

Isolasi dan Karakterisasi Morfologi *Cercospora janseana* Asal Daun Padi

Isolation and Morphological Characterisation of *Cercospora janseana* Infecting Rice Leaves

Rima Nur Halimatu Sa'adah dan Efi Toding Tondok
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Penyakit bercak cokelat sempit pada tanaman padi menjadi salah satu penyakit yang paling merugikan. Di Indonesia, informasi mengenai penyakit ini masih terbatas dan kurang mendapatkan perhatian petani dan peneliti. Pengetahuan dasar mengenai patogen penyebabnya—*Cercospora janseana*—diperlukan sebagai acuan dalam tindakan pengendalian dan memahami epidemiologinya di masa mendatang. Penelitian ini bertujuan menentukan teknik isolasi yang sesuai untuk *C. janseana* serta melakukan karakterisasi morfologinya dari beberapa varietas tanaman padi. Teknik isolasi yang digunakan ialah metode penanaman jaringan, suspensi spora, penyebaran spora, dan penempelan spora. Pengamatan morfologi dilakukan dengan mengamati warna dan pertumbuhan koloni, konidium dan konidiofor, serta pertumbuhan koloni pada medium tumbuh yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik isolasi yang sesuai untuk *C. janseana* ialah dengan penempelan spora pada agar-agar air dan menumbuhkannya pada medium agar-agar Martin. Teknik ini lebih baik dibandingkan dengan tiga teknik isolasi lainnya dan berhasil memudahkan proses isolasi *C. janseana* hingga diperoleh isolat murni.

Kata kunci: bercak cokelat sempit, cendawan patogen padi, penempelan spora

ABSTRACT

Narrow brown spot disease in rice plants is among the most destructive diseases. In Indonesia, information about this disease still needs to be improved and needs to get the attention of farmers and researchers. Basic knowledge of the causative pathogen—*Cercospora janseana*—is needed as a reference in controlling measures and understanding its epidemiology in the future. This study aimed to determine the appropriate isolation techniques for *C. janseana* and to characterize the morphology of four varieties of rice plants. The isolation techniques used were the method of tissue planting, spore suspension, spore dispersal, and spore attachment. Morphological characterization was carried out by observing the colors and growth of colonies, conidia, and conidiophore, as well as the growth of colonies on different culture media. The results showed that the suitable isolation technique for *C. janseana* was attaching the spores to water agar and growing them on Martin agar medium. This technique was better than the other three isolation techniques and facilitated the isolation process of *C. janseana* to obtain pure isolates.

Key words: fungal rice pathogen, narrow brown spot, spore attachments

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jalan Kamper, Kampus IPB Darmaga, Bogor, 16680.
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: ettondok@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Cercospora janseana atau disebut juga *Cercospora oryzae* merupakan cendawan patogen penyebab penyakit bercak cokelat sempit pada tanaman padi. Penyakit ini cukup merugikan, terutama pada lahan sawah tadah hujan dan dapat menginfeksi daun muda maupun daun tua. Gejala penyakit ditandai dengan adanya lesi sempit, linear, memanjang, berwarna cokelat kemerahan pada bagian daun. Bercak cenderung sempit, pendek, dan lebih gelap pada varietas yang tahan, tetapi lebih luas dan berwarna cokelat terang pada varietas yang rentan (Ou 1985).

Proses isolasi cendawan *Cercospora* spp. tergolong sulit karena pertumbuhannya yang lambat dibandingkan dengan cendawan patogen yang lain. Cendawan genus *Cercospora* dilaporkan memiliki pertumbuhan yang lambat dengan produksi konidium yang sangat sedikit bila ditumbuhkan pada medium sintesis (Djéballi *et al.* 2010; Souza *et al.* 2012; Yuan *et al.* 2015; Uppala *et al.* 2019). Sebagai contoh, pertumbuhan miselium *C. beticola* membutuhkan waktu lebih dari 20 hari untuk menutupi seluruh cawan petri (80 × 12 mm) dalam inkubasi pada suhu 25 °C dengan fotoperiode 12 jam (Marcuzzo *et al.* 2015).

Beberapa metode isolasi sederhana serta identifikasi untuk cendawan *Cercospora* spp. telah dilaporkan sebelumnya. Park *et al.* (2017) berhasil mengisolasi *C. malayensis* penyebab penyakit bercak daun tanaman kenaf dengan membuat suspensi konidium terlebih dahulu. Suspensi konidium selanjutnya digoreskan pada 2% agar-agar air (AA) yang mengandung 100 mg L⁻¹ streptomisin sulfat dan diinkubasi pada 25 °C selama 4 hari. Sebelumnya, Conde-Ferráez *et al.* (2008) berhasil mengisolasi patogen pisang *Mycosphaerella fijiensis* Morelet (anamorf: *Cercospora fijiensis*) dengan metode sederhana, yaitu memanen spora dengan cara menempelkan potongan daun bergejala pada medium agar-agar dekstrosa kentang (ADK) yang mengandung 200 mg mL⁻¹ amoxicillin.

Informasi terkait teknik isolasi cendawan *C. janseana* di tingkat laboratorium atau secara

in vitro sangat penting diperoleh untuk lebih memahami biologi dan epidemiologi penyakit bercak cokelat sempit di masa mendatang. Penelitian ini bertujuan mendapatkan teknik isolasi cendawan *C. janseana* penyebab penyakit bercak cokelat sempit pada padi dan mengidentifikasinya dari beberapa varietas tanaman berdasarkan karakter morfologi.

BAHAN DAN METODE

Sampel daun padi bergejala berasal dari tiga lokasi pertanaman padi, yaitu Ciherang Peuntas dan Situgede di Kabupaten Bogor, serta Cikampek di Kabupaten Karawang. Varietas padi yang ditanam ialah Inpari 32, Inpari 43, IR 64, dan Ciherang. Tanaman padi yang daunnya menunjukkan gejala penyakit bercak cokelat sempit diambil untuk diisolasi cendawan penyebabnya menggunakan empat teknik.

Pengambilan Sampel Daun Bergejala

Sampel daun diambil dari pertanaman padi di daerah Ciherang Peuntas (varietas Inpari 32 dan IR 64), Situgede (varietas Inpari 43), dan Cikampek (varietas Ciherang). Sampel daun padi yang bergejala bercak sempit memanjang berwarna cokelat kemerahan diambil dan disimpan dalam plastik transparan lalu dimasukkan ke dalam kotak pendingin untuk dibawa ke laboratorium.

Isolasi Cendawan

Cendawan diisolasi dengan empat teknik untuk memperoleh biakan murni. Teknik tersebut ialah metode tanam jaringan, suspensi spora, penyebaran spora, dan penempelan spora. Isolat murni yang diperoleh diidentifikasi morfologinya menggunakan mikroskop.

Metode tanam jaringan menggunakan potongan-potongan daun bergejala penyakit (1 cm × 1 cm) yang direndam dalam larutan NaOCl 1% selama 1 menit, dibilas air destilata steril sebanyak 3 kali, ditiriskan, dan ditumbuhkan pada medium ADK. Selanjutnya, koloni yang tumbuh dimurnikan untuk diidentifikasi.

Metode suspensi spora menggunakan 10 g potongan daun bergejala penyakit (1 cm × 1 cm) yang telah disterilkan permukaannya seperti metode tanam jaringan. Potongan-potongan daun dimasukkan ke dalam wadah berisi 100 mL air steril, kemudian digoyang selama 15-20 menit supaya spora-sporanya lepas. Sebanyak 1 mL suspensi spora digunakan untuk mengisolasi spora dengan teknik pengenceran bertingkat. Sebanyak 0.5 mL suspensi spora diisolasi pada medium ADK.

Metode penyebaran spora dilakukan dengan pengerukan spora pada bagian daun bergejala. Sebanyak 3-4 helai daun padi bergejala penyakit dipotong kurang lebih 2 cm × 2 cm, kemudian jaringan daun yang bergejala dikeruk menggunakan jarum steril, dan disebarkan pada medium ADK dan AA. Cendawan yang tumbuh dimurnikan dan diidentifikasi.

Metode penempelan spora dikerjakan dengan melembapkan daun bergejala penyakit terlebih dahulu. Potongan daun bergejala penyakit (2 cm × 2 cm) direndam dalam larutan NaOCl 1% selama 15 detik, dibilas air destilata steril sebanyak 3 kali. Selanjutnya dilembapkan dan diinkubasi pada suhu ruangan (25°C) selama 1-2 hari (Wicaksono *et al.* 2017). Cendawan diharapkan menghasilkan spora selama inkubasi. Ketika daun ditempelkan pada medium AA, spora akan menempel pada permukaan medium. Spora *Cercospora* yang tampak diberi tanda, kemudian dipindahkan ke medium agar-agar Martin (AM) hingga murni untuk diidentifikasi.

Pengamatan Morfologi Cendawan

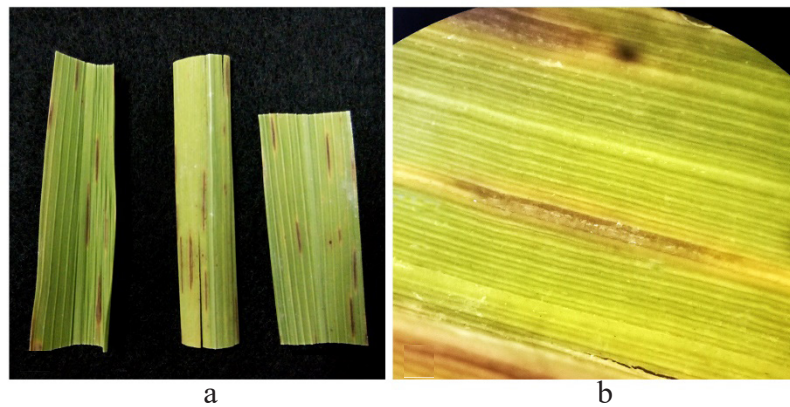
Isolat murni cendawan diremajakan terlebih dahulu pada medium ADK, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 14 hari. Pengamatan makroskopis dilakukan terhadap warna koloni tampak atas dan bawah, serta perubahan warna pada medium ADK. Karakter mikroskopi ditentukan dengan mengamati 40 konidium secara acak. Peubah yang diamati ialah bentuk dan ukuran konidium serta bentuk dan ukuran konidiofor untuk masing-masing isolat.

Pengamatan dan pemotretan struktur cendawan dilakukan menggunakan mikroskop majemuk dengan menyiapkan preparat cendawan dan/atau preparat Riddle. Identifikasi menggunakan kunci identifikasi *Rice Diseases* (Ou 1985), *A Handbook of Rice Seedborne Fungi* (Mew dan Gonzales 2002), dan *Cercosporoid Fungi (Mycosphaerellaceae)* (Braun *et al.* 2015).

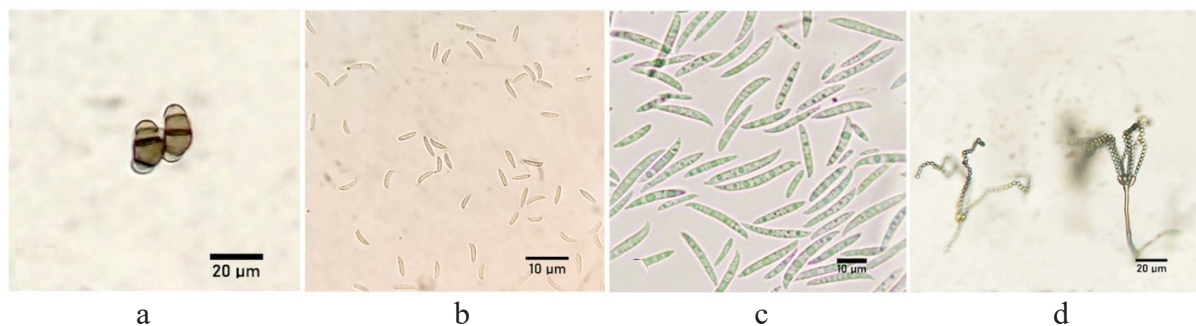
HASIL

Penyakit bercak cokelat sempit pada daun padi tampak dengan tanda bercak sempit, linear memanjang, berwarna pucat hingga cokelat tua kemerahan dengan warna bercak lebih pucat di area pinggir bercak (Gambar 1). Isolat *Cercospora* sp. tidak berhasil diisolasi melalui teknik isolasi tanaman jaringan, suspensi spora, dan penyebaran spora. Cendawan yang berhasil diisolasi dari daun bergejala bercak cokelat sempit menggunakan metode tanam jaringan pada medium ADK ialah *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., dan *Penicillium* sp. Selain itu, terdapat beberapa isolat yang tidak teridentifikasi karena tidak membentuk struktur khusus seperti konidium atau konidiofor yang biasa menjadi ciri khas suatu genus. Cendawan yang ditemukan dari metode suspensi spora ialah *Penicillium* sp. dan beberapa isolat yang tidak dapat teridentifikasi. Selanjutnya, pada teknik isolasi penyebaran spora, cendawan yang berhasil terisolasi dan teridentifikasi ialah *Fusarium* sp. Penampakan mikroskopis cendawan-cendawan yang terisolasi dari tiga metode isolasi ini disajikan pada Gambar 2. Sementara itu, diperoleh pula cendawan yang tidak menghasilkan spora pada medium AA.

Sebanyak empat isolat *Cercospora* sp. berhasil diperoleh melalui teknik penempelan spora pada medium AM dari masing-masing vaerietas sampel daun padi yang digunakan. Spora cendawan yang ditumbuhkan pada medium AM menghasilkan koloni berwarna keabuan yang tampak dari atas cawan petri (Gambar 3). Koloni cendawan ini menghasilkan spora yang diidentifikasi morfologinya secara mikroskopik sebagai



Gambar 1 Penyakit bercak cokelat sempit. a, Gejala pada potongan sampel daun padi; b, Penampakan gejala bercak cokelat sempit menggunakan mikroskop pada perbesaran 10×.



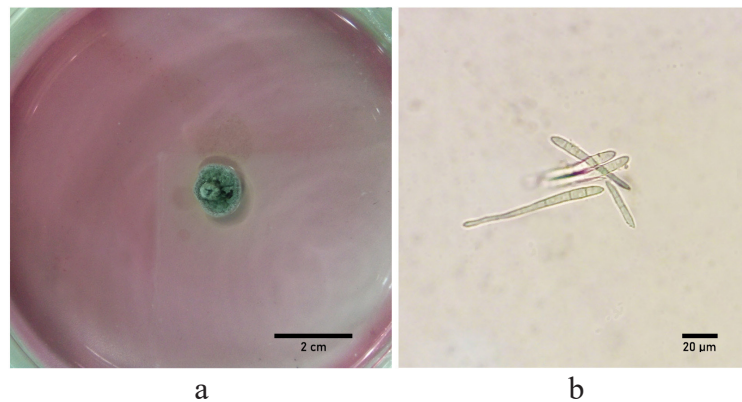
Gambar 2 Penampakan mikroskopis cendawan yang diisolasi menggunakan metode tanam jaringan dan metode penyebaran spora. a, *Curvularia* sp.; b-c, *Fusarium* spp.; dan d, *Penicillium* sp.

C. janseana. Konidium tidak berwarna atau hialin berbentuk silinder, bersekat dengan kedua ujung konidium tumpul (Gambar 4).

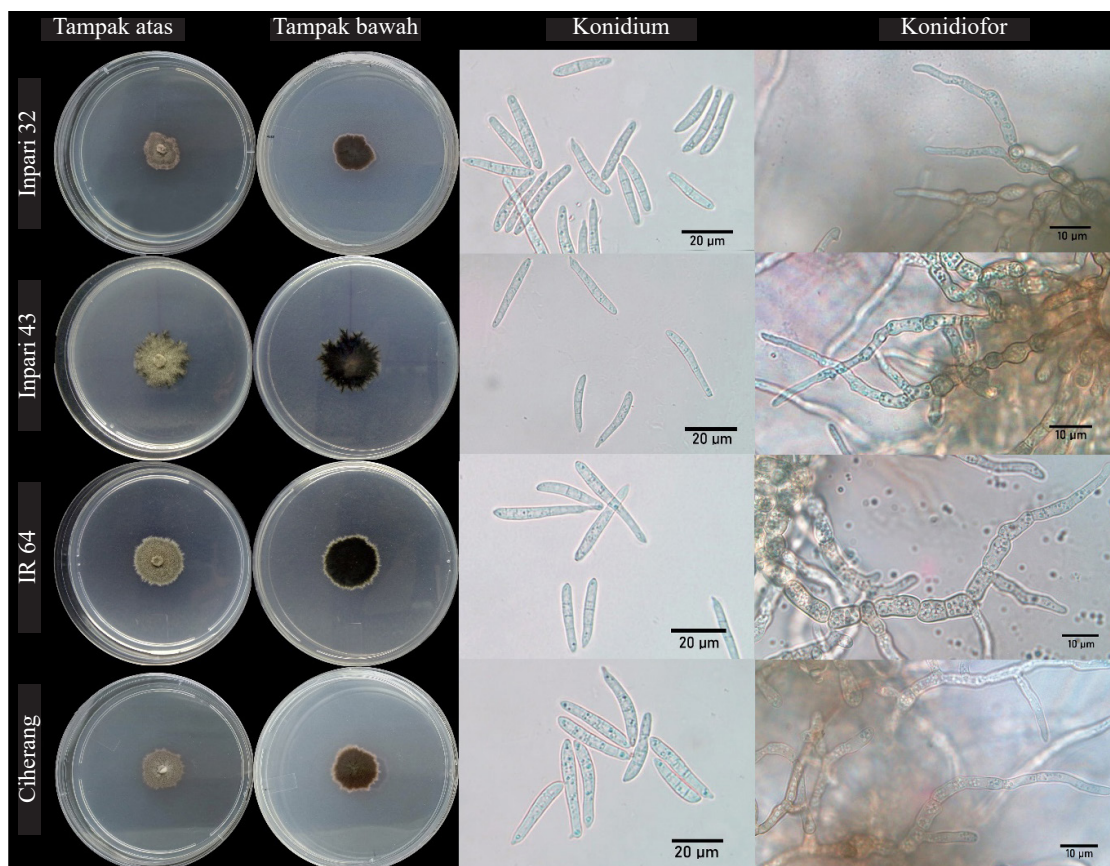
Karakter Morfologi *Cercospora janseana*. Empat isolat menunjukkan pertumbuhan yang cenderung lambat < 2 cm setelah 14 hari inkubasi pada medium ADK (Tabel 1). Isolat-isolat tersebut memiliki konidium yang hialin, ber dinding tipis, berbentuk silinder dengan struktur lurus maupun melengkung dan ujung konidium yang tumpul (Gambar 4). Konidiofor pada keempat isolat tampak renggang, berwarna pucat hingga agak kecokelatan, tidak lurus, dan bersekat. Isolat asal varietas Inpari 43 memiliki ukuran konidium paling panjang, yaitu 16.92–67.21 μm ($45.20 \pm 13.64 \mu\text{m}$) dengan lebar 1.86–11.65 μm ($6.01 \pm 2.95 \mu\text{m}$), sedangkan isolat asal varietas IR64 memiliki ukuran konidium yang paling pendek sebesar 10.42–60.82 μm ($36.84 \pm 11.84 \mu\text{m}$) dengan lebar 2.57–10.02 μm ($5.38 \pm 2.45 \mu\text{m}$) (Tabel 1).

Warna koloni yang teramati setelah 14 hari (Gambar 4) menunjukkan bahwa isolat asal varietas Inpari 32, IR64, dan Ciherang tampak pada permukaan atas berwarna abu kecokelatan, sementara koloni yang tampak pada permukaan bawah berwarna hitam kecokelatan. Pada isolat asal varietas Inpari 43, koloni tampak atas berwarna putih keabuan dan koloni tampak bawah berwarna hitam kehijauan. Isolat asal varietas Inpari 32 dan Inpari 43 tampak tumbuh mendatar dengan tepian yang tidak rata, sedangkan isolat asal varietas IR64 dan Ciherang tumbuh mendatar dengan tepian sedikit tidak rata. Namun, area sekitar tepian cendawan isolat asal varietas Inpari 32 dan Ciherang menghasilkan warna merah keunguan pada medium ADK.

Medium biakan yang berbeda memengaruhi pigmentasi koloni dan pertumbuhan pada keempat isolat *C. janseana*. Pada medium AM, warna koloni pada keempat isolat tampak berwarna abu kehijauan, sedangkan pada medium ADK warna koloni tampak berwarna



Gambar 3 Cendawan *Cercospora janseana* hasil isolasi menggunakan metode penempelan spora. a, Koloni umur 7 hari pada medium agar-agar Martin; dan b, Konidium *C. janseana*.



Gambar 4 Morfologi koloni dan struktur reproduksi aseksual *Cercospora janseana* yang diisolasi dari empat varietas padi pada medium agar-agar dekstroza kentang berumur 14 hari.

abu kecokelatan. Keempat isolat tampak tumbuh lebih lambat pada medium AM.

PEMBAHASAN

Bercak coklat sempit yang disebabkan oleh *C. janseana* menjadi salah satu penyakit yang mulai mendominasi pertanaman padi.

Cercospora janseana termasuk cendawan dengan tipe pertumbuhan yang lambat dan jarang bersporulasi atau tidak sama sekali pada sebagian besar medium biakan (Nagel 1933). Beberapa teknik isolasi sebelumnya telah digunakan dalam isolasi kelompok *Cercospora*, seperti isolasi cendawan *Pseudocercospora fumosa* pada tanaman anggur (Araujia

Tabel 1 Karakter morfologi *Cercospora janseana* asal empat varietas daun padi yang tumbuh pada medium ADK

Karakter	Varietas padi			Sumber
	Inpari 32	Inpari 43	IR 64	
Koloni tampak atas	Abu kecokelatan	Putih keabuan	Abu kecokelatan	Abu kehitaman (Mew dan Gonzales 2002)
Koloni tampak bawah	Hitam kecokelatan	Hitam kehijauan	Hitam kecokelatan	Hitam (Mew dan Gonzales 2002)
Warna medium	Merah keunguan	Tidak berubah warna	Tidak berubah warna	Tidak ada
Tipe pertumbuhan	Tumbuh mendatar, tepian tidak rata	Tumbuh mendatar, tepian tidak rata	Tumbuh mendatar, tepian tidak rata	Tepian berlekuk/tidak rata (Mew dan Gonzales 2002)
Diameter koloni 14 HSI ^a (cm)	1.48	1.70	1.60	2.40 cm (17 hari) (Mew dan Gonzales 2002)
Panjang konidium (μm) ^b	15.90–63.51	16.92–67.21	10.42–60.82	10.6–72.9 \times 3.3–6.4 μm (Ou 1985)
($\bar{x} \pm$ standar deviasi)	(33.78 \pm 13.08)	(45.20 \pm 13.64)	(36.84 \pm 11.84)	
Lebar konidium (μm) ^b	2.03–12.83	1.86–11.65	2.57–10.02	(10–)15–65(–85) \times 3–6.5 μm (Braun <i>et al.</i> 2015)
($\bar{x} \pm$ standar deviasi)	(5.28 \pm 2.70)	(6.01 \pm 2.95)	(5.38 \pm 2.45)	
Panjang konidiofor (μm) ^c	24.59–68.42	15.43–55.98	15.42–56.36	8.6–85.6 $\mu\text{m} \times$ 4.3–5.3 μm (Ou 1985)
($\bar{x} \pm$ standar deviasi)	(43.92 \pm 14.02)	(31.56 \pm 10.21)	(34.38 \pm 12.77)	
Lebar konidiofor (μm) ^c	3.02–4.68	2.31–4.46	2.45–4.64	10–140(–160) \times 3–6(–7) μm (Braun <i>et al.</i> 2015)
($\bar{x} \pm$ standar deviasi)	(3.71 \pm 0.54)	(3.14 \pm 0.63)	(3.38 \pm 0.66)	

^aHSI= hari setelah inkubasi; ^bn=40; ^cn=15

hortorum) dengan cara menginkubasi daun yang bergejala pada medium ADK (Ramirez *et al.* 2019). Selain itu, isolasi *Cercospora* spp. dengan metode pengenceran juga digunakan oleh Choi *et al.* (1999).

Tingkat keberhasilan dalam mengisolasi cendawan ditentukan oleh teknik isolasi yang digunakan. Isolasi dengan metode tanam jaringan memungkinkan cendawan lain, seperti cendawan endofit dan saprob, yang berada di dalam jaringan daun tanaman padi tumbuh pada medium ADK. Cendawan endofit dan saprob yang terdapat pada daun padi ialah antara lain *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Nigrospora* sp., *Trichoderma* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp. dan *Fusarium* sp. (Ariyanto *et al.* 2013). Cendawan endofit mampu mendegradasi struktur patogen dan melindungi tanaman inangnya. Selain itu, pertumbuhan *C. janseana* yang lambat menjadi salah satu kendala dalam mengisolasinya karena mudah dihambat dan ditutupi oleh cendawan lain yang pertumbuhannya relatif lebih cepat. Begitu pula, metode pengenceran spora dan metode penyebaran spora tidak berhasil karena adanya kontaminan yang tumbuh. Selain itu, jumlah spora yang sedikit ketika pengenceran maupun penyebaran spora menjadi penyebab lain dalam ketidakberhasilan mengisolasi *C. janseana*.

Metode isolasi dengan teknik penempelan daun bergejala pada agar-agar air dan menumbuhkannya pada medium agar-agar Martin merupakan metode terbaik karena berhasil diperoleh biakan murni *C. janseana*. Metode ini menghasilkan isolat murni dari konidium tunggal. Adanya perlakuan sterilisasi permukaan pada sampel dapat mengurangi kontaminan yang muncul. Selain itu, pelembapan daun pada proses awal isolasi dapat menyebabkan cendawan yang ada pada jaringan tanaman akan membentuk miselium dan/atau konidium, sehingga konidium-konidium terinduksi lebih banyak. Teknik penempelan memungkinkan untuk mengamati posisi atau letak konidium cendawan pada medium sehingga lebih mudah untuk memindahkannya ke medium lain. Kontaminan yang ada dapat tertinggal pada

medium AA, juga menyebabkan cendawan endofit yang ada dalam jaringan belum/tidak berpeluang terikut pada medium AA yang digunakan. Medium AM yang digunakan untuk mengisolasi cendawan juga merupakan medium selektif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain yang tidak dikehendaki. Medium AM yang mengandung *rose bengal* dan antibiotik dapat meningkatkan keberhasilan dalam isolasi cendawan. Medium ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri, menyebabkan pertumbuhan lateral cendawan tereduksi tanpa memengaruhi perkecambahan konidiumnya sehingga memudahkan dalam penghitungan koloni serta pertumbuhan awal cendawan (Pady *et al.* 1960). Meskipun demikian, metode isolasi ini pun memiliki kelemahan. Medium AM tidak dapat digunakan untuk karakterisasi morfologi karena pigmen merah muda pada medium menyebabkan warna koloni tampak bawah cendawan tidak teramati dengan jelas. Selain itu, komposisi bahan yang terkandung dalam medium AM lebih banyak dibandingkan dengan medium ADK dan AA sehingga harga medium juga lebih mahal.

Keragaman morfologi pada kelompok genus *Cercospora* telah banyak dilaporkan, beberapa di antaranya ialah *C. janseana*. Konidium *C. janseana* berbentuk silinder, melengkung atau lurus, soliter, memiliki 3–10 sekat, hialin atau subhialin, berdinding tipis, hilum agak menebal dan gelap, ujung konidium tumpul (Braun *et al.* 2015). Konidium berukuran panjang dan lebar berkisar 10.6–72.9 $\mu\text{m} \times 3.3\text{--}6.4 \mu\text{m}$ dengan rata-rata 27.7–38.6 $\mu\text{m} \times 4.3\text{--}5.3 \mu\text{m}$ (Ou 1985). Braun *et al.* (2015) melaporkan (10–)15–65(–85) $\mu\text{m} \times 3\text{--}6.5 \mu\text{m}$.

Konidiofor soliter atau dalam kelompok kecil, kumpulan konidiofor tampak renggang, tidak bercabang, melengkung atau berliku, terkadang pendek dan seragam, berwarna pucat atau agak coklat, dan berdinding tipis (Braun *et al.* 2015). Ukuran konidiofor cendawan *C. janseana* sebesar 8.6–85.6 $\mu\text{m} \times 4.3\text{--}5.3 \mu\text{m}$ (30.6–42.9 $\mu\text{m} \times 4.8\text{--}6.4 \mu\text{m}$) (Ou 1985), 10–140(–160) $\mu\text{m} \times 3\text{--}6(–7) \mu\text{m}$ (Braun *et al.* 2015).

Koloni *C. janseana* tampak berwarna abu kehitaman dan berwarna hitam pada bagian bawah medium agar-agar. Pertumbuhannya pada medium ADK sangat lambat dengan tepian yang berlekuk (Mew dan Gonzales 2002). Proses peremajaan berulang menyebabkan warna koloni cendawan *C. janseana* tidak stabil. Selain itu, perubahan warna medium yang terjadi pada beberapa galur *C. janseana* dapat disebabkan oleh fase adaptasi cendawan terhadap kondisi lingkungan yang baru (Wuryanti 2008). *Cercospora janseana* juga menghasilkan senyawa *perylenequinones*, yaitu cercosporin berwarna kemerahan yang berperan penting dalam patogenisitas dan pembentukan lesi (Daub dan Chung 2007). Jenis medium biakan sintetik juga sangat memengaruhi warna koloni, morfologi, tepian, topografi, dan pigmentasi selama sporulasi. Variasi warna koloni *Cryptosporiopsis* spp. terjadi pada tujuh medium berbeda (Menge *et al.* 2013).

Pengetahuan terkait metode isolasi dan morfologi *C. janseana* merupakan laporan terbaru di Indonesia. Laporan ini sekaligus menambah informasi mengenai teknik isolasi yang tepat dan karakter morfologi cendawan *C. janseana* pada tanaman padi yang masih terbatas dan dapat digunakan sebagai dasar dalam menentukan tindakan pengendalian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Fitra Parlindo atas bantuan teknis dan masukannya yang sangat bermanfaat untuk perbaikan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyanto EF, Abadi AL, Djauhari S. 2013. Keanekaragaman jamur saprofit pada daun tanaman padi (*Oryza sativa* L.) dengan sistem pengelolaan hama terpadu (PHT) dan konvensional di Desa Bayem, Kecamatan Kasembon, Kabupaten Malang. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*. 1(2):37–51.
- Braun U, Crous PW, Nakashima C. 2015. Cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae) 3. species on monocots (Poaceae, true grasses). *IMA Fungus*. 6(1):25–98. DOI: <https://doi.org/10.5598/imafungus.2015.06.01.03>.
- Choi YW, Hyde KD, Ho WH. 1999. Single spore isolation of fungi. *Fungal Diversity*. 3:29–38.
- Conde-Ferrández L, Grijalva-Arango R, Raigoza-Flores NE, James-Kay AC. 2008. A simple method to obtain single conidium isolates directly from banana (*Musa* sp.) leaves infected with *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 26(1):76–78.
- Daub ME, Chung KR. 2007. Cercosporin: a phytoactivated toxin in plant disease. *APSnet Features*. DOI: <https://doi.org/10.1094/APSnetFeature/2007-0207>.
- Djéballi N, Gaamour N, Badri M, Aouani ME. 2010. Optimizing growth and conidia production of *Cercospora medicaginis*. *Phytopathologia Mediterranea*. 49:267–272.
- Marcuzzo LL, Haveroth R, Aline Nascimento. 2015. Induction technique of sporulation in vitro of *Cercospora beticola*. *Summa Phytopathologica*. 41(1):74.
- Menge D, Makobe M, Shomari S, Tiedemann AV. 2013. Effect of environmental conditions on the growth of *Cryptosporiopsis* spp. causing leaf and nut blight on cashew (*Anacardium occidentale* Linn.). *Journal of Yeast and Fungal Research*. 4(2):12–20.
- Mew T, Gonzales P. 2002. *A Handbook of Rice Seedborne Fungi*. Los Banos (PH): Science Publishers, Inc.
- Nagel CM. 1933. Conidial production in the genus *Cercospora*. *Proceedings of the Iowa Academy of Science*. 40(1):77.
- Ou SH. 1985. *Rice Diseases*. Ed. Ke-2. Wallingford (GB): Commonwealth Agricultural Bureau.
- Pady SM, Kramer CL, Pathak VK. 1960. Suppression of fungi by light on media containing rose bengal. *Mycologia*. 52(2):347–350. DOI: <https://doi.org/10.2307/3756022>.

- Park SH, Choi IY, Lee WH, Lee KJ, Galea V, Shin HD. 2017. Identification and characterization of *Cercospora malayensis* causing leaf spot on kenaf. *Mycobiology*. 5(2):114–118. DOI: <https://doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.2.114>.
- Ramirez GH, Anderson FE, Bianchinotti MV. 2019. Induction of sporulation of cercosporoid pathogens of moth vine (*Araujia hortorum*). *New Zealand Journal of Botany*. 57(3):179–187. DOI: <https://doi.org/10.1080/0028825X.2019.1578244>.
- Souza AGC, Maffia LA, Mizubuti ESG. 2012. Cultural and aggressiveness variability of *Cercospora coffeicola*. *Journal of Phytopathology*. 160(10):540–546. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2012.01947.x>.
- Uppala S, Zhou X-G, Liu B, Wu M. 2019. Plant-based culture media for improved growth and sporulation of *Cercospora janseana*. *Plant Disease*. 103(3):504–508. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0814-RE>.
- Wicaksono D, Wibowo A, Widiastuti A. 2017. Metode isolasi *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blas padi. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 17(1):62–69. DOI: <https://doi.org/10.23960/j.hptt.11762-69>.
- Wuryanti W. 2008. Pengaruh penambahan biotin pada media pertumbuhan terhadap produksi sel *Aspergillus niger*. *BIOMA*. 10(2):46–50. DOI: <https://doi.org/10.14710/bioma.10.2.46-50>.
- Yuan Y, Zhou R, Xu H, Fu J, Hao N, Li H. 2015. Occurrence of grey leaf spot of *Sedum erythrostictum* caused by *Cercospora* cf. *pseudokalanchoes* in China. *Journal of Phytopathology*. 163(11–12):997–1001. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12406>.