Diagnosis Penyakit Tumbuhan Akibat Bakteri Patogen

Oleh: Irda Safni

fppt.com

Diagnostik Tanaman: Kepentingan

Penyakit tanaman menyebar secepat penyakit manusia

Tanaman yang sudah terinfeksi tidak dapat diselamatkan.

- Diagnosis patogen tanaman yang cepat
- Diagnosis di lapangan yang cepat
- Laboratorium yang spesialisasi

fppt.com

Diagnosis Penyakit adalah:
- Untuk mengidentifikasi penyakit
- Untuk menentukan penyebab penyakit: hidup atau tidak hidup

fppt.com

Faktor Biotik

- Patogen - mikroorganisme parasit yang menyebabkan penyakit
- Hama – serangga atau mamalia yang memakan atau merusak tanaman

Gejala yang muncul pada tanaman

Faktor Abiotik

- Kerusakan dari bahan kimia, cuaca dan mekanis
- Masalah nutrisi

fppt.com

Metode untuk mengidentifikasi gejala penyakit:

Di lapangan

- Mengenal kondisi lingkungan di sekitar tanaman
- Menganalisa sistem pertanian
- Menganalisa sampel tanaman

Di laboratorium

- Analisa tanah & pengukuran pH
- Postulat Koch
- Uji Biokimia
- Uji mikroskopik
- Uji Serologi
- Uji Molekuler

fppt.com

Gejala

- **Identifikasi dan klasifikasikan gejala**
  - **Underdevelopment**
  - **Overdevelopment**
  - **Nekrosis atau kematian**
  - **Perubahan penampilan normal**
  - **Layu**
- **Identifikasi bagian tanaman yang terinfeksi**
- **Mungkin perlu mengidentifikasi sumber gejala pada sistem tanaman.**

fppt.com

Gejala

Photo: J. Dunez, www.forestryimages.org

Chrysanthemum stunt viroid infection of chrysanthemum showing stunting and earlier blooming of affected plants; healthy plants in middle.

Underdevelopment

- **Tanaman atau daun yang mengerdil**
- **Internoda yang memendek**
- **Produksi klorofil yang tidak cukup**
- **Disebakan oleh berbagai jenis patogen**

Gejala - Overdevelopment

Oak leaf blister, caused by *Taphrina caerulescens.*

Pertumbuhan jaringan daun yang berlebihan menyebabkan penebalan dan gangguan/distorsi.

Gall on stem of eastern redcedar caused by *Agrobacterium tumefaciens.*

Bentuk bintal pada seluruh bagian tanaman disebabkan oleh berbagai patogen.

fppt.com

Gejala

Over-development – penyebabnya lebih banyak faktor biotik, seperti:

- Nematoda Puru Akar (NPA)→ bintal akar
- Pembentukan *callus* di sekitar kanker
- Pertambahan jaringan – beberapa embun tepung dan fitoplasma
- Beberapa serangga dan kutu juga menyebabkan bintal.

Gejala

Keragaman gejala

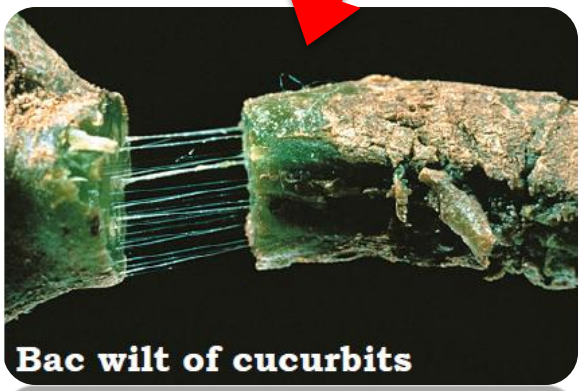
- **Mungkin ada lebih dari 1 masalah.**
- **Mungkin lebih dari 1 patogen terlibat.**
- **Patogen memiliki tingkat virulensi yang bervariasi.**
- **Kondisi lingkungan dapat mempengaruhi ekspresi gejala.**
- **Genetika dan fisiologi inang dapat mempengaruhi ekspresi gejala.**

Tanda-tanda (Signs) & Gejala (Symptoms)

Sekilas, lihatlah **tanda-tanda dan gejala-gejala yang muncul.**

Tanda-tanda dan gejala-gejala memberi petunjuk kepada ahli patologi tumbuhan.

Tanda-tanda: kehadiran patogen (sel bakteri; ooze)



Pseudomonas syringae pv. tomato

Gejala-gejala:
respon tanaman terhadap stress yang disebabkan oleh lingkungan atau patogen tumbuhan

fppt.com

Tanda-tanda (Signs) & Gejala (Symptoms)

Photo: Volcani Center Archives, Agricultural Research Organization, www.ipmimages.org

Becak daun bakteri tanaman cabai yang disebabkan *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*

Nekrosis Jaringan

Becak daun bakteri

- Seringkali gelap dan seperti terendam air (*water-soaked*)
- Seringkali tulang daun terbatas, memberi bentuk yang yang bersudut tajam
- “Aliran” Bakteri dapat diamati di bawah mikroskop

fppt.com

Basic tools for field diagnosis:

(No product endorsements intended)

1. Hand lens
   - at least 10X magnification
   - $10 - $30

2. Pocket knife
   - Sharp!
   - $10 - $50

3. Camera
   - Digital
   - Hi quality preferred

$100 - $500+

fppt.com

Ada masalah pada tanaman... apa yang harus dilakukan?

1. Observasi yang tajam
2. Buat pertanyaan sebanyak mungkin
3. Banyak penyebab yang mungkin terjadi – yang bukan karena patogen tumbuhan:
   - Nutrisi tanaman
   - Tekstur tanah
   - Kondisi cuaca
   - Kualitas cahaya
   - Keadaan lingkungan (kekeringan, suhu atau kelembaban yang berlebihan)
   - Kondisi kultur teknis (pengomposan, penanaman, penggunaan bahan kimia)

fppt.com

Kemungkinan dari kondisi tanaman di atas:

- Tanaman akibat kekeringan: tanaman menjadi coklat, pinggir daun mengering
- Tanaman akibat kekurangan urea: tanaman menjadi coklat, pinggir daun mengering

fppt.com

7 Langkah diagnosis penyakit tanaman

1. Identifikasi tanaman yang terinfeksi
2. Tentukan penyakit apa yang umum menginfeksi pertanaman tersebut di daerah pengamatan.
3. Bandingkan tanaman yang terinfeksi dengan tanaman sehat di sekitarnya.
4. Tentukan distribusi penyakit di lapangan.
   - Apakah penyakit terdistribusi seragam dengan lokasi yang kecil? Apakah berada di pinggir lahan? → kemungkinan masalah air, tanah atau bahan kimia
   - Tanaman jarang terjadi sampai 100% terinfeksi
   - Apakah 100% tanaman menunjukkan gejala?
5. Sejarah penanaman sebelumnya.
   - Apakah tanaman yang sama ditanam sebelumnya?
   - Masalah apa yang terjadi pada pertanaman yang sama pada tahun-tahun sebelumnya?
   - Apakah ada sisa residu pestisida kimia?
6. Periksa busuk pada akar.
7. Periksa semua bagian tanaman.

fppt.com

Isolasi & Teknik Deteksi untuk Patogen Tumbuhan di Laboratorium

- **Postulat Koch (1881-1882)**

I. Asosiasi

II. Isolasi, Purifikasi

III. Re-inokulasi

IV. Membandingkan gejala tanaman yang diinfeski dan tanaman yang sehat.

fppt.com

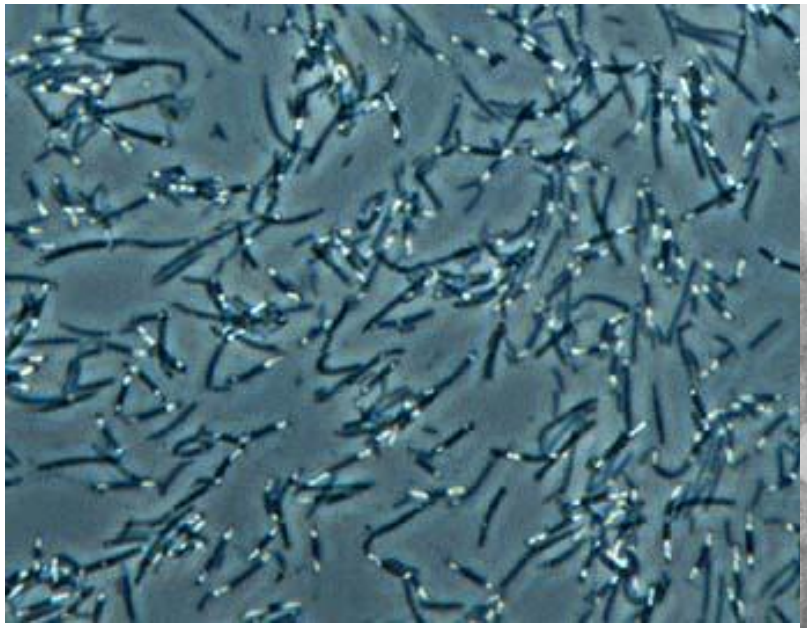
Uji Karakteristik Fenotip

- Morfologi mikroskopik dan karakteristik pewarnaan (*staining*).
- Morfologi makroskopik (koloni).
- Kebutuhan lingkungan untuk pertumbuhan.
- Ketahanan atau kerentanan terhadap agen antibakteri.
- Kebutuhan nutrisi dan kemampuan metabolik.

fppt.com

Morfologi Mikroskopik

- Untuk mendeteksi patogen berdasarkan morfologinya.



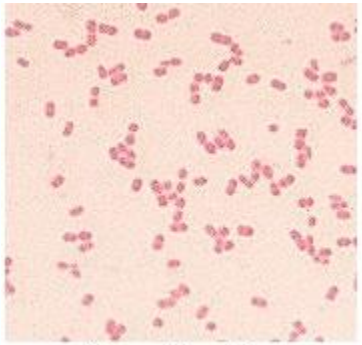
fppt.com

Karakteristik Pewarnaan (Staining)

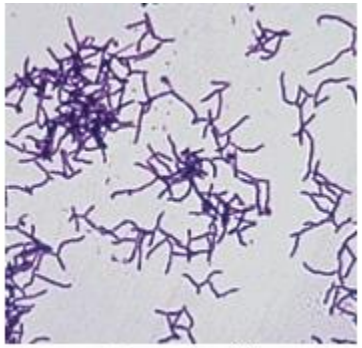
- Sel bakteri dapat diwarnai dengan bahan pewarnaan (*staining*).
- Memberi warna kontras denga latar belakang atau untuk membuat organel sel menjadi terlihat.
- SIMPLE STAINS: methylene blue, basic fuchsin, dan crystal violet.

fppt.com

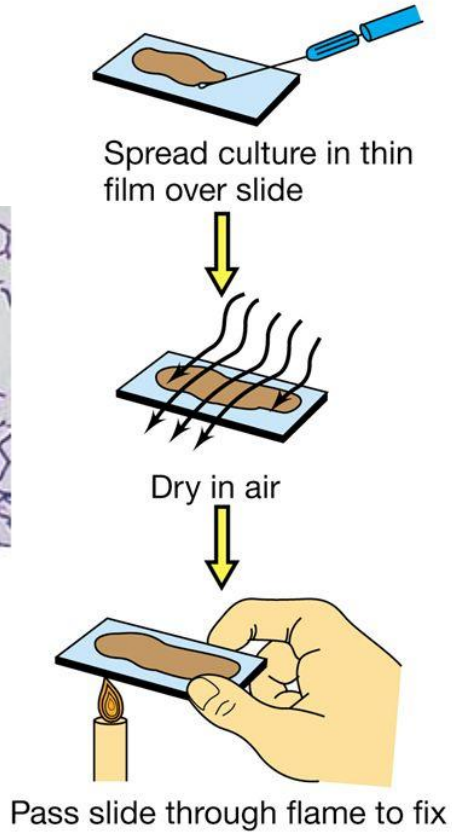
Karakteristik Pewarnaan (*Staining*)

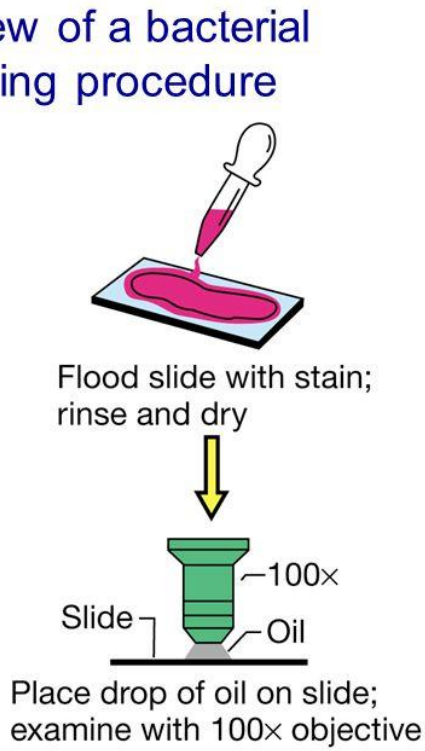


Gram Negative



Gram Positive





fppt.com

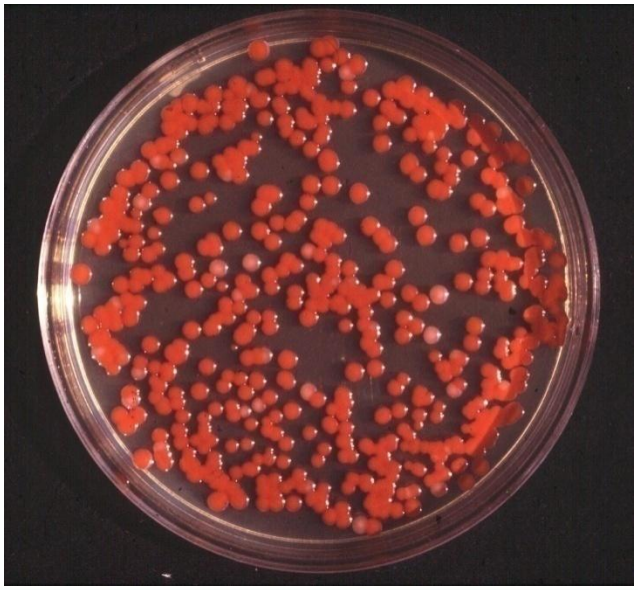
Morfologi Makroskopik (koloni)

- Bagi bakteri dan jamur.
- Pertumbuhan pada media kultur akan memberikan informasi tentang patogen
- Contoh. *Xanthomonas axonopodis pv. citri :* pertumbuhan kultur berwarna kekuningan ketika digoreskan pada media NA (*nutrient agar*).

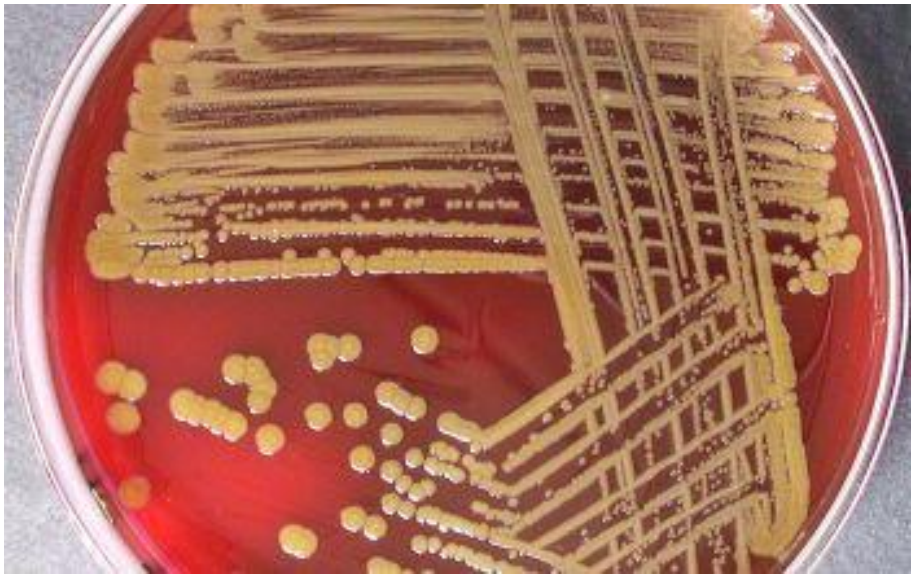
fppt.com

Xanthomonas campestris

Ralstonia solanacearum



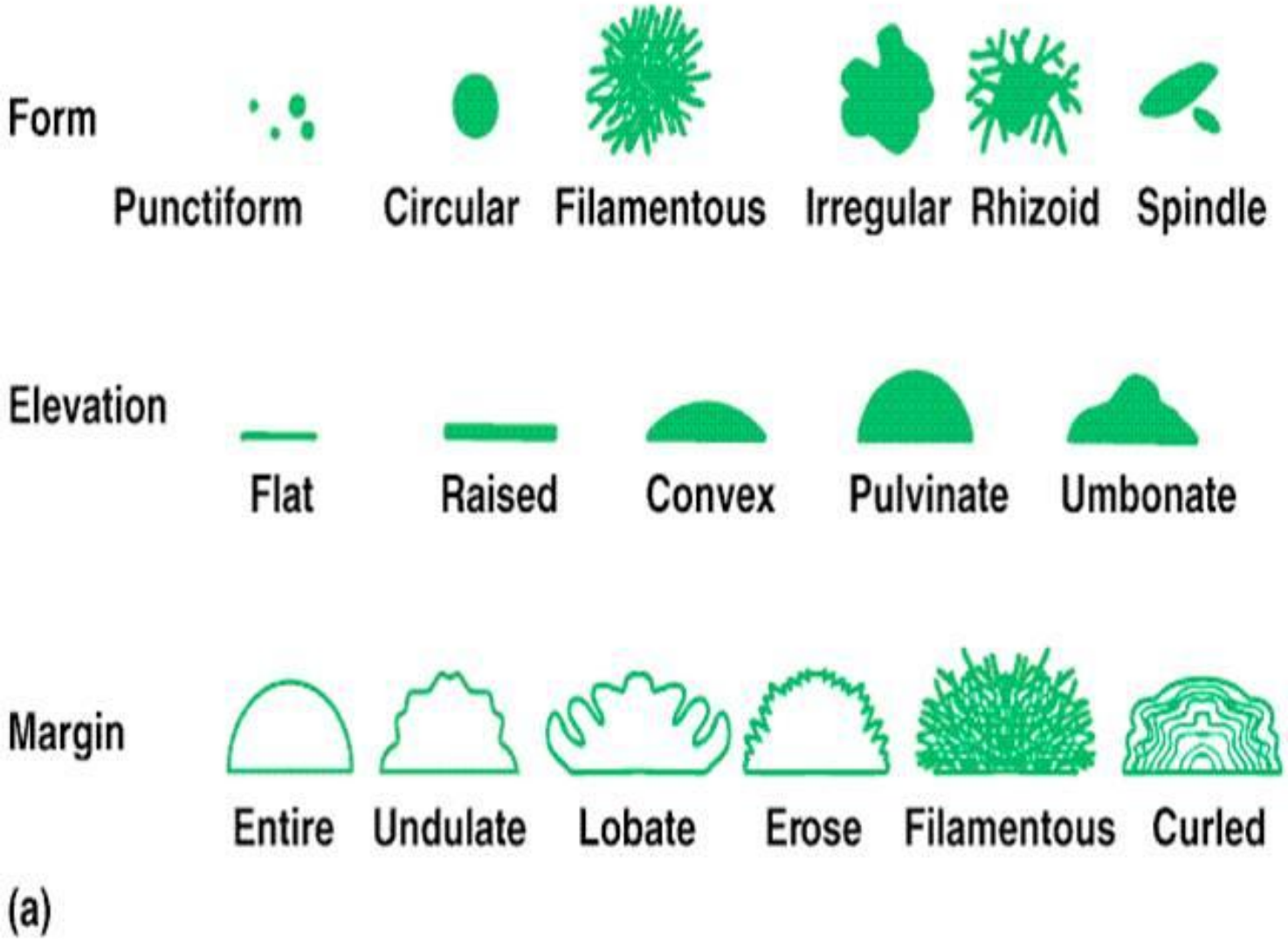
Serrratia marcescens



Pantoea agglomerans

fppt.com

Morfologi Makroskopik (koloni)



fppt.com

Kebutuhan Lingkungan Untuk Pertumbuhan

Empat faktor penting bagi pertumbuhan bakteri :

1. Ketersediaan Oksigen dan CO_2

- **Facultative anaerobic**: most clinically significant aerobic organisms
- **Strictly aerobic**: *pseudomonas, brucella,bordetella,francisella spp*.
- **Anaerobic**: *peptococcus,clostridium*
- **Capnophilic***: neisseria spp.*

2. Suhu

- **35-37 °**Celsius
- **42 °** Celsius*: Compylobacter jejuni*
- **0 °**Celsius*: Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes*

3. pH Netral -range **6.5-7.5**

4. Kelembabab

- Penting bagi jalur metabolik
- Mencegah osmotic shock

fppt.com

Ketahanan atau kerentanan terhadap agen antimikroba

Kemampuan suatu organisme untuk tumbuh pada keberadaan agen antimikroba tertentu sudah umum digunakan untuk informasi identifikasi awal.

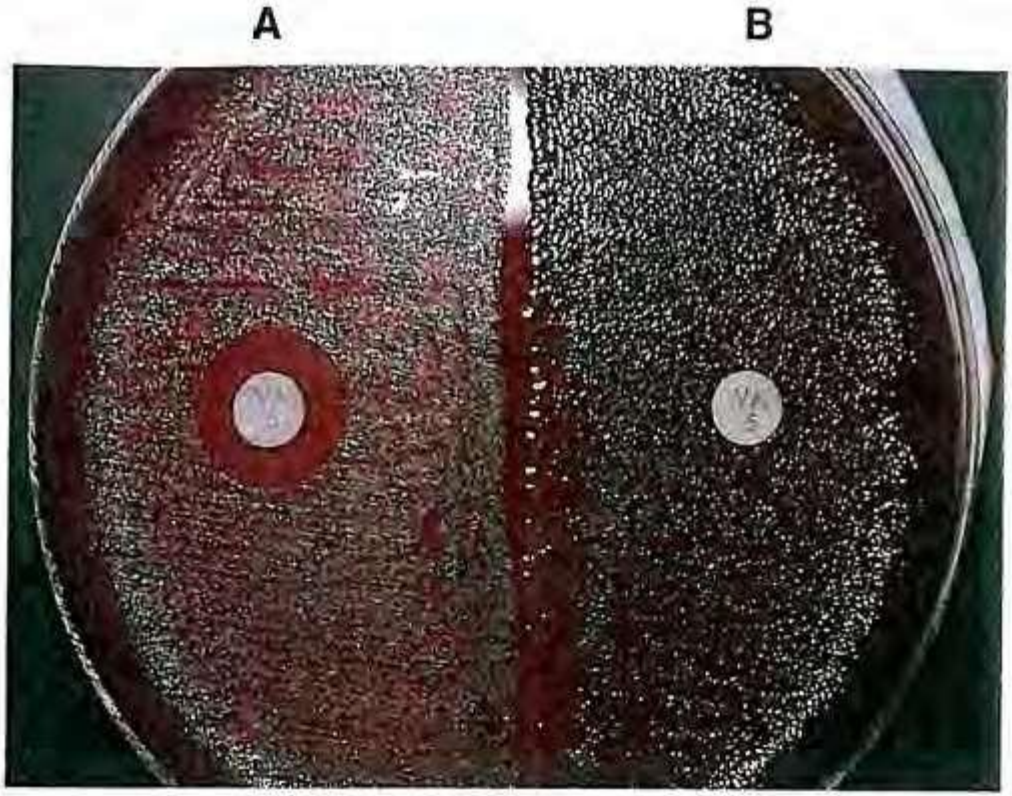


Figure 7-15 A, Zone of growth inhibition around the 5-mg vancomycin disk is indicative of a gram-positive bacterium. B, The gram-negative organism is not inhibited by this antibiotic, and growth extends to the edge of the disk.

fppt.com

Kebutuhan Nutrisi dan Jalur Metabolik

- Cara paling umum digunakan untuk menentukan genus dan spesies suatu organisme.
- Secara umum, semua metode merupakan kombinasi dari beberapa uji.

❖ Untuk mempertahankan kemampuan enzimatik dari isolat bakteri dan kemampuan isolat untuk tumbuh atau mempertahankan keberadaan inhibitor tertentu (cth. garam, toksin, antibiotik)

fppt.com

- Nutritional requirements and metabolic capabilities
  - Single enzyme tests
    - Catalase: H_2O_2 + catalase = O_2 and H_20; differentiates *Staphylococcus* v. *Streptococcus*, *Listeria* and Corynebacterium v. other non spore forming gram-positive bacilli
    - Oxidase: detection of cytochrome oxidase that participates in nitrate metabolism; *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Neisseria*
    - Indole: tryptophanase degrades tryptophan into pyruvic acid, ammonia, and indole; indole is detected by aldehyde indicator; presumptive id for *E. coli*
    - Urease: hydrolyzes urea into ammonia, water and CO_2; increase pH changes causes bright pink color of indicator
    - PYR: hydrolysis of PYR, indicator turns pink; Group A Strep and enterococci are +

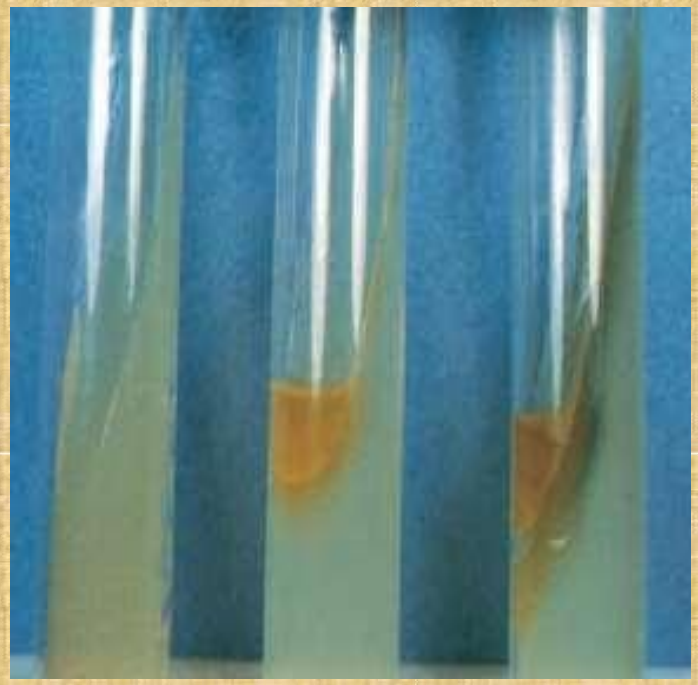
–Tests for presence of metabolic pathways

- Oxidation and fermentation: oxidation of glucose requires oxygen, fermentation does not; pH decreases causing yellow color
- Amino acid degradation: detection of amino acid decarboxylase enzymes

Indole test

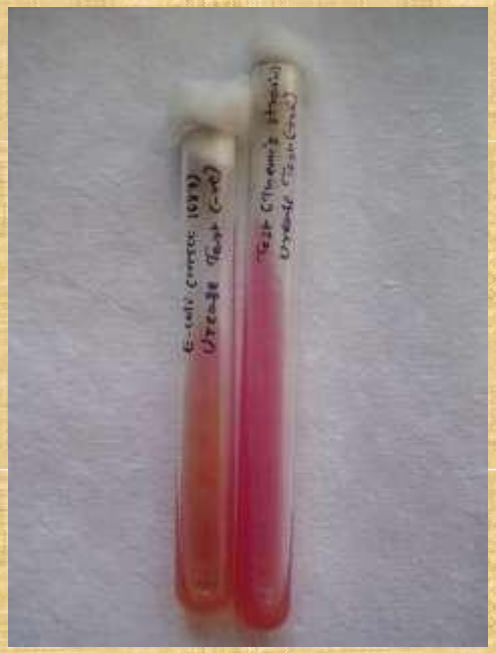
Gelatin Hydrolysis or Liquefaction.

Phenylalanine Deamination Test.



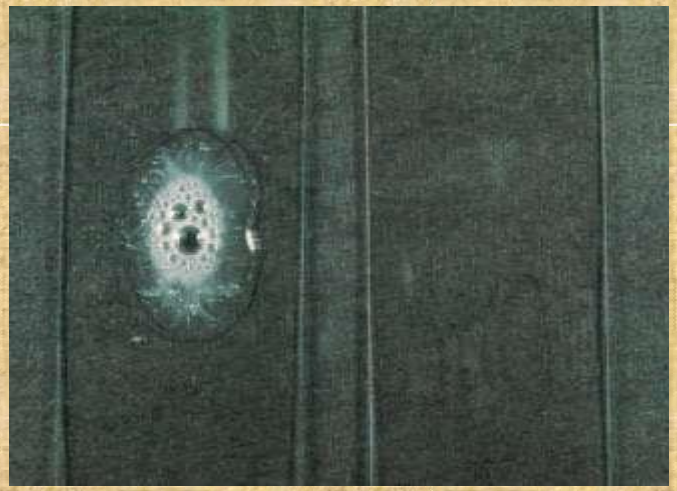
Test for Amino Acid Decarboxylase. The tube on the left is an uninoculated control; the second tube from the left is lysine decarboxylase negative; the third tube is lysine decarboxylase positive; and the tube on the right is lysine deaminase positive

Urease



cogulase test

(a) (b)

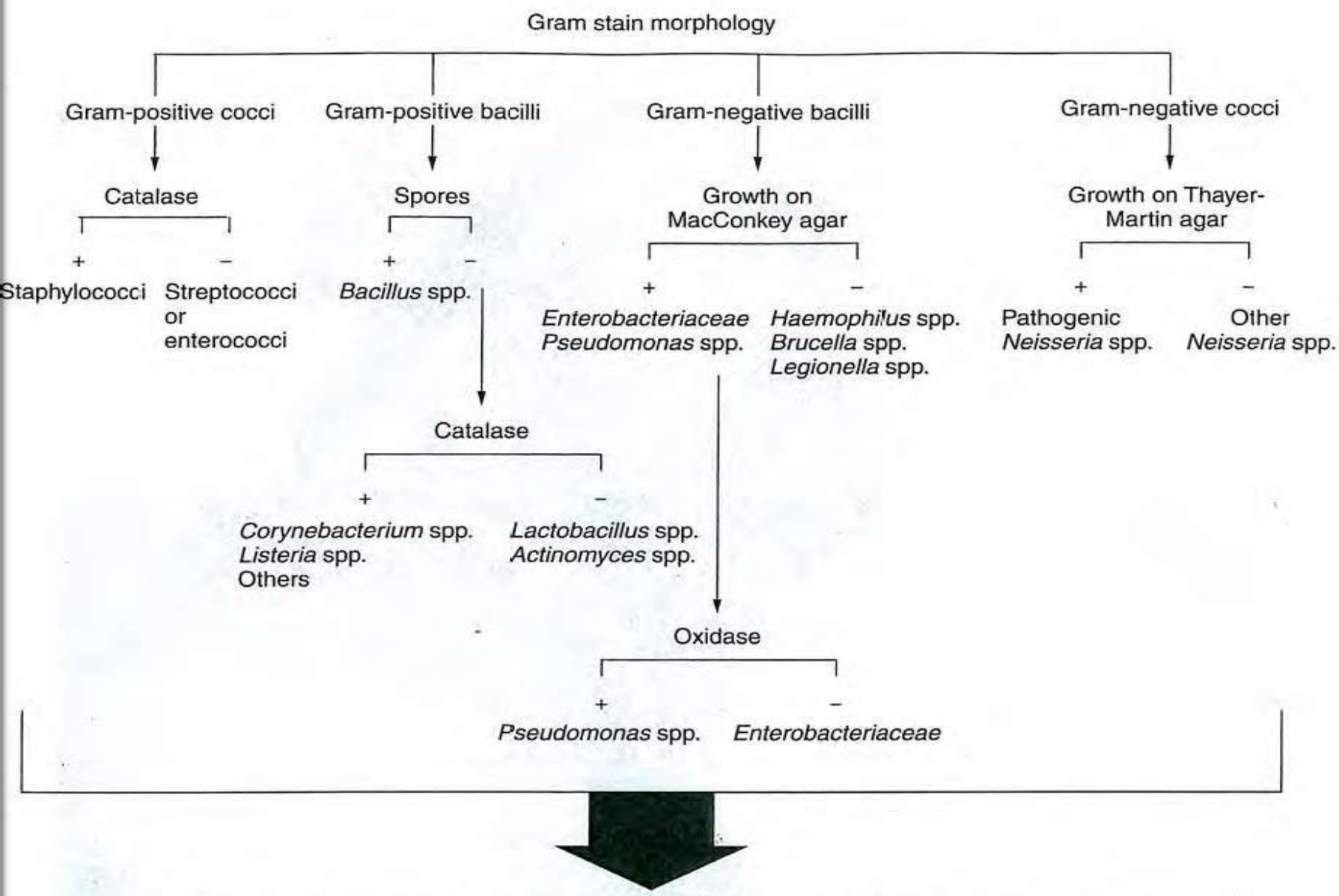


Tube and slide Catalase Test.

Mempertahankan profil zat penghambat (*inhibitor*)

- Kemampuan untuk tumbuh dengan kehadiran satu atau lebih bahan penghambat dapat memberikan informasi identifikasi yang berharga.
- Kemampuan tumbuh dengan kehadiran konsentrasi NaCl yang tinggi (*Enterococci*)
- Kerentanan terhadap Optochin dan solubilitas lemak (*Sterptococcus pneumoniae*)
- Kemampuan bertahan hidup terhadap Ethanol (*Bacillus spp*.)

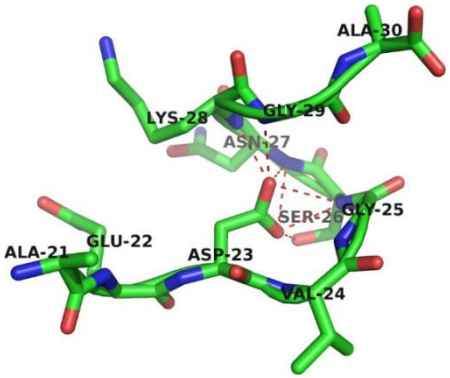
fppt.com


Gram stain morphology
Gram-positive cocci
Gram-positive bacilli
Gram-negative bacilli
Gram-negative cocci
Catalase
+
–
Staphylococci
Streptococci or enterococci
Spores
+
–
Bacillus spp.
Catalase
+
–
Corynebacterium spp.
Listeria spp.
Others
Lactobacillus spp.
Actinomyces spp.
Growth on MacConkey agar
+
–
Enterobacteriaceae
Pseudomonas spp.
Haemophilus spp.
Brucella spp.
Legionella spp.
Oxidase
+
–
Pseudomonas spp.
Enterobacteriaceae
Growth on Thayer-Martin agar
+
–
Pathogenic Neisseria spp.
Other Neisseria spp.
Selection and performance of appropriate definitive bacterial identification schemes or systems

fppt.com

Uji Molekuler dan Immunologi

Symptoms and signs are not the only tool to diagnostic a plant disease.



DNA → RNA → Proteins

Molecular Techniques: Polymerase Chain Reaction (PCR)

Immunological tests: Immunostrips Agglutination tests

fppt.com

- Penemuan teknologi molekuler di dalam genom telah merubah teknik konvensional untuk klasifikasi dan karakterisasi bakteri di abad ke-21 menjadi teknok berdasarkan sekuensing gen spesifik atau komponen milekuler suatu sel .

- Teknik genotip dari identifikasi mikroba termasuk penggunaan:
  - ✓ Probe asan nukleat (*nucleic acid probes*)
  - ✓ PCR
  - ✓ Analisis sekuens asam nukleat
  - ✓ Analisis 16s rRNA
  - ✓ Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)
  - ✓ Plasmid fingerprinting.

fppt.com

Thank you

Thank you

fppt.com