

Original Research Paper

Isolation and Characterization of Bacteria from Siam Citrus Leaves with Scab Symptoms

Mela¹, Rahmawati^{1*}, Mukarlina¹¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia;

Article History

Received : April 02th, 2025Revised : May 05th, 2025Accepted : May 06th, 2025

*Corresponding Author:

Rahmawati, Program studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia;
Email:

rahmawati@fmipa.untan.ac.id

Abstract: Scab disease on leaves can reduce Siam citrus production. Aims of this study is determine the genus of bacteria in rhizosphere against bacteria isolated from scabies symptomatic. The research has been carried out in the Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural sciences, Universitas Tanjungpura. Characterization was carried out morphologically and physiologically. The macromorphology observed is shape, edges, color and elevation. The micromorphological characters observed were shape, arrangement, color and gram type. The physiological characters observed were urease, glucose, lactose, sucrose, catalase, citrate, MR, ornithin, indole, motility, type of fermentation and H₂S formation. The results of the isolation obtained 3 genus are *Xylophilus* sp. (BKS 1), *Burkholderia* sp. (BKS 2) dan *Xylophilus* sp. (BKS 3). The bacterial genus isolation results obtained can be used for antagonistic testing with other bacteria.

Keywords: Characterization, isolation, pontianak siamese, scabies.

Pendahuluan

Salah satu penyakit pada daun jeruk siam adalah penyakit kudis. Gejala awal penyakit kudis pada daun menyerupai gejala baru kanker daun dengan tepi daun yang berair. Permukaan daun mulai menggabus dan pecah-pecah serta mengalami perubahan warna menjadi cokelat kekuningan hingga abu-abu (Dinas Ketahanan Pangan dan Hortikultura, 2020). Gejala umum penyakit kudis pada tumbuhan yaitu adanya luka kecil yang berwarna coklat pada daun, tangkai daun dan batang (Saleh, 2013).

Toksin merupakan suatu senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan bersifat toksik (racun) pada tanaman. Patogen mengeluarkan toksin yang akan menyebabkan nekrosis. Nekrosis ini mengakibatkan kerusakan seluruh jaringan sel, dan perkembangan patogen akan semakin meningkat.

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri dapat menurunkan hasil produksi tanaman yang merugikan para petani. Penyakit yang banyak dijumpai sebagian besar adalah yang disebabkan

oleh bakteri, oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bakteri pathogen yang menyebabkan penyakit kudis pada daun jeruk siam.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-November 2022. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, autoklaf, Biological Safety Cabinet, botol sprayer, bunsen, cawan petri, erlenmeyer, gelas beaker, gelas ukur, *hot plate*, inkubator, jarum ose, kaca objek, kamera, kapas pembalut, karet gelang, kertas, mikroskop, mortar, pisau skalpel, spatula, spuit 1 cc dan 3 cc, tabung reaksi, timbangan analitik, tisu, vortex, dan wrapping plastic. Bahan-bahan yang

digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 70%, alkohol 96%, hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%, iodine, kristal violet, media Methyl Red Vogos Proscauer (MRVP), media Motility Indole Ornitin (MIO), media Oksidasi Fermentatif (OF), media Simmon Citrate Agar (SCA), media Triple Sugar Iron Agar (TSIA), NaCl 0,85%, Nutrient Agar (NA), Urease Agar, NaOCI 1%, reagen Kovac, Safranin 1%, sampel daun jeruk siam Pontianak bergejala kudis, dan spiritus.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun jeruk siam bergejala kudis menggunakan metode purposive sampling. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara menjelajahi perkebunan jeruk siam Pontianak dan memilih daun yang bergejala kudis seperti pada permukaan daun terdapat butiran padat yang berwarna coklat kekuningan atau abu-abu (Gambar 1).



Gambar 1. Morfologi Daun Jeruk Siam Bergejala Kudis

Isolasi Bakteri dari Daun Bergejala Kudis

Isolasi bakteri dengan teknik pengenceran bertingkat dari konsentrasi tertinggi ke konsentrasi terendah (Apindiati *et al.*, 2018).

Pemurnian Isolat Bakteri

Pemurnian dilakukan pada media NA dengan metode goresan (*Streak plate method*) 4 kuadran, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37 °C untuk mendapatkan koloni tunggal (Waluyo, 2008).

Uji Pewarnaan Gram

Suspensi bakteri difiksasi di atas api

bunsen sampai kering. Preparat ditetesi dengan kristal violet, kemudian didiamkan selama satu menit dan dicuci dengan air mengalir dan di fiksasi sampai kering. Preparat ditetesi dengan larutan iodine dan didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan di fiksasi sampai kering. Preparat ditetesi dengan alkohol 96% sampai warna ungu hilang. Preparat ditetesi dengan safranin 1% dan didiamkan selama 30 detik dicuci dengan air mengalir dan di fiksasi sampai kering. Preparat diamati dengan mikroskop untuk menentukan bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu dan bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah (Hadioetomo, 1993).

Uji Biokimia

Uji biokimia melalui pengujian karakter fisiologis bakteri berdasarkan acuan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) yaitu uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, dan sukrosa), uji katalase, uji indol, uji motilitas, uji oksidatif fermentatif, uji ornithin, uji urease, uji sitrat dan uji metil red. Uji urea dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mereduksi urea. Pengujian dilakukan dengan streak bagian miring media. Reaksi positif jika media berwarna merah muda, artinya bakteri tidak memecah urea membentuk amoniak. Reaksi negatif media tidak berwarna merah muda, artinya bakteri memecah urea menjadi amoniak (Lim, 2006).

Uji TSIA bertujuan untuk melihat bakteri yang dapat memfermentasikan karbohidrat (glukosa, laktosa dan sukrosa) serta bakteri yang dapat membentuk H₂S dan gas. Isolat bakteri yang akan diuji diambil dengan menggunakan ose lurus kemudian digoreskan pada permukaan media, selanjutnya isolat bakteri ditusukkan pada media hingga ke dasar tabung reaksi. Hasil pengamatan pada media TSIA setelah inkubasi, jika terjadi perubahan warna media menjadi kuning menandakan bakteri melakukan fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Hasil perubahan pada bagian butt (dasar) berwarna kuning dan slant (permukaan miring) berwarna merah menandakan bakteri melakukan fermentasi glukosa dan tidak laktosa maupun sukrosa. Hasil positif gas H₂S jika terdapat endapan hitam atau media berwarna hitam sedangkan hasil negatif maka media akan tetap berwarna merah (Irianto, 2006).

Uji Sitrat dengan teknik streak pada media *Simmons's Citrate Agar* (SCA). Indikator warna biru pada bagian dalam atau permukaan media artinya bakteri menggunakan sitrat sebagai salah satu/ satu-satunya sumber karbon (Aditi, 2017). Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak terjadi perubahan warna media menjadi biru, artinya bakteri tidak mempunyai enzim sitrat permease sehingga bakteri tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Ratna, 2012).

Isolat bakteri yang akan diuji diambil dan diinokulasikan ke media MRVP, lalu diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C, setelah itu ditambahkan 5 tetes methyl red. Hasil positif ditunjukkan dengan bagian permukaan atau dalam media berwarna merah bata sedangkan hasil negatif ditunjukkan dengan bagian permukaan atau dalam media berwarna kuning (Benson, 2001).

Uji MIO untuk mengetahui motilitas, indol dan ornithin suatu bakteri. Isolat diinokulasikan dengan cara ditusukkan ke dalam 2/3 bagian media MIO (Hemraj, 2013). Uji indol digunakan untuk mengetahui apakah bakteri mampu mengoksidasi asam amino triptophan menjadi indol. Media MIO ditetesi dengan reagen Kovac's untuk melihat cincin indol yang terbentuk. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya lapisan cincin berwarna merah/ungu pada permukaan media. Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuk lapisan cincin berwarna merah pada permukaan media. Hasil positif uji motilitas ditunjukkan dengan pertumbuhan bakteri bakteri yang menyebar, artinya bakteri tersebut bergerak/ motil dan hasil negatif ditunjukkan dengan pertumbuhan bakteri yang tidak menyebar dan hanya berupa satu garis (Sudarsono, 2008).

Uji Oksidatif/Fermentatif untuk mengetahui sifat oksidasi atau fermentasi suatu bakteri terhadap glukosa. Uji ini menggunakan dua tabung dengan satu tabung yang ditambah parafin sedangkan tabung lainnya tidak ditambah parafin. Hasil pengamatan kedua tabung tersebut berwarna kuning menunjukkan bahwa no reaction (NR). Pemberian parafin cair untuk membuktikan bakteri tersebut mampu melakukan respirasi tanpa menggunakan oksigen bebas pada media O/F (Barrow, 1993).

Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri

Identifikasi karakter makromorfologis dan

mikromorfologis. Pengamatan karakter makromorfologis meliputi bentuk koloni, permukaan koloni, tepian koloni, elevasi dan warna koloni, sedangkan karakter mikromorfologis meliputi bentuk sel dan karakter koloni. Identifikasi bakteri dilakukan dengan melihat kemiripan karakter bakteri mengacu pada buku kunci determinasi dari Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria (Barrow & Feltham, 1993) dan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt et al., 1994).

Analisis Data

Data hasil pengamatan dan identifikasi genus bakteri disajikan dalam bentuk tabel.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Karakter Morfologi dan Fisiologi Bakteri Rizosfer dan Bakteri yang diisolasi dari Daun Tanaman Jeruk Siam Bergejala Kudis

Berdasarkan hasil isolasi dan karakterisasi yang telah dilakukan terhadap daun jeruk bergejala kudis di Kota Singkawang, diperoleh karakter makromorfologis (Tabel 1), karakter mikromorfologis (Tabel 2) dan karakter fisiologis (Tabel 3) tiga isolat bakteri yaitu BKS 1, BKS2 dan BKS 3.

Tabel 1. Karakter Makromorfologis Bakteri yang di isolasi dari Daun Bergejala Kudis

| Kode Isolat | BKS 1 | BKS 2 | BKS 3 |
|-------------|-----------------|-----------------|------------------|
| Bentuk | <i>Circular</i> | <i>Circular</i> | <i>Irregular</i> |
| Tepian | <i>Entire</i> | <i>Entire</i> | <i>Entire</i> |
| Warna | <i>White</i> | <i>White</i> | <i>White</i> |

Tabel 2. Karakter Mikromorfologis Bakteri yang di isolasi dari Daun Bergejala Kudis

| Kode Isolat | BKS 1 | BKS 2 | BKS 3 |
|-------------|--------------|----------------------|--------------|
| Bentuk | <i>Bacil</i> | <i>Coccus</i> | <i>Bacil</i> |
| Susunan | <i>Bacil</i> | <i>Streptococcus</i> | <i>Bacil</i> |
| Warna | Merah | Merah | Merah |
| Gram | Negatif | Negatif | Negatif |

Isolat bakteri dari daun jeruk siam Pontianak bergejala kudis dengan kode isolat BKS 1 memiliki bentuk koloni yang circular

(bulat), tepian yang entire (rata), koloni berwarna white (putih) dan elevasi raised (ketinggian nyata terlihat, namun rata pada seluruh permukaan) (Tabel 1). BKS 1 memiliki sel yang berbentuk bacil dengan sifat gram negatif (Tabel 2). Karakter fisiologi berdasarkan uji biokimia menunjukkan bahwa bakteri BKS 1 bersifat positif uji urea pada media uji urea agar base, tidak mampu memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa, memiliki enzim katalase, bersifat positif methyl red, bersifat positif indol, bersifat negatif ornithin, bersifat motil yang menandakan bakteri dapat bergerak menggunakan flagel, dan tidak menghasilkan endapan H₂S (Tabel 3).

Isolat bakteri yang diisolasi dari daun jeruk siam Pontianak bergejala kudis dengan kode isolat BKS 2 memiliki bentuk koloni yang *circular* (tak beraturan), tepian yang entire (rata), koloni berwarna white (putih) dan elevasi flat (datar) (Tabel 1). BKS 2 memiliki sel yang berbentuk *coccus* dengan sifat gram negatif (Tabel 2). Karakter fisiologi berdasarkan uji biokimia menunjukkan bahwa bakteri BKS bersifat negatif uji urea pada media urea agar base, tidak mampu memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa, memiliki enzim katalase, menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, bersifat positif methyl red, bersifat positif indol, bersifat negatif ornithin, bersifat motil yang menandakan bakteri dapat bergerak menggunakan flagel, dan tidak menghasilkan endapan H₂S (Tabel 3).

Isolat bakteri dari daun jeruk siam Pontianak bergejala kudis dengan kode isolat BKS 3 memiliki bentuk koloni yang irregular (tak beraturan), tepian yang entire (rata), koloni berwarna white (putih) dan elevasi flat (datar) (Tabel 1). Bentuk sel isolat BKS 3 *bacil* dan sifat gram negatif (Tabel 2). Karakter fisiologi berdasarkan uji biokimia menunjukkan bahwa bakteri BKS 3 bersifat positif uji urea pada media uji urea agar base, tidak mampu memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa, memiliki enzim katalase, menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, bersifat negatif methyl red, bersifat negatif indol, bersifat negatif ornithin, bersifat motil yang menandakan bakteri dapat bergerak menggunakan flagel, dan tidak menghasilkan endapan H₂S (Tabel 3).

Tabel 3. Karakter Fisiologi Bakteri yang diisolasi dari BERGEJALA KUDIS

| Karakter | Kode isolat | | |
|------------------------------|-------------|-------|-------|
| | BKS 1 | BKS 2 | BKS 3 |
| Urease | + | - | + |
| Glukosa | - | - | - |
| Laktosa | - | - | - |
| Sukrosa | - | - | - |
| Katalase | + | + | + |
| Sitrat | - | + | + |
| MR | + | + | - |
| Ornithin | - | + | - |
| Indol | + | - | - |
| Motilitas | + | + | + |
| Oksidatif/ Fermentatif | NR | F | F |
| Pembentukan H ₂ S | - | - | - |

Pembahasan

Karakteristik Bakteri yang diisolasi dari Daun Tanaman Jeruk Siam BERGEJALA KUDIS

Isolat bakteri BKS 1 dan BKS 3 memiliki sel yang berbentuk bacil tersusun tunggal, bersifat gram negatif, motil, dan menghasilkan enzim katalase yang merupakan karakteristik dari bakteri genus *Xylophilus*. Berdasarkan Holt *et al.* (1994), bakteri anggota genus *Xylophilus* bersifat gram negatif, sel berbentuk bacil tersusun tunggal maupun berkelompok, motil, reaksi isolat bakteri terhadap uji katalase positif, yang ditunjukkan dengan adanya pembentukan gelembung udara. Hasil penelitian Shinta (2018) menunjukkan bahwa anggota genus *Xylophilus* bersifat gram negatif, sel berbentuk bacil, reaksi isolat terhadap uji katalase positif, bakteri bersifat motil, bakteri mampu menguraikan glukosa secara fermentatif, dan reaksi isolat terhadap uji pembentukan H₂S negatif.

Isolat bakteri BKS 2 memiliki sel yang berbentuk coccus yang tersusun beraturan dalam rantai, bersifat gram negatif, motil, dan menghasilkan enzim katalase yang merupakan karakteristik dari bakteri genus *Burkholderia*. Berdasarkan Holt *et al.* (1994), bakteri anggota genus *Burkholderia* bersifat gram negatif, sel berbentuk *coccus* tersusun tunggal maupun beraturan dalam rantai, motil, reaksi isolat terhadap uji katalase positif, yang ditunjukkan dengan adanya gelembung udara.

Kesimpulan

Bakteri yang ditemukan dari hasil isolasi dari daun jeruk siam Pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) yaitu diduga anggota spesies *Xylophilus* sp. (BKS 1), *Burkholderia* sp. (BKS 2), dan *Xylophilus* sp. (BKS 3).

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dalam pihak yang telah membantu dalam proses penelitian.

Referensi

- Barrow GI, Feltham RK. (1993). *Cowan and Steel Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Cambridge University Press.
- Benson. (2001). *Microbiological Application Lab Manual*. McGraw- Hill Companies.
- Dinas Tanaman Pangan dan Hortikultura. (2021). Urgensi jagung dalam kebutuhan pangan. *Buletin: Pasokan & Harga Pangan*, 2–4. 2615-3807
- Hadioetomo, R. S. (1993). *Mikrobiologi dasar dalam praktek*. Gramedia Pustaka Utama.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology* (9th ed.). Lippincott Williams and Wilkins.
- Irianto K. (2007). *Mikrobiologi Menguk Dunia Mikroorganisme*. Bandung: Yrama Widya.
- Kristiandi K, Fertiasari R Yunita NF, Astuti TW, Sari D. (2021). Analisis Produktivitas dan Luas Tanaman Jeruk Siam Sambas Tahun 2015-2020. *Jurnal Pemikiran Masyarakat Ilmiah Berwawasan Agribisnis*. 7(2):1747-1755. doi: 10.25157/ma.v7i2.5607
- Lim D. (2006). *Microbiology*. New York: McGraw-Hill.
- Ningsih R, Mukarlina, Linda R. (2012). Isolasi dan Identifikasi Jamur dari Organ Bergejala Sakit pada Tanaman jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*). *Jurnal Protobiont*. 1(1). Doi: 10.26418/protobiont.v1i1.586
- Ratna S. (2012). *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur dasar Laboratorium*. Jakarta : Gramedia.
- Setiawan. (1992). *Jeruk Siam*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sudarsono A. (2008). *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara (Lepidocibium flavobronneum)* [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Waluyo L. (2008). *Teknik Metode Dasar Mikrobiologi*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Yunasfi. (2008). *Serangan Patogen dan Gangguan terhadap Proses Fisiologis Pohon*, Medan: Universitas Sumatera Utara.