

**IDENTIFIKASI DAN UJI KISARAN INANG PENYEBAB PENYAKIT
MATI PUCUK PADA TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.)**

(Skripsi)

Oleh

HANI ANGGRAINY OKTAVIANA



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI DAN UJI KISARAN INANG PENYEBAB PENYAKIT MATI PUCUK PADA TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.)

Oleh

HANI ANGGRAINY OKTAVIANA

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui identitas dan kisaran inang bakteri penyebab penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya. Penelitian dilakukan pada Januari sampai dengan Juni 2018 di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Sebanyak empat isolat bakteri berhasil diisolasi dari bagian tanaman yang bergejala dengan ciri-ciri berupa koloni berwarna putih keabu-abuan, berbentuk bulat, permukaan mengkilap dengan tepian halus dan cembung. Identifikasi dilakukan berdasarkan hasil uji biokimia dan analisis sekuen daerah 16SrDNA. Uji kisaran inang dilakukan terhadap 17 jenis tanaman uji. Hasil uji patogenisitas menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diperoleh dapat menyebabkan gejala mati pucuk, seperti gejala yang ditemukan di lapangan. Hasil uji biokimia memperlihatkan bahwa keempat isolat bakteri merupakan kelompok gram negatif, fermentatif, *lechinase* negatif, *soft rot* negatif, hipersensitif positif, tidak berpendar pada media King's B, mampu tumbuh dan

menghasilkan pigmen abu-abu pada media YDC, tidak memproduksi H₂S, tidak mampu tumbuh di 5% NaCl, ADH moeller positif, dan mampu tumbuh pada suhu 36°C hingga 40°C. Keempat isolat juga mampu menggunakan *myo-inositol*, *l-tartrate*, *glycerol*, *cis-aconitic acid*, dan *citrate*, tetapi tidak mampu menggunakan 12 jenis bahan organik yang lain. Hasil analisis 16SrDNA menunjukkan bahwa isolat yang diuji berada dalam satu kelompok dengan *type strain* dari *Erwinia mallotivora* (DSM 4565, Acc. No. AJ233414). Hasil uji kisaran inang menunjukkan bahwa semua isolat yang diuji hanya mampu menginfeksi dan menimbulkan gejala pada tanaman pepaya dan buah terong, tetapi tidak pada 15 jenis tanaman uji yang lain.

Kata kunci : uji biokimia, identifikasi molekuler, mati pucuk pepaya, 16SrDNA

**IDENTIFIKASI DAN UJI KISARAN INANG PENYEBAB PENYAKIT
MATI PUCUK PADA TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.)**

Oleh
Hani Angrainy Oktaviana

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN

Pada

Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: **Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D.**



Sekretaris

: **Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc.**



Penguji

Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Ir. Cipta Ginting, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

196710201986031002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **25 September 2018**

Judul Skripsi : **IDENTIFIKASI DAN UJI KISARAN
INANG PENYEBAB PENYAKIT MATI
PUCUK PADA TANAMAN PEPAYA
(*Carica papaya* L.)**

Nama Mahasiswa : **HANI ANGGRAINY OKTAVIANA**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1414121102

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D.
NIP 198106212005011003


Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc.
NIP 96201071986032001

2. Ketua Jurusan Agroteknologi

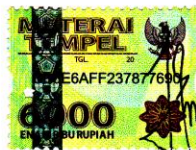

Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.
NIP 196305081988112001

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“IDENTIFIKASI DAN UJI KISARAN INANG PENYEBAB PENYAKIT MATI PUCUK PADA TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.)”** merupakan hasil karya saya sendiri bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 05 Oktober 2018

Penulis,



Hani Angrainy Oktaviana
NPM 1414121102

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Wonosobo, 05 Oktober 1995, sebagai anak pertama dari pasangan bapak Niman dan ibu Halilah. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar (SD) Negeri 02 Selokromo Wonosobo Jawa Tengah tahun 2007, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 02 Selomerto Wonosobo Jawa Tengah tahun 2010, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 01 Tulang Bawang Tengah Lampung 2014.

Pada tahun 2014, Penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Pada bulan Juli sampai Agustus tahun 2017 Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Pusat Penelitian Teh dan Kina (PPTK) Gambung Bandung Jawa Barat. Pada 19 Januari sampai 28 Februari tahun 2017 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sidomulyo, Kecamatan Punggur, Kabupaten Lampung Tengah. Penulis menjadi Asisten Dosen pada praktikum mata kuliah Fisiologi Tumbuhan pada tahun 2017, mata kuliah Mikrobiologi Umum pada tahun 2018 dan mata kuliah Pengendalian Penyakit Tanaman pada tahun 2018 untuk Program Studi Agroteknologi.

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”.

(Q.S Al-Insyirah: 6-8)

“Barang siapa yang menapaki suatu jalan dalam rangka menuntut ilmu, maka Allah akan memudahkan baginya jalan menuju surga”.

(HR. Ibnu Majah dan Abu Dawud)

Allah mengangkat orang-orang beriman diantara kamu dan juga orang-orang yang dikaruniai ilmu pengetahuan hingga beberapa derajat.

(Q.S Al-Mujadilah : 11)

Ilmu yang sejati, seperti barang berharga lainnya, tidak bisa diperoleh dengan mudah. Ia harus diusahakan dipelajari, dipikirkan dan lebih dari itu, harus selalu disertai doa.

Dengan penuh rasa syukur yang selalu ditujukan kepada Allah

Subhanahuwata'ala

kupersembahkan karya ku ini untuk:

Keluargaku tercinta, mamah, bapak, uti, atung, mbak Yuli dan mas Saryo serta adik-adikku tersayang Aulia Azzahra dan Muhammad Arfa Senant yang telah memberikan cinta, kasih sayang, motivasi, semangat, dan doa kepada Penulis.

Serta

Keluarga Besar Almamater tercinta

AGROTEKNOLOGI UNIVERSITAS LAMPUNG

SANWACANA

Alhamdulillah *rabbi* *'alamin*, puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah *Subhanahuwata'ala*, karena dengan rahmat dan hidayah-Nya serta berbagai kemudahan yang telah diberikan-Nya Penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Shalawat dan salam tidak lupa Penulis haturkan kepada Rasulullah Muhammad *Shalallahu 'alaihiwasallam*.

Skripsi dengan judul “Identifikasi dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Mati Pucuk pada Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.)” merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Pertanian di Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu baik dalam pelaksanaan penelitian maupun dalam penulisan hasil penelitian, yang setulus-tulusnya khususnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3. Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama atas bimbingan, fasilitas penelitian, saran, gagasan, dan motivasi yang telah diberikan selama penelitian sampai penulisan skripsi ini selesai.
4. Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Kedua atas bimbingan, nasihat, saran dan motivasi selama penelitian sampai penulisan skripsi ini selesai.
5. Prof. Dr. Ir. Cipta Ginting, M.Sc., selaku Dosen Penguji yang telah memberikan pengarahan, saran, dan motivasi selama penulisan skripsi.
6. Ir. Agus M. Hariri, M.P., selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan nasihat, arahan dan motivasi.
7. Mbak Yuli dan Mas Saryo, selaku orang yang sangat berjasa dalam semua hal di hidupku, yang selalu memberikan doa, dan dukungannya selama ini, baik secara moral dan material.
8. Orang tua tercinta Mamah, Bapak, Uti, Atung, Adik Puul dan Senant, dan semua anggota keluarga bahagia yang selalu memberikan doa dan dukungan secara moral dan material.
9. Sahabat penulis, Zizah, Cici, Indah, Erlinda, Iska, Devita, Hani L, Kartika, Gita, Neti, dan Galih, terimakasih atas kebersamaan, dukungan, bantuan, motivasi, dan doa.
10. Teman-teman satu tim penelitian Biotek 14, Diah, Lita, Lily, Febe, Hani L, Mei, Devita, Indah, Ma'ruf, Maya atas segala saran, bantuan, dukungan, dan kerjasama yang baik selama Penulis melaksanakan penelitian hingga menyelesaikan skripsi.

11. Mbak Erika, Mbak Uum, dan Bang Sem, atas saran bantuan, dan motivasi selama Penulis melaksanakan penelitian hingga menyelesaikan skripsi.
12. Teman Agroteknologi kelas B dan seluruh angkatan 2014, serta teman seperjuangan KKN 2017, terimakasih atas kebersamaan, dukungan, dan keceriaan.
13. Keluarga Besar Fosi-FP, BEM U Kabinet Muda Bergerak, dan Kabinet Mengabdikan dan Berkarya dan semua pihak yang tidak dapat Penulis sebutkan satu per satu yang secara langsung telah membantu Penulis baik selama pelaksanaan penelitian maupun dalam proses penyelesaian skripsi ini.

Semoga Allah *Subhanahuwata'ala* dapat membalas semua bantuan, bimbingan, doa, nasihat, saran, dan motivasi dari semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini, dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang membacanya.

Bandar Lampung, Oktober 2018

Penulis,

Hani Anggrainy Oktaviana

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Kerangka Pemikiran	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Pepaya	5
2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Pepaya	6
2.1.2 Syarat Tumbuh Tanaman Pepaya	7
2.1.3 Kendala dalam Budidaya Tanaman Pepaya	7
2.2 Penyakit Mati Pucuk Tanaman Pepaya	9
2.2.1 Gejala Penyakit	9
2.2.2 Patogen Penyebab Penyakit	9
2.2.3 Persebaran Penyakit	10
2.2.4 Perkembangan Penyakit	10
2.2.5 Pengendalian Penyakit	11
III. BAHAN DAN METODE	12
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	12
3.2 Bahan dan Alat	12
3.3 Metode Penelitian	13
3.3.1 Isolasi Bakteri Penyebab Penyakit Mati Pucuk Pepaya	14
3.3.2 Uji Patogenisitas pada Tanaman Pepaya	15
3.3.3 Identifikasi Penyebab Penyakit	16
3.3.3.1 Uji Gram	16
3.3.3.2 Uji O/F	16
3.3.3.3 Uji <i>Lechitinase</i>	17
3.3.3.4 Uji <i>Soft Rot</i>	17
3.3.3.5 Uji Hipersensitif	18

3.3.3.6 Uji Fluoresensi pada Media King's B	18
3.3.3.7 Uji Pertumbuhan pada Media YDC Agar.....	19
3.3.3.8 Uji H ₂ S	19
3.3.3.9 Uji Pertumbuhan pada 5% NaCl	20
3.3.3.10 Uji Arginin Dihidrolase (Moeller Media)	21
3.3.3.11 Uji Kemampuan Tumbuh Bakteri pada Beberapa Suhu	21
3.3.3.12 Uji Kemampuan untuk Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik	22
3.3.4 Identifikasi Molekuler	22
3.3.4.1 Ekstraksi DNA	23
3.3.4.2 Amplifikasi DNA dengan PCR	23
3.3.4.3 Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR	23
3.3.4.4 Sekuensing dan Analisis Hasilnya.....	24
3.3.5 Uji Kisaran Inang	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Hasil Penelitian	25
4.1.1 Isolasi Bakteri Penyebab Penyakit Mati Pucuk Pepaya	25
4.1.2 Uji Patogenisitas pada Tanaman Pepaya	26
4.1.3 Identifikasi Penyebab Penyakit	27
4.1.3.1 Uji Gram	27
4.1.3.2 Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F)	28
4.1.3.3 Uji <i>Lechitinase</i>	28
4.1.3.4 Uji <i>Soft Rot</i>	29
4.1.3.5 Uji Hipersensitif	30
4.1.3.6 Uji Fluoresensi pada Media King's B	30
4.1.3.7 Uji Pertumbuhan pada Media YDC Agar	31
4.1.3.8 Uji H ₂ S.....	32
4.1.3.9 Uji Pertumbuhan pada 5% NaCl	32
4.1.3.10 Uji Arginin Dihidrolase (Moeller Media)	33
4.1.3.11 Uji Kemampuan Tumbuh Bakteri pada Beberapa Suhu	34
4.1.3.12 Uji Kemampun untuk Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik	34
4.1.4 Identifikasi Molekuler	36
4.1.5 Uji Kisaran Inang	38
4.2 Pembahasan	40
V. SIMPULAN DAN SARAN	45
5.1 Simpulan	45
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kode isolat bakteri penyebab penyakit mati pucuk pepaya yang diisolasi pada tahun 2017	25
2. Hasil uji kemampuan isolat bakteri penyebab mati pucuk pepaya dalam menggunakan beberapa jenis bahan organik	35
3. Hasil uji kisaran inang isolat bakteri penyebab penyakit mati pucuk pepaya pada beberapa tanaman sayuran	38
4. Komposisi media <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	51
5. Komposisi media <i>Potato Peptone Glucose Agar</i> (PPGA)	51
6. Komposisi media Oksidatif/ Fermentatif (O/F)	51
7. Komposisi media <i>Yeast Peptone Agar</i> (YPA).....	51
8. Komposisi media King's B	51
9. Komposisi media <i>Yeast Dextrose Calcium Carbonate Agar</i> (YDC)	52
10. Komposisi media H ₂ S	52
11. Komposisi media NaCl	52
12. Komposisi media Moeller	52
13. Komposisi media <i>Yeast Peptone</i> (YP)	52
14. Komposisi media Ayer's	52
15. Hasil uji biokimia isolat bakteri penyebab penyakit mati pucuk pepaya .	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Sampel tangkai daun tanaman pepaya dari PT GGF yang menunjukkan gejala	14
2. Biakan isolat bakteri pada media YPA	26
3. Bakteri penyebab penyakit mati pucuk pepaya pada media PPGA miring	26
4. Hasil uji patogenesis pada tanaman pepaya.....	27
5. Reaksi gram negatif dalam uji gram menggunakan KOH 3%.....	27
6. Hasil uji O/F bakteri penyebab penyakit mati pucuk pepaya	28
7. Hasil negatif uji <i>lechitinase</i> 48 jam setelah inokulasi	29
8. Hasil negatif uji <i>soft rot</i> pada umbi kentang 24 jam setelah inokulasi.....	29
9. Hasil positif uji hipersensitif bakteri penyebab penyakit mati pucuk Pepaya	30
10. Hasil negatif uji fluoresensi pada media king's B di bawah lampu UV 3 hari setelah inokulasi.....	31
11. Hasil positif uji pertumbuhan pada media YDC agar 7 hari setelah inokulasi	31
12. Hasil negatif uji H ₂ S 7 hari setelah inokulasi	32
13. Hasil negatif uji pertumbuhan pada 5% NaCl 7 hari setelah inokulasi	33
14. Hasil positif uji arginin dihydrolase.....	33
15. Hasil positif uji pertumbuhan pada beberapa suhu 2 hari setelah inokulasi	34
16. Hasil uji pertumbuhan pada bahan organik	36

17. Pohon filogenik hasil analisis sekuen 16SrDNA yang dibuat dengan menggunakan program MEGA6 dengan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA) 37
18. Hasil uji kisaran inang penyebab penyakit mati pucuk pepaya 39

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman buah tropis yang berasal dari Meksiko Selatan. Tanaman pepaya dapat tumbuh baik di daerah basah, kering, dataran rendah, maupun pegunungan hingga ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut dan banyak dibudidayakan di daerah tropis, karena banyak digemari masyarakat dan mempunyai nilai ekonomis tinggi (SujiPrihati dan Suketi, 2009). Di Indonesia, tanaman pepaya merupakan tanaman yang mudah ditanam hampir di setiap pekarangan rumah dan banyak diusahakan sebagai tanaman perkebunan baik perkebunan rakyat maupun perkebunan swasta.

Selain dikonsumsi secara langsung, buah pepaya banyak pula dimanfaatkan sebagai bahan baku produk makanan olahan atau cemilan, penghasil papain, pembuatan sari buah pepaya, bahan penstabil pada pembuatan saos tomat dan banyak manfaat lainnya yang dapat dihasilkan dari buah pepaya. Selain buahnya, daun tanaman pepaya juga dapat dimanfaatkan sebagai obat (Suryanti *et al.*, 2012). Buah pepaya mempunyai kandungan protein sebesar 1-1,5% yang merupakan sumber karotin sebagai prekursor dari vitamin A. Selain itu, buah pepaya juga kaya akan sumber vitamin C (69-71 mg/100 g), Kalium (39-337 mg/ 100 g), dan Kalsium (11-31 mg/ 100g) (Indriyani *et al.*, 2008).

Saat ini permintaan pasar terhadap pepaya meningkat, baik pasar dalam negeri maupun luar negeri. Berdasarkan data ekspor impor BPS yang diolah Direktorat Jenderal Hortikultura (2013), buah pepaya mengalami kenaikan nilai ekspor dengan rata-rata pertumbuhan sebesar 5,58% dari tahun 2007 hingga tahun 2011. Sehingga komoditas buah pepaya ini mempunyai prospek untuk dikembangkan di Indonesia. Beberapa varietas yang banyak dibudidayakan antara lain yaitu varietas lokal, dan varietas hasil introduksi seperti pepaya Eksotika, Sunrise Solo, Bangkok, Red King, dan Calina (Indriyani *et al.*, 2008).

Namun begitu, usaha peningkatan produksi pepaya menjadi kurang optimal karena adanya permasalahan hama dan penyakit tanaman. Menurut Semangun (2007), beberapa penyakit yang ditemukan pada tanaman pepaya yaitu penyakit busuk akar dan pangkal batang, bercak daun *Corynespora*, papaya ringspot virus (PRSV), mosaik pepaya, busuk buah antraknosa, busuk buah *Rhizopus* dan penyakit mati pucuk yang disebabkan oleh *Erwinia papayae*.

Pada pertengahan tahun 2017, dilaporkan adanya penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya di PT Great Giant Food (GGF) (Wardana, Komunikasi Pribadi). Pada tanaman pepaya yang terinfeksi ditemukan gejala kebasahan seperti tersiram air panas pada tangkai daun tanaman pepaya, dan gejala hawar yang berkembang dengan cepat terlihat pada helai daun tanaman pepaya. Gejala tersebut semakin lama menyebar dan meluas ke bagian pucuk tanaman dan menyebabkan mati pucuk pada tanaman pepaya. Dari gejala yang muncul diduga kuat penyakit ini disebabkan oleh bakteri. Menurut Chai *et al.* (2017), penyakit ini menimbulkan

kerugian yang cukup besar bahkan dapat mencapai 100%. Hingga saat ini, identitas penyebab penyakit dan kisaran inangnya belum diketahui secara pasti.

Identifikasi penyebab penyakit tanaman diperlukan untuk mendapatkan informasi tentang identitas dan karakter dari penyebab penyakit yang dihadapi sehingga metode pengendalian yang memadai dapat direkomendasikan. Selain mengetahui identitas dan karakter dari bakteri patogen, uji kisaran inang juga diperlukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menginfeksi dan menyebabkan gejala pada tanaman inang lain.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui identitas dan kisaran inang penyebab penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya.

1.3 Kerangka Pemikiran

Di Indonesia, penyakit mati pucuk yang disebabkan oleh *Erwinia papayae* pertama kali diketahui terdapat di Jawa Timur. Selain Jawa Timur serangan *E. papayae* juga terdapat di daerah lain pulau Jawa, seperti Sulawesi dan Maluku. Patogen ini dapat menimbulkan kerugian yang cukup besar pada musim hujan (Semangun, 2007).

Bakteri *E. papayae* pertama kali dilaporkan oleh Gardan *et al.* (2004) sebagai organisme penyebab kanker pepaya di wilayah Karibia. Pada tahun 2008, Maktar *et al.* melaporkan bakteri *E. papayae* sebagai penyebab penyakit mati pucuk pepaya di Malaysia, dan tidak memiliki gejala kanker seperti yang dilaporkan oleh

Gardan *et al.* (2004). Namun, Maktar *et al.* (2008) belum melakukan tes biokimia yang lebih spesifik untuk membedakan *E. papayae* dan *E. mallotivora*.

Berdasarkan hasil penelitian Amin *et al.* (2011), diketahui bahwa penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya yang ada di Malaysia selain disebabkan oleh *E. papayae* juga disebabkan oleh *E. mallotivora*.

Gejala yang muncul akibat serangan *E. mallotivora* ditandai dengan adanya gejala kebasahan seperti tersiram air panas pada tangkai daun tanaman pepaya, dan gejala hawar yang berkembang dengan cepat terlihat pada helai daun tanaman pepaya. Gejala tersebut semakin lama menyebar dan meluas ke bagian pucuk tanaman, setelah beberapa lama bagian tanaman sebelah atas mati diikuti oleh matinya seluruh tanaman (Gardan *et al.*, 2004; Semangun, 2007; Maktar *et al.*, 2008, dan Amin *et al.*, 2011).

Penyakit mati pucuk tanaman pepaya yang ditemukan di PT Great Giant Food (GGF) menunjukkan gejala yang sama seperti yang dilaporkan oleh Gardan *et al.* (2004), Semangun (2007), Maktar *et al.* (2008), dan Amin *et al.* (2011).

Berdasarkan hal tersebut, maka penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya yang ditemukan di PT GGF Lampung diduga disebabkan oleh bakteri *E. mallotivora*.

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan apakah dugaan ini benar.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya yang dipelihara dengan baik umumnya dapat menghasilkan lebih dari 50 buah/ pohon/ tahun dan dapat berlangsung sampai dengan lebih dari 3 tahun. Varietas pepaya unggul mempunyai sifat yaitu produktivitasnya tinggi, produksinya tidak dipengaruhi oleh perubahan iklim, buah bulat panjang atau panjang, rongga buah kecil, daging merah dan rasa manis, kulit buah kuat, tidak terlalu lembek supaya tahan pada pengangkutan, serta resisten terhadap penyakit akar yang berbahaya. Varietas pepaya yang banyak ditanam di Indonesia di antaranya adalah pepaya semangka, pepaya jinggo, pepaya cibinong, dan pepaya Bangkok (Nuswamarhaeni, 1999).

Tanaman pepaya banyak dimanfaatkan buahnya karena memiliki rasa yang manis dan menyegarkan ketika dikonsumsi, dan memiliki daya jual cukup tinggi. Selain dikonsumsi secara langsung, buah pepaya banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku produk makanan olahan. Buah pepaya mempunyai kandungan protein sebesar 1-1,5% yang merupakan sumber karotin sebagai prekursor dari vitamin A. selain itu, buah pepaya juga kaya akan sumber vitamin C (69-71 mg/100 g), Kalium (39-337 mg/ 100 g), dan Kalsium (11-31 mg/ 100g) (Indriyani *et al.*, 2008).

Selain bisa dikonsumsi sebagai buah segar, beberapa bagian pohon pepaya juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Hampir semua bagian dari pohon pepaya bisa digunakan sebagai obat seperti daun, bunga, biji, akar, getah, dan kulit pepaya. Beberapa senyawa yang diketahui terdapat dalam daun pepaya antara lain enzim papain, alkaloid karpaina, pseudo-karpaina, glikosid, karposid, sakarosa, dan dekstrosa. Sementara buahnya mengandung β -karotene, pectin, d-galaktosa, l-arabinosa, papain, papayotimin papain, fitokinase, vitamin A dan vitamin C (Bakar dan Ratnawati, 2017).

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Pepaya

Berdasarkan taksonominya, tanaman pepaya dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Integrated Taxonomic Information System, 2018) :

Kingdom	: Plantae
Division	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Caricales
Family	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i>
Spesies	: <i>Carica papaya</i> L.

Tanaman pepaya mempunyai buah dengan daging buah yang tebal dan memiliki rongga buah di bagian tengahnya yang berisi cairan dan berbiji banyak.

Batangnya berbentuk silinder dengan diameter 10-30 cm dan berongga. Daun-daunnya tersusun spiral berkelompok dekat ujung batang, bertulang dan menjari, ujung runcing dan pangkal berbentuk jantung, tangkai daun panjang dan berongga, serta tajuk berlekuk menyirip tidak beraturan (Indiryani *et al.*, 2008).

Tanaman pepaya mempunyai dua jenis bunga yaitu bunga jantan dan bunga betina yang terpisah. Hampir semua bunga pepaya berkelamin satu dan berumah dua.

Bunga jantan tersusun pada tandan dengan tangkai yang panjang, kelopak sangat kecil, mahkota bunga berbentuk terompet, berwarna putih kekuningan, dengan tepi bertaju 5 dan tabung yang panjang, langsing, taju terputar dalam kuncup, kepala sari bertangkai pendek. Bunga betina kebanyakan berdiri sendiri, daun mahkota hampir lepas, berwarna putih kekuningan, bakal buah beruang satu, kepala putik berjumlah 5. Pepaya termasuk tanaman yang menyerbuk silang. Penyerbukan sebagian besar dibantu oleh angin dan serangga (Indriyani *et al.*, 2008).

2.1.2 Syarat Tumbuh Tanaman Pepaya

Di Indonesia, umumnya tanaman pepaya tumbuh menyebar dari dataran rendah sampai dataran tinggi. Iklim yang sesuai untuk tanaman pepaya yaitu tipe A, B dan C (basah sampai sedang) berdasarkan klasifikasi Schmidt-Ferguson, dengan curah hujan merata sepanjang tahun sekitar 1000-2000 mm, dan temperatur 15°C-35 °C, kelembaban udara 40%, serta ketinggian dari dataran rendah 500-1000 meter di atas permukaan laut. Tanah yang baik untuk ditanami tanaman pepaya adalah tanah yang mempunyai kandungan bahan organik yang tinggi, subur dan banyak mengandung humus. Selain itu tanaman pepaya baik ditanam pada tanah yang tidak terlalu banyak mengandung air, dan mempunyai kelembaban sedang dengan pH yang sesuai antara 6,5 -7,0 (Bakar dan Ratnawati, 2017).

2.1.3 Kendala dalam Budidaya Tanaman Pepaya

Saat ini kebutuhan pepaya di dalam dan di luar negeri semakin meningkat.

Berdasarkan data ekspor impor BPS, buah pepaya mengalami kenaikan nilai

ekspor dengan rata-rata pertumbuhan sebesar 5.583% dari tahun 2007 hingga tahun 2011 (Direktorat Jenderal Hortikultura, 2013). Buah pepaya (*Carica papaya L.*) merupakan buah yang dapat dibudidayakan di daerah tropis, mempunyai nilai ekonomis tinggi, dan banyak digemari masyarakat baik dalam maupun luar Indonesia (Sujiprihati dan Suketi, 2009).

Semakin meningkat permintaan pasar dan semakin luas areal pertanaman pepaya akan semakin memicu banyaknya masalah hama dan penyakit yang muncul, sehingga dapat menurunkan produktivitas tanaman pepaya. Penyakit tanaman adalah masalah yang berperan paling banyak dalam menurunkan produktivitas tanaman pepaya. Penyakit tumbuhan merupakan suatu kondisi terganggunya fungsi sel dan jaringan tumbuhan akibat iritasi yang terus menerus oleh suatu agen primer atau faktor lingkungan yang menimbulkan gejala. Penyakit terjadi dan berkembang karena fungsi sel dan jaringan terganggu sehingga proses-proses fisiologis menyimpang dari yang normal. Penyimpangan proses fisiologis tersebut terjadi sebagai akibat gangguan yang terus menerus oleh patogen primer (Ginting, 2013).

Pada tanaman pepaya terdapat beberapa jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri, jamur, dan virus. Beberapa penyakit pada tanaman pepaya antara lain penyakit busuk akar dan pangkal batang, bercak daun *Corynespora*, bercak daun *Cercospora*, embun tepung, pepaya ringspot virus (PRSV), penyakit nematoda puru akar, mosaik pepaya, busuk buah antraknosa, busuk buah *Rhizopus* atau busuk hitam dan penyakit mati pucuk yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia papayae* (Semangun, 2007).

2.2 Penyakit Mati Pucuk Tanaman Pepaya

2.2.1 Gejala Penyakit

Gejala penyakit mati pucuk tanaman pepaya yang disebabkan oleh bakteri *E. mallotivora* dan *E. papayae* pada umumnya ditunjukkan dengan adanya gejala kebasahan seperti tersiram air panas pada tangkai daun tanaman pepaya, dan gejala hawar yang berkembang dengan cepat terlihat pada helai daun tanaman pepaya. Gejala tersebut semakin lama menyebar dan meluas ke bagian pucuk tanaman, setelah beberapa lama bagian tanaman sebelah atas mati diikuti oleh matinya seluruh tanaman (Gardan *et al.*, 2004; Semangun, 2007; Maktar *et al.*, 2008, dan Amin *et al.*, 2011).

2.2.2 Patogen Penyebab Penyakit

Patogen penyebab penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya berasal dari genus *Erwinia*. Bakteri *Erwinia* mempunyai bentuk batang lurus, berukuran 0,5 – 1,0 kali 1,0 – 3,0 μm . Bakteri *Erwinia* adalah bakteri patogenik tumbuhan yang bersifat anaerob fakultatif. Beberapa bakteri *Erwinia* tidak menghasilkan enzim pektik dan menyebabkan penyakit nekrosis atau layu (kelompok *amylovora*), sedangkan bakteri *Erwinia* yang lain mempunyai aktivitas pektolitik yang kuat dan menyebabkan busuk lunak pada tumbuhan (kelompok *carotovora*) (Agrios, 1996).

Bakteri *E. papayae* pertama kali dilaporkan oleh Gardan *et al.* (2004) sebagai organisme penyebab kanker pepaya di wilayah Karibia. Maktar *et al.* (2008) melaporkan bakteri *E. papayae* sebagai penyebab penyakit mati pucuk pepaya di

Malaysia, dan tidak memiliki gejala kanker seperti yang dilaporkan oleh Gardan *et al.* (2004). Namun, Maktar *et al.* (2008) belum melakukan tes biokimia yang signifikan untuk membedakan *E. papayae* dan *E. mallotivora*.

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Amin *et al.* (2011), menunjukkan bahwa penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya disebabkan oleh bakteri *E. mallotivora*. Bakteri gram-negatif dan berbentuk batang, koloni berwarna putih keabu-abuan pada media King's B. Analisis biokimia mengungkapkan bahwa strain adalah katalase positif dan oksidatif negatif dengan kemampuan membentuk senyawa pereduksi dari sukrosa. Selain itu, strain menghasilkan asam dari *D-mannitol*, *D-laktat* dan *L-laktat*.

2.2.3 Persebaran Penyakit

Di Indonesia, penyakit mati pucuk yang disebabkan oleh *E. papayae* pertama kali diketahui terdapat di Jawa Timur. Selain Jawa Timur serangan penyakit mati pucuk juga terdapat di daerah lain pulau Jawa, seperti Sulawesi dan Maluku (Semangun, 2007). Selain di Indonesia penyakit mati pucuk telah menyebar ke wilayah negara lain seperti Karibia, dan Malaysia.

2.2.4 Perkembangan Penyakit

Bakteri penyebab penyakit mati pucuk dapat ditularkan melalui percikan air hujan, aktivitas manusia, burung dan serangga lain yang membawa patogen. Bakteri penyebab penyakit mati pucuk dapat menyerang tanaman sehat melalui lubang alami atau luka pada tanaman. Bakteri ini tidak dapat bertahan lama pada akar tanaman sakit yang membusuk dalam tanah, namun apabila terdapat inang

alternatif seperti kacang tunggak, dan belewah bakteri ini dapat hidup lebih lama (Indriyani *et al.*, 2008).

2.2.5 Pengendalian Penyakit

Pengendalian penyakit mati pucuk pepaya dapat dilakukan melalui beberapa metode yaitu pembongkaran tanaman yang terinfeksi, pengendalian secara kimiawi, dan pengendalian dengan kultur teknis (Bakar dan Ratnawati, 2017). Pembongkaran tanaman yang terinfeksi dilakukan dengan cara dibongkar dan dibakar untuk menghilangkan sumber inokulum penyakit sebelum memasuki musim hujan. Pengendalian secara kimiawi dilakukan dengan menggunakan bakterisida dengan bahan aktif tembaga hidroksida. Pengendalian dengan kultur teknis dilakukan dengan menggunakan benih yang bebas bakteri dan penggunaan varietas pepaya yang tahan terhadap serangan bakteri ini serta menerapkan peraturan karantina antar area/negara yang ketat untuk tidak memasukkan benih tanaman tidak tersertifikasi (Indriyani *et al.*, 2008).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan mulai Januari sampai Juni 2018. Sampel tanaman yang menunjukkan gejala diperoleh dari PT Great Giant Food (PT GGF) yang berlokasi di Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan antara lain adalah sampel tanaman pepaya sakit, akuades, air steril, umbi kentang, tanaman pepaya, lidah buaya, seledri, bawang daun, tomat, caisim, sawi putih, kubis, buncis, terong, labu siam, bawang bombay, wortel, cabai, mentimun, selada dan pakcoy. Media biakan yang digunakan *Nutrient Agar* (NA), dan *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA). Media yang digunakan untuk pengujian adalah media King's B, Oksidatif/Fermentatif (O/F), *Yeast Extract Dextrose Agar* (YDC), *Yeast Peptone Agar* (YPA), dan *Yeast Peptone* (YP). Bahan lain yang diperlukan adalah minyak parafin, kuning telur, senyawa H₂S, HCl pekat, asam sulfat, 5% NaCl, KOH 3%, alkohol 70%, ethidium bromide (EtBr), MyTaqTM *Red Mix*, DNA primer (fD1 dan rP2), *marker DNA leader*, *loading dye*, *buffer* TE, Bromthymol Blue (BTB) 2 % dan agarose. Selain

itu, beberapa bahan organik yang digunakan yaitu *Myo-Innositol*, *M-Tartrate*, *D-Raffinose*, *D-Arabinose*, *D-Melibiose*, *Inulin*, *L-Tartrate*, *D-Tartrate*, *Mannitol*, *Glycerol*, *Starch*, *S-Ketogluconate*, *Lactose*, *Cis-Aconitic Acid*, *L-Ascorbic Acid*, *ascorbic Acid*, dan *Citrate*.

Alat-alat yang digunakan antara lain adalah pisau, penggaris, spidol, kertas label, alumunium foil, karet gelang, korek api, kapas, *plastic wrap*, tisu dan alat tulis. Alat yang terbuat dari kaca yang digunakan yaitu tabung reaksi, erlenmeyer, bunsen, gelas objek, gelas ukur, dan cawan petri. Alat lain yang digunakan untuk bekerja secara aseptik yaitu *Laminar Air Flow Hood* (LAF), *rotamixer*, *microwave*, *shaker*, timbangan elektrik, jarum ose, jarum ent, *water bath*, tabung eppendorf 1,5 ml, autoklaf, *magnetic bar*, *magnetic strirer*, pinset, nampan plastik, dan plastik tahan panas. Selain itu, alat yang digunakan untuk identifikasi molekuler yaitu cetakan gel 20x16x1 cm³, *freezer*, pipet mikro 0 – 1000 µl, pipet tip 0 – 1000 µl, tabung eppendorf 100 µl, *microcentrifuge*, mesin PCR, alat elektroforesis, dan *gel documentation system*.

3.3 Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian terdiri dari dua tahap. Tahap pertama yaitu isolasi bakteri penyebab mati pucuk, dan tahap kedua yaitu pengujian untuk identifikasi bakteri penyebab mati pucuk. Pengujian bakteri yang dilakukan terdiri atas uji patogenisitas pada tanaman pepaya, identifikasi penyebab penyakit, identifikasi molekuler dan uji kisaran inang.

3.3.1 Isolasi Bakteri Penyebab Penyakit Mati Pucuk Pepaya

Sampel tanaman pepaya yang menunjukkan gejala mati pucuk didapatkan dari PT GGF, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah. Tangkai daun yang terinfeksi dari PT GGF menunjukkan gejala kebasahan seperti tersiram air panas pada tangkai daun tanaman pepaya (Gambar 1).



Gambar 1. Sampel tangkai daun tanaman pepaya dari PT GGF yang menunjukkan gejala.

Bagian tangkai daun dan daun tanaman pepaya yang diambil untuk keperluan isolasi dipotong kecil dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm dengan perbatasan $\frac{1}{4}$ sakit dan $\frac{3}{4}$ sehat pada 3 titik yang berbeda. Potongan jaringan tangkai dan daun yang diambil disuspensikan dengan air steril sebanyak 0,5 ml di dalam tabung eppendorf 1,5 ml, kemudian dihancurkan menggunakan pinset steril dan didiamkan selama 5 menit. Hasil suspensi tersebut selanjutnya digoreskan pada media *Nutrient Agar* (NA) menggunakan jarum ose kemudian diinkubasikan pada suhu ruang selama 24-48 jam. Beberapa koloni yang tumbuh diisolasi kembali dengan metode gores kuadran menggunakan media *Yeast Peptone Agar* (YPA)

hingga diperoleh koloni tunggal. Setelah diperoleh koloni tunggal bakteri, isolat tersebut diisolasi ke dalam media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA).

3.3.2 Uji Patogenisitas pada Tanaman Pepaya

Pengujian patogenisitas pada tanaman pepaya dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang berhasil diisolasi benar merupakan bakteri penyebab penyakit pada tanaman pepaya di PT GGF. Pengujian dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat murni bakteri tersebut pada tanaman inang yang sehat. Sebanyak 1 ose biakan bakteri berumur 24 jam diambil dari media PPGA. Isolat bakteri tersebut kemudian disuspensikan dengan 1 ml air steril di dalam tabung eppendorf 1,5 ml. Inokulasi dilakukan dengan cara menusukkan (*stabbing*) suspensi bakteri pada bagian tangkai dan daun tanaman pepaya yang sehat. Tanaman pepaya yang digunakan yaitu tanaman pepaya Calina berumur 3 bulan, dengan tinggi 1 m. Pengamatan dilakukan selama 21 hari, yang dilakukan dengan cara mengamati gejala yang muncul. Hasil uji patogenisitas dinyatakan positif apabila disekitar area bekas tusukan pada tangkai dan daun tanaman pepaya, ditemukan gejala yang sama seperti yang ditemukan pada sampel tanaman pepaya yang terinfeksi.

3.3.3 Identifikasi Penyebab Penyakit

Identifikasi penyebab penyakit dilakukan melalui beberapa pengujian yaitu sebagai berikut :

3.3.3.1 Uji Gram

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kelompok gram isolat bakteri yang diuji, apakah termasuk gram positif atau gram negatif. Uji gram dilakukan dengan mengambil 1 ose biakan bakteri berumur 24 jam dari media PPGA. Isolat bakteri diletakkan pada kaca preparat, yang telah ditetesi larutan KOH 3% lalu dicampur secara merata menggunakan jarum ose. Setelah itu, jarum ose disentuh pada suspensi bakteri dan diangkat perlahan hingga setinggi kurang lebih 1 cm. Apabila suspensi terlihat membentuk lendir dan terasa lengket serta membentuk benang ketika jarum ose diangkat maka bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif, dan sebaliknya jika koloni tidak lengket dan tidak terbentuk benang maka bakteri tersebut merupakan bakteri gram positif (Abegaz, 2007).

3.3.3.2 Uji Oksidatif/ fermentatif (O/F)

Pengujian O/F bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri termasuk dalam kelompok bakteri yang bersifat oksidatif atau fermentatif. Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan bakteri uji pada media O/F (pH 7) pada 2 tabung reaksi. Bakteri uji berumur 24 jam pada media PPGA diambil menggunakan jarum preparat, dan diinokulasikan pada media O/F dengan cara ditusukkan sampai dasar tabung. Kemudian salah satu tabung yang berisi isolat bakteri ditutup dengan minyak parafin steril, sedangkan tabung yang lainnya tanpa ditutup dengan minyak parafin. Bakteri diinkubasikan pada suhu 28°C. Pengamatan uji

O/F dilakukan selama 7-14 hari. Apabila terjadi perubahan warna dari hijau menjadi kuning hanya pada media uji tanpa minyak parafin berarti bakteri tersebut bersifat oksidatif, sedangkan apabila terjadi perubahan warna hijau menjadi kuning pada media yang ditutup dengan minyak parafin maupun yang tanpa minyak parafin berarti bakteri tersebut bersifat fermentatif (Lelliot and Stead, 1987 dalam Masnilah *et al.*, 2013).

3.3.3.3 Uji *Lecithinase*

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan *lechitin*. Uji *lechitinase* dilakukan dengan menuangkan 0,5 ml egg yolk dalam cawan petri dan menambahkan 10 ml media YPA (suhu 45°C), kemudian dicampur secara merata. Setelah itu, 1 ose bakteri dari media PPGA digoreskan pada media *lechitinase*. Bakteri diinkubasikan pada suhu 28°C. Pengamatan uji *lecithinase* dilakukan selama 1-7 hari. Jika pengujian menunjukkan reaksi positif akan terlihat zona putih buram yang menyebar di luar tepi koloni bakteri (Desnidasari, 2015).

3.3.3.4 Uji *Soft Rot*

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui bakteri yang menyebabkan penyakit mati pucuk termasuk dalam bakteri penyebab busuk lunak atau tidak. Umbi kentang yang akan digunakan dalam pengujian ini dikupas dan diiris setebal 1 cm. Irisan kentang dicuci dengan air mengalir selama 30 menit untuk menghilangkan kemungkinan adanya residu bahan kimia pada kentang. Setelah itu, irisan kentang diletakkan di dalam cawan petri yang telah dialasi dengan tisu yang dilembabkan.

Selanjutnya, mengambil 1 ose biakan bakteri berumur 24 jam dalam media PPGA dan digoreskan pada bagian tengah permukaan umbi kentang. Reaksi positif akan ditunjukkan dengan adanya pembusukan pada kentang dan terdapat lendir setelah diinkubasi selama 24-48 jam (Lelliot and Stead, 1987 dalam Ferfinia, 2010).

3.3.3.5 Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif pada daun tembakau bertujuan untuk mengetahui sifat patogenik dari bakteri. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 1 ose isolat bakteri dari media PPGA dan disuspensikan dengan air steril 0,5 ml dalam tabung eppendorf 1,5 ml. Suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan rotamixer.

Kemudian sebanyak 0,5 ml disuntikkan ke dalam jaringan tepatnya diantara kedua epidermis daun tembakau menggunakan jarum suntik. Setelah disuntikkan secara perlahan terlihat suspensi menyebar di dalam jaringan batas urat-urat daun.

Selanjutnya daun tembakau diberi label dan diinkubasi selama 24-48 jam, untuk kemudian diamati. Reaksi dinyatakan positif jika terbentuk gejala nekrotik pada jaringan daun, sedangkan jika jaringan daun tidak mengalami perubahan berarti negatif (Schaad *et al.*, 2001).

3.3.3.6 Uji Fluoresensi pada Media King's B

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk mengeluarkan fluoresen. Pengujian fluoresensi dilakukan dengan cara mengambil biakan bakteri sebanyak 1 ose dari media PPGA dan digoreskan secara zig-zag pada media King'B, kemudian diinkubasi pada suhu 28°C. Pengamatan dilakukan 24-72 jam setelah inokulasi. Bakteri diamati pada ruang gelap menggunakan

lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm. Reaksi dinyatakan positif apabila terjadi fluoresensi pada biakan bakteri (Schaad *et al.*, 2001).

3.3.3.7 Uji Pertumbuhan pada Media YDC Agar

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan tumbuh bakteri pada media yang mengandung CaCO_3 (basa) dan mengetahui warna koloni bakteri dalam media YDC. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 1 ose biakan bakteri dari media PPGA dan kemudian digoreskan pada media YDC. Bakteri dalam media YDC diinkubasi pada suhu 28°C , dan dilakukan pengamatan selama 1-7 hari. Reaksi positif ditunjukkan dengan pertumbuhan bakteri pada media yang ditandai dengan munculnya warna abu-abu pada dasar media YDC (Suharjo, 2013).

3.3.3.8 Uji H_2S

Pengujian H_2S bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi gas hidrogen sulfida. Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan bakteri uji dalam media H_2S pada tabung reaksi yang ujung tabungnya telah diberi kertas indikator. Kertas indikator dibuat dengan memotong kertas saring berukuran 1 x 2 cm. Potongan kertas saring direndam dalam larutan HCl pekat 10 ml yang ditambah dengan air steril 30 ml (pH 7). Kertas saring disusun dalam cawan petri dan di autoklaf selama 10 menit dengan tekanan 1 atm. Media yang digunakan terdiri atas *beef extract* 5 g, peptone 10 g, dan akuades 1000 ml. Media dipanaskan kemudian sebanyak 5 ml dituang dalam tabung reaksi, dan diautoklaf selama 10 menit dengan tekanan 1 atm. Pengujian dilakukan dengan

cara mengambil sebanyak 1 ose isolat bakteri dari media PPGA dan disuspensikan dengan air steril 0,5 ml dalam tabung eppendorf 1,5 ml. Suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan rotamixer. Kemudian diambil menggunakan jarum ose dan diinokulasikan pada media H₂S. Setelah itu, kertas indikator diletakkan pada ujung tabung dan ditutup menggunakan kapas dan plastik *wrap*. Pengamatan dilakukan selama 21 hari, pada hari ke 1,2,4,7,14, dan 21. Apabila reaksinya positif, maka akan ditunjukkan dengan adanya warna hitam atau coklat pada ujung kertas indikator (Apriani, 2015).

3.3.3.9 Uji Pertumbuhan pada 5% NaCl

Uji pertumbuhan pada 5% NaCl untuk melihat kemampuan tumbuh bakteri dalam kondisi konsentrasi garam tertentu. Pengujian menggunakan media yang berisi peptone 10 g, 5% NaCl dalam volume, dilarutkan dengan akuades 1000 ml. Media diautoklaf dengan suhu 121°C selama 10 menit dengan tekanan 1 atm. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 1 ose isolat bakteri dari media PPGA dan disuspensikan dengan air steril 0,5 ml dalam tabung eppendorf 1,5 ml. Suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan rotamixer. Setelah itu, suspensi bakteri diambil menggunakan jarum ose dan diinokulasikan pada media 5% NaCl. Pengamatan dilakukan selama 21 hari, pada hari ke 1,2,4,7,14, dan 21. Apabila reaksi positif bakteri uji akan tumbuh pada media, yang dapat diketahui dari adanya perubahan media menjadi keruh (Suharjo, 2013).

3.3.3.10 Uji Arginin dihidrolase (Moeller Media)

Uji arginin dihidrolase merupakan suatu cara untuk dapat mendeteksi pertumbuhan bakteri pada kondisi anaerob dalam medium yang mengandung bahan kimia arginin. Media yang digunakan yaitu media Moeller 21 g (pH 6,8), yang dilarutkan dengan akuades 1000 ml. Media dipanaskan, kemudian sebanyak 5 ml dituangkan ke dalam tabung reaksi, dan diautoklaf selama 10 menit dengan tekanan 1 atm. Pengujian dilakukan dengan mengambil bakteri menggunakan jarum preparat, dan diinokulasikan pada media moeller dengan cara ditusukkan pada media sampai dasar tabung, kemudian ditutup dengan minyak parafin steril. Bakteri diinkubasikan pada suhu 28°C selama 7-14 hari. Apabila reaksi positif akan ditandai dengan perubahan warna pada media menjadi warna ungu, dan jika reaksi negatif media akan berubah warna menjadi kuning (Suharjo, 2013).

3.3.3.11 Uji Kemampuan Tumbuh pada Beberapa Suhu

Pengujian dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri uji pada media YP pada beberapa suhu yaitu 36°C, 37°C, 39°C, dan 40°C. Isolat bakteri diambil sebanyak 1 ose dari media PPGA dan disuspensikan dengan air steril 0,5 ml dalam tabung eppendorf 1,5 ml. Suspensi bakteri kemudian dihomogenkan menggunakan rotamixer. Setelah itu, suspensi bakteri diambil menggunakan jarum ose dan diinokulasikan pada media YP. Bakteri dalam media YP diinkubasikan pada water bath pada beberapa suhu yaitu 36°C, 37°C, 39°C, dan 40°C, yang dilakukan secara bergantian. Pengamatan dilakukan selama 7 hari. Apabila reaksi positif bakteri akan tumbuh, yang ditandai dengan adanya perubahan warna pada media uji menjadi warna putih keruh.

3.3.3.12 Uji Kemampuan untuk Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik

Uji pertumbuhan pada beberapa jenis bahan organik bertujuan untuk mengetahui kemampuan tumbuh bakteri pada bahan organik tertentu. Media yang digunakan yaitu media Ayer's dengan komposisi $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1 g, KCl 0.2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, Bromthymol Blue (BTB) 2 %, dan air akuades sebanyak 1000 ml. Bakteri diuji dengan beberapa jenis bahan organik yang berbeda, seperti *Myo-inositol*, *M-tartrate*, *D-raffinose*, *D-arabinose*, *D-melibiose*, *inulin*, *L-tartrate*, *D-tartrate*, *mannitol*, *glycerol*, *starch*, *S-ketogluconate*, *lactose*, *Cis-aconitic acid*, *L-ascorbic acid*, *ascorbic acid*, dan *citrate*. Pengujian dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ose isolat bakteri dalam media miring PPGA dan disuspensikan dengan 0,5 ml air steril dalam tabung eppendorf 1,5 ml. Suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan rotamixer. Isolat bakteri diambil menggunakan jarum preparat, dan diinokulasikan pada media Ayer's dengan cara ditusukkan pada media sampai dasar tabung. Bakteri pada media Ayer's diinkubasikan pada suhu 28°C selama 21 hari dan diamati dengan melihat perubahan warna media. Apabila terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi kuning atau biru menyesuaikan bahan organik yang digunakan, artinya bakteri mampu menggunakan bahan organik tersebut (Suharjo, 2013).

3.3.4 Identifikasi Molekuler

Identifikasi secara molekuler dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA dengan PCR, elektroforesis dan visualisasi hasil PCR, serta sekuensing DNA dan analisis hasilnya (Suharjo, 2013).

3.3.4.1 Ekstraksi DNA

Ekstraksi bakteri dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam dari media PPGA. Isolat bakteri disuspensikan dengan 20 µl DNA zole dalam tabung eppendorf berukuran 100 µl. Suspensi diinkubasikan pada suhu ruang selama 20-30 menit dan siap untuk digunakan.

3.3.4.2 Amplifikasi DNA dengan PCR

Sebanyak 12,5 µl *Master Mix (Red Mix)* (bioline) dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 100 µl lalu ditambahkan primer fD1 (5' CCGAATTCGTCGACAACA GAGTTTGATCCTGGCTCAG 3') dan rP2 (5' CCCGGGATCCAAGCTTACG GCTACCTTGTTACGACTT 3'), masing-masing sebanyak 1 µl, larutan ekstrak DNA bakteri sebanyak 1 µl dan akuades steril sebanyak 9,5 µl (Weisburg *et al.*, 1991). Larutan yang sudah dibuat kemudian diampifikasi menggunakan mesin PCR sensquest labcycler. PCR dilakukan dengan lima tahapan, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Tahap inisiasi dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit (1 kali siklus), dilanjutkan dengan 30 siklus tahap denaturasi pada suhu 95 °C selama 1 menit, annealing pada suhu 58 °C selama 1 menit dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit. Terakhir tahap elongasi pada suhu 72 °C selama 5 menit (1 kali siklus) (Joshi and Deshande, 2010).

3.3.4.3 Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR

Gel agarose 0,5% yang sudah ditambah 1 µl ethidium bromide (ETBr 10 mg/ml) dibuat, lalu dituangkan pada cetakan dengan sisir. Gel agarose padat dimasukkan ke dalam alat elektroforesis berisi larutan TBE, pada sumur pertama agar

dimasukkan 3 µl Marker DNA *ladder*. Selanjutnya setiap sumur diisi 3 µl hasil PCR, lalu dilakukan elektroforesis dengan tegangan 50 volt selama 60-70 menit. Hasil PCR yang dielektroforesis ditunggu hingga DNA bergerak sampai ditengah-tengah baris 3 dan 4 dari ujung lawan. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan *digi-doc-imaging-system*, yang hasilnya disimpan dalam komputer. Keberadaan profil DNA antar lokus gen akan terlihat berupa pita terang.

3.3.4.4 Sekuensing dan Analisis Hasilnya

Hasil PCR kemudian dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk disekuensing. Program MEGA 6 digunakan untuk menganalisis hasil sekuensing.

3.3.5 Uji Kisaran Inang

Uji kisaran inang dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri penyebab mati pucuk pada tanaman pepaya dapat menyebabkan infeksi pada tanaman lainnya. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 1 ose isolat bakteri dari media PPGA dan disuspensikan dengan air steril 0,5 ml dalam tabung eppendorf 1,5 ml. Suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan *rotamixer*, kemudian ditusukkan ke dalam jaringan tanaman yang akan diuji dengan menggunakan jarum suntik. Apabila bagian tanaman yang diinokulasi menunjukkan gejala busuk basah seperti pada tanaman pepaya berarti isolat bakteri yang diperoleh dapat menginfeksi tanaman tersebut. Tanaman yang digunakan untuk uji kisaran inang adalah dari beberapa jenis tanaman sayuran diantaranya lidah buaya, seledri, tanaman pepaya, bawang daun, tomat, caisim, sawi putih, kubis, buncis, terong, labu siam, bawang bombay, wortel, cabai, mentimun, selada dan pakcoy.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Bakteri penyebab penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya di PT GGF memiliki ciri-ciri morfologi berupa koloni berwarna putih keabu-abuan, berbentuk bulat, dengan tepian halus, permukaan mengkilap dan cembung.
2. Bakteri penyebab mati pucuk pepaya merupakan bakteri kelompok gram negatif, fermentatif, *lechitinase* negatif, *soft rot* negatif, hipersensitif positif, tidak berpendar pada media King's B, mampu tumbuh dan menghasilkan pigmen abu-abu pada media YDC, tidak memproduksi H₂S, tidak mampu tumbuh di 5% NaCl, arginin dihidrolase positif, dan mampu tumbuh pada suhu 36°C hingga 40°C serta mampu menggunakan *Myo-inositol*, *L-Tartrate*, *Glycerol*, *Cis-Aconitic Acid*, dan *Citrate* sebagai sumber karbonnya.
3. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa bakteri penyebab penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya di PT GGF adalah *Erwinia mallotivora*.
4. Selain tanaman pepaya, *E. mallotivora* juga dapat menginfeksi dan menimbulkan gejala pada buah terong.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk melakukan uji lanjutan terhadap beberapa varietas tanaman pepaya untuk mengetahui varietas tanaman pepaya yang tahan dan rentan terhadap bakteri penyebab penyakit mati pucuk pepaya. Uji kisaran inang pada tanaman lain selain dari golongan sayuran dan buah juga diperlukan untuk mengetahui kisaran inang bakteri yang lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abazar, T. dan R. Rivai. 2004. *Bakteri Patogenik Tumbuhan*. Andalas University Press. Padang. 441 hlm.
- Abegaz, K. 2007. Isolation, Characterization and Identification of Lactic Acid Bacteria Involved in Traditional Fermentation of *Borde*, an Ethiopian Cereal Beverage. *African Journal of Biotechnology*. 6(12) : 1469-1478.
- Agrios, G. N. 1996. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 713 hlm.
- Amin, N. M., H. Bunawan, R. A. Redzuan and I. B. S. Jaganath. 2011. *Erwinia mallotivora* sp., a New Pathogen of Papaya (*Carica papaya*) in Peninsular Malaysia. *International Journal of Molecular Sciences*. 12 : 39-45.
- Apriani, I. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Mannolitik yang Berasal dari Serasah Tanaman Sawit. *Bioilmi*. 1(1) : 42-45.
- Bakar, B. A. dan Ratnawati. 2017. *Petunjuk Teknis Budidaya Pepaya*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Aceh. Banda Aceh. 35 hlm.
- Chai, W. T., J. A. Gansau, M. Atong, J. Kadir, E. Poili and K. P. Chong. 2017. First Report of *Erwinia psidii* Associated with Papaya Dieback Disease in Malaysia. *Malaysian Journal of Microbiology*. 13(1) : 20-25.
- Departemen Pertanian. 2008. Pedoman Diagnosis OPTK Golongan Bakteri. Badan Karantina Pertanian. 131 hlm.
- Desnidasari. 2015. Karakterisasi dan Uji Kisaran Inang Bakteri Penyebab Penyakit Busuk Lunak pada Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L., Merr.). (*Skripsi*). Universitas Lampung. Bandar Lampung. 38 hlm.
- Direktorat Jendral Hortikultura. 2013. Statistik Produksi Hortikultura Tahun 2013. <http://www.hortikultura.pertanian.go.id>. Diakses pada 20 Januari 2018.
- Ferfinia, A. 2010. Eksplorasi Bakteri dan Cendawan Rizosfer yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Basah pada Batang Pepaya (*Carica papaya* L.) di

- Pasir Kuda, Desa Ciomas, Bogor. (*Skripsi*). Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 40 hlm.
- Gardan, L., R. Christen, W. Achouak and P. Prior. 2004. *Erwinia papayae* sp. nov., a Pathogen of Papaya (*Carica papaya*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54 : 107-113.
- Ginting, C. 2013. *Ilmu Penyakit Tumbuhan Konsep dan Aplikasi*. Lembaga Penelitian, Universitas Lampung. Bandar Lampung. 203 hlm.
- Goto, M. 1976. *Erwinia mallotivora* sp. nov., the Causal Organism of Bacterial Leaf Spot of *Mallotus japonicus*. *International journal of systematic bacteriology*. 26(4):467-473.
- Indriyani, N. L. P., Affandi dan D. Sunarwati. 2008. *Pengelolaan Kebun Pepaya Sehat*. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. 22 hlm.
- Integrated Taxonomic Information System. 2018. *Carica papaya* L. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=22323#null. Diakses pada tanggal 10 Januari 2018.
- Joshi, M. and J. D. Deshpande. 2010. Polimerase Chain Reaction: Methods, principles and application. *International Journal of Biomediacal Research*. 1(5) : 81-97.
- Maktar, N. H., S. Kamis, F. Z. M. Yusof dan N. H. Hussain. 2008. *Erwinia papayae* Causing Papaya Dieback in Malaysia. *Plant Pathology*. 57 : 774.
- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari, dan E. Riani. 2009. Aktifitas Kitinase, Lesitinase, dan Hemolisin Isolat dari Bakteri Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) yang Dikultur dalam Keramba Jaring Apung Waduk Jatiluhur Purwakarta. *Jurnal Ristek Akuakultur*. 4(2) : 257-265.
- Masnilah, R., A. L. Abadi., T. H. Astono dan L. Q. Aini. 2013. Karakterisasi Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun Edamame di Jember. *Berkala Ilmiah Pertanian*. 1(1) : 10-14.
- Nuswamarhaeni, S., D. Prihatini, dan E. P. Pohan. 1999. *Mengenal buah unggul Indonesia*. Penebar Swadaya. Jakarta. 122 hlm.
- Schaad, N. W., J. B. Jones and W. Chun. 2001. *Plant Pathogenic Bacteria*. APS Press. Amerika. 373 hlm.
- Semangun, H. 2007. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 845 hlm.

- Suharjo, R. 2013. Studies on the Taxonomy and Identification of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium* spp. Isolated in Japan (*Ph. D Thesis*). Shizuoka University. Jepang. 225 hlm.
- Sujiprihati, S. dan S. Suketi. 2009. *Budidaya Pepaya Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta. 92 hlm.
- Suryanti, Setyadjit dan A. B. Arif. 2012. Produk Diversifikasi Olahan untuk Meningkatkan Nilai Tambah dan Mendukung Pengembangan Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) di Indonesia. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*. 8 (2) : 62-70.
- Weisburg, W. G., S. M. Barns, D. A. Pelletier, and D. J. Lane. 1991. 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. *Journal of Bacteriology*. 173 (2) : 697-703.