

## **Kajian verifikasi dan validasi teknik biosensor untuk pengesanan awal penyakit jalur daun bakteria padi terhadap sampel terinfeksi secara aruhan pada tanaman padi**

(Verification and validation studies for biosensor technique for the early detection of rice bacterial leaf streak disease in inoculated samples)

Hazana Razali, Nur Azura Mohd Said, Mohd Shahrin Ghazali, Mohd Afendy Abdul Talib, Noor Azlina Masdor, Mohammad Rejab Ismail, Nor Fazmimi Nor Azeme, Kogeethavani Ramachandran dan Faridah Salam

### **Pengenalan**

Saban tahun, lebih 40% kerugian hasil tanaman padi telah dilaporkan disebabkan oleh serangan serangga perosak, jangkitan penyakit dan infestasi rumpai. Sepanjang Mac 2014 sehingga Mei 2015, penyakit jalur daun bakteria (*bacterial leaf streak*) atau lebih dikenali sebagai BLS telah dikesan pada tanaman padi di beberapa negeri Semenanjung Malaysia seperti di Selangor, Kedah dan Kelantan. Hampir setiap tahun kes jangkitan penyakit BLS dilaporkan di kawasan MADA, Kedah iaitu pada tahun 2014 telah dilaporkan seluas 105.4 hektar tanaman padi telah dijangkiti manakala 1,093.7 hektar pada musim kedua penanaman 2015 dan 203.90 hektar pada musim pertama penanaman 2016. Pelbagai amalan pengurusan penyakit tumbuhan seperti penggunaan kawalan kimia atau biologi dan pengubahsuaian sistem penanaman telah digunakan untuk mengurangkan kerosakan disebabkan oleh penyakit BLS. Namun demikian, aspek lain pengurusan penyakit tanaman yang perlu diberi perhatian adalah pengesanan penyakit tanaman yang dapat membantu mengurangkan kerosakan dan kerugian kepada ekonomi negara akibat serangan penyakit.

Penyakit ini boleh dikenal pasti melalui pemerhatian ke atas simptom jalur-jalur berair jernih yang timbul di antara urat-urat daun padi serta warna daun yang kekuningan atau keperangan. Terdapat juga rembesan bakteria pada jalur dan apabila serangan pada tahap yang teruk, daun akan menjadi kering (*Gambar 1*). Walau bagaimanapun, pengesanan penyakit ini berdasarkan pengesanan simptom sahaja adalah kurang tepat dan tidak dapat disahkan secara saintifik. Pada peringkat akhir serangan, simptom penyakit jalur daun kebiasaannya boleh menyerupai seakan-akan

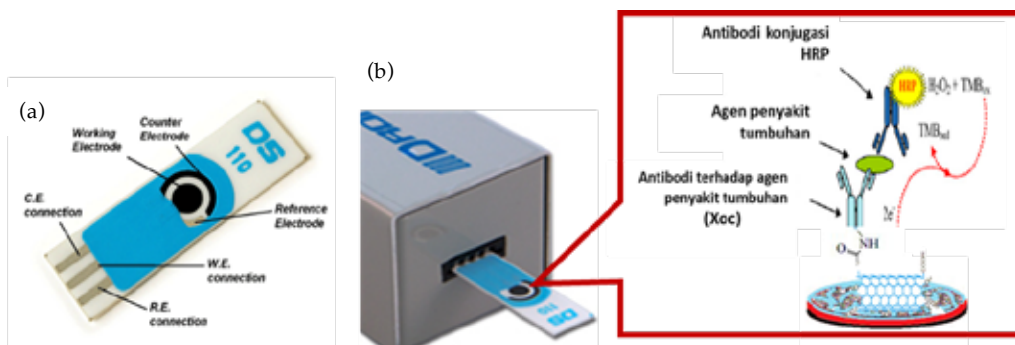


*Gambar 1. Daun pokok padi yang mempunyai simptom penyakit jalur daun bakteria (BLS)*

penyakit hawar daun bakteria (*bacterial leaf blight*) dan ini menyukarkan pengesanan yang dibuat secara mata kasar. Antara alternatif kepada proses pengesanan adalah secara penentuan molekular. Namun begitu, kaedah penentuan penyakit secara teknik biologi molekul seperti tindak balas polimer berantai (PCR) pula memerlukan pengendali yang mahir dan terlatih selain masa analisis yang panjang.

Kaedah biosensor kian digemari dalam pengurusan penyakit tanaman kerana pengesanan yang pantas berikutan sistemnya yang stabil, sesuai dikendalikan di lapangan dengan alatan mudah alih dan sensitif. Berbanding dengan biosensor lain (optikal, pizelektrik dan lain-lain), biosensor elektrokimia lebih mendapat perhatian disebabkan oleh kos yang rendah, penggunaannya yang mudah dan senang dibawa. Dalam kajian ini, teknik biosensor berasaskan antibodi ataupun dikenali sebagai immunosensor, dipilih berikutan pengendaliannya yang mudah serta pengesanan yang pantas dan sensitif dalam mengesan kehadiran patogen. Immunosensor dilaporkan mempunyai potensi yang besar untuk pengesanan patogen dalam penyakit tumbuhan kerana kemampuannya untuk mengesan patogen dalam pelbagai matriks seperti air dan biji benih. Tidak seperti teknik molekul yang memerlukan peralatan dan kemudahan makmal, analisis biosensor dapat dijalankan terus di lapangan dengan adanya alat pembaca yang bersifat mudah alih.

Dalam kajian ini, kaedah biosensor elektrokimia untuk pengesanan awal kehadiran bakteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc), agen penyebab penyakit BLS telah dibangunkan dengan menggunakan elektrod karbon bercetak skrin [*screen-printed carbon electrode* (SPCE)] [Gambar 2(a)]. Kaedah pengesanan yang diadaptasi daripada *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) mencerap perubahan arus yang terhasil daripada tindak balas antibodi-konjugasi enzim *horseradish peroxidase* (HRP) dengan substrat tetrametilbenzidin (TMB) dan keputusan yang diperolehi dipaparkan pada skrin alat pembaca biosensor.



Gambar 2. (a) Elektrod karbon bercetak skrin (SPCE) Dropsens yang digunakan dalam kajian (b) Modifikasi permukaan SPCE bagi pemegungan antibodi terhadap Xoc

### **Pembangunan teknik immunosensor**

Bagi pembangunan biosensor, permukaan elektrod SPCE terlebih dahulu perlu diubah suai secara elektropolimeran selama 900 saat dengan jaringan polimer poli (pirol) dan karbon nanotub. Modifikasi permukaan elektrod ini adalah perlu bagi menambahkan tapak pengaktifan permukaan elektrod untuk pengikatan antibodi. Isolat kultur bakteria bagi kegunaan rujukan patogen penyebab penyakit BLS ialah *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc) 1585 diperolehi daripada *National Collection of Plant Pathogenic Bacteria*, UK. Antibodi poliklonal terhadap bakteria Xoc yang digunakan dalam pembangunan biosensor dihasilkan dan dituliskan di Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi MARDI (nombor kelulusan Animal Ethics Committee MARDI 20171103/R/MAEC27). Permukaan elektrod ini seterusnya diaktifkan dalam campuran agen taut-silang *N*-(3-Dimetilaminopropil)-*N*'-etilkarbodiimida (EDC) dan *N*-hidroksisuksinimida NHS (1:1) untuk pemegangan antibodi terhadap Xoc. Kumpulan berfungsi karboksilik yang masih bebas pada permukaan SPCE dinyahaktifkan dengan bahan kimia etanolamina bagi mengelakkan tindak balas yang tidak spesifik daripada berlaku.

Bagi pengesanan penyakit, sampel padi teraruh dengan bakteria Xoc (antigen) dititiskan ke atas *working electrode* (WE) SPCE. Antigen yang tidak terikat pada antibodi dibasuh dengan larutan PBS. Antibodi anti-Xoc terkonjugat enzim HRP kemudiannya dititiskan pada WE dan arus yang terhasil daripada tindak balas pengikatannya dengan substrat TMB dicerap [*Gambar 2(b)*]. Semua pengubahsuaian elektrod dan analisis biosensor dijalankan pada suhu bilik dengan peralatan Autolab PGSTAT 20 potentiostat dengan perisian NOVA 1.10. (Eco Chemie, Netherlands).

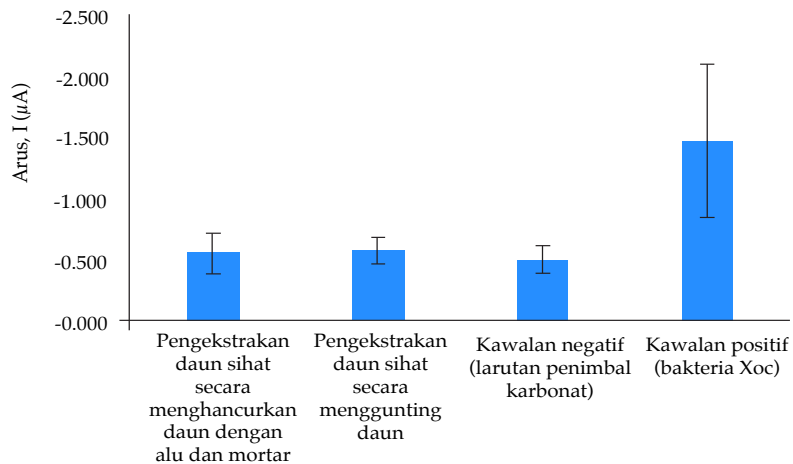
### **Kajian kesan matriks daun padi**

Pemilihan beberapa kaedah pengekstrakan daun padi yang sihat untuk penyediaan sampel analisis biosensor dikaji dan dibandingkan. Kajian ini bertujuan untuk melihat kesan gangguan matriks daun padi terhadap bacaan arus yang terhasil. Kesan matriks daun padi ke atas pengukuran arus elektrokimia menggunakan dua teknik pengekstrakan berbeza iaitu (i) teknik menghancurkan daun dengan alu dan mortar dan (ii) teknik menggunting daun kepada keratan kecil, dibandingkan. Satu set ujian kawalan negatif dan kawalan positif turut dimasukkan sebagai perbandingan. Larutan karbonat-bikarbonat 0.1M pH 9.6 (kepekatan bakteria Xoc 0 CFU mL<sup>-1</sup>) digunakan sebagai kawalan negatif dan BLS 1585 (kepekatan Xoc 10<sup>8</sup> CFU mL<sup>-1</sup>) digunakan sebagai kawalan positif.

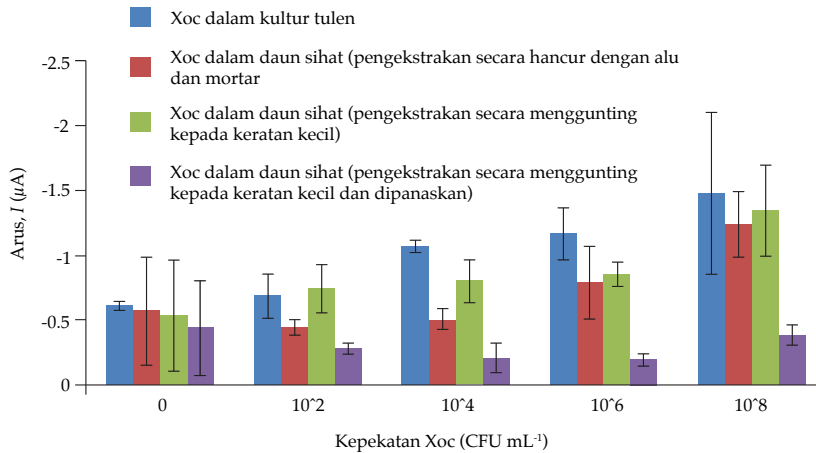
Kedua-dua teknik pengekstrakan daun padi yang disediakan didapati tidak memberikan perbezaan yang ketara dalam pengukuran arus (*Rajah 1*). Bacaan arus pada sampel daun padi sihat menggunakan kedua-dua teknik penyediaan sampel adalah

setara atau tidak melebihi dua kali ganda bacaan arus ujian kawalan negatif ( $-0.5 \mu A$ ) manakala bacaan arus yang diukur ke atas ujian kawalan positif menunjukkan bacaan arus sebanyak  $-1.5 \mu A$  iaitu melebihi dua kali ganda bacaan arus biosensor bagi kawalan negatif.

Seterusnya, graf piawai untuk bakteria Xoc dibangunkan dalam empat medium yang berbeza; i) kultur tulen bakteria, ii) matriks daun sihat yang diekstrak secara gunting, iii) matriks daun sihat yang diekstrak secara hancur dengan alu serta mortar; dan iv) matriks daun diekstrak secara gunting dan dipanaskan pada suhu  $60^\circ C$ . Antara kesemua medium ini, peningkatan arus yang berkadar dengan kepekatan bakteria dapat diperhatikan dalam medium kultur tulen dan di dalam sampel matriks daun padi yang digunting (*Rajah 2*), masing-masing dengan nilai  $R^2 = 0.9611$  dan  $R^2 = 0.8353$ . Manakala perubahan arus dalam medium daun padi yang dihancurkan dan dipanaskan tidak menunjukkan corak perkadaran dengan kepekatan Xoc. Oleh yang demikian, graf piawai bagi Xoc dalam sampel yang digunting akan dijadikan sebagai graf piawai rujukan dalam analisis kepekatan kehadiran bakteria untuk sampel-sampel aruhan berikutnya.



*Rajah 1. Kajian kesan matriks daun padi yang sihat terhadap pengukuran arus elektrokimia menggunakan teknik pengekstrakan hancur dengan alu dan mortar serta gunting*



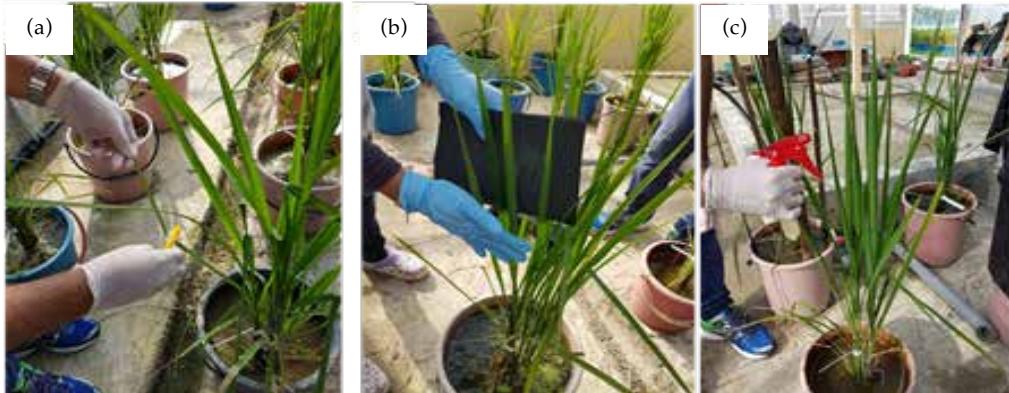
Rajah 2. Pembangunan graf piawai bakteria Xoc dalam empat jenis medium berbeza

### Aruhan bakteria terhadap pokok padi

Plot penanaman pokok padi teraruh penyakit jalur daun dengan inokulasi bakteria Xoc 1585 dilaksanakan di rumah jaring Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, MARDI Serdang. Berus gigi dan radas lain yang digunakan untuk prosedur aruhan penyakit disterilkan menggunakan alat autoklaf sebelum digunakan. Pokok padi diperolehi dari Pusat Penyelidikan Padi dan Beras, MARDI Seberang Perai. Sebanyak enam kumpulan pokok padi yang dilabel dengan T1 – T6 diinokulasi dengan kultur bakteria Xoc strain 1585 pada kepekatan 0 (kawalan negatif dengan air suling), 10<sup>4</sup> dan 10<sup>8</sup> CFU mL<sup>-1</sup> (Jadual 1). Setiap rawatan disediakan dengan tiga replikat dan sejumlah 18 anak pokok secara keseluruhannya digunakan dalam kajian ini. Dua teknik aruhan digunakan dalam penyediaan pokok padi terinfeksi jalur daun iaitu secara memberus dengan berus gigi yang direndam dalam larutan bakteria dan menggosok dengan kertas pasir sebelum semburan bakteria dilakukan (Gambar 3). Sampel daun padi teraruh diambil pada setiap dua hari sehingga hari ketujuh dan pada hari ke-14 bagi analisis pengesanan Xoc dan pengesanan simptom.

Jadual 1. Deskripsi rawatan aruhan infeksi penyakit jalur daun pada pokok padi. Air suling digunakan untuk kepekatan bakteria Xoc 0 CFU mL<sup>-1</sup>

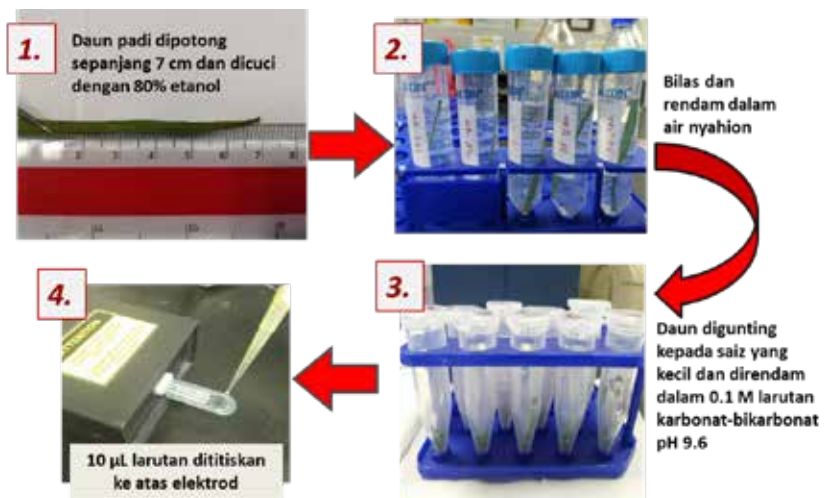
Label	Rawatan aruhan/kepekatan Xoc
T1	Berus (Xoc 0 CFU mL <sup>-1</sup> )
T2	Berus (Xoc 10 <sup>4</sup> CFU mL <sup>-1</sup> )
T3	Kertas pasir dan semburan (Xoc 10 <sup>4</sup> CFU mL <sup>-1</sup> )
T4	Kertas pasir dan semburan (Xoc 0 CFU mL <sup>-1</sup> )
T5	Berus (Xoc 10 <sup>8</sup> CFU mL <sup>-1</sup> )
T6	Kertas pasir dan semburan (Xoc 10 <sup>8</sup> CFU mL <sup>-1</sup> )



Gambar 3. Teknik aruhan untuk infeksi penyakit jalur daun pada pokok padi secara (a) memberus menggunakan berus gigi (b) menggosok dengan kertas pasir (c) diikuti semburan bakteria

### Verifikasi dan validasi sampel padi aruhan

Beberapa helai daun padi diambil sebelum proses aruhan penyakit jalur daun bakteria dijalankan dan digunakan sebagai ujian kawalan negatif. Selepas proses aruhan inokulasi, pensampelan dilakukan pada hari pertama, ketiga, kelima, ketujuh dan ke-14. Bagi penyediaan sampel untuk analisis pengesanan penyakit menggunakan teknik biosensor, daun-daun padi dipotong sepanjang 7 cm di bahagian hujung dan dicuci menggunakan 80% etanol. Keratan daun tersebut kemudian dibilas dengan merendam selama 10 minit dalam air nyahion. Setelah dikeringkan, daun-daun tersebut digunting kepada saiz yang lebih kecil dan direndam semalaman dalam 1 mL 0.1M larutan karbonat-bikarbonat pH 9.6 (Gambar 4). Kehadiran simptom penyakit jalur daun bakteria pada pokok padi secara pengecaman simptom, serta keputusan analisis menggunakan kaedah konvensional *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) dan imunosensor yang dibangunkan seperti dalam *Jadual 2*.



Gambar 4. Penyediaan sampel yang mudah untuk analisis biosensor penyakit padi BLS

Jadual 2. Perbandingan pengesanan kehadiran penyakit jalur daun bakteria pada pokok-pokok padi secara aruhan (replikat 1) dengan kaedah pengesanan simptom, serta kaedah pengesanan kuantitatif menggunakan teknik imunosensor dan ELISA

Sampel	Tempoh inokulasi (hari)	Pegecaman simptom	Kepekatan bakteria Xoc (CFU mL <sup>-1</sup> )	
			Imunosensor	ELISA
T1R1	0	Tiada	Tiada	Tiada
	1	Tiada	Tiada	Tiada
	3	Tiada	Tiada	Tiada
	5	Tiada	Tiada	Tiada
	7	Tiada	Tiada	Tiada
	14	Tiada	Tiada	Tiada
T2R1	0	Tiada	Tiada	Tiada
	1	Tiada	Tiada	Tiada
	3	Tiada	Tiada	Tiada
	5	Tiada	Tiada	Tiada
	7	Tiada	Tiada	Tiada
	14	Ada	Tiada	Tiada
T3R1	0	Tiada	Tiada	Tiada
	1	Tiada	10 <sup>2</sup>	Tiada
	3	Ada	Tiada	Tiada
	5	Ada	Tiada	Tiada
	7	Tiada	Tiada	Tiada
	14	Ada	Tiada	10 <sup>2</sup>
T4R1	0	Tiada	Tiada	Tiada
	1	Tiada	Tiada	Tiada
	3	Tiada	Tiada	Tiada
	5	Tiada	Tiada	Tiada
	7	Tiada	Tiada	Tiada
	14	Tiada	Tiada	Tiada
T5R1	0	Tiada	Tiada	Tiada
	1	Tiada	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>
	3	Ada	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	5	Ada	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>
	7	Ada	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	14	Ada	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
T6R1	0	Tiada	Tiada	Tiada
	1	Tiada	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>
	3	Ada	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>
	5	Ada	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>
	7	Ada	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>
	14	Ada	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>



Pengecaman simptom yang direkodkan adalah berdasarkan pemerhatian kehadiran simptom penyakit BLS pada daun pokok padi tanpa mengambil kira tahap infeksi penyakit. Secara keseluruhannya, pengesanan penyakit jalur daun secara pengecaman simptom hanya dapat dikenal pasti seawal hari ketiga dan kelima. Walau bagaimanapun, didapati teknik biosensor elektrokimia untuk pengesanan penyakit jalur daun yang dibangunkan ini amat sensitif dan mampu mengesan kehadiran bakteria *Xoc* seawal hari pertama lagi pada sampel pokok T5 dan T6 dengan aruhan  $10^8$  CFU mL<sup>-1</sup> bakteria *Xoc*.

Tiada pengecaman simptom penyakit dan kehadiran *Xoc* yang dicerap untuk kesemua sampel kawalan T1 dan T4 (*Xoc* 0 CFU mL<sup>-1</sup>). Untuk pokok padi T2 (aruhan menggunakan berus pada kepekatan *Xoc*  $10^4$  CFU mL<sup>-1</sup>), simptom hanya kelihatan pada hari ke-14. Namun demikian, kehadiran bakteria *Xoc* pada sampel tersebut tidak dapat dikesan oleh kedua-dua teknik immunosensor dan ELISA mungkin disebabkan kepekatan bakteria yang rendah. Selain pokok T3, korelasi yang baik dapat diperhatikan antara teknik immunosensor dan ELISA. Kehadiran dan bilangan koloni bakteria yang diperolehi daripada kedua-dua teknik adalah setara untuk pokok pada rawatan T1, T2, T4, T5 dan T6.

Secara keseluruhan, untuk kesemua sampel rawatan dan replikat ( $n = 90$ ), peratus korelasi yang direkodkan antara analisis biosensor dan ELISA adalah sebanyak 90% (data tidak disertakan). Analisis sampel terpilih untuk replikat 2 (T1R2 – T6R2) menggunakan kaedah biosensor, ELISA dan molekul tindak balas polimer berantai (PCR) pula menunjukkan korelasi 94.4% antara teknik biosensor dengan ELISA dan 83.3% untuk teknik biosensor dengan PCR (data tidak disertakan). Peratus korelasi yang baik ini menunjukkan kebolehpercayaan dan keberkesanan kaedah biosensor yang dibangunkan ini untuk pengecaman penyakit BLS. Kaedah biosensor ini juga telah diuji keberkesanannya di lapangan iaitu di Barat Laut Selangor pada Ogos 2020 menggunakan aplikasi peranti biosensor mudah alih dengan *internet-of-things* (IoT) (Gambar 5).





Gambar 5. Analisis sampel di lapangan menggunakan kaedah biosensor yang dibangunkan dengan teknik pengekstrakan sampel yang mudah

### Kesimpulan

Pembangunan immunosensor elektrokimia telah berjaya dibangunkan bagi pengesanan awal kehadiran bakteria *Xoc* yang menyebabkan penyakit jalur daun bakteria (BLS). Hasil kajian menunjukkan bahawa matriks daun padi tidak memberikan kesan signifikan dalam bacaan arus immunosensor elektrokimia. Graf piawai bagi sampel bakteria yang dimasukkan ke dalam matriks daun padi yang digunting menunjukkan peningkatan arus yang baik dan graf ini dijadikan sebagai rujukan bagi menentukan kehadiran dan kepekatan bakteria dalam sampel aruhan. Peratus korelasi yang baik (83.3 – 94.4%) diperoleh untuk analisis sampel-sampel aruhan menggunakan kaedah biosensor yang dibangunkan dengan kaedah-kaedah konvensional. Dengan adanya kaedah biosensor ini yang dilengkapi peranti mudah alih, pengesanan dapat dilakukan di lapangan dan seterusnya dapat membantu mengawal penyakit BLS dalam industri padi.

### Penghargaan

Penulis merakamkan penghargaan kepada ahli-ahli Kumpulan Penyelidikan *Sub-Projek Peningkatan Hasil dan Kualiti Padi Melalui Bioteknologi Pendahulu* bawah Program Biodiagnostik-Biosensor dan Program Agri-Nanoteknologi, Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi serta Pusat Penyelidikan Padi dan Beras yang terlibat secara langsung atau tidak dalam pelaksanaan projek sepanjang RMK-11.

## Bibliografi

- Fang, Y. dan Ramasamy, R. (2015). Current and prospective methods for plant disease detection. *Biosensors* 5(3): 537 – 561
- Hata, E.M., Sijam, K., Yusof, M.T. dan Zulperi, D. (2019). Occurrence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* causing bacterial leaf streak disease of rice in different state of Malaysia. *Journal of Plant Pathology* 1 – 2
- Hazana, R., Azura, N. dan Faridah, S. (2019). Immunosensor Development for the Detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* in Rice Bacterial Leaf Streak. Transactions Of The Malaysian Society Of Plant Physiology m.s. 315
- Laporan Tahunan MADA (2016). Lembaga Kemajuan Pertanian Muda, Kementerian Pertanian dan Industri Asas Tani Malaysia. Diperoleh dari <http://www.mada.gov.my/wp-content/uploads/2017/11/Laporan-Tahunan-MADA-2016-1.pdf>
- Leenaars, M. dan Hendriksen, C.F. (2005). Critical steps in the production of polyclonal and monoclonal antibodies: evaluation and recommendations. *Ilar Journal* 46(3): 269 – 79
- Mohd Said, N.A., Abdul Talib, M.A., Masdor, N.A., Ghazali, M.S. dan Salam, F. (2017). Penghasilan antibodi terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* untuk pembangunan kit pengesanan penyakit jalur daun dalam sistem pengurusan penyakit padi. *Prosiding Persidangan Padi Kebangsaan 2017*: 337 – 341
- Salam, F. dan Tothill, I.E. (2009). Detection of *Salmonella typhimurium* using an electrochemical immunosensor. *Biosensors and Bioelectronics* 24(8): 2,630 – 2,636
- Uehara-Ichiki, T., Shiba, T., Matsukura, K., Ueno, T., Hirae, M. dan Sasaya, T. (2013). Detection and diagnosis of rice-infecting viruses. *Frontiers in Microbiology* 4(289): 1 – 7
- Wonni, I., Ouedraogo, L. dan Verdier, V. (2011). First report of bacterial leaf streak caused by *Xanthomonas oryzae*pv. *oryzicola* on rice in Burkina Faso. *Plant Disease* 95(1): 72 – 72

## Ringkasan

Satu sistem biosensor berasaskan antibodi untuk pengesanan awal penyakit jalur daun bakteria [*bacterial leaf streak* (BLS)] pada pokok padi telah dibangunkan. Bagi menilai keberkesanan kaedah biosensor ini, analisis terhadap sampel pokok padi yang diinfeksi penyakit secara aruhan telah dilaksanakan. Keputusan yang diperolehi dibandingkan dengan kaedah konvensional serta pengesanan simptom. Satu graf piawai untuk aplikasi biosensor ini dibangunkan dalam matriks daun padi yang digunting. Sampel infeksi disediakan melalui penanaman pokok padi sihat dengan inokulasi bakteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc) 1585 dalam persekitaran rumah jaring yang terkawal. Sebanyak enam rawatan inokulasi bakteria ( $n = 3$ ) dengan dua teknik aruhan berbeza (menggunakan berus dan kertas pasir) pada kepekatan bakteria Xoc 0,  $10^4$  and  $10^8$  CFU mL<sup>-1</sup> telah dijalankan. Sampel daun padi teraruh diambil pada setiap dua hari sehingga hari ketujuh dan pada hari ke-14. Sampel-sampel aruhan inokulasi dianalisis dengan kaedah biosensor menggunakan antibodi poliklonal terhadap Xoc dan pengukuran arus yang terhasil daripada tindak balas antibodi-konjugasi HRP dengan substrat TMB dicerap secara *chronoamperometry*. Analisis keputusan biosensor ini dibandingkan dengan teknik konvensional ELISA dan kedua-dua teknik ini menunjukkan korelasi yang baik iaitu 90% untuk 90 sampel dan tiada bakteria atau kehadiran penyakit yang dikesan pada rawatan kawalan menggunakan air suling (T1 dan T4). Sistem biosensor yang dibangunkan berupaya mengesan kehadiran bakteria Xoc seawal hari pertama selepas aruhan dan sebelum muncul simptom penyakit.

## Summary

An antibody-based biosensor system for early detection of bacterial leaf streak (BLS) disease on rice plants has been developed. To evaluate the effectiveness of the developed method, the biosensor was applied in sample analysis of artificially infected rice plants. The results obtained were then compared with conventional methods and symptom recognition. A standard curve was developed in cut / chopped rice leaves matrix. Artificially infections of healthy rice plants were prepared with inoculation of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Xoc) 1585 in a controlled net house environment. A total of six bacterial inoculation treatments ( $n = 3$ ) with two different induction techniques (i.e. brushing and sandpaper) at bacterial concentrations of Xoc 0,  $10^4$  and  $10^8$  CFU mL<sup>-1</sup> were performed. Induced rice leaf samples were taken every two days until the 7th day and on the 14th day. Inoculation induction samples were analyzed by the biosensor method using polyclonal antibodies against Xoc and current measurements generated from HRP conjugated antibody with TMB substrates were recorded via chronoamperometry. The results were compared with the conventional ELISA technique and these two techniques showed a good correlation of 90% for a total of 90 samples. No bacteria or disease presence was detected in control treatment using distilled water (T1 and T4). The developed biosensor system is able to detect the presence of Xoc bacteria as early as the first day after bacteria exposure and before the appearance of the disease symptoms itself.

## Pengarang

Hazana Razali

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

E-mel: hazana@mardi.gov.my

Nur Azura Mohd Said (Dr.), Mohd Shahrin Ghazali, Mohd Afendy Abdul Talib,  
Noor Azlina Masdor (Dr.), Mohammad Rejab Ismail, Nor Fazmimi Nor Azeme dan  
Faridah Salam (Dr.)

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Kogeethavani Ramachandran

Pusat Penyelidikan Padi dan Beras, MARDI Seberang Perai

13200 Seberang Perai, Pulau Pinang