

**KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI DAN UJI KISARAN INANG
PENYEBAB PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG PADI DI TALANG
PADANG PROVINSI LAMPUNG**

(Skripsi)

Oleh

ULFA CHAIRUNISA HARIS



**JURUSAN PROTEKSI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI DAN UJI KISARAN INANG PENYEBAB PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG PADI DI TALANG PADANG PROVINSI LAMPUNG

Oleh

ULFA CHAIRUNISA HARIS

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui identitas, karakter dan kisaran inang bakteri penyebab penyakit busuk pangkal batang padi. Penelitian dilaksanakan pada Desember 2019 sampai Juli 2020 di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Dua isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Talang Padang, Lampung. Identifikasi dilakukan berdasarkan hasil uji biokimia dan analisis sekuens menggunakan *recA*. Uji kisaran inang dilakukan terhadap 20 spesies tanaman yang berbeda. Hasil uji patogenisitas menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diteliti dapat menyebabkan penyakit busuk pangkal batang. Hasil uji biokimia memperlihatkan bahwa isolat bakteri merupakan kelompok gram negatif, bersifat fermentatif, *lechinase* negatif, *soft rot* positif, reaksi hipersensitif positif, fluoresensi pada media King's B negatif, Arginin dihidrolase positif, casein positif dan mampu tumbuh pada suhu 39 °C, dan 40 °C serta mampu menggunakan bahan organik *M-Tartrate*, *L-Tartrate*, *L-Ascorbic Acid*, *Citrate* sebagai sumber karbonnya. Hasil identifikasi molekuler menggunakan sekuens *recA* menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri yang diuji berada dalam satu kelompok dengan *type strain* dari *Pectobacterium aroidearum* (CFBP2573). Hasil uji kisaran inang menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri dapat menyebabkan gejala busuk pada caisim, labu siam, pakcoy, sawi putih, terong buah, tomat dan wortel.

Kata kunci : Busuk Pangkal Batabng padi, identifikasi molekuler, busuk pangkal batang padi, *Pectobacterium aroidearum*, uji biokimia

**KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI DAN UJI KISARAN INANG
PENYEBAB PENYAKIT BUSUK PANGKAL BATANG PADI DI
TALANG PADANG PROVINSI LAMPUNG**

Oleh

Ulfa Chairunisa Haris

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Proteksi Tanaman
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Skripsi : **KARAKTERIASI, IDENTIFIKASI DAN UJI
KISARAN INANG PENYEBAB PENYAKIT
BUSUK PANGKAL BATANG PADI DI
TALANG PADANG PROVINSI LAMPUNG**


Nama Mahasiswa : **Ulfa Chairunisa Haris**

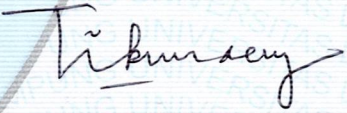
Nomor Pokok Mahasiswa : **1654191003**

Jurusan : **Proteksi Tanaman**

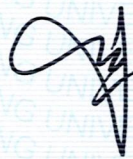
Fakultas : **Pertanian**




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


Dr. Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc.
NIP 196201071986032001

2. Ketua Jurusan Proteksi Tanaman



Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.
NIP 1981081520081221001

MENGESAHKAN

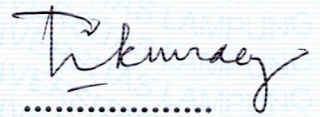
1. Tim Penguji

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



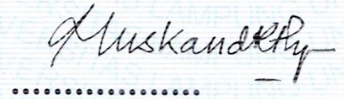
Anggota
Pembimbing

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



Penguji

Bukan Pembimbing : **Dr. Ir. Suskandini Ratih D., M.P.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **24 Mei 2022**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Karakterisasi, Identifikasi dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Busuk Pangkal Batang Padi di Talang Padang Provinsi Lampung”** 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 dikemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 05 Desember 2022
Penulis,



Ulfa Chairunisa Haris
NPM 1654191003

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 11 Agustus 1998, merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara buah hati Bapak Nur Haris Samad dan Ibu FERIA Sari. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2010. Pendidikan selanjutnya penulis tempuh di SMPN 9 Bandar Lampung dari tahun 2010-2013. Selanjutnya penulis menempuh pendidikan menengah atas di SMA Perintis 2 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2016.

Pada tahun 2016 penulis melanjutkan pendidikan ke tingkat perguruan tinggi di Universitas Lampung dengan mengambil Jurusan Proteksi Tanaman di Fakultas Pertanian. Pada bulan Juli sampai dengan Agustus tahun 2019 Penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) dengan judul Deteksi secara Molekuler *Dickeya zea* pada Bibit Komoditas Impor Nanas asal Philipina Tahun 2019 di Balai Karantina Kelas I Bandar Lampung. Pada bulan Januari sampai dengan Februari 2020 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Gunung Meraksa, Kecamatan Pulau Panggung, Kabupaten Tanggamus. Pada proses penyusunan tugas akhir, penulis melakukan penelitian di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

*Karya ini kupersembahkan sebagai tanda cinta dan baktiku
untuk Mama Feria Sari, Atuk Tholib (Alm), Kakak Adhitya
Kevin Prananda dan Nur Fadli Aufaris , yang selalu
memberikan kepercayaan dan cinta yang tak terbatas di
hidupku.*

*serta
Almamater Tercinta
Proteksi Tanaman Universitas Lampung*

*“Belajarliah dari kemarin, hiduplah untuk hari ini,
berharaplah untuk besok. Yang paling penting adalah tidak
berhenti untuk bertanya.”*
(Albert Einstein)

*“Pengetahuan adalah senjata yang paling hebat untuk
mengubah dunia”*
(Nelson Mandela)

*“Semua mimpi kita dapat terwujud jika kita berani untuk
mewujudkannya”*
(Walt Disney)

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada
kemudahan.”*
(Q.S Al-Insyirah 94:6)

*“Ridha Allah tergantung ridha kedua orang tuanya dan
murka Allah tergantung murka keduanya.”*
(HR. Thabrani)

SANWACANA

Alhamdulillah Rabbil ‘Alamin puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ **Identifikasi Karakterisasi dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Busuk Pangkal Batang Padi di Provinsi Lampung** ”. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar - besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku Ketua Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
3. Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D., selaku Pembimbing Pertama yang telah memberikan ilmu, saran, nasihat, motivasi, serta meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya untuk memberikan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Dr. Ir. Titik Nur Aeny, M.Sc., selaku Pembimbing Kedua yang telah memberikan ilmu, saran, nasihat, motivasi, serta meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya untuk memberikan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Ir. Suskandini Ratih, M.P. selaku Dosen Pembahas/Penguji atas semua kritik, saran, ilmu dan nasihat yang diberikan.

6. Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S., selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan nasihat, saran, arahan dan motivasi.
7. Seluruh Dosen dan Karyawan di Jurusan Proteksi Tanaman atas semua ilmu dan bantuan yang telah diberikan selama penulis menjadi mahasiswa Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
8. Keluarga tersayang, terutama Ibu yang telah memberikan limpahan kasih sayang, doa, nasihat, semangat, dan motivasi tiada henti kepada penulis.
9. Kepada teman satu angkatan, Desta, Risa, Aulian, Made, dan Fakhmi atas, kebersamaan, dan motivasi yang tidak pernah terputus.
10. Keluarga besar Laboratorium Bioteknologi, Mba Tari, Mba Yeyen, Mba Mutiara, Bang Sem, teman teman penelitian biotek atas saran, bantuan, dan kerjasama dalam penelitian ini.
11. Kepada semua pihak yang terlibat dalam penulisan karya tulis ini, yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT memberikan balasan terbaik atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat kekurangan dan masih jauh dari kata sempurna, akan tetapi semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, 05 Desember 2022

Penulis,

Ulfa Chairunisa Haris

DAFTAR ISI

Halaman

SANWACANA.....	iii
DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR GAMBAR.....	iii
DAFTAR TABEL	iv
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Kerangka Pemikiran	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Padi.....	5
2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Padi.....	5
2.1.2 Syarat Tumbuh Padi.....	6
2.2 Penyakit Busuk Pangkal Batang Padi.....	7
2.2.1 Gejala Penyakit.....	7
2.2.2 Patogen (Penyebab Penyakit)	7
2.2.3 Penyebaran Penyakit	8
2.2.4 Perkembangan Penyakit	9
2.2.5 Pengendalian Penyakit	9
III. BAHAN DAN METODE	10
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10
3.2 Bahan dan Alat	10
3.3 Metode Penelitian	11
3.3.1 Uji Patogenisitas pada Tanaman Padi.....	12
3.3.2 Identifikasi Isolat Bakteri.....	12
3.3.2.2 Identifikasi Molekuler	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Hasil penelitian.....	23
4.1.1 Uji Patogenisitas pada Tanaman Padi	23

4.1.2 Pengujian Isolat Bakteri.....	23
4.1.2.1 Uji Biokimia	23
4.1.2.2 Identifikasi secara Molekuler	30
4.1.3 Uji Kisaran Inang.....	31
4.2 Pembahasan.....	32
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA.....	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Hasil positif uji soft rot	24
2. Hasil positif uji Gram	24
3. Hasil fermentatif uji oksidatif/fermentatif.....	25
4. Hasil positif pengujian Lecithinase isolat.....	25
5. Hasil positif uji reaksi hipersensitif	26
6. Hasil pengujian fluoresensi	27
7. Hasil positif uji Casein	27
8. Hasil positif uji arginin dihidrolase	28
9. Hasil uji kemampuan tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C.....	28
10. Pohon filogeni yang dibuat berdasarkan analisis hasil sekuensing <i>rec A</i>	30
11. Hasil positif pengujian kisaran inang	32

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil uji kemampuan untuk menggunakan beberapa jenis bahan organik isolat bakteri penyebab busuk pangkal batang padi	29
2. Hasil uji kisaran inang dari isolat bakteri penyebab busuk pangkal batang padi	31

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi merupakan salah satu komoditas tanaman pangan yang memegang peranan penting dalam kehidupan ekonomi Indonesia. Beras yang dihasilkan dari padi sebagai tanaman pangan dikonsumsi kurang lebih 90% dari keseluruhan penduduk Indonesia sebagai makanan pokok sehari-hari (Saragih, 2001).

Pesatnya laju pertumbuhan penduduk yang mencapai 1,94% per tahun (lebih dari 237 juta jiwa pada tahun 2010 menurut data BPS) menyebabkan meningkatnya kebutuhan terhadap beras sementara pertumbuhannya tidak sebanding dengan permintaan. Peningkatan jumlah penduduk Indonesia sebesar 1,36% per tahun sehingga diperkirakan pada tahun 2020 dibutuhkan beras sebesar 35,97 juta ton dengan asumsi konsumsi 137 kg per kapita (Polakitan *et al.*, 2011).

Upaya peningkatan produksi tanaman padi selalu dihadapkan pada beberapa kendala yang salah satunya adalah penyakit tanaman. Salah satu penyakit pada tanaman padi yaitu penyakit busuk pangkal batang. Pada tahun 1965, Goto (1965) melaporkan serangan patogen yang menyebabkan gejala busuk pangkal batang padi di Bogor. Hasil identifikasi berdasarkan uji biokimia menunjukkan bahwa penyebab penyakit tersebut merupakan *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium carotovorum*). Selain disebabkan oleh *P. carotovorum*.

Penyakit busuk pangkal batang juga dilaporkan dapat disebabkan oleh *E.chrysanthemi* pv. *zear* (*Dickeya zear*). Laporan tentang *D. zear* sebagai penyebab busuk pangkal batang padi pertama dilaporkan oleh Goto (1979).

Menurut Goto (1965) tahap awal penyakit busuk pangkal batang padi ditandai dengan adanya perubahan warna coklat tua pada selubung daun dan menguningnya daun yang membentang dari selubung ini. Munculnya selubung yang berubah warna mirip dengan pembusukan selubung bakteri, yang dapat disebabkan oleh beberapa bakteri yang berbeda. Akan tetapi, penyakit baru ini berbeda dengan pembusukan selubung bakteri di mana organisme penyebab terutama menyerang pangkal batang dan menyerang tajuk secara sistemik, yang mengakibatkan pembusukan pangkal batang. Bakteri patogen itu identik dalam banyak hal dengan *Erwinia chrysanthemi* Burkh., McFadden and Dimock.

Di Laboratorium Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung terdapat koleksi isolat bakteri penyebab penyakit busuk pangkal batang padi yang ditemukan di Talang Padang pada tahun 2016. Namun begitu, saat ini belum diketahui identitas, karakter dan kisaran inang dari isolat bakteri tersebut.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui identitas, karakter serta kisaran inang bakteri penyebab penyakit busuk pangkal batang padi.

1.3 Kerangka Pemikiran

Penyakit busuk pangkal batang padi pertama kali ditemukan di Bogor, Indonesia, pada tahun 1964. Gejala penyakit ini mirip dengan "*Bacterial blight disease*" di Hungaria dan "*Sheath brown*" yang ditemukan di Jepang. Kedua penyakit ini dilaporkan disebabkan oleh *Pseudomonas oryzae* Klement. Hasil investigasi lebih lanjut menunjukkan bahwa penyakit yang ditemukan di Indonesia disebabkan oleh strain *Erwinia carotovora* (Goto, 1965).

Erwinia carotovora dan *E. chrysanthemi* merupakan dua spesies dari kelompok "*Soft rot Erwinias*". Kedua spesies ini merupakan salah satu kelompok patogen penting dan sangat merugikan yang menyerang berbagai jenis tanaman budidaya (Perombelon and Kelman, 1980). Serangan patogen ini dapat mencapai 75% (Cerkaukas *et al.*, 1998; Gracia-Garza *et al.*, 2004; Tsrer *et al.*, 2009; Sahilah *et al.*, 2008). Taksonomi bakteri yang berbeda dalam kelompok "*Soft rot Erwinias*" terus mengalami perkembangan. Saat ini, *E. chrysanthemi* dikelompokkan ke dalam genus *Dickeya* (Samson *et al.*, 2005), sedangkan *E. carotovora* dimasukkan ke dalam genus *Pectobacterium* (Hauben *et al.*, 1998; Gardan *et al.*, 2003).

Dickeya zea dan *Pectobacterium carotovorum* merupakan dua spesies yang dilaporkan menyerang tanaman padi (Suharjo *et al.*, 2014; Goto, 1965). Selain menyerang padi, kedua spesies ini juga dilaporkan menyerang nanas, pisang, kentang, jagung, sawi putih, dan wortel (Ma *et al.*, 2007; Samson *et al.*, 2005; Suharjo *et al.*, 2014). Aeny *et al.* (2020) melaporkan bahwa *D. zea* yang menyerang tanaman nanas mampu menginfeksi tanaman seledri, buah naga,

pisang, jambu, lidah buaya, buncis , tomat, kaktus, pakcoy, terong, bawang, kubis, selada, dan angrek.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Padi

Padi merupakan komoditas tanaman pangan penghasil beras yang memegang peranan penting dalam kehidupan ekonomi Indonesia. Beras berperan sebagai makanan pokok yang sangat sulit digantikan oleh bahan pokok lainnya, sehingga keberadaan beras menjadi prioritas utama masyarakat dalam memenuhi kebutuhan asupan karbohidrat. Padi dikonsumsi oleh kurang lebih 90% dari keseluruhan penduduk Indonesia untuk makanan pokok sehari-hari (Saragih, 2001).

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Tanaman Padi

Berdasarkan taksonominya, tanaman padi dapat diklasifikasikan sebagai berikut

(*Integrated Taxonomic Information System, 2020*) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Division	: <i>Tracheophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Order	: <i>Poales</i>
Family	: <i>Poaceae</i>
Genus	: <i>Oryza L.</i>
Spesies	: <i>Oryza sativa L.</i>

Morfologi atau bagian-bagian tanaman padi, terdiri dari: akar, daun, tajuk, batang, bunga, malai dan gabah. Akar tanaman padi memiliki sistem perakaran serabut.

Daun tanaman padi tumbuh pada batang dalam susunan yang berselang seling dan

terdapat satu daun pada tiap buku. Daun teratas pada tanaman padi disebut daun bendera yang posisi dan ukurannya tampak berbeda dari daun yang lain. Anakan padi tumbuh pada batang utama dalam urutan yang bergantian. Bunga padi secara keseluruhan disebut malai. Malai terdiri dari 8–10 buku yang menghasilkan cabang-cabang primer selanjutnya menghasilkan cabang-cabang sekunder. Butir biji padi tanpa sekam (kariopsis) disebut beras. Komponen utama butir biji adalah sekam, kulit beras, endosperm, dan embrio.

2.1.2 Syarat Tumbuh Padi

Tanaman padi tumbuh di daerah tropis/subtropis pada 45 °LU sampai 45 °LS dengan cuaca panas dan kelembapan tinggi dengan musim hujan 4 bulan. Rata-rata curah hujan yang baik adalah 200 mm/bulan atau 1500-2000 mm/tahun. Padi dapat ditanam di musim kemarau atau hujan. Pada musim kemarau produksi meningkat asalkan air irigasi selalu tersedia. Di musim hujan, walaupun air melimpah produksi dapat menurun karena penyerbukan kurang intensif. Di dataran rendah padi memerlukan ketinggian 650 mdpl dengan temperatur 22 - 27 °C sedangkan di dataran tinggi 650-1500 mdpl dengan temperatur 19 - 23 °C. Tanaman padi memerlukan penyinaran matahari penuh tanpa naungan. Angin berpengaruh pada penyerbukan dan pembuahan tetapi jika terlalu kencang akan merobohkan tanaman (Maulidiya, 2015).

2.2 Penyakit Busuk Pangkal Batang Padi

2.2.1 Gejala Penyakit

Tahap awal gejala penyakit ini berupa perubahan warna coklat tua pada pelepah daun dan menguningnya daun yang membentang dari pelepah ini. Munculnya pelepah yang berubah warna mirip dengan pembusukan pelepah bakteri, yang dapat disebabkan oleh beberapa bakteri yang berbeda (Goto, 1965). Akan tetapi, penyakit baru ini berbeda dengan pembusukan pelepah bakteri di mana organisme penyebab terutama menyerang pangkal batang dan menyerang tajuk secara sistemik, yang mengakibatkan busuk akar. Bakteri patogen tersebut identik dalam banyak hal dengan *Erwinia chrysanthemi* Burkh., McFadden and Dimock (Goto 1965; Goto 1979; Samson *et al.*, 2005; Suharjo *et al.*, 2014).

2.2.2 Penyebab Penyakit

Patogen atau penyebab penyakit busuk pangkal batang padi menurut Goto (1965) merupakan *E. carotovora* (*Pectobacterium carotovorum*). Selain disebabkan oleh *P. carotovorum*, penyakit busuk pangkal batang juga dilaporkan dapat disebabkan oleh *E. chrysanthemi* pv. *zear* (*Dickeya zear*) (Goto, 1979).

Pectobacterium adalah salah satu kelompok terpenting dari bakteri patogen tanaman dan telah dilaporkan di banyak negara. Di Iran, 35 strains *Pectobacterium* berhasil diisolasi dari kentang, kubis, lada, wortel, bawang merah, ketimun, lobak dan tanaman inang tomat yang dibudidayakan di Provinsi Fars Iran, pada tahun 2013 (Akramipour, 2017).

Genus *Pectobacterium* saat ini terdiri dari 19 spesies yang diisolasi dari berbagai spesies tumbuhan dan air irigasi. Genus *Pectobacterium* diusulkan pada tahun 2003 oleh Gardan *et al.* (2003) yang membagi genus menjadi 5 spesies, yaitu *P. carotovorum*, *P. atrosepticum*, *P. betavasculorum*, *P. wasabiae* dan *P. cacticidum* (*P. cacticida*).

Dickeya zea adalah patogen utama yang menyebabkan penyakit busuk lunak pada berbagai jenis tanaman budidaya, antara lain kentang, nanas, pisang, jagung dan padi. Saat ini *Dickeya* terdiri dari 8 spesies dan 2 supspesies, yaitu *D. chrysanthemi*, *D. dianthicola*, *D. zea*, *D. dadantii* subsp. *dadantii*, *D. dadantii* subsp. *dieffenbachiae*, *D. paradisiaca*, *D. solani* (Zhou *et al.*, 2015), *D. poaciphilia* dan *D. oryzae* (Wang *et al.*, 2020).

2.2.3 Penyebaran Penyakit

Busuk pangkal batang padi adalah penyakit bakteri penting yang mempengaruhi produksi beras. Penyakit ini pertama kali dilaporkan di Jepang kemudian dilaporkan menyebar ke negara-negara penghasil beras penting lainnya, termasuk Cina, Korea Selatan, Filipina, India, Indonesia, dan Bangladesh. Penyakit ini telah menyebabkan kerugian yang signifikan di Cina sebelum tahun 1983, dimana di sebagian besar daerah penghasil beras utama di Cina yaitu di Provinsi Zhejiang, Shanghai, Jiangsu, Hubei, dan Fujian menjadi ancaman besar terhadap produksi beras (Zhang *et al.*, 2020).

2.2.4 Perkembangan Penyakit

Bakteri penyebab penyakit busuk pangkal batang dapat disebarkan oleh air dan angin yang terjadi selama hujan, juga dapat terbawa oleh ternak peliharaan, siput/keong, manusia, alat pertanian bekas dipakai pada tanaman sakit. Penyebab penyakit busuk batang menyerang atau menginfeksi bagian batang tanaman yang menyebabkan terjadinya busuk pada batang sehingga batang tanaman padi mudah roboh atau rebah walau tidak terkena hujan atau angin sebelumnya (Yuliani dan Sudir, 2017).

2.2.5 Pengendalian Penyakit

Pengendalian penyakit busuk pangkal batang dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu kultur teknis dan kimiawi. Secara teknis pengendalian dapat dilakukan dengan pengelolaan air secara berulang jangan terlalu digenangi dan dilakukan pengeringan lahan, kemudian jerami dan tunggul padi yang terkena penyakit busuk batang dibakar dengan tujuan agar penyakit tidak menyebar lagi ke tanaman baru di musim tanam berikutnya (BPTP Sumsel, 2020).

Berdasarkan penelitian Yuliani dan Sudir (2017), varietas Sintanur lebih tahan terhadap gejala penyakit *yellowing* dan aplikasi pestisida nabati masing-masing berpengaruh nyata pada keparahan penyakit busuk batang pada umur padi 5 dan 7 MST pada musim hujan 2015/2016.

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan dan Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan pada Desember 2019 sampai dengan Juli 2020.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu isolat bakteri penyebab busuk pangkal batang padi (koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung), alkohol 70%, akuades, minyak parafin, NaCl, HCl, KOH 3%, *Ethidium Bromide* (EtBr), My taqTM red remix, DNA primer *RecA* (RS1 dan RSS 2), *DNA leader*, *loading dye*, TE, *Bromthymol Blue* (BTB) 2%, SDS 10%, prokinase K, CTAB 2%, P:C:I, *Agarose*, air steril, kuning telur, umbi kentang, tomat, terong, sawi putih, sawi hijau, pakcoy, selada, timun, kubis, labu siam, buncis, bawang bombay, wortel dan cabai. Pada penelitian ini juga digunakan beberapa media buatan untuk pengujian yaitu media King's B, media oksidatif/fermentatif (O/F), *Yeast Peptone Agar* (YPA), *Skim Milk Agar* (SMA), *Lecthinase* dan media *Moeller*. Selain itu, digunakan beberapa bahan organik dalam penelitian

ini seperti *Myo-inositol*, *M-tartrate*, *D - raffinose*, *D - arabinose*, *D-melibiose*, *inulin*, *L-tartrate*, *D-tatrate*, *Mannitol*, *Glycerol*, *Strach*, *5-Ketogluconate*, *Lactose*, *L-ascorbic acid* dan *Citrate*.

Alat yang digunakan antara lain *Laminar Air Flow* (LAF), *rotamixer*, timbangan elektrik, jarum ose, autoklaf, jarum ent, *water bath*, pinset, plastik tahan panas, tabung reaksi, erlenmeyer, bunsen, gelas ukur, nampan, spidol, pisau, penggaris, *wrapping*, tissue, *aluminium foil*, karet gelang, korek api, kapas, cawan petri dan alat tulis. Alat yang digunakan untuk identifikasi molekuler yaitu cetakan gel *agarose* dengan ukuran 20 x 16 x 1 cm³, *freezer*, pipetmikro 0–1000 µl, tip pipet 0–1000 µl, tabung *ependorf* 100 µl dan 1,5 mL, *micro centrifuge*, mesin PCR, alat elektroforesis dan *Digi-doc- Imaging System*.

3.3 Metode Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan dua isolat bakteri penyebab busuk pangkal batang pada tanaman padi. Kedua isolat tersebut merupakan koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Isolat yang digunakan pada penelitian ini adalah penyebab penyakit busuk pangkal batang padi dengan nama isolat Rice 3.1.1 dan Rice 3.3.2. Isolat ini ditemukan di Talang Padang dan diisolasi pada tahun 2015.

3.3.1 Uji Patogenisitas pada Tanaman Padi

Pengujian patogenisitas pada tanaman padi dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa bakteri berhasil diisolasi benar merupakan bakteri penyebab busuk pangkal batang padi. Pengujian dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat murni bakteri tersebut pada tanaman inang yang sehat. Sebanyak 1 ose biakan bakteri berumur 24 jam diambil dari media PPGA. Isolat bakteri tersebut kemudian disuspensikan dengan 1 mL air steril di dalam tabung eppendorf 1.5 mL. inokulasi dilakukan dengan cara menyuntikkan suspensi bakteri pada bagian pangkal batang padi yang sehat. Tanaman padi yang digunakan yaitu tanaman padi varietas Ciherang berumur 2–3 minggu. Pengamatan dilakukan selama 21 hari, yang dilakukan dengan mengamati gejala yang muncul. Hasil uji patogenisitas dinyatakan positif apabila disekitar area bekas tusukan ditemukan gejala yang sama seperti tanaman padi yang terinfeksi.

3.3.2 Identifikasi Isolat Bakteri

Identifikasi isolat bakteri yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji biokimia dan identifikasi molekuler. Pada uji biokimia terdapat 12 uji yang dilakukan, yaitu uji *soft rot*, uji gram, uji oksidatif/fermentatif (O/F), uji *Lechitinase*, uji reaksi hipersensitif, uji fluoresensi pada media King's B, uji Arginin Dihydrolase (Moeller Media), uji casein, uji kemampuan tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C serta uji menggunakan beberapa jenis bahan organik. Pada identifikasi molekuler dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi menggunakan mesin PCR, elektroforesis dan visualisasi hasil PCR dan

sekuensing DNA dan analisis hasilnya (Suharjo, 2013). Biakkan bakteri yang digunakan pada seluruh uji dalam penelitian ini adalah biakan bakteri yang berumur 24 jam pada media PPGA.

3.3.2.1 Uji Biokimia

3.3.2.1.1 Uji *Soft rot*

Uji *soft rot* merupakan salah satu pengujian yang bertujuan untuk mengetahui bakteri yang diuji merupakan bakteri penyebab busuk lunak atau bukan. Umbi kentang yang digunakan dalam pengujian ini, dipotong setebal 1 cm dan direndam pada air mengalir selama 35 menit untuk menghilangkan kotoran dan residu yang menempel. Potongan umbi kentang diletakan dalam cawan petri yang telah dilapisi dengan tisu yang dilembapkan menggunakan akuades. Selanjutnya, diambil sebanyak satu ose bakteri dan digoreskan pada bagian tengah permukaan umbi kentang. Setelah itu, umbi kentang yang telah digores dengan bakteri, diinkubasi selama 24–48 jam. Jika reaksi positif, maka akan muncul tanda pembusukan dan lendir pada bagian tengah umbi kentang (Lelliot and Stead, 1987; Ferfinia, 2010).

3.3.2.1.2 Uji Gram

Uji gram dengan menggunakan larutan KOH 3% bertujuan untuk mengetahui bakteri yang diuji termasuk dalam bakteri gram positif atau gram negatif. Dalam pengujian ini kaca preparat dibersihkan dengan alkohol 70% dan dikeringanginkan di atas Bunsen. Larutan KOH 3% kemudian diteteskan pada bagian atas kaca preparat sebanyak 1–2 tetes dan diambil satu ose biakan bakteri berumur 24 jam dicampurkan dengan larutan KOH 3% secara merata

menggunakan jarum ose. Setelah rata, jarum ose diangkat perlahan-lahan setinggi ± 1 cm. Apabila bakteri tersebut lengket atau terangkat dan membentuk lendir bening maka bakteri tersebut termasuk dalam gram negatif, sedangkan jika bakteri tersebut tidak lengket maka termasuk gram positif (Lelliot and Stead, 1987; Masnilah *et al.*, 2013).

3.3.2.1.3 Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F)

Uji Oksidatif/fermentatif (O/F) merupakan salah satu bertujuan untuk mengetahui bakteri yang diuji termasuk dalam kelompok bakteri yang bersifat oksidatif atau fermentatif. Pada pengujian ini, disiapkan 2 tabung reaksi untuk setiap isolat bakteri yang akan diuji. Setiap tabung reaksi diisi dengan menggunakan media O/F masing-masing sebanyak 5 mL. Biakan bakteri yang telah berumur 24 jam diambil dengan menggunakan jarum ent dan ditusukkan pada media O/F sampai ke dasar tabung, lalu salah satu tabung ditutup dengan minyak parafin dan tabung lainnya tidak ditutup dengan minyak parafin. Selanjutnya, masing-masing tabung diinkubasi pada suhu 28 °C selama 7–14 hari dan diamati dengan melihat perubahan warna pada tabung yang ditutupi parafin maupun yang tidak ditutupi parafin. Apabila terjadi perubahan warna dari hijau menjadi kuning hanya pada media uji tanpa minyak parafin berarti bakteri tersebut bersifat oksidatif, sedangkan apabila terjadi perubahan warna hijau menjadi kuning pada media yang ditutup dengan minyak parafin maupun yang tanpa minyak parafin berarti bakteri tersebut bersifat fermentatif (Lelliot and Stead, 1987; Masnilah *et al.*, 2013).

3.3.2.1.4 Uji *Lechitinase*

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

3.3.2.1.5 Uji Reaksi Hipersensitif

Uji reaksi hipersensitif merupakan salah satu pengujian untuk mengetahui sifat patogenik bakteri yang diuji. Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat biakan murni bakteri dan disuspensikan dengan air steril 0,5 mL dalam tabung eppendorf 1,5 mL serta dihomogenkan menggunakan rotamixer. Suspensi tersebut disuntikkan sebanyak 0,5 mL pada bagian bawah daun tanaman tembakau yang berumur sedang dengan menggunakan jarum suntik dan diberi label, kemudian diinkubasi selama 24–48 jam untuk diamati (Klement, 1990; Masnilah *et al.*, 2013). Selain itu, air steril juga disuntikkan pada daun tembakau sebagai kontrol. Reaksi dari uji hipersensitif dinyatakan positif jika terbentuk gejala nekrotik pada jaringan daun, sedangkan jika jaringan daun tidak mengalami perubahan berarti hasil ujinya negatif (Habazar dan Rivai, 2004).

3.3.2.1.6 Uji Floresensi pada Media King's B

Uji fluoresensi pada media King's B bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk mengeluarkan fluoresen. Pengujian ini dilakukan dengan menggosokkan 1 ose biakan bakteri secara zig-zag pada media King'B, kemudian diinkubasi pada suhu 28 °C. Selanjutnya, dilakukan pengamatan selama 24–72 jam setelah inokulasi. Pengamatan bakteri dilakukan pada ruang gelap menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm. Reaksi dinyatakan positif apabila terjadi fluoresensi (muncul cahaya yang berpendar) pada biakan bakteri (Schaad *et al.*, 2001).

3.3.2.1.7 Uji Casein

Uji casein dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri dapat menghidrolisis protein. Media yang digunakan yaitu *Skim Milk Agar*. Bahan yang digunakan yaitu 10 g bubuk *Skim Milk Agar* dan 100 mL akuades. Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ose bakteri yang berumur 24 jam pada media PPGA dan digosokkan dalam media *Skim Milk Agar*, kemudian diinkubasi selama 24–48 hari dalam suhu 28 °C. Reaksi positif ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri tersebut (Fardiaz, 1992).

3.3.2.1.8 Uji Arginin dihidrolase (Moeller Media)

Uji arginin dihidrolase merupakan suatu cara yang digunakan untuk mendeteksi pertumbuhan bakteri pada kondisi anaerob dalam media yang mengandung bahan kimia arginin. Media yang digunakan pada uji ini, yaitu media Moeller 21 g (pH 6,8) yang dilarutkan menggunakan akuades 1000 mL dalam erlenmeyer dan

dipanaskan. Media yang sudah dipanaskan, kemudian dituangkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL dan disterilkan menggunakan autoklaf selama 10 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah itu, biakan bakteri diambil menggunakan jarum ent dan diinokulasikan dalam media moeller dengan cara ditusukkan pada media hingga mencapai dasar tabung serta ditutup dengan minyak parafin steril. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 28 °C dan diamati selama 7–14 hari, bila reaksi positif akan ditandai dengan perubahan warna pada media menjadi warna ungu dan jika reaksi negatif media akan berubah warna menjadi kuning (Suharjo, 2013).

3.3.2.1.9 Uji Kemampuan Tumbuh pada Beberapa Suhu

Uji kemampuan tumbuh pada beberapa suhu, dilakukan dengan menggunakan media YP pada suhu 39 °C, dan 40 °C. Langkah dalam pengujian ini yaitu, dibuat suspensi bakteri dengan cara mengambil 1 ose biakan bakteri dan dicampurkan dengan air steril 0,5 mL dalam tabung eppendorf 1,5 mL dan kemudian dihomogenkan menggunakan rotamixer. Setelah itu, suspensi bakteri diambil menggunakan jarum ose dan diinokulasikan pada media YP. Kemudian, bakteri dalam media YP diinkubasi dalam *water bath* pada beberapa suhu yang telah ditentukan dan dilakukan secara bergantian. Pengamatan dalam pengujian ini dilakukan selama 7 hari, apabila reaksi positif maka bakteri akan tumbuh dan ditandai dengan adanya perubahan warna pada media uji menjadi warna putih keruh (Oktaviana, 2018).

3.3.2.1.10 Uji Kemampuan untuk Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik

Pengujian bakteri pada beberapa jenis bahan organik bertujuan untuk mengetahui kemampuan tumbuh bakteri pada bahan organik tertentu. Media yang digunakan dalam uji ini yaitu media Ayer's dengan komposisi $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1 g, KCl 0,2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g, *Bromthymol Blue* (BTB) 2 % dan akuades sebanyak 1000 ml. Bakteri akan diuji dengan beberapa jenis bahan organik yang berbeda, seperti *Myo-inositol*, *M-tartrate*, *D-raffinose*, *D-arabinose*, *D-melibiose*, *Inulin*, *L-tartrate*, *D-tartrate*, *Mannitol*, *Glycerol*, *Strach*, *5-Ketogluconate*, *Lactose*, *L-ascorbic acid* dan *Citrate*. Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat bakteri yang disuspensikan dengan 0,5 mL air steril dalam tabung eppendorf 1,5 mL dan dihomogenkan menggunakan rotamixer. Selanjutnya, suspensi tersebut diambil dengan menggunakan jarum ent dan diinokulasikan pada media Ayer's dengan cara ditusukkan pada media hingga mencapai dasar tabung. Setelah itu, diinkubasikan pada suhu 28 °C selama 21 hari dan diamati dengan melihat perubahan warna media. Jika terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi kuning atau biru menyesuaikan bahan organik yang digunakan, artinya bakteri yang diujikan mampu menggunakan bahan organik tersebut (Suharjo, 2013).

3.3.2.2 Identifikasi Molekuler

Dua isolat pada penelitian ini digunakan sebagai representasi isolat yang akan diidentifikasi lebih lanjut secara molekuler. Identifikasi molekuler dari isolat yang digunakan terdiri dari beberapa tahap yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA

dengan PCR, elektroforesis dan visualisasi hasil PCR serta sekuensing dan analisis hasil PCR.

3.3.2.2.1 Ekstraksi DNA

Ekstraksi bakteri dilakukan dengan cara manual, yaitu dengan mengambil satu ose bakteri dan dimasukkan ke dalam tabung berkapasitas 1,5 mL kemudian ditambah dengan 20 µl TE menggunakan mikropipet. Campuran tersebut selanjutnya dihomogenkan, ditambah dengan 10 mL SDS 10% + 3 mL prokinase K dan dihomogenkan lagi. Tabung tersebut kemudian di inkubasikan dalam *water bath* dengan suhu 37 °C selama 60 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan 100 µl NaCl lalu, dihomogenkan secara manual dan ditambah 80 µl CTAB 2% dan diinkubasi kembali dalam *water bath* dengan suhu 65 °C selama 10–15 menit sambil dihomogenkan setiap 10 menit. Selanjutnya, tabung diambil dari *water bath* dan ditambah 720 µl CI ke dalam tabung, dikocok dengan tangan lalu dimasukkan ke dalam sentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Setelah itu, supernatan (cairan bening bagian atas) diambil dan dimasukkan ke dalam tabung baru berukuran 1,5 mL kemudian ditambah PCI sesuai dengan volume supernatan yang dimasukkan, lalu dihomogenkan dan disentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Setelah disentrifuse, cairan supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam tabung baru ukuran 1,5 mL, kemudian ditambahkan isopropanol 60% sesuai dengan volume supernatan yang didapat. Tabung yang berisi larutan tersebut dikocok/digoyang sampai homogen, kemudian diinkubasi selama 20 menit di dalam *freezer*. Selanjutnya hasil inkubasi tersebut disentrifuse dengan kecepatan 14.000 rpm selama 5 menit,

kemudian ditambah alkohol 70% dingin sebanyak 400 μ l, disentrifuse kembali dengan kecepatan dan waktu yang sama. Setelah disentrifuse, maka akan terlihat endapan (pelet) di bagian dasar tabung. Supernatan pada larutan tersebut dibuang hingga menyisakan pelet di bagian dasar tabung, lalu pelet tersebut diinkubasi pada suhu ruang. Setelah kering, pada tabung yang berisi pelet ditambahkan 20 μ l TE.

3.3.2.2 Amplifikasi DNA dengan PCR

Proses amplifikasi DNA dilakukan dengan mencampurkan 12,5 μ l *Master mix (Red mix)* ke dalam tube 100 μ l, lalu ditambahkan DNA primer *recA* yaitu RS1 (TTCATRCGRATCTGGTTGAT) dan RS2 (ATCGCTCAATGGATGTTGAAA) (Suharjo *et al.*, 2014) masing-masing sebanyak 1 μ l, hasil ekstraksi DNA bakteri sebanyak 1 μ l dan akuades steril 9,5 μ l. Larutan tersebut kemudian diamplifikasi menggunakan mesin SensoQuest (Jerman). Proses PCR terdiri dari 5 tahapan, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing dengan suhu 56–58 °C, ekstensi dan elongasi. Tahap inisiasi dilakukan dengan suhu 95 °C selama 5 menit, dilanjutkan dengan tahap denaturasi dilakukan dengan suhu 94 °C selama 1 menit, tahap annealing dilakukan dengan suhu 56–58 °C selama 1 menit, kemudian tahap ekstensi dengan suhu 72 °C selama 1 menit dan tahap elongasi dengan suhu 72 °C selama 5 menit. Semua tahapan dilakukan dengan 1 siklus, kecuali tahap annealing dilakukan dengan 30 siklus.

3.3.2.2.3 Elektroforesis dan Visualisasi Hasil PCR

Langkah pertama yang dilakukan dalam proses elektroforesis yaitu membuat gel agarose. Sebanyak 0,1 g bubuk gel agarose 0,5% dilarutkan dengan 10 mL TBE dalam Erlenmeyer ukuran 100 mL, kemudian campuran tersebut dipanaskan dan ditunggu hingga mencapai suhu ruang. Setelah itu, ditambahkan 1 μ l *Ethidium Bromide* (EtBr 10 mg/ml), dikocok perlahan untuk menghomogenkan, lalu dituang pada cetakan dengan sisir agar terbentuk sumur – sumur. Gel agarose padat kemudian dimasukkan dalam alat elektroforesis yang berisi larutan TBE. Pada sumur pertama, dimasukkan 3 μ l *DNA ladder* dan sumur selanjutnya dimasukkan 3 μ l ekstraksi DNA yang telah dicampur dengan 1 μ l *loading dye* sebagai pemberat. Selanjutnya dilakukan proses elektroforesis dengan tegangan 50 volt selama 60–70 menit, tunggu hingga DNA bergerak sampai di tengah-tengah baris ke 3 dan 4 dari ujung lawan. Setelah proses elektroforesis selesai, hasilnya divisualisasikan dengan *Digi – Doc – Imaging System*. Keberadaan profil DNA akan terlihat berupa pita terang.

3.3.2.2.4 Sekuensing dan Analisis Hasil PCR

Hasil PCR dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk dilakukan sekuensing. Analisis hasil sekuensing dan pembuatan pohon filogeni dilakukan menggunakan program MEGA 6 (Kumar *et al.*, 2016). Pohon filogeni dibuat menggunakan *Neighbor-Joining Method (Jukes and Cantor Model)*.

3.3.3 Uji Kisaran Inang

Pada penelitian ini, uji kisaran inang dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri penyebab busuk pangkal batang padi dapat menyebabkan infeksi pada beberapa jenis tanaman lainnya. Pengujian ini dilakukan dengan menyiapkan beberapa jenis tanaman yang banyak ditanam dan mudah ditemukan di Lampung, seperti umbi kentang, tomat, terong, sawi putih, sawi hijau, pakcoy, selada, timun, kubis, labu siam, buncis, bawang bombay, wortel dan cabai yang telah dibersihkan dan diletakkan dalam nampan. Setelah itu, dibuat suspensi bakteri dengan mengambil 1 ose biakan bakteri dan ditambahkan air steril sebanyak 0,5 mL ke dalam tabung eppendorf 1,5 mL. Isolat bakteri yang diuji mula-mula dibuat suspensi, selanjutnya di homogenkan dengan rotamixer. Setelah homogen, suspensi tersebut diambil dan ditusukkan pada bagian tanaman yang diuji dengan menggunakan jarum suntik. Semua bahan tanaman yang diuji disimpan dalam nampan dan ditutup dengan plastik *wrap* untuk menjaga kelembapan. Jika tanaman yang diinokulasi dengan bakteri tersebut menunjukkan perubahan warna atau menampakkan gejala busuk basah, maka dikatakan bahwa isolat bakteri yang diuji dapat menginfeksi tanaman tersebut.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri penyebab busuk pangkal batang padi merupakan bakteri Gram Negatif, bersifat fermentatif, *lechinase* positif, *soft rot* positif, tidak berpendar pada media King's B, Arginin dihydrolase positif, casein positif. Selain itu, kedua isolat bakteri mampu tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C, serta mampu menggunakan, *M-tartrate*, *L-tartrate*, *L-ascorbic acid*, *Citrate* sebagai sumber karbonnya.
2. Hasil identifikasi molekuler menunjukkan bahwa bakteri penyebab penyakit busuk pangkal batang padi di Talang Padang Provinsi Lampung merupakan *Pectobacterium aroidearum*.
3. Selain tanaman padi, *Pectobacterium aroidearum* juga dapat menginfeksi padi, terong, sawi putih, caisim, pakcoy, labu siam, tomat, dan wortel.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, disarankan perlunya dilakukan uji kisaran inang lebih lanjut terhadap bakteri *Pectobacterium aroidearum* dan perlu

dilakukan pengujian terkait ketahanan beberapa varietas tanaman padi terhadap serangan *Pectobacterium aroidearum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aeny, T. N., Suharjo, R., Ginting, C., Hapsoro, D. and Niswati, A. 2020. Characterization and host range assessment of *Dickeya zea* associated with pineapple soft rot disease in East Lampung, Indonesia. *Biodiversitas*. 21(2): 5875–95.
- Akramipour, N. M., Abdollahi, S., Mohsen, Taghavi, R. and Rezai. 2017. Genetic diversity of soft rot strains of *Pectobacterium*, isolated from different hosts, using ISSR marker. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 50(15): 789–801.
- BPTP Sumatra Selatan. 2020. *Mengenal Busuk Batang pada Tanaman Padi*. <http://sumsel.litbang.pertanian.go.id/web/berita-mengenal-busuk-batang-pada-tanaman-padi-stem-rot.html>. Kementerian Pertanian. Jakarta. Diakses pada tanggal 15 Januari 2020.
- Chong, M.L., Sabaratnam, Vikyneswary, S., Yoshihito, H., and Moh, A. 2009. Biohydrogen production from biomass and industrial wastes by dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*. 34(8): 3277–3287.
- Cerkauskas R.F., Stobbs L.W., Lowery D.T., van Driel, L., Liu W., and van Schagen, J. 1998. Diseases, pests, and abiotic problems associated with oriental cruciferous vegetables in Southern Ontario in 1993 – 1994. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 20: 87–94.
- Desnidasari. 2015. Karakterisasi dan Uji Kisaran Inang Bakteri Penyebab Penyakit Busuk Lunak pada Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L. Merr.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 38 hlm.
- Esselman, M.T. and Liu, P. V. 1961. Lechitinase production by gram negative Bacteria. *Journal of Bacteriology*. 81(6): 939–945.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta Pusat. 308 hlm.
- Ferfinia, A. 2010. Eksplorasi Bakteri dan Cendawan Rizosfer yang Berasosiasi dengan Penyakit Busuk Basah pada Batang Pepaya (*Carica papaya* L.) di

Pasir Kuda, Desa Ciomas, Bogor. *Skripsi*. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 40 hlm.

Gardan, L., Gouy, C., Christen, R. and Samson, R. 2003. Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavasculorum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 53: 381–391.

Goto, M. 1965. A comparative study of the sheath rot bacteria of rice. *Annals Phytopathology Society of Japan*. 30: 42–45.

Goto, M. 1979. Bacterial foot rot of rice caused by strain of *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology*. 69: 213–216

Gracia-Garza, J.A., Blom, T.J., Brown, W., Roberts, D.P., Schneider, K., Freisen, M. and Gombert, D. 2004. Increased incidence of *Erwinia* soft-rot on calla lilies in the presence of phosphorous. *European Journal of Plant Pathology*. 110: 293–298.

Habazar, T. dan Rivai, F. 2004. *Bakteri Patogen Tumbuhan*. Andalas University Press. Padang. 333 hlm.

Hauben, L., Moore ERB., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonck, L. and Swings, J. 1998. Phylogenetic position of phytopathogens within the Enterobacteriaceae. *Systematic and Applied Microbiology*. 21 : 384–397.

Integrated Taxonomic Information System. 2020. *Oryza sativa*, L. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=41976#null_ Diakses pada tanggal 12 Januari 2020.

Klement, Z., and Goodman, R.N. 1967. The role of the living bacterial cell and induction time in hypersensitive reaction of tobacco plants. *Phytopathology*. 57: 322–323.

Kucharek, T. and Bartz, J. 2000. Bacterial Soft Rots of Vegetables and Agronomic Crops. Plant Pathology Fact Sheet. [Cited: 4.12.2021]. Available from: <http://plantpath.ifas.ufl.edu/extension/fact-sheets/pdfs/pp0012.pdf>

Kumar, A., Hunjan, M.S., Kaur, H., Singh, P.P. and Kaur, R. 2016. Evaluation of management of bacterial stalk rot of maize (*Dickeya zea*) using bioagents and chemical agents. *Journal of Applied and Natural Science* 8(3): 1146–1151.

Lelliot, R. A. and Stead, D.E. 1987. *Methods for the Diagnosis of Bacterial Disease of Plants*. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 216 hlm.

- 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*. *Bacteriology*. 97(9): 115–1163.
- Maulidiya, L. 2015. Studi Karakteristik Pertumbuhan Empat Varietas Padi (*Oryza sativa* L.) pada Tiga Ketinggian Tempat Berbeda. *Skripsi*. Universitas Jember. Jember. 46 hlm.
- Masnilah, R., Abadi, A.L., Astono, T.H. dan Aini, L. Q. 2013. Karakterisasi bakteri penyebab penyakit hawar daun edamame di Jember. *Berkala Ilmiah Pertanian*. 1(1): 10–14.
- Moraes, A. J. G., Souza, E.B., Mariano, R.L.R., Silva, A.M.F., Lima, N.B., and Peixoto, A.R. 2017. First report of *Pectobacterium aroidearum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing soft rot of *Cucurbita pepo* in Brazil. *Plant Disease*. 101(2): 379–380.
- Moraes, A.J G., Baia, A.D.B., Souza, E.B., Peixoto, A.R., and Gama, M.A.S. 2020. First report of *Pectobacterium aroidearum* causing soft rot of pepper (*Capsicum annuum*) fruits in Brazil. *Plant Disease*. 104(11): 3054.
- Moretti, C., Fakhr, R., Cortese, C., De, V.P., Cerri, M. and Geagea, L.I. 2016. *Pectobacterium aroidearum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causal agents of potato soft rot in Lebanon. *European Journal of Plant Pathology*. 144(1): 205–211.
- Nabhan, S., De Boer, S.H., Maiss, E., and Wydra, K. (2013). *Pectobacterium aroidearum* sp. nov. a soft rot pathogen with preference for monocotyledonous plants. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 63: 2520–2525.
- Oktaviana, H.A. 2018. Identifikasi dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Mati Pucuk pada Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung. 59 hlm.
- Polakitan, A., Taulu, dan Polakitan, D. 2011. Kajian beberapa varietas unggul baru padi sawah di Kabupaten Minahasa. *Jurnal Seminar Nasional Serealia*. 130–133.
- Sahilah, A.M., Rozeita, L., Kalsum, M.S.U. and Son, R. 2008. Typing of *Erwinia chrysanthemi* isolated from jospine pineapple in Malaysia using antimicrobial susceptibility, plasmid profiles, ERIC-PCR and RFLP analysis. *International Food Research Journal*. 15: 1–8.
- Samson, R., Legendre, J.B., Christen, R., Fischer, M., 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 dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeeae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 55: 1415–1427.

- Saragih, B. 2001. Keynote address ministers of agriculture government of Indonesia. *2nd National Workshop on Strengthening the Development and Use of Hibrid Rice In Indonesia*. 1:10.
- Schaad, N.W., Jones, J.B. and Chun, W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Third Edition. APS Press. Amerika. 373 hlm.
- 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.
- Sun, M. M., Liu, H., Huang, J.B., Peng, J.B., Fei, F.H. and Zhang, Y. 2019. A loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Pectobacterium aroidearum* that causes soft rot in konjac. *International Journal of Molecular Sciences*. 20:1937.
- Tang, W. Q., Chang, C. Y., Lee, Y. J., and Chu, C. C. 2021. First report of *Pectobacterium aroidearum* causing bacterial soft rot of carrot in Taiwan. *Plant Disease*. 105(3): 695–695.
- Tsrer, L., Erlich, O., Lebiush, S., Hazanovsky, M., Zig, U., Slawiak, M., Grabe, M, van der Wolf, J.M. and van de Haar, J.J. 2009. Assessment of recent outbreaks of *Dickeya* sp. (syn *Erwinia chrysanthemi*) slow wilt in potato crops in Israel. *European Journal of Plant Pathology*. 123: 311–320.
- Wahyudi, T.A., Meliah, S. dan Nawangsih, A. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* bakteri penyebab penyakit hawar daun pada padi : isolasi, karakteristik, dan telaah mutagenesis dengan tranposon. *Makara Sains*. 15(1): 89–96.
- Wang, X., He, S.W., Guo, H.B., J. Han, J.G., Thin, K.K., Gao, J.S., Wang, Y., Zhang, X X. 2020. *Dickeya oryzae* sp. nov., isolates from the roots of rice. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 70(7): 4171–4178.

- Xie H., Li X.Y., Ma, Y.L., and Tian, Y. 2017. First report of *Pectobacterium aroidearum* causing soft rot of Chinese cabbage in China. *Plant Disease*. 102(3): 674.
- Yuliani, D. dan Sudir. 2017. Keragaman hama, penyakit, dan musuh alami pada budidaya padi organik. *Jurnal Agro*. 4 (1): 50–67.
- Zhang, J., Arif, M., Shen, H., Hu, J., Sun, D., Pu, X., Yang, Q and Lin, B. 2020. Genomic divergence between *Dickeya zea* strain ec2 isolated from rice and previously identified strains, suggests a different rice foot rot strain. *Plos One*. 15: 1–22.
- Zhou, J., Cheng, Y., Lv, M., Liao, L., Chen, Y., Gu, Y., Liu, S., Jiang, Z, Xiong, Z., and Zhang, L. 2015. The complete genome sequence of *Dickeya zea* EC1 reveals substantial divergence from other *Dickeya* strains and species. *BMC Genomics*. 16(1): 1–15.