

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENYAKIT HAWAR
DAUN DI DESA NAIBONAT KECAMATAN KUPANG TIMUR,
KABUPATEN KUPANG NUSA TENGGARA TIMUR**

***Isolation and Identification Bacteria of Leaf Blight In Village
Naibonat, Kupang Timur District, Kupang Regency East Nusa
Tenggara***

Henri Pietherson Eryah¹, Sipora P.Telnoni², Yustina Da Costa³

Program Studi biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas

San Pedro, Kupang 85228 ^{1,2,3}

eryahijonk@gmail.com ¹

Abstrak

Berdasarkan hasil penelitian pengamatan bakteri yang telah dilakukan di dapatkan hasil 5 isolat bakteri yang menjadi penyakit utama menyerang sistem kekebalan daun padi dan menjadi faktor pertumbuhan tanaman daun padi menjadi rusak dan terkena bercak dan putih akibat bakteri dari hasil identifikasi bakteri ini termasuk bakteri gram positif dan gram negatif setelah melalui tahap uji gram maka didapatkan hasil koloni yang berwarna merah adalah koloni bakteri basillus, xanthomas, pseudomonas, Bakteri leaf blight dan endotif, bakteri yang tumbuh jumlah selnya akan meningkat dalam jumlah yang besar dalam waktu yang singkat dan akibat pertumbuhan tersebut akan terbentuk koloni untuk pertumbuhan bakteri

Kata Kunci: *daun padi, basillus, xanthomonas, pseudomonas*

Abstract

Based on the results of research on observing bacteria that have been carried out, the results show that 5 bacterial isolates which are the main diseases attack the immune system of rice leaves and become growth factors for rice plants. negative after going through the gram test stage, the results obtained are colonies that are red in color, namely colonies of bacilli, xanthomas, pseudomonas, leaf blight bacteria and endophytes, bacteria that grow the number of cells will increase in large numbers in a short time and as a result of this growth colonies will form for bacterial growth.

Keywords: *Oryza sativa, basillus, xanthomonas, pseudomonas*

PENDAHULUAN

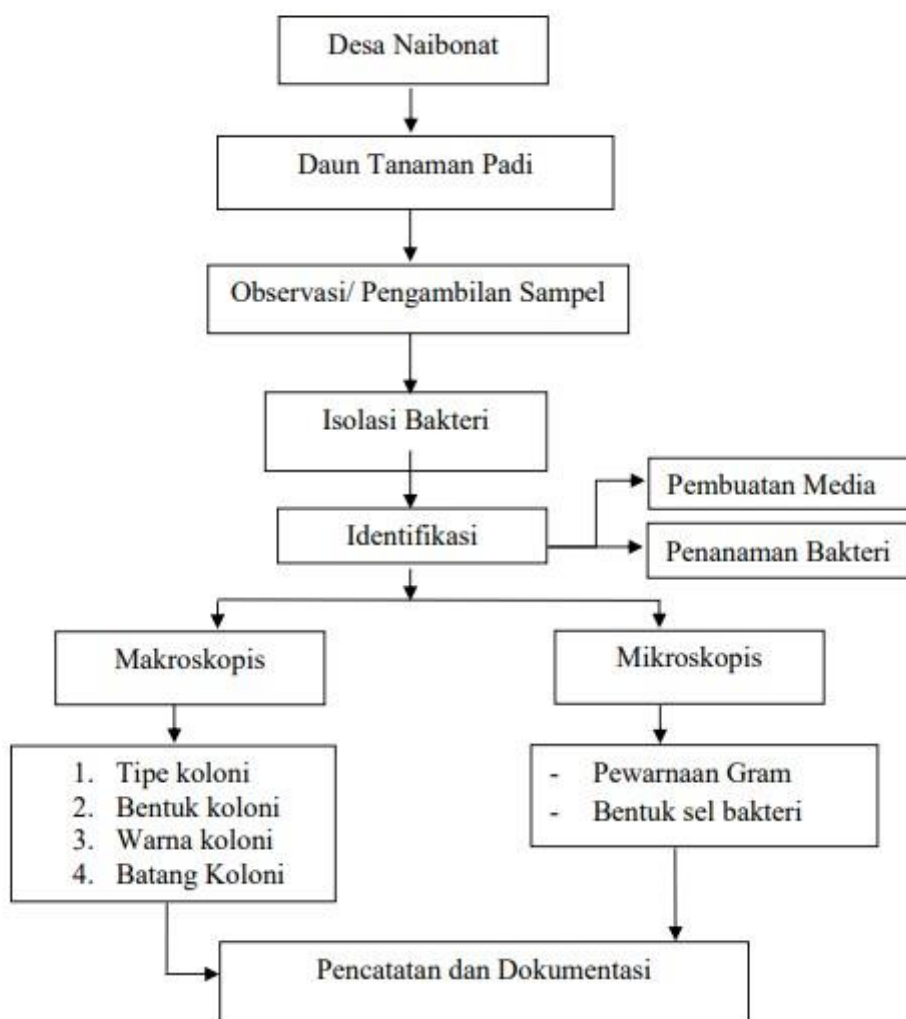
Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produktivitas tanaman padi yaitu mengendalikan penyakit yang ada pada tanaman tersebut. Tanaman padi (*Oryza sativa*) sendiri merupakan tanaman yang sangat penting bagi masyarakat di Indonesia karena padi menjadi bahan pangan penghasil beras yang menjadi bahan makanan pokok bagi masyarakat. Meskipun padi dapat diganti oleh maka lain, namun padi memiliki nilai tersendiri bagi masyarakat yang mengkonsumsi dan tidak dapat diganti oleh makan lain. Ketersediaan bahan pangan dari tahun ketahun menunjukkan kesenjangan yang terus melebar antara peningkatan produksi komoditas padi dengan pertumbuhan penduduk yang selalu berbanding terbalik.

Tanaman padi sering kali diserang oleh penyakit yang penting tanaman padi itu sendiri biasa disebut bakteri penyakit Hawar Daun Bakteri (HDB). Penyakit Hawar daun bakteri (HDB) disebabkan oleh patogen yang menginfeksi daun padi pada semua fase pertumbuhan tanaman. Pada fase generatif disebut hawar apabila infeksi mengakibatkan proses pengisian gabah menjadi kurang sempurna. Kehilangan hasil dikarenakan penyakit HDB bervariasi antara 15-80% bergantung pada stadia tanaman saat penyakit timbul (Suparyono, 2014). Varietas padi yang ditanam akan menentukan perkembangan penyakit HDB. Pada varietas rentang saat cuaca lembab dan pemupukandosis tinggi tanpa diimbangi oleh pupuk penyakit ini sangat cepat berkembang karena kelembapan yang tinggi dapat mempercepat perkembangan penyakit ini karena HDB (Kadir, 2009).

Hal ini disebabkan karena Bakteri gram positif dan negatif menyebabkan hawar daun bakteri (HDB) pada padi yang merupakan penyakit utama dan menjadi pembatas bagi produksi tanaman pokok di banyak negara di duniasampai menjelang panen, menginfeksi tanaman padi pada bagian daun melalui luka daun atau lubang alami berupa stomata dan merusak klorofil daun. Kondisi ini menyebabkan kemampuan tanaman dalam fotosintesis menurun. Isolasi perlu dilakukan supaya dapat mengetahui bakteri pada tanaman daun padi, dari daun padi yang terserang hawar daun bakteri HDB serta identifikasi guna agar bisa diamati di bawah mikroskop untuk mengetahui jenis bakteri yang terserang tanaman daun padi hingga dapat mengurangi hasil panen dengan tingkat yang bervariasi, tergantung stadium pertumbuhan tanaman yang terinfeksi tingkat kerentanan kultivar padi dan kondisi lingkungan masyarakat desa naibonat dapat mencegah bakteri yang menyerang daun padi jenis bakteri yang menyerang daun padi basil dan coccus. Penyakit hawar daun bakteri ini menjadi penting untuk di ketahui pada penelitian ini oleh karna itu dilakukan penelitian dengan judul Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penyakit Hawar Daun Di Desa Naibonat Kecamatan Kupang Timur, Kabupaten Kupang Nusa Tenggara Timur.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai September 2021. Dilakukan di Laboratorium Universitas Widya Mandira Kupang (Unika) Provinsi Nusa Tenggara Timur. Penelitian ini dilakukan di dua tempat yaitu Tempat pengambilan sampel di Desa Naibonat daerah persawahan, Kecamatan Kupang Timur, Kabupaten Kupang dan Laboratoium sebagai tempat isolasi dan identifikasi Bakteri sebagai pengamatan. Desain penelitian ini menggunakan penelitian kualitatif yang sering digunakan untuk meneliti pada kondisi objek yang alami yakni objek yang berkembang tidak di manipulasi peneliti dan kehadiran peneliti tidak mempengaruhi dinamika pada objek tersebut



Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu gunting, kertas steril, tabung duran, neraca analitik, cawan petri, Autoclave, *Laminar Air flow* (LAF), Jarum ose, pipet tetes, Gelas ukur, labu takar, batang pengaduk, botol sampel, gelas timbangan, jarum ose, sentrifus, cover gelas, pensil, objek gelas, koloni bakteri, api Bunsen, pemantik. buku, pensil, kamera, tali rafia, meteran, patok. Bahan yang di pakai dalam penelitian ini anatara lain: Daun padi, Aguades, NaCl fisiologis, Bubuk

Media Nutrient agar, safranin, aceton alkohol, gentin violet, alkohol 70%, iodine, Aguades,

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Timbang Media Nutrient Agar (Na) sebanyak 2gram dan tambahkan 100 mL aquades. Setelah itu dididihkan, larutan NA dimasukkan ke dalam erlenmayer kemudian ditutup dengan kapas steril dan ditutup lagi dengan menggunakan aluminium foil. Kemudian disterilkan di dalam autoclave selama kurang lebih 15 menit dengan suhu 121 - 124°C pada tekanan 1,25 atm. Setelah itu NA dikeluarkan dan dibiarkan hingga dingin (10-20 °C).

Isolasi Bakteri

Daun padi yang terserang bakteri yang telah diambil dari persawahan dicuci menggunakan air mengalir lalu keringkan. Setelah kering di potong-potong dan direndam dalam larutan NaCl fisiologis fungsinya untuk mencuci daun padi sebelum di bawah ke Laboratorium NaCl dengan konsentrasi 0,9%. Daun padi terserang bakteri yang telah kering dihaluskan setelah sampel di timbang sebanyak 5 gram dalam tiap plot pada mortal hingga halus. Setelah halus pindahkan kedalam tabung duran setelah itu tambahkan 1 mL air steril (Aquades) homogenkan setelah itu diinkubasikan dalam incubator selama 1x 48 jam, selama 1x24 jam diamati dengan tujuan agar bakteri yang terdapat di dalam jaringan daun padi dapat terlepas. Selanjutnya suspensi diambil dan dipindahkan ke dalam tabung ependorf untuk di sentrifius tujuan dari sentrifius bertujuan untuk adalah memisahkan sel-sel besar dari sel-sel kecil, memisahkan sel-sel padat dari sel-sel yang ringan dan memisahkan endapan dari suatu suspensi (Toha, 2009) kemudian endapannya diambil untuk ditanam pada media NA.

Menumbuhkan Bakteri pada Media

Penanaman bakteri dilakukan pada Media Na yang telah disiapkan sebelumnya di cairkan dengan suhu mencapai $\pm 45^{\circ}\text{C}$ menggunakan kompor elektrik, Nyalakan dan Media Na di tuangkan kedalam cawan petri setelah media Na mengeras kemudian disimpan di dalam, Bunsen dinyalakan dan siapkan, panaskan jarum ose hingga berwarna merah kemudian celupkan ke dalam alkohol ulangi sampai tiga kali dan yang terakhir ketika jarum ose telah berwarna merah pengurangan suhu dilakukan dengan cara menyentuhkannya ke dalam media NA yang ada di cawan petri bagian pinggirnya. Diambil masing - masing satu jarum ose suspense kemudian oleskan ke media NA dengan metode garis kuadran dengan total 6 cawan. Setelah itu diberi label dan disimpan di dalam inkubator selama 24 jam karena koloni belum terlihat jelas maka ditambah menjadi 48 jam dengan suhu 37°C .

Identifikasi bakteri secara makroskopik dan mikroskopik dilakukan dengan cara pengamatan morfologi dari yang pada cawan petri berupa bentuk koloni, serta diidentifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini diawali dengan intensitas penyakit bakteri hawar daun bakteri pada 3 Desa yang berada di kecamatan kupang timur, Kabupaten Kupang. Besarnya intensitas bakteri mempengaruhi tanaman daun padi sehingga tanaman daun padi mengalami kerusakan berdasarkan keparahannya, bakteri yang ditemukan ada yang memiliki basil dan ada yang coccus, Bakteri memiliki pengaruh yang sangat besar bagi pertumbuhan tanaman daun padi. Bakteri hawar daun bakteri adalah salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit paling serius terhadap tanaman daun padi penyakit ini dapat dijumpai di daerah tropis maupun di daerah subtropis, kerugian akibat serangan penyakit hawar daun bakteri (HBD) dapat ditentukan oleh tahap tanaman daun padi yang terinfeksi penyakit ini. Semakin besar penyakit menyerang tanaman daun padi semakin tinggi masyarakat kehilangan penurunan hasil beras. Hasil penilaian intensitas penyakit hawar daun bakteri pada 3 Desa di Kabupaten Kupang disajikan pada Tabel 1. Besarnya intensitas bakteri dapat menghambat pertumbuhan tanaman daun padi faktor di antaranya yaitu lokasi pengambilan sampel, serta tingkat ketahanan suatu varietas tanaman daun padi dan usia tanaman. Hasil penelitian yang dilakukan pada saat identifikasi yang bakteri yaitu pengamatan di bawah mikroskop bakteri yang ditemukan ada yang basil dan ada yang coccus saat pengamatan dilakukan Sbb:

Tabel. 1 Penilaian intensitas pada isolasi bakteri= tabel

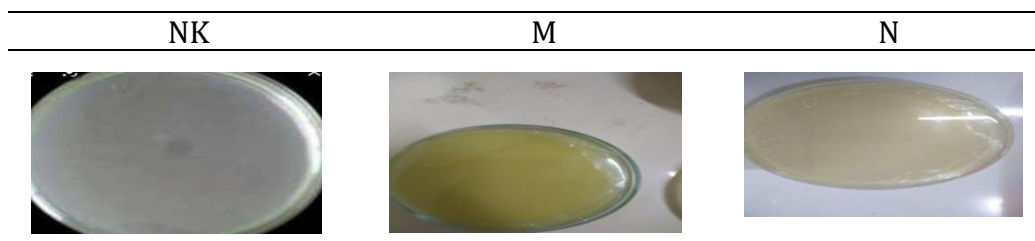
Lokasi	Luas plot	Umur panen padi HST	Kelompok
Desa Nunkurus	4m	120 hari	5
Desa Manusak	4m	120 hari	5
Desa Naibonat	4m	120hari	5

Keterangan: Kelompok pertama Desa Nunkurus 5. Kelompok kedua Desa Manusak 5 .Kelompok 3 Desa Naibonat 1 plot 5

Isolasi Penyakit Bakteri Hawar Daun Bakteri

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh bahwa bakteri yang diisolasi dari tanaman daun padi adalah bakteri basil dan coccus dapat tumbuh dan berkembang pada media uji. Media uji tersebut berupa *media mineral salt medium* MSM media yang digunakan untuk tumbuhkan bakteri dan media nutrient agar Na sebagai media tanam bakteri. Hasil penelitian isolat yang diperoleh dari hasil isolasi dilakukan permurnian dengan mengorekskan isolat pada media nutrient agar (NA)

yang diinkubasi pada suhu 37 °C dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri. Pengamatan bakteri dimulai dari Sampel yang diinkubasi selama 3 hari dalam inkubator setelah itu, Pengamatan dilakukan 1x24 jam untuk melihat pertumbuhan bakteri dalam koloni dapat di lihat dari 15 isolat dengan berbagai bentuk yang berbeda dan masing-masing isolat di beri tanda angka 1,2,3,4,5, dan seterusnya masing- masing Isolate memiliki morfologi serta koloni yang berbeda dengan satu sama lain.



Gambar 1. Hasil Isolat Bakteri Desa Nunkurus (NK). Desa Manusak (M). Desa Naibonat 1 (N)

Identifikasi Bakteri

Berdasarkan hasil penelitian untuk mengetahui suatu jenis bakteri *Xanthomonas oryzae* diperlukan adanya identifikasi guna upaya untuk mengetahui nama suatu makhluk hidup dalam suatu kelompok tertentu identifikasi bakteri dilakukan dengan membandingkan ciri-ciri yang ada pada satuan yang belum diketahui dengan yang sudah dikenal. Identifikasi bakteri yang baru diisolasi memerlukan perincian, deskripsi Proses identifikasi dengan pengamatan Bakteri ini bersifat aerob, gram negative gram positif di atas media MSM bakteri memiliki morfologi membentuk koloni bulat cembung yang berwarna kuning, keputihan sampai sampai kuning kecoklatan dan berwarna merah mempunyai permukaan yang licin. Berdasarkan hasil penelitian Wahyuni (2016) menyatakan dengan melakukan pengamatan morfologi bakteri akan mempermudah bagi setiap penelitian dalam mengidentifikasi bakteri sehingga tidak bisa di amati menggunakan mata telang karena penelitian ini hanya menggunakan mikroskop cahaya. Hasil penelitian pengamatan sampel dari Desa dapat di lihat pada Tabel berikut:

Tabel 2. Pengamatan Hawar Daun Bakteri Desa Nunkurus (DI)

Kode isolat	Plot	Morfologi	Species
1	P1	Basil (gram positif)	Bacillales
2	P2	Basil (gram negatif)	Spesies Staphylococcus
3	P3	Cocus(gram negatif)	Streptococcus Rosenbach
4	P4	Cocus(gram negatif)	Streptococcus Sobrinus

5	P5	Basil (gram positif)	Sarcina
---	----	----------------------	---------

Tabel 3. Hasil pengamatan sampel dari Desa Manusak

Kode isolat	Plot	Morfologi	Species
1	P1	Cocus (gram negatif)	Spesies: N. meningitidis
2	P2	Cocus (gram negatif)	Neiseriaceae
3	P3	Cocus (gram negatif)	Stenotrophomas
4	P4	Cocus (gram negatif)	Cyanobacteria
5	P5	Basil (positif)	C. botulinum

Tabel 4. Hasil pengamatan sampel dari Desa Naibonat 1

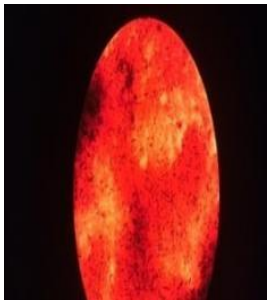

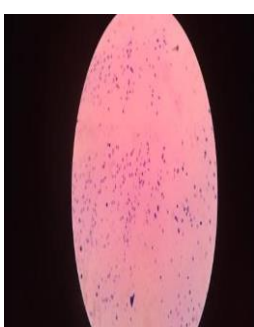

Kode isolat	Plot	Morfologi	Species
1	P1	Cocus (gram negatif)	Sigella
2	P2	Cocus (gram negatif)	Salmonela
3	P3	Cocus (gram negatif)	Legionela
4	P4	Cocus (gram negatif)	Helicobacter
5	P5	Basil (gram positif)	Xanthomonas pv

Hasil pengamatan morfologi bakteri dari 15 sampel tanaman daun padi semua bakteri, namun bakteri yang tumbuh padat sehingga tidak dapat di amati menggunakan mata telanjang dan harus di amati menggunakan mikroskop agar dapat di amati bakteri secara keseluruhan baik bakteri maupun mikroba.

Pengamatan Jenis Bakteri

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka bakteri dapat di lihat di bawah mikroskop menurut menyatakan bawah dengan melakukan pengamatan maka bakteri akan mempermudah untuk di identifikasi, misalnya koloni bakteri muncul di atas permukaan media nutrient agar (Na) dengan warna koloni kuning, ungu, merah, dan kuning pucat penelitian yang di lakukan di amati menggunakan mikroskop 8 bakteri yang kokus dn 7 bakteri yang basil dari isolate sampling kemudian setelah dilakukan identifikasi maka adanya ditemukan bakteri yang mampu hidup dalam oksigen dengan suhu yang berada ada dalam koloni Berdasarkan hasil isolasi bakteri morfologi bakteri yang diisolasi memiliki koloni yang dengan bentuk bulat tidak Beraturan dan ada pula yang datar. Hal tersebut menunjukkan karakteristik dari bakteri tersebut. Uji sifat morfologi koloni bakteri sangat penting untuk identifikasi bakteri karena Koloni bakteri pada medium (Prabaningtyas, 2003). Hasil identifikasi bakteri pada Tabel 3.

Tabel 5. Hasil Identifikasi Jenis Bakteri

gambar	Morfologi, spesies dan Karakteristik bakteri
	<p>Morfologi Basilus, Spesies lactobasilus</p> <p>Sifat bakteri bacillus subtilis merupakan salah satu jenis bakteri gram positif dan berbentuk basil (batang) yang dapat membentuk endospore berbentuk oval di bagian sentral. Koloni bakteri pada media agar berbentuk bulat sedang, tepi tidak teratur, permukaan tidak mengkilat dan berwarna kecoklatan</p>
	<p>Morfologi Xanthomonas oryzae Spesies Xanthomonas pv</p> <p>Bakteri Xoo mempunyai ciri- ciri sebagai berikut sel berbentuk batang pendek, tidak membentuk spora dan bisa bergerak (motil) dengan 1 flagel. Sel-sel individu ukurannya bervariasi dengan panjang sekitar 0,7 µm-2,0 µm dan lebar sekitar 0,4 µm-0,7 µm. Bakteri Xoo termasuk gram negatif</p>
	<p>Morfologi pseudomonas Spesies pseudomonasceae</p> <p>Bakteri Pseudomonas sendiri memiliki karakteristik seperti, gram negatif, berbentuk batang (rods) atau kokus (coccus), aerob obligat, motil mempunyai flagel polar. Bakteri ini, oksidase positif, katalase positif, nonfermenter dan tumbuh dengan baik pada suhu 40°C atau dibawah 43 °C.</p>
	<p>Morfologi Bakteri leaf blight Spesies Hawar daun bakteri</p> <p>Karakteristik tersebut diantaranya morfologi koloni. Bakteri endofit mempunyai perbedaan diantaranya bentuk bakteri dominan irregular dan circular, elevasi dominan raised dan umbonate, tepi koloni serrate, lobate dan selebihnya entire, warna koloni putih dan putih kekuningan.</p>



Morfologi endofit

Spesies *Fusarium oxysporum*

Tanaman padi mulai dari fase primordial hingga pematangan gabah. Pengamatan keparahan penyakit BLB dilakukan dengan mengukur gejala terpanjang pada daun minggu ke dua, tiga, dan empat setelah inokulasi. Karakter morfologi galur isogenic menunjukkan tipe permukaan daun sedang dengan habitus terbuka.

Berdasarkan hasil penelitian pengamatan bakteri yang telah dilakukan di dapatkan hasil 5 isolat bakteri yang menjadi penyakit utama menyerang sistem kekebalan daun padi dan menjadi faktor pertumbuhan tanaman daun padi menjadi rusak dan terkena bercak dan putih akibat bakteri dari hasil identifikasi bakteri ini termasuk bakteri gram positif dan gram negatif setelah melalui tahap uji gram maka didapatkan hasil koloni yang berwarna merah adalah koloni bakteri *basillus*, *xanthomas*, *pseudomonas*, Bakteri leaf blight dan endotif, bakteri yang tumbuh jumlah selnya akan meningkat dalam jumlah yang besar dalam waktu yang singkat dan akibat pertumbuhan tersebut akan terbentuk koloni untuk pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian pengamatan bakteri di laboratorium pada sampel daun padi yang diambil di 3 desa di kabupaten kupang timur terdapat beberapa faktor, mulai dari lokasi tanaman daun padi, sampai pada pertumbuhan daun. Bakteri yang telah di isolasi dari tanaman daun padi yang bergejala hawar daun bakteri yang diambil pada 3 Desa yang ada di Desa Naibonat Kecamatan Kupang Timur yang bergejala menunjukkan warna kuning terang hingga kuning pucat ketika di tumbuhkan pada media MSM (manstrial salt media) berbentuk basil dan coccus. Hal tersebut sesuai dengan penelitian dilakukan oleh Liu *dkk.* 2010. Uji pewarnaan gram sampai pada pengamatan di mikroskop dilakukan agar mengetahui kemampuan bakteri, seluruh identifikasi menunjukkan hasil yang negatif dan positif pada tabel diatas Bakteri tersebut tidak mampu menghidrolisis untuk itu di tunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening di sekitar pertumbuhan koloni bakteri setelah di tetesi larutan safaranin dan cat warna untuk menunjukkan hasil bakteri negatif dan positif.

Identifikasi Berdasarkan Karakteristik

Hasil identifikasi terhadap 5 isolat bakteri yang diamati secara morfologi dari bagian tanaman daun padi, isolasi dari bagian daun adi yang memiliki kesamaan karakteristik dengan bakteri yaitu warna, koloni bakteri bentuk bakteri pewarnaan gram positif dan negatif hasil Identifikasi ini didukung oleh pernyataan Todar (2011) bakteri memiliki aktifitas oksidasi yang beragam dan

bersifat motil menurut corbin (2014) koloni bakteri. memiliki karakteristik umum yaitu warna merah, ungu. Merah, keputihan serta bentuk koloni yang Bulat dan tidak beraturan. Hatmanti (2000) menyatakan bahwa bakteri memiliki tepi koloni bermacam-macam, rata dan tidak rata, permukaannya kasar dan tidak Berlendir, bahkan ada cenderung kering dan seperti berbubuk, koloni besar dan tidak mengkilat. Secara morfologi permukaan Koloni cembung adalah salah satu karakteristik dari bakteri. Tipe Permukaan bakteri memiliki perbedaan pada medium agar, Penentuan juga didasarkan pada ciri-ciri sifat fisiologi yaitu memiliki uji pewarnaan gram positif dan negatif yang di isolasi dari jaringan tanaman daun padi, diisolasi akan memproduksinya. (Carrimetal., 2006).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian pengamatan dapat disimpulkan sebagai berikut: 1) Keparahan penyakit pada tanaman daun padi menunjukkan kecendrungan lebih rendah yang berpengaruh dalam jumlah peningkatan. oleh sebab itu perlu di lakukan tingkat pencegahan agar bakteri tidak dapat menghambat pertumbuhan tanaman padi, 2) Intensitas isolasi dan identifikasi bakteri di lapangan pada sampel yang diambil di 3 Desa Kabupaten Kupang, Kecamatan Kupang Timur tergantung dari beberapa faktor mulai dari lokasi penanaman tanaman daun padi sampai pada pengambilan sampel daun padi.

DAFTAR PUSTAKA

- Suparyono, Sudir, and Suprihanto. 2004. Pathotype profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Isolates from the rice ecosystem in Java. Indonesian J. Agric. Sci. 5:63-69.
- Kadir, T. S., 2009. Menangkal HDB dengan Menggilir Varietas. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 31(5):1-3.
- Anggoro, Toha. 2009. Metode Penelitian. Jakarta: Universitas Terbuka.
- Prabaningtyas, S. 2003. Karakteristik Bakteri Koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Malang. Malang
- Liu D.O., P. C. Ronald, and A. J. Bogdarove, 2006. Pathogen Profile. *Xanthomonas oryzae* Pathovars: Model Pathogens of a Model Crop. Journal Molecular Plant Pathology. 7 (5): 303-324.