

**KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI *Dickeya* sp. PENYEBAB
PENYAKIT BUSUK BATANG PADA TANAMAN PISANG DI LAMPUNG**

(Skripsi)

Oleh

BELLA FRIANA SADINDA



**JURUSAN PROTEKSI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRAK

KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI *Dickeya* sp. PENYEBAB PENYAKIT BUSUK BATANG PADA TANAMAN PISANG DI LAMPUNG

Oleh

BELLA FRIANA SADINDA

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter, identitas dan kisaran inang bakteri penyebab penyakit busuk batang pada pisang. Penelitian dilaksanakan pada Oktober 2020 sampai Juli 2021 di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Sebanyak 4 isolat bakteri yang diduga sebagai penyebab penyakit busuk batang pisang digunakan dalam penelitian ini. Isolat bakteri yang digunakan berasal dari Lampung Tengah. Uji patogenesis dilakukan pada bibit tanaman pisang varietas Cavendish berumur 3 bulan. Karakteristik dan identifikasi dilakukan berdasarkan uji biokimia dan uji molekuler berdasarkan sekuens *recA*. Uji kisaran inang dilakukan terhadap 21 spesies tanaman yang berbeda selain tanaman pisang. Hasil uji patogenesis menunjukkan bahwa isolat bakteri menimbulkan gejala berupa adanya daerah nekrotik pada bagian yang diinokulasi. Hasil uji biokimia memperlihatkan bahwa semua isolat bakteri merupakan kelompok Gram negatif, bersifat fermentatif, *lechitinase* positif, *soft rot* positif, reaksi hipersensitif positif, fluoresensi pada media King's B negatif, *arginine dihidrolase* negatif, casein positif, mampu tumbuh pada suhu 39 °C tetapi tidak mampu tumbuh pada suhu 40 °C dan mampu menggunakan *D-melibiose*, *Lactose*, *Mannitol*, *S-Ketogluconate*, dan *D-raffinose* sebagai sumber karbonnya. Hasil identifikasi molekuler terhadap dua isolat bakteri sebagai representasi isolat yang digunakan menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut berada dalam kelompok *Dickeya fangzhongdai* DSM101947 (Acc. No. CP025003) dan PA1 (Acc. No. CP020872). Hasil uji kisaran inang menunjukkan bahwa isolat bakteri dapat menyebabkan gejala busuk pada tomat, bawang merah, kubis, terong, gambas, buncis, kacang panjang, sawi putih, pare, selada, cabai, brokoli, bawang bombay dan okra.

Kata kunci : busuk batang, *Dickeya fangzhongdai*, identifikasi molekuler, *recA*, tanaman pisang.

**KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI *Dickeya* sp. PENYEBAB
PENYAKIT BUSUK BATANG PADA TANAMAN PISANG DI LAMPUNG**

Oleh

BELLA FRIANA SADINDA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Proteksi Tanaman
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**JURUSAN PROTEKSI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul Skripsi : **KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI
Dickeya sp. PENYEBAB PENYAKIT BUSUK
BATANG PADA TANAMAN PISANG DI
LAMPUNG**


Nama Mahasiswa : **Bella Friana Sadinda**


Nomor Pokok Mahasiswa : **1714191006**

Program Studi : **Proteksi Tanaman**

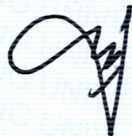
Fakultas : **Pertanian**




Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.
NIP 198106212005011003


Dr. Ir. I Gede Swibawa, M.S.
NIP 196010031986031003

2. Ketua Jurusan Proteksi Tanaman

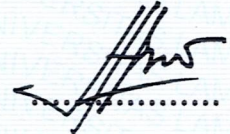


Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.
NIP 198108152008122001

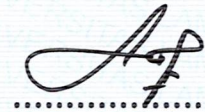
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

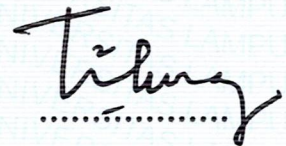
Ketua : **Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.**



Sekretaris : **Dr. Ir. I Gede Swibawa, M.S.**

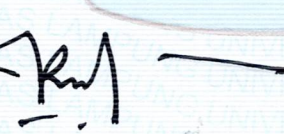


Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Pertanian




Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **25 November 2021**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“Karakterisasi dan Identifikasi *Dickeya* sp. Penyebab Penyakit Busuk Batang pada Tanaman Pisang di Lampung”** merupakan hasil karya saya sendiri bukan hasil karya orang lain. Semua penulisan dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila skripsi ini terbukti salinan karya orang lain atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, Desember 2021

Penulis.



Bella Friana Sadinda

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Dusun Sri Rahayu II, Desa Kotagajah Timur, Kecamatan Kotagajah, Kabupaten Lampung Tengah pada tanggal 27 Oktober 1998. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Sumardi dan Ibu Suparmi. Penulis telah menyelesaikan pendidikan TK di Aisyiah Bustanul Athfal pada tahun 2005, SD di SDN 3 Kotagajah pada tahun 2011, SMP di SMPN 2 Kotagajah pada tahun 2014, SMA di SMAN 1 Kotagajah pada tahun 2017, dan pada tahun yang sama penulis diterima sebagai mahasiswa di Universitas Lampung dengan Program studi Proteksi tanaman melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Tri Tunggal Jaya, Kecamatan Banjar Agung, Kabupaten Tulang Bawang pada periode I tahun 2020 dan Praktik umum di PP GAPSEREA Sejahtera Mandiri Seputih Raman pada tahun 2020. Selama menempuh pendidikan, penulis pernah menjadi asisten responsi mata kuliah Bahasa Inggris dan praktikum mata kuliah Bakteriologi Tumbuhan. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam kegiatan Himpunan Mahasiswa Proteksi Tanaman (HIMAPROTEKTA) sebagai anggota bidang seminar dan diskusi tahun 2017/2018 dan bidang pengembangan minat dan bakat tahun 2019/2020.

PERSEMBAHAN

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Karakterisasi dan Identifikasi *Dickeya* sp. Penyebab Penyakit Busuk Batang pada Tanaman Pisang di Lampung**”.

Dengan penuh rasa syukur karya ini ku persembahkan sebagai ungkapan terima kasihku untuk:

1. Untuk Bapak dan Mamakku tercinta, Sumardi dan Suparmi yang senantiasa memberikan dukungan, doa dan motivasi tak terhingga untuk penulis hingga dapat menyelesaikan pendidikan, terima kasih kalian adalah sumber semangat hidupku.
2. Untuk Kakak kakak ku tersayang, Mba Ayu Sevtia Anggraini dan Aa Tarmidi yang senantiasa memberikan dukungan luar biasa untuk penulis. Terima kasih kalian telah menjadi saudara, dan sahabat terbaik bagi penulis.
3. Teman teman seperjuangan Proteksi tanaman 2017, adik adikku angkatan 2018, 2019, 2020, dan 2021, serta Almamaterku tercinta Universitas Lampung tempat penulis menempuh studi.

MOTTO

Usaha yang maksimal tidak menjamin keberhasilan, tetapi setidaknya terhindar dari penyesalan, karena sesungguhnya penyesalan tidak berasal dari kegagalan, tetapi dari usaha yang tidak maksimal.

(Bella Friana Sadinda)

SANWACANA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Karakterisasi dan Identifikasi *Dickeya* sp. Penyebab Penyakit Busuk Batang pada Tanaman Pisang di Lampung”**. Adapun tujuan penulisan skripsi ini yaitu sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Pertanian di Universitas Lampung. Penulisan ini tidak terlepas dari bantuan semua pihak yang membimbing dan mendoakan. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu baik dalam pelaksanaan penelitian maupun dalam penulisan skripsi, khususnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah memberikan dukungan dan bantuannya.
2. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku Ketua Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah memberikan saran, dukungan dan bantuannya.
3. Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr., selaku Dosen Pembimbing Utama yang tulus membantu penulis selama penelitian sampai penulisan skripsi selesai.
4. Dr. Ir. I Gede Swibawa, M.S., selaku Dosen Pembimbing kedua atas saran dan motivasi selama penelitian sampai penulisan skripsi selesai.
5. Dr. Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc., selaku Dosen Penguji atas nasihat dan saran selama penelitian sampai penulisan skripsi selesai.
6. Prof. Dr. Ir. F.X. Susilo, M.Sc., sebagai Pembimbing Akademik yang telah memberikan dukungan dan bantuannya.
7. Kedua orang tua penulis bapak Sumardi dan ibu Suparmi serta kakak tercinta Ayu sevtia anggraini dan Tarmidi yang telah memberikan dukungan dan doa untuk penulis.
8. Sahabat penulis, Ellisa, Imawati, dan Lusiana, terimakasih atas setiap kenangan manis yang telah kalian torehkan selama menempuh pendidikan.

9. Tim penelitian penulis Shakila, Lutfi dan Javinka, terimakasih atas saran dan bantuan selama penelitian, kalian yang terbaik.
10. Teman teman penelitian Biotek 17, Sipa, Lia, Mara, Safira, Erika, Adel, Shafira, fajar, Putu arieska, Selviana, Ayu, dan Habib, terimakasih atas kebersamaan dan pengalaman bersama kalian.
11. Mba Tari, Mba Aya, Mba Mom (Mba yeyen), Mba Lili, Bang Nando, Mba Uum, Bang Sem, Mas Helmi, Mas Mus, Mas Jen, terima kasih atas saran, dan bantuan selama peneliti menyelesaikan skripsi.
12. Teman teman seperjuangan proteksi tanaman 2017, Keluarga besar HIMAPROTEKTA, dan adik adik penulis angkatan 2018, 2019, 2020, dan 2021.

Penulis ucapkan terimakasih atas waktu yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi. Semoga skripsi ini yang telah ditulis penulis dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca, serta diridhoi Allah SWT.

Bandar Lampung, Desember 2021

Penulis,

Bella Friana Sadinda

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	2
1.3. Kerangka Pemikiran.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Tanaman Pisang.	3
2.1.1. Taksonomi dan Morfologi Tanaman Pisang	3
2.1.2. Syarat Tumbuh Pisang	5
2.2. Penyakit Busuk Batang Pisang	5
2.2.1. Gejala Penyakit	6
2.2.2. Penyebab Penyakit	6
2.2.3. Genus <i>Dickeya</i>	6
2.2.4. Kisaran inang <i>Dickeya</i> spp.....	7
III. BAHAN DAN METODE	8
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	8
3.2. Bahan dan Alat	8
3.3. Metode Penelitian.....	9
3.3.1. Uji Patogenesis.....	9
3.3.2. Karakterisasi dan Identifikasi Penyebab Penyakit	9
3.3.2.1. Karakterisasi Penyebab Penyakit (Uji Biokimia)	9

a. Uji Gram.....	9
b. Uji Oksidatif/fermentatif (O/F).....	10
c. Uji <i>Soft Rot</i>	11
d. Uji Kemampuan Tumbuh pada Beberapa Kisaran Suhu.....	11
e. Uji Fluoresensi pada Media King's B.....	12
f. Uji <i>Arginine dihydrolase (Moeller Media)</i>	12
g. Uji Casein.....	12
h. Uji Hipersensitif.....	13
i. Uji <i>Lechitinase</i>	13
j. Uji Kemampuan Menggunakan Bahan Organik.....	14
3.3.2.2. Identifikasi Molekuler Penyebab Penyakit.....	14
a. Ekstraksi DNA.....	14
b. Amplifikasi DNA dengan PCR.....	15
c. Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR.....	16
d. Sekuensing dan Analisis Hasilnya.....	16
3.3.3. Uji Kisaran Inang.....	16
3.3.4. Penyajian Data.....	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1. Hasil Penelitian.....	18
4.1.1. Patogenisitas.....	18
4.1.2. Karakterisasi dan Identifikasi Penyebab Penyakit.....	21
4.1.2.1. Karakterisasi Penyebab Penyakit (Uji Biokimia).....	21
a. Uji Gram.....	21
b. Uji Oksidatif/fermentatif (O/F).....	21
c. Uji <i>Soft Rot</i>	22
d. Uji Kemampuan Tumbuh pada Beberapa Kisaran Suhu.....	22
e. Uji Fluoresensi pada Media King's B.....	23
f. Uji <i>Arginine dihydrolase (Moeller Media)</i>	23
g. Uji Casein.....	24
h. Uji Hipersensitif.....	24
i. Uji <i>Lechitinase</i>	25
j. Uji Kemampuan Menggunakan Bahan Organik.....	25
4.1.2.2. Identifikasi Molekuler Penyebab Penyakit.....	27
4.1.2.3. Uji Kisaran Inang.....	28
4.2. Pembahasan.....	32

V. SIMPULAN DAN SARAN	38
5.1. Simpulan	38
5.2. Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian.....	9
2. Bakteri yang mampu menggunakan bahan organik pada uji kemampuan untuk menggunakan beberapa jenis bahan organik.....	26
3. Jenis tanaman yang terinfeksi pada uji kisaran inang isolat bakteri penyebab busuk batang pisang	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gejala nekrotik pada batang tanaman pisang yang diinokulasi dengan bakteri.	19
2. Koloni bakteri pada media YPA setelah 24 jam reisolasi.....	20
3. <i>Soft rot</i> pada umbi kentang setelah 24 jam inokulasi.....	20
4. Gejala busuk batang pisang di Lampung Tengah	20
5. Lendir yang tidak putus saat diangkat pada uji Gram menggunakan KOH 3%	21
6. Warna kuning pada media menunjukkan sifat fermentatif pada uji O/F.	21
7. <i>Soft rot</i> pada umbi kentang setelah 24 jam inokulasi.....	22
8. Perubahan kenampakan media (bening – keruh) menunjukkan kemampuan tumbuh bakteri	22
9. Hasil uji fluoresensi pada media King's B.....	23
10. Warna kuning pada media menunjukkan reaksi negatif pada uji <i>arginine dihydrolase</i>	23
11. Zona bening disekitar koloni bakteri pada uji casein.....	24
12. Gejala nekrotik jaringan daun tembakau pada uji hipersensitif.....	24
13. Zona putih buram disekitar koloni bakteri pada uji <i>lechitinase</i>	25
14. Warna media menunjukkan kemampuan untuk menggunakan beberapa jenis bahan organik.....	26
15. Pohon filogenik hasil analisis sekuen <i>recA</i> yang dibuat menggunakan program MEGA 6	27
16. Gejala nekrotik pada bagian sayuran yang diinokulasi dengan bakteri.....	31

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pisang (*Musa paradisiaca* L.) merupakan salah satu tanaman hortikultura penting di Indonesia. Menurut Purwadaria (2006) pisang merupakan komoditas buah yang paling banyak dikonsumsi dan diproduksi di Indonesia. Namun demikian, menurut Badan Pusat Statistik (2019) produksi pisang di Indonesia mengalami penurunan dari 72,99 ribu ton pada tahun 2015, menjadi sebesar 70,07 ribu ton pada tahun 2016. Penurunan produksi disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya berasal dari hama dan penyakit tanaman. Beberapa jenis penyakit penting tanaman pisang yang selama ini dilaporkan antara lain layu panama (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*), layu bakteri (*Ralstonia solanaceae* subsp. *celestis*), *Bunchy Top Virus* (BTV), bercak daun sigatoka kuning (*Mycosphaerella musicola*), dan bercak daun sigatoka hitam (*Mycosphaerella fijiensis*) (Prasetyo dan Sudiono, 2004; Safni *et al.*, 2014; Arsensi dan Rofik, 2015).

Pada tahun 2019, ditemukan adanya penyakit busuk batang pisang di Lampung Tengah. Bagian tanaman yang bergejala di lapangan diisolasi oleh Tim peneliti Laboratorium Bioteknologi Pertanian. Hasil isolasi memperlihatkan bahwa penyakit tersebut disebabkan oleh bakteri yang diduga merupakan anggota *Dickeya*. Isolat tersebut saat ini disimpan sebagai koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Hingga saat ini, belum diketahui karakteristik dan identitas serta kisaran inang bakteri penyebab busuk batang yang ditemukan di Lampung Tengah tersebut. Informasi tentang karakter, identitas dan kisaran inang sangat diperlukan sebagai dasar untuk menentukan tindakan pengendalian terhadap patogen ini.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui karakter, identitas dan kisaran inang bakteri penyebab penyakit busuk batang pada pisang.

1.3 Kerangka Pemikiran

Genus *Dickeya* adalah genus yang sebelumnya dikenal sebagai *Erwinia chrysanthemi*. Genus *Dickeya* terdiri dari enam spesies yaitu: *D. chrysanthemi*, *D. dieffenbachiae*, *D. paradisiaca*, *D. dadantii*, *D. dianthicola*, dan *D. zae* (Samson *et al.*, 2005). Pada tahun 2012, *D. dadantii* dan *D. dieffenbachiae* digabungkan ke dalam satu spesies yang sama *D. dadantii* dengan subspecies yang berbeda yaitu subspecies *dadantii* dan subspecies *dieffenbachiae* (Brady *et al.*, 2012). Beberapa spesies *Dickeya* yang baru dilaporkan keberadaannya antara lain *D. solani*, *D. aquatica*, dan *D. fangzhongdai* (Van der Wolf *et al.*, 2014; Parkinson *et al.*, 2014; Tian *et al.*, 2016).

Dickeya spp. bersifat gram negatif, katalase positif, oksidase negatif dan dapat menyebabkan busuk pada umbi kentang (Haerani dkk., 2015). Aeny *et al.* (2020) melaporkan bahwa *D. zae* bersifat gram negatif, *lechitinase* positif, fermentatif dan tidak berpendar pada media King's B.

Dickeya spp. dilaporkan dapat menyerang berbagai macam tanaman. Aminah (2020) melaporkan bahwa berdasarkan hasil identifikasi molekuler *D. zae* menjadi penyebab penyakit busuk batang jagung. *D. zae* juga dilaporkan menjadi patogen tanaman nanas (Aeny *et al.*, 2020). Fu and Huang (2011) melaporkan bahwa *D. dadantii* menjadi patogen utama busuk lunak angrek. Hingga saat ini, beberapa spesies *Dickeya* yang dilaporkan menyerang tanaman pisang antara lain *D. paradisiaca*, *D. zae*, dan *D. dadantii* (Samson *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2016).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Pisang

Tanaman pisang merupakan salah satu komoditas hortikultura penting di Indonesia yang kaya akan nutrisi. Setiap jenis pisang mengandung gizi yang berbeda antara jenis satu dengan yang lainnya. Rata-rata kandungan setiap 100 g daging buah pisang terdiri atas energi 90 kkal, karbohidrat 22,84 g, protein 1,09 g, lemak 0,33 g, serat 2,6 mg, kalsium 5 mg, fosfor 22 mg, zat besi 0,26 mg, tembaga 0,078 mg, potasium 358 mg, magnesium 27 mg, vitamin A 64 mg, vitamin B1 0,031 mg, vitamin C 8,7 mg, vitamin E 0,1 mg (Wardhany, 2014). Pisang merupakan salah satu tanaman yang memiliki arti ekonomi dan sebagai komoditi ekspor yang bernilai penting. Tanaman pisang memiliki beberapa keunggulan antara lain produktivitas, nilai gizi, ragam genetiknya tinggi, adaptif pada ekosistem yang luas, dan biaya produksi rendah serta telah diterima secara luas (Yanti, 2008).

Potensi produksi buah pisang di Indonesia daerah sebarannya luas. Hampir seluruh wilayah di Indonesia, merupakan tempat produksi pisang. Pisang ditanam di pekarangan maupun di ladang, dan sebagian telah dibudidayakan menjadi sebuah perkebunan. Jenis pisang yang ditanam oleh masyarakat beranekaragam, mulai dari pisang untuk olahan (*plantain*) *cooking fruit* sampai jenis pisang komersial (*banana*) dimakan segar (*edible fruit*) yang bernilai ekonomi tinggi (Wardhany, 2014).

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Pisang

Taksonomi tanaman pisang menurut USDA (2014) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super divisi : Spermatophyta

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Zingiberales
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Musaceae
Genus	: Musa L.
Spesies	: <i>Musa paradisiaca</i> L.

Suyanti dan Supriyadi (2008) menjelaskan akar, batang, daun, bunga, dan buah morfologi tanaman pisang sebagai berikut:

1. Akar

Sistem perakaran tanaman pisang umumnya keluar dan tumbuh dari bonggol bagian samping dan bagian bawah berupa akar serabut, dan tidak berakar tunggang. Pertumbuhan akar pada umumnya berkelompok menuju arah samping di bawah permukaan tanah dan mengarah ke dalam tanah mencapai panjang 4-5 m. Walaupun demikian, daya jangkauan akar hanya menembus pada kedalaman tanah antara 150-200 cm.

2. Batang

Batang pisang dibedakan menjadi dua macam yaitu batang asli yang disebut bonggol dan batang semu atau batang palsu. Bonggol berada di pangkal batang semu dan berada di bawah permukaan tanah serta memiliki banyak mata tunas yang merupakan calon anakan tanaman pisang dan merupakan tempat tumbuhnya akar. Batang semu tersusun atas pelepah daun yang saling menutupi, tumbuh tegak dan kokoh, serta berada di atas permukaan tanah.

3. Daun

Bentuk daun pisang pada umumnya panjang, lonjong, dengan lebar yang tidak sama, bagian ujung daun tumpul, dan tepinya tersusun rata. Letak daun terpecah dan tersusun dalam tangkai yang berukuran relatif panjang dengan helai daun yang mudah robek.

4. Bunga

Bunga pisang atau yang sering disebut dengan jantung pisang keluar dari ujung

batang. Susunan bunga tersusun atas daun pelindung yang saling menutupi dan bunga-bunganya terletak pada tiap ketiak di antara daun pelindung dan membentuk sisir. Bunga pisang termasuk bunga berumah satu, letak bunga betina di bagian pangkal, sedangkan letak bunga jantan berada di tengah. Bunga sempurna yang terdiri atas bunga jantan dan bunga betina berada di bagian ujung.

5. Buah

Buah pisang tersusun dalam tandan, tiap tandan terdiri atas beberapa sisir dan tiap sisir terdapat 6-22 buah pisang tergantung varietasnya. Buah pisang umumnya tidak berbiji dan bersifat triploid, kecuali pada pisang kluthuk yang bersifat diploid dan memiliki biji. Proses pembuahan tanpa adanya biji disebut dengan partenokarpi. Ukuran buah pisang bervariasi tergantung pada varietasnya, panjang antara 10-18 cm dengan ukuran diameter sekitar 2,5-4,5 cm. Daging buah tebal dan lunak, kulit buah yang masih muda berwarna hijau dan ketika tua berubah menjadi kuning dan strukturnya bisa tebal dan tipis juga tergantung dari varietas pisangnya.

2.1.2 Syarat Tumbuh Pisang

Tanaman pisang toleran akan ketinggian dan kekeringan. Tanaman pisang dapat tumbuh di dataran rendah sampai pegunungan setinggi 1000 m dpl. Produktivitas pisang yang optimum pada tanah datar dan ketinggian di bawah 500 m dpl (Cahyono, 2002).

Tanaman pisang umumnya tumbuh dan berproduksi secara optimal di daerah yang memiliki ketinggian antara 400-600 m dpl. Di dataran tinggi umur tanaman hingga berubah menjadi lama dan kulitnya tebal. Hal ini dikarenakan secara biologis tanaman akan menyesuaikan kondisi lingkungan yang ada. Semakin tinggi suatu tempat, maka suhu dan intensitas cahaya di tempat tersebut juga akan semakin berkurang (Goldsworthy dan Fisher, 1992).

2.2 Penyakit Busuk Batang Pisang

Penyakit busuk batang pisang disebabkan oleh beberapa spesies *Dickeya* spp. Informasi mengenai gejala penyakit, penyebab penyakit, dan kisaran inang dapat digunakan untuk pengendalian secara efektif dan efisien.

Berikut adalah beberapa gejala penyakit, penyebab penyakit, dan kisaran inang dari beberapa spesies *Dickeya* spp.

2.2.1 Gejala Penyakit

Bakteri *D. zea* dan *D. dadantii* dilaporkan sebagai penyebab busuk batang pisang. Liu *et al.* (2016) melaporkan bahwa gejala busuk batang pisang yang disebabkan oleh *D. dadantii* menunjukkan gejala pada tangkai daun dengan bintik coklat yang berkembang menjadi bintik besar sehingga menyebabkan daun kering, dan terjadi pembusukan pada pelepah sehingga merusak titik tumbuh yang disertai perubahan warna. Gejala penyakit busuk batang pisang yang disebabkan oleh *D. zea* menunjukkan gejala busuk dalam 48-78 jam setelah inokulasi dengan strain bakteri yang diisolasi dari pisang, daun yang bergejala tampak layu, dan pangkal batang pisang mengalami pembusukan sehingga mengeluarkan bau busuk (Zhang *et al.*, 2014).

2.2.2 Penyebab Penyakit

Beberapa spesies *Dickeya* yang dilaporkan sebagai penyebab busuk batang pisang antara lain *D. paradisiaca*, *D. zea*, dan *D. dadantii* (Samson *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2016). Samson *et al.* (2005) melaporkan bahwa *D. paradisiaca* memiliki kisaran inang jagung dan pisang, *D. zea* memiliki kisaran inang jagung, nanas, pisang, padi, kentang, krisan, dan tembakau, *D. dadantii* memiliki kisaran inang nanas, pisang, jagung, dan ubi jalar, sedangkan *D. dieffenbachiae* memiliki kisaran inang pisang dan tomat.

2.2.3 Genus *Dickeya*

Genus *Dickeya* adalah genus yang sebelumnya dikenal sebagai *Erwinia chrysanthemi*. Genus *Dickeya* terdiri dari enam spesies yaitu: *D. chrysanthemi*, *D. dieffenbachiae*, *D. paradisiaca*, *D. dadantii*, *D. dianthicola*, dan *D. zea* (Samson *et al.*, 2005). Pada tahun 2012, *D. dadantii* dan *D. dieffenbachiae* digabungkan kedalam satu spesies yang sama *D. dadantii* dengan subspecies yang berbeda yaitu subspecies *dadantii* dan subspecies *dieffenbachiae* (Brady *et al.*, 2012). Beberapa spesies *Dickeya* yang baru dilaporkan keberadaannya antara

lain: *D. solani*, *D. aquatica*, dan *D. fangzhongdai* (Van der Wolf *et al.*, 2014; Parkinson *et al.*, 2014; Tian *et al.*, 2016).

2.2.4 Kisaran inang *Dickeya* spp.

Dickeya spp. dilaporkan dapat menyerang berbagai jenis tanaman. *Dickeya* spp. dilaporkan dapat menyerang tanaman pangan seperti jagung, ubi jalar dan padi, sayur sayuran seperti kentang, wortel dan bawang. Tanaman hias seperti anggrek dan lidah buaya (Dickey, 1979; Kelman *et al.*, 1957; Ma *et al.*, 2007; Tsai *et al.*, 2019; Fu and Huang, 2011).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai Oktober 2020 sampai Juli 2021. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan antara lain isolat bakteri yang berasal dari Lampung Tengah, alkohol 70%, akuades, minyak parafin, KOH 3%, *ethidium bromide* (EtBr), *Bromthymol blue* (BTB) 2%, 5% NaCl, MyTaq™ *Red Mix*, DNA primer (RS1 dan RS2), *marker DNA ladder*, *loading dye*, *buffer TE*, agarose, kuning telur dan umbi kentang. Tanaman yang digunakan untuk pengujian kisaran inang yaitu tomat, bawang merah, kubis, terong, gambas, buncis, kacang panjang, sawi putih, pare, selada, cabai, brokoli, bawang bombay, okra, bawang putih, genjer, bayam, daun katu, kemangi, kangkung dan labusiam. Bahan yang digunakan untuk uji bahan organik yaitu *D-arabinose*, *D-tartrate*, *D-melibiose*, *D-raffinose*, *Inulin*, *Lactose*, *S-ketogluconate*, *mannitol*, *M-tartrate*, *Starch*, *L-ascorbic acid*, *Citrate*, *L-tartrate*, *Ascorbic acid* dan *Myo-inositol*.

Alat-alat yang digunakan antara lain *autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF), *magnetic stirrer*, *magnetic bar*, *microwave*, *shaker*, *rotamixer*, *freezer*, *water bath*, tabung reaksi, cawan petri, jarum preparat, jarum ose, pipet mikro, tabung *eppendorf* 1,5 ml, erlenmeyer, bunsen, gelas ukur dan rak tabung reaksi. Alat yang digunakan untuk identifikasi molekuler antara lain alat elektroforesis, mesin PCR, cetakan gel 20x16x1 cm³, pipet mikro 0-1000 µl, pipet tip 0-1000 µl, tabung *eppendorf* 100 µl, *gel documentation system* dan *microcentrifuge*.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan sebanyak 4 isolat bakteri. Isolat bakteri yang digunakan berasal dari Lampung Tengah. Asal isolat bakteri ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian

Isolat	Bagian tanaman yang diisolasi	Asal Isolat
A1 (1) P.GGP	Batang	Lampung Tengah
A3 (2) P.GGP	Batang	Lampung Tengah
Btg Buah 2.1	Tangkai Buah	Lampung Tengah
Tsr 1.3	Tangkai Buah	Lampung Tengah

3.3.1 Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas dilakukan untuk memastikan bahwa isolat bakteri yang didapatkan benar merupakan patogen tanaman tersebut. Pengujian ini menggunakan tanaman pisang dan suspensi bakteri. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil 2 ose bakteri dari media PPGA yang berumur 24 jam, kemudian dimasukkan dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL yang berisi air steril 1 mL. Suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Pengujian patogenisitas dilakukan dengan cara menyuntikkan 2 mL suspensi bakteri (2×10^8 CFU/mL) pada tanaman yang diuji. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 21 hari terhadap gejala nekrotik yang muncul pada daerah inokulasi.

3.3.2 Karakterisasi dan Identifikasi Penyebab Penyakit

3.3.2.1 Karakterisasi Penyebab Penyakit (Uji Biokimia)

a. Uji Gram

Uji Gram dilakukan untuk mengetahui kelompok isolat bakteri yang diuji termasuk ke dalam kelompok Gram positif atau Gram negatif. Prosedur dalam membedakan antara Gram positif atau Gram negatif dapat dilakukan melalui pewarnaan Gram (Cappuccino and Suherman, 1983) dan Uji Gram menggunakan KOH (Ryu, 1938). Uji Gram menggunakan KOH adalah metode yang sangat

sederhana dan cepat untuk mengklasifikasikan kelompok Gram bakteri (Halebian *et al.*, 1981). Uji Gram menggunakan KOH dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam, kemudian bakteri diletakkan pada kaca preparat dan diberi KOH 3% sebanyak 100 μ l. Bakteri kemudian dicampurkan menggunakan jarum ose, kemudian jarum ose diangkat hingga setinggi 1 cm. Suspensi bakteri yang diangkat menggunakan jarum ose membentuk lendir dan tidak putus saat diangkat 1 cm, maka uji Gram bereaksi positif yang berarti isolat bakteri adalah Gram negatif, sebaliknya apabila suspensi bakteri tidak terbentuk lendir dan diangkat 1 cm putus, maka uji Gram bereaksi negatif yang berarti isolat bakteri adalah Gram positif. Bakteri kelompok Gram positif ditandai oleh suspensi bakteri yang diangkat tidak terbentuk lendir dan putus jika diangkat, sedangkan bakteri kelompok Gram negatif ditandai oleh suspensi bakteri yang diangkat terbentuk lendir dan tidak putus jika diangkat (Powers, 1995).

b. Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F)

Uji oksidatif/fermentatif dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri bersifat aerob atau anaerob. Media yang digunakan dalam pengujian ini yaitu media O/F (basal medium) dengan 98 g media O/F dan 1000 mL akuades. Media O/F yang telah steril kemudian dituang sebanyak 4 mL pada dua tabung reaksi bakteri yang berumur 24 jam dan ditusukkan menggunakan jarum preparat sampai dasar tabung pada media O/F. Media O/F yang telah diinokulasi dengan isolat bakteri ditutup dengan minyak parafin steril sebanyak 1 mL dan satu tabung reaksi satunya tidak ditambah minyak parafin.

Media O/F yang telah diinokulasi dengan isolat bakteri kemudian diinkubasi dalam suhu ruang selama 1-7 hari dan diamati perubahan warna media O/F. Apabila pada media O/F terjadi perubahan warna hijau menjadi kuning baik pada media yang ditambah maupun yang tidak ditambah minyak parafin, maka bakteri tersebut bersifat fermentatif.

Apabila perubahan warna hanya terjadi pada media yang tidak ditambah minyak parafin, maka bakteri tersebut bersifat oksidatif. Bakteri bersifat fermentatif apabila terjadi perubahan warna hijau menjadi kuning, baik pada media yang ditambah maupun tidak ditambah minyak parafin, sedangkan bakteri bersifat oksidatif apabila perubahan warna hanya terjadi pada media yang tidak ditambah minyak parafin (Tito, 2014).

c. Uji *Soft Rot*

Uji *soft rot* dilakukan pada umbi kentang untuk mengetahui apakah bakteri yang diuji termasuk ke dalam kelompok bakteri penyebab busuk lunak atau tidak. Caranya yaitu kentang dipotong setebal 1 cm dan direndam air mengalir selama 30 menit, kemudian irisan kentang tersebut diletakkan pada cawan petri yang telah diberi tisu yang dilembapkan dengan akuades. Uji *soft rot* dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam kemudian diinokulasi pada bagian tengah permukaan umbi kentang. Kentang yang telah diinokulasi dengan isolat bakteri, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam. Apabila terjadi pembusukan pada bagian kentang yang telah diinokulasi menunjukkan reaksi positif. Kentang yang menunjukkan reaksi positif ditandai oleh terjadinya pembusukan dan adanya lendir pada bagian yang diinokulasi bakteri (Lelliot and Stead, 1987).

d. Uji Kemampuan Tumbuh pada Beberapa Kisaran Suhu

Uji kemampuan tumbuh pada beberapa kisaran suhu dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri uji pada media *Yeast Peptone* (YP) pada suhu 39 °C dan 40 °C. Bahan yang digunakan dalam pembuatan media YP yaitu 10 g pepton, 5 g *yeast* dan 1000 mL akuades. Uji kemampuan tumbuh pada beberapa kisaran suhu dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL yang telah berisi air steril 0,5 mL. Isolat bakteri dalam tabung *ependorf* dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Suspensi bakteri diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media YP. Bakteri diinkubasi dalam *water bath* selama 3-7 hari yang dilakukan secara bergantian pada suhu 39 °C dan 40 °C.

Media yang mengalami perubahan warna dari warna kuning menjadi putih keruh menandakan reaksi positif, hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri dapat tumbuh pada suhu tersebut (Oktaviana, 2018).

e. Uji Floresensi pada Media King's B

Uji fluoresensi pada media King's B dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk mengeluarkan fluoresen. Bahan pembuatan media King's B yaitu 20 g pepton, 1,5 g K_2HPO_4 , 1,5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 15 mL gliserol, 15 g agar dan 1000 mL akuades. Uji fluoresensi dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam dan digoreskan pada media biakan King's B. Bakteri yang digores pada media biakan King's B diinkubasi dalam suhu ruang selama 24-48 jam. Isolat bakteri yang digores pada media biakan King's B terlihat warna hijau berpendar saat disinari lampu ultra violet (UV), menunjukkan bahwa bakteri digolongkan sebagai bakteri pendar fluoresen (Schaad *et al.*, 2001).

f. Uji Arginine Dihydrolase (Moeller Media)

Uji *arginine dihydrolase* dilakukan untuk mendeteksi pertumbuhan bakteri pada kondisi anaerob dalam media yang mengandung bahan kimia arginin. Uji *arginine dihydrolase* menggunakan media *Moeller* 21 g dan aquades 1000 mL. Isolat bakteri yang berumur 24 jam ditusukkan menggunakan jarum preparat sampai dasar tabung pada media *Moeller*. Media *Moeller* yang telah diinokulasi dengan isolat bakteri ditutup dengan minyak parafin steril sebanyak 1 mL. Media *Moeller* yang telah diinokulasi dengan isolat bakteri kemudian diinkubasi dalam suhu ruang selama 1-7 hari dan diamati perubahan warna media *Moeller*. Isolat bakteri bereaksi positif ditandai oleh perubahan warna media dari merah kecoklatan menjadi warna ungu, sedangkan perubahan warna media menjadi warna kuning menunjukkan reaksi negatif (Suharjo, 2013).

g. Uji Casein

Uji casein dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri dapat menghidrolisis protein. Media yang digunakan yaitu *Skim Milk Agar* dengan 10 g bubuk *Skim Milk Agar* dan 100 mL akuades. Uji casein dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam dan digoreskan dalam media *Skim Milk*

Agar, kemudian diinkubasi selama 24-48 hari dalam suhu 28 °C. Reaksi positif ditandai oleh adanya zona bening di sekitar koloni bakteri tersebut (Fardiaz, 1992).

h. Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif dilakukan untuk mengetahui potensi isolat bakteri sebagai patogen menggunakan tanaman tembakau. Uji hipersensitif dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam dan disuspensikan menggunakan air steril 0,5 mL dalam tabung *ependorf* 1,5 mL. Suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan *rotamixer*, kemudian diinokulasi pada daun tembakau menggunakan jarum suntik dan diinkubasi selama 24 jam. Apabila reaksi positif terbentuk gejala nekrotik pada jaringan daun dan apabila reaksi negatif jaringan daun tidak mengalami perubahan (Baroroh dkk., 2014).

i. Uji *Lechitinase*

Uji *lechitinase* dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan *lechitin*. Media yang digunakan yaitu YPA dan *egg yolk*. Bahan yang digunakan untuk pembuatan media YPA yaitu 10 g pepton, 5 g *yeast*, 20 g agar dan 1000 mL akuades. Pembuatan *egg yolk* menggunakan satu butir telur ayam kampung yang direndam pada alkohol 95% selama 10-15 menit, kemudian kuning dan putih telur dipisahkan, kuning telur dipindahkan ke dalam cawan petri. Kuning telur pada cawan disiram menggunakan alkohol 95% kemudian diratakan hingga terkena permukaan telur. *Egg yolk* 0,5 mL dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan YPA 10 mL dan dicampur secara merata, kemudian diambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam menggunakan jarum ose dan digoreskan pada media *lechitinase*. Bakteri diinkubasi dan dilakukan pengamatan selama 1-7 hari. Jika pengujian menghasilkan zona putih buram yang menyebar di sekitar koloni bakteri maka isolat tersebut menunjukkan *lechitinase* positif (Desnidasari, 2015).

j. Uji Kemampuan untuk Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik

Uji kemampuan untuk menggunakan beberapa jenis bahan organik dilakukan untuk mengetahui kemampuan tumbuh bakteri pada bahan organik tertentu. Media yang digunakan adalah media Ayer's dengan komposisi 1 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0,2 g KCL, 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, *Bromthymol blue* (BTB) 2%, dan air akuades sebanyak 1000 mL. Bakteri diuji dengan beberapa bahan organik yang berbeda, yaitu *D-arabinose*, *D-tartrate*, *D-melibiose*, *D-raffinose*, *Inulin*, *Lactose*, *S-ketogluconate*, *mannitol*, *M-tartrate*, *Starch*, *L-ascorbic acid*, *Citrate*, *L-tartrate*, *Ascorbic acid* dan *Myo-inositol*. Uji kemampuan untuk menggunakan beberapa jenis bahan organik dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL yang berisi air steril sebanyak 0,5 mL, kemudian dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Bakteri diambil menggunakan jarum preparat dan ditusukkan pada media Ayer's sampai dasar tabung, kemudian diinkubasi dan dilakukan pengamatan selama 21 hari. Apabila terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi kuning atau biru yang menyesuaikan dengan bahan organik yang digunakan maka, bakteri tersebut mampu dalam menggunakan bahan organik (Suharjo, 2013).

3.3.2.2 Identifikasi Molekuler Penyebab Penyakit

Identifikasi secara molekul adalah identifikasi yang dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi menggunakan mesin PCR, elektroforesis dan visualisasi hasil PCR, sekuensing DNA dan analisis hasilnya. Sebanyak dua isolat bakteri digunakan sebagai representasi isolat yang diidentifikasi lebih lanjut secara molekuler.

a. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA bakteri dilakukan secara manual. Bakteri yang berumur 24 jam diambil sebanyak satu ose dari media PPGA dan dipindahkan ke dalam tube 1,5 mL, kemudian ditambah 20 μl TE menggunakan pipet mikro, selanjutnya ditambah 10 mL SDS 10% + 3 μl proteinase K dan dihomogenkan. Tube yang sudah berisi bakteri diinkubasi di *water bath* pada suhu 37 °C selama satu jam, kemudian diinkubasi dan ditambahi 100 μl NaCl, dihomogenkan secara manual

dan ditambah 80 μl CTAB 2%. Tube yang sudah berisi bakteri diinkubasi kembali pada suhu 65 °C selama 10-15 menit di *water bath* (dihomogenkan setiap 10 menit), setelah diinkubasi, selanjutnya ditambahkan 720 μl *Chloroform Isoamyl alcohol* (CI; 24:1) pada tube dan dihomogenkan dengan tangan kemudian di sentrifuse 14.000 rpm selama 5 menit. Supernatan hasil sentrifuse diambil dan dimasukkan ke dalam tube 1.5 mL yang baru kemudian ditambah *Phenol Chloroform Isoamylalcohol* (PCI; 25:24:1) dengan volume yang sama dengan supernatan, dihomogenkan dan disentrifuse 14.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang telah disentrifuse diambil dan dipindahkan kedalam tube 1,5 mL yang baru, ditambahkan isopropanol 60% dengan volume yang sama dengan supernatan, dihomogenkan pakai tangan dan diinkubasi di dalam freezer selama 20 menit. Hasil inkubasi disentrifuse 14.000 rpm selama 5 menit. Setelah sentrifuse selesai supernatan yang di dalam tube dibuang dan ditambahkan alkohol 70% dingin sebanyak 400 μl , lalu disentrifuse kembali selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Kemudian alkohol dibuang dan pelet diinkubasi 1 hari pada suhu ruang. Setelah kering tube berisi pelet ditambahkan 20 μl TE. Untuk melihat ada tidaknya template DNA maka dilakukan elektroforesis dan divisualisasikan menggunakan *Digidoc Imaging System*.

b. Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR, yaitu dengan memasukkan sebanyak 12,5 μl *Master Mix (Red Mix)* ke dalam tabung *eppendorf* 100 μl lalu ditambahkan primer *recA* yaitu RS1 dan RS2 (Suharjo *et al.*, 2014) masing masing sebanyak 1 μl , larutan ekstrak DNA bakteri sebanyak 1 μl dan akuades steril 9,5 μl . Larutan yang sudah dibuat kemudian di amplifikasi menggunakan mesin PCR. Dalam menggunakan PCR ada lima tahapan, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Inisiasi merupakan tahapan pertama pada PCR yang dilakukan pada suhu 95 °C selama 5 menit dan hanya dalam 1 kali siklus. Denaturasi merupakan tahapan kedua pada PCR yang dilakukan pada suhu 95 °C selama 1 menit dan dalam 30 siklus. Annealing merupakan tahapan ketiga pada PCR yang dilakukan pada suhu 56 °C selama 1 menit dalam 30 siklus. Ektensi merupakan tahapan keempat pada PCR yang dilakukan pada suhu 72 °C

selama 1 menit dalam 30 siklus. Elongasi merupakan tahapan kelima pada PCR yang dilakukan pada suhu 72 °C selama 5 menit dalam 1 kali siklus (Suharjo *et al.*, 2014).

c. Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR

Elektroforesis menggunakan gel agarose 0,5% yang sudah ditambah 1 µl *ethidium bromide* (ETBr 10 mg/ml), kemudian dituangkan pada cetakan gel. Gel agarose kemudian dimasukkan ke dalam alat elektroforesis yang berisi larutan TBE. Pada alat elektroforesis, sumur pertama dalam agarose dimasukkan 3 µl *Marker DNA ladder* dan pada sumur berikutnya diisi oleh 3 µl hasil PCR. Elektroforesis dilakukan selama 60-70 menit dengan tegangan 50 volt. Hasil elektroforesis ditunggu hingga DNA bergerak kebawah hingga ditengah-tengah baris 3 dan 4. Hasil elektroforesis dapat dilihat dengan *digi doc imaging system* berupa pita DNA (Oktaviana, 2018).

d. Sekuensing dan Analisis Hasilnya

Hasil PCR yang diperoleh dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk dilakukan sekuensing. Hasil sekuensing yang sudah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan program MEGA 6 (Kumar *et al.*, 2016).

3.3.3 Uji Kisaran Inang

Uji kisaran inang dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri penyebab penyakit busuk batang yang diteliti ini dapat menginfeksi dan menyebabkan gejala pada tanaman selain pisang. Pengujian ini dilakukan dengan mengambil 1 ose bakteri dari media PPGA yang berumur 24 jam, kemudian dimasukkan dalam tabung *ependorf* 1,5 mL yang berisi air steril 0,5 mL. Suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan *rotamixer*, selanjutnya bakteri disuntik dengan metode *stabbing* pada tanaman uji yang telah dicuci bersih menggunakan jarum suntik. Apabila bagian tanaman yang disuntik menunjukkan gejala busuk dalam waktu 24 jam setelah inokulasi, hal itu menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diperoleh dapat menginfeksi tanaman tersebut. Beberapa jenis tanaman yang digunakan untuk uji kisaran inang adalah tomat, bawang merah, kubis, terong, gambas, buncis, kacang

panjang, sawi putih, pare, selada, cabai, brokoli, bawang bombay, okra, bawang putih, genjer, bayam, daun katu, kemangi, kangkung dan labusiam.

3.3.4 Penyajian Data

Data hasil pengamatan disajikan dalam bentuk gambar, deskripsi, dan tabel. Data hasil uji identifikasi molekuler disajikan dalam bentuk dendrogram similarity. Deskripsi data dikonfirmasi dengan pustaka hasil penelitian lain untuk memperkuat analisa dalam menarik kesimpulan.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Bakteri penyebab penyakit busuk batang pisang yang ditemukan di Lampung Tengah memiliki karakteristik antara lain Gram negatif, bersifat fermentatif, penyebab busuk lunak, dapat tumbuh pada suhu 39 °C, tidak berpendar atau fluoresensi pada media King's B negatif, *arginine dihydrolase* negatif, casein positif, hipersensitif positif, *lechitinase* positif, dan mampu menggunakan bahan organik *D-melibiose*, *Lactose*, *Mannitol*, *S-Ketogluconate*, dan *D-raffinose* sebagai sumber karbonnya.
2. Bakteri penyebab penyakit busuk batang pisang yang ditemukan di Lampung Tengah disebabkan oleh *Dickeya fangzhongdai*.
3. Bakteri *D. fangzhongdai* yang ditemukan mampu menginfeksi dan menimbulkan gejala nekrotik pada tomat, bawang merah, kubis, terong, gambas, buncis, kacang panjang, sawi putih, pare, selada, cabai, brokoli, bawang bombay dan okra.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang tingkat ketahanan beberapa jenis kultivar pisang terhadap *D. fangzhongdai*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aeny, T. N., Suharjo, R., Ginting, C., Hapsoro, D., dan Niswati, A. 2020. Characterization and host range assessment of *Dickeya zea* associated with pineapple soft rot disease in East Lampung, Indonesia. *Biodiversitas*. 21(2): 587-595.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology: Fifth Edition*. Elsevier Academic Press. USA. 52-54 hlm.
- Aminah, D. I. 2020. Karakter fenotip, identitas dan patogenesitas *Dickeya* sp. penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung. 36 hlm.
- Alič, Š., Van Gijsegem, F., Pédrón, J., Ravnikar, M., and Dreo, T. 2018. Diversity within the novel *Dickeya fangzhongdai* sp., isolated from infected orchids, water and pears. *Plant Pathology*. 67: 1612-1620.
- Arriani, I. F., Abadi, A. L., dan Aini, L. Q. 2020. Karakterisasi bakteri patogen penyebab layu pada tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.). *Journal Viabel Pertanian*. 14(1): 69-75.
- Arsensi, I. dan Rofik, A. 2015. Inventarisasi dan identifikasi cendawan patogen ada tanaman pisang rutai (*Musa borneensis*). *Ziraa 'ah Majalah Ilmiah Pertanian*. 40(2): 129-139.
- Badan Pusat Statistik. 2019. *Statistik Hortikultura*. Badan Pusat Statistik. Indonesia. Jakarta. 64-66 hlm.
- Baroroh, H. F., Aini, L. Q., dan Abadi, A. L. 2014. Uji efektivitas anti bakteri ekstrak daun dan duah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap blood disease bacterium. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*. 2(2): 87-97.
- Berlian, I. dan Setyawan, B. 2017. Gugur daun tanaman karet akibat penyakit *Phytophthora* spp. di perkebunan karet Jember, Jawa Timur. *Warta Per karetan*. 36(2): 121-136.
- Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X., and Gardan, L. 2000. The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie*. 20(1): 51-63.
- Brady, C.L., Cleenwerck, I., Denman, S., Venter, S.N., Rodriguez-Palenzuela, P., Coutinho, T. A., and Vos, P.D. 2012. Proposal to reclassify *Brenneria*

quercina (Hildebrand and Schroth 1967) Hauben *et al.* 1999 into a new genus, *Lonsdalea gen. nov.*, as *Lonsdalea quercina comb. nov.*, descriptions of *Lonsdalea quercina subsp. quercina comb. nov.*, *Lonsdalea quercina subsp. Iberica subsp. nov.* and *Lonsdalea quercina subsp. Britannica subsp. nov.*, emendation of the description of the genus *Brenneria*, reclassification of *Dickeya dieffenbachiae* as *Dickeya dadanti* subsp. *dieffenbachiae comb. nov.*, and emendation of the description of *Dickeya dadantii*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 62: 1592-1602.

- Brumbley, S. M., Petrasovits, L. A., Birch, R. G., and Taylor, P. W. J. 2002. Transformation and transposon mutagenesis of *Leifsonia xyli subsp. xyli*, causal organism of ratoon stunting disease of sugarcane. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 15(3): 262-268.
- Cahyono. 2002. *Pisang Budidaya dan Analisis Usaha Tani*. Kanisus. Yogyakarta. 28 hlm.
- Cappuccino, J. G. and Suherman, N. 1983. *Microbiology a Laboratory Manual*. Advision- Wesley Pub. USA. 544 hlm.
- Danaatmadja, Y., Subandiyah, S., Joko, T., dan Sari, C. U. 2009. Isolasi dan karakterisasi *Ralstonia solanaceae*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15(1): 7-12.
- Desnidasari. 2015. Karakterisasi dan uji kisaran inang bakteri penyebab penyakit busuk lunak pada tanaman nanas (*Ananas comosus* L., Merr.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 35 hlm.
- Dickey, R. S. 1979. *Erwinia chrysanthemi*: a comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. *Phytopathology*. 69(4): 324-329.
- Esselman, M. T. and Liu, P. V. 1961. Lechitinase production by gram negative bacteria. *Journal Bacteriology*. 81(6): 939-945.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 320 hlm.
- Fu, S. F. and Huang, H. J. 2011. Molecular characterization of the early response of orchid *Phalaenopsis amabilis* to *Erwinia chrysanthemi* infection. https://www.researchgate.net/publication/266889781_Molecular_Characterization_of_the_Early_Response_of_Orchid_Phalaenopsis_Amabilis_to_Erwinia_Chrysanthemi_Infection. Diakses tanggal 17 Desember 2021.
- Gallois, A., Samson, R., Ageron, E., and Grimont, P. A. D. 1992. *Erwinia carotovora subsp. odorifera subsp. nov.*, associated with odorous soft rot of chicory (*Cichorium intybus* L.). *International Journal of Systematic Bacteriology*. 42: 582-588.

- Gitaitis, R. D. 1999. Induction of a hypersensitivelike reaction in four-o'clock by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Plant Disease*. 74(1): 58-60.
- Golanowska, M. 2016. Characterization of *Dickeya solani* strains and identification of bacterial and plant signals involved in induction of virulence. *Theses*. University of Gdansk. Polandia. 170 hlm.
- Goldsworthy, P.R. dan Fisher, N. M. 1992. *Fisiologi Tanaman Budidaya Tropik*. Diterjemahkan oleh Tohari. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 874 hlm.
- Goto, M. and Matsumoto, K. 1987. *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae* subsp. nov. isolated from diseased rhizomes and fibrous roots of Japanese horseradish (*Eutrema wasabi maxim*). *International Journal of Systematic Bacteriology*. 37: 130-135.
- Haerani, Nawangsih, A. A., dan Damayanti, T. A. 2015. Deteksi dan identifikasi *Dickeya* sp. sebagai organisme pengganggu tumbuhan karantina A2 pada tanaman kentang di Jawa. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 11(4): 105-112.
- Halebian, S., Harris, B., Sydney, M., Finegold,., and Rolfe, R. D. 1981. Rapid method that aids in distinguishing gram-positive from gram-negative anaerobic bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*. 13(3): 444-448.
- Hardiansyah, M. Y., Musa, Y., dan Jaya, A. M. 2020. Identifikasi plant growth promoting rhizobacteria pada rizosfer bambu duri dengan Gram KOH 3%. *Agrotechnology Research Journal*. 4(1): 41-46.
- Hemraj, V., Diksha, S., and Avneet, G. 2013. A review on commonly used biochemical test for bacteria. *Innoval Journal of Life Science*. 1(1): 1-7.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., and Williams, S.T. 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore. 824 hlm.
- Kelman, A., Person, L. H., and Hebert, T. T. 1957. A bacterial stalk rot of irrigated corn in North Carolina. *Journal Plant Disease*. 41: 798-802.
- King, R. R. 1997. Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Plant Disease*. 81(8): 836- 846.
- Korus, K. A. 2011. Evaluating commercially available diagnostic tests for the detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis*, cause of Goss's bacterial wilt and leaf blight in corn. *Thesis*. Agronomy and Horticulture Department University of Nebraska. Nebraska. 73 hlm.
- Kumar, A., Hunjan, M.S., Kaur, H., Kaur, R., and Singh, P.P. 2016. Evaluation of management of bacterial stalk rot of maize (*Dickeya zeae*) using bioagents and chemical agents. *Journal of Applied and Natural Science*. 8(3): 1146-1151.

- Lay, B. W. 1994. *Analisis mikrobial di Laboratorium*. PT Grafindo Persada. Jakarta. 168 hlm.
- Lelliot, R. A. and Stead, D.E. 1987. *Methods for the diagnosis of bacterial disease of plants*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 288 hlm.
- Lelliot, R. A. and Dickey, R. S. 1984. Genus VII. *Erwinia*. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore. 476 hlm.
- Liu, Q., Xiao, W., Wu, Z., Li, S., Yuan, Y., and Li, H. 2016. Identification of *Dickeya dadantii* as a causal agent of banana bacterial sheath rot in China. *Journal of Plant Pathology*. 98(3): 503-510.
- Ma, B., Hibbing, M. E., Kim, H. S., Reedy, R. M., Yedidia, I., Breuer, J. Breuer, J., Glasner, J. D., Perna, N. T., Kelman, A., and Charkowski, O. 2007. Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology*. 97: 1150-1163.
- Muharni, Juswardi, dan Prihandayani, I. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri termofilik penghasil protease dari sumber air panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera selatan. *Jurnal FMIPA UNILA*. 1(1): 139-143.
- Nandi, M., MacDonald, J., Liu, P., Weselowski, B., and Yuan, Z. C. 2018. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: bacterial canker of tomato, molecular interactions and disease management. *Molecular Plant Pathology*. 19(8): 2036-2050.
- Oktaviana, H. A. 2018. Identifikasi dan uji kisaran inang penyebab penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya (*Carica papaya* L.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung. 49 hlm.
- Palleroni, N. J. and Leeuwenhoek, A. V. 1993. *Pseudomonas* classification: a new case history in the taxonomy of gram-negative bacteria. *Department of Microbiology*. 64: 231-251.
- Parkinson, N., DeVos, P., Pirhonen, M., and Elphinstone, J. 2014. *Dickeya aquatica* sp. nov., isolated from waterways. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 64: 2264-2266.
- Powers, E. M. 1995. Efficacy of the Ryu nonstaining KOH technique for rapidly determining gram reactions of foodborne and waterborne bacteria and yeasts. *Applied Environmental Microbiology*. 61(10): 3756-3758.
- Prasetyo, J. dan Sudiono. 2004. Pemetaan persebaran penyakit bunchy top pada tanaman pisang di Provinsi Lampung. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 4 (2): 94-101.
- Purwadaria, H. K. 2006. *Issue and solution of fresh fruits export in Indonesia*. IPB. Bogor. 33 hlm.

- Raven, P. H. and Johnson, G. B. 1986. *The chemical building blocks of life*. Times Mirror. St.Louis. 135 hlm.
- Ryu, E. 1938. On the Gram-differentiation of bacteria by the simplest method. *Journal of the Japanese Society of Veterinary Science*. 31-31.
- Safni, I., Cleenwerck, I., Vos, P. D., Fegan, M., Sly, L., and Kappler, U. 2014. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *R. syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* subsp. nov., *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *R. solanacearum* phylotype I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 64: 3087-3103.
- Samson, R., Legendre, J. B., Christen, R., Le Saux, M. F., Achouak, W., and Gardan, L. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species *Dickeya*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55: 1415-1427.
- Saraswati, L. 2021. Karakterisasi dan potensi bakteri yang berasosiasi dengan arthropoda pada pertanaman jagung sebagai pengendalian hayati *Dickeya zaeae*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung. 61 hlm.
- Schaad, N. W., Jonesand, J. B., and Chun, W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Third Edition. APS Press. Amerika. 373 hlm.
- Shen, Y., Lv, W. G., Du, Y. H., Zhang, Y. X., and Li., H. P. 2019. First report of *Dickeya fangzhongdai* causing soft rot of *Phalaenopsis aphrodite* in China. *Plant Disease*. 103(10): 2665.
- Shivas, R. dan Beasley, D. 2005. *Pengelolaan koleksi patogen tanaman*. Diterjemahkan oleh Kartini. Departemen Pertanian, Perikanan dan Kehutanan Pemerintah Australia (Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, DAFF). Bogor. 85 hlm.
- Singleton, P. and Sainsbury, D. 1978. *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3rd Edition*. Wiley. England. 895 hlm.
- Suada, I. K. dan Suniti, N. W. 2014. Isolasi dan identifikasi patogen getah kuning manggis melalui pendekatan postulat koch dan analisis secara molekuler. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 14(2): 142 -151.

- Suharjo, R. 2013. Studies on the taxonomy and identification of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium* spp. isolated in Japan. PhD. *Thesis*. Shizuoka University. Jepang. 225 hlm.
- Suharjo, R., Sawada, H., and Takikawa, Y. 2014. Phylogenetic study of Japanese *Dickeya* spp. and development of new rapid identification methods using PCR RFLP. *Journal of General Plant Pathology*. 80(3): 237-254.
- Sukmaningtyas, H. 2003. Pengaruh pemberian L-arginin terhadap respon imunitas seluler mencit BALB/c yang diinokulasi *Salmonella typhimurium*. *Tesis*. Universitas Diponegoro. Semarang. 112 hlm.
- Suyanti dan Supriyadi. 2008. *Pisang, Budidaya, Pengolahan, & Prospek Pasar Depok*. Penebar Swadaya. Jakarta. 78 hlm.
- Tian, Y., Zhao, Y., Yuan, X., Yi, J., Fan, J., Xu, Z., Hu, B., De Boer, S, H., and Li, X. 2016. *Dickeya fangzhongdai* sp. nov., a plant pathogenic bacterium isolated from pear trees (*Pyrus pyrifolia*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 66: 2831-2835.
- Tito, I. M. 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik yang terdapat pada cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*). *Skripsi*. Universitas Airlangga. Surabaya. 46 hlm.
- Toth, I. K., van der Wolf J. M., Saddler G., Lojkowska E., Hélias V., Pirhonen M., Tsrör (Lahkim), L., and Elphinstone J.G. 2011. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology*. 60: 385-399.
- Tsai, W. A., Lin, P. R., and Huang, C. J. 2019. First report of *Dickeya fangzhongdai* causing soft rot disease of welsh onion in Taiwan. *Journal of Plant Pathology*. 101(3): 797-798.
- United States Department of Agriculture (USDA). 2014. Plant Database. *Musa paradisiaca* L.
<https://plants.sc.egov.usda.gov/home/plantProfile?symbol=MUPA3>
Diakses tanggal 30 Mei 2021.
- Usman, W. S. 2015. Bakteri asosiasi karang yang terinfeksi penyakit *Brown Band* (BRB) di perairan Pulau Barrang Lompo kota Makassar. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin. Makassar. 70 hlm.
- Van der Wolf, J. M., Nijhuis, E. H., Kowalewska, M.J., Saddler, G.S., Parkinson, N., Elphinstone, J. G., Pritchard, L., Toth, I. K., Lojkowska, E., Potrykus, M., Waleron, M., de Vos, P., Cleen-werck, I., Pirhonen, M., Garland, L., Hélias, V., Pothier, J. F., Pflüger, V., Duffy, B., Tsrör, L., and Manulis, S. 2014. *Dickeya solani* sp. nov., a pectinolytic plant pathogenic bacterium

- isolated from potato (*Solanum tuberosum*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64: 768-774.
- Vereecke, D., Cornelis, K., Temmerman, W., Jaziri, M., Montagu, M. V., Holsters, M., and Goethals, K. 2001. Chromosomal locus that affects pathogenicity of *Rhodococcus fascians*. *Journal of Bacteriology*. 184(4): 1112–1120.
- Wardhany. 2014. *Khasiat Ajaib Pisang A to Z Khasiat dari Akar Hingga Kulit Buahnya*. Rapha Publishing. Yogyakarta. 200 hlm.
- Yanti, Y. 2008. Aktivitas peroksidase mutan pisang kepok dengan *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) secara in vitro. *Jurnal Natur Indonesia*. 14(1): 32-36.
- Yunasfi. 2008. Serangan patogen dan gangguan terhadap proses fisiologis pohon. *Karya Tulis*. Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara. 29 hlm.
- Zhang, J., Shen, H., Pu, X., Lin, B., and Hu, J. 2014. Identification of *Dickeya zea* as a causal agent of bacterial soft rot in banana in China. *Plant Disease*. 98(4): 436-442.