

**KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI KISARAN INANG
PENYEBAB PENYAKIT BUSUK LUNAK BUAH PEPAYA
(*Carica papaya* L.)**

(Skripsi)

Oleh

**RISA FITRIA
1814121008**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI KISARAN INANG PENYEBAB PENYAKIT BUSUK LUNAK BUAH PEPAYA (*Carica papaya L.*)

Oleh

RISA FITRIA

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi dan identitas penyebab penyakit busuk lunak buah pepaya serta kisaran inangnya. Penelitian dilaksanakan pada September 2021 sampai Juli 2022 di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Isolat uji yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 3 isolat yang diambil dari Tanggamus dan diduga penyebab busuk lunak buah pepaya. Identifikasi dilakukan berdasarkan hasil uji biokimia dan analisis sekuens menggunakan *recA*. Uji kisaran inang dilakukan terhadap 23 spesies tanaman. Hasil uji biokimia memperlihatkan bahwa isolat bakteri merupakan kelompok Gram negatif, bersifat oksidatif/fermentatif, *lechitinase* positif, tidak berpedar pada media King's B, arginin dihidrolase positif, casein positif, hipersensitif negatif, *soft rot* positif, dan mampu tumbuh pada suhu 39 °C serta mampu menggunakan bahan organik antara lain *Inulin*, *Lactose*, *D-raffinose*, *5-ketogluconate*, *Mannitol*, *Ascorbic acid*, dan *Glyserol* sebagai sumber karbonnya. Hasil identifikasi molekuler menggunakan sekuens *recA* terhadap 3 isolat bakteri yang digunakan menunjukkan bahwa isolat yang diuji termasuk ke dalam kelompok *Pectobacterium aroidearum* dan *Pectobacterium odoriferum*. Hasil uji kisaran inang menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu menyebabkan gejala busuk pada seledri, lidah buaya, sawi putih, terung, gambas, pare, buncis, bawang merah, bawang putih, cabai merah, tomat, kacang panjang, okra, kubis, dan paprika.

Kata kunci : Identifikasi molekuler, *Pectobacterium aroidearum*, *Pectobacterium odoriferum* da uji biokimia.

**KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI KISARAN INANG
PENYEBAB PENYAKIT BUSUK LUNAK BUAH PEPAYA
(*Carica papaya* L.)**

Oleh

RISA FITRIA

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

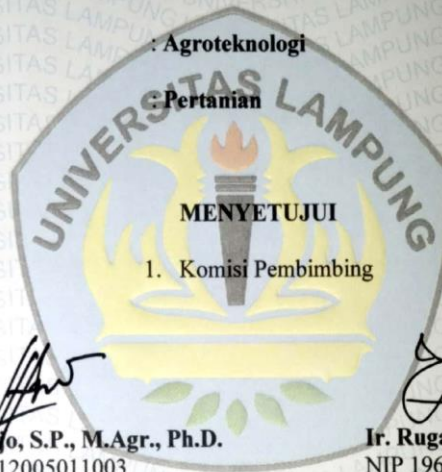
Judul skripsi : **KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI
KISARAN INANG PENYEBAB PENYAKIT
BUSUK LUNAK BUAH PEPAYA (*Carica
papaya* L.)**

Nama Mahasiswa : **Risa Fitria**


Nomor Pokok Mahasiswa : **1814121008**

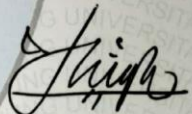
Jurusan : **Agroteknologi**

Fakultas : **Pertanian**




1. Komisi Pembimbing


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


Ir. Rugayah, M.P.
NIP 196111071986032002

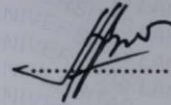
2. Ketua Jurusan Agroteknologi


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

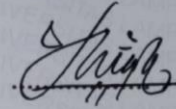
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

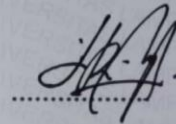
Pembimbing Utama : Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D.



Sekretaris : Ir. Rugayah, M.P.



Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
10201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 04 Agustus 2022

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Karakterisasi, Identifikasi, dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Busuk Lunak Buah Pepaya (*Carica papaya* L.)”** merupakan hasil karya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di 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, 04 Agustus 2022

Penulis,



Risa Fitria
NPM 1814121008

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Medan, Provinsi Sumatera Utara pada 28 Februari 2000 yang merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Sabanuddin dan Ibu Saniati. Penulis telah menyelesaikan pendidikan SD di SDS Muhammadiyah tahun 2012, SMPN 1 Kutacane pada tahun 2015, SMAN 1 Kutacane pada tahun 2018. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswa di Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Jurusan Agroteknologi melalui jalur SNMPTN dan mendapatkan beasiswa BIDIKMISI yang sekarang sudah berubah nama menjadi KIP-Kuliah.

Pada tahun 2021 penulis telah melaksanakan Praktik Umum di Balai Pelatihan Pertanian Lampung, Jl. Raden Gunawan, Hajimena, Natar, Kabupaten Lampung Selatan. Pada tahun 2022 penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata di Kelurahan Way Dadi Baru, Kecamatan Sukarame, Kabupaten Bandar Lampung. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menulis buku bersama Ibu Seftiana, SST., M.M. dengan judul buku “Pemanfaatan Spesimen sebagai Media Penyuluhan Pertanian”. Penulis juga pernah mengikuti program kampus merdeka yaitu magang bersertifikat (MSIB) di PT. Impactbyte Teknologi Edukasi, pernah menjadi asisten dosen pada praktikum mata kuliah Entomologi Pertanian, Biologi 1, Bakteriologi Tumbuhan, Mikrobiologi Pertanian, serta Hama Gudang dan Urban. Selan itu, penulis juga aktif dalam organisasi Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (Perma AGT) sebagai anggota Kaderisasi periode 2019/2020 dan sekretaris bidang Eksternal periode 2021.

PERSEMBAHAN

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Karakterisasi, Identifikasi, dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Busuk Lunak Buah Pepaya (*Carica papaya L.*)”**

Dengan penuh rasa syukur karya ini saya persembahkan sebagai ucapan terima kasih saya untuk :

1. Ayah dan Ibu tersayang, Sabanuddin dan Saniati yang senantiasa memberikan dukungan, doa dan motivasi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan serta semangat yang selalu diberikan.
2. Bapak Radix Suharjo, S.P., M.Agr Ph.D., Ibu Ir. Rugayah, M.P., dan Bapak Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si. yang selalu memberikan bimbingan selama penulis menempuh pendidikan sehingga sampai mampu menyelesaikan skripsi ini.
3. Adikku tersayang Anggi Yulia Didri Desky, Muhammad Hidayatullah Desky, dan Alwi Said Desky serta sahabatku Riska Yolanda, Mia Intan Rizki, Juina Padila, Eva Riyanti Mariana, Rifi, dan Jepriadi Syahputra yang selalu memberikan dukungan dan semangat selama menulis skripsi ini

MOTTO

“Siapa yang keluar untuk menuntut ilmu, maka dia berjuang fi sabilillah hingga kembali.”

- HR. Tirmidzi -

“Sukses berjalan dari satu kegagalan ke kegagalan yang lain, tanpa kita kehilangan semangat.”

-Abraham Lincoln-

“Tidak ada kesuksesan tanpa kerja keras. Tidak ada keberhasilan tanpa kebersamaan. Tidak ada kemudahan tanpa doa.”

– Ridwan Kamil –

SANWACANA

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Karakterisasi, Identifikasi, dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Busuk Lunak Buah Pepaya (*Carica Papaya L.*)”**. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan pengikutnya hingga akhir zaman. Adapun tujuan dalam penulisan skripsi ini yaitu sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Pertanian di Universitas Lampung. Tentunya penulis tidak lepas dari dukungan, doa dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini. Maka dari itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dalam pelaksanaan penelitian maupun penulisan skripsi, khususnya kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang memfasilitasi mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Lampung untuk melaksanakan penelitian.
2. Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si., selaku Ketua Jurusan Agroteknologi yang telah memberikan saran, dukungan, dan doa.
3. Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D., selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan banyak masukan, saran motivasi serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Ir. Rugayah, M.P., selaku Pembimbing Pembantu yang telah memberikan banyak masukan, saran motivasi serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si., selaku Pembahas yang telah memberikan banyak masukan, saran motivasi serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Dr. Ir. Suskandini Ratih D., M.S., sebagai Pembimbing Akademik yang

senantiasa memberikan banyak masukan, saran, materi serta semangat selama penulis menempuh pendidikan.

7. Kedua orangtua saya tersayang dan tercinta Sabanuddin dan Saniati yang telah memberikan banyak nasehat, doa dan dukungan yang membangun semangat selama penulis menempuh pendidikan.
8. Tim penelitian bersama Erika Widia Putri dan Umar Bagus Prasajo, S.P. yang senantiasa berkenan mendengarkan keluh, kesah, dan duka serta memberikan bantuan materi, memberikan dukungan, dan semangat.
9. Teman-teman penelitian keluarga besar laboratrium bioteknologi yang banyak memberikan dorongan semangat dan dukungan motivasinya.
10. Kepada mba Tari, mba Yeyen, bang Nando, bang Sem, mas Helmi, mas Jen, terima kasih atas saran dan bantuan selama penulis melaksanakan penelitian.
11. Keluarga besar Agroteknologi angkatan 2018, keluarga besar Perma AGT, dan adik-adik Agroteknologi angkatan 2019, 2020, dan 2021 yang selalu memberikan bantuan dan dukungan yang membangun.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas saran, masukan dan keluangan waktu dalam membantu penelitian dan menyelesaikan skripsi. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada pembaca dan terkhusus kepada penulis.

Bandar Lampung, 04 Agustus 2022
Penulis

Risa Fitria

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|----------------|
| DAFTAR ISI | i |
| DAFTAR TABEL | iii |
| DAFTAR GAMBAR | iv |
| | |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Tujuan Penelitian..... | 2 |
| 1.3 Kerangka Pemikiran | 2 |
| 1.4 Hipotesis | 3 |
| | |
| II. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1 Tanaman Pepaya..... | 4 |
| 2.2 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Pepaya | 4 |
| 2.3 Syarat Tumbuh Tanaman Pepaya | 5 |
| 2.4 Busuk Lunak pada Buah Pepaya | 5 |
| 2.5 Penyebab Penyakit Busuk Lunak | 6 |
| 2.6 Kisaran Inang | 6 |
| | |
| III. BAHAN DAN METODE | 8 |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian | 8 |
| 3.2 Bahan dan Alat | 8 |
| 3.3 Metodologi Penelitian | 9 |
| 3.3.1 Karakterisasi dan identifikasi penyebab penyakit | 9 |
| 3.3.2 Uji kisaran inang..... | 15 |
| | |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 16 |
| 4.1 Hasil Penelitian..... | 16 |
| 4.1.1 Uji Patogenesitas pada tanaman pepaya | 16 |
| 4.1.2 Karakteristik dan identifikasi penyebab penyakit..... | 16 |
| 4.1.3 Kisaran inang | 24 |
| 4.2 Pembahasan | 27 |
| | |
| V. SIMPULAN DAN SARAN | 32 |
| 5.1 Simpulan..... | 32 |
| 5.2 Saran | 32 |
| | |
| DAFTAR PUSTAKA | 33 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|----------------|
| 1. Isolat bakteri yang digunakan | 9 |
| 2. Hasil uji kemampuan bakteri busuk lunak buah pepaya untuk..... | 22 |
| 3. Hasil uji kisaran inang busuk lunak buah pepaya | 25 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|----------------|
| 1. Gejala busuk lunak pada buah pepaya yang telah diinokulasi | 16 |
| 2. Hasil uji Gram bersifat negatif karena terbentuk lendir saat ditarik | 17 |
| 3. Hasil uji oksidasi/fermentatif menunjukkan adanya perubahan | 17 |
| 4. Hasil uji lechitinase bersifat positif dengan ditandai adanya warna | 18 |
| 5. Tidak berpendarnya uji fluoresensi pada media King's B di bawah | 18 |
| 6. Hasil uji arginin ditandai oleh perubahan warna merah kecoklatan | 19 |
| 7. Hasil uji casein menunjukkan zona bening di sekitar koloni | 19 |
| 8. Hasil uji hipersensitif tidak menunjukkan adanya gejala nekrotik | 20 |
| 9. Hasil uji soft rot menunjukkan reaksi positif yang ditandai dengan | 20 |
| 10. Reaksi positif ditunjukkan oleh kemampuan tumbuh pada suhu | 21 |
| 11. Reaksi positif uji kemampuan untuk menggunakan beberapa jenis | 22 |
| 12. Pohon filogenik hasil analisis sekuens recA yang menunjukkan | 23 |
| 13. Gejala kisan inang busuk lunak pada beberapa komoditi | 26 |

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Tropis yang pusat penyebarannya diduga berada di daerah sekitar Meksiko bagian Selatan dan Nikaragua pada abad ke 16, lalu menyebar ke berbagai benua dan negara salah satunya adalah India, kemudian menyebar ke berbagai negara tropis lainnya. Di Indonesia tanaman pepaya mulai masuk pada abad ke 17 (Kalie, 1996). Pepaya merupakan tanaman penting di Indonesia salah satunya di Provinsi Lampung. Produksi pepaya di Provinsi Lampung dalam rentang waktu 2017-2021 mengalami fluktuasi. Pada tahun 2017 mengalami penurunan dengan total produksi 80.364 ton, tahun 2018 mengalami penurunan dengan total produksi 64.813 ton, dan pada tahun 2019 mengalami kenaikan dengan total produksi 105.598 ton. Pada tahun 2020 produksi pepaya mencapai 92,459 ton, pada tahun 2021 mengalami penurunan dengan produksi pepaya mencapai 87, 378 ton (BPS, 2022). Fluktuasi produksi pepaya ini terjadi karena oleh faktor iklim, permasalahan hama, dan penyakit.

Salah satu permasalahan penyakit pada buah pepaya adalah meluasnya patogen busuk lunak buah pepaya. Gejala yang ditimbulkan berada di dalam buah pepaya, sehingga tidak akan terlihat dari luar namun akan nampak ketika dibelah. Busuk lunak buah pepaya dapat diketahui dengan menekan bekas inokulasi yang disuntikkan ke pangkal buah pepaya yang masih mengkel, bila ditekan menjadi lembek. Isolat yang digunakan dalam penelitian ini disimpan sebagai koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Hingga saat ini, informasi tentang penyebab penyakit busuk lunak buah pepaya masih sangat sedikit dan belum diketahui karakter, identitas, dan kemampuan untuk menginfeksi tanaman lain selain buah pepaya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui jenis isolat bakteri tersebut.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini antara lain:

1. Mengetahui karakter penyebab penyakit busuk lunak buah pepaya yang diambil dari Tanggamus.
2. Mengetahui identitas penyebab penyakit busuk lunak buah pepaya.
3. Mengetahui kisaran inang penyebab penyakit busuk lunak buah pepaya.

1.3 Kerangka Pemikiran

Busuk lunak merupakan gejala yang khas ditimbulkan oleh patogen tanaman yang berasal dari bakteri famili *Pectobacteriaceae*. Penyakit tersebut menunjukkan gejala busuk lunak dan pada bagian yang busuk mengeluarkan bau tidak sedap. Infeksi pada buah menyebabkan daging buah menjadi lunak dan mengeluarkan banyak cairan yang disertai dengan gelembung udara (Oviana dkk., 2015).

Terdapat 2 genus bakteri patogen tanaman yang berada dalam kelompok bakteri famili *Pectobacteriaceae*, yaitu *Dickeya* dan *Pectobacterium*.

Dickeya spp. dan *Pectobacterium* spp. merupakan patogen tanaman yang memiliki kisaran inang luas, mulai dari sayuran, tanaman hias, tanaman pangan, dan tanaman keras, beberapa tanaman buah, seperti pepaya, mangga, pir, buah naga, dan nanas dilaporkan menjadi inang *Dickeya* spp. (Suharjo *et al.*, 2014). Ciri umum serangan penyebab busuk lunak pada buah pepaya yaitu adanya gejala awal yang dikenali dengan tekstur buah yang diinokulasi bakteri menjadi lunak dan berair, mudah sobek, dan tercium bau yang tidak sedap. Selanjutnya dijelaskan oleh Octaviani (2012) bahwa bakteri *Pectobacterium* sp. mampu menginfeksi dan menimbulkan gejala busuk lunak pada buah naga dengan gejala yang ditimbulkan antara lain: busuk lunak, berair, dan bau yang tidak sedap

Hingga saat ini, belum pernah ada laporan tentang penyakit busuk lunak pada buah pepaya di Indonesia. Apabila dilihat dari gejala yang ditimbulkan busuk lunak, kemungkinan penyebabnya adalah bakteri patogen tanaman yang berasal dari kelompok *Dickeya* spp. atau *Pectobacterium* spp.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Penyebab penyakit busuk lunak buah pepaya mempunyai beberapa karakteristik berdasarkan uji biokimia.
2. Identitas penyebab penyakit busuk lunak buah pepaya tergolong dalam genus *Pectobacterium* atau *Dickeya*.
3. Penyebab penyakit busuk lunak buah pepaya dapat menginfeksi tanaman lain selain buah pepaya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya merupakan tanaman *dioceous*, namun juga ada *gynodioecious*, terdapat tiga jenis tanaman berdasarkan tipe pembungaan yaitu tanaman dengan bunga jantan, tanaman dengan bunga betina dan tanaman dengan bunga sempurna (*hermaprodit*). Tanaman pepaya mempunyai sifat pembungaan yang berbeda dengan tipe pembungaan tanaman buah lainnya. Pepaya tipe *dioecious* mempunyai ekspresi seks bunga betina (*pistillate*) pada pohon betina dan bunga jantan (*staminate*) pada pohon jantan. Pepaya tipe *gynodioecious* mempunyai ekspresi seks bunga betina dan bunga *hermafrodit* pada pohon *hermafrodit* dan bunga jantan pada pohon jantan (Nakasone, 1986).

2.2 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Pepaya

Taksonomi tanaman pepaya menurut Suketi dkk. (2010) yaitu sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Class : Dicotyledoneae
Ordo : Caricales
Familia : Caricaceae
Genus : *Carica*
Spesies : *Carica papaya* L.

Tanaman pepaya merupakan tanaman *polygamous* dengan tiga tipe ekspresi kelamin, yaitu betina atau *pistillate*, jantan atau *staminate*, dan *hermaprodit*. Bunga betina menghasilkan buah yang berbentuk seperti belimbing dan/atau membulat dan berdaging tipis, bunga jantan tidak menghasilkan buah, sedangkan

bunga hermaphrodit (sempurna) menghasilkan buah yang lonjong atau memanjang. Buah dari bunga hermaphrodit pada umumnya diharapkan oleh petani karena merupakan preferensi dari konsumen. Kelamin tanaman pepaya baru terlihat 4-6 bulan setelah tanaman berbunga dan untuk mengetahui kelamin tanaman pepaya sejak dini sangat sulit dilakukan oleh petani (Aryal and Ming 2014).

2.3 Syarat Tumbuh Tanaman Pepaya

Tanaman pepaya merupakan tanaman buah-buahan tropika beriklim basah yang dapat tumbuh dengan baik di dataran rendah sampai dataran tinggi sekitar 700 m di atas permukaan laut. Pepaya tumbuh subur pada daerah yang memiliki curah hujan 1000-2000 mm/tahun, suhu udara optimum 22-30 °C, kelembapan udara sekitar 40%, dan angin tidak terlalu kencang agar penyerbukan bunga berlangsung optimal. Tanah yang baik untuk tanaman pepaya adalah tanah yang subur, gembur, banyak mengandung humus dan memiliki daya menahan air yang tinggi. Derajat keasaman tanah (pH tanah) yang ideal adalah netral dengan pH 6,5-7 (pH Netral). Kandungan air dalam tanah merupakan syarat penting dalam kehidupan tanaman ini. Air menggenang dapat mengundang penyakit jamur perusak akar hingga tanaman layu (mati). Apabila kekeringan air, maka tanaman akan kurus, daun, bunga dan buah menjadi rontok (Faisal, 2015).

Pertumbuhan tanaman pepaya tergolong cepat antara 10-12 bulan sudah dapat dipanen. Pemanenan buah pada saat warna kuning pada kulit buah mencapai 25-49% merupakan awal waktu pemanenan yang sudah tepat untuk buah pepaya. Perilaku tumbuh dan morfologi tanaman menunjukkan sifat pertumbuhan yang cepat sesuai dengan iklim tropis basah, sehingga tanaman pepaya tergolong sangat peka terhadap suhu dan kelembaban (Suketi dkk., 2010).

2.4 Busuk Lunak pada Buah Pepaya

Busuk lunak pada buah pepaya merupakan patogen tanaman yang berasal dari bakteri famili *Pectobacteriaceae*. Penyakit ini memiliki ciri khas berupa buah yang mengalami busuk lunak dan pada bagian busuk pada buah tersebut mengeluarkan bau tidak sedap. Daging buah yang terinfeksi menjadi lunak dan mengeluarkan cukup banyak cairan. Menurut Aeny dkk. (2020), penilaian

kisaran inang menunjukkan gejala busuk lunak pada tanaman yang diinokulasi ialah seledri, selada, kubis cina, buah naga, jagung, bawang daun, tomat, kaktus, kacang hijau, kacang panjang, lidah buaya, terong, pak choy, bunga seruni (*Chrysanthemum*), dan anggrek larat (*Dendrobium*).

2.5 Penyebab Penyakit Busuk Lunak

Nama *Erwinia* diambil dari nama seorang ahli penyakit tumbuhan yang berasal dari Amerika Serikat yang bernama Erwin F. Smith. Dengan berjalannya waktu, banyak peneliti yang kemudian membagi genus *Erwinia*. Genus *Erwinia* pertama kali diperkenalkan oleh Winslow *et al.* (1917) untuk mengelompokkan bakteri yang berflagela peritrik dan bersifat gram negatif. Genus *Erwinia* dibagi menjadi 2 yaitu “*soft rot erwinia*” yang menyebabkan busuk lunak dan “*true erwinia*” yang menyebabkan busuk kering dan layu.

Pada taksonomi kelompok “*soft rot erwinia*” mengalami perkembangan. Saat ini, *Erwinia carotovora* digolongkan ke dalam genus *Pectobacterium*, sedangkan *Erwinia chrysanthemi* digolongkan ke dalam genus *Dickeya*. Genus *Pectobacterium* terdiri dari 6 spesies dan 3 sub spesies, yaitu *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum*, *Pectobacterium carotovorum* ssp. *odoriferum*, *Pectobacterium carotovorum* ssp. *brassiliensis*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium betavasculorum*, *Pectobacterium wasabiae*, *Pectobacterium cacticidium*, dan *Pectobacterium aroidearum* sedangkan genus *Dickeya* terdiri dari 6 spesies antara lain *Dickeya dadantii*, *Dickeya dianthicola*, *Dickeya paradisiaca*, dan *Dickeya solani*, *Dickeya chrysanthemi*, dan *Dickeya zaeae* (Suharjo, 2015).

2.6 Kisaran Inang

Pectobacterium spp. dan *Dickeya* spp. memiliki kisaran inang yang cukup luas mencakup berbagai jenis tanaman budidaya seperti tanaman hias, tanaman pangan, sayuran, dan tanaman keras (Ma *et al.*, 2007). Pada tanaman pangan *Dickeya* spp. dapat menyerang tanaman jagung, padi, ubi jalar; sedangkan pada tanaman hortikultura menyerang pisang, nanas, stroberi, mangga; jenis sayur-sayuran seperti kentang, bawang daun, terong, wortel; dan tanaman hias seperti

krisan dan anggrek vanda serta phalaenopsis (Miyahira *et al.*, 2008). Menurut Suharjo (2013), *Pectobacterium* spp. dapat menyerang berbagai jenis tanaman seperti padi, melon, nanas, mulberi dan tsukena, sawi putih, kentang, bawang daun, brokoli, wortel, seledri, dan kubis.

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan mulai September 2021 hingga Juli 2022.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain akuades, air steril, umbi kentang, minyak parafin, kuning telur, KOH 3%, alkohol 70%, ethidium bromide (EtBr), 5% NaCl, MyTaq™ *Red Mix*, DNA primer (RS1 dan RS2), *marker DNA ladder*, *loading dye*, *buffer TE*, *Bromthymol blue (BTB)* 2%, agarose, buah pepaya. Bahan organik yang digunakan adalah *D-arabinose*, *D-tartrate*, *Inulin*, *Lactose*, *Cis-aconitic acid*, *D-melibiose*, *D-raffinose*, *5-ketogluconate*, *mannitol*, *M-tartrate*, dan *Myo-inositol*. Media biakan yang digunakan yaitu *Yeast Peptone Agar (YPA)* dan *Potato Peptone Glucose Agar (PPGA)*. Media yang digunakan untuk pengujian adalah King's B, Oksidatif/Fermentatif (O/F), dan *Yeast Peptone (YP)*.

Alat yang digunakan pada penelitian ini *Laminar Air Flow (LAF)*, autoklaf, *rotamixer*, *microwave*, *shaker*, *waterbath*, *magnetic bar*, *magnetic stirrer*, *freezer*, jarum ent, jarum ose, pinset, mikro pipet, tabung *ependorf* 1,5 ml, tabung reaksi, erlenmeyer, bunsen, gelas objek, gelas ukur dan cawan petri. Alat yang digunakan untuk identifikasi molekuler adalah mesin PCR, alat elektroforesis, *gel documentation system*, *microcentrifuge*, cetakan gel 20x16x1, mikro pipet 0-1000 µl, pipet tip 0-1000 µl, dan tabung *ependorf* 100 µl.

3.3 Metodologi Penelitian

Pada penelitian ini bakteri yang digunakan sebanyak 3 isolat yang merupakan koleksi Laboratrium Bioteknologi Pertanian dan Laboratrium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Univeristas Lampung (Tabel 1).

Tabel 1. Isolat bakteri yang digunakan

| No. | Kode Isolat | Tahun Dilakukan Isolasi | Inang |
|-----|-------------|-------------------------|--------|
| 1. | 17 PY | | |
| 2. | BHT 2.1 | 2021 | Pepaya |
| 3. | BH 2.1 | | |

3.3.1 Karakterisasi dan identifikasi penyebab penyakit

Karakterisasi dan identifikasi penyebab busuk lunak buah pepaya dilakukan melalui beberapa pengujian yaitu :

3.3.1.1 Uji biokimia

Uji biokimia dilakukan melalui beberapa pengujian antara lain :

(a) Uji Gram

Uji Gram bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri termasuk Gram positif dan Gram negatif. Pengujian ini lakukan dengan mengambil satu ose koloni bakteri yang berumur 24 jam dan diletakkan di kaca preparat kemudian ditetesi KOH 3%. Suspensi diaduk terus menerus selama satu menit dan kemudian ditarik ke atas dengan lembut sepanjang 1 cm. Parameter pengamatan berdasarkan kategori bakteri Gram negatif diperoleh apabila menghasilkan lendir (reaksi positif) dan kategori bakteri Gram positif apabila tidak menghasilkan lendir (reaksi negatif) (Jaya and Subha, 2011).

(b) Uji oksidatif/ fermentatif (O/F)

Uji OF (oksidatif/fermentatif) adalah uji untuk mengetahui sifat bakteri termasuk oksidatif atau fermentatif. Pengujian bakteri dilakukan menggunakan media O/F (basal medium). Bahan media ini yaitu 98 g bubuk media O/F dan 1000 ml akuades selanjutnya media dituangkan sebanyak 4 ml pada tabung reaksi dan

disterilisasikan. Kemudian isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil dengan menggunakan jarum preparat dan ditusukkan ke dasar tabung, lalu diinkubasi selama 1-7 hari pada suhu 28 °C. Bakteri dikatakan fermentatif, jika medium yang ditutup parafin cair steril berubah warna dari hijau menjadi kuning, sedangkan bakteri dikatakan oksidatif, jika medium yang tidak ditutup parafin cair steril berubah dari hijau tua menjadi kuning (Arwin *et al.*, 2016).

(c) Uji *lechitinase*

Uji *lechitinase* bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi enzim *lechitinase*. Media yang digunakan yaitu YPA dan kuning telur. Pengujian dilakukan dengan memasukkan kuning telur sebanyak 0,5 ml ke dalam cawan petri lalu ditambahkan YPA 10 ml dan dicampur secara merata kemudian diambil bakteri yang berumur 24 jam dengan jarum ose dan digoreskan pada media *lechitinase*. Selanjutnya bakteri diinkubasi pada suhu 28 °C dan dilakukan pengamatan selama 1-7 hari. Jika pengujian menghasilkan zona buram yang menyebar di sekitar atau di tepi koloni bakteri maka bakteri tersebut positif memproduksi enzim *lechitinase* (Handoko dkk., 2020).

(d) Uji fluoresensi pada media King's B

Uji fluoresensi bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengeluarkan fluoresensi. Pengujian ini dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam lalu digoreskan pada media King's B. Bahan yang digunakan yaitu 20 g pepton, 1,5 g $K_2HPO_4MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 15 ml gliserol, 15 g agar, dan 1000 ml aquades, lalu diinkubasi dalam suhu ruang selama 24-48 jam. Apabila bakteri memproduksi pigmen fluoresensi maka bakteri yang disinari lampu *ultra violet* (UV) dengan gelombang panjang (365 nm) akan menghasilkan warna hijau berpendar sehingga digolongkan sebagai bakteri fluoresensi (Sands, 1990).

(e) Uji *arginin dihydrolase* (Moeller Media)

Uji arginin dihydrolase bertujuan untuk mendeteksi pertumbuhan bakteri pada kondisi anaerob dalam media yang mengandung bahan kimia arginine. Pengujian dilakukan dengan menggunakan media moeller sebanyak 21 g yang dilarutkan

dengan akuades 1000 ml. Kemudian dipanaskan lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml, selanjutnya disterilisasi di autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Biakan murni bakteri yang berumur 24 jam diambil dengan menggunakan jarum ent ditusukkan pada medium yang ditutup dengan minyak parafin steril. Kemudian diinkubasikan pada suhu 28 °C dan dilakukan pengamatan selama 7-14 hari. Apabila terdapat perubahan warna pada media dari merah kecoklatan menjadi ungu maka reaksi positif, sedangkan jika terjadi perubahan warna menjadi warna kuning maka reaksi negatif (Suharjo, 2013).

(f) Uji casein

Uji casein untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis protein. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan media *Skim Milk Agar*. Bahan yang digunakan pada uji ini yaitu 10 g bubuk *Skim Milk Agar* dan 1000 ml akuades kemudian dihomogenkan. Bakteri selanjutnya dimasukkan satu ose bakteri yang berumur 24 jam dan digoreskan ke cawan petri, lalu dinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28 °C. Jika pada di sekitar goresan bakteri terdapat zona bening maka bakteri menunjukkan reaksi positif, begitupun juga sebaliknya (Fardiaz, 1992).

(e) Uji hipersensitif

Reaksi hipersensitif merupakan mekanisme pertahanan tanaman terhadap invasi patogen. Reaksi yang terjadi diantaranya adalah meningkatnya permeabilitas membran sel, meningkatnya respirasi, akumulasi dan oksidasi senyawa fenol, dan pembentukan fitoaleksin (Agrios, 1988). Setelah itu terjadi pengeringan dan kematian sel inang di sekitar tempat invasi, selanjutnya patogen akan terisolasi dari jaringan yang hidup dengan adanya pembatas berupa sel yang telah mati pada daerah tersebut akan terpisah dari jaringan hidup. Pengujian ini dilakukan dengan mengambil satu ose isolat bakteri yang berumur 24 jam kemudian disuspensikan menggunakan air steril dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* kemudian dihomogenkan dengan rotamixer. Selanjutnya isolat bakteri disuntikkan ke daun tembakau dan diinkubasi selama 24-48 jam (Fahy and Lloyd, 1983).

(h) Uji *soft rot*

Uji *soft rot* bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri penyebab penyakit busuk lunak buah pepaya untuk menginfeksi umbi kentang atau mengetahui umbi kentang yang busuk disebabkan oleh bakteri penyebab busuk lunak pada pepaya. Metode uji ini dilakukan dengan cara memotong umbi kentang setebal 1 cm dan dicuci dengan air mengalir, setelah itu satu gores ose bakteri biakan yang berumur 24 jam diletakkan pada tengah permukaan umbi kentang. Kelembapan dalam cawan petri selalu dijaga, umbi yang sudah ditetesi suspensi, diinkubasi pada suhu kamar dan diamati setiap hari sampai muncul gejala busuk. Reaksi positif menunjukkan terjadinya pembusukan pada bagian umbi kentang yang telah diinokulasi bakteri (Asrul, 2005).

(i) Uji kemampuan tumbuh pada beberapa suhu

Uji ini dilakukan dengan cara menginokulasi bakteri uji pada tabung reaksi yang berisi 5 ml media *Yeast Peptone* (YP) dan diinkubasi pada suhu 39 °C dan 40 °C. Bakteri yang berumur 24 jam kemudian diambil dan disuspensikan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 ml yang telah berisi air steril 0,5 ml. Selanjutnya isolat bakteri yang telah disusun seri kemudian dihubungkan menggunakan rotamixer. Setelah tahap tersebut terselesaikan bakteri diinkubasi dalam *waterbath* selama 3-7 hari yang dilakukan secara bergantian pada suhu 39 °C dan 40 °C. Apabila reaksi tersebut positif hal itu menunjukkan bakteri dapat tumbuh pada suhu tersebut dengan ditandainya perubahan warna media dari warna kuning menjadi putih keruh (Oktaviana, 2018).

(j) Uji kemampuan untuk menggunakan beberapa jenis bahan organik

Tujuan dilakukannya uji ini untuk mengetahui kemampuan tumbuh bakteri pada bahan organik tertentu. Media yang digunakan adalah media Ayer's dengan komposisi $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1 g, KCl 0,2 g, MgSO_4 0,2 g, Bromthylmol Blue (BTB) 2%, dan air aquades sebanyak 1000 ml. Bakteri diuji dengan beberapa bahan organik yang berbeda, yaitu *D-arabinose*, *D-tartrate*, *Inulin*, *Lactose*, *Cisacontic acid*, *D-melibiose*, *D-raffinose*, *5-ketogluconate*, *manitol*, *M-tartrate*, dan *Myo-innositol*.

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam dan dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* 1,5 ml yang berisi air steril sebanyak 0,5 ml kemudian dihomogenkan menggunakan rotamixer. Bakteri diambil dengan jarum ent dan ditusukkan pada media sampai dasar tabung dan diinkubasi pada suhu 28 °C, lalu diamati pada hari 2, 4, 7, 14, dan 21 hari. Reaksi positif ditandai dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi kuning atau biru menyesuaikan bahan organik yang digunakan perubahan warna menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu menggunakan bahan organik tersebut untuk tumbuh (Suharjo, 2013).

3.3.1.2 Identifikasi molekuler

Identifikasi molekuler dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi menggunakan mesin PCR, elektroforesis dan visualisasi hasil PCR, serta sekuensing DNA dan analisis hasilnya.

(a) Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan secara manual dengan cara mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam dari media PPGA dan dimasukkan ke dalam tube 1,5 ml. Selanjutnya ditambahkan 20 µl TE menggunakan mikropipet dan dihomogenkan atau divortex lalu ditambah 10 ml SDS 10% + 3 ml prokinase K dan dihomogenkan. Kemudian tube yang sudah berisi bakteri diinkubasi di *waterbath* pada suhu 37% selama satu jam. Setelah diinkubasi kemudian ditambahkan 100 µl NaCl dan dihomogenkan secara manual. Kemudian ditambah 80 µl CTAB 2% dan diinkubasi kembali pada suhu 65 °C selama 10 - 15 menit di *waterbath*. Setelah diinkubasi, selanjutnya ditambahkan 720 µl Cl (*Chloroform Isoomyl*) dan dihomogenkan dengan cara dikocok. Kemudian disentrifuse 14.000 rpm selama 5 menit.

Setelah mendapatkan hasil sentrifuse supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam tube 1,5 ml yang baru yang sudah disterilkan, kemudian ditambahkan isopropanol 60% dengan volume yang sama dengan supernatan (1,5 ml), dan dihomogenkan dengan cara dikocok lalu diinkubasi di dalam freezer selama 20

menit. Setelah sentrifuse selesai supernatan yang di dalam tube dibuang dan ditambahkan alkohol 70% dingin sebanyak 400 ml, lalu disentrifuse kembali selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Kemudian alkohol dibuang dan pelet diinkubasi selama 1 hari pada suhu ruang. Setelah kering tube berisi pelet ditambahkan 20 µl TE. Untuk melihat ada tidaknya DNA maka dilakukan elektroforesis dan divisualisasikan menggunakan *Digidoc Imaging System*.

(b) Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR dengan memasukkan 12,5 µl *Master Mix (Red Mix)* ke dalam tabung *ependorf* 100 µl kemudian ditambahkan primer *recA* yaitu RS1 dan RS2 masing-masing sebanyak 1 µl, larutan ekstrak DNA bakteri sebanyak 1 µl dan akuades steril sebanyak 9,5 µl. Larutan yang sudah dibuat kemudian diampifikasi menggunakan mesin PCR. Dalam menggunakan PCR ada lima tahapan, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Tahapan inisiasi merupakan tahapan yang dilakukan pada suhu 95 °C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 30 siklus tahap denaturasi pada suhu 95 °C selama 1 menit, lalu tahap selanjutnya yaitu annealing pada suhu 56 °C selama 1 menit, dan tahap ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit serta tahap terakhir yaitu elongasi pada suhu 72 °C selama 5 menit (Suharjo *et al.*, 2014).

(c) Elektroforesis dan visualisasi hasil PCR

Elektroforesis dilakukan dengan pembuatan gel agarose 0,5% yang sudah ditambah 1 µl ethidium bromide (ETBr 10 mg/ml), kemudian dituangkan pada cetakan gel 20x16x1cm³ dengan sisir. Gel agarose dimasukkan ke dalam alat elektroforesis yang berisi larutan TBE. Pada sumur pertama dalam agarose dimasukkan 3 µl Marker DNA *ladder*. Pada sumur berikutnya diisi oleh 3 µl hasil PCR, kemudian dilakukan elektroforesis selama 60-70 menit dengan tegangan 50 volt. Hasil PCR ditunggu hingga DNA bergerak ke bawah hingga ditengah-tengah baris 3 dan 4 dari ujung lawan. Hasil elektroforesis dapat dilihat dengan *digi doc imaging system* yang hasilnya disimpan dalam komputer dan keberadaan profil DNA antar lokus gen dapat terlihat berupa pita terang (Oktaviana, 2018).

(d) Sekuensing dan analisis hasilnya

Hasil PCR yang didapat dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk hasil pembuatan dendrogram dilakukan menggunakan program MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016).

3.3.2 Uji kisaran inang

Tujuan dilakukan uji kisaran inang untuk mengetahui penyebab atau penyebaran bakteri penyebab busuk lunak pada buah pepaya dapat menginfeksi pada tanaman lain. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam dan dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* 1,5 ml yang berisi air steril 0,5 ml dihomogenkan menggunakan rotamixer. Selanjutnya bakteri diinokulasikan pada tanaman yang dijadikan sebagai uji kisaran inang diantaranya: wortel, tomat, sawi putih, terung, cabai, buncis, seledri, daun bawang, labu siam, paprika, okra, lobak, brokoli, bawang merah, bawang putih, pak coy, kubis, gambas, pare, timun, kacang panjang, lidah buaya, dan bombay. Pemilihan jenis-jenis inang tersebut karena kebanyakan dari sayuran-sayuran yang dipilih mudah atau rentan terserang penyakit busuk lunak dari genus *Pectobacterium*. Jika bagian tanaman inang yang diinokulasi isolat bakteri uji menunjukkan gejala maka tanaman tersebut terinfeksi oleh isolat bakteri tersebut (Oktaviana, 2018).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri penyebab busuk lunak tanaman buah pepaya memiliki beberapa karakteristik diantaranya: Gram negatif, bersifat fermentatif, lechitinase positif, tidak berpendar pada media King's B negatif, arginin dyhidrolase positif, casein positif, *soft rot* positif, hipersensitif negatif, mampu tumbuh hanya pada suhu 39 °C dan mampu menggunakan bahan organik *Inulin*, *D-raffinose*, *5-ketogluconate*, *Mannitol*, *Myo-innositol*, serta *Glyserol* sebagai sumber karbonnya.
2. Bakteri penyebab busuk lunak buah pepaya tergolong dalam *Pectobacterium aroidearum* dan *Pectobacterium odoriferum*.
3. Bakteri penyebab busuk lunak buah pepaya mampu menginfeksi beberapa jenis sayuran: seledri, lidah buaya, sawi putih, kubis, gambas, pare, buncis, bawang putih, bawang merah, cabai merah, paprika, tomat, terung, kacang panjang, dan okra.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, disarankan perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang tingkat ketahanan beberapa varietas pepaya terhadap serangan bakteri penyebab busuk lunak.

DAFTAR PUSTAKA

- Aeny, T. N., Suharjo, R., Ginting, C., Hapsoro, D., Niswati, A. 2020. Karakterisasi dan penilaian kisaran inang *Dickey zeae* terkait penyakit busuk lunak nanas di Lampung Timur, Indonesia. *Biodiversitas*. 21(2): 587-595.
- Agrios, G. N. 1988. *Plant Pathology*. 3d ed. Academic Press. Ins. New York.
- Akbar, A., Ahmad, M., Azra, Neelam, Khan, S. Z., and Ahmad, Z. 2015. Characterization of the causal organism of soft rot of tomatoes and other vegetables and evaluation of its most aggressive isolates. *American Journal of Plant Sciences*. 6(4): 511–517.
- Aryal, R. and Ming, R. 2014. Sex determination in flowering plants: Papaya as a model system. *Plant Science*. 217(8): 56–62.
- Arwin, M., Frans, G. I., and Reiny, T. 2016. Characteristics of *Aeromonas hydrophila* isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal Aquatic Science and Management*. 4(2): 52-55.
- Asrul. 2005. Uji lopat bakteri patogen dari beberapa tanaman. *Jurnal Agrisains*. 6(2): 81-86.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2022. *Produksi Buah Pepaya Pepaya di provinsi Lampung*. <http://www.bps.go.id/indicator/55/62/6/Produksi-tanaman-buah-buahan>. Diakses pada tanggal 07 Agustus 2022.
- Esselman, M. T. and Liu, P. V. 1961. Lecithinase production by gram-negative bacteria. *Journal of Bacteriology*. 81(6): 939-945.
- Faisal, H. N. 2015. Analisis pendapatan usahatani dan saluran pemasaran Pepaya (*Carica papaya* L.) di Kabupaten Tulung Agung (Studi kasus di Desa Bangoan, Kecamatan Kedungwaru, Kabupaten Tulung Agung). *Jurnal Agribisnis Fakultas Pertanian Unila*. 11(13): 12-16.
- Fahy, P. C. and Lloyd, A. B. 1983. Pseudomonas: The Fluorescent Pseudomonas. In: Fahy, P. C. and Persley G. J. (eds). *Plant Bacterial Disease, a Diagnostic Guide*. Academic Press. 151p.

- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. P.T. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Handoko, Y. A., Kristiawan, Y. A., dan Agus, Y. H. 2020. Isolasi dan karakterisasi biokimia bakteri pembusuk buah cabe rawit. *Jurnal Teknologi Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*. 11(1): 34-41.
- Hardiansyah, M. Y., Yunus, M., dan Abdul, M. J. 2020. Identifikasi plant growth promoting rhizobacteria pada rizosfer bamboo duri dengan gram KOH 3%. *Agrotechnology Research Journal*. 4(1): 41-46.
- Hasanah, N. F., Delianis, P., dan Sri, Y. W. 2012. Karakterisasi Metabolit Sekunder Bakteri Simbion Gastropoda *Conus miles* dengan Metode GC-MS Sebagai Antibakteri MDR (*Multi Drug Resistant*). *Journal of Marine Research*. 1(2): 197-202.
- Jaya, C. T. and Subha, M. P. 2011. A Study of 2 rapid tests to differentiate gram positive and gram negative aerobic bacteria. *Journal of Medical and Allied Science*. 1(2): 84-85.
- Kalie, M.B. 1996. *Bertanam Pepaya*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Kumar, A., Hunjan, M. S., Kaur, H., Singh, P. P. and Kaur, R. 2016. Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 3(3): 1870-1874.
- Ma, B., Hibbing, M. E., Kim, H. S., Reedy, R. M., Yedidia, I., Breuer, J., Glasner, J. D., Perna, N., Kelman, A., and Charkowski, O. 2007. Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial gener *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology*. 97: 1150-116.
- Masnilah, R., Abdul. L. A., Tutung, H. A. dan Luqman, Q. A. 2013. Karakterisasi bakteri penyebab penyakit hawar daun edamame di jember. *Berkala Ilmiah Petanian*. 1(1): 10-14.
- Miyahira, N., Takushi, T., Furuya, N., Kawano, S., Takeshita, M., and Tsuchiya, K. 2008. Bacterial shoot blight of mango (*Mangifera indica* L.) caused by *Erwinia chrysanthemi* (abstract in Japanese). *Annual Phytopathol Society Japan* 74: 253–254.
- Nakasone H. Y. 1986. *Papaya. Basic flower types in (Carica papaya L.) p. 277-301*. In Monselise, S. P. (ed.). *Handbook of Fruit Set and Development*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Octaviani, R. D. 2012. Hama dan penyakit tanaman buah naga (*Hylocereus* sp.) serta budidayanya di Yogyakarta. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor

- Oktaviana, H. A. 2018. Identifikasi dan uji kisaran inang penyebab penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya (*Carica papaya* L.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Oviana, T., Aeny, N. T., dan Prasetyo, J. 2015. Isolasi dan karakteristik penyebab penyakit busuk buah pada tanaman nanas (*Ananas comosus* L. Merr.). *Jurnal Agrotek Tropika*. 3(2): 220-225.
- Podile, A. R. and Kishore, A. K. 2006. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*. Gnanamanickam SS, editor. Plant-Associated Bacteria. Springer. Netherland.
- Prasojo, U. B. 2022. Identifikasi dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Busuk Lunak Tanaman Cocor Bebek (*Kalanchoe* spp.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 48 hlm.
- Sahilah, A. M., Rozeita, L., Kalsum, M. S. U., and Son, R. 2008. Typing of *Erwinia Chrysanthemi* isolated from josapine pineapple in Malaysia using antimicrobial susceptibility, plasmid profiles, ERIC-PCR and RFLP analysis. *International Food Research Journal*. 15: 3-8.
- Sands, D. S. 1990. Physiological Criteria-Determinative test. In: Klement, Z., K. Rudolph, and D.C. Sands. *Methods in Phytobacteriology*. Akademiai Kado. Budapest. pp. 133-143.
- Satwika, T. D., Rusmana, I., dan Akhdiya, A. 2017. Potensi quorum quencher bakteri filusfer da rizosfer terhadap *Dickeya dadantii*. *Jurnal Agro Biogen*. 13(2): 101-110.
- 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. *Jurnal of General Plant Pathology*. 80(3): 237-254 hlm.
- Suharjo, R. 2015. Sekilas tentang klasifikasi dan teknik identifikasi *Erwinia chrysanthemi*, *E. carotovora* dan *E. ananatis*. *Seminar Regional Ilmu Penyakit Tumbuhan*. 58-65.
- Suketi, K., Poerwanto, R., Sujiprihati, S., Sobir, dan Widodo. W. D. 2010. Karakter fisik dan kimia buah pepaya pada stadia kematangan berbeda. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 38(1): 60-66.
- Thornley, M. J. 1960. The differentiation of *Pseudomonas* from other Gramnegative bacteria on the basis arginine metabolism. *Journal Application Bacteriology*. 1: 37-52.

- Winslow, C. E. A., Broadhurst, J., Buchanan, R. E, Krumwiede, C. J. R., Rogers, L. A., and Smith, G. H. 1917. The families and genera of the bacteria. Preliminary report of the committee of the Society of American Bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. *Journal of Bacteriology*. 2: 505–566.
- Wulandari, H., Zaqiyatulyaqin, dan Supriyanto. 2012. Isolasi dan pengujian bakteri endofit dari tanamna lada (*Piper nigrum* L.) sebagai antagonis terhadap patogen hawar daun beludru (*Septobasidium* sp.). *Perkebunan dan Lahan Tropika*. 2(2): 23-31.
- Yuka, R. A., Agus, S., dan Supono. 2021. Identifikasi bakteri bioremediasi pendegradasi total ammonia nitrogen (tan). *Jurnal Kelautan*. 14(1): 20-29.
- Yusnafi. 2008. Serangan Patogen dan Gangguan Terhadap Proses Fisiologis Pohon. *Karya Tulis*. Universitas Sumatera Utara. Medan.