

Distribusi Nematoda Pucuk Putih Padi *Aphelenchoides besseyi* di Pulau Jawa

Distribution of Rice White Tip Nematode *Aphelenchoides besseyi* in Java Island

Didiet Rahayu Diana, Supramana*, Kikin Hamzah Mutaqin, Fitrianingrum Kurniawati
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Nematoda *Aphelenchoides besseyi* merupakan penyebab penyakit pucuk putih pada padi di Indonesia. Nematoda ini bersifat terbawa benih padi dan statusnya di Indonesia dikategorikan sebagai organisme pengganggu tumbuhan karantina (OPTK) golongan A2 dengan lokasi penyebaran terbatas di Jawa, Sumatera dan Kalimantan Selatan. Penelitian bertujuan mendapatkan informasi sebaran *A. besseyi* di Jawa karena hingga saat ini belum ada informasi yang tersedia terkait sebaran *A. besseyi* khususnya di Jawa. Sebanyak 26 varietas benih padi diambil dari produsen benih, toko pertanian, dan petani yang berasal dari 19 kota/kabupaten di Pulau Jawa. Nematoda diekstraksi dari sampel benih dengan metode corong Baermann. Keberadaan *A. besseyi* diidentifikasi berdasarkan ciri morfologi dan morfometri, selanjutnya dikonfirmasi dengan identifikasi molekuler melalui *polymerase chain reaction* (PCR) dan perunutan DNA. Sebanyak 74.32% sampel benih mengandung *A. besseyi* berdasarkan pada identifikasi morfologi dan molekuler. Distribusi *A. besseyi* di Jawa meliputi daerah-daerah Lebak, Bogor, Sukabumi, Subang, Indramayu, Klaten, Sragen, Sukoharjo, Boyolali, Pati, Pemalang, Yogyakarta, Sleman, Magetan, Blitar, Tuban, Gresik, Nganjuk, dan Banyuwangi. Hasil perunutan nematoda menunjukkan bahwa *A. besseyi* Indonesia dari padi varietas Ciherang (Yogyakarta) dan IR 64 (Banyuwangi) memiliki homologi yang tinggi dengan *A. besseyi* dari India, Cina, Amerika Serikat dan Taiwan.

Kata kunci: homologi, identifikasi molekuler, identifikasi morfologi, morfometri, terbawa benih

ABSTRACT

Aphelenchoides besseyi is one of the most important rice seed borne nematode causing white tip disease in Indonesia. The status of *A. besseyi* is considered as quarantine pest category A2, with limited distribution area in Java, Sumatera, and South Kalimantan). The aim of this research was to detect and identify *A. besseyi* from rice seed based on morphological, morphometry and molecular approaches and to determine its distribution in rice growing areas in Java. Rice seed samples, consisting of 26 varieties, were obtained from seed producers, seed distributors, and farmers in Java. Nematode extraction was done using Baermann method. Molecular identification was carried out by polymerase chain reaction and followed by DNA sequencing and nucleotide analysis. *A. besseyi* was detected from 74.32% of seed samples. *A. besseyi* was confirmed to be distributed in Lebak, Bogor, Sukabumi, Subang, Indramayu, Klaten, Sragen, Sukoharjo, Boyolali, Pati, Pemalang, Yogyakarta Sleman, Magetan, Blitar, Tuban, Gresik, Nganjuk, and Banyuwangi. Further nucleotide analysis showed that *A. besseyi* isolates from rice seed cv Ciherang (Yogyakarta) and cv IR 64 (Banyuwangi) have 99% homology to those from India, China, USA; and 98% homology to those from Taiwan.

Key words: homology, molecular identification, morphological identification, morphometry, seedborne

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper, Kampus Darmaga IPB, Bogor 16680.
Tel : 0251-8629364, Faks : 0251-8629362; Surel: mulyads3@yahoo.com

PENDAHULUAN

Aphelenchoides besseyi merupakan nematoda penting pada padi. Infeksi *A. besseyi* penyebab penyakit pucuk putih (*white tip*) dilaporkan menyebabkan kehilangan hasil di Jepang berkisar 14.5–46.7% (Nishizawa dan Yamamoto 1951), 40–50% di Amerika Serikat (Atkins dan Todd 1959), dan 20–60% di India (Prasad *et al.* 1987). Nematoda ini merupakan patogen terbawa benih sehingga dapat menjadi sumber inokulum dan introduksi patogen pada fase awal tanaman.

Nematoda ini masuk ke dalam floem dan menyebabkan nekrosis (Fortuner dan Williams 1975). Gejala penyakit pada bagian pucuk daun berwarna putih sepanjang 3–5 cm dan pada tahap lanjut bagian tersebut menjadi nekrosis. Daun bendera di bagian ujung akan menggulung dan mengalami distorsi.

A. besseyi diketahui tersebar di beberapa negara produsen padi di Asia, yaitu Cina, India, Bangladesh, Filipina, Jepang, dan Indonesia (EPPO 1981). Nematoda ini termasuk ke dalam kategori organisme pengganggu tumbuhan karantina (OPTK) A2 di Indonesia. Penyebarannya masih terbatas di Jawa, Sumatera, dan Kalimantan Selatan (Kementan 2015) dan hingga saat ini belum ada informasi terperinci distribusi *A. besseyi* di Jawa, termasuk di Jawa Timur, Jawa Tengah, dan Jawa Barat yang merupakan provinsi penghasil padi tertinggi di Indonesia (BPS 2016).

Benih yang terinfeksi *A. besseyi* terlihat ada warna hitam pada permukaannya, namun terkadang benih tidak bergejala atau dapat diakibatkan oleh patogen yang berbeda. Deteksi dan identifikasi *A. besseyi* berdasarkan pengamatan gejala dan morfologi nematoda terkadang perlu dikonfirmasi secara molekuler.

Penelitian ini bertujuan menentukan distribusi nematoda *A. besseyi* pada benih di sentra produksi padi di Pulau Jawa.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel Benih Padi

Sampel benih padi diperoleh dari produsen benih, toko pertanian, dan petani di sentra

produksi pertanaman padi di Pulau Jawa. Daerah tersebut meliputi Provinsi Banten (Lebak), Jawa Barat (Bogor, Sukabumi, Subang, dan Indramayu), Jawa Tengah (Klaten, Sragen, Sukoharjo, Boyolali, Pati, dan Pemalang), DI Yogyakarta (Yogyakarta dan Sleman), dan Jawa Timur (Magetan, Blitar, Tuban, Gresik, Nganjuk, dan Banyuwangi).

Identifikasi Nematoda Berdasarkan Karakter Morfologi dan Morfometri

Ekstraksi nematoda dari benih padi dilakukan mengikuti metode corong Baermann. Sebanyak 400 benih padi dari masing-masing sampel dipotong bagian hilumnya. Benih direndam selama 24 jam di tempat gelap. Suspensi nematoda yang telah disaring dengan saringan 45 µm diamati menggunakan mikroskop stereo. Preparat nematoda kemudian diamati menggunakan mikroskop *compound* pada perbesaran 10–100×.

Pengukuran morfometri nematoda dilakukan pada nematoda jantan dan nematoda betina (masing-masing 10 ekor) yang diambil secara acak dari beberapa lokasi pengambilan sampel (Chalanska *et al.* 2011). Identifikasi nematoda dilakukan dengan mengamati dan mengukur struktur tubuh antara lain mulut, bentuk kerangka kepala, stilet, median esofagus, organ reproduksi, bentuk ekor, dan mukron (De Man 1880).

Identifikasi Nematoda secara Molekul

Identifikasi molekul nematoda dari benih padi dilakukan melalui ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, dan peruntukan DNA hasil amplifikasi.

Ekstraksi DNA Nematoda. Isolasi DNA nematoda dilakukan pada sampel yang mewakili masing-masing lokasi pengambilan sampel (19 kota) dengan mengikuti metode Doyle dan Doyle (1990) yang dimodifikasi minor pada penambahan waktu inkubasi dalam proses lisis menjadi 2 jam. Sebanyak 5 ekor nematoda dari tiap lokasi yang telah diidentifikasi secara morfologi sebagai *A. besseyi* diambil dengan kait khusus dan dimasukkan ke dalam tabung mikro 1.5 mL, kemudian ditambah 150 µL bufer ekstraksi CTAB.

Sampel diinkubasi dalam penangas pada suhu 60 °C selama 2 jam. Selanjutnya, ekstrak sampel ditambah 150 µL kloroform:isoamilalkohol (24:1), lalu dihomogenasi selama 1–3 menit. Sampel disentrifugasi pada kecepatan 12 000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung mikro baru yang telah ditambahi CH₃COONa sebanyak 0.5 kali volume supernatan dan isopropanol sebanyak 2/3 kali volume. Sampel diinkubasi pada suhu -20 °C selama 24 jam, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 12 000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C.

Supernatan dibuang dan pelet DNA dicuci dengan menambahkan 150 µL etanol 80%. Selanjutnya, suspensi ini disentrifugasi dengan kecepatan 12 000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Larutan etanol dibuang secara perlahan dan pelet DNA dikeringanginkan. Setelah pelet kering, DNA diresuspensi dalam larutan 50 µL bufer TE pH 8.0.

Amplifikasi DNA. Sebanyak 2 µL templat DNA ditambahkan ke dalam *master mix* PCR yang terdiri atas 12.5 µL 2x Go Taq® Green Master mix (Promega), 1 µL primer *forward* 10 µM, 1 µL primer *reverse* 10 µM, dan 8.5 µL air bebas nuklease. Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi daerah *internal transcribed spacer* (ITS) ialah primer *forward* 5'-ACAATCGAGTTGCGAGTG-3' dan *reverse* 5'-GGTCAGTGTCATCAATCG-3' dengan ampikon berukuran ± 750 pb. Primer ini dirancang oleh Kurniawati. Proses PCR dilakukan dengan tahapan predenaturasi, denaturasi pada suhu 94 °C selama 60 detik, aneling pada suhu 55 °C selama 60 detik, ekstensi pada suhu 72 °C selama 120 detik, dan ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 10 menit. Tahapan denaturasi, aneling dan ekstensi diulang sebanyak 30 siklus.

Hasil amplifikasi dielektroforesis menggunakan gel agarosa 1% dalam bufer TAE 1×. Pengukuran fragmen DNA menggunakan penanda 1 kb. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 50 volt DC selama 50 menit. Visualisasi DNA dilakukan menggunakan transiluminator UV.

Analisis Sikuen Nukleotida. Perunutan sikuen nukleotida produk PCR *A. besseyi* dilakukan pada *A. besseyi* yang diekstraksi dari benih yang banyak ditanam oleh petani, yaitu varietas Ciherang dan IR 64. Perunutan produk PCR dilakukan di FirstBASE Laboratories Malaysia. Tingkat kesamaan urutan nukleotida *A. besseyi* terhadap isolat lain yang terdapat di GenBank dianalisis menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>). Runutan sikuen nukleotida diolah menggunakan penyejajaran berganda *ClustalW* dengan perangkat lunak BioEdit *sequence alignment editor versi 7.2.5*. Hubungan kekerabatan isolat dikonstruksi dengan perangkat lunak MEGA7 menggunakan metode *maximum likelihood* dengan *bootstrap* 1000 kali.

HASIL

Distribusi *Aphelenchoides besseyi* di Jawa

Berdasarkan identifikasi secara morfologi, nematoda terdeteksi positif sebagai *A. besseyi* pada 61 sampel dari 83 sampel benih padi (73.49%) yang diambil dari 19 kota/kabupaten sentra produksi padi di Pulau Jawa (Tabel 1). *A. besseyi* terbawa benih padi tersebar secara merata di Pulau Jawa. Demikian juga dari 26 varietas benih padi contoh, 23 varietas di antaranya positif terinfeksi *A. besseyi*. Sebanyak 95% sampel benih padi Ciherang positif terinfeksi *A. besseyi*, sedangkan pada sampel benih padi IR 64 ialah sebesar 80%.

Aphelenchoides besseyi Berdasarkan Morfologi dan Morfometri

Hasil pengamatan morfologi dan morfometri menunjukkan bahwa nematoda yang diidentifikasi merupakan *A. besseyi* (Tabel 2). Baik nematoda jantan maupun betina dapat ditemukan dalam hasil pengamatan. Keduanya memiliki bentuk tubuh vermiform dengan anulasi yang halus (Gambar 1a–b). Nematoda betina memiliki ukuran yang lebih panjang dibandingkan dengan nematoda jantan. Dalam posisi istirahat, nematoda

Tabel 1 Distribusi *Aphelenchoides besseyi* terbawa benih padi di Pulau Jawa

Jenis	Varietas	Lokasi produksi benih padi	Lokasi pengambilan sampel	Hasil ekstraksi nematoda	
Inbrida Padi Sawah Irigasi	Cibogo Ciherang	Banyuwangi	Banyuwangi	+	
		Subang	Bogor	+	
		Subang	Subang	+	
		Subang	Subang	+	
		Sukabumi	Sukabumi	+	
		Indramayu	Indramayu	+	
		DI Yogyakarta	DI Yogyakarta	+	
		Sleman	Sleman	+	
		Sragen	Sragen	+	
		Boyolali	Pati	+	
		Pati	Pati	+	
		Pemalang	Pemalang	+	
		Tuban	Tuban	+	
		Blitar	Blitar	+	
		Gresik	Gresik	+	
		Nganjuk	Nganjuk	+	
		Magetan	Magetan	-	
		Banyuwangi	Banyuwangi	-	
		Cilamaya Muncul Ciliwung	Subang	Subang	+
			Subang	Subang	-
	Inpari 4		Blitar	Blitar	+
			Subang	Bogor	+
			DI Yogyakarta	DI Yogyakarta	+
	Inpari 6		DI Yogyakarta	DI Yogyakarta	+
			Banyuwangi	Banyuwangi	+
	Inpari 10		Blitar	Blitar	+
			Blitar	Blitar	+
	Inpari 14		Blitar	Blitar	+
			Subang	Bogor	+
	Inpari 32		Bogor	Banyuwangi	+
			Bogor	Pati	-
	Inpari 33		Gresik	Gresik	-
			Subang	Bogor	+
	IPB 3S	Subang	Subang	+	
		Subang	Subang	+	
	IR 64	Subang	DI Yogyakarta	DI Yogyakarta	+
			Sleman	Sleman	+
			Klaten	Klaten	+
			Sukoharjo	Sukoharjo	+
			Boyolali	Pati	+
			Pemalang	Pemalang	+
			Magetan	Magetan	+
			Gresik	Gresik	+
			Banyuwangi	Banyuwangi	+
			Pati	Pati	-
		Tuban	Tuban	Tuban	-
			Nganjuk	Nganjuk	-
			Subang	Subang	+
			Subang	Subang	+
			Klaten	Klaten	+
			Sragen	Sragen	+
			Pati	Pati	+
			Blitar	Blitar	+
			Banyuwangi	Banyuwangi	+
			Subang	Subang	-
	Membramo PB 42 Pepe	DI Yogyakarta	DI Yogyakarta	-	
		Pemalang	Pemalang	-	
		Subang	Subang	+	
		Sragen	Sragen	+	
		Magetan	Magetan	+	
	Pertiwi Sidenuk	DI Yogyakarta	DI Yogyakarta	+	
		Subang	Bogor	+	
		Lebak	Lebak	+	
		Banyuwangi	Banyuwangi	+	
		Subang	Subang	-	
	Sintanur	Pati	Pati	-	
		Subang	Bogor	+	
Gresik		Gresik	-		
Sungai Way Apo Buru	Sukoharjo	Sukoharjo	+		
	Banyuwangi	Banyuwangi	+		
	Nganjuk	Nganjuk	-		
Inbrida Padi Gogo	Inpago 3 Situ Bagendit	Subang	Subang	+	
		Subang	Subang	+	
		Subang	Subang	+	
		Pemalang	Pemalang	+	
		Sleman	Sleman	+	
		Subang	Subang	-	
		Sragen	Sragen	-	
	Towuti	Pati	Pati	-	
		DI Yogyakarta	DI Yogyakarta	-	
		Magetan	Magetan	-	
		Banyuwangi	Banyuwangi	-	
		Banyuwangi	Banyuwangi	+	
		Banyuwangi	Banyuwangi	+	
Lokal	Mentik Wangi	Pati	Pati	-	
Varietas Unggul Ketan	Ketan Ketonggo	DI Yogyakarta	DI Yogyakarta	+	

Ket: +, benih membawa *A. besseyi* ; -, benih tidak membawa *A. besseyi*

Tabel 2 Data morfometrik *Aphelenchoides besseyi* menggunakan formula De Man (1880)

Peubah	Hasil Pengukuran						Allen (1952)			
	Betina			Jantan			Betina		Jantan	
	Rata-rata	Min	Maks	Rata-rata	Min	Maks	Min	Maks	Min	Maks
L (μm)	765.76	683.05	846.25	672.20	638.09	694.25	620	880	440	720
S (μm)	11.93	10.26	12.86	11.62	10.51	12.94				
V (%)	67.16	57.18	71.85	-	-	-	66	72	-	-
T (μm)	40.18	38.25	41.32	39.08	38.03	40.25	-	-	-	-
A	43.41	40.07	49.14	41.34	37.33	46.09	38	58	36	47
B	9.31	8.66	10.60	9.06	8.50	9.38	9	12	9	11
C	19.06	16.80	20.48	17.20	16.38	16.38	15	20	14	19

L, Panjang tubuh nematoda; S, Panjang stilet; V, Posisi vulva; T, Panjang ekor; A, Nisbah panjang tubuh nematoda dengan diameter tubuh terbesar; B, Nilai panjang tubuh dibagi jarak dari ujung kepala sampai katup pertemuan antara esophagus dengan *intestine*; C, Nilai panjang tubuh dibagi panjang ekor.

betina akan membentuk posisi lurus ataupun agak melengkung. Rangka kepala nematoda membulat, *set off*, bagian bibir agak melebar. Nematoda ini memiliki stilet yang relatif kecil (panjang 11.93 μm), hal ini terlihat dari panjang stilet dibandingkan dengan lebar tubuh nematoda pada bagian pangkal stilet. Stilet berbentuk silindris dengan basal knob yang kecil (Gambar 1c-d). Median esofagus *A. besseyi* berbentuk oval dan melebar hingga ke dinding tubuhnya. Hal inilah yang menjadi salah satu ciri Aphelenchida. Terdapat katup di bagian tengah median esofagus. Di bagian posterior terlihat adanya vulva sebagai alat reproduksi namatoda betina. Posisi vulva rata-rata berada pada 67.16% tubuhnya. Ekor *A. besseyi* berbentuk *conoid* dengan tiga buah *mucron* berbentuk bintang pada bagian ujung ekor.

Nematoda jantan berbeda dengan nematoda betina. Nematoda jantan memiliki posisi istirahat melengkung pada bagian posteriornya (Gambar 1b). Bagian kepala, stilet, dan bagian posterior lain memiliki ciri yang sama dengan nematoda betina. Terdapat spikula tanpa bursa pada bagian posterior sebagai alat reproduksi nematoda jantan. Ekor *A. besseyi* jantan juga berbentuk *conoid* dengan *mucron* di bagian ujungnya.

Identifikasi *A. besseyi* Berdasarkan Sikuen ITS

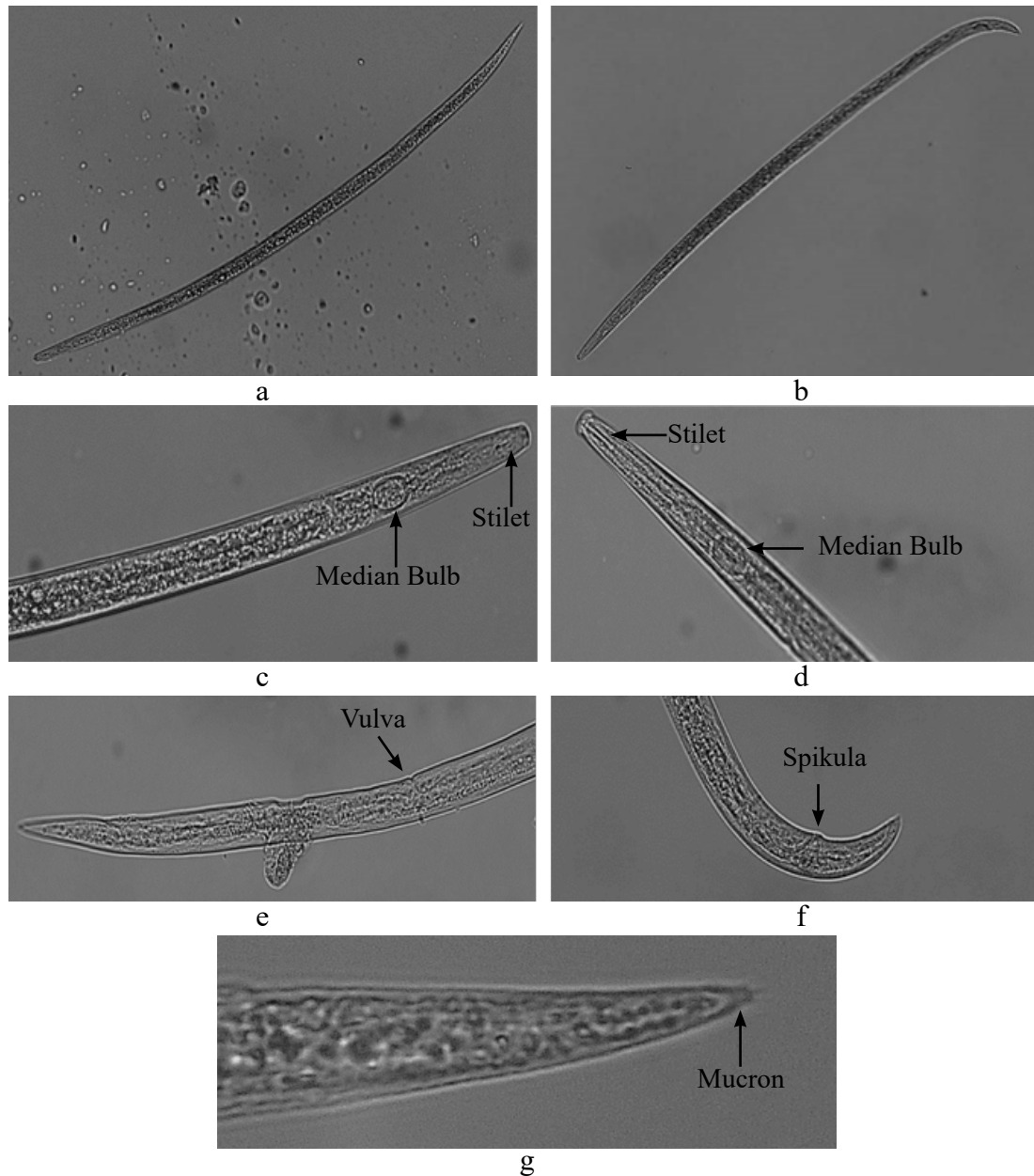
Amplifikasi sikuen ITS pada sampel DNA hasil ekstraksi menunjukkan adanya pita DNA

berukuran ± 750 pb (Gambar 2). Pengujian molekul ini mengonfirmasi hasil identifikasi secara morfologi yang telah dilakukan.

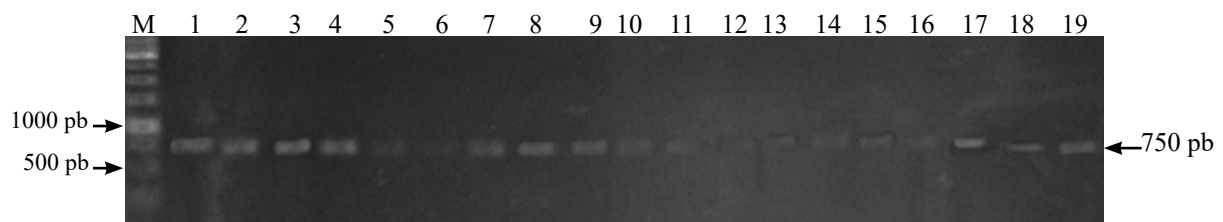
Berdasarkan analisis homologi sikuen ITS, diketahui bahwa *A. besseyi* Indonesia memiliki sikuen nukleotida yang mirip dengan *A. besseyi* yang berasal dari India, Cina, Amerika Serikat dan Taiwan. Nilai homologi sikuen nukleotida *A. besseyi* Indonesia yang diekstraksi dari varietas Ciherang dan IR 64 dengan *A. besseyi* India, Cina dan Amerika Serikat mencapai 99%; sedangkan nilai homologi dengan *A. besseyi* Taiwan ialah 98%. Perbedaan antarspesies di antara genus *Aphelenchoides* juga dapat terlihat melalui sikuen ITS. Hal ini terlihat dari nilai homologi yang hanya bernilai 65% bila dibandingkan dengan *A. ritzemabosi* dan 48% bila dibandingkan dengan *A. fragariae* (Tabel 3). Berdasarkan analisis filogenetika pada wilayah ITS, dapat ditentukan bahwa *A. besseyi* Indonesia berada dalam 1 kelompok dengan *A. besseyi* dari India, Taiwan, Amerika Serikat, dan Cina (Gambar 3).

PEMBAHASAN

Keberadaan penyakit pucuk putih yang disebabkan oleh *A. besseyi* di Indonesia telah dilaporkan oleh EPPO (1981). Beberapa penelitian terkait keberadaan *A. besseyi* di Indonesia juga telah dilaporkan oleh Supratoyo *et al.* (1979) di Yogyakarta; Kurniawati dan Supramana (2016) di Bogor;



Gambar 1 Morfologi *Aphelenchoides besseyi*. a, Seluruh tubuh betina; b, Seluruh tubuh jantan; c, Anterior betina; d, Anterior jantan; e, Posterior betina; f, Posterior jantan; g, *Mucron*



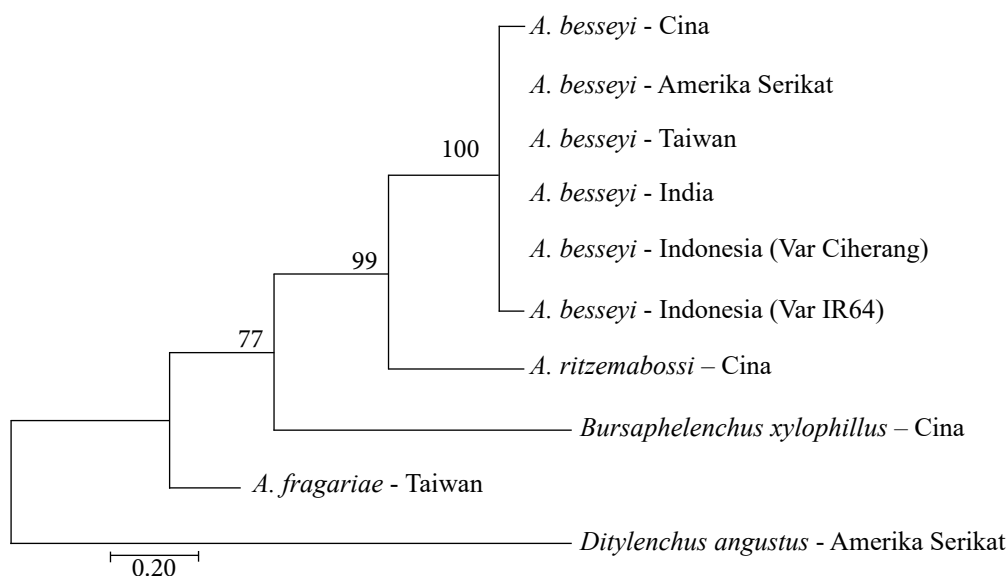
Gambar 2 Hasil amplifikasi daerah ITS DNA *Aphelenchoides besseyi* terbawa benih padi pada berbagai varietas padi di Pulau Jawa. M, Penanda 1 kb (Thermo scientific); 1, IPB 3S Bogor; 2, Ciherang Sukabumi; 3, Ciherang Subang; 4, Ciherang Indramayu; 5, Sidenuk Lebak; 6, IR 64 Klaten; 7, Ciherang Sragen; 8, IR 64 Sukoharjo; 9, Ciherang Boyolali; 10, Ciherang Pati; 11, Ciherang Pemalang; 12, Ciherang Yogyakarta; 13, Ciherang Sleman; 14, Ciherang Tuban; 15, Ir 64 Magetan; 16, Inpari 32 Blitar; 17, Ciherang Gresik; 18, IR 64 Banyuwangi; 19, Ciherang Nganjuk.

Tabel 3 Homologi sikuen nukleotida ITS *Aphelenchoides besseyi* asal Pulau Jawa terhadap isolat dari negara lain

Sikuen	Homologi (%)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 <i>A. besseyi</i> - DI Yogyakarta, Indonesia (Ciherang)	ID	98	99	99	99	98	65	47	48	32
2 <i>A. besseyi</i> - Banyuwangi, Indonesia (IR64)		ID	98	98	98	98	65	47	48	33
3 <i>A. besseyi</i> - India			ID	100	100	99	65	47	48	32
4 <i>A. besseyi</i> - Cina				ID	100	99	65	47	48	32
5 <i>A. besseyi</i> - Amerika Serikat					ID	99	65	47	48	32
6 <i>A. besseyi</i> - Taiwan						ID	65	47	47	32
7 <i>A. ritzemabosi</i> – Cina*							ID	45	46	33
8 <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> – Cina*								ID	43	32
9 <i>A. fragariae</i> - Taiwan*									ID	32
10 <i>Ditylenchus angustus</i> - Amerika Serikat*										ID

No akses 3 - 10: JF932290, KJ009342, EU186069, MF669510, KX119142, EF446946, MF669507, AJ966483

*Pembanding di luar grup.



Gambar 3 Pohon filogenetika *Aphelenchoides besseyi* berdasarkan sikuen ITS menggunakan program MEGA versi 7 dengan pendekatan *Maximum likelihood*. *A. ritzemabossi*, *B. xylophilus*, *A. fragariae* dan *D. angustus* digunakan sebagai pembanding di luar grup.

serta di Kabupaten Lampung Barat dan Pesisir Barat Provinsi Lampung. Hasil penelitian ini memperkuat data Permentan no 51 tahun 2015 yang menyatakan bahwa *A. besseyi* telah tersebar di Pulau Jawa, Sumatera, dan Kalimantan Selatan.

A. besseyi memiliki kemampuan untuk bertahan pada benih. Penyebaran penyakit pucuk putih paling banyak disebabkan oleh sifat *A. besseyi* yang terbawa benih (Ou 1972). Insidensi penyakit pucuk putih yang tinggi justru jarang terjadi apabila digunakan benih sehat meskipun tanah telah terinfestasi oleh *A. besseyi* (Hung 1959). *A. besseyi*

juvenil 4 dan dewasa akan bertahan secara anhidrobiotik pada benih padi, yaitu berada di antara sekam kelopak dan sekam mahkota dengan kemampuan bertahan hingga 3 tahun, tetapi nematoda ini tidak bertahan di tanah setelah tanaman padi dipanen (Khan 2015). Infeksi melalui benih merupakan satu-satunya cara penyebaran *A. besseyi* secara cepat. Nematoda akan memasuki bagian malai padi dan berkembang biak dengan waktu generasi 10 hari pada suhu 25 °C. Hasil penelitian ini sekaligus menunjukkan bahwa benih padi yang telah diproduksi dan disertifikasi masih berisiko membawa *A. besseyi*.

Penelitian terkait persentase *A. besseyi* terbawa benih yang dilakukan di Iran oleh Jamali *et al.* (2002) menunjukkan bahwa di antara 885 sampel benih padi, 41% benih terinfeksi *A. besseyi*. Sebanyak 60.1% benih memiliki tingkat infestasi *A. besseyi* rendah (0–500 nematoda per 50 g benih); 23.8% terinfestasi tingkat sedang (500–1000 nematoda per 50 g benih); dan 16.1% benih tingkat infestasinya tinggi.

Dalam penelitian ini, sampel benih padi diambil dari lokasi produksi benih maupun kios-kios pertanian. Berdasarkan hasil wawancara dengan produsen benih padi di 19 kota pengambilan sampel, benih padi didistribusikan antarkota, antarprovinsi, bahkan hingga ke pulau-pulau di seluruh Indonesia. Hal ini dapat menggambarkan risiko terbawanya *A. besseyi* pada benih padi ke daerah lain tempat *A. besseyi* belum pernah dilaporkan sebelumnya.

Klasifikasi benih padi yang dikeluarkan oleh Kementerian Pertanian melalui Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih (BPSB) terdiri atas 4 kelas, yaitu benih penjenis, benih dasar, benih pokok, dan benih sebar. Sampel benih padi yang diambil merupakan benih berlabel ungu yang merupakan benih pokok (*stock seed*) (BBPTP 2017). Benih pokok merupakan keturunan dari benih dasar yang diproduksi dan dipelihara sedemikian rupa sehingga identitas dan tingkat kemurnian varietas yang ditetapkan dapat dipelihara dengan standar mutu yang ditetapkan. Benih jenis ini harus disertifikasi oleh BPSB. Kriteria mutu benih yang dicantumkan pada label benih saat ini lebih banyak ditekankan pada mutu genetis, fisiologis, maupun fisik benih; sedangkan mutu kesehatan benih belum tercantum. Padahal kesehatan benih merupakan salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan produksi tanaman.

Penelitian ini menunjukkan bahwa baik benih dari jenis inbrida padi sawah, inbrida padi gogo, varietas padi lokal, maupun varietas unggul ketan dapat terinfeksi oleh *A. besseyi*. Supratoyo *et al.* (1979) melaporkan bahwa *A. besseyi* dapat terbawa pada benih padi dan ketan varietas lokal (Rojolele, ketan

Gondel, Wulu, Mentel, dan Molog) serta varietas introduksi (IR 36, IR 30, IR 28, IR 26, C4, IR 29, dan Pelita 1). Jenis benih padi varietas inbrida (Pertiwi, IPB 3S, Ciherang, IR 64, Sintanur) maupun hibrida (SL 8 SHS, HIPA 14) juga telah dilaporkan terinfeksi *A. besseyi* (Efendi 2016; Rahman 2016).

Kemampuan *A. besseyi* untuk bertahan pada benih menjadikan inokulum *A. besseyi* telah ada sebelum tanam sehingga berisiko tinggi terhadap insidensi penyakit pucuk putih di lapangan. Jumlah *A. besseyi* yang terbawa pada benih akan menentukan keparahan penyakit di lapangan. Dalam penelitian ini, jumlah nematoda per benih bervariasi, beberapa sampel terinfestasi kurang dari 3 nematoda dalam 100 benih sedangkan beberapa yang lain mencapai lebih dari 25 nematoda dalam 100 benih. Ambang ekonomi *A. besseyi* pada kultivar rentan di Jepang ialah 300 ekor nematoda dalam 100 benih (Bridge dan Star 2007). Namun sebagai OPTK A2, ambang toleransi untuk *A. besseyi* di Indonesia ialah 0.

Berdasarkan identifikasi secara morfologi dan morfometri dapat disimpulkan bahwa *A. besseyi* terbawa pada benih padi dan telah terdistribusi di 19 kota/kabupaten di Jawa. *A. besseyi* asal Jawa yang diekstraksi dari padi varietas Ciherang dan IR 64 memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *A. besseyi* dari India, Cina, Amerika Serikat, dan Taiwan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian, Kementerian Pertanian atas beasiswa yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen MW. 1952. Taxonomic status of the bud and leaf nematodes related to *Aphelenchoides fragariae* (Ritzema Bos, 1891). Proc Helminth Soc. 19(2):108–120.
- Atkins JG, Todd EH. 1959. White tip disease of rice. III. Yield tests and varietal resistance. Phytopathology. 49:189–191.

- [BBPTP] Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. 2017. Tahukah anda kelas benih padi. <http://bbpadi.litbang.pertanian.go.id/index.php/tahukah-anda/403-tahukah-anda-kelas-benih-padi>. [diakses 8 Maret 2018]
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2016. Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Padi, 2011-2014. <http://www.bps.go.id>. [diakses 20 Agustus 2016].
- Bridge J, Star JL. 2007. *Plant nematodes of agricultural importance: a colour handbook*. London (UK): Academic Press. hlm 54. DOI: <https://doi.org/10.1201/b15142>
- Chalanska A, Labanowski B, Malewski T. 2011. Rapid microscopic and molecular method *Aphelenchoides* species identification. *Comm Appl Bio Sci*. 73(6): 399–402.
- De Man JG. 1880. Die einheimischen frei in der reinen erde und im sussen wasser lebende nematoden. *Tijdschrift van de Nederlandse Dierkundige Vereeniging*. 5:1–104.
- Doyle JJ, Doyle JL. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12:13–15.
- Efendi E. 2016. Hubungan populasi awal dan tingkat kejadian penyakit nematoda terbawa benih padi, *Aphelenchoides besseyi* Christie. [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- [EPPO] European Plant Protection Organization. 1981. Datasheet on quarantine organisms no. 122, *Aphelenchoides besseyi*. *EPPO Bull*. 11(1):1–5. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1981.tb01752.x>.
- Fortuner R, Williams KJO. 1975. Review of the literature on *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942, the nematode causing “white tip” disease in rice. *Helminth Abs*. 44(1):1–40.
- Hung YP. 1959. White tip disease of rice in Taiwan. *Taiwan Plant Prot Bull*. 14:1–7.
- Jamali S, Pourjam E, Alizadeh A, Alinia F. 2002. Incidence and distribution of *Aphelenchoides besseyi* in rice areas in Iran. *J Agric Technol*. 2(2):337–344.
- Khan MR. 2015. Nematode diseases of crop in India. Di dalam: Awasthi LP, editor. *Recent Advances in Diagnosis and Management of Plant Diseases*. New Delhi (IN): Springer. hlm 207–209. DOI: https://doi.org/10.1007/978-81-322-2571-3_16.
- [Kementan] Kementerian Pertanian. 2015. Peraturan Menteri Pertanian No 51/Permentan/KR.010/9/2015 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina. Jakarta (ID): Kementan.
- Kurniawati F, Supramana. 2016. Tingkat infestasi *Aphelenchoides besseyi* pada benih padi di Bogor. *J Fitopatol Indones*. 12(1):34–37. DOI: <https://doi.org/10.14692/jfi.12.1.34>.
- Nishizawa T, Yamamoto S. 1951. Studies on the varietal resistance of rice plant to the nematode disease “Senchu shingare byo”. II. A test of the leading varieties and part of breeding lines of rice plant in Kyoshu. *Kyoshu Agric Res*. 8:91–92.
- Ou SA. 1972. *Rice Disease*. London (UK): Commonwealth Mycological Institute.
- Rahman RM. 2016. Deteksi dan identifikasi *Aphelenchoides besseyi* Christie pada lima varietas padi dengan polimerase chain reaction (PCR). [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Supratoyo, Rahayu B, Triman B. 1979. Eksistensi populasi *Aphelenchoides besseyi* pada malai (biji) pertanaman padi di DIY [Laporan Penelitian]. UGM Press.