

## **Kaedah nanoteknologi dalam pengesanan patogen tanaman**

(Nanotechnology techniques in plant pathogen detection)

Rafidah Abd Rahman, Hazalina Zulkifli, Suria Mohd Saad, Rashid Mat Rani, Zamri Ishak, Mohamad Roff Mohd Noor dan Nazree Derman

### **Pengenalan**

'Nano' berasal daripada perkataan Greek yang bermaksud kecil. Jika diterjemahkan dalam bentuk ukuran, satu nano bersamaan satu per bilion meter atau 0.000000001 m. Oleh kerana nano merujuk kepada saiz yang sangat kecil (1 – 100 nm), ia juga boleh disebut sebagai ilmu halus. Namun ilmu halus yang diperkatakan bukanlah ilmu ghaib, tetapi ilmu bahan seni yang penuh dengan fakta dan kenyataan. Nanoteknologi telah banyak memberi manfaat kepada manusia melalui perubatan, komunikasi, pembuatan dan pelbagai lagi aspek kehidupan masyarakat moden.

Jika 50 tahun lalu, teknologi ini merupakan angan-angan seorang ahli sains yang bernama Richard Feynman, namun hari ini sebahagiannya telah mula menjadi kenyataan. Kertas kerja Feynman yang dibentangkan dalam tahun 1959 bertajuk 'Plenty of room at the bottom' merupakan titik permulaan bagi perkembangan nanoteknologi manakala pada tahun 1974, seorang saintis Jepun Norio Taniguchi pula telah memperkenalkan perkataan 'nanotechnology' yang ketika itu digunakan bagi menjelaskan proses penggunaan alat dengan had kurang daripada mikrometer (satu juta per meter).

Malaysia juga tidak ketinggalan melibatkan diri dalam arus perkembangan nanoteknologi melalui pelancaran pusat Inisiatif Nanoteknologi Nasional (INN) pada 19 September 2006 oleh Dato' Sri Mohd Najib Tun Abd Razak yang pada masa itu merupakan Timbalan Perdana Menteri. Beliau telah menggariskan penggunaan nanoteknologi dalam pembangunan sains, teknologi, industri dan ekonomi yang mampan. Kementerian Sains, Teknologi dan Inovasi (MOSTI) telah diberikan kepercayaan untuk melebarkan perancangan dan perkembangan INN. Selain itu, bagi merealisasikan hasrat kerajaan dalam membangunkan nanoteknologi di Malaysia, penubuhan sebuah badan yang dikenali sebagai Direktorat Nanoteknologi Kebangsaan (NND) telah diluluskan oleh kabinet pada 2010. Berbekalkan dana sebanyak RM2.63 juta, NND mula beroperasi di bawah MOSTI untuk melaksanakan inisiatif nanoteknologi. NND berfungsi sebagai pemacu inisiatif nanoteknologi kebangsaan, merangka strategi, menyelaras aktiviti kajian serta penyelidikan dan pembangunan (R&D). Selain itu, NND juga bertanggungjawab mengukuhkan pusat penyelidikan nanoteknologi sedia ada dengan menyokong pembangunan kemudahan penyelidikan yang terkini.

### **Nanoteknologi dalam pertanian**

Sektor pertanian dianggap sebagai penyumbang utama kepada pembangunan ekonomi di beberapa negara termasuk Malaysia. Namun demikian, cabaran utama yang masih membelenggu sektor pertanian seperti permintaan yang semakin meningkat terhadap bekalan makanan yang selamat serta berkualiti tinggi, ancaman cuaca yang berubah-ubah, peningkatan risiko penyakit tanaman dan lain-lain perlu ditangani dengan lebih serius oleh semua pihak yang terlibat.

Nanoteknologi mempunyai potensi untuk membawa perubahan kepada industri pertanian dan makanan dengan penciptaan alat baru bagi mengesan dan merawat penyakit tanaman dan juga meningkatkan keupayaan penyerapan nutrien oleh tumbuhan, mendiagnosis penyakit tanaman dan haiwan menggunakan molekul protein dan analisis sampel tanaman untuk menguji kualiti menggunakan aplikasi cip DNA. Terdapat banyak produk berasaskan nanoteknologi yang boleh diaplikasikan dalam sektor pertanian sedang dibangunkan dan sesetengahnya telah berada di pasaran. Sebagai contoh, 'baja pelepasan perlahan' telah digunakan secara meluas dalam bidang pertanian di Eropah, Amerika Syarikat, Jepun dan Taiwan. Beberapa syarikat perladangan besar di Malaysia juga telah mula berminat dalam penggunaan baja jenis ini yang dikatakan dapat meningkatkan hasil pertanian daripada 20 – 50%. *Jadual 1* menunjukkan cabaran utama dalam bidang agropertanian dan kelebihan nanoteknologi untuk mengatasi masalah tersebut.

Jadual 1. Cabaran utama dalam bidang agropertanian dan kelebihan nanoteknologi untuk mengatasinya

Cabaran utama	Kelebihan nanoteknologi
Isu keselamatan makanan	1) Penciptaan alat baru untuk pengesanan dan perawatan penyakit 2) Meningkatkan keupayaan tumbuhan untuk menyerap nutrien
Ancaman penyakit dan bencana alam	Gabungan bioteknologi dan nanoteknologi dalam pembangunan sensor dapat meningkatkan sensitiviti alat dan seterusnya membolehkan respons awal kepada penyakit

### **Nanoteknologi dalam pengesanan penyakit tumbuhan**

Teknologi nano membantu dalam usaha pengesanan penyakit tumbuhan melalui penciptaan alat diagnostik untuk mengesan penyakit. Diagnostik penyakit tanaman di peringkat awal amat penting untuk melindungi hasil pertanian daripada jangkitan bakteria, kulat dan virus. Dalam bidang pertanian, pemeriksaan dan rawatan dalam amalan pertanian melibatkan:

- Pengesanan vektor dan pengawalan perosak
- Pemantauan penyakit

Teknik pengesanan yang ideal ialah teknik yang dapat memberi keputusan dengan pantas, mudah, mudah alih, tepat dan tidak memerlukan teknik yang rumit untuk beroperasi sehinggakan seorang petani juga dapat menggunakannya.

#### ***Teknik pengesanan secara nanobiosensor***

Kepentingan menangani jangkitan penyakit pada tanaman dapat dilihat apabila Malaysia bawah dasar NKEA, menyenaraikan penyakit buah-buahan dan sayur-sayuran sebagai projek permulaan (EPP) dengan mengenal pasti beberapa tanaman utama untuk diberi tumpuan iaitu betik, pisang, cili dan tomato. Selain penyakit tanaman, isu kontaminasi dan keselamatan makanan juga turut diberi perhatian. MARDI telah menggunakan nanoteknologi dalam penyelidikan bagi mengesan sisa antibiotik di dalam produk daging ayam segar, mengesan kehadiran mikotoksin di dalam makanan ternakan dan mengesan penyakit tanaman seperti mati rosot betik, antraknos dan serangan Cucumber Mosaic Virus (CMV). *Gambar 1* menunjukkan antara hasil penyelidikan di MARDI yang menggunakan teknologi nano.

#### ***DNA daripada perspektif nanoteknologi***

CMV merupakan virus paling lazim menjadi penyebab kepada kemusnahan tanaman di Malaysia (*Gambar 2*). Virus ini merupakan patogen tumbuhan dan mempunyai hos yang besar (1,000 spesies tumbuhan dalam 85 famili). Ia disebarkan oleh vektor seperti afid, jentera pertanian, peralatan dan benih yang tercemar. Kerugian hasil tanaman akibat serangan virus ini dianggarkan antara 10 – 15% dan boleh mencapai sehingga 60% jika tanaman dijangkiti pada peringkat awal.

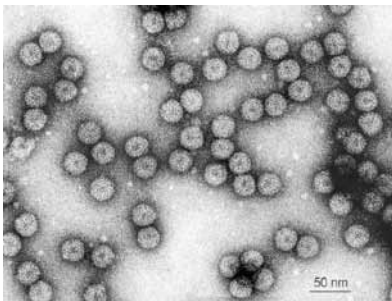
Serangan CMV di Malaysia telah dilaporkan menjangkiti tanaman seperti cili, tomato, timun, tembakau dan juga rumpai. Tanaman yang diserang CMV akan menunjukkan gejala seperti perencatan pertumbuhan, daun bernekrosis dan berklorosis seperti yang ditunjukkan dalam *Gambar 3*. Pengesanan jangkitan virus ini biasanya dilakukan berdasarkan simptom yang boleh dilihat oleh mata kasar. Namun, simptom-simptom yang biasa ditunjukkan ini selalunya dikaburi dengan simptom kekurangan nutrien.

Kaedah pengesanan CMV secara konvensional melibatkan penyediaan sampel yang remeh, asai yang memakan masa, keperluan kepada kakitangan terlatih untuk melaksanakan analisis selain menggunakan bahan kimia berbahaya. Menyedari akan masalah ini, satu kajian untuk membangunkan sensor DNA elektrokimia bagi pengesanan awal jangkitan virus CMV sedang dijalankan di MARDI. Sensor elektrokimia ini mempunyai kelebihan dari segi penggunaan kuantiti sampel yang sedikit, masa pengesanan yang pendek serta lebih sensitif berbanding dengan kaedah konvensional.

Kajian ini dimulakan dengan propagasi CMV pada daun timun dan tembakau di peringkat kotiledon. Seterusnya, sebanyak 100 mg daun digunakan untuk setiap pengekstrakan RNA. Daun



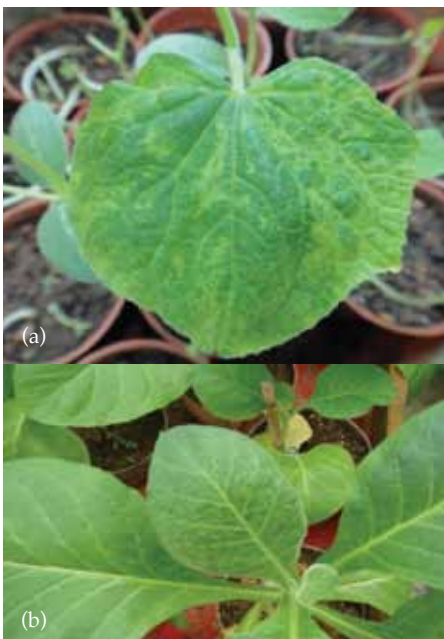
Gambar 1. Antara hasil penyelidikan MARDI yang menggunakan teknologi nano.  
 (a) Kit pengesanan sisa antibiotik di dalam produk daging ayam segar  
 (b) Kit pengesanan aflatoxin B<sub>1</sub>



Gambar 2. Pembesaran struktur virus CMV menggunakan mikroskop elektron



Gambar 4. Gel ujian pengesanan primer universal menggunakan daun timun dan tembakau terinfeksi CMV. Dari kiri, Jalur 1:100 pasangan bes penanda DNA, Jalur 2: Non-Template Control, Jalur 3: Daun tembakau sihat, Jalur 4: Daun tembakau terinfeksi, Jalur 5: Daun timun sihat dan Jalur 6: Daun timun terinfeksi



Gambar 3. Simptom-simptom jangkitan CMV pada (a) daun timun (b) daun tembakau



Gambar 5. Screen printed gold electrode (SPGE)

dikisar menggunakan lesung dan alu sebelum pengekstrakan RNA dilakukan menggunakan reagen TRIZOL (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Kepekatan RNA telah ditentukan menggunakan spektrofotometer UV (Perkin Elmer). Kehadiran CMV pada daun terinokulasi disahkan melalui RT-PCR menggunakan primer universal yang mensasarkan gen kot protein yang menghasilkan produk bersaiz kira-kira 316 pasangan bes seperti dalam *Gambar 4*.

Langkah seterusnya adalah untuk pengoptimuman modifikasi elektrod 'screen printed gold electrode' (SPGE) (*Gambar 5*). Proses ini akan mengesan aktiviti elektrokimia melalui analisis 'chronoamperometry' menggunakan alat potentiostat. Langkah ini bertujuan untuk mengenal pasti sama ada terdapat perbezaan dari segi potensi antara DNA CMV terhibridisasi dengan DNA pelengkap bagi CMV. Projek ini masih dalam peringkat pelaksanaan, namun diharapkan penemuan yang diperolehi dapat menyumbang ke arah pembangunan kearah diagnostik CMV yang lebih baik menggunakan teknologi nano.

### **Kesimpulan**

Selain menerapkan konsep pertanian sebagai satu perniagaan, konsep inovasi juga harus diambil berat untuk diaplikasi dalam sektor pertanian. Inisiatif tersebut amat diperlukan untuk terus memartabatkan lagi bidang pertanian sebagaimana di negara Eropah dan negara maju yang lain. Oleh itu, nanoteknologi dilihat sebagai salah satu alternatif bagi meningkatkan inovasi dalam pertanian. Walaupun secara amnya persepsi bahawa aplikasi nanoteknologi kebanyakannya tertumpu kepada aplikasi elektronik dan komunikasi, namun sebenarnya ia mempunyai keupayaan yang amat besar.

Berdasarkan hasil penemuan memberangsangkan oleh penyelidik MARDI dalam penyelidikan kaedah pengesanan pantas penyakit tanaman menggunakan pendekatan nanoteknologi, dapat disimpulkan bahawa bidang ini berupaya menjadi alternatif kepada teknologi yang sedia ada. Teknologi baru ini diharap dapat menjadi pelengkap dan bukannya pengganti kepada teknologi konvensional dalam usaha untuk mendapatkan maklumat yang berguna dalam pencegahan penyakit tumbuhan.

### **Penghargaan**

Penulis ingin merakamkan setinggi-tinggi penghargaan kepada ketua subprojek dan semua kolaborator projek *Development of nanobiodiagnostic for CMV detection* yang telah banyak menyumbang dalam pembangunan projek ini. Turut tidak dilupakan individu yang telah terlibat secara langsung atau tidak langsung dalam menjayakan projek ini. Penghargaan khas juga ditujukan kepada Direktorat Nanoteknologi Kebangsaan atas penganugerahan geran RB5023NF10 yang telah menyumbang dana untuk projek ini.

## **Bibliografi**

- Boonham, N., Glover, R., Tomlinson, J. dan Mumford, R. (2008). Exploiting generic platform technologies for the detection and identification of plant pathogens. *European Journal of Plant Pathology* 121: 355 – 363
- El-Sanousi, O.M. (1997). Differentiation and genetic studies of several isolates of cucumber mosaic virus. Ph.D. Thesis, Universiti Putra Malaysia
- Mohamad Roff, M.N. dan Anang, S.H. (1989). Virus diseases in Malaysian vegetables. *Teknologi Sayur-sayuran* 5: 1 – 6
- Nayak, M., Kotian, A., Marathe, S. dan Chakravorty, D. (2009). Detection of microorganisms using biosensors-A smarter way towards detection techniques. *Biosensors and Bioelectronics* 25: 661 – 667
- Rosi, N.L. dan Mirkin, C.A. (2005). Nanostructures in biodiagnostics. *Chemical Reviews* 105: 1547 – 1562
- Sharon, M., Kr. Choudhary, A. dan Rohit, K. (2010). Review article nanotechnology in agricultural diseases and food safety. *Journal of Phytology* 2(4): 83 – 92
- Sidek, Z. dan Sako, N. (1996). Isolation of five viruses naturally infecting cucurbit plants in Malaysia. *Journal of Bioscience* 7: 114 – 121
- Sidek, Z., Barin, J. dan Sulaiman, I. (1999). Weed hosts of cucurbit viruses. *Agro-Search Research Bulletin* 6(1): 1 – 3
- Webster, C.G., Wylie, S.J. dan Jones, M.G.K. (2004). Diagnosis of plant viral pathogens. *Current Science* 86 (12): 1604 – 1607

## **Ringkasan**

Pengesanan virus dan patogen berbahaya yang menjangkiti tanaman adalah penting bagi memastikan hasil pertanian bebas serta selamat daripada pencemaran penyakit yang boleh membawa kepada kemusnahan serta kerugian yang besar. Kini, terdapat pelbagai teknik mengesan virus dan patogen yang pantas serta boleh dipercayai telah berjaya dibangunkan dan usaha bagi meningkatkan keberkesanan teknik ini masih diteruskan bagi mendapatkan hasil yang lebih optimum. Teknologi nano merupakan salah satu bidang penyelidikan saintifik yang mempunyai potensi untuk diaplikasikan bukan sahaja dalam pembangunan teknologi pengesanan, namun ia boleh diterokai agar dapat digunakan dalam aktiviti penyelidikan terutama yang melibatkan bidang agro-pertanian. Artikel ini memperincikan beberapa penyelidikan nanoteknologi semasa yang digunakan untuk pertanian serta potensi untuk diaplikasikan dalam bidang baru nanoteknologi agropertanian pada masa hadapan.

## **Summary**

Detection of harmful viruses and pathogens that infect plants is essential to ensure free and safe agricultural products from contamination of diseases that can lead to destruction and huge losses. Currently, various techniques to detect viruses and pathogens rapidly and reliably have been successfully developed and efforts to increase the effectiveness of these techniques are still ongoing to obtain more optimal results. Nanotechnology is one of the fields of scientific research that has the potential to be applied, not only in the development of detection technologies, but it can be explored in order to be used in research activities, particularly those involving the field of agro-farming. This article discusses some of the current nanotechnology research that is used for agriculture and its potential application in the new field of nanotechnology agro-farming in the future.

**Pengarang**

Rafidah Abd Rahman  
Pusat Penyelidikan Bioteknologi, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,  
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur  
E-mel: arafidah@mardi.gov.my

Hazalina Zulkifli, Suria Mohd Saad, Rashid Mat Rani dan Zamri Ishak  
Pusat Penyelidikan Bioteknologi, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,  
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur

Mohamad Roff Mohd Noor  
Pusat Penyelidikan Hortikultur, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,  
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur

Nazree Derman  
Institut Kejuruteraan Nano Elektronik, Universiti Malaysia Perlis,  
01000 Kangar, Perlis