

Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Penyebab Hawar Daun Padi (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)

Af'idzatuttama^{1*}, Khairul Anwar², Khansa Amara³

^{1,2}Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Universitas Muria Kudus, Jl. Lingkar Utara UMK, Gondangmanis, Bae, Kudus-59327 Jawa Tengah-Indonesia

³Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur, Jl. Rungkut Madya No.1, Gn Anyar, 60294, Surabaya, Jawa Timur-Indonesia
Email Correspondent*: afidzatuttama@umk.ac.id

Abstract

One of the important diseases that attack rice plants is Bacterial Leaf Blight (BLB). This BLB disease is caused by the bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). The typical symptoms of this disease are symptoms that begin with grayish leaf tips in the form of spots on one or both sides of the leaf, the spots will spread towards the base of the leaf and widen so that blight (blight) is formed. Isolation of Xoo bacteria was carried out based on rice plants attacked by leaf blight in the field. Samples were taken from 4 provinces, Central Java, West Java, East Java, and South Sumatra. Each rice leaf sample was isolated on a specific Xoo medium, namely *Xanthomonas* Agar (XA). Identification of *X. oryzae* pv. *oryzae* was carried out based on the Gram test, hypersensitivity test, starch hydrolysis test, and pathogenicity test with rice plants. The test results showed that *Xanthomonas oryzae* bacteria were Gram-negative, positive hypersensitivity test, did not show a clear zone in the colony area in the starch hydrolysis test, and showed symptoms of lesions in the pathogenicity test. The bacterial colony identified as *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) was bright yellow, slimy, round, and had smooth edges.

Keywords: Blight, *Oryza sativa*, *Xanthomonas* agar

Abstrak

Salah satu penyakit penting yang menyerang tanaman padi yaitu Hawar Daun Bakteri (HDB). Penyakit HDB ini disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Gejala khas penyakit ini yaitu gejala diawali dari pucuk daun yang berwarna keabu-abuan berupa bercak pada satu atau kedua sisi daun, bercak akan meluas kearah pangkal daun dan melebar sehingga terbentuk hawar (blight). Isolasi bakteri Xoo dilakukan berdasarkan tanaman padi yang terserang hawar daun di lapang. Sampel diambil dari 4 Provinsi yaitu Jawa Tengah, Jawa Barat, Jawa Timur, dan Sumatera Selatan. Masing-masing sampel daun padi diisolasi pada media spesifik Xoo yaitu *Xanthomonas* Agar (XA). Identifikasi *X. oryzae* pv. *oryzae* dilakukan berdasarkan pada uji sifat Gram, uji hipersensitivitas, uji Starch Hydrolysis, dan uji patogenesitas dengan tanaman padi. Hasil pengujian menunjukkan bakteri *Xanthomonas oryzae* bersifat Gram negatif, uji hipersensitivitas positif, tidak menunjukkan zona bening di area koloni pada uji Starch Hydrolysis, dan menunjukkan gejala lesion pada uji patogenesitas. Koloni bakteri hasil identifikasi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) berwarna kuning cerah, berlendir, bulat, dan tepian rata.

Kata Kunci: Kresak, *Oryza sativa*, *Xanthomonas* agar

PENDAHULUAN

Hawar Daun Bakteri (HDB) merupakan penyakit penting pada tanaman padi yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) (Suparyono *et al.* 2004). *Xanthomonas*

oryzae pv. *oryzae* sering disebut sebagai bakteri penyebab hawar daun bakteri (*bacterial leaf blight/ kresak disease*) yang termasuk kedalam golongan bacillales. Bakteri Xoo ini memiliki inang yang luas dan beragam dari golongan Poaceae seperti

Oryza sativa, *Leersia* spp., *Laptochloa* spp., *Paspalum scrobiculatum*, dan *Zizania* (Agarwal & Sinclair 1987). Di Indonesia, penyakit kresek ini ditemukan pertama kali pada tahun 1950 an di daerah Bogor dengan gejala layu pada tanaman padi. Penyakit ini awalnya dinamai kresek karena penyebab patogennya bernama *Xanthomonas kresek* (Machmud 1991).

Di Indonesia, terdapat 11 patotipe bakteri *Xoo* yang teridentifikasi menggunakan metode Kozaka (Hifni & kardin 1998). Patotipe merupakan populasi patogen yang semua spesiesnya mempunyai kemampuan yang sama sebagai parasit. Patotipe dapat ditentukan berdasarkan reaksi virulensinya terhadap satu varietas diferensial terpilih (Mew 1989). Suparyono *et al.* (2003) melaporkan bahwa patotipe dari bakteri *Xoo* tidak dapat dibedakan berdasarkan bentuk morfologi patogen maupun gejala yang ditimbulkan. Di Indonesia, patotipe yang sering ditemukan yaitu patotipe III, IV, V, VI, VII, dan VIII. Patotipe yang memiliki tingkat virulensi paling tinggi yaitu patotipe IV (Hifni 1995). Patotipe yang ditemukan di Jawa yaitu patotipe III, IV, dan VII dengan komposisi dan dominasi yang bervariasi (Suparyono *et al.* 2003).

Infeksi dari bakteri ini bersifat sistemik sehingga proses fotosintesis di berbagai stadia pertumbuhan padi terganggu. Bakteri ini terbawa benih sehingga bulir padi yang ada di lapang dapat terinfeksi oleh *Xoo*. Kehilangan hasil akibat serangan bakteri ini berkisar 50-70% pada fase tanaman telah berbunga, sehingga gabah yang terbentuk tidak berisi penuh (hampa) (Shodiq & Mujoko 2017). Gejala diawali dari pucuk daun yang berwarna keabu-abuan berupa

bercak pada satu atau kedua sisi daun, bercak akan meluas kearah pangkal daun dan melebar sehingga terbentuk hawar (blight). Gejala akan berkembang hingga seluruh daun menjadi kering dan kadang-kadang sampai pelepah pada varietas yang rentan. Infeksi pada daun berwarna hijau keabu-abuan dan agak menggulung, kemudian mengering dan berwarna abu-abu keputihan (Suparyono & Sudir 1992). Gejala yang muncul pada tanaman muda disebut gejala kresek, sedangkan pada tanaman dewasa disebut hawar (IRRI 2008).

Masalah penyakit hawar daun padi perlu mendapatkan perhatian dari berbagai pihak sehingga dapat meningkatkan kualitas maupun kuantitas hasil panen padi. Selain itu, masalah penyakit hawar daun pada tanaman padi yang sudah teridentifikasi secara pasti dapat memudahkan dalam penyusunan strategi pengendalian penyakit. Berdasarkan hal tersebut, maka diperlukan langkah awal untuk mengidentifikasi bakteri penyebab hawar daun padi. Identifikasi penyakit hawar daun dilakukan dengan cara isolasi dan karakterisasi bakteri penyebab hawar.

METODE

Pengambilan Sampel

Sampel daun padi yang diambil memiliki gejala HDB di lahan. Sampel daun diambil dari Provinsi Jawa Barat (Kabupaten Karawang dan Cianjur), Provinsi Jawa Tengah (Kabupaten Batang), Provinsi Sumatera Barat (Solok), Provinsi Sulawesi Selatan (Luwu Utara), dan Provinsi Jawa Timur (Kabupaten Jember). Sampel disimpan dalam kantong kertas dan diberi label identitas berupa jenis varietas, daerah lokasi, dan tanggal pengambilan. Pengambilan

sampel dilakukan dengan mengamati gejala HDB di lahan dan melakukan wawancara dengan petani. Identitas sampel yang diambil yaitu lokasi pengambilan, varietas, umur tanaman, dan pengendalian yang digunakan.

Isolasi Bakteri Hawar Daun

Isolasi bakteri *Xoo* dilakukan dengan menggunakan metode penanaman jaringan. Penanaman jaringan dilakukan dengan memotong antar daun padi yang bergejala dan daun sehat. Kemudian hasil potongan ditempelkan pada media XA dan YDCA dan diinkubasi selama 48 jam. Koloni bakteri yang tumbuh kemudian dipisahkan hingga murni pada media NA.

Uji Sifat Gram

Uji sifat Gram bakteri hawar daun padi dilakukan menggunakan larutan KOH 3%. Isolat bakteri yang digunakan berumur 24-48 jam pada media NA. Sebanyak satu tetes larutan KOH 3% diteteskan pada kaca preparat. Kemudian, masing-masing isolat bakteri diambil satu oose dandicampurkan pada kaca preparat yang sudah ditetesi dengan larutan KOH 3%. Pengamatan dilakukan dengan terbentuknya lendir ketika jarum oose diangkat.

Uji Hipersensitivitas

Isolat bakteri ditumbuhkan selama 24-48 jam pada media cair NB. Sebanyak 1 ml disuntikkan menggunakan jarum *syringe* pada tanaman tembakau yang berumur 1 bulan. Pengamatan dilakukan setelah 2-3 hari inkubasi.

Uji Hidrolisis Pati (*Starch Hydrolysis*)

Pengujian dilakukan menggunakan media khusus yang berbahan *beef extract*, pepton, agar, dan kentang. Isolat bakteri ditumbuhkan pada media khusus yang sudah ditambahkan dengan antibiotik Nitrofurantio dan Vancomycin. Isolat yang digunakan

berusia 24-48 jam inkubasi. Isolat bakteri yang sudah tumbuh ditetesi dengan iodin selama 30-60 detik. Isolat yang menunjukkan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri yang dipilih untuk digunakan dalam pengujian selanjutnya (Schaad 2001).

Uji Patogenesitas

Benih padi IR-64 disterilisasi menggunakan perlakuan air panas pada suhu 55 °C selama 20 menit (Parida 2016). Benih disemai pada tanah steril. Bibit padi yang berumur dua minggu dipindah tanam pada tanah sawah steril dalam wadah berdiameter 10 cm dan tinggi 11.5 cm. Inokulasi bakteri dilakukan dengan cara *clip-method* yakni dengan menggunting atau memotong ujung daun padi sekitar 2-3 cm menggunakan gunting yang telah dicelupkan dalam suspensi *X. oryzae* pv. *oryzae* yang berumur 48 jam. Tanaman yang telah diinokulasikan bakteri tersebut disungkupkan dengan plastik bening selama 3 hari untuk menjaga kelembaban mikro disekitar tanaman. Isolat yang menimbulkan gejala pada tanaman padi setelah 7 hari inokulasi yang digunakan untuk pengujian selanjutnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel daun yang bergejala HDB diambil dari 4 Provinsi yang berbeda yaitu Jawa Tengah, Jawa Timur, Jawa Barat, dan Sumatera Selatan. Varietas tanaman padi yang bergejala HDB bervariasi yaitu varietas Inpari 32, Pandan Wangi, IR 64 dan 32, Serang, dan Bujang Marantau. Umur tanaman padi yang mengalami HDB dalam rentang 14-10 hari setelah tanam. Pengendalian yang sering dilakukan oleh petani dalam mengendalikan HDB yaitu menggunakan fungisida dengan merk dagang yang berbeda (Tabel 1).

Tabel 1. Identitas dan Lokasi Pengambilan Sampel Daun Padi yang Bergejala HDB

Lokasi	Varietas	Umur	Pengendalian
Banyusari, Karawang, Jawa Barat	Inpari 32	75 hari	Delsene
Tegalsari, Karawang, Jawa Barat	Pandan Wangi	45 hari	Antraco, Topcin
Sangir, Solok Selatan, Sumatera Barat	Bujang Marantau	100 hari	Tidak dikendalikan
Cugenang, Cianjur, Jawa Barat	Sariwangi	100 hari	Score
Bandar, Batang, Jawa Tengah	IR 64	70 hari	Nordox
Kencong, Jember, Jawa Timur	IR 32	50 hari	Biotis, Ziflo
Gumukmas, Jember, Jawa Timur	Serang	50 hari	Biotis, Ziflo
Jombang, Jawa Timur	IR 64	14 hari	Piraklo

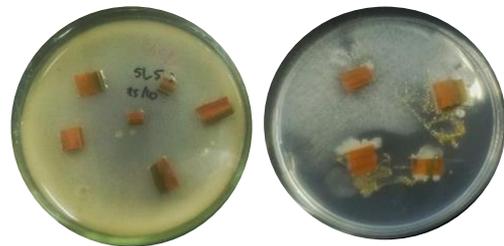
Lahan padi yang digunakan untuk pengambilan sampel tanaman yang bergejala memiliki umur yang bervariasi. Penyakit HDB dapat menyerang pada tanaman padi yang masih berumur muda maupun tua. Tanaman yang sudah berumur tua akan mengalami gejala HDB lebih parah dibandingkan tanaman yang lebih muda. Gejala pada tanaman padi yang terserang penyakit HDB yaitu daun berwarna abu-abu yang dimulai dari pinggir daun, kemudian menyebar sampai tengah daun dan lama kelamaan berwarna coklat kehitaman (Gambar 1b dan 1c). Gejala dimulai dari pinggir daun dikarenakan bakteri *Xoo* menginfeksi dari melalui hidatoda daun. Serangan HDB pada lahan yang luas akan menunjukkan hamparan tanaman berwarna kuning secara keseluruhan sehingga menimbulkan gejala hawar (*blight*) (Gambar 1a). Hal ini sesuai dengan

pernyataan Laraswati *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa gejala HDB dimulai dari tepi daun yang berwarna abu-abu kemudian menyebar hingga ujung dan pangkal daun dan melebar. Daun yang terserang akan mengering dan menyebabkan hawar.

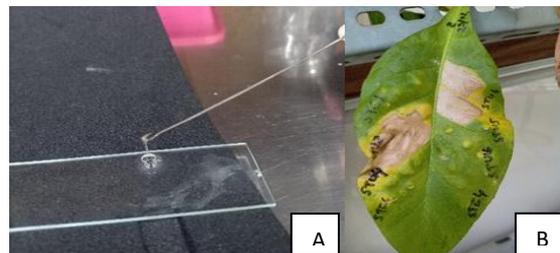


Gambar 1. Gejala HDB di Lapangan

Tanaman yang mengalami gejala HDB kemudian diisolasi menggunakan media spesifik XA dan YDCA. Koloni bakteri yang tumbuh di sekitar daun yang bergejala itu yang dijadikan kandidat bakteri *Xoo*. Koloni bakteri *Xoo* muncul ditandai dengan warna kuning, cembung, dan bulat (Gambar 2).



Gambar 2. Koloni Bakteri yang Tumbuh Pada Media XA



Gambar 3. Pengujian Sifat Gram dan Hipersensitif Bakteri *Xanthomonas*

Kandidat bakteri yang memiliki ciri-ciri seperti bakteri *Xoo* kemudian dilakukan pengujian lanjutan untuk memastikan spesies bakteri penyebab HDB. Pengujian selanjutnya yaitu penentuan sifat Gram

bakteri. Bakteri *Xanthomonas* merupakan bakteri Gram negatif (Schaad 2001) yang ditandai dengan terbentuknya lendir ketika dilakukan pengujian menggunakan KOH 3% (Gambar 3a). Koloni bakteri yang memiliki sifat Gram negatif kemudian dilakukan pengujian hipersensitivitas untuk mengetahui koloni bakteri bersifat patogenik terhadap tanaman. Bakteri *Xoo* bersifat patogenik terhadap tanaman. Hal ini ditandai dengan terbentuknya gejala nekrosis pada tanaman uji (tembakau) (Gambar 3b)

Kandidat koloni bakteri yang diduga sebagai *Xoo* kemudian diuji kandungan hidrolisis pati (*Starch hydrolysis*). Bakteri yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening di sekitar koloni menjadi indikator karakteristik bakteri *Xanthomonas oryzae* (Gambar 4) (Jonit *et al.* 2016).



Gambar 4. Pengujian *Starch hydrolysis*



Gambar 5. Uji Patogenesitas Isolasi Bakteri *X.oryzae* pada Tanaman Padi; Uji Positif (A), Uji Negatif (B) Bakteri *X. oryzae*

Uji patogenesitas dilakukan menggunakan tanaman padi yang berumur 2 minggu. Isolasi yang mampu menimbulkan gejala nekrosis pada tanaman padi dipilih sebagai isolasi yang diduga sebagai

Xanthomonas oryzae. Gejala pada daun padi yang diinokulasi dengan isolasi *Xoo* ditandai dengan terbentuknya lesi kuning di pinggir daun hasil infeksi patogen (Gambar 5a). Lesi kuning lama-kelamaan akan berwarna coklat dan mengering. Sebaliknya, daun yang diinokulasi dengan air steril (kontrol) tidak menimbulkan gejala nekrosis (Gambar 5b). Gejala lesi yang muncul pada uji patogenesitas menunjukkan bahwa isolasi tersebut berpotensi sebagai patogen padi.

Isolasi bakteri yang berhasil dengan beberapa pengujian ditumbuhkan ke media spesifik *Xanthomonas oryzae* yaitu XA. Koloni bakteri yang tumbuh memiliki ciri-ciri berwarna kuning cerah, berlendir, bulat, dan tepian rata (Gambar 6). Bakteri yang memiliki ciri-ciri tersebut yang diduga sebagai *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Berdasarkan penelitian dari Wahyudi *et al* (2011) menyampaikan bahwa isolasi bakteri yang mampu tumbuh pada media XA memiliki ciri-ciri koloni berlendir, berbentuk bulat, berwarna kuning, tepian rata, dan permukaan timbul termasuk kedalam spesies *X. oryzae* pv. *oryzae*.



Gambar 6. Koloni Bakteri *X. oryzae* pv. *oryzae* pada Media XA

Berdasarkan urutan pengujian identifikasi bakteri *X. oryzae* pv. *oryzae*, semua sampel yang diambil dari 4 provinsi yang bergejala HDB teridentifikasi terserah penyakit oleh bakteri *X. oryzae* pv. *oryzae*. Bakteri *Xanthomonas oryzae* memiliki ciri.

bersifat Gram negatif, uji hipersensitivitas positif, tidak menunjukkan zona bening di area koloni pada uji *Starch Hydrolysis*, dan menunjukkan gejala lesion pada uji patogenesitas.

KESIMPULAN

Sampel daun yang bergejala HDB teridentifikasi terinfeksi oleh bakteri *X. oryzae* pv. *oryzae*. Bakteri memiliki ciri-ciri koloni berwarna kuning, berlendir, tepian rata, dan permukaan timbul.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, V.K., Sinclair, J.B. (1987). Seedborne pathogens, p. 17-76. In *Principles of Seed Pathology Vol I*. CRC Press, Inc. Florida.
- Hifni, H.R., Kardin, M.K. (1998). Pengelompokan isolat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dengan menggunakan galur isogenik padi IRRI. *Jurnal Hayati*. 5:66-72.
- IRRI. (2008). Bacterial Leaf Blight, Diagnostic Summary. <http://www.knowledgebank.irri.org>.
- Jonit, N.Q., Low, Y.C., Tan, G.H. (2016). *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*, *Biochemical Tests, Rice (Oryza sativa), Bacterial Leaf Blight (BLB) Disease, Sekinchan. Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 4(3): 63-69. Doi: 1-12691/jaem-4-3-3.
- Laraswati, R., Ramdan, E.P., Kulsum U. (2021). Identifikasi Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Kombinasi Pola Tanam *System of Rice Intensification (SRI)* dan Jajar Legowo. *Agropross: National Conference Proceedings of Agriculture*. Doi: 10.25047/agropross.2021.234.
- Mew, T.W. (1989). An overview of the world bacterial leaf blight situation. In p 7-12. *Bacterial blight of rice*. IRRI. Manila Philippines.
- Machmud, M. (1991). Pengendalian penyakit jamur. *Buku Padi 3*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan Bogor. hlm 845-854.
- Parida I. (2016). Isolasi, seleksi, dan identifikasi bakteri endofit sebagai agens penginduksi ketahanan tanaman padi terhadap penyakit hawar daun bakteri [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Pratiwi ST. 2008, *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta (ID): Erlangga Medikal Series. hlm 154-158.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W. (2001). *Plant Pathogenic Bacteria*. Ed ke-3 Minnesota (US): American Phytopathological Society.
- Sodiq, M., Mudjoko, T. (2019). Pengendalian Terpadu Hama dan Penyakit Tanaman Padi. *Plantaxia: Graha Ilmu Suparyono, Sudir, dan Suprihanto*. (2004). Komposisi patotipe patogen hawar daun bakteri pada tanaman padi stadium tumbuh berbeda. *Jurnal Penelitian Pertanian*. 22(1): 45-50.
- Suparyono, Sudir, dan Suprihanto. (2003). Komposisi patotipe patogen hawar daun bakteri pada tanaman padi .
- Wahyudi, A.T., Meliah, S., Nawangsih, A.A. (2011). *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Bakteri Penyebab Hawar Daun pada Padi: Isolasi, Karakterisasi, dan Telaah Mutagenesis dengan Transposon. *Maraka Sains*. 15 (1): 89-9.