

## Minyak pati sebagai kawalan botani penyakit hawar daun bakteria (BLB) pada pokok padi

(Essential oil as botanical control of bacterial leaf blight disease (BLB) in paddy)

Hazalina Zulkifli, Norhayu Asib, Dzolkhifli Omar, Siti Izera Ismail, Mohd Nor Mohd Rosmi, Muhamad Shafiq Abd Karim dan Noor Azlina Masdor

### Pengenalan

Padi merupakan makanan ruji rakyat Malaysia serta ramai penduduk dunia termasuk di Asia, Amerika Latin dan Caribbean. Statistik Tanaman (Sub Sektor Tanaman Makanan) tahun 2020, merekodkan pengeluaran padi di Malaysia dianggarkan sebanyak 2,348,931 tan metrik dengan kawasan bertanam padi seluas 671,870 hektar (Jadual 1). Daripada jumlah itu, pengeluaran beras pula dianggarkan sebanyak 1,513,781 tan metrik sahaja.

Penyakit hawar daun bakteria atau *bacterial leaf blight* (BLB) adalah disebabkan oleh bakteria *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*. Bakteria ini mampu hidup dalam benih padi, jerami padi, tunggul padi dan padi batat. Pada tahun 2013, sebanyak 80% kawasan diserang BLB di Sekinchan, Selangor yang membabitkan varieti MR 220 CL2, MR 263 dan MR 269. Sejarah hitam ini berulang pada tahun 2016 apabila petani menghadapi kehilangan punca pendapatan akibat penyakit ini menyerang tanaman padi

Jadual 1. Maklumat pengeluaran padi dan beras di Malaysia pada tahun 2016 – 2020

Perkara	2016	2017	2018	2019	2020
Pengeluaran padi (tan metrik)					
Malaysia	2,739,606	2,570,513	2,639,202	2,348,931	2,927,877
Semenanjung Malaysia	2,377,557	2,213,272	2,251,454	2,020,871	2,519,871
Jelapang padi	2,060,318	1,916,290	1,994,805	1,856,402	2,209,478
Sabah	115,799	110,936	122,390	112,569	128,634
Sarawak	246,250	246,305	265,358	215,491	279,372
Nilai pengeluaran padi (RM'000)	3,088,400	2,888,133	2,953,781	2,638,284	3,289,049
Pengeluaran beras (tan metrik)					
Malaysia	1,766,115	1,656,302	1,699,766	1,513,781	1,886,578
Semenanjung Malaysia	1,545,412	1,438,629	1,463,445	1,313,568	1,637,916
Jelapang padi	1,339,206	1,245,021	1,295,882	1,205,996	1,435,443
Sabah	72,953	69,890	77,106	70,919	81,039
Sarawak	147,750	147,783	159,215	129,294	167,623

Sumber: Statistik Tanaman (Sub Sektor Tanaman Makanan), 2020

seluas 4,440 hektar di Sabak Bernam dengan jumlah kerugian dianggarkan melebihi RM5 juta.

Pengurusan perosak dan penyakit padi yang mapan amat diperlukan bagi mengelakkan petani terus diselubungi mimpi ngeri kerana kehilangan sumber pendapatan akibat padi kerap diserang penyakit. Pada ketika ini, semburan racun bakterisida berasaskan logam kuprum digunakan bagi mengawal kebanyakan penyakit padi berpunca daripada bakteria. Walau bagaimanapun, kesan jangka panjang penggunaan racun berasaskan kuprum amat membimbangkan kerana berupaya mencemarkan tanah dan aliran air bawah tanah.

Sudah sampai masanya untuk mencari bahan alternatif yang boleh digunakan sebagai bakterisida yang kurang toksik kepada alam sekitar. Bahan aktif daripada ekstrak botani merupakan alternatif yang berpotensi untuk menggantikan agen bakterisida daripada unsur logam. Sebagai contoh, minyak pati merupakan minyak yang mudah meruap dan beraroma yang diperolehi daripada tumbuh-tumbuhan melalui kaedah penyulingan. Minyak pati boleh diekstrak daripada keseluruhan bahagian tumbuhan termasuklah bunga, buah, kulit, daun, biji dan akar. Lebih daripada 250 jenis minyak pati terdapat dalam pasaran dunia dengan nilai jualan melebihi RM5.05 bilion setahun. Pada kebiasaannya, minyak pati digunakan dalam pelbagai industri makanan dan minuman serta kosmetik dan wangian terutamanya bagi penghasilan minyak wangi, penyegar udara, bahan cucian, mandian, aromaterapi dan sebagainya. Dalam industri makanan, minyak pati juga berguna sebagai bahan perisa dan bauan seperti minyak pudina dalam pembuatan gula-gula, minyak cengkik dan kayu manis dalam minuman ringan, produk pastri dan kek. Selain itu, minyak pati digunakan dalam pengeluaran bahan kawalan serangga, antiseptik, antikulat (fungal) dan pelbagai aplikasi dalam industri perubatan dan farmaseutikal. Tujuan uji kaji adalah untuk membangunkan formulasi nano-emulsi berasaskan minyak pati sebagai kawalan botani penyakit hawar daun bakteria (BLB) pada pokok padi

### **Bahan dan kaedah**

Minyak pati yang digunakan dalam uji kaji ini ialah serai wangi, serai, limau purut, gelam dan nilam yang diperolehi dari MARDI Kuala Linggi manakala minyak pati bawang putih pula dibeli dari pasar raya. Strain bakteria *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* (Xoo) diperolehi dari MARDI Seberang Prai.

### **Ujian saringan aktiviti antibakteria**

Ujian saringan aktiviti antibakteria (Xoo) minyak pati dilaksanakan menggunakan kaedah resapan cakera kertas turas. Sebanyak 3  $\mu$ L minyak pati tulen dititiskan pada permukaan cakera kertas turas dan dibiarkan kering selama 5 minit sebelum dilekatkan pada agar sukrosa pepton yang telah dikultur dengan bakteria Xoo. Seterusnya agar sukrosa pepton ini dieram pada

suhu 30 °C selama 24 – 72 jam di dalam ketuhar inkubator. Pemerhatian terhadap ukuran jarak diameter perencatan pertumbuhan bakteria Xoo daripada cakera kertas turas direkod. Antibiotik streptomisin sulfat berkepekatan 5 mg/mL digunakan sebagai kawalan positif manakala minyak mineral digunakan sebagai kawalan negatif.

### **Ujian kepekatan bakterisidal minimum**

Seterusnya ujian lanjutan terhadap kepekatan bakterisidal minimum (*minimum bactericidal concentration*) dilaksanakan ke atas dua minyak pati terpilih yang memberikan respons perencatan pertumbuhan bakteria Xoo paling optimum iaitu minyak pati serai dan serai wangi. Pelbagai peratusan kepekatan minyak pati disediakan melalui kaedah pencairan bermula daripada kepekatan yang tinggi sehingga kepekatan yang rendah (0.5, 0.4, 0.3, 0.25, 0.2, 0.15, 0.125, 0.1, 0.075, 0.063, 0.063, 0.05 dan 0.038%). Sebanyak 100 µL minyak pati dititiskan ke dalam kultur bakteria Xoo dan dieram selama 24 jam. Selepas tempoh pengeraman, 100 µL kultur bakteria Xoo dicalitkan ke atas permukaan agar sukrosa pepton menggunakan teknik aseptik. Seterusnya agar sukrosa pepton ini dieram pada suhu 30 °C selama 24 – 72 jam dalam ketuhar inkubator. Pemerhatian terhadap pertumbuhan bakteria Xoo direkod setiap hari.

### **Analisis gas kromatografi spektrometri jisim**

Berdasarkan pemerhatian terhadap ukuran jarak diameter perencatan pertumbuhan bakteria Xoo daripada cakera kertas turas pada piring Petri, minyak pati serai telah dipilih dan dihantar untuk analisis gas kromatografi spektrometri jisim (*gas chromatography mass spectrometry*) di Institut Penyelidikan Perhutanan Malaysia (FRIM) Kepong, Selangor.

### **Keputusan dan perbincangan**

Keputusan daripada ujian saringan secara in vitro menggunakan kaedah resapan cakera kertas turas yang dilaksanakan terhadap enam minyak pati iaitu serai wangi, serai, limau purut, gelam, nilam dan bawang putih mendapati minyak pati yang diekstrak daripada serai dan serai wangi mempunyai ciri-ciri antibakteria dan menunjukkan kesan perencatan yang signifikan terhadap bakteria Xoo yang dikultur pada agar sukrosa pepton (*peptone sucrose agar*). Minyak pati limau purut menunjukkan perencatan yang sangat kecil di sekeliling cakera kertas turas. Tiada perencatan pertumbuhan bakteria Xoo direkod pada minyak pati gelam, nilam dan bawang putih. Saiz ukuran kawasan perencatan pertumbuhan bakteria Xoo berserta gambar pemerhatian adalah seperti dalam *Jadual 2* dan *Gambar 1*.

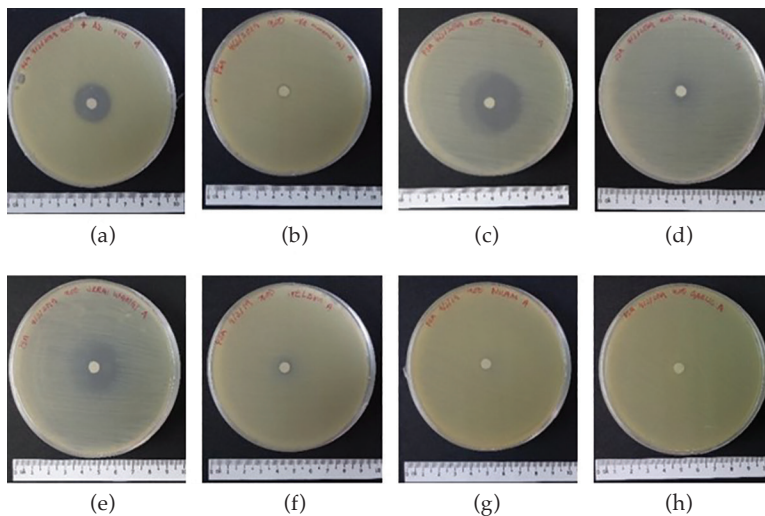
Seterusnya minyak pati serai dan serai wangi yang memberikan kesan zon perencatan pertumbuhan bakteria Xoo paling besar telah dipilih untuk ujian lanjutan terhadap kepekatan bakterisidal minimum. Hasil uji kaji mendapati aras kepekatan

Jadual 2. Ujian saringan minyak pati terhadap perencatan pertumbuhan bakteria *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* menggunakan kaedah resapan cakera kertas turas

Minyak pati	Hari 1	Hari 2	Hari 3
Streptomisin sulfat	17.60 ± 1.52	18.8 ± 1.10	18.8 ± 1.10
Minyak mineral	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Serai wangi	12.40 ± 1.52	12.80 ± 1.64	12.80 ± 1.64
Serai	17.60 ± 2.51	17.80 ± 2.59	17.60 ± 2.59
Limau purut	7.60 ± 0.55	7.60 ± 0.55	7.60 ± 0.55
Bawang putih	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Gelam	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Nilam	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

\*Nilai saiz ukuran diameter zon perencatan (mm), ±SD (N = 5)

\*Ukuran diameter meliputi saiz ukuran cakera kertas turas (6 mm)



Gambar 1. Pemerhatian diameter zon perencatan yang terhasil daripada kaedah resapan cakera kertas turas terhadap (a) Antibiotik streptomisin sulfat berkepekatan 5 mg/mL (kawalan positif), (b) Minyak mineral (kawalan negatif), (c) Serai (*Cymbopogon citratus*), (d) Limau purut (*Citrus hystrix*) (e) Serai wangi (*Cymbopogon nardus*), (f) Gelam (*Melaleuca cajuputi*), (g) Nilam (*Pogostemon cablin*) dan (h) Bawang putih (*Allium sativum*)

bakterisidal minimum bagi kedua-dua minyak pati adalah pada kepekatan 0.15% seperti dalam Jadual 3.

### Analisis komponen yang terdapat dalam minyak pati serai menggunakan GC-MS

Analisis komponen minyak pati serai menggunakan GC-MS telah dilakukan bagi mengenal pasti komponen sebatian aktif dalam minyak pati dan menyenaraikan jumlah kandungan untuk setiap komponen yang hadir (Rajah 1). Keputusan analisis pada Jadual 4 menunjukkan tujuh komponen minyak pati serai yang telah dikenal pasti dengan menggunakan analisis GC-MS. Komponen

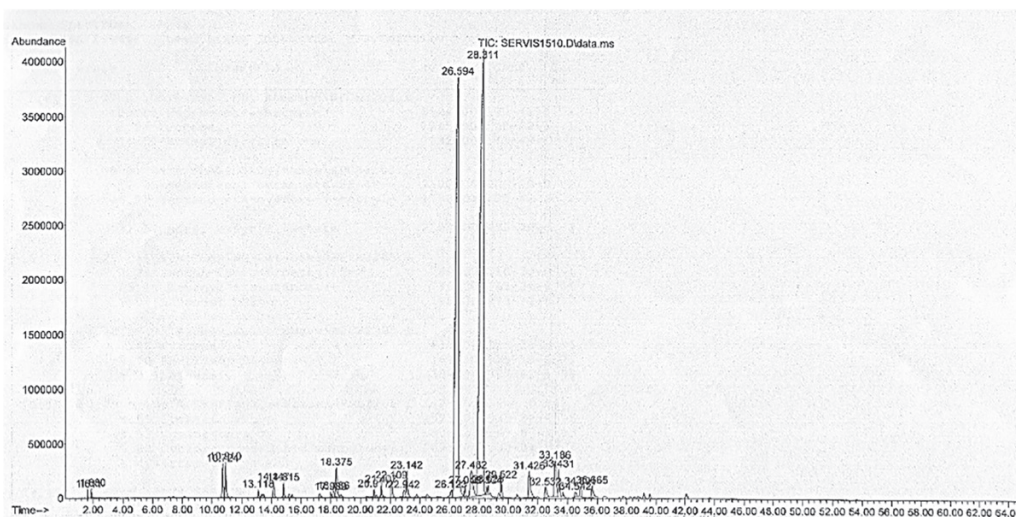
Jadual 3. Jadual perencatan bakteria pertumbuhan *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* oleh minyak pati serai dan serai wangi pada pelbagai kepekatan berbeza bagi penentuan nilai kepekatan bakterisidal minimum (MBC)

Kepekatan (%)	Serai			Serai wangi		
	24 jam	48 jam	72 jam	24 jam	48 jam	72 jam
0.5	-	-	-	-	-	-
0.4	-	-	-	-	-	-
0.3	-	-	-	-	-	-
0.25	-	-	-	-	-	-
0.2	-	-	-	-	-	-
0.15	-	-	-	-	-	-
0.125	-	+	+	-	+	+
0.1	-	+	+	-	+	+
0.075	-	+	+	-	+	+
0.063	-	+	+	-	+	+
0.05	-	+	+	-	+	+
0.038	-	+	+	-	+	+

Nota:

+Terdapat pertumbuhan bakteria Xoo di atas plat agar sukrosa pepton

-Tiada pertumbuhan bakteria Xoo di atas plat agar sukrosa pepton



Rajah 1. Kromatogram menunjukkan komponen sebatian aktif minyak pati serai (*Cymbopogon citratus*) yang dikenal pasti oleh analisis GC-MS. Geranial dan neral didapati sebagai sebatian aktif tertinggi yang terdapat dalam minyak pati serai dengan peratusan sebanyak 44.76% dan 37.84%

Jadual 4. Komponen sebatian aktif minyak pati serai (*Cymbopogon citratus*) yang dikenal pasti oleh analisis GC-MS. Geranial dan neral didapati sebagai sebatian aktif tertinggi yang terdapat dalam minyak pati serai dengan peratusan sebanyak 44.76% dan 37.84%

Komponen dikenal pasti	Masa pengekal	Kawasan puncak (%)
Hepten-2-one <6-methyl-5>	10.722	1.25
Myrcene	8.18	1.20
Linalool	9.84	1.08
Chrysanthenol	13.22	1.01
Neral	13.47	37.84
Geraniol	18.58	1.96
Geranial	28.312	44.76

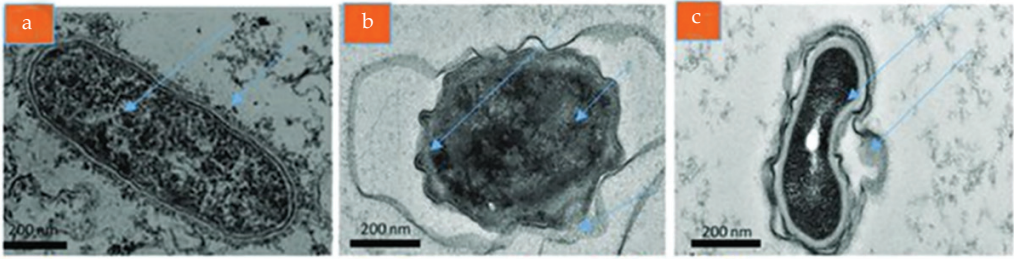
bahan aktif utama minyak pati serai adalah terdiri daripada dua aldehid sitral iaitu geranial sebanyak 44.76% dan neral sebanyak 37.84%. Sementara komponen kecil lain ialah hepten-2-one<6-methyl-5>, myrcene, linalool, chrysanthenol dan geraniol. Sebatian aktif sitral memang terkenal mempunyai sifat antipertumbuhan bagi mikroorganisma dan digunakan sebagai bahan mentah dalam penghasilan pewangi, gula-gula dan minuman.

Minyak pati merupakan sebatian semula jadi yang kompleks mengandungi sehingga 60 komponen sebatian aktif pada kandungan peratus kepekatan berbeza. Ajayi et al, 2016 merekodkan jumlah kombinasi kedua-dua geranial dan neral pada minyak pati serai adalah sebanyak 72.60% melalui kaedah penyulingan hidro.

Melalui sorotan literatur, minyak pati bertindak ke atas bakteria melalui tiga mekanisme utama iaitu:

- **Kerosakan kepada dinding sel bakteria**  
Minyak pati yang bersifat hidrofobik akan melekat pada dinding sel bakteria. Ini membuatkan struktur dinding sel menjadi telap dan menyebabkan kebocoran kandungan sel (ion) yang akhirnya menyebabkan sel bakteria mati (*Gambar 2*).
- **Perubahan pH intraselular**  
Pendedahan sel bakteria kepada minyak pati akan menyebabkan perubahan pH pada sel bakteria. Ini akan mengganggu aktiviti penting seperti transkripsi DNA, sintesis protein dan aktiviti enzim.
- **Perubahan kepada struktur sitoplasma**  
Minyak pati boleh menyebabkan penggumpalan material protein pada struktur sitoplasma.





(Sumber: Adamu et al., 2021)

Gambar 2. Mekanisme tindakan minyak pati terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, pemerhatian menggunakan Transmission Electron Microscope (TEM), (a) Sel Xoo normal berbentuk rod, (b) Sel Xoo dirawat minyak pati halia (100 µL/mL), (c) Sel Xoo dirawat antibiotik streptomycin (15 g/mL).

### Kesimpulan

Pembangunan penyelidikan berkaitan agen antimikrob berasaskan botani merupakan teknologi alternatif bagi mengurangkan kebergantungan petani dalam menggunakan racun kimia dan antibiotik yang mempunyai kesan negatif seperti sisa toksik dalam produk pertanian, penambahan kerintangan mikroorganisma sasaran terhadap bahan kimia dan kesan berbahaya terhadap manusia, haiwan dan alam sekitar. Keputusan yang diperolehi dalam kajian ini menunjukkan bahawa minyak pati daripada pokok serai dan serai wangi mempunyai potensi untuk digunakan sebagai kawalan botani terhadap penyakit hawar daun bakteria pada padi. Penghasilan formulasi emulsi pestisid botani atau bio-pestisid diharapkan dapat memberi berita baik kepada pesawah padi dalam mengawal penyakit hawar daun bakteria. Formulasi emulsi ini juga boleh dikembangkan lagi menggunakan kaedah nanoteknologi bagi menghasilkan nano-emulsi yang diharapkan lebih efektif dalam mendepani cabaran kawalan penyakit hawar daun bakteria.

### Penghargaan

Sekalung penghargaan buat Puan Kogeethavani Ramachandran kerana membekalkan kultur isolat bakteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dari MARDI Seberang Prai, Pulau Pinang. Setinggi-tinggi penghargaan juga buat kumpulan penyelidik dan ahli-ahli kumpulan kerja dari Makmal Nanoteknologi 1, Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi yang terdiri daripada Puan Siti Noraini Bunawan, Puan Siti Nadzirah Padrillah dan Encik Ahmad Syazwan Ismail yang terlibat secara langsung dan tidak langsung dalam kajian ini. Projek ini disokong oleh dana Projek Pembangunan RMK-11 iaitu "Kajian Peningkatan Hasil dan Kualiti Padi Melalui Bioteknologi Pendahulu" (Subprojek: Formulasi bahan nano berfungsi untuk pengawalan BLB, BLS dan Karah; Kod Projek P-RB 401).

## Bibliografi

- Adamu, A., Ahmad, K., Siddiqui, Y., Ismail, I.S., Asib, N., Bashir Kutawa, A., Adzmi, F., Ismail, M.R. dan Berahim, Z. (2021). ginger essential oils-loaded nanoemulsions: potential strategy to manage bacterial leaf blight disease and enhanced rice yield. *Molecules* 26(13): 3,902
- Ajayi, E.O., Sadimenko, A.P. dan Afolayan, A.J. (2016). GC-MS evaluation of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf oil obtained using modified hydro distillation and microwave extraction methods. *Food chemistry* 209: 262 – 266
- Jabatan Pertanian (2020). Booklet Statistik Tanaman 2020 (Sub-Sektor Tanaman Makanan). Diperoleh dari <http://www.doa.gov.my/index.php/pages/view/622?mid=239>
- Shaaban, H.A. (2020). Essential oil as antimicrobial agents: efficacy, stability, and safety issues for food application. *Essential Oils-Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications*, m.s. 1 – 33
- Shamsudin, S., Mohd Abu, R., Abd Manas, M., Mohd Saad, M.R., Yaakob, M. dan Abd Wahab, K. (2013). Pengekstrakan minyak pati serai wangi dengan penyulingan stim untuk usahawan IKS. *Buletin Teknologi MARDI* Bil. 4: 35 – 39
- The Star bertarikh (2016). Diperoleh pada 6 Disember 2016 dari <https://www.thestar.com.my/news/nation/2016/12/06/farmers-suffer-losses-after-blight-destroys-crops>

## Ringkasan

Penyakit hawar daun (BLB) adalah penyakit vaskular padi yang disebabkan oleh bakteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Gejala jangkitan dapat dilihat bermula daripada mana-mana bahagian daun terutama dari tepi dan hujung daun. Penyakit ini menyebabkan berat bijirin padi menjadi kurang akibat kehilangan luas permukaan daun untuk fotosintesis. BLB juga menyebabkan kehilangan hasil hingga 50% dan menjejaskan kualiti biji padi. Bagi mencegah penyakit ini, petani perlu melakukan semburan dengan racun kimia berasaskan kuprum bermula dari peringkat awal sehingga terbit tangkai. Walau bagaimanapun, racun kimia berasaskan kuprum contohnya kuprum sulfat sangat toksik kepada manusia, haiwan, serangga dan alam sekitar. Kajian awal penggunaan minyak pati sebagai alternatif kawalan botani terhadap bakteria Xoo penyebab penyakit BLB pada padi telah dilaksanakan secara *in vitro* terhadap enam minyak pati iaitu serai wangi, serai, limau purut, gelam, nilam dan bawang putih. Minyak pati daripada serai dan serai wangi didapati mempunyai ciri-ciri antibakteria dan menunjukkan kesan perencatan terhadap pertumbuhan bakteria Xoo yang dikultur pada agar sukrosa pepton (*peptone sucrose agar*). Ujian lanjutan terhadap kepekatan perencatan minimum (*minimum inhibition concentration*) dilaksanakan terhadap minyak pati serai dan serai wangi. Keputusan yang diperolehi mendapati pertumbuhan bakteria Xoo menghadapi perencatan minimum pada kepekatan 0.15% bagi kedua-dua minyak pati tersebut. Minyak pati daripada serai dan serai wangi dilihat berpotensi digunakan sebagai kawalan botani terhadap bakteria Xoo penyebab penyakit BLB pada masa hadapan.



## Summary

Bacterial leaf blight (BLB) disease is a rice vascular disease caused by the bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Symptoms of infection can be seen from any part of the leaf especially from the edges and ends of the leaves. This disease causes decreasing weight of the rice grain due to loss of leaf surface area for photosynthesis purposes. BLB also causes up to 50% yield loss and affects the quality of rice seeds. To prevent this disease, farmers need to spray with copper-based chemical pesticide from the earliest stages up to the stem. However, copper-based chemicals such as copper sulfate are highly toxic to humans, animals, insects and the environment. Preliminary in vitro studies of the use of essential oils as a botanical alternative to control the bacterial Xoo causing BLB disease in rice have been carried out against six essential oils namely citronella, lemongrass, kaffir lime, cajuputi, patchouli and garlic. Essential oils from lemongrass and citronella are found to have antibacterial properties and show an inhibitory effect on the growth of Xoo bacteria cultured on peptone sucrose agar. Further tests on the minimum inhibition concentration were performed on lemongrass and citronella essential oils. The results showed that the minimal inhibitory concentration for Xoo bacterial growth is at a concentration of 0.15% for both essential oils. Essential oils from lemongrass and citronella appear to be potentially used as botanical controls against the Xoo bacteria that cause BLB disease in the future.

## Pengarang

Hazalina Zulkifli

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor  
E-mel: hazalina@mardi.gov.my

Noor Azlina Masdor (Dr.), Mohd Nor Mohd Rosmi dan  
Muhamad Shafiq Abd Karim

Pusat Penyelidikan Bioteknologi dan Nanoteknologi, Ibu Pejabat MARDI  
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Norhayu Asib (Dr.), Dzolkhifli Omar (Prof. Dr.) dan Siti Izera Ismail (Dr.)  
Jabatan Perlindungan Tumbuhan, Fakulti Pertanian, Universiti Putra Malaysia  
43400 UPM Serdang, Selangor