

UNIVERSITAS ANDALAS

PROSIDING SEMINAR NASIONAL

"PENGEMBANGAN KOMODITI UNGGULAN PERTANIAN
UNTUK MENINGKATKAN EKONOMI DAN KESEJAHTERAAN MASYARAKAT"

Mercure Hotel, Padang, 13 – 14 November 2014

Editor:

Irfan Suliansyah dan PK. Dewi Hayati



Diselenggarakan dalam rangka
Lustrum XII Fakultas Pertanian Universitas Andalas
Atas kerjasama antara Fakultas Pertanian Universitas Andalas dengan
Badan Perencanaan dan Pembangunan Daerah Sumatera Barat

PROSIDING

Seminar Nasional

Mengembangkan Komoditi Unggulan Pertanian

untuk Meningkatkan Perekonomian dan Kesejahteraan Masyarakat

Mercury Hotel, Padang 13 – 14 November 2014

Alamat	:	Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manih, Padang - 25163
Telp.	:	0751-72701
Fax	:	0751-72702
Web	:	faperta.unand.ac.id

Editor

Prof. Dr. Ir. Irfan Suliansyah, MS
P.K. Dewi Hayati, PhD

Lay-out :

P.K. Dewi Hayati, PhD dan Juniarti, PhD

Sampul:

Indra Afrana

Revisi :



Jl. Raya No 39 A, Pauh, Padang - Sumatera Barat 25161

Phone : 075-802-96301-3-8

PANITIA SEMINAR NASIONAL
PENGEMBANGAN KOMODITI UNGGULAN PERTANIAN
UNTUK MENINGKATKAN EKONOMI DAN KESEJAHTERAAN RAKYAT
dalam rangka Lustrum XII Fakultas Pertanian Universitas Andalas
Padang, 13 – 14 November 2014

PENANGGUNG JAWAB

Dekan Fakultas Pertanian
Ketua BAPPEDA Provinsi Sumatera Barat

PENGARAH

Kepala Dinas Pertanian Tanaman Pangan dan Hortikultura Prov.Sumbar
Kepala Dinas Perkebunan Prov.SumBar
Kepala Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sukarami
Wakil Dekan I Fakultas Pertanian Universitas Andalas

PELAKSANA

Ketua : Prof. Dr. Ir. Reni Mayerni, MS
Wakil Ketua : Ir. Yusrizal M. Zen, MS
Sekretaris : Dr. Yulmira Yanti, SSi, MP
Bendahara : Prof. Dr. Warnita, MP

1. Sekretariat :
Dr. Yusniwati, SP, MP
Aries Kusumawati, SP.MSi
Teguh Putra
2. Makalah Prosiding:
Prof. Dr. Ir. Irfan Suliansyah, MS
Dr. P.K. Dewi Hayati, SP, MSi
3. Acara Seminar:
Dr. Juniarti, SP, MP
Rina Sari, SP, MP
M. Hendri, SP, MM
4. Tamu:
Dr. Ir. Benni Satria, MP
Dewi Rezki, SP, MP
5. Transportasi:
Dr. Ir. Munzir Busniah, MSi
Irwin Mirza, SP, MP
6. Konsumsi:
Dr.Ir.Nalwida Rozen, MP
Yulistriani, SP.MP
Sri Heriza, SP, MP

DAFTAR ISI

	Halaman
Kata Pengantar	i
Sambutan Dekan Fakultas Pertanian Universitas Andalas	ii
Susunan Panitia Seminar Nasional	iii
Daftar Isi	iv

Makalah Kunci

K-1	ANALISIS KEBIJAKAN DAN REKOMENDASI PENGEMBANGAN AGRIBISNIS BERBASIS KOMODITI UNGGULAN PERTANIAN Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian	1
K-2	KEBIJAKAN HILIRISASI INDUSTRI AGRO UNTUK PENINGKATAN NILAI TAMBAH DAN KESEJAHTERAAN MASYARAKAT Kementerian Perindustrian Republik Indonesia Dirjen Industri Agro	7
K-3	PERAN PERBANKAN DALAM PENGEMBANGAN SEKTOR PERTANIAN DI SUMATERA BARAT Kantor Perwakilan Bank Indonesia Wilayah VIII (Sumbar, Riau, Jambi & Kep. Riau)	27
K-4	PEMANFAATAN TEKNOLOGI TERAPAN BIDANG PERTANIAN Rektor Universitas Andalas	34

Makalah Undangan

Makalah Bidang Kajian Pemuliaan Tanaman

PT-1	NILAI DUGA HETEROSIS PADA HASIL PERSILANGAN IS-JARISSA DAN HP-1744 DALAM RANGKA PERAKITAN VARIETAS GANDUM (<i>Triticum aestivum</i> L.) BERUMUR GENJAH DENGAN ANAKAN BANYAK Fitri Ekawati, Irfan Suliansyah, P.K. Dewi Hayati	40
PT-2	HUBUNGAN ANTARA HASIL DAN KADAR PATI 25 KLON UBI JALAR (<i>Ipomoea batatas</i> L.) DI LAHAN SAWAH Hanny Hidayati Nafi'ah, Tati Nurmala, dan Agung Karuniawan	47
PT-3	EKSPLORASI, KARAKTERISASI DAN KONSERVASI PEPAYA DI KABUPATEN TANAH DATAR DAN PARIAMAN Dewi Fatria, Noflindawati, Tri Budiyantri, Sunyoto dan Makful	53

		Halaman
AG-5	PENINGKATAN HASIL TANAMAN PADI DENGAN METODE SRI Nalwida Rozen	138
AG-6	PENGARUH FREKUENSI PENYEMPROTAN PUPUK ORGANIK CAIR LENGKAP SUPER ACI TERHADAP PERTUMBUHAN DAN HASIL BEBERAPA VARIETAS GANDUM (<i>Triticum aestivum</i> L.) Adira Muliawan, Irfan Suliansyah dan Auzar Syarif	145
AG-7	TOLERANSI BEBERAPA GENOTIPE PADI PADA LAHAN SAWAH YANG MENGALAMI CEKAMAN KEKERINGAN Yummama Karmaita, Aswaldi Anwar, Etti Swasti	153

Makalah Bidang Kajian Proteksi Tanaman

AGT-1	APLIKASI PUPUK HAYATI DAN PUPUK ORGANIK TERHADAP C-ORGANIK DAN DERAJAT INFEKSI AKAR TANAMAN BUAH NAGA (<i>Hylocereus costaricensis</i> L.) PADA TANAH PASIR BEKAS TAMBANG Kiki Zakiah, Anni Yuniarti, Anne Nurbaity dan Hidayat Salim	159
AGT-2	DETEKSI PATOGEN TERBAWA BENIH PADA TANAMAN JAGUNG MENGGUNAKAN TEKNIK POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) Haliatur Rahma, Martinius, Iri Maryono dan Ratna Wulandari	167
AGT-3	UJI LAMA PENYIMPANAN TEPUNG BUAH SIRIH HUTAN (<i>Piper aduncum</i> L.) DALAM MENGENDALIKAN HAMA KUTU DAUN-PERSIK (<i>Myzus persicae</i> Sulzer) (HOMOPTERA: APHIDIDAE) PADA TANAMAN CABAI (<i>Capsicum annum</i> L.) Rusli Rustam, J. Hennie Laoh dan Riyanto Tamba	176
AGT-4	ISOLASI SENYAWA KIMIA DARI EKSTRAK METANOL, KULT BATANG <i>Shorea singkawang</i> DAN UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK TERHADAP LARVA <i>Artemia salina</i> DENGAN METODE BRINE SHRIMP LEATHAL BIOASSAY DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN Yusneli, Yunazar Manjang, Abdi Dharma dan Djaswir Darwis	187

Makalah Bidang Kajian Agribisnis

AGRI-1	OPTIMALISASI FUNGSI KELOMPOK TANI DALAM UPAYA PENINGKATAN KUALITAS PETANI DI KOTA PADANG Nuraini Budi Astuti	197
--------	---	-----

HPT-2

DETEKSI PATOGEN TERBAWA BENIH PADA TANAMAN JAGUNG MENGUNAKAN TEKNIK POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

¹Haliatur Rahma, ¹Martinius, ²Tri Maryono, ³Ratna Wulandari

¹Program Studi Agroekoteknologi Faperta Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis Padang. 25163. ²Program Studi Agroekoteknologi Faperta Universitas Lampung Jl. Prof. Dr. Sumantri Brodjonegoro No. 1. Bandar Lampung. 35145.

³Badan Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Barat. Jl. Raya Padang-Solok Km. 40 Kotak Pos 34 Padang Solok 25001.

*Corresponding author: haliatur_rahma@yahoo.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi patogen terbawa benih pada jagung menggunakan teknik polymerase chain reaction (PCR). Penelitian dilakukan dari bulan Maret - September 2014. Sampel tanaman dan benih diperoleh dari tiga lokasi sentra produksi jagung di Sumatera yaitu: Sumatera Barat, Sumatera Utara dan Lampung. Isolasi patogen terbawa benih dikhususkan untuk penyakit layu Stewart yang disebabkan oleh *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* dan penyakit busuk tongkol yang disebabkan oleh cendawan patogen *Fusarium* spp. dan *Aspergillus* spp. Deteksi patogen secara PCR menggunakan primer spesifik Id HRP / HRP 3c untuk *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*, ITS Fus F / ITS Fus R untuk *Fusarium* sp, AFLA F / AFLA R untuk *Aspergillus* sp, dan primer ITS1/ITS4 untuk semua cendawan yang diuji. Hasil penelitian diperoleh posisi DNA pada 900 pb untuk *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*, 431 pb untuk *Fusarium* sp, 413 pb untuk *Aspergillus* sp.

Kata kunci: busuk tongkol, penyakit layu Stewart, PCR

I. PENDAHULUAN

Impor benih jagung selain mampu mencukupi kebutuhan dalam negeri, juga akan meningkatkan masuknya patogen penyebab penyakit yang belum terdapat di Negara Kesatuan Republik Indonesia, hal ini disebabkan benih yang diimpor terdapat kemungkinan terinfeksi oleh patogen tular benih. Hal ini disebabkan karena benih merupakan salah satu bahan perbanyakan tanaman yang merupakan tempat yang baik bagi patogen untuk bertahan dan sangat efektif sebagai wahana penyebaran patogen tanaman dari satu tempat ke tempat lain. Menurut Shurtleff (1980), berbagai kelompok patogen yang menyerang tanaman jagung diantaranya adalah cendawan, bakteri, virus, serta nematoda, diketahui beberapa diantaranya bersifat sebagai patogen yang terbawa benih yang menjadi sumber inokulum pada tanaman jagung di lapangan.

Beberapa penyakit penting yang menginfeksi tanaman jagung diantaranya penyakit layu Stewart (*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*), karat daun yang disebabkan oleh *Fusicladium sorghii* dan *F. Polysora*, penyakit busuk batang (*Peronosclerospora maydis*), seedling blight yang disebabkan oleh *Aspergillus* spp dan *Penicillium* sp, penyakit busuk batang jagung disebabkan oleh delapan

spesies cendawan yaitu *Colletotrichum graminearum*, *Diplodia maydis*, *Gibberella zaeae*, *Fusarium moniliforme*, *Macrophomina phaseolina*, *Pythium aphanidermatum*, *Cephalosporium maydis*, dan *Cephalosporium acremonium* (Shurtleff 1980), *Maize Dwarf Mosaic Virus* (White 1999). Sebagian besar patogen yang menginfeksi jagung dapat ditularkan melalui benih, diantaranya *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*, *Peronosclerospora maydis*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium* spp, dan *Penicillium* sp (Mardinus 2003). Untuk mencegah kerugian akibat serangan patogen terbawa benih, maka deteksi terhadap keberadaan patogen dengan uji kesehatan benih sangat penting untuk dilaksanakan.

Pengujian kesehatan benih untuk mendeteksi keberadaan patogen terbawa benih mempunyai arti penting dalam menjamin pendistribusian benih yang menjadi alat transportasi bagi patogen. Disamping itu uji kesehatan benih berfungsi sebagai sarana pengendalian mutu yang menjamin kualitas benih dalam pertukaran benih baik untuk tujuan penelitian maupun perdagangan. Hanya saja, sampai saat ini pengujian kesehatan benih di Indonesia belum bersifat wajib, hanya berdasarkan permintaan dari konsumen (Ilyas 2008). Untuk memenuhi persyaratan benih bermutu, maka diperlukan ketersediaan metode standar untuk mendeteksi organisme pengganggu tanaman (OPT) khususnya patogen terbawa benih, yang dibutuhkan adalah sistem deteksi dini yang dapat diterima secara luas.

Salah satu metode deteksi dini patogen tanaman yang banyak digunakan saat ini adalah *polymerase chain reaction* (PCR), yang merupakan proses enzimatik untuk melipatgandakan (*amplification*) secara eksponensial suatu sekuens nukleotida tertentu secara *in vitro* (Erlich *et al.*, 1988). Teknik ini membuka peluang pengembangan deteksi dini keberadaan patogen meskipun dalam populasi yang sangat sedikit.

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan patogen terbawa benih *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*, *Fusarium* sp dan *Aspergillus* sp pada tanaman jagung menggunakan teknik PCR.

II. METODOLOGI

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas Penelitian berlangsung dari bulan Maret sampai dengan Oktober 2014. Sampel tanaman sakit dan benih diperoleh dari tiga daerah sentra produksi jagung di Sumatera Barat, Sumatera Utara dan Lampung.

Isolasi bakteri *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* pada benih jagung

Isolasi bakteri dilakukan berdasarkan protokol Thai Agricultural Standard (2008). Ekstraksi *Pnss* dari benih jagung secara langsung dilakukan menggunakan media *Tryptic Soy Agar* (TSA) dan media selektif Nigrosin spesifik untuk *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*. Seratus benih jagung dari masing-masing sampel diuji berdasarkan standar *International Seed Testing Association* (ISTA). Benih disterilisasi NaOCl 1% dan dibilas dengan akuades steril. Ekstraksi benih dilakukan dengan dua cara, pertama benih dihancurkan untuk

mendeteksi bakteri pada endosperma dan benih yang tidak dihancurkan untuk mendeteksi bakteri pada bagian permukaan. Kemudian benih dari masing-masing metode dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dan media Nigrosin. Sampel diinkubasi pada inkubator bergoyang 110 rpm semalam. Suspensi bakteri hasil ekstraksi dipindahkan ke tabung eppendorf steril, diencerkan 10 atau 100 kali menggunakan PBS 0,01 M. Kemudian disebar pada media TSA dan Nigrosin Agar +200 mg/L nystatin dan diratakan dengan *glass beads* steril. Inkubasi dilakukan pada suhu 25-27 °C selama 2-3 hari dalam kondisi gelap (untuk media Nigrosin Agar). Koloni *Pnss* pada media TSA agar akan berwarna kuning cerah, berkilat namun tidak berlendir. Koloni yang memiliki ciri-ciri sebagai *Pnss* dimurnikan pada media TSA. Koloni pada media Nigrosin agar berbentuk koloni yang menyerupai mata ikan (fish-eye), koloni tampak dengan pusat berwarna gelap (hitam) dikelilingi dengan massa bakteri yang translusens, konveks, licin dan menyerupai lendir. Bakteri yang telah murni digunakan untuk tahapan pengujian selanjutnya.

Isolasi Cendawan Penyebab Penyakit Busuk Tongkol (*Fusarium* spp dan *Aspergillus* spp) pada Jagung

Untuk merangsang pertumbuhan cendawan yang terbawa pada benih jagung, dilakukan *plating* benih pada cawan petri yang telah dilapisi tiga lembar kertas saring steril basah. Setiap petri ditanam 10 benih. Kemudian benih diinkubasi selama 6, 12, 18 dan 24 jam pada suhu ruang. Cendawan yang tumbuh diisolasi dan dimurnikan pada media PDA, biakan murni kemudian dibiakkan pada media PDB dan diinkubasi selama 72 jam, selanjutnya miselia cendawan disaring dengan kain kasa dan dilakukan isolasi DNA.

Isolasi DNA.

Isolasi DNA bakteri *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* dilakukan dengan menggunakan metode Sambrook *et al.*, (1989). Isolat bakteri dengan koloni tunggal ditumbuhkan pada medium *Tryptic Soy Broth* (TSB) yang diinkubasi pada rotary shaker pada suhu 31 °C, 80 rpm 24 jam. Bakteri dipanen dengan mengambil 1.5 ml suspensi biakan, disentrifugasi pada suhu ruangan pada 10.000 rpm selama 3 menit. Ekstraksi DNA dilakukan sebagai berikut: pelet bakteri disuspensikan dalam 1 ml 1 x TES buffer (1 M Tris HCl, 5 M NaCl, 0.5 M EDTA, pH 8,0) lalu sentrifugasi pada suhu ruang dengan kecepatan 12.000 rpm selama lima menit. Supernatan dibuang dan diganti dengan 200 µl 1 x TES baru, lalu diresuspensi secara perlahan. Selanjutnya ditambahkan dengan 40 µl sodium dodecyl sulphate (SDS) 10% diresuspensi dengan cara membolak-balik eppendorf secara perlahan dan diinkubasi pada suhu 65 °C selama 30 menit. Setelah itu ditambahkan dengan 20 µl proteinase-K (2 mg/ml). Campuran tersebut ditambahkan lagi dengan fenol:kloroform (3:5) sebanyak 200 µl, dibolak-balik selama 5 menit, supernatan diambil secara hati-hati dan dipindahkan ke tabung eppendorf baru dan steril. Supernatan ditambahkan dengan kloroform 200 µl lalu disentrifugasi pada suhu ruang dengan kecepatan 12.000 rpm selama lima

menit. Supernatan diambil dan dipindahkan dalam eppendorf baru steril dan ditambahkan satu ml etanol 95% dingin dan 50 μ l NaOAc (*Sodium Acetate*) 3 M pH 5,2, dibolak-balik secara perlahan. Benang-benang DNA yang terbentuk diambil, lalu dikeringkan. Setelah DNA kering, ditetesi dengan 40 μ l akuabides steril.

Isolasi DNA cendawan dilakukan berdasarkan metode Liu *et al.*, (2000). Cendawan patogen hasil isolasi diambil miselinya sebanyak 0,1 gram yang dibiakkan pada media *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan dimasukkan pada mortar steril. Kemudian ditambahkan nitrogen cair, miselia cendawan digerus dengan cepat sampai miselia menjadi bubuk (halus). Kemudian tambahkan 500 μ l bufer TE (pH 8,0) (10mM Tris-HCl pH 8; 1 mM EDTA) serta bufer ekstraksi (200 mM Tris HCl pH 8,5; 250 mM NaCl, 25 mM EDTA dan 0,5% SDS) sebanyak 300 μ l dan digerus selama 5 menit, selanjutnya dimasukkan ke tube 2 ml. Kemudian 150 μ l sodium asetat (pH 5,2) ditambahkan dan diinkubasi pada suhu 20 °C selama 10 menit. Selanjutnya disentrifuse pada 13.000 rpm selama 5 menit; 300 μ l supernatan diambil dan dimasukkan ke tube 1,5 ml serta ditambahkan isopropanol dengan volume yang sama. DNA dipresipitasi dengan sentrifuse 13.000 rpm selama 10 menit, kemudian dicuci dengan 500 μ l 70% etanol dingin dan disentrifugasi selama 1 menit 6000 rpm. Pada tahap akhir, DNA dikeringkan \pm 2 jam dan dilarutkan dalam 50 μ l TE (10 mM Tris HCl pH 8; 1 mM EDTA).

DNA selanjutnya disimpan pada suhu -20 °C. Deteksi DNA dilakukan dengan teknik elektroforesis gel agarosa. Konsentrasi gel agarosa yang digunakan adalah 0.1% dalam buffer TAE 1x dan dicampur dengan 0.5 μ g/ml etidium bromida dan kekuatan arus listrik 75 volt selama 40 menit.

Polymerase Chain Reaction (PCR).

Deteksi bakteri *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* dilakukan dengan menggunakan pasangan primer spesifik HRP1d/HRP3c (Forward HRP1d 5'-GCACTCA TTCCGACCAC-3') dan Reverse HRP3c 5'-GCGGCATACCT AAC CC-3') (Coplin *et al.* 2002). Primer spesifik ITS-Fusarium F dan ITS-Fusarium R (5'-CAACTCCCAAACCCCTGTGA-3' dan 5'-GCGACGATTACCAGTAACGA-3') untuk deteksi *Fusarium* spp (Yazeed, 2011) dan pasangan primer AFLA-F (5'-GGTGGTGAAGTCTATCTAAGG-3') dan AFLA-R (5'AAGGCATAAAA GGGTGTGCGAG-3') untuk *Aspergillus* sp (Do Thi Anh 2013). Komponen PCR yang digunakan adalah KAPA *Taq Ready Mix* (KAPA Biosystem) sebanyak 25 μ l, 20 pmol untuk masing-masing primer, DNA genom, dan ddH₂O hingga volume reaksi 50 μ l. Protokol PCR yang digunakan untuk *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* adalah: denaturasi awal (94 °C selama 120 detik), 25 kali siklus dengan denaturasi (94 °C selama 20 detik), penempelan primer (58 °C selama 15 detik, ekstensi (72 °C selama 90 detik), dan tahap akhir (72 °C selama 5 detik). Untuk deteksi cendawan *Fusarium* spp. dan *Aspergillus* sp masing-masing adalah: denaturasi awal (94 °C selama 5 menit), 35 siklus dengan denaturasi (94 °C 1

menit dan 30 detik), penempelan primer (58 °C 1 menit dan 65 °C 30 detik), ekstensi (72 °C 1 menit dan 32 detik), serta tahap akhir (72 °C 10 menit dan 3 menit).

Analisis DNA.

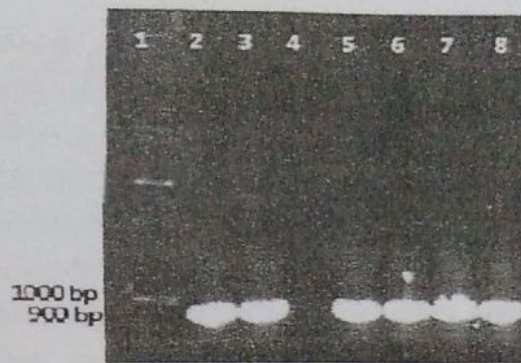
Produk hasil PCR diambil 3 µl dan dicampur dengan *loading dye* sebanyak 2 µl, kemudian masukkan ke dalam sumuran gel elektroforesis. Pada visualisasi ini disertakan juga 1 *KB DNA ladder* (dari Geneaid). Gel selanjutnya di-*running* dengan kekuatan 75 volt selama 40 menit. Pita DNA diamati dengan sinar *UV transilluminator*. Primer spesifik HRP 1d/HRP 3c menghasilkan pita DNA pada posisi 900 pb (Coplin *et al.*, 2002), pasangan primer ITS-Fusarium F/ITS-Fusarium R pada posisi ± 431 bp (Yazeed *et al.*, (2013), sementara pasangan primer AFLA- F/AFLA-R akan menghasilkan pita DNA pada posisi 413 bp (Do Thi Anh, 2013).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pantoea stewartii subsp. *stewartii*.

Hasil isolasi bakteri *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* dari tanaman bergejala layu stewart dilakukan menggunakan media TSA dan Nigrosin. Pada media TSA koloni bakteri *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* berwarna kuning, krem kekuningan, elevasi cembung, dan berlendir. Sedangkan pada media Nigrosin koloni bakteri berupa koloni bulat, cembung dengan adanya warna hitam dibagian tengah. Bakteri dengan ciri-ciri *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* ditemukan pada tiga daerah sentra produksi jagung.

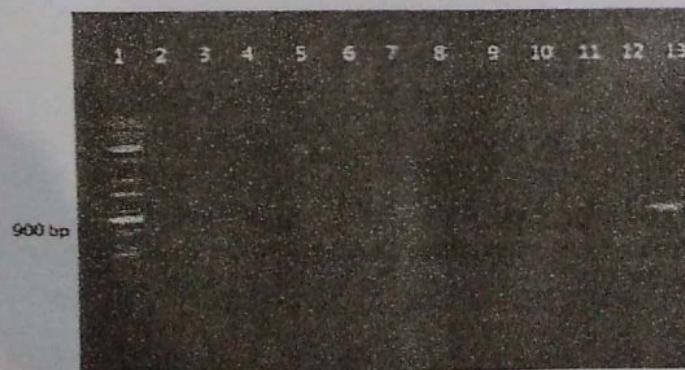
Amplifikasi DNA bakteri *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* hasil isolasi dari jaringan tanaman sakit menggunakan primer spesifik HRP ditampilkan pada Gambar 1. Sementara amplifikasi DNA *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* yang berasal dari benih ditampilkan pada Gambar 2. Enam dari sampel DNA bakteri *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* (dua dari Sumatera Barat SB1.2 dan SB2.2, dua dari Sumatera Utara SU1.3, SU3.2, serta dua dari Lampung LS1.1 dan LT3.3) berhasil diamplifikasi dan menghasilkan pita DNA pada posisi 900 pasang basa. Satu isolat dari Sumatera Utara yaitu 4 = SU1.2, tidak menghasilkan pita DNA pada posisi yang sama. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* berhasil diisolasi dan dideteksi secara molekuler menggunakan teknik PCR dengan primer spesifik HRP. Rahma (2013), analisis sekuensing hasil PCR menggunakan primer HRP terhadap sampel DNA bakteri dari Bogor Jawa Barat menunjukkan bahwa sampel tersebut DNA tersebut mirip dengan gen *hrpS* dari isolate *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* dari Amerika Serikat. Menurut Coplin dan Cook (1990), primer spesifik HRP mengkode gen *Hrps* yang merupakan gen penting patogenisitas dan virulensi bagi bakteri Pnss. Gen *hrp* mengkode system sekresi tipe III yang sangat diperlukan bakteri *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* untuk patogenisitas dan luka *water soaking* pada tanaman inangnya.



Gambar 1. Hasil amplifikasi DNA *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* menggunakan primer spesifik HRP. Line 1 = Marker 1 kb (Geneaid), 2 = SB1.2, 3 = SB2.2, 4 = SU1.2, 5 = SU1.3, 6 = SU3.2, 7 = LS1.1, 8 = LT3.3 (SB = Sumatera Barat, SU = Sumatera Utara, LS = Lampung Selatan, LT = Lampung Timur).

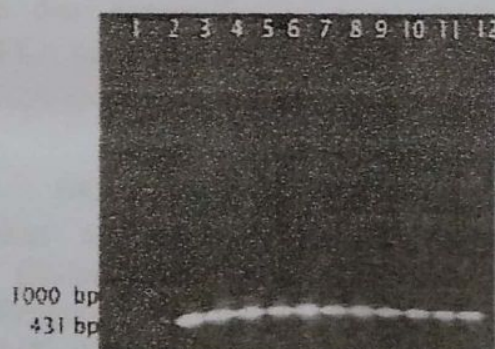
Deteksi *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* pada benih yang diambil dari lapangan menunjukkan bahwa pita DNA yang dihasilkan sangat tipis bila dibandingkan dengan sampel DNA kontrol (SB1.2). Hal ini mungkin disebabkan pertumbuhan bakteri pada benih masih dalam kondisi infeksi laten dan belum mencukupi kuorum untuk mengekspresikan gen patogenesisnya, sehingga ketika dideteksi menggunakan primer spesifik HRP hanya memunculkan pita DNA yang samar-samar saja. Namun demikian hasil amplifikasi ini menunjukkan bahwa benih yang dijadikan sampel telah terindikasi terinfeksi oleh *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*.

Telah terdeteksinya penyakit layu stewart di beberapa lokasi di Sumatera mengindikasikan bahwa benih yang ada di Sumatera telah terinfeksi oleh patogen penyebab layu stewart. Oleh karena itu perlu mendapat perhatian khusus dan perlu dilakukan monitoring keberadaan patogen ini di wilayah sentra produksi jagung di seluruh Indonesia. Mengingat sejauh ini status patogen *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* dalam Lampiran Permentan No. 93/Permentan/Ot.140/12/2011 masih berstatus A1, yaitu patogen yang belum ditemukan di wilayah Indonesia. Apabila ditemukan tanaman jagung yang terserang penyakit layu stewart, maka harus segera dimusnahkan untuk mencegah penyebaran penyakit yang lebih luas.

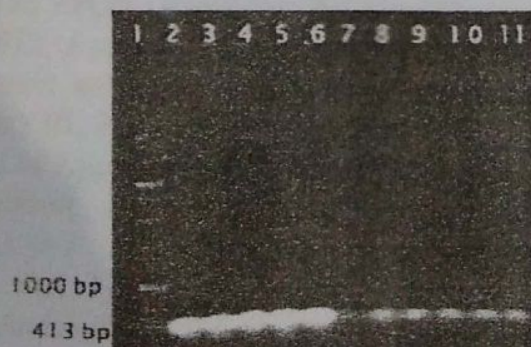


Gambar 2. Hasil amplifikasi deteksi *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* pada benih jagung. Line 1 = Marker 1 kb (Geneaid), 2 = NK2, 3 = NK99, 4 = Pioneer 23, 5 = Pioneer 27, 6 = Pioneer 29, 7 = Pacific 105, 8 = DK 979, 9 = Bisi 8, 10 = lantik manis, 11 = Siarang, 12 = Pertiwi, Kontrol (SB1.2).

Deteksi cendawan *Fusarium* sp menggunakan primer spesifik *Fusarium* ITS yang spesifik mengamplifikasi daerah ITS khusus untuk genus-genus *Fusarium* diperoleh pita DNA pada posisi 413 pasang basa Yazeed *et al.*, (2011) (Gambar 3), sementara untuk deteksi *Aspergillus* sp menggunakan primer spesifik AFLA diperoleh pita DNA pada posisi 413 pasang basa (Gambar 4). Kedua primer spesifik berhasil mendeteksi keberadaan gen spesifik untuk *Fusarium* spp. dan gen aflatoksin dari *Aspergillus* spp. yang ditunjukkan oleh posisi pita DNA 431 pasang basa untuk *Fusarium* sp dan 413 untuk *Aspergillus* sp. Primer AFLA spesifik mendeteksi keberadaan aflatoksin pada suatu sampel yang terinfeksi *Aspergillus* sp (Ehrlich *et al.*, 2005). Keberadaan aflatoksin pada sampel benih dapat menurunkan kemampuan tumbuh dari benih, sedangkan bila ditemukan pada bahan pangan maupun pakan akan menyebabkan gangguan kesehatan pada manusia maupun hewan ternak. Menurut Do Thi Anh (2013), spesifisitas dan sensitifitas suatu metoda PCR yang menggunakan primer tertentu ditunjukkan dengan keberadaan hanya satu pita DNA saja. Dengan demikian kedua primer ini sangat cocok digunakan mendeteksi keberadaan kedua patogen pada sampel benih yang terindikasi terinfeksi oleh *Fusarium* spp. dan *Aspergillus* spp.



Gambar 3. Amplifikasi DNA cendawan *Fusarium* sp menggunakan primer spesifik *Fusarium* ITS. Line 1 = DNA ladder 1 kb (Geneaid), 2 = IH.2, 3 = KH1.2 (dari Lampung) 4 = A1111 (Sumatera Barat), 5 = C1.11, 6 = E1.C1, 7 = E1.B1, 8 = E1.C1.2, 9 = E1.1, 10 = F1.K1.2, 11 = F11.K1 (Sumatera Utara), 12 = P21 (Sampel benih Pioneer 21).



Gambar 4. Amplifikasi DNA cendawan *Aspergillus* sp menggunakan primer spesifik AFLA F/AFLA R. Line 1 = Marker DNA ladder 1 kb (Geneaid), 2 = A1.1, 3 = BH1.2, 4 = B3.2 ((Sumatera Barat), 5 = CH.2, 6 = D4.1, 7 = E2.11, 8 = F1K11, 9 = G2.1 (Sumatera Utara), 10 = H2.5, 11 = I4.4 (Lampung).

Deteksi patogen menggunakan teknik PCR sensitive dan spesifik bila dibandingkan dengan deteksi benih berdasarkan morfologi yang membutuhkan waktu yang untuk mengetahui jenis suatu patogen. Uji kesehatan benih dapat digunakan sebagai rekomendasi dalam menggunakan benih, sehingga benih yang terinfeksi tidak dapat digunakan sebagai bibit. Hal ini bila tidak diindahkan akan menimbulkan epidemi di lapangan. Kondisi iklim tropis di Indonesia yang lembab dan hangat akan menjadi tempat yang baik bagi pertumbuhan bakteri patogen. Terutama patogen yang merupakan introduksi dari luar negeri, akan menjadi patogen yang sangat berbahaya pada wilayah baru. Deteksi ada atau tidaknya patogen pada benih dapat memberi informasi kemungkinan terjadinya epidemi penyakit di lapangan yang berasal dari benih yang terinfeksi. Benih-benih yang dinyatakan positif terinfeksi patogen tular benih disarankan untuk tidak digunakan sebagai bibit.

IV. KESIMPULAN

1. Deteksi *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* dari sampel tanaman dan benih tiga lokasi sentra produksi jagung di Sumatera menggunakan primer spesifik HRP 1d/ HRP 3c, didapatkan pita DNA pada posisi 900 pasang basa.
2. Deteksi *Fusarium* sp dan *Aspergillus* sp menggunakan primer spesifik *Fusarium* ITS dan AFLA berhasil menunjukkan pita DNA pada posisi 431 dan 413 pasang basa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbangtan), atas Hibah Penelitian Kerja Sama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) TA 2014 dengan Nomor Kontrak 101/PL.220/L.1/3/2014.K. Tanggal 10 Maret 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Coplin, D.L., D.R. Majerczak., Y. Zhang., W.S. Kim., S. Jock., K. Geider. 2002. Identification of *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* by PCR and strain differentiation by PFGE. *Plant Dis.* 86:304-311.
- Do Thi Anh. 2013. 2013. Apply PCR Method in Detection of *Aspergillus flavus* on infected peanut and corn kernels. Thesis. Vietnam National University.
- Ehrlich KC, Yu J, Cotty PJ. 2005. Aflatoxin biosynthesis gen cluster and flanking region. *Journal of Applied Microbiology* 99 (3). 518-27.
- Erlich, H.A., D.H. Gelfand., and R.K. Saiki. 1988. Specific DNA Amplification. *Nature* 331:461-462
- Ilyas, S. 2010. Ilmu dan Teknologi Benih: Teori dan Hasil-hasil Penelitian. Institut Pertanian Bogor
- Mardinus. 2003. Patologi dan Benih Jamur Gudang. Andalas University Press. 342 hal.
- Muis A, Syahrir Pakki dan A.H. Talanca. 2002. Inventarisasi dan Identifikasi Cendawan yang Menyerang Biji/Benih Jagung di Sulawesi Selatan. Hasil penelitian Hama dan Penyakit 2001. Hal 21-30. Balitsereal Maros.

- Lin, D., S. Coloe., R. Baird., and J. Peterson. 2000. Rapid mini preparation of fungal DNA for PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 38:471.
- Rahma, H. 2013. Penyakit Layu Stewart (*Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*) pada Jagung dan Upaya Pengendaliannya. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Sambrook J., E.F. Fritsch ., T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Second Edition). Cold Spring Harbor Laboratory Press. USA.
- Singh, S., S. Srivastava., A. S. Sinha., and B. Bose. 2011. Studies on seed mycoflora of wheat (*Triticum aestivum* L.) treated with potassium nitrate and its effect on germination during storage. *Research Journal of Seed Science*, 4: 148-156.
- Shurtleff, M.C. 1980. *Compendium of Corn Diseases*. Second Edition. APS Press. The American Phytopathological Society.
- Thai Agricultural Standard. 2008. Diagnostic protocols for *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* bacterial wilt of maize. National Bureau of Agricultural Commodity And Food Standards Ministry of Agriculture and Cooperatives.
- White, D.G. 1999. *Compendium of Corn Diseases*, Third Edition. The American Phytopathological Society, USA. 128 p
- Yazeed HA, Hassan A Moghaieb REA, Hamed M and Refai M. 2011. Molecular Detection of Fumonisin-producing *Fusarium* Species in Animal Feeds Using Polymerase Chain Reaction (PCR). *Journal of Applied Sciences Research*, 7(4): 420-427, 2011. ISSN 1819-544X