

PERTANIAN

KARAKTERISASI BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT HAWAR DAUN EDAMAME DI JEMBER

*Characterization of Bacterial Blight Pathogen on Edamame Soybean in Jember*Rachmi Masnilah^{1*}, Abd Latif Abadi², Tutung Hadi Astono², Luqman Qurata Aini²¹Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember²Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya*Email: rachmimasnilah@gmail.com

ABSTRACT

One among important diseases in Edamame soybean is bacterial leaf blight. The disease is relatively new and causes significant loss of soybean yield. This research was aim to know the characterize the pathogen of bacterial blight in Jember. Survey was one in several soybean field in Jember and the plant sample was culture on King's B medium to grow the pathogen. Identification was done through pysiological and biochemistry assay. The result showed that the pathogen of bacterial blight disease on Edamame soybean di Jember (Panti, Sukorambi, Wirolegi, Ajung, and Sumbersari) was *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* with properties as Gram negative, produce fluorescent pigment on King's B medium, grew on 20-40°C, pH range of 4.5-8.5, tolerant on 0.5-2% NaCl and also pathogenic and virulent on Edamame while reinoculated to Edamame.

Keywords: *Edamame*; bacterial leaf blight; soybean

ABSTRAK

Salah satu penyakit penting pada kedelai khususnya edamame ialah hawar daun bakteri, penyakit ini merupakan penyakit yang relatif baru dan menyebabkan kerugian yang cukup signifikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri penyebab penyakit hawar daun edamame di daerah Jember. Penelitian diawali dengan pengamatan gejala di lapangan di beberapa lokasi di daerah Jember. Bagian tanaman yang sakit dibawa ke laboratorium, selanjutnya dilakukan isolasi pada medium King B. Identifikasi dilakukan dengan serangkaian pengujian fisiologi dan biokimia. Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan disimpulkan bahwa bakteri penyebab penyakit hawar daun edamame di Jember (Panti, Sukorambi, Wirolegi, Ajung, dan Sumbersari) ialah *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* yang bersifat gram negatif, mampu membentuk pigmen fluoresen pada medium king B, mampu tumbuh baik pada kisaran suhu 20-40°C, mempunyai kisaran pH 4,5-8,5, toleran pada kandungan NaCl 0,5-2%, serta bersifat patogenik dan virulen pada tanaman edamame.

Keywords: edamame; hawar daun; kedelai

How to cite: Masnilah R, AL Abadi, TH Astono, LQ Aini. 2013. Karakterisasi bakteri penyebab penyakit hawar daun edamame di Jember. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1): 10-14.

PENDAHULUAN

Penyakit hawar daun bakteri merupakan penyakit baru pada edamame, penyakit ini muncul sejak tahun 2003 dan menyebabkan kerugian yang cukup signifikan dalam budidaya edamame. Pada saat ini penyakit hawar daun bakteri sedang berkembang pada pertanaman kedelai khususnya edamame di Jember. PT Mitra Tani 27 Jember (komunikasi pribadi) mengemukakan bahwa hampir seluruh sentra pertanaman edamame di Jember terinfeksi bakteri tersebut, sehingga dapat menyebabkan kerugian dan penurunan produksi edamame.

Untuk mengatasi masalah penyakit tanaman perlu dilakukan upaya pengendalian yang tepat, sehingga diperlukan identifikasi penyebab penyakit tersebut agar pengendalian yang dilakukan dapat tepat sasaran, efektif dan efisien. Sampai sekarang ini, identifikasi bakteri hawar daun kedelai yang pernah dilakukan di Indonesia hanya terbatas pada benih baik secara fenotipik (Asrul, 2007) maupun secara serologi (Suryadi dan Machmud, 2006). Untuk itu perlu dilakukan identifikasi pada tanaman yang terinfeksi bakteri hawar daun secara fenotipik.

Identifikasi bakteri pathogen secara fenotipik penting untuk mendapatkan gambaran tentang bakteri pathogen seperti morfologi sel dan koloni maupun karakter fisiologi dan biokimia (Schaad, 2001). Identifikasi secara fenotipik ini masih diperlukan untuk mendapatkan informasi yang cepat tentang penyakit tersebut sehingga metode pengendalian yang memadai dapat di rekomendasikan (Lelliott dan Stead, 1987). Berdasarkan hal tersebut, maka sebagai langkah awal perlu dilakukan karakterisasi bakteri penyebab penyakit hawar daun edamame di Jember.

BAHAN DAN METODE

Survei Pengamatan gejala dan Pengambilan Sampel Tanaman Sakit. Survei dilakukan di daerah sentra edamame di daerah Jember. Penentuan lokasi survei dan pengambilan sampel dilakukan secara *purposive* (berdasarkan kriteria tertentu) dengan metode stratifikasi (penstrataan) di wilayah kabupaten Jember yang mewakili daerah sentra tanaman edamame. Gejala yang diamati adalah pada daun terdapat bercak tembus cahaya, berwarna coklat tua dikelilingi oleh halo klorotik dan kebasah-basahan. Pengambilan sampel tanaman edamame yang terinfeksi bakteri hawar daun dilakukan dengan mencabut tanaman yang menunjukkan gejala beserta tanah disekitar perakaran dan dimasukkan dalam kantong plastik dan disimpan dalam termos es dan segera dibawa ke Laboratorium. Apabila tidak langsung diuji disimpan pada suhu 4°C.

Isolasi dan Identifikasi Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Edamame. Isolasi dilakukan dengan cara mengambil daun dari tanaman sakit yang diduga terinfeksi bakteri hawar daun dengan cara memotong bagian daun yang menunjukkan gejala hawar pada batas bagian tanaman yang sakit dan yang sehat. Kemudian potongan-potongan tersebut dicuci dengan air steril, didesinfeksi dengan alkohol 70% dan dibilas dengan air steril 3 kali. Potongan tersebut dilembabkan pada cawan petri yang dilapisi kertas saring steril dan diinkubasikan 24-4 jam. Massa bakteri yang muncul pada potongan daun yang dilembabkan digoreskan pada medium Kings B dalam cawan petri dengan menggunakan jarum ose yang kemudian diinkubasikan dalam suhu ruang selama 24 jam. Setelah terjadi pertumbuhan dilakukan pemurnian dengan cara mengisolasi kembali bakteri pada medium Kings B hingga bakteri yang tumbuh benar-benar isolat murni.

Pengujian Gram. Gelas obyek dibersihkan dengan alkohol 70% dan dikeringanginkan di atas Bunsen. Isolat bakteri yang telah berumur 24 jam

diambil sau ose dan diletakkan pada gelas obyektif yang telah ditetesi dengan KOH 3% diaduk dan dicampur dengan hingga rata. Setelah rata jarum ose diangkat perlahan-lahan. Apabila bakteri tersebut lengket atau terangkat maka bakteri tersebut bereaksi positif dan termasuk Gram negative dan jika tidak lengket maka tergolong dalam Gram positif reaksi negative (Llelliot dan Stead, 1987).

Reduksi Hidrogen Peroksidase (Katalase). Biakan bakteri digoreskan pada gelas benda, kemudian ditetesi dengan H_2O_2 3%. Terjadinya gelembung udara menunjukkan bahwa bakteri mereduksi H_2O_2 (Llelliot dan Stead, 1987).

Pengujian Oksidatif Fermentatif (OF). Menyiapkan medium Oksidatif-Fermentatif sebanyak 2 tabung reaksi untuk setiap isolate masing-masing 5 ml. Satu ose bakteri ditusukkan pada 2 medium tersebut, untuk tabung 1 ditutupi dengan minyak parafin dan tabung 2 tidak ditutupi dengan minyak parafin, kemudian masing-masing tabung diinkubasikan selama 7-14 har dan diamati dengan melihat perubahan warna dari hijau menjadi kuning baik pada tabung yang ditutupi parafin maupun yang tidak ditutupi parafin. Apabila seluruh media berwarna kuning maka bersifat oksidatif fermentative (Llelliot dan Stead, 1987).

Hidrolisis Pati. Isolat bakteri yang berumur 24 jam ditumbuhkan pada medium pati, kemudian diinkubasi selama 3-5 hari. Setelah lima hari, medium ditetesi dengan reagen iodium pati. Reaksi positif terjadi apabila di sekitar koloni bakteri yang tumbuh menjadi bening, apabila negatif di sekitar koloni bakteri menjadi gelap/ berwarna biru tua (Llelliot dan Stead, 1987).

Pencairan Gelatin. Pengujian dilakukan dengan menginokulasikan bakteri uji yang berumur 24-48 jam pada medium gelatin dalam tabung reaksi. Lakukan diinkubasikan dalam suhu ruangan selama 2-5 hari, kemudian sebelum dilakukan pengamatan diinkubasikan terlebih dahulu pada suhu 4 °C selama 2 jam dalam lemari pendingin. Medium yang tetap cair menunjukkan reaksi positif yang membuktikan bahwa bakteri dapat menghidrolisis gelatin (Klement, 1990).

Produksi Indol. Produksi dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada medium indol yang kemudian diinkubasikan selama 2-7 hari. Pengamatan dilakukan dengan meneteskan larutan iodine pada perlakuan, jika terdapat cincin merah pada permukaan medium menandakan reaksi positif (Klement, 1990).

Reduksi Nitrat. Bakteri ditumbuhkan pada medium nitrat dalam tabung reaksi selama 72 jam kemudian ditambahkan 1 ml reagen nitrat dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu ruangan. Terjadinya perubahan warna merah menunjukkan bahwa bakteri dapat mereduksi nitrat (Klement, 1990).

Pembentukan Asam. Pada pengujian pembentukan asam dari karbohidrat, senyawa karbohidrat disterilisasi secara terpisah dari medium, yaitu glukosa, sukrosa, dekstrosa, manitol dan sorbitol dengan kadar 10%. Sebanyak 4,5 ml medium dalam tabung reaksi ditambahkan 0,5 ml karbohidrat 1%, kemudian suspensi bakteri ditusukkan ke dalam tabung reaksi. Asam yang berbentuk ditunjukkan dengan perubahan warna

medium dari hijau menjadi kuning. Pengamatan dilakukan 7 sampai 14 hari setelah inokulasi (Schaad, 1988).

Uji Produksi Levan. Bakteri ditumbuhkan dalam cawan petri yang berisi 5-10 ml nutrient agar (NA) yang telah ditambahkan 5% sukrosa. Kemudian diinkubasikan pada suhu ruangan selama 2 hari. Bakteri yang membentuk levan sukrosa akan memperlihatkan koloni yang transparan sampai buram, bercahaya, berlendir (mukoid) dengan bentuk cembung yang jelas (Kerr, 1980; Fahy dan Hayward, 1983).

Pengujian Pembusukan Kentang. Bakteri diinokulasikan pada kentang yang telah didisinfeksi menggunakan alkohol 70% yang kemudian dibilas dengan air steril 3 kali, kentang tersebut diletakkan dalam cawan Petri yang telah diberi kertas saring. Inkubasi selama 2-3 hari, reaksi positif ditunjukkan dengan terjadinya pembusukan pada kentang yang diinokulasikan bakteri (Llelliot dan Stead, 1987).

Pengujian Arginin Dehidrolase. Bakteri ditumbuhkan pada medium yang mengandung L-arginin pada dua tabung reaksi yang berbeda yaitu yang satu ditutupi minyak parafin dan yang lainnya tanpa minyak parafin. Pada tabung yang diuji selanjutnya ditusukkan kultur bakteri yang berumur 24 jam. Selanjutnya kultur diinkubasikan pada suhu 27° C selama 3 sampai 7 hari untuk melihat reaksinya. Reaksi yang positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna media menjadi lebih merah pada tabung yang ditutupi minyak parafin, sedangkan yang kontrol tetap berwarna merah jambu (Llelliot dan Stead, 1987).

Pengujian Hipersensitif (HR) pada daun Tembakau. Pengujian reaksi hipersensitif dilakukan dengan cara membuat suspensi bakteri dari biakan yang telah diinkubasikan 48 jam, kemudian membuat seri pengenceran hingga 10^7 sel/ml. Hasil dari pengenceran tersebut diinfiltrasikan pada permukaan bawah daun tembakau yang berumur sedang. Reaksi positif terlihat jika pada bagian yang diinfiltrasi suspensi bakteri terjadi nekrosis (Klement, 1990).

Pengujian Pengaruh Suhu. Menginokulasikan bakteri berumur 24 jam pada medium Ayers, kemudian diinkubasikan pada suhu 5° C, 20° C, 25° C, 40° C, 44° C. Setelah ditumbuhkan selama 48 jam keempat tabung dikocok dan kekeruhannya dibandingkan.

Pengujian Pengaruh pH. Mempersiapkan biakan bakteri berumur 24 jam, lalu menginokulasikan pada tabung yang berisi medium ayers dengan pH 4; 4,5; 6; 7; dan 8,5, kemudian diinkubasikan selama 48 jam dan dilihat derajat kekeruhannya untuk melihat pertumbuhan bakteri.

Pengujian Pengaruh Garam. Menginokulasikan biakan bakteri berumur 24 jam pada medium Ayers dengan dengan konsentrasi NaCl 0,5%, 1,5%, 2%, dan 2,5%, kemudian diinkubasikan selama 48 jam untuk melihat pertumbuhan bakteri dengan melihat kekeruhan pada medium (Llelliot dan Stead, 1987).

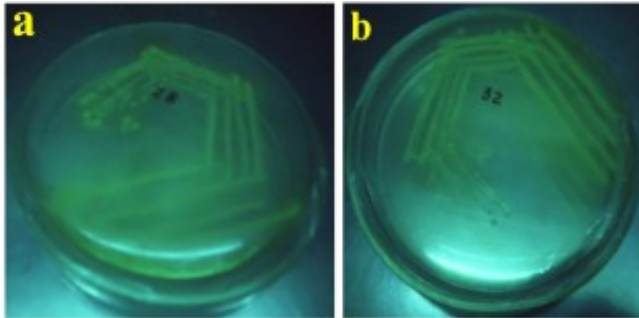
Uji virulensi. menggunakan tanaman edamame yang diinokulasi dengan metode pelukaan pada daun dengan menggunakan jarum, kemudian suspensi isolat bakteri hawar daun disemprotkan pada daun tersebut. Isolat yang virulen dipilih untuk diidentifikasi secara molekuler dan dipakai dalam pengujian selanjutnya dalam skrining di laboratorium dan di rumah kaca.



Gambar 1. Gejala Penyakit Hawar Daun Edamame: (a) pada daun; (b) pada tangkai daun; (c) pada polong

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil survey dan pengamatan lapangan di beberapa lokasi di Jember (Panti, Sukorambi, Wirolegi, Ajung, dan Sumpersari), semua contoh tanaman sakit yang diamati menunjukkan gejala yang hampir sama. Gejala berupa daun-daun yang tampak terdapat bercak tembus cahaya, berwarna coklat tua dikelilingi oleh halo klorotik dan kebasah-basahan. Gejala dapat terjadi pada batang, tangkai daun dan polong (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan pendapat Semangun, (1993) dan Alvarez *et.al* (1995) bahwa hawar daun bakteri sering terjadi pada daun berupa bercak kebasahan pada sisi bawah daun, bercak berwarna coklat, tembus cahaya dan dikelilingi warna kuning sampai oranye. Pada batang yang sakit terdapat bercak persegi panjang dan berwarna gelap, pada polong dan benih terdapat bercak berwarna abu-abu sampai coklat, berminyak dan kemudian mengering.



Gambar 2. Morfologi Koloni Bakteri Hawar Daun Edamame pada medium King'B (a) isolat Psg 28; (b) isolat Psg 32

Isolat bakteri yang ditumbuhkan pada medium King B menunjukkan adanya persamaan karakteristik pertumbuhan koloni, yaitu koloni berbentuk bulat, halus, bening dengan tepi sedikit bergelombang dan memproduksi pigmen fluoresen, hal ini terlihat saat biakan bakteri disinari lampu ultra violet (UV) menghasilkan warna hijau berpendar sehingga digolongkan sebagai bakteri pendar fluor (Tabel 1 dan Gambar 2) Menurut Schaad (1988), Adanya pigmen fluoresen setelah bakteri ditumbuhkan pada medium King B menunjukkan bahwa bakteri termasuk golongan *Pseudomonas fluorescens*.

Berdasarkan uji fisiologi isolat bakteri hawar daun edamame memberikan reaksi negatif pada pengujian gram, hidrolisis pati, fermentatif, pencairan gelatin, pembusukan kentang dan arginine dehidrolase. Untuk uji fisiologis yang menghasilkan reaksi positif ialah oksidatif, katalase, reduksi nitrat, produksi levan, produksi indol dan hipersensitifitas pada tembakau. Hasil uji tersaji pada Tabel 2.

Isolat bakteri hawar daun edamame asal Jember bersifat gram negatif karena terbentuknya lendir lengket dari campuran koloni dan KOH 3% yang dapat terangkat lebih dari 1 cm oleh jarum ose (Gambar 3). Menurut Lelliot dan Stead (1987) dan Schaad (1988) bakteri hawar daun edamame yang disebabkan oleh *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* bersifat gram negatif (Tabel 2). Lelliot dan Stead (1987) menyatakan bahwa kebanyakan bakteri pathogen bersifat gram negatif. Isolat bakteri bereaksi positif pada uji katalase yang dibuktikan dengan timbulnya gelembung-gelembung udara dari campuran koloni bakteri dengan H₂O₂ 3% (Gambar 3). Lelliot dan Stead (1987) menunjukkan bahwa *P. syringae* bereaksi positif pada uji

katalase. Menurut Lay (1994) timbulnya gelembung-gelembung udara pada uji katalase membuktikan bahwa bakteri menghasilkan enzim katalase sehingga mampu mengubah hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen.

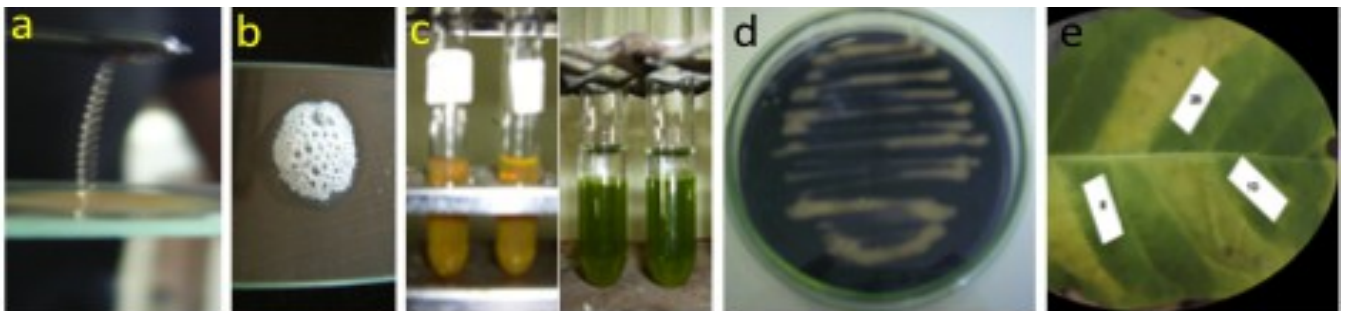
Tabel 1. Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun Edamame (*P. syringae* pv. *glycinea*).

No	Asal Isolasi	Tipe Koloni pada Medium King'B			Kode Isolasi
1	Ajung	bulat, halus, bening	dengan tepi sedikit bergelombang	Pendar flour	Psg 8
2	Wirolegi	bulat, halus, bening	dengan tepi sedikit bergelombang	Pendar flour	Psg 12
3	Sumpersari	bulat, halus, bening	dengan tepi sedikit bergelombang	Pendar flour	Psg 13
4	Sumpersari	bulat, halus, bening	dengan tepi sedikit bergelombang	Pendar flour	Psg 14
5	Sukorambi	bulat, halus, bening	dengan tepi sedikit bergelombang	Pendar flour	Psg 25
6	Sukorambi	bulat, halus, bening	dengan tepi sedikit bergelombang	Pendar flour	Psg 26
7	Panti	bulat, halus, bening	dengan tepi sedikit bergelombang	Pendar flour	Psg 28
8	Panti	bulat, halus, bening	dengan tepi sedikit bergelombang	Pendar flour	Psg 32

Isolat bakteri bereaksi positif pada uji oksidatif dan bereaksi negatif pada uji fermentatif. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna hijau menjadi kuning yang dimulai dari permukaan media yang tidak tertutup minyak paraffin setelah masa inkubasi 7-14 hari (Gambar 3). Hasil uji tersebut sesuai dengan deskripsi Lelliot dan Stead (1987) dan Asrul (2007) pada Tabel 2 bahwa *P. syringae* pv. *glycinea* bereaksi positif pada uji oksidatif dan bereaksi negatif pada uji fermentatif. Reaksi positif pada uji oksidatif membuktikan bahwa *P. syringae* pv. *glycinea* membutuhkan oksigen untuk tumbuh dan memproduksi asam dalam kondisi aerob, sehingga bakteri termasuk dalam golongan bakteri aerobik (Fahy dan Haywar, 1983).

Isolat bakteri menunjukkan reaksi negatif pada uji hidrolisis pati yang dicirikan dengan warna hitam pada area yang ditumbuhi bakteri setelah ditetesi reagen iodum pati (Gambar 3). Menurut Lelliot dan Stead (1987) pada Tabel 2 bakteri *P. syringae* pv. *glycinea* bereaksi negatif pada uji hidrolisis pati. Menurut Lay (1994) reaksi negatif tersebut menunjukkan bahwa *P. syringae* pv. *glycinea* tidak dapat menghidrolisis pati menjadi maltose dan glukosa karena tidak mampu menghasilkan enzim amylase. Isolat bakteri bereaksi positif pada uji pencairan gelatin yang ditandai dengan mencairnya media yang ditumbuhi bakteri setelah inkubasi selama 2-5 hari dan 2 jam dalam lemari pendingin sebelum pengamatan. Lay (1994) mengatakan bahwa reaksi positif menunjukkan bakteri *P. syringae* pv. *glycinea* mampu mendekomposisi gelatin yang terkandung pada media tersebut.

Isolat bakteri yang diuji bereaksi positif pada uji reduksi nitrat yang ditandai dengan timbulnya warna merah setelah ditetesi reagen A+B. Isolat ini terbukti bereaksi positif sesuai dengan *P. syringae* yang diidentifikasi oleh Asrul (2007) (Tabel 2). Menurut Fahy dan Hayward (1983) terbentuknya warna merah tersebut mengindikasikan adanya nitrit yang



Gambar 3. Hasil Pengujian Fisiologi Bakteri Hawar Daun Edamame: (a) Uji gram; (b) Uji katalase; (c) Uji oksidatif-fermentatif; (d) Uji hidrolisis pati; (e) Uji hipersensitif pada daun tembakau

dihasilkan dari kemampuan bakteri mereduksi nitrat. Reaksi positif ditunjukkan isolat bakteri pada uji indol dengan terbentuknya lapisan merah pada permukaan media setelah ditetesi reagen kovacs. Reaksi positif tersebut membuktikan bahwa bakteri mampu menghasilkan enzim triptofan untuk memecah asam amino triptofan menjadi indol serta asam piruvat dan NH₄⁺ (Lay, 1994).

Tabel 2. Karakteristik Sifat Fisiologis dan Biokimia Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun Edamame (*P. syringae* pv *glycinea*) Isolat asal Jember dibandingkan dengan karakteristik dari Lelliot dan Stead (1987); Schaad (1988); Schaad (2001) dan Asrul (2007).

No	Jenis Penguian	Isolat Asal Jember	Karakteristik <i>P. syringae</i> pv <i>glycinea</i>			
			Lelliot dan Stead (1987)	Schaad (1988)	Schaad (2001)	Asrul (2007)
1	Gram	-	-	-	-	-
2	Katalase	+	+	-	-	-
3	Pigmen fluoresen	+	+	+	+	+
4	Oksidatif	+	+	-	-	+
	Fermentatif	-	-	-	-	-
5	Hidrolisis pati	-	-	-	-	-
6	Pencairan gelatin	+	-	-	-	+
7	Pemanfaatan sumber karbon					
	- sucrose	+	V+	-	-	+
	- glucose	+	-	-	-	+
	- dekstrose	+	-	-	-	+
	- manitol	+	V+	+	-	+
	- sorbitol	+	-	+D	-	+
8	Reduksi nitrat	+	-	-	-	+
9	Indol	+	-	-	-	+
10	Levan Sukrose	+	+	+	+	+
11	Pembusukan Kentang	-	-	-	-	-
12	Arginin dehidrolase	-	-	-	-	-
13	Hipersensitif pada daun tembakau	+	+	+	+	+
14	Suhu (c)					
	5	-	-	-	-	-
	20	+	-	-	-	-
	25	+	-	-	-	-
	40	+	-	-	-	+
	44	-	-	-	-	-
15	NaCl (%)					
	0,5	+	-	-	-	+
	1,5	+	-	-	-	+
	2	+	-	-	-	+
	2,5	-	-	-	-	-
16	pH media					
	4	-	-	-	-	-
	4,5	+	-	-	-	+
	6	+	-	-	-	+
	7	+	-	-	-	+
	8,5	+	-	-	-	+

(+) = reaksi positif; (-) = reaksi negatif, (V+)= 21-79% strain positif, (+D)= 80% strain mengalami perlambatan positif.

Isolat bakteri menunjukkan reaksi positif pada uji pembentukan levan yang dicirikan dengan koloni yang tampak bersinar, berlendir dan cembung. Hasil tersebut sesuai dengan *P. syringae* pv *glycinea* yang ditunjukkan oleh Schaad (1988), Schaad (2001) dan Asrul (2007) pada

Tabel 2. Isolat bakteri hawar daun edamame asal Jember terbukti menunjukkan reaksi negatif pada uji pembusukan kentang, hal ini menunjukkan bakteri tersebut tidak mampu menghasilkan enzim pektolitik untuk membusukkan kentang. Isolat bakteri juga terbukti menunjukkan reaksi negatif pada uji arginine dehidrolase dan positif pada uji hipersensitifitas pada daun tembakau sesuai deskripsi *P. syringae* pv *glycinea* oleh Schaad (1988) dan Schaad (2001) pada Tabel 2. Reaksi positif ini ditunjukkan dengan munculnya gejala nekrotik setelah diinokulasi dengan suspensi bakteri (Gambar 3). Gejala tersebut muncul dalam waktu 24-48 jam, sesuai pernyataan Lelliot dan Stead (1987) bahwa reaksi positif akan muncul dalam waktu 24-48 jam. Dalam waktu 5-10 hari gejala nekrotik tampak semakin meluas. Reaksi hipersensitif menyebabkan hancurnya seluruh membrane seluler dari sel-sel yang berkontak dengan bakteri dan kemudian diikuti dengan pengeringan dan nekrosis jaringan daun yang terserang bakteri tersebut (Agrios, 2004). Adanya reaksi positif ini membuktikan bahwa bakteri yang diuji merupakan pathogen tanaman.

Isolat bakteri yang diuji mampu membentuk asam pada medium yang mengandung karbohidrat sukrosa, glukosa dan dekstrosa, manitol serta sorbitol (Tabel 2). Isolat bakteri hawar daun edamame masih dapat tumbuh dengan baik pada suhu 40⁰ C yang ditunjukkan dengan keruhnya media yang diinkubasikan selama 24 jam. Pada suhu 20⁰ C dan 25C bakteri juga tumbuh dengan baik, kecuali pada suhu 5⁰ C dan 44⁰ C. Isolat bakteri tumbuh pada kisaran pH 4,5-8,5 dan tidak tumbuh pada pH dibawahnya yaitu pada pH 4,0. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri mampu tumbuh pada pH sangat basa dan pH asam, tetapi tidak toleran pada pH sangat asam. Isolat juga mampu tumbuh pada konsentrasi garam kurang dari 2%.

Isolat bakteri terbukti bereaksi positif dapat menginfeksi tanaman edamame berdasarkan uji virulensi pada tanaman inang tersebut. Reaksi positif ditunjukkan dengan timbulnya gejala bercak nekrotik berwarna coklat yang dikelilingi dengan halo yang berwarna kuning sampai oranye dengan masa inkubasi bervariasi antara 3-5 hari setelah inokulasi. Berdasarkan pengujian sifat fisiologis dan biokimia tersebut maka isolat bakteri uji identik dengan *P. syringae* pv *glycinea*.

Bakteri penyebab penyakit hawar daun edamame dari beberapa lokasi di Jember (Ajung, Sukorambi, Wirolegi, Panti dan Summersari) ialah *P. syringae* pv *glycinea* yang bersifat gram negatif, mampu membentuk pigmen fluoresen pada medium king B, mampu tumbuh baik pada kisaran suhu 20-40⁰ C, mempunyai kisaran pH 4,5-8,5, toleran pada kandungan NaCl 0,5-2%, serta bersifat pathogen dan virulen pada tanaman edamame.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia selaku penyandang dana selama studi pada Program Doktor Ilmu Pertanian Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dan DP2M yang telah memberikan dana melalui penelitian disertasi doktor.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez E, Braun EJ, McGee DC 1995. New assays for detection of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* in soybean seed. *Plant Dis* 79:12-14
- Agrios GN. 2004. *Plant Pathology*. Fifth Edition. San Diego, California: Academic Press.
- Asrul. 2007. Deteksi patogen penyebab penyakit hawar daun bakteri dari benih kedelai. *Agroland*. 14(1): 18-23.
- Fahy, P.C. and A.C Hayward. 1983. *Media and Methods for Isolation and Diagnostic Test*. In Fahy, P.C. and G. J. Persley (Eds) *Plant Bacterial Diseases : a Diagnostic Guide*: 337-378. Australia: Academic Press.
- Klement Z, K Rudolph, D C Sand. 1990. *Methods in Phytobacteriology*. Budapest: Academia Kiado.
- Lay WB. 1994. *Analisis Mikrobiologi di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.

- Lelliot, Stead. 1987. *Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of plants*. Oxford: Blackwell Sci. Publ.
- Schaad NW. 1988. *Laboratory Guide For Identification of Plant Pathogenic bacteria*. 2nd Edition. Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Schaad NW, JB Jones, W Chun. 2001. *Laboratory Guide For Identification of Plant Pathogenic bacteria*. Third Edition. Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Semangun, H. 1993. Penyakit-penyakit tanaman Pangan di Indonesia. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Suryadi Y, M Machmud. 2006. Deteksi *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* (Psg) menggunakan antibody poliklonal dan NCM-ELISA. *Berita Biologi* 8(1): 45-51.
- Sudarma MI. 2010. Seleksi dan Pemanfaatan Actinomycetes Sebagai Mikroba Antagonis yang Ramah Lingkungan Terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp *ubense* Secara In Vitro. Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
- Suwandi U. 1993. Skrining mikroorganisme penghasil antibiotika. *Cermin Dunia Kedokteran* 89(48):46-48