

AGRIVITA

JURNAL ILMU PERTANIAN

TERAKREDITASI B DENGAN SK No.: 65a / DIKTI / Kep / 2008

VOLUME 32

JUNI - 2010

NOMOR : 2

ISSN NO. 0126-0537

DAFTAR ISI

Pengaruh Pemberian Batuan Fosfat terhadap Ketersediaan P Tanah dan Hasil Jagung pada Tanah Inceptisol Cibatok, Bogor <i>Dedi Nursyamsi</i>	103
Kemangkusan Asap-Cair untuk Mengendalikan Layu Fusarium pada Gladiol <i>I. Djatnika dan Evi Silvia Yusuf</i>	113
Efisiensi Pemupukan Ca dan Mg Melalui sistem Fertigasi untuk Meningkatkan Kualitas Fisik Buah Jeruk Siam di Lahan Rawa Lebak <i>Eni Maftu'ah dan Achmadi Jemberi</i>	122
Population Growth of Predatory Beetle <i>Stethorus gilvifrons</i> (Coleoptera : Coccinellidae) at Different Elevations and Mites Host Plants <i>Handoko and Luki Rosmahani</i>	131
Identifikasi Bakteri Penyebab Penyakit Pascapanen pada Ubijalar (<i>Ipomoea batatas</i> L.) di Kabupaten Magetan dan Mojokerto <i>Siti Rasminah Ch. Sy, Abdul Latief Abadi, Nasir Saleh dan Isna Royyana</i>	137
Karakter Ketahanan Delapan Aksesori Tembakau Virginia sebagai Sumber Gen Tahan untuk Perakitan Varietas Tembakau yang Tahan Penyakit <i>Nurul Hidayah dan Titiek Yulianti</i>	146
Keragaman Patotipe <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> pada Tanaman Padi di Tiga Ketinggian Tempat Berdasarkan Pola RAPD <i>Heru Adi Djatmiko dan Budi Prakoso</i>	155
Pengaruh Pemberian Kompos <i>Gliricidia</i> dan <i>Tithonia</i> terhadap Konsentrasi Aluminium pada Ultisol dan Serapan Fosfor oleh Tanaman Jagung <i>Imam Wahyudi, Eko Handayanto, Syekhfani dan Wani Hadi Utomo</i>	163
Isolasi dan Karakterisasi Bakteri <i>Indigenus</i> Indonesia (<i>Bacillus thuringiensis</i>) yang Berpotensi sebagai Agensi Pengendalian Hayati terhadap Serangga Hama Kubis (<i>Crociodolomia binotalis</i>) <i>Christina L. Salaki, Langkah Sembiring, Jesmandt Situmorang dan Niken S.N. Handayani</i>	174
Pengaturan Kualitas Masukan Bahan Organik untuk Menghambat Proses Nitrifikasi dan Mengurangi Pencucian $N-NO_3^-$ <i>Syahrul Kumiawan¹, Didik Suprayogo, Kurniatun Hairiah dan Syekhfani</i>	182
Respons Tanaman Padi Varietas Unggul (Margasari dan Batanghan) terhadap Pemupukan di Lahan Pasang Surut <i>Nurita, Linda Indrayati dan Achmadi Jemberi</i>	194

AGRIVITA

Terakreditasi B SK DIKTI No. : 65a / DIKTI / Kep / 2008

Adalah Jurnal Ilmu Pertanian diterbitkan oleh Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya bekerjasama dengan Perhimpunan Agronomi Indonesia (PERAGI) Pusat

Ketua Redaksi

Kuswanto

Dewan Redaksi

Moch. Dawam Maghfoer

Anton Muhibuddin

Budi Prasetyo

Bendahara

Ali Masduki

Redaksi Pelaksana

Silvia Santi Wahyuni

Alamat Redaksi

Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya

Jl. Veteran Malang 65145 Jawa Timur Telp. (0341) – 575743 Fax. (0341) – 560011

E-mail redaksi : agrivita@brawijaya.ac.id, agrivitaforperta@yahoo.com

Jadual Penerbitan

AGRIVITA diterbitkan tiga kali dalam setahun (Februari, Juni dan Oktober) oleh Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya bekerjasama dengan Perhimpunan Agronomi Indonesia (PERAGI) Pusat dengan ISSN 0126-0537.

Penyerahan Naskah

Naskah merupakan hasil penelitian Ilmu Pertanian yang belum pernah dipublikasikan/diterbitkan paling lama 5 (lima) tahun terakhir. Naskah dapat dikirim melalui e-mail atau diserahkan langsung ke Redaksi dalam bentuk rekaman Compact Disk (CD) dan print-out 2 eksemplar, ditulis dalam MS Word atau dengan program pengolah data yang kompatibel. Gambar, ilustrasi dan foto dimasukkan dalam file naskah.

Penerbitan Naskah

Naskah yang layak terbit ditentukan oleh Dewan Redaksi setelah mendapat rekomendasi dari Mitra Bestari. Perbaikan naskah menjadi tanggung jawab penulis dan Naskah yang tidak layak diterbitkan akan dikembalikan kepada penulis jika disertai perangko secukupnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih dan penghargaan diberikan kepada para penelaah yang telah diundang oleh Jurnal Ilmu Pertanian AGRIVITA, yaitu:

- Dr. Ir. Ongko Cahyono, MSc
(Ilmu Tanah – Universitas Tunas Pembangunan Surakarta)
- Dr. Ir. Budi Prasetya, MS
(Ilmu Tanah – Universitas Brawijaya)
- Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS
(Hama dan Penyakit Tanaman – Universitas Brawijaya)
- Dr. Ir. Liferdi L., MS
(Hortikultura – Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika)
- Prof. Dr. Ir. Zaenal Kusuma, SU
(Ilmu Tanah – Universitas Brawijaya)
- Ir. Kumiawan Budiarto, MSc.
(Pemuliaan dan Genetika Tanaman-Balai Penelitian Tanaman Hias)
- Prof. Dr. Ir. Nasir Saleh
(Hama dan Penyakit Tanaman- Balai Penelitian Tan. Kacang-kacangan dan Umbi-umbian)
- Prof. Dr. Ir. Siti Rasminah
(Hama dan Penyakit Tanaman – Universitas Brawijaya)
- Dr. Ir. Amran Muis
(Hama dan Penyakit Tanaman – Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Tengah)
- Dr. Ir. Estri Laras Arumingtyas, MSc.St,
(Ilmu Tanaman – Universitas Brawijaya)
- Prof. Dr. Ir. S. Minardi
(Ilmu Tanah– Universitas Sebelas Maret)
- Prof. Dr. Ir. Syekhfani
(Ilmu Tanah – Universitas Brawijaya)
- Dr. Andy M. Adnan
(Hama dan Penyakit Tanaman – Balai Penelitian Tanaman Serealia)
- Prof. Dr. Ir. Sudaryono
(Ilmu Tanah – Balai Penelitian Tan. Kacang-kacangan dan Umbi-umbian)
- Dr.Ir. Sarlan Abdulrachman, MS
(Agronomi –Balai Besar Penelitian Tanaman Padi)
- Ir. Hanuddin
(Hama dan Penyakit Tanaman – Balai Penelitian Tanaman Hias)
- Prof. Dr. Ir. Kuswanto
(Pemuliaan Tanaman-Universitas Brawijaya)
- Dr. I. Djatnika
(Hama dan Penyakit Tanaman – Balai Penelitian Tanaman Hias)
- Dr. Ir. Sakka Samuddin, MP
(Pemuliaan Tanaman-Universitas Tadulako)
- Ir. Panca Jarot Santoso, M. Sc
(Pemuliaan dan Genetika Tanaman -Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika)
- Ir. Wiwit Budi Widyasari, MS
(Pemuliaan dan Genetika Tanaman-Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia)

KERAGAMAN PATOTIPE *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PADA TANAMAN PADI DI TIGA KETINGGIAN TEMPAT BERDASARKAN POLA RAPD

(PATHOTYPE DIVERSITY OF *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* OF RICE AT THREE DIFFERENT ALTITUDES BASED ON RAPD PATTERN)

Heru Adi Djatmiko¹⁾ dan Budi Prakoso

Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman
Jl. Dr. Suparno Karangwangkal Purwokerto 53123 ¹⁾e-mail: heru_adi@yahoo.com)

ABSTRACT

One of the important rice disease in Indonesia and Asia countries is bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. This disease is quite difficult to be controlled because there are many pathotypes of *X. oryzae* pv. *oryzae*, which is caused by environment, varieties, and high level of mutability gene. The objective of this research is to know the diversity of *X. oryzae* pv. *oryzae* pathotypes at three different altitudes based on RAPD pattern. Results indicated that *X. oryzae* pv. *oryzae* isolated from Pabuaran, Datar, and Gandatapa villages have different pathotype; the best primer for RAPD of *X. oryzae* pv. *oryzae* was OPA244 (5' CAGCCAACCG 3'); DNA band patterns of the three chosen isolates were differ each others. Isolate from Datar had DNA band ranging from less than 1000 to more than 500bp, isolate from Pabuaran has DNA band ranging from 1000 to less than 500 bp, and isolate from Gandatapa has DNA band ranging from 3000 to less than 500 bp.

Keywords: pathotype, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, rice, RAPD

ABSTRAK

Salah satu penyakit penting padi sawah di Indonesia dan negara-negara di Asia ialah hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Penyakit tersebut sulit dikendalikan karena *X. oryzae* pv. *oryzae* mempunyai tingkat keragaman patotipe tinggi yang disebabkan oleh lingkungan, varietas, dan tingkat mutabilitas gen yang tinggi. Tujuan penelitian ialah untuk mengetahui keragaman patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae* yang ada di tiga ketinggian tempat, berdasarkan pola pita RAPD. Isolat *X.*

oryzae pv. *oryzae* yang berasal dari 3 ketinggian tempat (Pabuaran, Datar dan Gandatapa) mempunyai patotipe beragam. Primer yang paling baik digunakan untuk mendeteksi keragaman *X. oryzae* pv. *oryzae* di tiga ketinggian tempat dengan RAPD ialah OPA 244. Pola pita DNA ketiga isolat *X. oryzae* pv. *oryzae* terpilih berbeda satu dari yang lain dengan ukuran untuk isolat dari Datar kurang dari 1000 bp hingga 500 bp, isolat dari Pabuaran dari 1000 hingga di bawah 500 bp, dan untuk isolat Gandatapa berukuran dari 3000 sampai di bawah 500 bp.

Kata kunci: patotipe, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, padi, RAPD

PENDAHULUAN

Penyakit Hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Kadir, 1999; IRRI, 2003) merupakan satu dari beberapa kendala peningkatan produksi padi (Yashitola *et al.*, 1997; Kadir, 1999; Tjubarjat *et al.*, 1999; Suparyono *et al.*, 2004). Penyakit tersebut ialah satu dari beberapa penyakit penting padi sawah di Indonesia dan beberapa negara di Asia. Kehilangan hasil oleh penyakit tersebut mengakibatkan kerugian yang besar secara ekonomi (Yasin *et al.*, 2005). Kehilangan hasil akibat penyakit tersebut di Indonesia mencapai 70-80% (Kadir, 1999), sedangkan di India mencapai 6-60% dan di Jepang mencapai 20-50% (IRRI, 2003).

Berbagai upaya pengendalian penyakit hawar daun bakteri telah banyak dilakukan. Upaya tersebut di antaranya dengan antibiotik *oxytetracycline*, *streptomycin* dan *chloramphenicol* (Khan *et al.*, 2005); peramalan (Liu *et al.*, 2006); sanitasi (IRRI, 2003); varietas tahan (Rao *et al.*, 2003), dan kombinasi antagonis *Pantoea*

agglomerans, *Pseudomonas fluorescens*, dan *Bacillus subtilis* AS (Babu dan Thind, 2005). Pengendalian tersebut belum memberikan hasil yang memuaskan karena *X.oryzae* pv.*oryzae* mempunyai tingkat keragaman patotipe yang tinggi yang disebabkan oleh lingkungan, varietas yang digunakan, dan tingkat mutabilitas gen yang tinggi (Keller *et al.*, 2000). Berdasarkan pemikiran tersebut, maka diperlukan penelitian keragaman patotipe *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* dari berbagai ketinggian tempat berdasarkan pola RAPD dan pengaruhnya terhadap galur dan varietas padi.

Tujuan penelitian ialah mengetahui keragaman patotipe *X. oryzae* pv. *oryzae* yang ada di tiga ketinggian tempat berdasar pola pita RAPD *X. oryzae* pv. *oryzae*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan selama 4 bulan yaitu Agustus sampai november 2008 di Laboratorium Klinik Tanaman, Genetika, dan Rumah kaca Fakultas Pertanian Unsoed.

Bahan yang digunakan untuk penelitian ialah isolat *X.oryzae* pv.*oryzae* dari tiga ketinggian tempat yaitu Pabuaran (150 m dpl), Datar (240 m dpl) dan Gandatapa (540 m dpl), 10 varietas padi (V1 : IR 64; V2 : Fatmawati; V3: Memberamo; V4: Sintanur; V5 : Pucuk; V6 : Mashuri; V7 : Cimalaya; V8: Batang Ombilin; V9: Cimelati, dan V10 : Mentikwangi), medium *Sukrose Peptone Agar* (SPA), medium pepton cair, *Wizard Genomic DNA Purification kit* dari Promega, Empat dekamer yang dipesan ke SBS Genetech Co., Ltd isopropanol, etanol 70%, Tris base, DNA ladder, RNase, agarose, aquabides, etidium bromida, *Cell Lysis Solution*, dan *Protein Presipitation Solution*.

Alat yang digunakan ialah cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, autoklaf, aluminium foil, kapas, lampu bunsen, mikrowave, mikropipet dan tipnya ukuran 10 µl, 200 µl dan 1000 µl, tabung mikro 1.5 ml berpenutup, tabung PCR 0,2 ml, inkubator, *water bath*, Laminar Air Flow Cabinet (LAF), sentrifus mikro, timbangan elektrik, tissu, hand sprayer, sarung tangan, styrofoam, mesin PCR, kamera digital, komputer dengan software, kotak sampel, korek api, alat tulis dan plastik.

Penelitian terdiri atas 2 tahap. Pada tahap pertama isolasi dan pencirian isolat *X. oryzae* pv. *oryzae* dari tanaman padi yang menunjukkan gejala penyakit hawar daun bakteri dari Pabu-

waran, Datar, dan Gandatapa dengan ketinggian tempat masing-masing 150 mdpl, 250 mdpl, dan 540 mdpl. Pada tahap kedua, diisolasi DNA, pengoptimuman kondisi RAPD, RAPD, dan analisis keragaman patotipe dan kekerabatan isolat terpilih berdasarkan pola pita DNA hasil RAPD.

Penelitian tahap pertama:

1. Isolasi dan pencirian *X. oryzae* pv. *oryzae* dari berbagai ketinggian tempat

Isolasi *X.oryzae* pv.*oryzae* dengan menumbuhkan pada medium *potato sucrose agar* (PSA) (Suparyono *et al.*, 2004) (sukrosa 20 g, kentang 200 g, agar 15 g, dan air steril 1000 ml): daun bergejala hawar daun bakteri disterilkan permukaannya dengan alkohol 70%, kemudian dibilas dengan air steril tiga kali, dikeringanginkan dan dipotong dengan ukuran sekitar 5 mm x 5 mm dengan gunting steril, direndam dalam air steril selama 5 menit dalam tabung reaksi. Suspensi tersebut digoreskan pada medium PSA, inkubasi 48-72 jam, diperoleh koloni tunggal berwarna kuning, kemudian disimpan dalam medium PSA miring yang diberi parafin steril untuk disimpan pada suhu 4°C dan dalam air steril yang akan selalu digunakan untuk perbanyakannya. Isolat *X. oryzae* pv. *oryzae* yang digunakan untuk penelitian dari ketinggian tempat 150 mdpl, 250 mdpl, dan 540 mdpl masing-masing berjumlah 10. Isolat tersebut kemudian dicirikan untuk memastikan bahwa patogen hawar daun bakteri adalah *X. oryzae* pv. *oryzae* yaitu dengan pengujian patogenisitas pada varietas Aik Sibudong dan ketahanannya terhadap 0.001% Cu(NO₃)₂ (Liu *et al.*, 2006).

2. Uji isolat *X. oryzae* pv.*oryzae* ke 10 varitas padi

Tiga isolat *X.oryzae* pv.*oryzae* yang sudah diisolasi, dimurnikan dan dicirikan, dan memiliki patogenisitas tertinggi dipilih dan kemudian diinokulasikan pada 10 varietas padi untuk menentukan keragaman patotipenya. Pelaksanaannya benih ditumbuhkan di kotak plastik berisi media tumbuh. Pada umur 14 hari dipindahkan ke dalam pot bergaris tengah 35 cm sebanyak 3 rumpun per varietas. Kerapatan inokulum *X. oryzae* pv.*oryzae* yang diinokulasikan pada tanaman padi kurang lebih 10⁹ upk/ml (Yashitola *et al.*, 1997). Inokulasi isolat *X. oryzae* pv.*oryzae* dilakukan dengan cara *clip-method* yaitu ujung daun padi dipotong kira-kira 2-3 cm dengan gunting yang sudah dibenamkan dalam suspensi

bakteri, kemudian disungkup dengan plastik selama 24 jam dan diinkubasikan pada suhu 30°C (EPPO, 2007). Pengamatan dilakukan 2 minggu setelah inokulasi untuk mengetahui reaksi setiap varietas uji terhadap 3 isolat. Perbedaan patotipe isolat ditentukan berdasarkan pada masa inkubasi, intensitas penyakit, dan luas bercak pada 10 varietas padi.

Penelitian tahap kedua:

Uji keragaman berdasarkan pola pita DNA hasil RAPD dilakukan di Laboratorium Genetika, Fakultas Pertanian, Unsoed. Penelitian mengikuti alur sebagai berikut:

1. Pemesanan Dekamer

Dekamer yang digunakan dalam RAPD dipesan dari SBS Co, Ltd. dengan urutan basa 5' ke 3' masing-masing dekamer pada Tabel 1.

Tabel 1. Kode dan urutan basa dekamer yang digunakan
(Table 1. Code and base sequence of dekamer used)

Kode (Code)	Urutan basa dari 5' ke 3' (Base sequence of 5' to 3')
OPA 7	GAA ACG GGT G
OPA 9	GGG TAA CGC C
OPK 10	GTG CAA CGT G
OPA 244	CAG CCA ACC G

2. Ekstraksi DNA (Prakoso, 1999)

Ekstraksi DNA *X. oryzae* pv. *oryzae* yang telah ditumbuhkan di media pepton cair 5% selama satu malam dilakukan menggunakan Wizard genomic DNA purification kit dari Promega. DNA hasil ekstraksi ditentukan konsentrasi dan kualitasnya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 260nm dan 280nm.

3. Optimasi konsentrasi DNA untuk RAPD (Prakoso, 1999)

Optimasi konsentrasi DNA yang terbaik untuk RAPD dilakukan dengan menggunakan templat DNA dari satu *X.oryzae* pv.*oryzae*. Suhu yang digunakan dalam RAPD ialah sebagai berikut: 1) denaturasi awal pada 94 °C selama 6 menit diikuti dengan 40 siklus dari 94 °C selama 1 menit, 36 °C selama 1 menit dan 72 °C selama 3 menit. Setelah hal tersebut di atas, suhu dipertahankan pada 72 °C selama 7 menit dan 4 °C sampai alat dimatikan.

4. Pemilihan dekamer terbaik untuk RAPD

Setelah didapat konsentrasi DNA yang terbaik untuk RAPD, selanjutnya dilakukan pemilihan satu primer dari 4 dekamer yang terdugunakan. Dekamer yang terpilih ialah dekamer yang menghasilkan pita DNA terbanyak untuk RAPD. Pengaturan suhu dan waktu untuk RAPD sama seperti pengaturan RAPD sebelumnya.

5. Analisis RAPD

Setelah didapat konsentrasi DNA dan primer terbaik, maka dilakukan RAPD dengan DNA templat dari 3 isolat terpilih.

6. Elektroforesis (Prakoso, 1999) dan dokumentasi

Hasil RAPD sebanyak 15µl dimasukkan ke dalam sumur 1.5% gel agaros dan dielektroforisis pada 50 Volt selama 15 menit, kemudian dilanjutkan dengan 100 Volt selama 45 menit. Setelah dielektroforesis, gel diletakkan di atas UV transilluminator, dan hasilnya di dokumentasikan dengan WiseDoc gel documentation unit yang terhubung ke komputer.

Variabel yang diamati pada penelitian tahap I yaitu: 1) pertumbuhan bakteri dalam medium PSA yang mengandung 0.001% Cu(NO₃)₂, 2) masa inkubasi yang dihitung dari saat inokulasi sampai munculnya gejala dalam satuan hari pada uji kepatogenan, 3) intensitas penyakit, dihitung dengan rumus menurut Suparyono *et al.* (2004) sebagai berikut.

$$IP = \frac{\text{Panjang gejala hawar daun bakteri (mm)}}{\text{Panjang daun secara keseluruhan (mm)}} \times 100\%$$

Reaksi ketahanan tanaman padi terhadap penyakit hawar daun bakteri menurut Suparyono *et al.* (2004) dan Yashitola *et al.* (1997), yaitu:

Skala keparahan/intensitas penyakit	Reaksi tanaman
<10%	Tahan
>11%	Rentan

Variabel yang diamati pada penelitian tahap II yaitu pola pita DNA hasil RAPD. Analisis Data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif baik pada penelitian tahap I maupun II.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi *X. oryzae* pv. *oryzae* dan Ketahanannya terhadap 0.001% $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$

Isolat *X.oryzae* pv.*oryzae* dipilih dari koloni-koloni berwarna kuning yang tumbuh pada medium PSA yang mengandung 0.001% $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$. Salah satu yang membedakan antara penyakit hawar daun bakteri (*bacterial leaf blight*) atau penyakit kresek yang disebabkan oleh *X. oryzae* pv.*oryzae* (Swings *et al.*, 1990; Ishiyama, 1992) dan *bacterial leaf streak* yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzicola* ialah ketahanannya terhadap 0.001% $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ (Liu *et al.*, 2006). Patogen hawar daun bakteri yang ditumbuhkan pada medium SPA mengandung 0.001% $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ menunjukkan pertumbuhan yang baik dengan koloni berwarna kuning dan berbentuk bulat. Menurut Liu *et al.* (2006), *X. oryzae* pv.*oryzae* mempunyai respons positif terhadap 0.001% $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, sedangkan *X. oryzae* pv. *oryzicola* mempunyai respons negatif terhadap 0.001% $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$. Selain tahan terhadap 0.001% $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, *X.oryzae* pv.*oryzae* juga mempunyai sifat negatif pada uji oksidase, produksi 2-ketoglukonat, reduksi nitrat, hidrolisis

gelatin, hidrolisis pati, produksi acetoin, dan oksidasi-fermentasi glukosa. Ada beberapa ciri yang membedakan *X. oryzae* pv. *oryzae* dan *X. oryzae* pv.*oryzicola* berdasarkan beberapa pengujian biokimia (EPPO, 2007) (Tabel 2). Hasil pengujian pada medium SPA + $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0.001% menunjukkan adanya pertumbuhan semua isolat, yang berarti isolat tersebut merupakan *X. oryzae* pv.*oryzae*. Selain hal tersebut di atas, *X. oryzae* pv.*oryzae* yang tahan terhadap $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 0.001% menunjukkan bahwa apabila diperlakukan dengan senyawa yang mengandung tembaga hanya mengurangi perkembangan penyakit hawar daun bakteri akan tetapi tidak mempunyai kemampuan mencegah infeksi. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Steven (2003), bahwa bahan yang mengandung tembaga hanya mempunyai kemampuan melindungi bakteri pada permukaan daun dan buah serta menyebabkan racun terhadap tanaman. Lebih lanjut dikatakan bahwa pada kondisi lingkungan menguntungkan untuk perkembangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri, perlakuan dengan bahan kimia yang mengandung tembaga sama sekali tidak efektif.

Tabel 2. Karakter patovar *Xanthomonas oryzae* berdasarkan uji bakteriologi
(Table 2. Characteristic of pathovar *Xanthomonas oryzae* based on bacteriological test)

Pengujian (Tests)	<i>X. oryzae</i> pv <i>oryzae</i>	<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzicola</i>
Pewarnaan Gram (Gram staining)	-	-
Uji Oksidase (Oxidase test)	-	-
Produksi 2-ketoglukonat (2-ketogluconate production)	-	-
Fluoresensi pada medium King's B (Fluorecence on King's B medium)	-	-
Reduksi nitrat (nitrate reduction)	-	-
Oksidasi/fermentasi glukosa (Oxidation-fermentation of Glucose)	O/-	O/-
Hidrolisis gelatin (Gelatine hydrolysis)	-N	+N
Hidrolisis pati (Starch hydrolysis)	-	+
Sensivitas terhadap $\text{Cu}(\text{N})_3_2$ 0.001% (Sensitivity to 0.001% cupric nitrate)	+	-
Pertumbuhan pada L-alanin sebagai sumber karbon (Growth on L-alanine as carbon source)	-	+N
Produksi acetoin (Acetoin production)	-	+
Pertumbuhan pada 0,2% vitamin-free casamino acids (Growth on 0,2% vitamin-free casamino acids)	-	+

Keterangan: + = positif (positive); - = negatif (negative); O = oksidatif (oxidative); V = berubah-ubah (variable)

Heru Adi Djatmiko dan Heru Prakoso: *Keragaman Patotipe Xanthomonas oryzae pv. oryzae*.....

Patotipe Isolat *X. oryzae* pv. *Oryzae*

Tiga isolat terpilih diuji patogenisitasnya pada 10 varietas untuk menguji keragamannya. Hasil pengamatan masa inkubasi, intensitas penyakit, dan luas bercak disajikan pada Tabel 3.

Kemampuan isolat *X.oryzae* pv.*oryzae* asal desa Pabuwaran (150 m dpl), Datar (150 m dpl), dan Gandatapa (540 m dpl) yang di-inokulasikan pada 10 varietas padi menunjukkan perbedaan dalam masa inkubasi, intensitas penyakit, reaksi tanaman, dan luas bercak (Tabel 3). Isolat *X.oryzae* pv.*oryzae* asal Gandatapa (Gd₅) mempunyai masa inkubasi tercepat

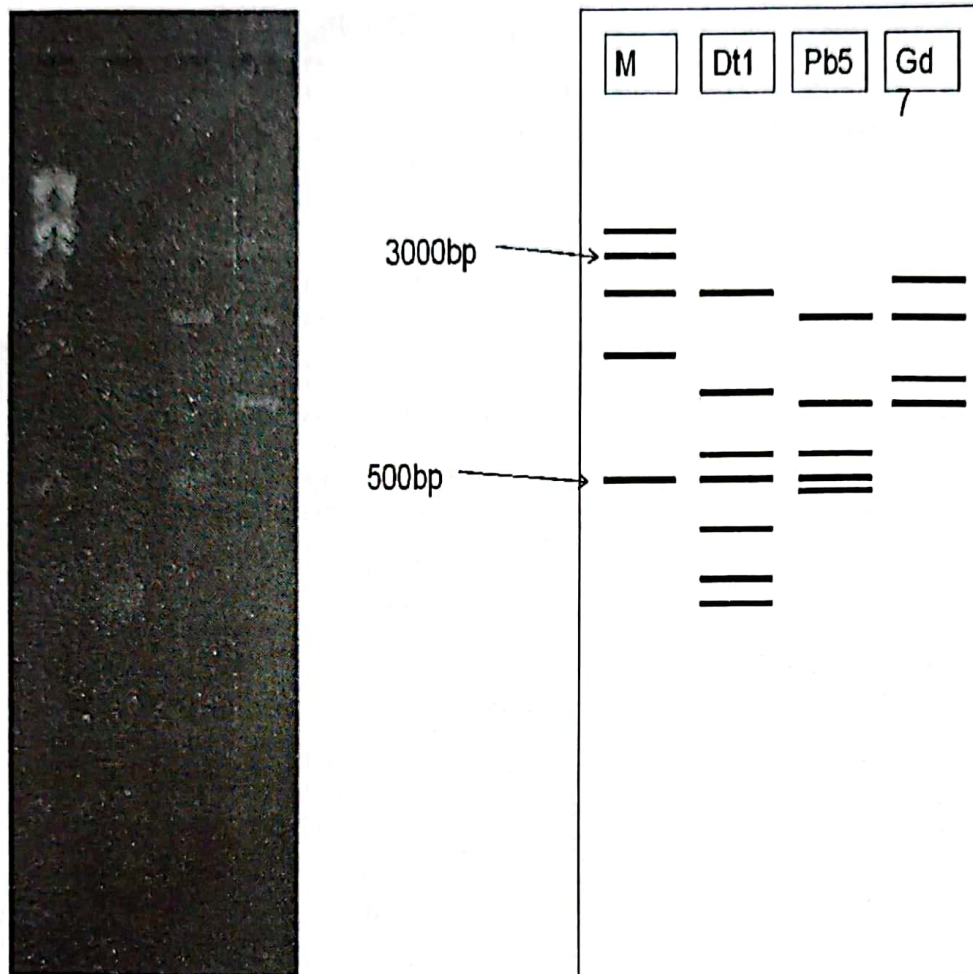
dibandingkan dengan isolat *X oryzae* pv.*oryzae* asal Pabuwaran dan Datar. Selain hal tersebut di atas, isolat Gd₅ juga mempunyai intensitas penyakit tertinggi dan luas bercak terbesar. Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat Gd₅ asal Gandatapa ialah isolat yang paling virulen dan menyebabkan kerusakan terbesar pada varietas sepuluh yang diuji.

Keragaman masa inkubasi, intensitas penyakit, dan luas bercak pada 10 varietas padi menunjukkan juga keragaman patotipe isolat *X. oryzae* pv.*oryzae* dari berbagai ketinggian tempat (Pabuwaran, Datar, dan Gandatapa).

Tabel 3. Masa inkubasi, intensitas penyakit, dan luas bercak pada sepuluh varietas padi
(Table 3. Incubation periode, disease intensity, and lesion wide at ten rice varieties)

Perlakuan (Treatments)	Masa inkubasi, hsi (Incubation periode, dai)	Intensitas penyakit (%) dan reaksi tanaman (disease intensity, % and plant reaction)		Luas bercak (mm ²) (lesion wide, mm ²)
		(17 hsi/37 hss) (17 dai/37 dap)	Reaksi tanaman (Plant reaction)	
V ₁ Pb ₇	3.89	15.31	Rentan	22.56
V ₁ Dt ₁	3.89	17.95	Rentan	29.92
V ₁ Gd ₅	3.89	14.35	Rentan	24.64
V ₂ Pb ₇	2.89	21.13	Rentan	19.01
V ₂ Dt ₁	4.33	9.62	Tahan	18.77
V ₂ Gd ₅	2.89	30.48	Rentan	35.39
V ₃ Pb ₇	3.89	16.45	Rentan	20.38
V ₃ Dt ₁	3.89	16.70	Rentan	20.96
V ₃ Gd ₅	2.89	30.04	Rentan	30.5
V ₄ Pb ₇	4.33	8.26	Tahan	15.29
V ₄ Dt ₁	3.89	13.17	Rentan	19.5
V ₄ Gd ₅	2.89	33.44	Rentan	47.08
V ₅ Pb ₇	2.89	20.36	Rentan	31.15
V ₅ Dt ₁	4.33	9.57	Tahan	12.98
V ₅ Gd ₅	2.89	25.89	Rentan	46.92
V ₆ Pb ₇	4.33	9.91	Tahan	13.73
V ₆ Dt ₁	3.89	15.13	Rentan	25.7
V ₆ Gd ₅	4.00	11.56	Rentan	16.3
V ₇ Pb ₇	3.89	19.22	Rentan	20.08
V ₇ Dt ₁	3.89	17.22	Rentan	17.45
V ₇ Gd ₅	2.89	24.02	Rentan	18.45
V ₈ Pb ₇	3.89	13.92	Rentan	14.14
V ₈ Dt ₁	5.00	3.56	Tahan	10.55
V ₈ Gd ₅	4.33	7.64	Tahan	19.51
V ₉ Pb ₇	3.89	17.31	Rentan	10.38
V ₉ Dt ₁	2.89	27.62	Rentan	34.88
V ₉ Gd ₅	4.33	9.07	Tahan	13.37
V ₁₀ Pb ₇	3.89	15.11	Rentan	14.42
V ₁₀ Dt ₁	2.89	23.66	Rentan	24.77
V ₁₀ Gd ₅	3.89	14.30	Rentan	11.08

Keterangan: hsi: hari setelah inokulasi(dai: day after inoculation); hss: hari setelah semai (dap: day after planting)



Keterangan: Marker: Tangga DNA 1kb; Dt1: Hasil RAPD isolat dari Datar; Pb5: Hasil RAPD isolat dari Pabuwaran; Gd7: Hasil RAPD isolat dari Gandatapa (Marker: 1kb DNA ladder; Dt1: Result of RAPD isolate from Datar; Pb5: Result of RAPD isolate from Pabuwaran; Gd7: Result of RAPD isolate from Gandatapa)

Gambar 1. Hasil RAPD isolat *X. oryzae* pv. *Oryzae*
(Figure 1. RAPD viewed of *X. oryzae* pv. *oryzae* isolate)

Keragaman Isolat *X. oryzae* pv *oryzae* berdasarkan RAPD

Berdasarkan optimasi, konsentrasi DNA templat yang baik untuk RAPD ialah 10 ng per 25µl reaksi PCR dan dekamermer yang menghasilkan pola pita DNA terbanyak ialah OPA244. Hasil RAPD ke tiga isolat dengan menggunakan 10ng DNA templat dan primer OPA244 menunjukkan bahwa ketiga isolat berbeda satu dari yang lain, karena pola pita DNA hasil RAPD ketiga isolat berbeda (Gambar 1). Jumlah pita DNA hasil RAPD isolat dari Datar, Pabuaran dan Gandatapa ialah 7, 10 dan

5 pita. Hasil RAPD mendukung hasil uji keragaman ketiga isolat berdasarkan respons 10 varietas tanaman padi yang diinokulasi dengan isolat tersebut.

Banyaknya pola pita menggambarkan jumlah fragment DNA dalam kromosom patogen yang dapat diperbanyak dengan PCR menggunakan primer yang digunakan (Prakoso, 1999, Gupta *et al.*, 2001). Saat proses RAPD, setelah kedua untai heliks DNA terpisahkan saat suhu 94°C, maka dekamer akan menempel pada bagian kromosom yang urutan basanya komplemen dengan urutan basa dekamer yang

Heru Adi Djatmiko dan Heru Prakoso: *Keragaman Patotipe Xanthomonas oryzae pv. oryzae*.....

digunakan saat suhu diturunkan menjadi 37°C. Dekamer akan diperpanjang oleh DNA Taq polimerase saat suhu dinaikan menjadi 72°C. Proses tersebut diulang 40 kali sehingga dihasilkan lebih dari 10 milyar fragmen DNA yang diapit oleh pasangan dekamer (Prakoso, 1999). Perbedaan jumlah dan pola pita DNA hasil RAPD dari isolat yang diuji menunjukkan bahwa materi genetika isolat yang diuji berbeda.

Hasil uji virulensi ketiga isolat *X.oryzae* pv. *oryzae* yang diinokulasikan pada 10 varietas padi dan hasil RAPD dengan menggunakan DNA dari ketiga isolat menunjukkan ketiga isolat yang diuji berbeda satu dari yang lain. Hal tersebut membuktikan bahwa isolat *X.oryzae* pv. *oryzae* asal 3 ketinggian tempat mempunyai keragaman patotipe. Menurut Gupta *et al.* (2001), uji virulensi terhadap varietas padi dapat digunakan sebagai dasar dalam pengelompokan ras *X.oryzae* pv. *oryzae*. Selanjutnya dikemukakan, bahwa RAPD-PCR secara luas digunakan untuk mendeteksi keragaman genetika bermacam-macam prokariot yaitu mengelompokkan *Xanthomonas* spp., seperti *X.albilineas*, *X.fragariae*, *X.malpphilia*, dan *X.campestris* pv. *pelargonii* (Gupta *et al.*, 2001). Selain hal tersebut diatas, Keragaman genetika tersebut juga menunjukkan adanya hubungan genetika.

Karakterisasi isolat pada tingkat molekuler dapat digunakan untuk pengelompokan ras, identifikasi isolat, memantau isolat di lapang, dan menganalisis struktur populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* , serta mencari varietas tahan (Gupta *et al.*, 2001). Jika isolat *X.oryzae* pv. *oryzae* yang berasal dari 3 ketinggian tempat mempunyai komponen penyakit dan pola pita dari hasil analisis RAPD-PCR beragam, maka patotipenya juga menunjukkan keragaman.

Keragaman patotipe pada berbagai ketinggian tempat tersebut sebagai akibat dari kondisi tempat padi ditanam dan keragaman genotipe inang (Restrepo dan Verdier, 1997). Selain hal tersebut di atas, tingginya keragaman patotipe juga dapat disebabkan oleh penanaman secara terus menerus tanaman padi dan masuknya strain dengan bahan percobaan (Lozano, 1986). Keragaman genetik *X.oryzae* pv. *oryzae* pada tiga ketinggian tempat menyebabkan keragaman virulensi karena *X. oryzae* pv. *oryzae* mempunyai tingkat mutabilitas gen yang tinggi (Keller *et al.*, 2000). Menurut Restrepo dan Verdier (1997) mutabilitas gen

menyebabkan meningkatnya virulensi pada beberapa *Xanthomonas* spp.

KESIMPULAN

Isolat *X.oryzae* pv. *oryzae* yang berasal dari 3 ketinggian tempat (Pabuwaran, Datar, dan Gandatapa) mempunyai patotipe beragam. Primer yang paling baik digunakan untuk mendeteksi keragaman *X. oryzae* pv. *oryzae* di tiga ketinggian tempat dengan RAPD ialah OPA 244. Pola pita ketiga isolat *X. oryzae* pv. *oryzae* terpilih berbeda satu dari yang lain dengan ukuran untuk isolat dari datar dari 500 - ≤ 1000 bp, isolat dari Pabuwaran 1000 – di bawah 500 bp, dan untuk isolat Gandatapa berukuran 3000 – di bawah 500 bp.

Disarankan perlu penelitian lanjutan tentang keragaman patotipe *X.oryzae* pv. *oryzae* di berbagai daerah sentra tanaman padi dan menentukan patotipe *X.oryzae* pv. *oryzae* dengan menggunakan varietas standar.

DAFTAR PUSTAKA

- Babu, A.G. and B.S. Thind. 2005. Potential Use of Combinations of *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Bacillus subtilis* AS Biocontrol Agents for the Control of Bacterial Blight of Rice. http://www.agridept.gov.lk/other_sub_page_s.php?id=8. Diakses tanggal 28 oktober 2008.
- EPPO. 2007. *Xanthomonas oryzae*. Buletin OEPP/EPPO 37: 543-553.
- Gupta, V.S., M.D. Rajebhosale, M. Sodhi, S. Singh, S.S. Gnanamanickam, H.S. Dhaliwal, and P.K. Ranjekar. 2001. Assessment of Genetic Variability and Strain Identification of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Using RAPD-PCR and IS1112-based PCR. Current Science. 80 : 1043-1049.
- IRRI. 2003. Bacterial Leaf Blight.(On line) http://www.knowledgebank.irri.org/riceDoctor/MX/Fact_Sheets/Diseases/Bacterial_Leaf_Blight.htm. Diakses tanggal 2 Januari 2007.
- Ishiyama, S. 1992. Studies of Bacterial Leaf Blight of Rice. Report Lamp. Agric. Stn. Konosu. 45: 233-261.

- Kadir, T.S. 1999. Variasi Patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Prosiding Kongres Nasional XV dan Seminar Ilmiah PFI, Purwokerto, 16-18 September.
- Keller, B., C. Feuillet, and M. Messmer. 2000. Basic Concepts and Application in Resistance Breeding. Pp: 101-160. In: A.J. Slusarenko, R.S.S. Fraser, L.C. van Loon (eds.), Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. Kluwer Academic Publisher. London.
- Khan, T.U.Z., S.I. Yasin, M. Ayub, J.A. Shah, and M. Ahmad. 2005. Effect of Different Chemicals and Antibiotics on Bacterial Leaf Blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) of Rice. Mycopath. 3: 57-59.
- Liu, D.N., P.C. Ronald, and A.J. Bogdanove. 2006. *Xanthomonas oryzae* Pathovars: Model Pathogens of a Model Crop. Molecular Plant Pathology. 7: 303-324.
- Lozano, J.C. 1986. Cassava Bacterial Blight: a Manageabel Disease. Plant Disease. 70: 1089-1093.
- Prakoso, B. 1999. Identification of DNA Markers of Strain O of *Debaryomyces hansenii* by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Thesis Master. School of Environment, Resources, and Development, Asian Institute of Technology, Bangkok, Thailand.
- Rao, K.K., K.K. Jena, and M.L. Narasu. 2003. Molecular Tagging of a New Bacteriaal Blight Resistance Gene in Rice Using RAPD and SSR Markers. (On line) <http://dSPACE.irri.org-8080/dSPACE/bitstream/123456789/1308/1/Kameswara%20RAO,%20K,%20Molecular%20tagging.pdf>
- Restrepo, S. and V. Verdier, 1997. Geographical Differentiation of the Population of *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* in Colombia. Applied and Environmental Microbiology. 63: 4427-4434.
- Steven, B. 2003. Process for Producing Stable Cupric Hydroxide and Basic Cupric Salts. (On line) <http://www.patentstorm.us/patents/6596246/description.html>. Diakses tanggal 2 Juli 2009.
- Suparyono, Sudir and Suprihanto. 2004. Pathotype Profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Isolates from the Rice Ecosystem in Java. Indonesian Journal of Agriculture Science. 5: 63-69.
- Swings, J., M. Van Den Mooter, L. Vauterin, B. Hoste, M. Gillis, T.W. Mew, and K. Kersters. 1990. Reclassification of the Causal Agents of Bacterial Blight *Xanthomonas campestris* Pathovar *oryzae* and Bacterial Leaf Streak *Xanthomonas campestris* Pathovar *oryzicola* of Rice as Pathovar of *Xanthomonas oryzae* New Species Ex Ishiyama 1922 revived name. Int. J. Syst. Bacteriol. 40: 309-311.
- Tjubarjat, T., T.S. Kadir, dan E. Sumadi. 1999. Skrining Varietas terhadap Hawar Daun Bakteri. Prosiding Kongres Nasional XV dan Seminar Ilmiah PFI, Purwokerto, 16-18 September.
- Yashitola, J., D. Krishnaveni, A.P.K. Reddy and R.V. Sonti. 1997. Genetic Diversity within the Population of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in India. Phytopathology. 87: 760-765.
- Yasin, S.I., T.U.Z. Khan, M. Ayub, J.A. Shah, and M. Anwar. 2005. Economic Evaluation of Bacterial Leaf Blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) Disease of Rice. Mycopath. 3: 65-67.

