

Virulensi beberapa isolat *Pantoea ananatis* penyebab penyakit hawar daun bakteri (*bacterial leaf blight*) pada varietas bawang merah

The virulence of several isolates of Pantoea ananatis causes bacterial leaf blight in shallot varieties

Asrul^{1)*}

¹Fakultas Pertanian Universitas Tadulako, Kota Palu, Indonesia

*E-mail korespondensi: asrul1203@gmail.com

Informasi artikel:

Dikirim: 20/04/2020
ditinjau: 20/04/2020
disetujui: 09/06/2020



Copyright (c) 2020
Asrul

ABSTRACT: *Bacterial leaf blight caused by Pantoea ananatis in onions is a new disease in Indonesia. Information regarding the level of virulence of these pathogens in onion plants is unknown. This study aims to determine the level of virulence of P. ananatis isolates in onion plants originating from Cirebon, Tegal, Nganjuk, Bantul, and Sigi districts. The study was conducted by an experimental method using 150 pathogen isolates and 4 onion cultivars in a greenhouse from 5 regions. Experimental data were analyzed descriptively with the help of image and table views. The results showed that all pathogenic isolates had the same level of virulence (uniform) and were very virulent against 4 cultivars of obese bima, blue rice fields, bauji, and palasa. All of these isolates gave the same response to the fast incubation period (2.35 - 2.90 days), the percentage of leaves that were heavily attacked (67.44 - 81.76%), and a high infection rate (> 0.5 units per day).*

Keywords: *Bacterial leaf blight, isolate, Pantoea ananatis, virulent*

ABSTRAK: Penyakit hawar daun bakteri (*bacterial leaf blight*) yang disebabkan oleh *Pantoea ananatis* pada bawang-bawangan merupakan penyakit baru di Indonesia. Informasi mengenai tingkat virulensi patogen tersebut terhadap tanaman bawang belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan tingkat virulensi isolat *P. ananatis* pada tanaman bawang yang berasal dari Kabupaten Cirebon, Tegal, Nganjuk, Bantul, dan Sigi. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan 150 isolat patogen dan 4 kultivar bawang di rumah kaca dari 5 daerah. Data eksperimen dianalisis secara deskriptif dengan bantuan tampilan gambar dan tabel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat patogen mempunyai tingkat virulensi yang sama (seragam) dan bersifat sangat virulen terhadap 4 kultivar bawang bima curut, biru sawah, bauji, dan palasa. Semua isolat tersebut memberikan respon yang sama terhadap masa inkubasi yang cepat (2,35 – 2,90 hari), persentase daun terserang yang berat (67,44 – 81,76%), dan laju infeksi yang tinggi (> 0,5 unit per hari).

Kata kunci: hawar daun bakteri, isolat, *Pantoea ananatis*, virulensi

Sitasi: Asrul, A. (2020). Virulensi beberapa isolat *Pantoea ananatis* penyebab hawar daun bakteri pada tanaman bawang. *AGROMIX*, 11(2), 136-150. <https://doi.org/10.35891/agx.v11i2.1946>

PENDAHULUAN

Penyakit hawar daun bakteri (*bacterial leaf blight*) yang disebabkan oleh *Pantoea ananatis* pada bawang bombay (Shin dkk., 2019) tergolong penyakit baru di Indonesia. Kehadiran bakteri tersebut sangat berbahaya karena dapat menginfeksi bawang merah atau

wakegi (Asrul & Umrah, 2019) dan menimbulkan kerusakan tanaman antara 78,04 – 83,64% di lapangan (Asrul dkk., 2014). Infeksi pada daun kemudian berkembang ke bawah leher umbi dapat menyebabkan penyakit yang dikenal sebagai busuk tengah umbi (*bulb center rot*) di tempat penyimpanan

(Vahling-Armstrong dkk., 2016; Stumpf dkk., 2017).

Dutta dkk. (2017) melaporkan bahwa *P. ananatis* merupakan patogen terbawa benih (umbi) dan dapat disebarkan melalui benih. Patogen yang terbawa bersama benih impor dapat mengakibatkan terjadinya penyebaran melalui perpindahan benih terinfeksi ke daerah-daerah baru. Benih (umbi) bawang bombay yang diimpor dari luar negeri memungkinkan terjadinya penyebaran strain *P. ananatis* baru yang bervirulensi tinggi. Kehadiran strain baru yang bervirulen tinggi dapat mematahkan sifat ketahanan kultivar bawang dengan mudah sehingga dikuatirkan akan mempengaruhi keberlangsungan usaha budidaya bawang merah di Indonesia.

Bila umbi impor di tanam di lahan pertanaman bawang merah maka patogen yang terbawa bersama umbi akan terinfestasi ke dalam lahan pertanian. Hal ini menyebabkan terjadinya kontaminasi tanah sehingga menjadi sumber inokulum bagi penanaman bawang merah berikutnya terutama bawang merah lokal. Ormsby & Pottinger (2009) melaporkan bahwa tanah atau seresah tanaman (kompos) yang terinfeksi bakteri *P. ananatis* dapat bertindak sebagai sumber inokulum utama karena bakteri tersebut dapat terbawa secara internal atau eksternal pada seresah tanaman. Oleh karena itu, lahan bekas pertanaman bawang merah sakit karena terinfeksi *P. ananatis* dapat menjadi area yang sangat

rawan terhadap budidaya bawang merah sehat selama periode tertentu.

Penggunaan kultivar tahan seperti *Redwing* di negara asal impor bawang bombay (AS) untuk mengurangi serangan patogen pada areal yang luas dan seragam akan memberi tekanan seleksi terhadap *P. ananatis* (Vahling-Armstrong dkk., 2016). Hal ini akan mempercepat terjadinya perubahan genetika patogen untuk membentuk strain-strain baru yang lebih virulen karena strain patogen kurang virulen yang menyerang kultivar tahan dan seragam akan binasa sedangkan patogen yang tertinggal hanya strain yang bervirulensi tinggi. Strain ini akan terus berkembangbiak membentuk populasi yang terdiri atas strain-strain yang kuat (Agrios, 2005). Sifat virulensi patogen ditentukan oleh gen resesif sedangkan sifat avirulen ditentukan oleh gen dominan (Gabriel, 1999). Gen virulen mengendalikan senyawa-senyawa kimia dan proses fisiologi yang memberi kontribusi pada patogen dalam memperbanyak diri dan mengembangkan sifat-sifatnya untuk memproduksi sejumlah senyawa kimia (Agrios, 2005). Sedangkan gen avirulen bertanggung jawab terhadap ketidakmampuan patogen menginfeksi tanaman (Staskawicz dkk., 1995). Kehadiran strain bakteri patogenik yang bervirulensi tinggi pada budidaya bawang di Indonesia melalui impor bawang bombay belum tentu dapat ditanggulangi sehingga menambah permasalahan baru bagi petani.

Informasi mengenai tingkat virulensi *P. ananatis* terhadap bawang merah belum diketahui secara jelas. Hal ini menjadi penting karena bakteri patogenik yang bervirulensi tinggi memberikan indikasi kemampuan merusak tanaman yang sangat parah sehingga berdampak pada kerusakan serius di lapangan dan di tempat penyimpanan. Di luar negeri, kerusakan bawang bombay akibat serangan patogen ini mencapai 100% (Weller-Stuart dkk., 2017). Pengetahuan tentang tingkat virulensi suatu patogen dapat dijadikan sebagai dasar dalam perencanaan dan penyusunan strategi baru untuk pengendalian penyakit tanaman.

Oleh karena penyakit hawar daun bakteri merupakan penyakit baru dan belum pernah di laporkan tingkat virulensinya di Indonesia maka telah dilakukan pengujian virulensi beberapa isolat *P. ananatis* dari berbagai daerah. Tujuan penelitian ini untuk menentukan tingkat virulensi sejumlah isolat *P. ananatis* pada tanaman bawang yang berasal dari Cirebon, Tegal, Nganjuk, Bantul, dan Sigi di dalam rumah kaca.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan dan Rumah Kaca Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan teknik survei dan eksperimen (percobaan). Data yang diperoleh selanjutnya

dianalisis secara deskriptif dengan bantuan tampilan gambar dan tabel.

Pengambilan sampel

Pengambilan sampel daun dilakukan secara *purposive sampling* di berbagai lokasi sentra produksi bawang di Desa Kalirahayu (Cirebon), Sidapurna (Tegal), Sukomoro (Nganjuk), Tirtomulyo (Bantul), dan Sidera (Sigi). Sebanyak 150 sampel daun sakit yang diduga terinfeksi patogen hawar daun bakteri dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label, selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk diuji lebih lanjut.

Isolasi patogen

Isolasi bakteri patogenik dilakukan dengan memotong jaringan daun bawang bergejala (sakit) dan sehat (ukuran 0,5 x 0,5 cm) menggunakan skalpel steril. Potongan daun disterilkan melalui perendaman dalam larutan alkohol 70% selama 10 menit, kemudian dibilas dalam air steril, dan dikeringanginkan diatas kertas filter kering. Selanjutnya, potongan daun dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi larutan PBS (*Phospat Buffer Saline*) steril dan digojok agar *ooze* dari jaringan sakit keluar. Suspensi yang terbentuk kemudian digoreskan (Goszczyńska dkk., 2007) pada permukaan medium selektif YPGA (*Yeast Peptone Glucose Agar*) (Janse, 2005) padat menggunakan ose. Koloni yang tumbuh secara tunggal dengan karakteristik yang menyerupai bakteri *P. ananatis* yakni berbentuk bundar, cembung, tepi rata, berlendir (*mucoïd*), berwarna kuning

atau krem (Alippi & Lopez, 2010; Zaid dkk., 2012), dipindahkan ke medium YPGA segar berulang kali menggunakan metode gores (Goszczyńska dkk., 2006) dan diinkubasi selama 3 - 5 hari hingga diperoleh isolat murni dari biakan tersebut.

Uji reaksi hipersensitif

Sebanyak 150 isolat bakteri patogen berhasil diisolasi dari jaringan daun sakit, selanjutnya dilakukan uji reaksi hipersensitif (RH) pada daun tembakau (Kawamoto & Lorbeer, 1972 dalam Asrul dkk., 2013) dan uji patogenisitas pada daun bawang. Bila menimbulkan reaksi positif berupa gejala bercak kebasah-basahan (*water soaking*), dan nekrosis maka isolat disimpan dalam air steril, atau larutan gliserol 15% pada suhu -20°C untuk pengujian selanjutnya.

Uji patogenisitas

Biakan murni isolat asal daun bawang yang menunjukkan hasil positif pada uji reaksi hipersensitif, selanjutnya digunakan dalam uji patogenisitas untuk membedakan bakteri patogenik atau saprofit. Uji patogenisitas pada daun bawang merah dilakukan dengan menggunakan metode pelukaan daun menurut Carr dkk. (2013).

Uji virulensi

Uji virulensi dilakukan dengan menggunakan metode pelukaan buatan menurut Nunez dkk. (2002). Bawang sehat yang digunakan dalam uji ini terdiri atas 4 kultivar

dari 5 daerah, yaitu Bima Curut (Ciribon dan Tegal), Bauji (Nganjuk), Biru-sawah (Bantul), dan Palasa (Sigi). Umbi setiap kultivar yang telah disimpan selama 2 – 3 bulan setelah panen ditanam dalam pot plastik bersama pupuk organik. Setiap isolat patogen diinokulasikan pada tiga bawang sehat untuk masing-masing kultivar berdasarkan lokasi yang sama dengan asal isolat patogen sehingga diperlukan 150 tanaman bawang dengan rincian 51 kultivar Bima curut (Ciribon), 30 kultivar Bima curut (Tegal), 18 kultivar Bauji (Nganjuk), 30 Biru-sawah (Bantul), dan 21 kultivar Palasa (Sigi). Setelah disemprot, tanaman dipelihara dan ditempatkan dalam rumah kaca. Sebagai kontrol, daun bawang diinokulasi dengan 10 ml air suling steril. Inokulasi patogen dilakukan pada sore hari dengan umur tanaman dibuat seragam, yaitu 28 hari setelah tanam. Perkembangan gejala penyakit diamati setiap hari setelah inokulasi selama 21 hari.

Pengamatan

Pada uji virulensi, variabel pengamatan dilakukan terhadap masa inkubasi, persentase daun terserang patogen dan laju infeksi penyakit. Masa inkubasi diamati dan ditetapkan berdasarkan pemunculan gejala pertama setelah inokulasi. Pengamatan dilakukan setiap hari dalam satuan hari setelah inokulasi (hsi) dengan melihat gejala serangan berupa daun layu kebasahan-basahan (*water soaking*), mengkerut (mengeriput), terbentuk lekukan

daun, dan klorosis atau nekrosis berwarna putih hingga coklat, abu-abu, atau hitam.

Persentase daun terserang patogen pada daun dihitung dengan menggunakan rumus:

$$PS = \frac{x}{y} \times 100\%$$

Keterangan :

PS = Persentase daun terserang

x = Jumlah daun terinfeksi (rusak)

y = Jumlah daun yang diamati dalam satu pot

Persentase daun terserang patogen untuk penyakit hawar daun bakteri menggunakan kategori sebagai berikut:

Tabel 1. Kategori penilaian persentase daun terserang

Persentase daun terserang	Kategori kerusakan	Kategori virulen
0	Normal	Avirulen
≥ 1 – 10%	Ringan	Kurang virulen
≥ 10 – 20%	Sedang	Moderat virulen
≥ 20 – 40%	Berat	Virulen
≥ 40 – 100%	Sangat berat	Sangat virulen

Sumber : Raju dkk. (2011)

Laju infeksi atau percepatan pertumbuhan populasi patogen per unit per satuan waktu dihitung dengan rumus (Vander der Plank, 1963):

$$r = \frac{2,3}{t_2 - t_1} \left(\log \frac{1}{1 - x_2} - \log \frac{1}{1 - x_1} \right)$$

r adalah laju infeksi; t1 dan t2 adalah waktu pengamatan awal dan akhir, x1 dan x2 adalah proporsi daun terinfeksi pada saat t1

Tabel 3. Isolat patogen *P. ananatis*, kultivar bawang, uji HR, dan uji patogenisitas

Isolat	Kultivar bawang	Jumlah isolat	Uji HR (+)	Uji patogenisitas (+)
CR	Bima curut	30	17	17
TG	Bima curut	30	10	10
NG	Bauji	30	6	6
BT	Biru-sawah	30	10	10
PL	Palasa	30	7	7

Keterangan : CR (Cirebon), TG (Tegal), NG (Nganjuk), BT (Bantul), dan PL (Sigi)

(awal pengamatan) dan t2 (akhir pengamatan). Pengamatan gejala penyakit dilakukan pada semua tanaman hingga 21 hari setelah inokulasi.

Tabel 2. Kategori laju infeksi penyakit

Laju infeksi (unit / hari)	Kategori
> 0,50	Tinggi /cepat
> 0,11 - < 0,50	Sedang
< 0,11	Rendah / lambat

Sumber : Vander-der-Plank (1963)

Analisis data

Data hasil pengamatan yang diperoleh dari rumah kaca, diolah dengan menggunakan teknik tabulasi sederhana yang disajikan dalam bentuk nilai rata-rata (persentase) berikut dengan pengukuran standar deviasi (SD).

HASIL DAN PEMBAHASAN

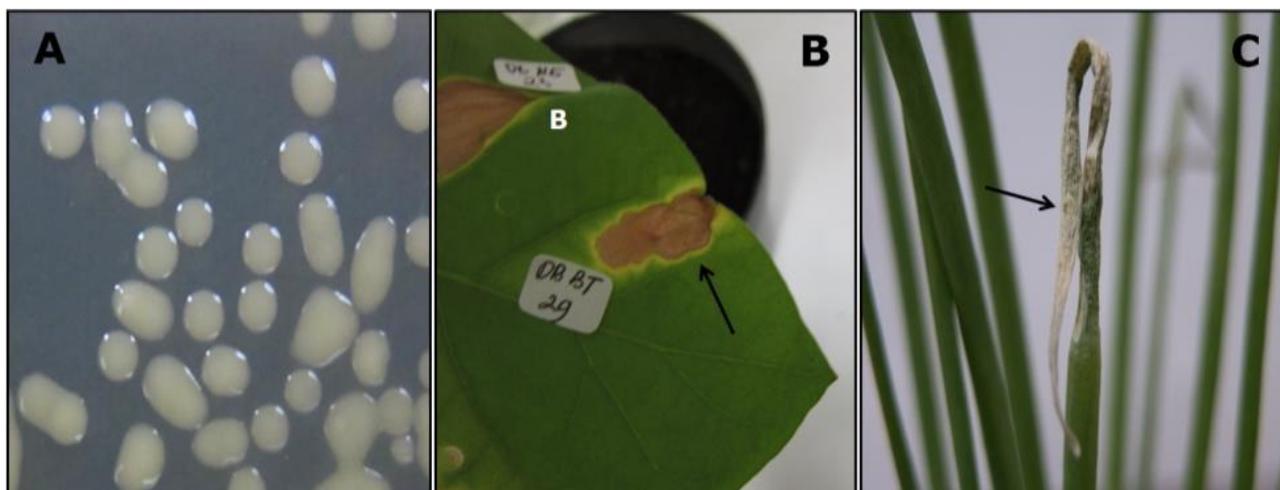
Uji reaksi hipersensitif dan patogenisitas

dari 150 isolat patogen yang berasosiasi dengan tanaman sakit, hanya 50 isolat bakteri *P. ananatis* yang bereaksi positif terhadap uji reaksi hipersensitif dan patogenisitas disajikan pada Tabel 3. Isolat-isolat tersebut dan kultivar bawang kemudian dikelompokkan berdasarkan daerah asal pengambilan sampel, yakni 17 isolat asal Cirebon (CR), 10 isolat Tegal (TG), 6 isolat Nganjuk (NG), 10 isolat Bantul (BT) dan 7 isolat Sigi (PL).

Hasil uji reaksi hipersensitif dan patogenesis menunjukkan bahwa dari 150 isolat patogen yang berasosiasi dengan tanaman sakit, hanya 50 isolat yang berhasil memperlihatkan reaksi positif terhadap daun tembakau dan daun bawang. Pada daun tembakau, reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya gejala *water soaking* (kebasah-basahan), klorosis (berwarna kuning), atau nekrosis pada permukaan jaringan daun (gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri patogenik pada tanaman bawang. Menurut Kim dkk. (2012), bakteri *P. ananatis* diketahui menyebabkan reaksi hipersensitif pada daun tembakau.

Pada daun bawang, terlihat gejala awal penyakit berupa bercak kebasah-basahan (*water soaking*), layu, lunak, berkerut,

membentuk lekukan, atau patahan ke atas atau kebawah pada titik infeksi, atau kadang menggulung. Daun berwarna putih berubah menjadi kering berwarna coklat muda, abu-abu atau hitam karena kematian sel (nekrosis) dalam jaringan daun. Terkadang sebelum nekrosis didahului dengan gejala klorosis. Selanjutnya daun mengalami mati pucuk. Bila terinfeksi berat, seluruh daun mengalami kelayuan, mengering berwarna putih, atau coklat (gambar 1). Ini berarti bakteri yang diisolasi dari sentra produksi bawang di lapang merupakan bakteri patogenik pada inangnya, bukan sebagai bakteri saprofit. Menurut Soesanto dkk. (2011), uji patogenesis dilakukan untuk menentukan mikroorganisme hasil isolasi merupakan patogen tanaman atau bukan.



Gambar 1. Morfologi koloni bakteri *P. ananatis* pada medium YPGA (A); uji reaksi hipersensitif pada daun tembakau: bercak nekrosis berwarna coklat dikelilingi bercak klorosis berwarna kuning (B); uji patogenesis : daun tampak keriput dan pada ujungnya terdapat nekrosis berwarna putih (tanda panah) dan mati pucuk (C)

Hasil isolasi patogen dari daun bawang sakit menunjukkan koloni bakteri berbentuk bundar, tepi rata, berlendir (*mucoïd*),

mengkilap, tekstur halus (*smooth*), cembung atau berbentuk kubah, dan berwarna kuning muda atau krem pada permukaan medium YPGA (gambar 1). Karakteristik morfologis

koloni ini memiliki kesamaan dengan koloni bakteri *P. ananatis* yang dilaporkan oleh Zaid dkk. (2012), (Alippi & López, 2010), (kim dkk., 2007), dan Janse (2005).

Masa inkubasi (hsi)

Hasil pengamatan terhadap masa inkubasi atau kemunculan gejala hawar daun pertama pada empat kultivar bawang yang diinokulasi isolat patogen CR, TG, NG, BT, dan PL disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Masa inkubasi, persentase daun terserang, dan laju infeksi penyakit hawar daun bakteri

Isolat patogen	Masa inkubasi (hari)	Persentase dan Terserang (%)	Laju infeksi (unit per hari) 28-49 hsi
CR	2,70 ± 0,307	86,83 ± 9,038	0,5154 ± 0,383
TG	2,63 ± 0,688	79,44 ± 14,416	0,6399 ± 0,364
NG	2,77 ± 0,379	77,73 ± 15,721	0,5593 ± 0,375
BT	2,90 ± 0,664	81,71 ± 11,276	0,5892 ± 0,358
PL	2,35 ± 0,336	91,76 ± 8,761	0,6090 ± 0,437

Keterangan : CR (Cirebon), TG (Tegal), NG (Nganjuk), BT (Bantul), dan PL (Sigi)

Pada tabel 4 terlihat semua isolat patogen yang diperoleh dari berbagai sentra produksi bawang mampu menimbulkan gejala hawar daun bakteri pada semua kultivar bawang setelah diinokulasikan dengan suspensi isolat patogen *P. ananatis*. Rata-rata masa inkubasi yang diperlukan oleh setiap patogen untuk mengekspresikan gejala penyakit hawar daun pada bawang berkisar antara 2,35 – 2,90 hsi. Pada data ini, perbedaan masa inkubasi terendah dan tertinggi hanya 0,55 hsi, tidak mencukupi satu hari yang berarti tidak ada variasi masa inkubasi. Masa inkubasi ini tergolong cepat seperti dilaporkan Asrul & Umrah (2019) bahwa bakteri *P. ananatis* di Indonesia hanya membutuhkan waktu 2 hsi untuk menimbulkan gejala hawar daun bakteri pada bawang merah.

Masa inkubasi memiliki keterkaitan erat dengan kerusakan tanaman dan virulensi patogen. Masa inkubasi yang cepat dapat

menimbulkan kerusakan berat dan kematian tanaman lebih singkat, yang ditandai dengan kemunculan gejala lebih awal (Diab dkk., 1982). Pada masa inkubasi yang cepat seringkali mempunyai keparahan gejala penyakit yang tinggi dan patogennya bersifat lebih virulen. Cepat atau lamanya masa inkubasi suatu penyakit tanaman dipengaruhi oleh faktor virulensi patogen, ketahanan inang, serta keadaan lingkungan terutama suhu dan kelembapan (Agrios, 2005). Oleh karena penelitian dilaksanakan di rumah kaca maka faktor lingkungan dan umur tanaman dianggap relatif sama sehingga perbedaan yang ada hanya terdapat pada ketahanan tanaman dan isolat-isolat patogen yang uji.

Masa inkubasi yang cepat pada semua kultivar bawang menunjukkan bahwa tanaman tersebut tidak tahan (rentan) terhadap infeksi penyakit hawar daun bakteri. Kultivar rentan akan memberi peluang bagi patogen untuk

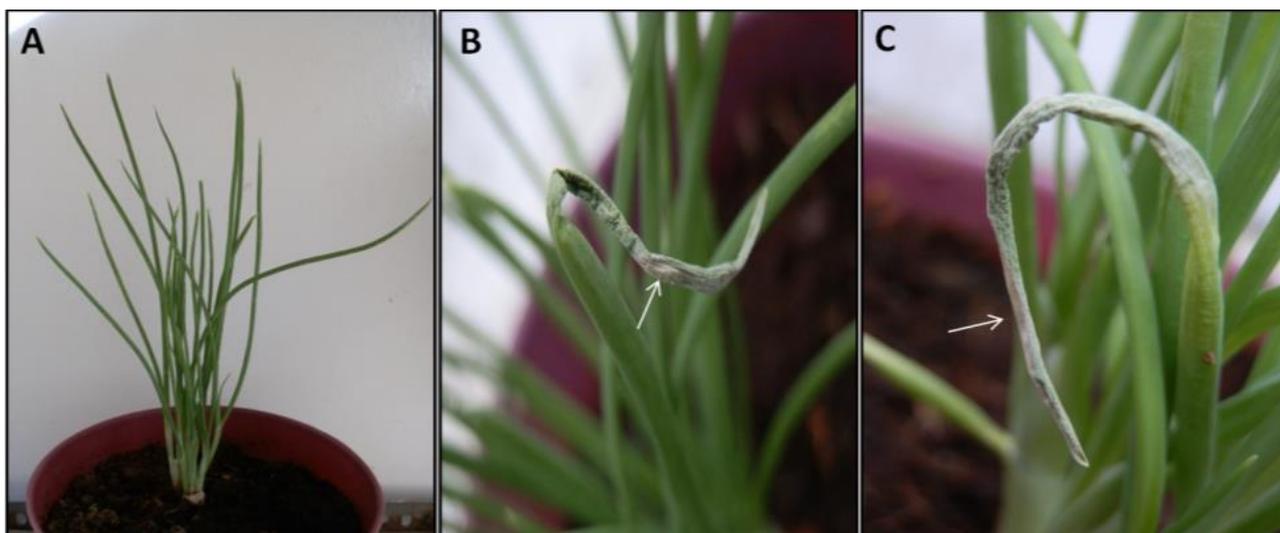
lebih menetap, bertahan dan berkembang dibanding tanaman tahan. Tanaman rentan tidak akan mampu membatasi atau menghambat reproduksi dan perkembangan patogen yang menyerang (Guest & Brown, 1997) karena tidak mempunyai gen ketahanan yang efektif untuk mengatasi virulensi gen patogen tersebut sehingga tanaman hanya menjadi substrat bagi perkembangan patogen (Agrios, 2005). Peran bawang merah yang menjadi substrat bagi patogen menunjukkan bahwa kultivar bawang Bima curut, Bauji, Biru sawah, dan Palasa merupakan inang yang cocok bagi pertumbuhan dan perkembangan patogen *P. ananatis*.

Secara umum, masa inkubasi antar isolat patogen kurang bervariasi atau seragam (homogen) berdasarkan nilai standar deviasi. Kurangnya variasi masa inkubasi masing-masing isolat menunjukkan bahwa kemampuan setiap isolat patogen dalam melakukan proses infeksi hingga menimbulkan gejala adalah sama. Semua isolat diduga memiliki sifat genetik yang sama dalam mempengaruhi faktor-faktor penyebab virulensi seperti reproduksi sel (keaktifan berkembangbiak) dan produksi toksin. Menurut Schumann dan D'Arcy (2010), strain bakteri patogen yang bersifat virulen mampu berkembangbiak atau menghasilkan inokulum (sel bakteri) baru lebih cepat dan menghasilkan jumlah turunan (individu) yang lebih banyak sehingga lebih agresif menginfeksi inangnya, begitu pula sebaliknya. Patogen yang

virulen juga mampu menghasilkan senyawa kimia toksin, enzim dan polisakarida, sedangkan strain avirulen tidak (Boch & Bonas, 2001; Ezechuk, 2013). Dengan demikian, semua isolat patogen mempunyai masa inkubasi yang cepat sehingga menyebabkan tingkat kerusakan tanaman lebih parah.

Persentase daun terserang

Hasil pengamatan terhadap persentase daun terserang menunjukkan bahwa seluruh isolat patogen *P. ananatis* yang diinokulasikan pada daun, dapat menginfeksi semua kultivar bawang lebih dari 40% daun terserang. Hal ini menandakan bahwa semua isolat patogen yang berasal dari lokasi yang berbeda tergolong sangat virulen (kerusakan sangat berat). Hasil pengamatan persentase daun terserang *P. ananatis* disajikan pada tabel 4. Pada gambar 2 terlihat daun bawang yang diinokulasi dengan isolat patogen menampilkan gejala *water soaking*, kelayuan, mengkerut, memipih, melengkung, mati pucuk, kematian sel daun (nekrosis) hingga seluruh daun layu dan mati. Hal ini menunjukkan ada perubahan pada daun yang terinfeksi *P. ananatis* berupa kerusakan berat yang menyebabkan daun tidak dapat berfungsi. Kerusakan tanaman yang sangat berat menunjukkan tingkat virulensi patogen sangat tinggi. Patogen virulen mempunyai sifat lebih agresif dan ganas dalam menginfeksi inangnya sehingga menyebabkan serangan patogen lebih parah. Menurut Surico (2013), patogen virulen adalah patogen yang menyebabkan kerusakan terukur pada inang.



Gambar 2. Uji virulensi pada daun bawang: kontrol (A), gejala berkerut, daun melekuk, memipih, dan nekrosis berwarna putih dan mati pucuk (B dan C)

Sifat virulensi dari patogen *P. ananatis* disebabkan oleh faktor virulensi berupa sistem *quorum sensing* untuk produksi eksopolisakarida (EPS) dan pembentukan biofilm; dan pergerakan flagel bakteri (Shin dkk., 2019). Setelah daun bawang diinokulasi pada uji virulensi, populasi bakteri *P. ananatis* akan memasuki tahap inkubasi hingga mencapai jumlah tertentu sebelum melakukan respon. Kepadatan jumlah sel sampai pada batas populasi tertentu terjadi melalui proses komunikasi antar sel bakteri dengan membentuk sinyal molekul kimia (*quorum sensing*). Fenomena komunikasi ini dilakukan untuk ‘memanggil’ anggota populasi bakteri ditempat jauh agar dapat membentuk kepadatan populasi hingga mencapai jumlah minimal sel untuk mengekspresikan gejala *water soaking* (kebasah-basahan).

EPS yang dihasilkan bakteri *P. ananatis* memiliki peranan penting dalam menginduksi gejala bercak *water soaking* dengan

menciptakan kondisi lingkungan mikro yang esensial untuk mempercepat perbanyakan bakteri hingga mencapai jumlah tertentu pada ruang antar sel (interseluler) daun. Keberadaan EPS yang bersifat higroskopis dalam ruang interseluler akan menarik air dari sitoplasma menyebabkan gejala kebasahan (*water soaking*) sehingga menciptakan kondisi yang sesuai untuk mempercepat perbanyakan bakteri. Hal ini menyebabkan daun tanaman tampak layu (Habazar & Rivai, 2004). Komunitas bakteri ini akan membentuk asosiasi koloni yang disebut biofilm. Virulensi sebagian besar mikroorganisme patogen ditentukan oleh kemampuannya membentuk biofilm. Bakteri pembentuk biofilm seperti bakteri *P. ananatis* akan mensekresikan EPS (Shin dkk., 2019) untuk memperkuat pelekatan bakteri pada permukaan substrat sehingga dapat bertahan dari gaya fisik yang dapat menyapu bersih sel-sel yang tidak menempel. Hal ini dapat meningkatkan daya tahan hidup

(*survival*) dan daya serang patogen terhadap inangnya

Selain itu, penyakit yang disebabkan oleh *P. ananatis* pada bawang juga ditentukan oleh kemampuan bakteri untuk bergerak dan menyebar dengan cepat di dalam sel inang. Hasil penelitian Asrul & Umrah (2019) menunjukkan bahwa bakteri *P. ananatis* yang diisolasi dari bawang merah dan wakegi memiliki flagel yang berfungsi untuk menggerakkan bakteri secara aktif (motil). Flagel tersebut tersebar pada seluruh permukaan sel dengan bentuk peritrikus. Pergerakan flagel ini berperan dalam proses infeksi *P. ananatis* pada bawang (Weller-Stuart dkk., 2017) karena dapat memacu bakteri untuk lebih agresif sehingga menimbulkan gejala nekrosis pada daun bawang (Stice dkk., 2018). Pergerakan flagela membantu bakteri *P. ananatis* dalam menemukan titik pelekatan yang sesuai dan menempel pada seluruh permukaan daun bawang. Sebelum terjadi pelekatan sel pada permukaan daun, pergerakan flagel berperan dalam membantu bakteri untuk mencapai area pelekatan, penyebaran bakteri dalam sel tanaman, dan berkontribusi terhadap kemampuan *P. ananatis* untuk menyebabkan penyakit pada bawang (Weller-Stuart dkk., 2017). Bakteri memiliki molekul adhesi/pelekatan pada permukaan sel inang atau dinding sel yang hidrofobik sehingga dapat menempel pada membran sel inang. Pelekatan ini meningkatkan virulensi dengan

cara mencegah bakteri terbawa oleh aliran air. Pergerakan dengan menggunakan flagel ini memungkinkan juga bakteri dapat merespon dan beradaptasi dengan perubahan kondisi lingkungan (Weller-Stuart dkk., 2017).

Gejala nekrosis yang tampak pada daun bawang, diawali dengan munculnya gejala *water soaking* akibat keluarnya larutan asam amino, sukrosa dan ion-ion organik dari dalam sel (intraseluler) ke ruang antar sel (interaseluler) sehingga menciptakan kondisi yang sesuai untuk percepatan perkembangan bakteri di ruang interaseluler. Selanjutnya jaringan mengering berupa kematian sel-sel pada bagian jaringan atau organ tanaman (nekrosis), dan membentuk warna putih kemudian coklat, abu-abu atau hitam dengan batas yang jelas. Gejala nekrosis yang berkembang pada daun ini tidak terlepas dari peranan sistem *quorum sensing* dan pergerakan flagel bakteri *P. ananatis* (Morohoshi dkk., 2007).

Terkadang gejala klorosis (bercak hijau kekuningan) yang muncul pada daun kemungkinan disebabkan oleh pengaruh toksin yang disekresikan patogen. Menurut Stice dkk. (2019) bakteri *P. ananatis* diduga menghasikan toksin fosfonat untuk membunuh sel tanaman inang dan menyebabkan pembusukan pada umbi bawang. Schumann dan D'Arcy (2010) melaporkan bahwa toksin yang disekresikan oleh patogen dalam konsentrasi yang cukup tinggi dapat menimbulkan gejala klorosis

sehingga merusak tanaman. Toksin menyebabkan terjadinya degenerasi kloroplas, atau rusaknya klorofil dan akhirnya menimbulkan gejala klorosis pada daun (Billing, 1982).

Secara umum, gen virulen dapat memproduksi dan menskresikan senyawa kimia yang lebih banyak daripada gen avirulen. Senyawa kimia berupa toksin, enzim, zat pengatur tumbuh (hormon), dan polisakarida yang dibentuk oleh patogen sebagai senjata penyerangan terhadap inang digunakan untuk merusak sel inang atau mendegradasi dinding sel tanaman, dan merombak zat makanan yang terdapat di dalam sel (Surico, 2013). Produksi sejumlah faktor virulensi yang disekresikan patogen akan menginduksi berbagai jenis gejala seperti klorosis, nekrosis, busuk lunak, hawar api, layu dan lain-lain hingga menimbulkan keparahan penyakit tanaman (Buonauro, 2008). Mekanisme virulensi yang terjadi pada patogen *P. ananatis* adalah terdapat suatu gen *hfq* yang berperan penting dalam mengendalikan sistem *quorum sensing* dan pergerakan flagel. Gen *hfq* inilah yang mengatur berbagai sifat virulensi bakteri *P. ananatis* (Shin dkk., 2019). *P. ananatis* yang sangat virulen menyebabkan proses pertumbuhan bawang yang terinfeksi menjadi terhambat dan menimbulkan kerusakan tanaman. Ormsby dan Pottinger (2009) melaporkan, penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan *P. ananatis* dapat mempengaruhi

pertumbuhan tanaman berupa kematian daun, layu dan mati pucuk.

Laju infeksi penyakit

Hasil pengamatan terhadap laju infeksi penyakit hawar daun bakteri pada semua isolat patogen yang berasal dari lokasi yang berbeda disajikan pada tabel 4. Pada tabel tersebut terlihat bahwa rata-rata laju infeksi pada berbagai isolat patogen dalam waktu 21 hsi berkisar antara 0,52 - 0,64 per unit per hari. Laju infeksi penyakit ini dihitung berdasarkan perkembangan persentase daun terserang.

Laju infeksi merupakan nilai yang menunjukkan seberapa cepat populasi patogen dapat berkembang atau perkembangan populasi patogen per unit per satuan waktu (Oka, 1993; Brugman dkk., 2017;). Berdasarkan data laju infeksi isolat patogen pada semua kultivar bawang (tabel 4), dapat diartikan bahwa dalam setiap 100 daun bawang, terdapat sekitar 52 - 64 daun terinfeksi / sakit (terserang patogen) setiap harinya. Menurut Van der Plank (1963), laju infeksi ini tergolong tinggi dan seragam untuk semua isolat karena nilai laju infeksi berada diantara 0,11 - 0,50 per unit per hari ($> 0,11 < 0,50$). Ini menandakan bahwa perkembangan populasi bakteri *P. ananatis* sangat cepat sehingga dapat diduga patogen tersebut sangat agresif dan ganas dalam menginfeksi daun bawang. Keagresifan patogen didukung oleh keadaan lingkungan rumah kaca dengan suhu dan kelembapan udara masing-masing 30,94 – 36,18°C dan

42,27 – 80,54%. Kondisi lingkungan ini cocok bagi pertumbuhan dan perkembangan *P. ananatis* yaitu berada pada suhu udara antara 28 – 35°C (Schwartz dkk., 2003) dan kelembapan udara lebih dari 75% (Schroeder dkk., 2011).

Semua kultivar bawang yang digunakan tergolong rentan terhadap serangan patogen *P. ananatis* berdasarkan persentase daun terserang (> 40%). Kultivar rentan dan kondisi lingkungan yang mendukung bagi perkembangan patogen menyebabkan laju infeksi tinggi dan menimbulkan kerusakan daun yang parah. Menurut Van der Plank (1963), laju infeksi dipengaruhi oleh keagresifan patogen, lingkungan, dan ketahanan/kerentanan inang. Kerentanan seluruh kultivar bawang ini diduga karena terjadi penurunan aktivitas enzim fenilalanin, asam salisilat, fitoalekin, dan peroksidase yang dibentuk bawang pada umur tua. Aktivitas enzim ini disekresikan tanaman sebagai respon ketahanan terhadap infeksi patogen untuk menghambat perkembangan bakteri. Hasil penelitian Resti dkk. (2016). menunjukkan bahwa aktivitas enzim peroksidase menurun (kontrol) pada daun bawang merah umur 44 hari (14 + 30 hari). Enzim peroksidase merupakan suatu kelompok PR-protein dari golongan PR-9 yang terakumulasi pada saat tanaman sakit atau sejenisnya. Peroksidase berperan dalam ketahanan tanaman terhadap serangan patogen. McDonald dkk. (2004) melaporkan

bahwa bakteri *P. ananatis* seringkali menyerang bawang yang telah berumur panen.

KESIMPULAN

Isolat bakteri *P. ananatis* asal Ciribon (CR), Tegal (TG), Nganjuk (NG), Bantul (BT), dan Palasa (PL) memiliki tingkat virulensi yang sama (seragam) dan bersifat sangat virulen terhadap bawang kultivar Bima curut, Biru sawah, Bauji, dan Palasa. Semua isolat tersebut memberikan respon yang sama terhadap masa inkubasi yang cepat (2,35 – 2,90 hari), persentase daun terserang yang berat (67,44 – 81,76%), dan laju infeksi yang tinggi (> 0,5 unit per hari).

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, N. G. (2005). *Plant Pathology* (5 ed.). University of Florida.
- Alippi, A. M., & López, A. C. (2010). First report of leaf spot disease of maize caused by *Pantoea ananatis* in Argentina. *Plant Disease*, 94(4), 487. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-4-0487A>
- Asrul, B. Hadisutrisno, T. Arwiyanto, & J. Widada (2014). Peranan faktor lingkungan terhadap penyakit hawar daun bakteri (*Pantoea ananatis*) pada tanaman bawang merah. hlm 1–12. Seminar Nasional Perhimpunan Fitopatologi Indonesia (PFI) Komda Yogyakarta, Solo dan Semarang, 20 September. Yogyakarta.
- Asrul, B. Hadisutrisno, T. Arwiyanto, & J. Widada (2013). The spread of bacterial leaf blight disease at production centers of shallot in indonesia. *Biota*, 18(1), 27–36
- Asrul & Umrah (2019). Host range *Pantoea ananatis* the causal agent of bacterial leaf blight on *Allium* spp. *Agroland: The Agricultural Sciences Journal*, 6(1), 27–33.

- Billing, E. (1982). Entry and establishment of pathogenic bacteria in plant tissues. *Symposium Series - Society for Applied Bacteriology*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301987106>
- Boch, J., & Bonas, U. (2001). Gram-Negative Plant Pathogenic Bacteria. Milhldorfer I, Schafer KP (eds): Emerging bacterial pathogens. *Contrib Microbiol. Basel, Karger*, 8, 186–196.
- Brugman, E., Purajanti, E. D., & Fuskhah, E. (2017). *Pengendalian penyakit hawar (late blight) pada kentang (Solanum tuberosum L.) melalui penerapan solarisasi tanah dan aplikasi agen hayati Trichoderma harzianum* [Disertasi]. Fakultas Peternakan dan Pertanian Undip.
- Buonaurio, R. (2008). Infection and plant defense responses during plant-bacterial interaction. *Plant-microbe interactions*, 169–197.
- Carr, Eric A., Zaid, A. M., Bonasera, J. M., Lorbeer, J. W., & Beer, S. V. (2013). Infection of onion leaves by *Pantoea ananatis* leads to bulb infection. *Plant Disease*, 97(12), 1524–1528. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-12-0597-RE>
- Diab, S., Bashan, Y., Okon, Y., & Henis, Y. (1982). Effects of relative humidity on bacterial scab caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on pepper. *Phytopathology*, 72(9), 1257–1260.
- Dutta, B., Anderson, F., Smith, S., & Gitaitis, R. D. (2017). Epiphytic Survival of *Pantoea ananatis* on *Richardia scabra* L. in Georgia. *Plant Disease*, 101(4), 613–618. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-16-1411-RE>
- Ezepchuk, Y. V. (2013). Biology of pathogenicity (theoretical review). *Annual Research & Review in Biology*, 3(4), 805–813.
- Gabriel, D. W. (1999). Why do pathogens carry avirulence genes? *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55, 205–214.
- Goszczynska, T., Botha, W. J., Venter, S. N., & Coutinho, T. A. (2007). Isolation and identification of the causal agent of brown stalk rot, a new disease of maize in South Africa. *Plant Disease*, 91(6), 711–718. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-6-0711>
- Goszczynska, T., Moloto, V. M., Venter, S. N., & Coutinho, T. A. (2006). Isolation and identification of *Pantoea ananatis* from onion seed in South Africa. *Seed Science and Technology*, 34(3), 655–668. <https://doi.org/10.15258/sst.2006.34.3.12>
- Guest, D., & Brown, J. (1997). Plant defences against pathogens. Dalam *Plant pathogens and plant diseases*. Rockvale Publications for the Division of Botany, Rockvale Publications for the Division of Botany, University of New England
- Habazar, T., & Rivai, F. (2004). *Bakteri patogenik tumbuhan*. Andalas University Press.
- Janse, J. D. (2005). *Phytopathology: Principles and practice*. CABI.
- Kim, J., Choi, O., & Kim, T.-S. (2012). An outbreak of onion center rot caused by *Pantoea ananatis* in Korea. *Plant Disease*, 96(10), 1576. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0251-PDN>
- Kim, M. K., Ryu, J. S., Lee, Y. H., & Yun, H. D. (2007). First report of *Pantoea* spp. Induced soft rot disease of *Pleurotus eryngii* in Korea. *Plant Disease*, 91(1), 109–113. <https://doi.org/10.1094/PD-91-0109A>
- McDonald, M. R., de los Angeles Jaime, M., & Hovius, M. H. Y. (2004). Management of diseases of onions and garlic. Dalam S. A. M. H. Naqvi (Ed.), *Diseases of Fruits and Vegetables: Volume II: Diagnosis and Management* (hlm. 149–200). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/1-4020-2607-2_6
- Morohoshi, T., Nakamura, Y., Yamazaki, G., Ishida, A., Kato, N., & Ikeda, T. (2007). The plant pathogen *Pantoea ananatis* produces Nacylhomoserine lactone and causes center rot disease of onion by quorum sensing. *Journal of Bacteriology*,

- 189(22), 8333–8338. <https://doi.org/10.1128/JB.01054-07>
- Nunez, J. J., Gilbertson, R. L., Meng, X., & Davis, R. M. (2002). First report of *Xanthomonas* leaf blight of onion in California. *Plant Disease*, 86(3), 330–335. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.3.30B>
- Oka, I. N. (1993). *Pengantar epidemiologi penyakit tanaman*. Gadjah Mada University Press.
- Ormsby, M., & Pottinger, B. (2009). *Import Risk Analysis: Onion (Allium cepa Liliaceae) Fresh Bulbs for Consumption from China* (12 ed., Vol. 12). Ministry of Agriculture and Forestry Te Manatu Ahuwhenua, Ngaherehere.
- Raju, J., Benagi, V. I., Naragund, V. B. & Ashtaputre, A. (2011). Survey for the incidence and severity of bacterial blight in pomegranate caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* Karnataka. *Journal of Agricultural Science*, 24(4), 570 – 572.
- Resti, Z., Habazar, T., Putra, D. P., & Nasrum. (2016). Aktivitas enzim peroksidase bawang merah yang diintroduksi dengan bakteri endofit dan tahan terhadap penyakit hawar daun bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*). *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 16(2), 131–137. <https://doi.org/10.23960/j.hppt.216131-137>
- Schroeder, B. K., Schwartz, H. F., Schwartz, H. F., & du Toit, L. J. (2011). *Bacterial Diseases*. Onion ipmPIPE Diagnostic Pocket Series. http://mtvernon.wsu.edu/path_team/Onion-Card-Bacterial-Diseases.pdf
- Schumann, G., & D’Arcy, C. (2010). *Essential plant pathology. 2 a Edición* (2 ed.). ST. Paul, Minnesota (USA) American Phytopathological Society Press.
- Schwartz, H. F., Otto, K. L., & Gent, D. H. (2003). Relation of temperature and rainfall to development of *Xanthomonas* and *Pantoea* leaf blights of onion in Colorado. *Plant Disease*, 87(1), 11–14. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.11>
- Shin, G. Y., Schachterle, J. K., Shyntum, D. Y., Moleleki, L. N., Coutinho, T. A., & Sundin, G. W. (2019). Functional Characterization of a Global Virulence Regulator Hfq and Identification of Hfq-Dependent sRNAs in the Plant Pathogen *Pantoea ananatis*. *Frontiers in Microbiology*, 10(2075), 1-19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02075>
- Stumpf, S., Gitaitis, R., Coolong, T., Riner, C., Dutta, B. (2017). Interaction of onion cultivar and growth stages on incidence of *Pantoea ananatis* bulb infection. *Plant Disease*, 101(1), 1616-1620.
- Soesanto, L., & Rahayunia, R. F. (2011). Pengimbasan ketahanan bibit pisang ambon kuning terhadap penyakit layu fusarium dengan beberapa jamur antagonis. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 9(2), 130–140. <http://dx.doi.org/10.23960/j.hppt.29130-140>
- Staskawicz, B. J., Ausubel, F. M., Baker, B. J., Ellis, J. G., & Jones, J. D. (1995). Molecular genetics of plant disease resistance. *Science*, 268(5211), 661-667.
- Stice, S., Dutta, B., & Kvitko, B. H. (2019). A plasmid gene cluster makes major contributions to *Pantoea ananatis* virulence on onion by conferring tolerance to a reactive sulfur phytoanticipin. *Plant Health* 2019. <https://apsnet.confex.com/apsnet/2019/meetingapp.cgi/Paper/14373>
- Stice, S. P., Stumpf, S. D., Gitaitis, R. D., Kvitko, B. H., & Dutta, B. (2018). *Pantoea ananatis* genetic diversity analysis reveals limited genomic diversity as well as accessory genes correlated with onion pathogenicity. *Frontiers in Microbiology*, 9(184), 1-18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00184>
- Surico, G. (2013). The concepts of plant pathogenicity, virulence/avirulence and effector proteins by a teacher of plant pathology. *Phytopathologia Mediterranea*, 52(3), 399–417.
- Vahling-Armstrong, C., Dung, J. K. S., Humann, J. L., & Schroeder, B. K. (2016). Effects of

- postharvest onion curing parameters on bulb rot caused by *Pantoea agglomerans*, *Pantoea ananatis* and *Pantoea allii* in storage. *Plant Pathology*, 65(4), 536–544. <https://doi.org/10.1111/ppa.12438>
- Vander-der-Plank, J. E. (1963). *Plant diseases: epidemic and control*. Academic Press.
- Weller-Stuart, T., Toth, I., Maayer, P. D., & Coutinho, T. (2017). Swimming and twitching motility are essential for attachment and virulence of *Pantoea ananatis* in onion seedlings. *Molecular Plant Pathology*, 18(5), 734–745. <https://doi.org/10.1111/mpp.12432>
- Zaid, A. M., Bonasera, J. M., & Beer, S. V. (2012). OEM—A new medium for rapid isolation of onion-pathogenic and onion-associated bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 91(3), 520–526. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.09.031>