

## Pengesahan penyakit darah pisang menggunakan strip imunoasai aliran lateral (LFIA) mesra pengguna

[Detection of banana blood disease using user-friendly lateral flow immunoassay (LFIA)]

Mohd Afendy Abdul Talib, Nor Fazmimi Nor Azeme, Khairul Anuar Shafie, Nur Sulastri Jaafar, Siti Noraini Bunawan dan Farah Farhanah Haron

### Pengenalan

Dari segi pengeluaran dan jumlah perdagangan, pisang (*Musa* spp.) adalah tanaman buah terpenting di seluruh dunia. Namun demikian, industri pisang khususnya di Malaysia dan Indonesia teruk diancam oleh penyakit darah pisang atau bakteria penyakit darah pisang (BDB). Pada awal tahun 1900-an, penyakit BDB mula dikenal pasti dari ladang pisang di Kepulauan Salayar berhampiran Sulawesi, Indonesia. Seterusnya, penyakit ini telah tersebar dengan meluas di Jawa pada akhir 1980-an dan kemudian penemuannya direkodkan di Sumatera Utara dan tersebar sehingga 3,500 km di Irian Jaya, timur Indonesia.

Mekanisme penyebaran BDB yang pantas ini adalah tidak jelas, tetapi penyelidik menjangkakan penyakit ini berkemungkinan diakibatkan oleh kombinasi penyebaran serangga dan aktiviti manusia. Penyakit ini pertama kali dikenal pasti di Semenanjung Malaysia iaitu di Perak dan kemudiannya di Selangor. Empat tahun kemudian, penyakit ini telah dilaporkan di Sabah antara 2012 – 2013.

*Ralstonia solanacearum* ialah bakteria patogen yang bertanggungjawab menyebabkan layu bakteria tumbuhan di seluruh dunia kerana hosnya yang pelbagai dan menjangkiti lebih daripada 200 spesies tumbuhan termasuk tanaman famili Solanaceae yang menyebabkan gejala seperti jangkitan pendam. Bakteria ini merupakan salah satu bakteria fitopatogenik yang terkenal turut menyebabkan bakteria layu pada pisang. Berdasarkan beberapa kajian, penyakit darah pisang telah disebabkan oleh *R. solanacearum* filotaip IV atau baru-baru ini dinamakan sebagai *R. syzygii* subsp. *celebensis* (*Rsc*). Perbezaan antara filotaip IV dengan filotaip lain ialah spesies ini tidak menyebabkan jangkitan pada tanaman Solanaceae. Bakteria ini tumbuh dengan perlahan, membentuk koloni bulat yang tidak teratur, berkrim dengan pusat berwarna merah apabila dikultur di atas medium tetrazolium klorida (TZC) Kelman.

Oleh kerana masa yang panjang diperlukan untuk mengesan bakteria dengan kultur konvensional dan kaedah lain seperti ELISA dan PCR, strip pengesahan yang cepat dan mesra pengguna telah dibangunkan dengan menggunakan teknologi imunoasai aliran lateral (LFIA) terhadap *Rsc*. Kajian terdahulu oleh Suriyadi

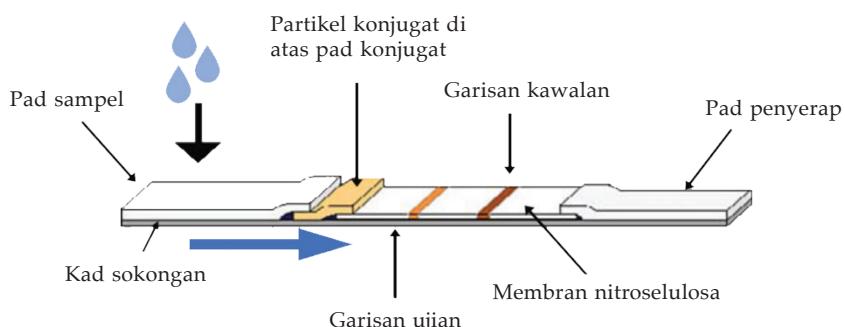
(2009) telah menghasilkan antibodi terhadap *R. solanacearum* yang telah dipencarkan daripada tomato, kentang dan kacang tanah dengan menggunakan kaedah *dot-blot imunosorben* berkait enzim (ELISA) untuk pengesan. Dalam kajian ini, kami telah menghasilkan antibodi terhadap *Rsc* yang telah dipencarkan daripada pisang. Antibodi tersebut kemudian diaplikasikan ke atas teknologi LFIA untuk membolehkan pengesan *Rsc* tersebut. Tanaman pisang simptomatik dan asimptomatik diambil secara rawak di ladang Institut Penyelidikan dan Pembangunan Pertanian Malaysia (MARDI) dan diuji bagi menilai kemampuan pengesan dan prestasi jalur LFIA ke atas sampel pokok pisang.

### Pembangunan imunoasai aliran lateral (LFIA)

Gambar rajah 1 menunjukkan skema komponen yang membentuk strip LFIA. Strip LFIA ini menggunakan antibodi poliklonal yang dihasilkan dalam arnab New Zealand White yang diimunisasi terhadap *Rsc*. Antibodi poliklonal (pAb) IgG anti-*Rsc* dikonjugasi dengan partikel nanoemas (PNE) bersaiz 40 nm dan digunakan sebagai komponen reagen perangkap dalam sistem LFIA.

Komponen pengesan yang terdiri daripada garisan ujian (T) dan garisan kawalan (C) yang masing-masing merangkumi IgG anti-*Rsc* dan IgG antiarnab yang dihasilkan daripada kambing. Konjugat IgG anti-*Rsc*-PNE telah disembur pada kadar 5  $\mu\text{L}/\text{cm}$  dengan menggunakan platform pendispensan XYZ3060<sup>TM</sup> (BIODOT, USA) ke atas pad konjugat gentian kaca (10 mm  $\times$  300 mm) untuk berfungsi sebagai reagen pengesan dalam sistem LFIA.

IgG antiarnab (1 mg / mL) (Thermo Fisher Scientific) dan anti-*Rsc* IgG (1 mg / mL) yang dihasilkan oleh MARDI dijalurkan sebagai garisan C dan T masing-masing pada membran nitroselulosa (25 mm  $\times$  300 mm) yang bertindak sebagai zon perangkap (Rajah 1). Konjugat yang telah disembur dan garisan C dan T yang telah dijalur dikeringkan pada suhu 37 °C dalam ketuhar (Memmert, Germany) dan dibiarkan semalam pada nilai kelembapan relatif (RH) <20% menggunakan kotak kering (Eureka, Taiwan). Pad konjugat, membran nitroselulosa, pad



Gambar rajah 1. Diagram skematik komponen pada strip LFIA

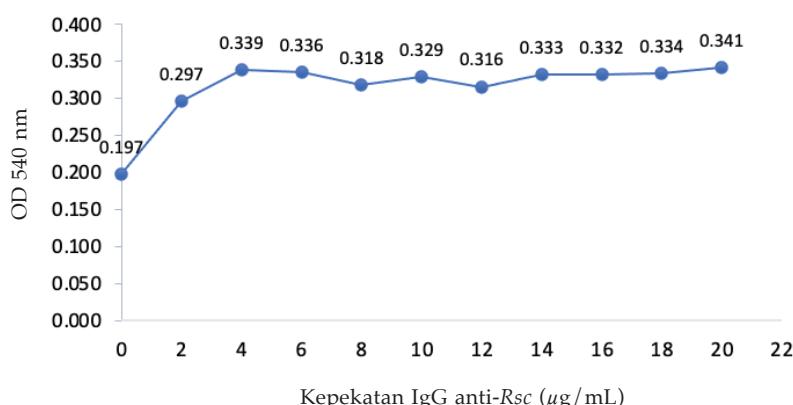
sampel gentian selulosa dan pad penyerap dipasang dengan bertindan 2 mm antara satu sama lain dan dipotong mengikut saiz 3.5 mm lebar bagi setiap strip dengan menggunakan pemotong guillotin CM5000™ (BIODOT, USA) bagi menghasilkan strip individu LFIA bagi ujian seterusnya. Albumin serum bovin (BSA) berkepekatan 1% w/v digunakan sebagai agen penghalang dalam konjugat.

### **Ujian sensitiviti dan spesifisiti strip LFIA**

Strip LFIA individu dengan saiz 3.5 mm × 60 mm diuji dengan kultur *Rsc* dengan kepekatan  $10^3$  –  $10^8$  CFU/mL untuk menentukan had spesifisiti strip tersebut. Sebanyak 10  $\mu\text{L}$  setiap campuran tersebut kemudian diletakkan pada sampel pad strip LFIA. Untuk menguji reaktiviti-silang pAb pada strip tersebut, ujian spesifisiti dijalankan dengan menguji strip tersebut dengan 10  $\mu\text{L}$  kultur *Pantoea amanatis*, *Pseudomonas* spp., *E. mallotivora* dan *Fusarium* spp. masing-masingnya berkepekatan  $10^8$  CFU/mL dicampur dengan 90  $\mu\text{L}$  penimbal lisis. Seratus  $\mu\text{L}$  campuran ini dititiskan ke atas sampel pad strip LFIA. Gambar keputusan diambil selepas 15 minit.

### ***Ujian prestasi strip LFIA dengan sampel kawalan dan sampel lapangan***

Strip LFIA diuji dengan kawalan negatif (PBS), sampel pokok pisang sihat, kultur *Rsc* sebagai kawalan positif dan sampel lapangan daripada pokok pisang bersimptom dan asimptomatik secara visual (*Rajah 1*) dengan dua replikasi sampel. Untuk ujian kawalan positif, 10  $\mu\text{L}$   $10^8$  CFU/mL kultur *Rsc* dicampur dengan 90  $\mu\text{L}$  penimbal lisis. Seratus  $\mu\text{L}$  campuran ini dititiskan ke atas pad sampel strip LFIA. Sampel pokok sihat dan sampel lapangan yang terdiri daripada batang, tangkai dan daun pokok pisang diambil dan ditimbang sebanyak 0.5 g setiap sampel dan dipindahkan ke dalam tiub mikrofuge 1.5 mL. Penimbal lisis



*Rajah 1. Penstabilan optimum kepekatan akhir IgG anti-Rsc dengan nanopartikel emas diuji dengan 10% natrium klorida*

(200  $\mu$ L) ditambah kepada sampel dan kemudian divorteks selama 30 saat dan dibiarkan selama 5 minit. Campuran ini (100  $\mu$ L) kemudian dititiskan ke atas pad sampel strip LFIA. Gambar strip diambil 15 minit selepas campuran sampel dititiskan ke atas pad sampel.

### Keputusan dan perbincangan

Kepekatan kultur *Rsc* yang diperoleh ialah  $3 \times 10^8$  CFU/mL. Ampaian bakteria dalam PBS digunakan sebagai kawalan positif dan juga untuk imunisasi dalam arnab baka 'New Zealand White' untuk memperoleh tindak balas imun terhadap keseluruhan sel bakteria. IgG anti-*Rsc* 1 mg/mL digunakan sebagai penjalur garisan ujian dalam pembangunan LFIA dan dikonjugasi dengan PNE 40 nm menjadi konjugat yang bertindak sebagai label dalam sistem pengesan.

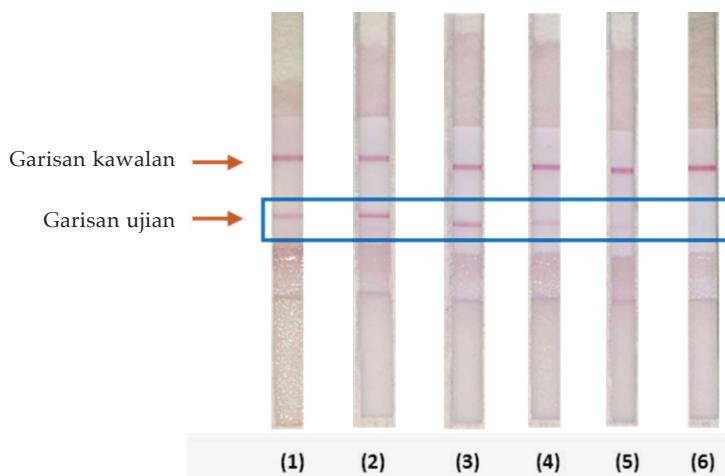
Berdasarkan *Rajah 1*, kepekatan optimum IgG anti-*Rsc* yang menyelaputi permukaan PNE dengan penjerapan pasif ialah 10  $\mu$ g/mL di mana PNE diselaputi dengan IgG pada jumlah berlebihan untuk menstabilkan PNE. Sebarang permukaan PNE yang tidak diselaputi boleh menyebabkan perlekatan tidak spesifik dengan antigen atau bahan lain. Perlekatan tidak spesifik ini boleh menjurus kepada keputusan positif-palsu dalam LFIA.

Penjerapan pasif terbentuk antara PNE beras negatif dan IgG beras positif di mana IgG diposisikan secara rawak ke atas permukaan PNE. Selain itu, salutan IgG yang tidak cukup tidak dapat melindungi PNE daripada agregasi disebabkan oleh cas ion daripada larutan natrium klorida menyebabkan permukaan PNE yang terdedah menjadi tidak stabil dan seterusnya menyebabkannya bergumpal. OD 540 nm yang lebih rendah diperoleh membuktikan fenomena penggumpalan ini. Konjugat akhir 10 OD yang diperoleh, dicampurkan dengan 1% BSA sebagai agen penghalang untuk memenuhi mana-mana permukaan PNE yang tidak berkonjugasi dengan IgG.

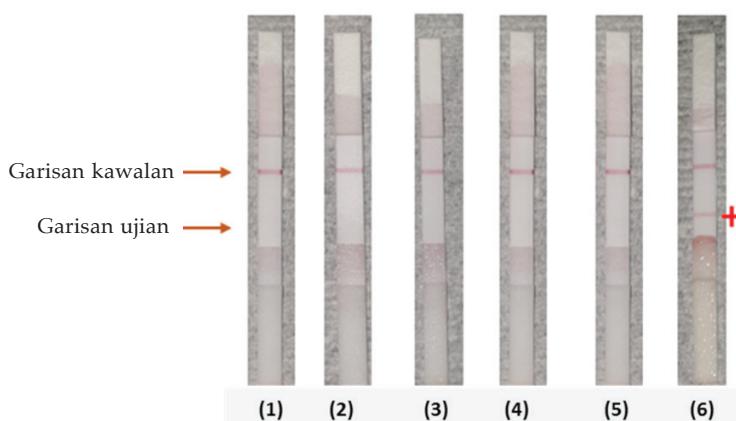
Pad konjugat, membran nitroselulosa, pad sampel dan pad penyerap telah dipasang dengan bertindan 2 mm antara satu sama lain untuk memastikan tindakan kapilari yang cukup untuk aliran lateral dapat dicapai dalam strip yang telah dipasang. Sensitiviti strip LFIA yang diuji dengan  $10^3 - 10^8$  CFU/mL kultur *Rsc* adalah seperti dalam *Gambar 1*. Strip ini menunjukkan isyarat garisan ujian yang berkadar dengan kepekatan *Rsc* yang diuji daripada kepekatan paling tinggi kepada kepekatan terendah. Walau bagaimanapun, pada kepekatan  $10^3$  CFU/mL, tiada isyarat pada garisan ujian dapat dilihat pada strip LFIA tersebut. Had sensitiviti strip LFIA untuk mengesan *Rsc* adalah pada  $10^4$  CFU/mL. Keputusan yang diperoleh ialah 10 kali ganda kepekaan daripada kajian yang dijalankan oleh Hodgetts et al. (2015) di mana LFIA yang dihasilkan boleh mengesan  $10^3$  CFU/mL *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* NCPPB2251. Ujian spesifikasi yang dijalankan terhadap *Pantoea amanatis*, *Pseudomonas* spp., *E. malilotivora* dan *Fusarium* spp. menunjukkan bahawa tiada reaktiviti silang anti-*Rsc* terhadap patogen ini (*Gambar 2*).

Prestasi strip diuji dengan kawalan negatif (PBS dan sampel pokok pisang), kawalan positif, sampel pokok pisang bersimptom dan asimptomatik. Dalam kajian ini, pokok bersimptom dinilai berdasarkan daun yang layu dan perubahan warna pada batang pokok, sementara pokok yang asimptomatik dinilai berdasarkan daun yang hijau dan sihat tanpa perubahan warna pada batang pokok.

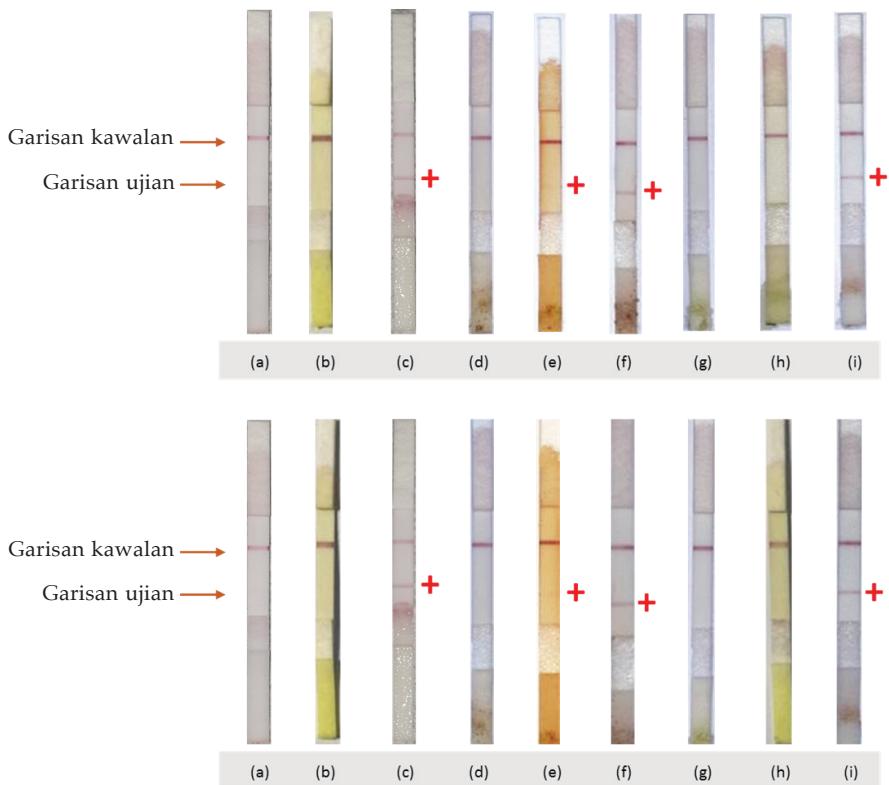
Enam sampel daripada pokok pisang telah diuji menggunakan strip LFIA (*Gambar 3*). Keputusan positif dinilai daripada garisan ujian dan kawalan yang kelihatan di mana keputusan negatif dinilai daripada garisan kawalan sahaja yang kelihatan. Kawalan negatif (PBS dan sampel pokok pisang) menghasilkan keputusan garisan kawalan sahaja seperti dijangka. Namun begitu, sampel



*Gambar 1. Sensitiviti strip LFIA diuji dengan kepekatan  $10^3$  -  $10^8$  CFU/mL Rsc. Keppekatan Rsc pada  $10^8$  CFU/mL (1),  $10^7$  CFU/mL (2),  $10^6$  CFU/mL (3),  $10^5$  CFU/mL (4),  $10^4$  CFU/mL (5) dan  $10^3$  CFU/mL (6)*



*Gambar 2. Spesifikasi strip LFIA diuji dengan sampel, gambar diambil 15 minit selepas campuran sampel dititiskan. Kawalan negatif (1), *Pantoea amanatis* (2), *Pseudomonas* sp. (3), *Erwinia mallotivora* (4), *Fusarium* sp. (5) dan Rsc (6)*



Gambar 3. Strip LFIA diuji dengan sampel pokok pisang simptomatif dan asimptomatif dengan dua replikasi, gambar diambil 15 minit selepas campuran sampel dititiskan. (a) Kawalan negatif, (b) pokok sihat (daun), (c) kawalan positif, Rsc, (d) pokok simptomatif: tangkai, (e) daun, (f) batang dan (g) pokok asimptomatif: tangkai, (h) daun dan (i) batang

pokok memberikan keputusan yang berbeza mengikut bahagian di mana sampel tersebut diambil. Isyarat negatif diperoleh untuk tangkai pokok bersimptom, isyarat positif pula diperoleh apabila diuji dengan sampel daun dan batang, di mana sampel batang memberikan intensiti isyarat yang tinggi berbanding dengan sampel daun yang menunjukkan isyarat yang lemah. Warna latar belakang strip yang keperangan apabila diuji adalah jelas kelihatan kerana sampel yang diambil adalah layu serta berwarna keperangan. Ini adalah berbeza dengan latar belakang strip yang diuji dengan daun sihat yang menunjukkan warna hijau muda. Keadaan sampel sihat/asimptomatif mempunyai korelasi dengan keputusan negatif strip ke atas tangkai dan daun yang diuji. Sebaliknya, isyarat positif didapati dengan sampel batang pokok yang diuji. Kesemua sampel yang diuji dengan strip LFIA telah disahkan dengan keputusan daripada teknik PCR yang menunjukkan korelasi 100% (tidak ditunjukkan). Walaupun batang asimptomatif menunjukkan tiada tanda perubahan warna sebagai petanda yang selalunya akibat daripada jangkitan *Rsc* yang teruk, terdapat kemungkinan yang bakteria tersebut telah menjangkiti batang pokok namun belum sampai ke bahagian tangkai dan

daun, berdasarkan kepada fakta bahawa spesies *Ralstonia* adalah bakteria bawaan tanah. Keadaan ini menjelaskan tentang isyarat negatif daripada tangkai dan daun yang diperoleh dalam kajian ini.

LFIA adalah platform berasaskan membran yang digunakan secara meluas sebagai alat saringan pantas untuk membantu pengguna melakukan saringan pantas patogen sasaran. Keputusan boleh didapati seawal 5 minit dan sehingga 15 minit. Keputusan ujian pantas ini dengan elemen biopenderia, label dan sistem pengesahan membuatkan platform ini menjadi pilihan kepada pembuat dan pengguna keseluruhannya. Secara relatifnya, kos pembangunan yang rendah, isi padu sampel yang sedikit, jangkahayat strip yang panjang, tidak menggunakan tenaga dan tidak memerlukan pengendali terlatih membuatkan LFIA sebagai teknologi yang ideal dan popular untuk pengesahan pelbagai analit. Pengesahan awal dan tepat terhadap jangkitan yang spesifik kepada *Rsc* adalah penting dalam pengurusan penyakit yang efektif dan akan membantu pihak yang berkenaan untuk membuat keputusan yang tepat apabila jangkitan telah berlaku untuk mengawal wabak di ladang pisang dengan kawalan yang lebih baik.

### **Kesimpulan**

Strip LFIA menunjukkan keputusan yang memberangsangkan untuk pengesahan pantas jangkitan *Rsc* dalam pokok pisang berbanding dengan teknik rumit kultur konvensional, PCR dan diagnosis fitopatologi tradisional berdasarkan penilaian visual. Had sensitiviti teknik LFIA yang mampu mengesan  $10^4$  CFU/mL *Rsc* adalah asai yang sesuai untuk digunakan di lapangan ataupun ujian di makmal dalam jangkamasa yang cepat iaitu 15 minit. Strip ini berpotensi digunakan untuk penyaringan pokok pisang yang dijangkiti *Rsc* dan bahan tanaman pisang bebas *Rsc* untuk mengekang penyakit ini dengan pendekatan yang ringkas dan mesra pengguna tanpa memerlukan sebarang peralatan khas.

### **Penghargaan**

Penyelidikan ini telah disokong oleh Kementerian Pertanian dan Industri Makanan (MAFI), Malaysia bawah Dana Pembangunan (No. Projek 21003004050001-2020, P-RB405). Penulis mengucapkan ribuan terima kasih kepada setiap individu yang terlibat dalam pengumpulan sampel dan bantuan teknikal yang menyumbang kepada penghasilan karya ini. Kami juga ingin merakamkan penghargaan kepada penilai dan editor yang telah membantu dalam penambahbaikan artikel ini.

## Bibliografi

- Bakar, R.A.H., Badrun, R., Ahmad, K. dan Abu Bakar, N. (2018). Symptomatology and range of the blood disease bacterium A2 HR MARDI strain (*Ralstonia syzygii* subsp. *celebensis*) on selected hosts. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science* 11(9): 71 – 77
- G. Blomme, M. Dita, K.S. Jacobsen, L.P. Vicente, A. Molina, W. Ocimati, Stéphane Poussier, Philippe Prior (2017). Bacterial diseases of bananas and enset: current state of knowledge and integrated approaches toward sustainable management. *Frontiers in Plant Science* 8: 1 – 25
- IPPC (2016). Occurrence of blood disease of banana (*Ralstonia solanacearum* species complex) in Malaysia. *IPPC Official Pest Report*, No. MYS-01/2. Rome, Italy: FAO. Diperoleh pada 10 Jun 2021 dari <https://www.ippc.int/>
- Ito, S., Ushijima, Y., Fujii, T., Tanaka, S., Kameya-Iwaki, M., Yoshiwara, S. dan Kishi, F. (1998). Detection of viable cells of *Ralstonia solanacearum* in soil using a semiselective medium and a PCR technique. *Journal of Phytopathology* 146: 379 – 384
- Kelman, A. (1954). The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44: 693 – 695
- Kirley, T.L. dan Norman, A.B. (2018). Unfolding of IgG domains detected by non-reducing SDS-PAGE. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 503(2): 944 – 949
- Lazcka, O., Del Campo, F.J. dan Muñoz, F.X. (2007). Pathogen detection: a perspective of traditional methods and biosensors. *Biosensors and Bioelectronics* 22(7): 1205 – 1217
- Mensink, M.A., Frijlink, H.W., Maarschalk, K.V. dan Hinrichs, W.L.J. (2017). How sugars protect proteins in the solid state and during drying (review): Mechanisms of stabilization in relation to stress conditions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 114: 288 – 295
- Nguyen, M. dan Ranamukhaarachchi, S. (2010). Soil-borne antagonists for biological control of bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* in tomato and pepper. *Journal of Plant Pathology* 92(2): 395 – 405
- Olson, B.J.S.C. dan Markwell, J. (2007). Assays for determination of protein concentration. *Current Protocols in Protein Science* 48(1): 1 – 29
- Pontes, N.C., Fujinawa, M.F. dan Oliveira, J.R. (2017). Selective media for detection and quantification of Brazilian *Ralstonia solanacearum* isolates in soil. *Horticultura Brasileira* 35(1): 41 – 47
- Prior, P., Ailloud, F., Dalsing, B.L., Remenant, B., Sanchez, B. dan Allen, C. (2016). Genomic and proteomic evidence supporting the division of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* into three species. *BMC Genomics* 17(1): 1 – 11
- Safenkova, I.V., Zaitsev, I.A., Varitsev, Y.A., Byzova, N.A., Drenova, N.V., Zherdhev, A.V. dan Dzantiev, B.B. (2016). Development of a lateral flow immunoassay for rapid diagnosis of potato blackleg

- caused by *Dickeya* species. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 409: 1,915 – 1,927
- Safni, I., Subandiyah, S. dan Fegan, M. (2018). Ecology, epidemiology and disease management of *Ralstonia syzygii* in Indonesia. *Frontiers in Microbiology* 9: 419
- Sajid, M., Kawde, A. dan Daud, M. (2015). Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review. *Journal of Saudi Chemical Society* 19(6): 689 – 705
- She, X., Yu L., Lan, G., Tang, Y. dan He, Z. (2017). Identification and genetic characterization of *Ralstonia solanacearum* species complex isolates from *Cucurbita maxima* in China. *Frontiers in Plant Science* 8(1794): 1 – 11
- Stover, R.H. dan Espinoza, A. (1992). Blood disease of bananas in Sulawesi. *Fruits* 47: 611–613
- Suryadi, Y. (2009). Development of antibody to *Ralstonia solanacearum* and its application for detection of bacterial wilt. *Biotropa* 16(2): 79 – 87
- Thomas, P. dan Upreti, R. (2014). Significant effects due to peptone in Kelman medium on colony characteristics and virulence of *Ralstonia solanacearum* in tomato. *The Open Microbiology Journal* 8: 95 – 114
- Vasily, G. Panferov, Irina V. Safenkova, Nadezhda A. Byzova, Yuri A. Varitsev, Anatoly V. Zherdev dan Boris B. Dzantiev (2018). Silver-enhanced lateral flow immunoassay for highly-sensitive detection of potato leafroll virus, *Food and Agricultural Immunology* 29: 1,445 – 1,457
- Wang, Y.K., Shi, Y.B., Zou, Q., Sun, J.H., Chen, Z.F. dan Wang, H. (2013). Development of a rapid and simultaneous immunochromatographic assay for the determination of zearalenone and fumonisin B1 in corn, wheat and feedstuff samples. *Food Control* 31: 180 – 188
- Wong, R. dan Tse, H. (2009). *Lateral Flow Immunoassay*. Totowa, NJ: Humana Press
- Wood, L. dan Wright, G.J. (2019). Approaches to identify extracellular receptor-ligand interactions. *Current Opinion in Structural Biology* 56: 28 – 36

### **Ringkasan**

Penyakit darah pisang yang disebabkan oleh bakteria *Ralstonia syzygii* subsp. *celebensis* (*Rsc*) adalah salah satu daripada penyakit yang paling dikenali yang menyebabkan layu bakteria yang teruk pada pisang dan menyebabkan kerugian ekonomi yang besar. Penyakit ini mengancam industri pisang bukan sahaja di Malaysia malah di seluruh dunia. Untuk menguruskan penyakit ini dengan lebih baik, satu kaedah yang pantas, sensitif dan mesra pengguna untuk diagnostik rutin adalah diperlukan. Kajian ini melaporkan pembangunan strip imunoasai aliran lateral (LFIA) menggunakan IgG anti-*Rsc* untuk pengesanan *Rsc*. Strip LFIA yang dibangunkan memperoleh had sensitiviti  $10^4$  CFU/mL *Rsc* dengan masa analisis 15 minit. Prestasi strip pada sampel sebenar telah dijalankan menggunakan sampel daripada pokok pisang yang simptomatik (bersimptom) dan asimptomatik (tidak bersimptom) daripada batang, tangkai dan daun. Keputusan menunjukkan

bahawa strip ini dapat mengesan *Rsc* pada kesemua sampel simptomatik tangkai dan batang. Keputusan positif juga telah diperoleh daripada batang sampel pokok asimptomatik. Kajian ini menunjukkan kemampuan strip LFIA untuk mengesan *Rsc* bukan sahaja pada pokok simptomatik tetapi juga pada pokok asimptomatik, sebelum simptom visual kelihatan. Strip ini berpotensi untuk digunakan sebagai alat saringan pantas yang mesra-pengguna untuk mengesan *Rsc*.

### **Summary**

Banana blood disease caused by *Ralstonia syzyigii* subsp. *celebensis* (*Rsc*) bacteria is one of the most well-known diseases that causes severe bacterial wilt in banana and considerable economic losses. The disease threatens the banana industry not only in Malaysia but worldwide. In order to better manage the disease, a fast, sensitive, and user-friendly method for routine diagnostics is essential. This study reported the development of lateral flow immunoassay (LFIA) strip utilising anti-*Rsc* IgG for *Rsc* detection. The developed LFIA strips, obtained sensitivity limit of  $10^4$  CFU / mL *Rsc* with 15 minutes analysis time. The strip performance on real samples were performed using samples from symptomatic and asymptomatic banana plants from the pseudostems, petioles and leaves. The results showed that the strips were able to detect *Rsc* in the petioles and pseudostem of symptomatic samples. Positive result was also obtained from the pseudostem of the asymptomatic samples. This study demonstrates the capability of the LFIA strip to detect *Rsc* not only in symptomatic plants but also in asymptomatic plants, before visual symptoms are visible. This strip has the potential to be used as a user-friendly screening tool to detect *Rsc*.

### **Pengarang**

Mohd Afendy Abdul Talib  
Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi  
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM  
43400 Serdang, Selangor  
E-mel: fendy@mardi.gov.my

Nor Fazmimi Nor Azeme dan Siti Noraini Bunawan  
Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi  
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM  
43400 Serdang, Selangor

Khairul Anuar Shafie  
Pusat Penyelidikan Kejuruteraan  
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM  
43400 Serdang, Selangor

Nur Sulastri Jaafar dan Farah Farhanah Haron (Dr.)  
Pusat Penyelidikan Hortikultur  
Ibu Pejabat MARDI, Persiaran MARDI-UPM  
43400 Serdang, Selangor