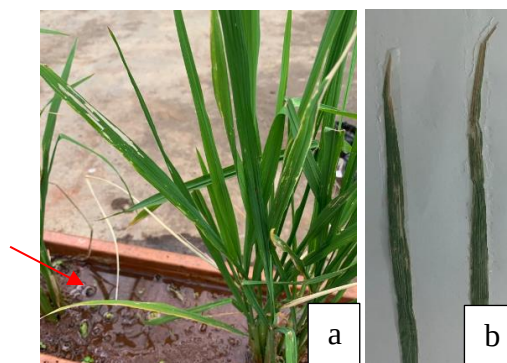
Figure 3. Results of phylogenetic analysis of the relationship between pathogenic fungal isolates and *Pyricularia oryzae*

Hubungan kekerabatan isolate P0 dengan spesies *Pyricularia oryzae* dapat dilihat dengan kedekatan hubungan dalam pohon filogenetik yang mana masih terdapat dalam 1 pohon yang sama. Pada Gambar 3, dapat dilihat bahwa isolat P0 memiliki hubungan terdekat dengan *Pyricularia oryzae* strain B71. Hal tersebut dapat dikatakan bahwa sampel P0 merupakan spesies dari *Pyricularia oryzae*.

Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas jamur *Pyricularia oryzae* dilakukan untuk membuktikan bahwa

patogen yang telah diisolasi sebelumnya bersifat patogen terhadap tanaman padi dan memberikan ciri yang sama dengan serangan *P. oryzae*. Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa inokulasi jamur *Pyricularia oryzae* pada tanaman padi memberikan gejala blas pada daun (Gambar 4a). Gejala penyakit Blas dapat timbul pada daun, batang, bunga, malai, dan biji. Gejala pada daun berbentuk bercak-bercak jorong dengan ujung-ujung runcing (Gambar 4b).



Gambar 4. Gejala Serangan Penyakit Blas pada tanaman padi untuk Uji Patogenisitas, a) gejala pada tanaman padi, b)gejala pada daun padi.

Figure 4. Symptoms of Blast Disease on Rice Plants for Pathogenicity Test, a) symptoms on rice plants, b) symptoms on rice leaves.

Gejala awal dari penyakit ini adalah bintik putih atau hijau keabu-abuan dengan tepi berwarna gelap kehijauan (Gambar 4a). Perkembangan gejala bintik tersebut berubah menjadi putih-kehijauan dengan tepi menunjukkan nekrotik berwarna cokelat-kemerahan. Ketika terjadi sporulasi pusat dari bintik menjadi berwarna abu-abu karena keberadaan konidia dan hifa. Gejala penyakit Blas padi pada batang dan malai berupa nekrotik berwarna cokelat tua yang kadang dapat menghambat atau menghentikan aliran sap tanaman (Wicaksono *et al.*, 2017). Gejala Blas yang khas yaitu menjadi busuknya ujung tangkai malai, yang dikenal sebagai busuk leher. Tangkai malai yang busuk akan menjadi mudah patah. Infeksi pada dasar malai menyebabkan kerusakan yang sangat parah. Infeksi pada dasar malai menyebabkan penurunan bobot gabah dan dasar malai menjadi berwarna putih hingga malai tegak karena gabahnya kosong. Gejala pada daun berbentuk bercak-bercak jorong dengan ujung-ujung runcing. Pusat bercak berwarna kelabu atau keputih-putihan dan biasanya mempunyai tepi cokelat atau cokelat kemerahan. Bercak agak kecil dan lebih bulat pada daun tua. Pada serangan *Pyricularia*, bercak-bercak cenderung berkumpul di pangkal helaian daun. Serta pada biji padi yang terkena Blas terdapat bercak-bercak kecil yang bulat (Wicaksono *et al.*, 2017).

Menurut Salimah *et al.*, (2021) gejala awal penyakit blas ditandai dengan munculnya bercak-bercak kecil berwarna cokelat, menyerupai ujung jarum. Jika padi termasuk varietas yang rentan, bercak-bercak tersebut dapat berkembang menjadi bentuk lonjong, dan terkadang menyerupai belah ketupat (Gambar 4b). Bagian tengah bercak berwarna putih keabu-abuan, sedangkan tepinya tetap berwarna cokelat. Ukuran dan warna bercak sangat dipengaruhi oleh tingkat kerentanan varietas padi serta kondisi lingkungan sekitarnya.

KESIMPULAN

Dari penelitian identifikasi dan karakterisasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis yang telah dilaksanakan dapat disimpulkan bahwa jamur yang menyebabkan penyakit blas pada tanaman padi di Mrican, Kediri, Jawa Timur adalah jamur *Pyricularia oryzae*. Hal ini diperkuat dengan analisis molekuler, dimana panjang fragmen DNA jamur yang diisolasi mencapai 500 *base pair* (bp) dan menunjukkan kemiripan genetik sebesar 94,44% dengan strain B71 dari *Pyricularia oryzae* (CP060330.1) sebagai homologi terdekat. Selain itu, dalam uji patogenitas, jamur patogen tersebut juga menunjukkan gejala serangan yang identik dengan penyakit blas yang disebabkan oleh *Pyricularia oryzae*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada BPPM Universitas Brawijaya Kampus Kota Kediri yang telah memberikan pendanaan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiarti, L., Kartahadimaja, J., Ferwita Sari, M., Ahyuni, D., Putu Nuryanti, N. S., Dulbari, D., & Saputra, H. (2022). Inventarisasi Serangga Hama dan Penyakit pada Berbagai Galur Tanaman Padi. *J-Plantasimbiosa*, 4(1), 36–49.
- Kosasi, S., Millah, S., & Santoso, N. P. L. (2022). Manajemen dalam Konsep dan Prinsip Pengelolaan Pendidikan menggunakan Komputasi Awan. *Jurnal MENTARI: Manajemen, Pendidikan Dan Teknologi Informasi*, 1(1), 38–45.
- Lestari, F. W., & Arumingtyas, E. L. (2013). Phylogenetic Identification of Pathogenic Fungi from Apple in Batu City, Malang, Indonesia. *Advances in Microbiology*, 03(01), 69–75.

- Malinda, N., & Suryanto, D. (2012).  Penghambatan Serangan Sclerotium Rolfsii Penyebab Rebah Kecambah Pada Kedelai Dengan Bakteri Kitinolitik. *Saintia Biologi*, 1(1), 52–58.
- Nguyen, C. C., Nguyen, T. Q. C., Kanaori, K., Binh, T. D., Vang, L. Van, & Kamei, K. (2021). Isolation and Identification of Antibacterial and Antifungal Compounds from *Praxelis clematidea* R. M. King & H. Robinson as an Effective Potential Treatment against Rice Pathogens. *Agronomy*, 11(11), 2366.
- Salimah, N. A., Tutik Kuswinanti, & Andi Nasruddin. (2021).  Eksplorasi dan Penentuan Ras Penyebab Penyakit Blas Padi di Kabupaten Maros. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 17(2), 41–48.
- Sandy, Y. A., Chen, Y.-C., & Sulistyowati, L. (2022).  Purification and Identification of an Antifungal Protein from an Isolated Fungus with Antagonism to *Colletotrichum gloeosporioides* MC9. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*, 44(2), 332–343.
- Sandy, Y. A., Djauhari, S., & Sektiono, A. W. (2015).  Identifikasi Molekuler Jamur Antagonis *Trichoderma harzianum* Diisolasi Dari Tanah Pertanian Di Malang, Jawa Timur. *Jurnal HPT*, 3(3), 1–8.
- Sucipto, I., Munif, A., Suryadi, Y., & Tondok, E. T. (2015).  Eksplorasi Cendawan Endofit Asal Padi Sawah sebagai Agens Pengendali Penyakit Blas pada Padi Sawah. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 11(6), 211–218.
- Wicaksono, D., Wibowo, A., & Widiastuti, A. (2017).  Metode Isolasi *Pyricularia Oryzae* Penyebab Penyakit Blas Padi. *Jurnal Hama dan*
- Penyakit Tumbuhan Tropika*, 17(1), 62.