

Characterization of Bacteria Causing Leaf Blight Disease in Rice Plants in Sidoarjo

Ninik Ari Sayekti¹, Arika Purnawati^{2*}, Safira Rizka Lestari³

^{1,2,3}Agrotechnology Study Program, Faculty of Agriculture,
Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jawa Timur, Indonesia
Email: arika_p@upnjatim.ac.id

ABSTRACT

Rice (Oryza sativa L.) is a staple crop for all Indonesian people. Rice production in Indonesia in 2019 experienced a decline in production. Plant disease attacks are a factor that influences the decline in rice production. Bacterial leaf blight is an important disease in rice plants that can cause yield losses of up to 50%. Characterization of disease-causing bacteria needs to be carried out to develop appropriate, effective and efficient control in suppressing the development of bacterial leaf blight. The aim of this research was to characterize the morphological and physiological characteristics of the bacteria that cause bacterial leaf blight. The method used in this research included the isolation of bacteria that cause bacterial leaf blight disease carried out on rice plantations in Pulungan Village, Sedati, Sidoarjo. Identification is carried out through macroscopic and microscopic observations, analysis of physiological properties through the gram staining test, fermentative oxidative test, yellow colony test on YDC media, urease test, hypersensitivity test, and pathogenicity test. The results of the research show that the bacteria that cause bacterial leaf blight have the morphological characteristics of being yellow, round and shiny. The physiological characteristics of the bacterial isolate are gram-negative bacteria, are oxidative, yellow in YDC media, and react negatively in the urease test.

Keywords: Rice Leaf Blight, Bacterial Characterization, Production, Staple Crops, *Xanthomonas oryzae*.

1. Pendahuluan

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman pokok hampir seluruh masyarakat Indonesia karena merupakan sumber karbohidrat utama. Produksi padi di Indonesia pada tahun 2018 mencapai 29 juta ton dan pada tahun 2019 produksi padi Indonesia menurun menjadi 54 juta ton. Serangan penyakit tanaman merupakan salah satu faktor menurunnya produksi padi (Ariska & Qurniawan, 2021). Salah satu penyakit penting pada tanaman padi adalah penyakit hawar daun bakteri. Menurut (Khaeruni et al., 2014), hawar daun bakteri dapat menyebabkan kerusakan mencapai 50% pada tanaman padi. Serangan penyakit ini tidak akan mengganggu pertumbuhan tanaman tetapi akan mengganggu proses pengisian malai, sehingga malai akan menjadi hampa

Penyakit hawar daun bakteri disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. Penyakit hawar daun bakteri dapat menyerang tanaman padi pada semua fase pertumbuhan (Eryah et al., 2023). Gejala hawar daun bakteri diawali dengan adanya bercak berwarna keabuan pada tepi daun yang kemudian akan berkembang hingga daun mengering berwarna keabuan (Laraswati et al., 2021). Bakteri penyebab penyakit hawar daun pada tanaman padi menginfeksi tanaman pada fase vegetatif dan fase generatif (Suci, 2023).

Pengendalian penyakit hawar daun bakteri secara efektif dan efisien perlu dilakukan untuk menekan perkembangan penyakit agar tidak semakin menimbulkan kerugian pada produksi tanaman padi. Karakterisasi bakteri penyebab penyakit hawar daun pada tanaman padi perlu dilakukan untuk dapat menentukan metode pengendalian yang tepat sasaran, efektif, dan efisien. Karakterisasi bakteri patogen penting dilakukan untuk mengetahui morfologi dan sifat fisiologi bakteri patogen. Informasi tersebut diperlukan untuk menentukan rekomendasi pengendalian penyakit yang dapat dilakukan (Arriani et al., 2020). Oleh karena itu sebagai langkah awal perlu dilakukan karakterisasi bakteri penyebab penyakit hawar daun pada tanaman padi di Sidoarjo.

2. Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei hingga Juli 2024. Pengambilan sampel daun bergejala dilakukan pada pertanaman padi di Desa Pulungan, Sedati, Sidoarjo. Kegiatan karakterisasi bakteri dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Tanaman Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Jawa Timur.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, beaker glass, gelas ukur tabung Erlenmeyer, tabung reaksi, pengaduk kaca, jarum ose, gunting, scalpel, pinset, bunsen, korek api, mikropipet 1000 μ L (Smart gen Next pipette) dan tip, kaca preparat, gelas penutup, mikroskop (Olympus), vortex (Maxi Mix II), timbangan analitik, kompor, panci, Autoklaf (all American 50x), *Laminar Air Flow*, dan kamera HP. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman padi bergejala hawar daun di Desa Pulungan, Kecamatan Sedati, Kabupaten Sidoarjo, media NA (Merck), media YDC, aquades steril, alkohol 70%, plastik wrap, kertas label, kapas, karet, tisu, aluminium foil, dan spiritus.

Isolasi Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi

Isolasi dilakukan dengan cara mengambil daun yang bergejala hawar daun bakteri pada tanaman padi. Daun bergejala hawar dipotong sepanjang ± 1 cm, kemudian dicuci menggunakan aquades steril. Potongan daun tersebut digerus menggunakan mortar hingga halus, lalu ditambahkan dengan 1 ml aquades steril. Ekstrak daun sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril kemudian di vortex. Pengenceran dilakukan hingga pengenceran 10^{-4} . Suspensi bakteri pada masing masing tingkat pengenceran ditumbuhkan pada media NA dengan metode *spread plate* (Suci, 2023). Kultur bakteri diinkubasi selama 48 jam. Koloni yang tumbuh diamati dan dilakukan seleksi. Koloni tumbuh dan berwarna kuning kemudian dilakukan pemurnian pada media NA. Untuk memperoleh biakan murni diinkubasi selama 48 jam hingga diperoleh koloni tunggal (Herwati, 2020).

Pewarnaan Gram

Biakan murni hasil isolasi yang berumur 2x24 jam dilakukan uji pewarnaan gram untuk mengetahui apakah bakteri termasuk bakteri gram positif atau gram negatif. Uji pewarnaan gram dilakukan dengan mengambil koloni bakteri dari biakan murni kemudian diletakkan pada gelas objek dan difiksasi di atas lampu busnen. Kemudian ditetesi dengan kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit kemudian dicuci menggunakan aquades dan dikeringkan, setelah itu ditetesi dengan iodine dan dibiarkan selama 1 menit lalu dicuci dan dikeringkan. Selanjutnya ditetesi dengan alkohol 95% dengan tujuan menghilangkan warna cat utama, lalu dicuci menggunakan aquades dan dikeringkan. Kemudian ditetesi larutan safranin didamkan selama 1 menit, dicuci dan dikeringkan. Lalu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop. Gram negatif ditunjukkan dengan sel berwarna merah terang sedangkan gram positif ditunjukkan dengan warna ungu gelap.

Uji Oksidatif Fermentatif

Uji Oksidatif Fermentatif dilakukan menggunakan medium Oksidatif-Fermentatif. Bakteri hasil pemurnian diinokulasikan pada dua tabung berisi masing-masing 5 ml media uji Oksidatif-Fermentatif. Tabung pertama ditambahkan paraffin sebagai kondisi anaerob dan pada tabung kedua dibiarkan tanpa paraffin sebagai perumpamaan kondisi aerob. Tabung diinkubasi pada suhu ruang dan dilakukan pengamatan setelah 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat perubahan warna dari biru menjadi kuning pada kedua tabung. Apabila seluruh media berwarna kuning maka bakteri bersifat oksidatif fermentatif.

Uji Koloni Kuning pada Media YDC

Koloni bakteri hasil pemurnian diambil menggunakan ose kemudian ditumbuhkan pada media YDC (*Yeast Dextrose Carbonat*) didalam cawan petri, lalu diinkubasi 24-72 jam. Pengamatan dilakukan setelah 3 hari, jika bakteri dapat tumbuh, berarti mampu tumbuh dengan koloni berwarna kuning pada media YDC.

Uji Urease

Media uji urease adalah *Urea Agar Base*. Bahan yang digunakan untuk media uji urease antara lain 24,01 gram *Urea Base Agar*, 950 ml aquades steril, dan 50 ml urea steril 40%. Koloni bakteri hasil pemurnian ditumbuhkan pada media uji urease dan diinkubasi selama 4 hari kemudian dilakukan pengamatan. Hasil positif ditandai adanya perubahan warna menjadi merah pekat (*deep pink*) pada media (Ningsih et al., 2018).

Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif dilakukan dengan menyuntikkan suspensi bakteri dengan kerapatan 10^6 CFU/ml ke tulang daun tanaman tembakau. Sebagai kontrol pada tulang daun tembakau lainnya disuntikkan aquades steril. Pengamatan dilakukan hingga 48 jam

dengan melihat adanya gejala nekrotik pada daun tembakau (Hadianto & Hakim, 2015). Reaksi hipersensitif ditunjukkan jika terjadi gejala nekrotik pada daun tembakau dalam waktu 24-48 jam setelah inokulasi (Fadil et al., 2023).

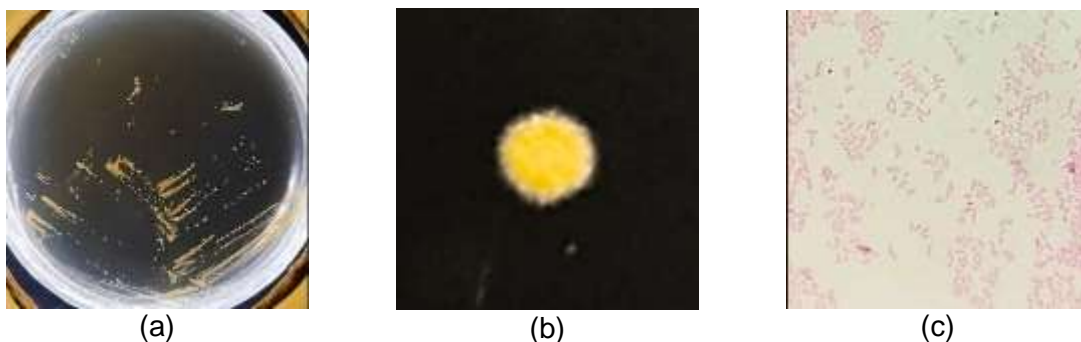
Uji Patogenesitas

Uji patogenesitas dilakukan dengan menginokulasikan suspensi bakteri pada tanaman padi yang berumur 2 minggu. Inokulasi bakteri dilakukan dengan melukai daun menggunakan gunting yang telah dicelupkan ke dalam suspensi bakteri selama \pm 10 detik. Pengamatan gejala penyakit dilakukan setiap hari hingga munculnya gejala. Uji patogenesitas dinyatakan positif jika dapat timbul gejala penyakit hawar pada daun padi yang telah diinokulasikan bakteri dan dinyatakan negatif jika tidak timbul gejala penyakit hawar daun pada tanaman padi.

3. Hasil

Karakteristik Morfologi

Karakteristik morfologi bakteri dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil peremajaan Isolat bakteri hasil isolasi pada tanaman padi di daerah Sedati, Sidoarjo saat ditumbuhkan pada media NA menunjukkan koloni berwarna kuning, berbentuk bulat dan mengkilat. Berdasarkan pengamatan bakteri hasil isolasi pada tanaman padi di daerah Sedati, Sidoarjo menunjukkan morfologi koloni berbentuk bulat, berwarna kuning, dan memiliki permukaan yang mengkilat. Sedangkan pada pengamatan secara mikroskopis isolat bakteri berbentuk batang pendek dan merupakan bakteri gram negative (Laraswati et al., 2022). Hasil pengamatan morfologi bakteri disajikan pada Gambar 1.



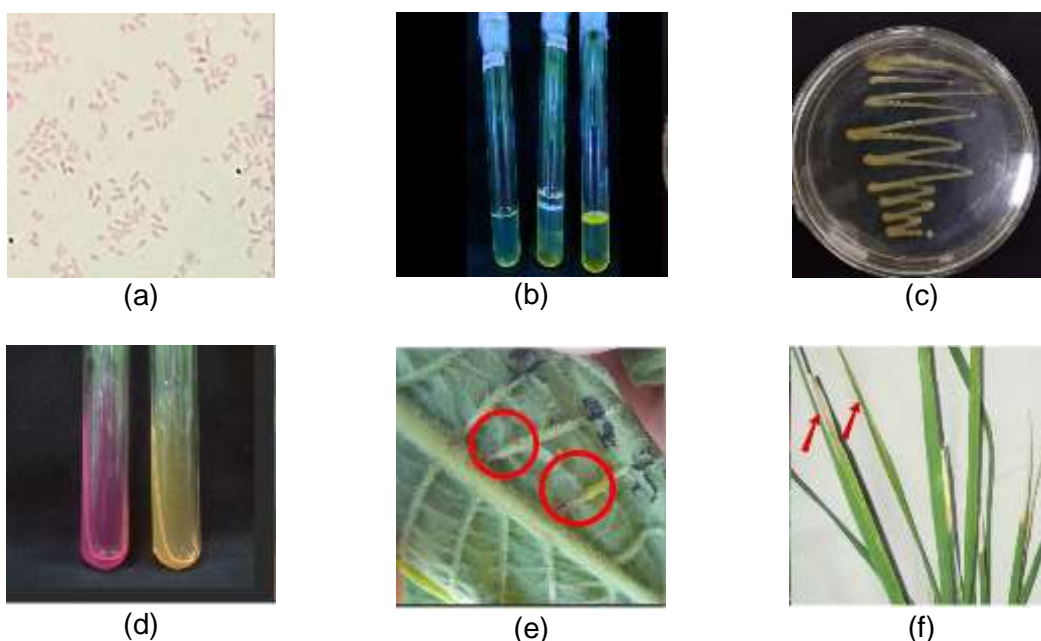
Gambar 1. Karakteristik Morfologi (a) Kenampakan makroskopis bakteri pada media NA; (b) Koloni tunggal bakteri hasil isolasi; (c) Kenampakan mikroskopis bakteri hasil isolasi (perbesaran 1000x).

Menurut Syofiana & Masnilah, (2019), morfologi *Xanthomonas oryzae* penyebab penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi adalah koloni berwarna kuning, berbentuk bulat dengan permukaan koloni yang licin. Secara mikroskopis dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000 kali koloni *Xanthomonas oryzae* berbentuk basil (batang) dan termasuk gram negatif (Rachmawati et al., 2017). Bakteri *Xanthomonas oryzae* berbentuk batang pendek berukuran $(1-2) \times (0,8-1)$ μ m dan diujungnya terdapat satu flagella polar

sengan ukuran 6-8 m yang digunakan sebagai alat gerak (Herwati, 2020).

Karakteristik Fisiologi

Hasil pengamatan karakteristik fisiologi isolat bakteri merupakan bakteri gram negatif, bersifat oksidatif, berwarna kuning pada media YDC, dan bereaksi negatif pada uji urease. Hasil karakteristik fisiologi isolat penyebab penyakit hawar daun disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Karakteristik Fisiologi (a) Uji pewarnaan gram; (b) Koloni pada media YDC; (c) Uji oksidatif-fermentatif; (d) Uji urease; (e) Uji Hipersensitif; (f) Uji Patogenesitas

Berdasarkan Gambar 2 (a) Uji pewarnaan gram menunjukkan isolat bakteri termasuk gram negatif dan berbentuk batang pendek. Bakteri gram negatif ditandai dengan sel berwarna merah setelah dilakukan pewarnaan gram. Berdasarkan hasil penelitian Rachmawati et al., (2017), koloni isolat bakteri hasil isolasi *Xanthomonas oryzae* adalah gram negatif. Isolat bakteri hasil isolasi dari daun padi bergejala hawar daun bakteri saat ditumbuhkan pada media YDC menunjukkan koloni berwarna kuning (Gambar 2 (c)). Menurut Herwati (2020), isolat bakteri yang berwarna kuning pada media YDC termasuk dalam genus *Xanthomonas*. Artinya isolat bakteri yang didapatkan termasuk dalam genus *Xanthomonas*. Koloni bakteri berwarna kuning pada media YDC disebabkan oleh aktivitas biokimia dari bakteri genus *Xanthomonas* yang dapat memproduksi pigmen xanthomonadin. Pigmen ini akan memberi warna kuning pada koloni bakteri yang merupakan ciri khas dari genus *Xanthomonas* (Kim et al., 2015).

4. Pembahasan

Uji oksidasi-fermentatif dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri dapat tumbuh pada keadaan anaerob. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan bakteri tidak dapat tumbuh jika tidak terdapat oksigen (anaerob), hal ini ditandai dengan adanya pertumbuhan

bakteri pada media yang tidak diberi paraffin (Gambar 2 (b)). Media pada tabung reaksi yang tidak diberi parafin berubah menjadi lebih keruh yang menandakan bahwa bakteri bersifat aerob atau dapat tumbuh bila terdapat oksigen. Media yang keruh menandakan adanya pertumbuhan mikroorganisme dalam media. Bakteri *Xanthomonas oryzae* bereaksi negatif atau tidak dapat tumbuh pada keadaan anaerob pada uji oksidatif fermentatif (Herwati, 2020).

Uji urease dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim urease. Beberapa mikroorganisme mampu menghasilkan enzim urease yang dapat menguraikan mikromolekul urea menjadi karbondioksida dan ammonia. Urea akan menjadi ammonium dan CO₂ sehingga pH media menjadi basa dan berubah menjadi warna jingga hingga merah (Dewi et al., 2017). Uji urease yang dilakukan pada isolate bakteri menunjukkan warna kuning pada media, artinya bakteri bereaksi negatif pada uji urease (Gambar 2(d)). Berdasarkan penelitian Herwati (2020), bakteri dari genus *Xanthomonas* tidak mampu menghasilkan enzim urease.

Hasil uji hipersensitif dapat ditunjukkan pada Gambar 2(e) yaitu isolat bereaksi hipersensitif. Reaksi hipersensitif ditandai dengan perubahan pada jaringan daun mengalami nekrosis perubahan warna kuning setelah diinjeksi dengan suspensi bakteri setelah 48 jam. Adanya reaksi hipersensitif menandakan bahwa isolate bersifat virulen. Artinya isolate bakteri yang didapatkan merupakan patogen yang dapat menyebabkan penyakit pada tanaman. Uji patogenesis dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan bahwa isolate yang didapatkan bisa menimbulkan gejala yang sama dengan gejala penyakit yang ditemukan (Fanani et al., 2015). Berdasarkan hasil uji patogenesis pada Gambar 2(f) isolat bakteri dapat menimbulkan gejala penyakit hawar daun. Gejala penyakit hawar daun bakteri adalah timbulnya bercak berwarna abu-abu pada tepi daun yang kemudian akan berkembang ke arah bawah daun, lama kelamaan daun akan mengering dan berwarna keabuan (Laraswati et al., 2021).

5. Kesimpulan

Hasil karakterisasi morfologi dan fisiologi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa isolat bakteri hasil isolasi dari daun tanaman padi bergejala hawar daun bakteri adalah termasuk dalam genus *Xanthomonas*. Morfologi bakteri secara makroskopis adalah memiliki koloni berbentuk bulat, berwarna kuning, dan mengkilat. Sedangkan secara mikroskopis sel bakteri berbentuk batang pendek. Karakteristik fisiologi isolat bakteri merupakan bakteri gram negatif, bersifat oksidatif, berwarna kuning pada media YDC, dan bereaksi negatif pada uji urease.

6. Daftar Pustaka

- Ariska, F. M., & Qurniawan, B. (2021). Perkembangan impor beras di Indonesia. *Journal of Agriculture and Animal Science*, 1(1), 27–34.
- Arriani, I. F., Abadi, A. L., & Aini, L. Q. (2020). Karakterisasi bakteri patogen penyebab layu pada tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.). *VIABEL: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Pertanian*, 14(1), 69–75.
- Dewi, A. K., Meylina, L., & Rusli, R. (2017). Isolasi bakteri dari tanah mangrove *Rhizopora* sp. di kota bontang. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 5, 59–68.
- Eryah, H. P., Telnoni, S. P., & Da Costa, Y. (2023). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penyakit Hawar Daun Di Desa Naibonat Kecamatan Kupang Timur, Kabupaten Kupang Nusa Tenggara Timur. *Flobamora Biological Journal*, 2(1), 8–17.
- Fadil, M., Yanti, Y., & Khairul, U. (2023). Penapisan aktinobakteria rhizosfer padi sebagai agens pengendali hayati *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* patogen penyebab penyakit hawar daun bakteri. *Jurnal Agro*, 10(1), 1–15.
- Fanani, A. K., Abadi, A. L., & Aini, L. Q. (2015). Eksplorasi bakteri patogen pada beberapa spesies tanaman kantong semar (*Nepenthes* sp.). *Jurnal HPT (Hama Penyakit Tumbuhan)*, 3(3), 104–110.
- Hadianto, W., & Hakim, L. (2015). Ketahanan beberapa genotipe padi terhadap penyakit hawar daun bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 15(2), 152–163.
- Herwati, A. (2020). *ISOLASI DAN KARAKTERISASI PENYEBAB PENYAKIT HAWAR DAUN BAKTERI (Xanthomonas oryzae pv. oryzae L.) PADA TANAMAN PADI DI WILAYAH SULAWESI SELATAN*.
- Khaeruni, A., Taufik, M., Wijayanto, T., & Johan, E. A. (2014). Perkembangan penyakit hawar daun bakteri pada tiga varietas padi sawah yang diinokulasi pada beberapa fase pertumbuhan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 10(4), 119.
- Kim, H.-I., Noh, T.-H., Lee, C.-S., & Park, Y.-J. (2015). A mutation in the *aroE* gene affects pigment production, virulence, and chemotaxis in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Microbiological Research*, 170, 124–130.
- 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*, 302–311.
- Laraswati, R., Ramdan, E. P., Risnawati, R., & Manurung, A. N. H. (2022). Potensi ekstrak daun sirih dan rimpang lengkuas sebagai pestisida nabati pengendali hawar daun bakteri pada padi. *Jurnal Pertanian Presisi (Journal of Precision Agriculture)*, 6(1), 1–14.
- Ningsih, M. D. S., Linda, T. M., & Fibriarti, B. L. (2018). Isolasi dan keragaman bakteri ureolitik lokal riau yang berpotensi sebagai campuran beton. *Al-Kaunyah*, 11(1), 57–63.
- Rachmawati, A., Suprihadi, A., & Kusdiyantini, E. (2017). IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF PADA ISOLAT BAKTERI BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) SEBAGAI AGENSIA HAYATI *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Jurnal Akademika Biologi*, 6(3), 1–11.
- SUCI, A. H. (2023). *APLIKASI AGENSIA HAYATI UNTUK MENGHAMBAT PENYAKIT HAWAR DAUN BAKTERI DAN MENINGKATKAN PERTUMBUHAN TANAMAN PADI (Oryza sativa L.)*.
- Syofiana, R. V. T., & Masnilah, R. (2019). Eksplorasi *Bacillus* spp. pada beberapa rhizosfer gulma dan potensinya sebagai agens pengendali hayati patogen tanaman secara in vitro. *JURNAL BIOINDUSTRI (JOURNAL OF BIOINDUSTRY)*, 2(1), 349–363.