

**KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI KISARAN INANG
PENYEBAB PENYAKIT BUSUK LUNAK BUAH MELON
(*Cucumis melo* L.)**

(Skripsi)

Oleh

Erika Widya Putri



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI KISARAN INANG PENYEBAB PENYAKIT BUSUK LUNAK BUAH MELON (*Cucumis melo* L.)

Oleh

ERIKA WIDYA PUTRI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan identitas penyebab penyakit busuk lunak pada buah melon serta kisaran inangnya. Penelitian dilaksanakan pada April 2022-September 2022 di Laboratorium Bioteknologi dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Isolat bakteri yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 4 isolat yang diduga sebagai penyebab busuk lunak pada buah melon. Karakterisasi dan identifikasi dilakukan berdasarkan hasil uji biokimia dan analisis menggunakan primer *recA*. Uji kisaran inang dilakukan pada beberapa jenis tanaman sayuran. Hasil uji biokimia memperlihatkan bahwa isolat bakteri merupakan kelompok *soft rot* positif, Gram negatif, bersifat fermentatif, *arginin dihidrolase* negatif, tidak berpendar pada media King's B, *lechitinase* negatif, casein positif, hipersensitif positif, mampu tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C serta mampu menggunakan *Lactose*, *Mannitol*, *Myo-innositol*, *D-raffinose*, dan *Glycerol* sebagai sumber karbonnya. Hasil identifikasi secara molekuler dengan primer *recA* menunjukkan bahwa isolat bakteri uji tergolong dalam dua kelompok yang berbeda yaitu *Pectobacterium aroidearum* dan *Pectobacterium carotovorum*. Hasil uji kisaran inang menunjukkan bahwa isolat bakteri dapat menginfeksi dan menyebabkan gejala busuk lunak pada tanaman sayuran gambas, buncis, daun bawang, bawang merah, bawang putih, bawang bombay, cabai, paprika, tomat, terung, kacang panjang, dan okra.

Kata kunci: Busuk lunak, identifikasi molekuler, *Pectobacterium*, *recA*, dan uji biokimia.

**KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI KISARAN INANG
PENYEBAB PENYAKIT BUSUK LUNAK BUAH MELON
(*Cucumis melo* L.)**

Oleh

ERIKA WIDYA PUTRI

Skripsi

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

pada

**Jurusan Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul skripsi : **KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI
KISARAN INANG PENYEBAB PENYAKIT
BUSUK LUNAK BUAH MELON (*Cucumis
melo L.*)**

Nama Mahasiswa : **Erika Widya Putri**

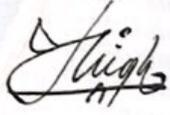
Nomor Pokok Mahasiswa : 1814121011

Jurusan : Agroteknologi

Fakultas : Pertanian




Radix Suharto, 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



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **27 Januari 2023**

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 Melon (*Cucumis melo 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, Februari 2023
Penulis,



Erika Widya Putri
NPM 1814121011

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 21 Januari 2000 dari pasangan Bapak Zulherdi dan Ibu Wijiasih. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2012, pendidikan Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPN 2 Bandar Lampung pada tahun 2015, dan pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2018. Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada tahun 2018 melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Penulis dalam masa perkuliahan telah melaksanakan kegiatan Praktik Pengenalan Pertanian atau *homestay* pada tahun 2020 di Desa Wonoharjo Kabupaten Tanggamus selama satu minggu. Penulis juga melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada tahun 2021 di Desa Natar Kabupaten Lampung Selatan selama 40 hari. Selanjutnya, penulis melaksanakan kegiatan Praktik Umum (PU) pada tahun 2022 di Sahabat Hidroponik Lampung selama 40 hari kerja. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam organisasi kemahasiswaan, yaitu menjadi anggota Bidang Hubungan Eksternal pada Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (Perma AGT) periode 2019/2020, anggota Bidang Kaderisasi pada Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (Perma AGT) tahun 2021, dan sebagai Sekretaris Eksekutif BEM FP Unila periode 2021/2022. Selain itu, penulis pernah menjadi Asisten Dosen pada praktikum mata kuliah Perencanaan Pertanian di Semester Genap pada tahun ajaran 2021/2022.

PERSEMBAHAN

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Karakterisasi, Identifikasi, dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Busuk Lunak Buah Melon (*Cucumis melo L.*)”**

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

1. Ayah dan Ibu tersayang, Zulherdi dan Wijiasih yang senantiasa memberikan doa, dukungan, dan semangat yang selalu diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan.
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 dan dukungan kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
3. Kakakku tersayang, Novia Herdya Putri, A. Md. yang selalu memberikan motivasi dan semangat kepada penulis selama proses menyelesaikan skripsi ini.

MOTTO

**“Tuhan telah menentukan cerita hidup bagi setiap manusia,
kita tinggal mengiringinya dengan usaha dan doa. Maka
jangan pernah merasa kurang dan iri dengan cerita hidup
orang lain”**

(Erika Widya Putri, 2023)

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan 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 Melon (*Cucumis melo L.*)”**. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, dan pengikutnya hingga akhir zaman. Penulisan skripsi ini merupakan 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., selaku Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan saran selama penulis menempuh pendidikan.
7. Keluarga tersayang, Ayah Zulherdi, Ibu Wijiasih, Uni Novia, Kakak Devi, Deli, dan keluarga besar lainnya yang telah memberikan limpahan doa, kasih sayang, dukungan, saran, dan motivasi selama penulis menempuh pendidikan.
8. Tim penelitian yang sudah lebih dulu meraih gelar sarjana yaitu Risa Fitria, S.P. dan Umar Bagus Prasajo, S.P. yang senantiasa berkenan mendengarkan keluh, kesah dan duka serta memberikan bantuan materi, memberikan dukungan, dan semangat kepada penulis.
9. Sahabat-sahabatku selama perkuliahan yaitu Violita Ratna Indriani, S.P., Indira Machfud, S.P., dan Indah Kesuma Putrie, S.P. yang telah memberikan dukungan, saran, dan hiburan saat susah maupun senang selama perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini.
10. Sahabat seperjuangan SMA “Wak Genks”, Rynda, Via, Afta, Ocha, Alifa, Berliana, Cia, dan Alifia atas bantuan, doa, semangat dan hiburan yang telah diberikan sejak SMA sampai penyelesaian skripsi ini.
11. Keluarga besar Jurusan Agroteknologi angkatan 2018, keluarga besar Perma AGT, dan adik-adik Jurusan Agroteknologi yang selalu memberikan bantuan dan dukungan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kesalahan dan jauh dari sempurna. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada pembaca dan terkhusus kepada penulis.

Bandar Lampung, Februari 2023
Penulis,

Erika Widya Putri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan.....	2
1.3 Kerangka Pemikiran	2
1.4 Hipotesis.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Melon.....	4
2.1.1 Taksonomi dan morfologi tanaman melon.....	5
2.1.2 Syarat tumbuh tanaman melon.....	6
2.1.3 Kendala dalam budidaya tanaman melon.....	6
2.2 Penyakit Busuk Lunak Melon	7
2.2.1 Gejala penyakit.....	7
2.2.2 Penyebab penyakit.....	7
2.2.3 Epidemiologi penyakit	8
2.2.4 Kisaran inang.....	8
2.2.5 Pengendalian penyakit.....	8
III. BAHAN DAN METODE	10
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.2 Bahan dan Alat	10
3.3 Metode Penelitian.....	11
3.3.1 Uji patogenesisitas	11
3.3.2 Karakterisasi dan identifikasi penyebab penyakit.....	12
3.3.3 Uji kisaran inang	19

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
4.1 Hasil Penelitian	20
4.1.1 Uji patogenesisitas	20
4.1.2 Karakterisasi dan identifikasi penyebab penyakit	21
4.1.3 Uji kisaran inang	28
4.2 Pembahasan.....	31
V. SIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Simpulan	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian	11
2. Kemampuan bakteri penyebab busuk lunak buah melon menggunakan 8 jenis bahan organik	26
3. Hasil uji kisaran inang busuk lunak buah melon	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Hasil uji patogenesis pada buah melon yang diinokulasi keempat isolat uji	21
2. Hasil uji <i>soft rot</i> dari isolat yang direisolasi pada uji patogenesis	21
3. Hasil uji <i>soft rot</i> pada keempat isolat uji.....	22
4. Hasil uji Gram menunjukkan adanya lendir tidak terputus saat jarum ose diangkat	22
5. Hasil uji O/F pada keempat isolate uji	23
6. Hasil uji <i>arginin dihidrolase</i> keempat isolat uji	23
7. Hasil uji fluoresensi pada keempat isolat uji dan hasil uji fluoresensi menghasilkan warna hijau berpendar	24
8. Hasil uji <i>lechitinase</i> pada keempat isolat uji	24
9. Hasil uji casein pada keempat isolat uji	25
10. Hasil uji hipersensitif pada keempat isolat uji	25
11. Hasil uji kemampuan tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C	26

12. Hasil uji kemampuan menggunakan beberapa jenis bahan organik	27
13. Dendrogram yang dibuat berdasarkan hasil analisis sekuens <i>recA</i>	27
14. Hasil uji kisaran inang menunjukkan gejala busuk lunak pada beberapa tanaman yang diinokulasi isolat bakteri uji	30

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Melon (*Cucumis melo* L.) merupakan komoditas hortikultura penting di dunia dan di Indonesia. Menurut Rukmana (1994), tanaman melon pertama kali dibudidayakan di Asia dan Afrika yaitu *Cucumis melo* var. *reticulatus*. Awal mula tanaman melon dikembangkan di Indonesia sekitar tahun 1980 di daerah Cisarua (Bogor) dan Kalianda (Lampung) oleh PT. Jaka Utama Lampung. Tanaman melon cocok dibudidayakan di Indonesia dan sudah menyebar ke beberapa daerah di Indonesia seperti Sukabumi, Ngawi, Madiun, Ponorogo, dan daerah-daerah lainnya (Ginting dkk., 2017). Melon menjadi salah satu komoditas yang memiliki prospek baik untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomi tinggi, waktu produksi relatif singkat, dan harganya stabil (Direktorat Tanaman Buah, 2006).

Buah melon digemari oleh masyarakat Indonesia karena memiliki rasa yang manis dan memiliki kandungan vitamin dan mineral yang bermanfaat bagi kesehatan. Menurut Christy (2020), buah melon mengandung karbohidrat, serat, vitamin C, kalsium, karotenoid, dan zat besi. Kesadaran masyarakat mengenai pola hidup sehat menyebabkan meningkatnya kebutuhan buah melon di setiap tahunnya (Sukmaningtyas dan Hartoyo, 2013). Menurut Badan Pusat Statistik (2017), produksi buah melon pada tahun 2016, 2017, 2018, 2019, dan 2020 berturut-turut yaitu 117.344 ton, 92.434 ton, 118.708 ton, 122.105 ton, dan 138.177 ton. Produksi tersebut hanya memenuhi kebutuhan nasional sekitar 40%. Menurut Lizmah dan Resti (2018), rendahnya angka produksi buah melon di Indonesia disebabkan oleh terjadinya penurunan luas panen, perubahan iklim, serta serangan

hama dan patogen tanaman. Tanaman melon rentan terserang penyakit karat batang, embun tepung, dan busuk buah (Triadiati dkk., 2019).

Penyakit busuk lunak merupakan salah satu penyakit yang ditemukan pada tanaman melon. Tanaman melon yang bergejala busuk lunak ditemukan di kebun melon di Kota Bandar Lampung. Penyakit busuk lunak dapat menimbulkan gejala yaitu daging buah membusuk sehingga tampak basah, berwarna kecoklatan, berlendir, dan berbau busuk (Czajkowski *et al.*, 2011). Bakteri busuk lunak yang diduga menginfeksi yaitu *Erwinia carotovora* (EI-Hendawy *et al.*, 1997). Akan tetapi, belum ada laporan yang membahas mengenai penyebab busuk lunak pada tanaman melon di Indonesia. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian terkait karakteristik, identitas, dan kisaran inang dari patogen busuk lunak buah melon di Indonesia agar dapat diketahui cara pengendaliannya.

1.2 Tujuan

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui karakteristik penyebab penyakit busuk lunak buah melon yang diambil dari kebun melon di Kota Bandar Lampung.
2. Mengetahui identitas penyebab penyakit busuk lunak buah melon yang diambil dari kebun melon di Kota Bandar Lampung.
3. Mengetahui kisaran inang penyebab penyakit busuk lunak buah melon.

1.3 Kerangka Pemikiran

Melon merupakan buah yang memiliki nilai komersial tinggi dan digemari oleh masyarakat Indonesia. Hasil produksi buah melon di Indonesia masih tergolong rendah. Salah satu faktor rendahnya produksi buah melon adanya patogen yang menyerang tanaman melon (Prasetyo dkk., 2018). Salah satu penyakit yang ditemukan pada tanaman melon adalah penyakit busuk lunak. Di Mesir ditemukan dua spesies bakteri yang menyebabkan busuk lunak pada tanaman melon yaitu *Erwinia chrysanthemi* dan *Erwinia carotovora* (EI-Hendawy *et al.*, 1997).

Genus *Erwinia* merupakan patogen penting tanaman yang termasuk dalam Famili *Enterobacteriaceae*. Spesies dari Genus *Erwinia* yang menyebabkan busuk lunak pada tanaman yaitu *Erwinia chrysanthemi* dan *Erwinia carotovora* (Mergaert *et al.*, 1984). Dua spesies penyebab busuk lunak dari Genus *Erwinia* dimasukkan ke dalam kelompok genus baru yaitu *Dickeya* spp. (awalnya *Erwinia chrysanthemi*) dan *Pectobacterium* spp. (awalnya *Erwinia carotovora*) (Czajkowski *et al.*, 2015). Penelitian terkait penyakit busuk lunak menyebutkan bahwa patogen tersebut disebabkan oleh kelompok *Dickeya* atau *Pectobacterium* (Ma *et al.*, 2007). Patogen kelompok *Dickeya* dan *Pectobacterium* mempunyai kisaran inang yang luas mencakup berbagai jenis tanaman budidaya (Suharjo, 2015).

Gejala busuk lunak ditemukan pada buah melon di kebun melon di Kota Bandar Lampung tahun 2021. Busuk lunak tersebut berada di dalam buah melon dan hanya terlihat ketika buah dibelah. Penyebab busuk lunak pada tanaman melon ini memungkinkan dapat menyerang tanaman selain melon. Hal tersebut dikarenakan kelompok bakteri penyebab busuk lunak memiliki kisaran inang yang luas. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk diketahui karakteristik dan identitas serta kisaran inang terkait penyebab penyakit busuk lunak pada buah melon.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Karakteristik penyebab penyakit busuk lunak buah melon disebabkan oleh bakteri yang berasal dari kelompok *Dickeya* atau *Pectobacterium*.
2. Identitas penyebab penyakit busuk lunak buah melon disebabkan oleh bakteri yang berasal dari kelompok *Dickeya* atau *Pectobacterium*.
3. Penyebab penyakit busuk lunak pada buah melon dapat menginfeksi tanaman selain melon.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Melon

Melon (*Cucumis melo* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura dari famili *Cucurbitaceae*. Melon termasuk dalam divisi *Spermatophyta* karena termasuk tumbuhan berbiji (Lizmah dan Resti, 2018). Buah melon sebagai tanaman semusim yang bersifat menjalar atau merambat. Menurut Prajnanta (1998), melon berasal dari daerah Mediterania yang merupakan perbatasan antara Asia Barat dengan Eropa dan Afrika. Persebaran melon meluas ke penjuru dunia terutama di daerah tropis dan subtropis, termasuk Indonesia.

Buah melon memiliki beberapa kelompok kultivar. Kultivar melon yang populer di Indonesia yaitu *C. melo* var. *reticulatus*, *C. melo* var. *inodorus*, dan *C. melo* var. *cantalupensis* (Suwarno dkk., 2016). Menurut Huda dkk. (2018), melon kelompok *reticulatus*, *inodorus*, dan *cantalupensis* memiliki karakteristik yang berbeda-beda. Melon kelompok *reticulatus* memiliki ciri-ciri yaitu kulit buah berjala, daging buah berwarna hijau atau oranye, dan beraroma wangi. Kelompok *inodorus* memiliki kulit buah tidak berjala, tekstur daging buah renyah, dan daya simpan buah relatif lama. Kelompok *cantalupensis* memiliki kulit buah sedikit berjala, daging buah berwarna oranye, dan tekstur daging buah lembut.

Tanaman melon banyak dibudidayakan di Indonesia karena minat masyarakat yang tinggi akan buah ini sehingga memiliki peluang agribisnis yang besar (Annisa dan Helfi, 2017). Buah melon banyak diminati masyarakat karena mengandung berbagai vitamin dan mineral yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Khasiat buah melon bagi tubuh yaitu dapat mencegah sariawan, penyakit mata,

radang saraf, serta menurunkan resiko stroke dan kanker (Khumaero dkk., 2014). Namun dalam peningkatan produksinya masih mengalami kendala, terutama adanya serangan patogen yang menyebabkan busuk lunak pada buah.

2.1.1 Taksonomi dan morfologi tanaman melon

Menurut Grumet *et al.* (2008), taksonomi tanaman melon sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Division	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledoneae
Sub class	: Sympetalae
Order	: Cucurbitales
Family	: Cucurbitaceae
Genus	: <i>Cucumis</i>
Spesies	: <i>Cucumis melo</i> L.

Morfologi tanaman melon memiliki akar tunggang yang terdiri atas akar primer dan akar sekunder. Rambut akar menjalar ke permukaan tanah dan sedikit akar yang masuk ke dalam tanah. Ujung akar yang menembus ke dalam tanah sedalam 45-90 cm. Pada batang tanaman melon terdapat trikoma yang tajam dan terdapat buku tempat melekatnya tangkai daun. Dari batang utama akan muncul cabang primer sebagai tempat munculnya bunga tanaman melon. Daun tanaman melon berwarna hijau, menjari bersudut lima, berlekuk, dan permukaan daun berbulu kasar (Daryono dan Sigit, 2018).

Tanaman melon memiliki bunga bersimetri radial, berumah satu, berwarna kuning, dan memiliki lima bagian bunga. Penyerbukan pada tanaman melon dibantu oleh lebah madu. Bentuk buah melon bervariasi antara lain bulat, bulat telur, dan lonjong. Kulit buah melon tersusun dari lapisan epidermis yang memiliki jaring, lapisan mesodermis dengan ketebalan 1 mm, dan lapisan endodermis yang berbatasan langsung dengan daging buah. Warna daging buah bervariasi yaitu putih, krem, jingga, dsb. Tekstur daging buah ada yang keras,

renyah, kenyal, empur, lembut, berserat atau masir. Biji melon umumnya berwarna coklat muda, panjangnya rata-rata 0,9 mm dan diameter 0,4 mm. Dalam satu buah melon biasanya terdapat 500-600 biji (Daryono dan Sigit, 2018).

2.1.2 Syarat tumbuh tanaman melon

Tanaman melon tumbuh baik pada tanah liat berpasir yang mengandung banyak bahan organik dengan pH tanah antara 5,8-7,8. Curah hujan optimum untuk pertumbuhan tanaman melon antara 1500-2500 mm/tahun. Hujan yang berkepanjangan dapat menggugurkan calon buah dan memicu munculnya patogen (Iqbal dkk., 2019). Intensitas cahaya matahari sangat diperlukan tanaman melon selama pertumbuhannya. Dalam pertumbuhannya, tanaman melon memerlukan suhu yang sejuk dan kering. Suhu optimum untuk pertumbuhan tanaman melon rata-rata 25-30 °C (Sobir dan Siregar, 2010).

Tanaman melon tumbuh optimal pada ketinggian 200-900 meter di atas permukaan laut. Ketinggian tempat ini mempengaruhi tekstur dan rasa manis pada buah melon. Pada ketinggian 0-100 meter di atas permukaan laut, tanaman melon masih dapat berproduksi dengan baik. Namun pada ketinggian 900 meter di atas permukaan laut, tanaman melon tidak dapat berproduksi dengan optimal. Kelembapan udara dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman melon. Angin yang bertiup kencang dapat merusak tanaman melon seperti dapat mematahkan tangkai daun, tangkai buah, dan batang tanaman melon (Daryono dkk., 2015).

2.1.3 Kendala dalam budidaya tanaman melon

Budidaya tanaman melon di Indonesia masih belum maksimal sehingga produksi buah melon masih mengalami fluktuasi. Hal tersebut disebabkan adanya faktor pembatas seperti iklim yang ekstrem, pemberian hara yang kurang terserap oleh tanaman, serta adanya serangan hama dan penyakit pada tanaman melon (Christy, 2020). Menurut Lizmah dan Resti (2018), hama penting yang menyerang tanaman melon yaitu lalat buah, ulat daun, *thrips*, dan ulat grayak. Kegiatan budidaya

tanaman melon diperlukan penanganan yang intensif karena tanaman melon rentan terserang penyakit. Penyakit tanaman melon diantaranya: karat batang, embun tepung, dan busuk buah (Triadiati dkk., 2019). Salah satu penyakit penting pada tanaman melon yaitu penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri dari genus *Dickeya* atau *Pectobacterium* (Ma *et al.*, 2007).

2.2 Penyakit Busuk Lunak Melon

2.2.1 Gejala penyakit

Penyakit busuk lunak disebabkan oleh bakteri patogen yang berasal dari genus *Pectobacterium* atau *Dickeya*. Bakteri tersebut masuk ke tanaman inang melalui lentisel, zona pemanjangan akar, atau melalui luka karena serangga. Setelah patogen menginfeksi tanaman maka akan menyebar dengan cepat ke seluruh bagian tanaman hingga dapat menyebabkan kematian tanaman yang diserang. Bakteri busuk lunak ini dapat merusak pada fase pembibitan hingga 80-100%. Bakteri yang berasal dari genus *Pectobacterium* bersifat anaerob fakultatif dan mempunyai aktivitas pektolitik sehingga menyebabkan busuk lunak pada tanaman. Gejala busuk lunak pada buah melon hanya terlihat ketika buah dibelah, daging buah yang terserang tampak basah, berlendir kecoklatan, dan berbau busuk (Joko dkk., 2011).

2.2.2 Penyebab penyakit

Patogen yang menyebabkan busuk lunak pada tanaman melon tergolong ke dalam bakteri *Erwinia carotovora* (El-Hendawy *et al.*, 1997). Bakteri patogen busuk lunak disebabkan oleh bakteri *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum*, dan *Dickeya* spp. (sebelumnya genus *Erwinia*). Kedua genus bakteri tersebut tergolong dalam famili *Enterobacteriaceae* yang memiliki karakter yaitu pektinolitik, bersifat gram-negatif, anaerob fakultatif, tidak berspora, dan berbentuk batang lurus dengan flagella lateral. Bakteri ini dapat menghasilkan enzim pengurai dinding sel. Bakteri *P. atrosepticum* dan *P. carotovorum*

utamanya menginfeksi tanaman di daerah beriklim sedang, sedangkan bakteri *Dickeya* spp. dapat menginfeksi tanaman pada daerah beriklim sedang, subtropis, dan tropis (Czajkowski *et al.*, 2011).

2.2.3 Epidemiologi penyakit

Daya tahan hidup bakteri busuk lunak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti suhu tanah, kelembaban, dan pH. Bakteri busuk lunak menginfeksi bagian buah sehingga daging buah tampak membusuk. Penyebaran bakteri dapat ditularkan ke tanaman lain melalui udara. Patogen busuk lunak juga dapat berinteraksi dengan patogen lain, seperti *Ralstonia solanacearum*, *Fusarium* spp., dan *Rhizoctonia solani*. Daya tahan pada tanaman inang yang melemah akan memudahkan penularan atau perkembangan patogen lain (Czajkowski *et al.*, 2011).

2.2.4 Kisaran inang

Bakteri penyebab penyakit busuk lunak pada tanaman ditemukan pada kelompok Genus *Erwinia*. Spesies penyebab busuk lunak pada genus *Erwinia* yaitu *Pectobacterium* spp. dan *Dickeya* spp. (saat ini berada pada tingkat genus) Kisaran inang *Dickeya* spp. dan *Pectobacterium* spp. cukup luas pada berbagai tanaman budidaya. Berdasarkan informasi yang sudah dilaporkan, *Dickeya* spp. dapat menyerang tanaman pangan (seperti jagung dan padi), tanaman buah-buahan (seperti pisang dan nanas), tanaman sayur-sayuran (seperti kentang, bawang daun, terong), dan tanaman hias (seperti krisan). *Pectobacterium* spp. juga menyerang berbagai jenis tanaman pangan, sayuran, buah dan tanaman hias seperti padi, melon, nanas, sawi putih, kentang, brokoli, kubis, dan wortel (Suharjo, 2015).

2.2.5 Pengendalian penyakit

Pengendalian penyakit busuk lunak dapat dilakukan dengan cara pendekatan. Metode pendekatan pengendalian penyakit yang digunakan yaitu pencegahan

kontaminasi dan menggunakan bibit bersertifikat yang resisten terhadap penyakit tertentu. Cara pendekatan tersebut sudah dipelajari dan diterapkan namun belum sepenuhnya berhasil. Penanganan pada penyimpanan buah telah ditingkatkan untuk menghindari terjadinya kebusukan pada buah (Czajkowski *et al.*, 2011). Pengendalian juga dapat dilakukan dengan memberikan senyawa elisitor pada tanaman karena dapat memicu pertahanan tanaman terhadap bakteri pektinolitik. Elisitor alami berasal dari bakteri biokontrol yang menghasilkan berbagai macam molekul antimikroba (Essarts *et al.*, 2016).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada April 2022-September 2022. Semua kegiatan penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan yaitu akuades, *agarose*, tisu, minyak parafin, umbi kentang, kuning telur, alkohol 70%, KOH 3%, 5% NaCl, *Bromothymol Blue* (BTB) 2%, *ethidium bromide* (EtBr), MyTaqTM Red Mix, DNA primer (RS1 dan RS2), *marker DNA ladder*, *loading dye*, dan buffer TE. Media yang digunakan untuk biakan bakteri yaitu *Yeast Peptone Agar* (YPA) dan *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA). Media yang digunakan untuk pengujian adalah King's B, *Skim Milk Agar* (SMA), Oksidatif/Fermentatif (O/F), dan *Yeast Peptone* (YP).

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

Alat lain yang digunakan yaitu nampan plastik, plastik tahan panas, spidol, penggaris, kertas label, pisau, aluminium foil, plastik wrap, karet gelang, korek api, kapas, dan tisu.

3.3 Metode Penelitian

Dalam penelitian ini isolat bakteri yang digunakan sebanyak empat isolat (Tabel 1). Isolat tersebut merupakan koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian Universitas Lampung. Isolat bakteri tersebut diuji untuk diketahui karakteristik dan identitas serta kisaran inang dari bakteri tersebut. Uji yang dilakukan yaitu uji patogenesitas, uji biokimia, identifikasi molekuler, dan uji kisaran inang.

Tabel 1. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian

No.	Kode Isolat	Bagian yang Diisolasi	Tahun Isolasi
1.	M2		
2.	M3	Buah	2021
3.	M6		
4.	M10		

3.3.1 Uji patogenesitas

Uji patogenesitas dilakukan untuk mengkonfirmasi bahwa bakteri uji yang digunakan benar merupakan bakteri penyebab busuk lunak buah melon. Uji patogenesitas dilakukan menggunakan suspensi bakteri keempat isolat uji yang diinokulasikan pada buah melon. Suspensi bakteri diambil dari bakteri berumur 24 jam sebanyak 2 ose bakteri, lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml yang berisi air steril sebanyak 1 ml. Kemudian suspensi bakteri tersebut dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Pengujian ini dilakukan dengan cara menyuntikkan 1 ml suspensi bakteri pada bagian pangkal buah melon dan diamati setiap hari selama 7 hari setelah inokulasi.

3.3.2 Karakterisasi dan identifikasi penyebab penyakit

Karakterisasi dan identifikasi penyebab penyakit busuk lunak dilakukan melalui beberapa pengujian yaitu sebagai berikut:

3.3.2.1 Uji biokimia

Uji biokimia dilakukan melalui beberapa pengujian antara lain:

a. Uji *soft rot*

Uji *soft rot* dilakukan untuk mengetahui bakteri penyebab busuk buah pada tanaman melon termasuk ke dalam bakteri penyebab busuk lunak atau tidak. Uji *soft rot* dilakukan dengan menyiapkan umbi kentang yang diiris setebal 1 cm, lalu irisan kentang dicuci dengan air mengalir selama 30 menit untuk membersihkan umbi kentang dari kemungkinan adanya residu bahan kimia. Setelah itu, diletakkan tisu yang dilembabkan dengan air steril ke dalam cawan petri kemudian irisan umbi kentang diletakkan di atas tisu tersebut. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam dan digoreskan pada bagian tengah permukaan umbi kentang. Diinkubasi umbi kentang selama 24-48 jam. Reaksi positif ditunjukkan dengan terjadinya pembusukan dan adanya lendir pada umbi kentang (Lelliot and Stead, 1987).

b. Uji Gram

Uji Gram bertujuan untuk mengetahui bakteri uji termasuk Gram negatif atau positif. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil satu ose isolat bakteri berumur 24 jam kemudian isolat bakteri diletakkan pada kaca preparat dengan ditetesi larutan KOH 3% lalu dicampurkan dengan jarum ose secara merata. Setelah itu, jarum ose disentuhkan pada campuran tersebut dan jarum ose diangkat perlahan hingga tinggi kurang lebih 1 cm. Apabila suspensi bakteri tersebut lengket dan berbentuk lendir seperti benang tidak terputus maka bakteri tersebut

termasuk Gram negatif. Namun, apabila suspensi tersebut tidak lengket dan tidak terbentuk lendir maka bakteri tersebut termasuk Gram positif (Oviana dkk., 2015).

c. Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F)

Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F) bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri memetabolisme karbohidrat dalam keadaan aerob (oksidatif) atau anaerob (fermentatif). Uji O/F dilakukan menggunakan media O/F (Basal Medium) yang dibuat dengan bahan-bahan yaitu bubuk Basal Medium sebanyak 98 g dan akuades sebanyak 1000 ml. Media O/F dituangkan sebanyak 5 ml ke dalam 2 tabung reaksi untuk setiap isolat dan dihomogenkan lalu media disterilisasi. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri berumur 24 jam menggunakan jarum preparat dan ditusukkan pada setiap media O/F sampai dasar tabung. Kemudian pada salah satu tabung pada tiap isolatnya ditutup dengan minyak parafin steril sebanyak 1 ml, sedangkan tabung lainnya tanpa ditutup minyak parafin. Bakteri diinkubasi pada suhu 28 °C selama 1-7 hari sambil diamati perubahan warna yang terjadi. Apabila terjadi perubahan warna pada tabung yang diberi minyak parafin maupun tanpa minyak parafin dari warna hijau ke kuning maka bakteri tersebut bersifat fermentatif, sedangkan apabila perubahan warna hijau menjadi kuning hanya pada tabung yang tidak ditutup minyak parafin maka bakteri tersebut bersifat oksidatif (Oviana dkk., 2015).

d. Uji *arginin dihidrolase* (media moeller)

Uji *arginin dihidrolase* dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk tumbuh dalam media yang mengandung bahan kimia arginin. Uji ini dilakukan menggunakan media moeller yang dibuat dengan bubuk moeller sebanyak 21 g dan akuades 1000 ml lalu dihomogenkan. Media moeller dituangkan sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi lalu media disterilisasi. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil bakteri berumur 24 jam menggunakan jarum preparat lalu ditusukkan pada media moeller sampai dasar tabung kemudian ditutup dengan minyak parafin steril. Bakteri diinkubasi pada suhu 28 °C selama 7-14 hari sambil

dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna. Apabila terjadi perubahan warna media dari warna merah kecoklatan menjadi warna ungu maka isolat bakteri menunjukkan reaksi positif, sedangkan apabila perubahan warna media menjadi warna kuning menunjukkan reaksi negatif (Suharjo, 2013).

e. Uji fluoresensi pada media King's B

Uji fluoresensi dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dapat berpendar atau tidak. Uji fluoresensi dilakukan menggunakan media King's B yang dibuat dengan bahan-bahan yaitu protease peptone sebanyak 20 g, K_2HPO_4 sebanyak 1,5 g, gliserol sebanyak 15 ml, agar sebanyak 15 g, dan akuades sebanyak 1000 ml. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam menggunakan jarum ose dan digoreskan secara *zig-zag* pada media King's B. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 28 °C dan dilakukan pengamatan selama 24-48 jam. Pengamatan dilakukan pada ruang gelap dengan disinari lampu *ultraviolet* (UV) dengan panjang gelombang 366 nm, apabila dihasilkan warna hijau berpendar maka reaksi dinyatakan positif yang berarti bahwa bakteri dapat mengkatalisis pigmen fluoresen (Herawati, 2016).

f. Uji *lechitinase*

Uji *lechitinase* dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim *lechitinase*. Uji ini dilakukan menggunakan media YPA dan *egg yolk* (kuning telur). Bahan yang digunakan untuk membuat media YPA adalah pepton 10 g, yeast 5 g, agar batang 20 g, dan akuades 1000 ml. Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan *egg yolk* (kuning telur) sebanyak 0,5 ml ke dalam cawan petri lalu ditambahkan media YPA sebanyak 10 ml kemudian dicampur secara merata. Setelah itu, diambil satu ose bakteri berumur 24 jam kemudian digoreskan pada media tersebut. Setelah itu bakteri diinkubasi pada suhu 28 °C dan diamati selama 1-7 hari. Reaksi positif ditandai dengan adanya zona putih buram pada goresan yang menyebar di sekitar koloni bakteri yang berarti bakteri tersebut menghasilkan enzim *lechitinase* (Handoko dkk., 2020).

g. Uji casein

Uji casein dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dapat menghidrolisis protein (proteolitik) dan memproduksi enzim protease. Uji casein dilakukan menggunakan media *Skim Milk Agar* (SMA) yang dibuat dengan bubuk *Skim Milk Agar* sebanyak 10 g dan akuades sebanyak 1000 ml lalu dihomogenkan. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam kemudian digoreskan pada media *Skim Milk Agar* (SMA) dan diinkubasi pada suhu 28 °C diamati selama 24-48 jam. Reaksi positif ditandai dengan adanya zona bening di sekitar goresan koloni bakteri (Fardiaz, 1992).

h. Uji hipersensitif

Uji hipersensitif dilakukan untuk mengetahui potensi patogenesitas dari bakteri. Uji hipersensitif diawali dengan membuat suspensi bakteri yaitu dengan mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml yang diberi air steril sebanyak 0,5 ml setelah itu dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Pengujian dilakukan dengan cara menusukkan suspensi bakteri ke dalam jaringan daun tembakau tepatnya diantara kedua epidermis secara perlahan sehingga suspensi masuk menyebar ke dalam jaringan hingga batas urat daun. Diinkubasi daun tembakau selama 24-48 jam sambil diamati. Reaksi positif ditandai dengan adanya gejala nekrotik pada bagian daun yang diinokulasi yang berarti bahwa bakteri bersifat patogenik. Reaksi negatif ditandai dengan tidak adanya gejala nekrotik yang menandakan bahwa bakteri tersebut tidak bersifat patogenik terhadap tanaman (Herawati, 2016).

i. Uji kemampuan tumbuh pada beberapa suhu

Uji kemampuan bakteri untuk tumbuh pada beberapa suhu dilakukan untuk mengetahui bakteri yang dapat tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C. Uji ini dilakukan pada media *Yeast Pepton* (YP) yang dibuat dengan bahan-bahan yaitu pepton sebanyak 10 g, *yeast* sebanyak 5 g, dan akuades 1000 ml. Uji kemampuan

tumbuh ini diawali dengan membuat suspensi bakteri yaitu dengan mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml yang diberi air steril sebanyak 0,5 ml setelah itu dihomogenkan menggunakan rotamixer. Pengujian dilakukan dengan cara menuangkan media YP sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi kemudian diambil satu ose suspensi bakteri dan diinokulasi pada media tersebut. Selanjutnya, bakteri tersebut diinkubasikan dalam *water bath* pada suhu 39 °C dan 40 °C dan dilakukan pengamatan selama 7 hari. Apabila terjadi perubahan warna media dari warna kuning bening menjadi kuning keruh maka reaksi positif yang menandakan bahwa bakteri mampu tumbuh pada suhu tersebut (Masnilah dkk., 2013).

j. Uji kemampuan menggunakan beberapa jenis bahan organik

Uji dengan beberapa jenis bahan organik dilakukan untuk mengetahui kemampuan tumbuh bakteri pada bahan organik tertentu. Uji ini dilakukan dengan menggunakan media Ayer's. Bahan yang digunakan untuk pembuatan media Ayer's adalah $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ sebanyak 1 g, KCl sebanyak 0,2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,2 g, *Bromthymol Blue* (BTB) 2%, dan akuades sebanyak 1000 ml. Bahan organik yang digunakan yaitu *Ascorbic Acid*, *D-raffinose*, *Glycerol*, *Innulin*, *Lactose*, *Mannitol*, *Myo-inositol*, dan *5-ketogluconate*. Uji ini diawali dengan membuat suspensi bakteri yaitu dengan mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml yang diberi air steril sebanyak 0,5 ml setelah itu dihomogenkan menggunakan rotamixer. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil suspensi bakteri menggunakan jarum preparat kemudian diinokulasi pada media Ayer's dengan ditusukan sampai dasar tabung lalu diinkubasi pada suhu 28 °C dan diamati perubahan warna media pada hari ke 2, 4, 7, 14 dan 21. Apabila terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi kuning atau biru menyesuaikan bahan organik yang digunakan maka reaksi positif, artinya bakteri mampu menggunakan bahan organik tersebut untuk tumbuh (Suharjo, 2013).

3.3.2.2 Identifikasi molekuler

Identifikasi secara molekuler dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR, elektroforesis dan visualisasi hasil PCR, serta sekuensing DNA dan analisis hasilnya (Suharjo, 2013). Isolat bakteri yang diidentifikasi lebih lanjut secara molekuler berjumlah empat.

a. Ekstraksi DNA

Ekstraksi bakteri dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam yang dimasukkan ke tabung *ependorf* 1,5 ml, kemudian ditambah 20 μ l TE menggunakan mikropipet. Setelah itu, ditambah 10 ml SDS 10% + 3 μ l Proteanase K dan dihomogenkan. Tabung *ependorf* yang berisi isolat bakteri tersebut diinkubasi di *water bath* pada suhu 37 °C selama satu jam. Setelah itu, ditambahkan 100 μ l NaCl lalu dihomogenkan dan ditambah 80 μ l CTAB 2%. Tabung *ependorf* yang berisi isolat bakteri tersebut diinkubasi kembali pada suhu 65 °C selama 10-15 menit di *water bath* (dihomogenkan setiap 10 menit). Setelah itu, ditambahkan 720 μ l *Chloroform Isoamyl Alcohol* (CI), dihomogenkan dan kemudian disentrifuse pada 14.000 rpm selama 5 menit. Hasil sentrifuse diambil supernatan dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 ml yang baru, lalu ditambah *Phenol Chloroform Isoamylalcohol* (PCI) dengan volume yang sama dengan supernatan, kemudian dihomogenkan dan disentrifuse pada 14.000 rpm selama 5 menit.

Supernatan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 ml yang baru, lalu ditambahkan isopropanol 60% dengan volume yang sama dengan supernatan, dihomogenkan dan diinkubasi di dalam freezer selama 20 menit. Selanjutnya, hasil inkubasi disentrifuse pada 14.000 rpm selama 5 menit. Supernatan dalam tabung *ependorf* dibuang dan ditambahkan alkohol 70% sebanyak 400 μ l, lalu disentrifuse kembali selama 5 menit pada 14.000 rpm. Kemudian alkohol dibuang dan pelet diinkubasi satu hari pada suhu ruang hingga kering. Selanjutnya, tabung *ependorf* berisi pelet ditambahkan 20 μ l TE. Template DNA dapat dilihat

keberadaannya dengan dilakukan elektroforesis dan divisualisasikan menggunakan *digi-doc-imaging system*.

b. Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR dilakukan dengan memasukkan *Master Mix (Red Mix)* sebanyak 12,5 μl ke dalam tabung *ependorf* 100 μl lalu 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 telah dibuat kemudian diamplifikasi menggunakan mesin PCR. PCR dilakukan dengan lima tahapan yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Tahap inisiasi dilakukan pada suhu 95 °C selama 5 menit hanya satu kali siklus, dilanjutkan dengan tahap denaturasi sebanyak 30 siklus pada suhu 95 °C selama 1 menit, kemudian tahap annealing pada suhu 58 °C selama 1 menit, lalu tahap ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit serta tahap terakhir yaitu elongasi pada suhu 72 °C selama 5 menit dalam 1 kali siklus (Joshi and Deshpande, 2010).

c. Elektroforesis dan visualisasi hasil PCR

Elektroforesis diawali dengan pembuatan gel agarose 0,5% ditambah 1 μl *ethidium bromide* (ETBr 10 mg/ml), kemudian dituangkan pada cetakan gel sisir. Kemudian gel agarose padat dimasukkan ke dalam alat elektroforesis berisi larutan TBE, untuk sumur pertama dalam agarose dimasukkan 3 μl Marker DNA *ladder*. Setelah itu, 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 kebawah berada pada baris 3 dan 4 dari ujung lawan. Hasil elektroforesis dilihat dengan *digi-doc-imaging system* lalu hasilnya disimpan dalam komputer. Keberadaan profil DNA antar lokus gen dapat terlihat berupa pita terang (Oktaviana, 2018).

d. Sekuensing dan analisis hasilnya

Hasil PCR yang didapatkan kemudian dikirimkan ke PT Genetika Science Jakarta untuk disekuensing. Hasil sekuensing yang diperoleh dianalisis menggunakan program MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016).

3.3.3 Uji kisaran inang

Uji kisaran inang dilakukan untuk mengetahui penyebab busuk lunak pada buah melon mampu menginfeksi tanaman lain. Uji kisaran inang dilakukan pada tanaman yang berasal dari 9 famili dengan 23 spesies. Tanaman yang digunakan merupakan tanaman sayuran antara lain bawang bombay, bawang merah, bawang putih, brokoli, buncis, cabai, daun bawang, gambas, kacang panjang, kubis, labu siam, lidah buaya, lobak, mentimun, okra, pakcoy, paprika, pare, sawi putih, seledri, terung, tomat, dan wortel. Tanaman-tanaman inang yang digunakan pada uji ini merupakan tanaman yang sudah populer, mudah didapatkan, dan sebagian besar sayur-sayuran merupakan inang bakteri genus *Pectobacterium* dan *Dickeya* (Suharjo, 2015).

Uji kisaran inang diawali dengan membuat suspensi bakteri yaitu dengan mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml yang diberi air steril sebanyak 0,5 ml setelah itu dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan suspensi bakteri ke dalam jarum suntik dan diinokulasi ke tanaman sayuran yang akan diuji. Apabila tanaman yang diinokulasi dengan isolat bakteri uji menunjukkan gejala busuk maka bakteri itu dapat menginfeksi tanaman tersebut.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri penyebab penyakit busuk lunak buah melon termasuk dalam kelompok *Pectobacterium* yang memiliki karakteristik yaitu *soft rot* positif, Gram negatif, bersifat fermentatif, *arginin dihidrolase* negatif, tidak berpendar pada media King's B, *lechitinase* negatif, casein positif, hipersensitif positif, mampu tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C serta mampu menggunakan *Lactose*, *Mannitol*, *Myo-inositol*, *D-raffinose*, dan *Glycerol* sebagai sumber karbonnya.
2. Penyakit busuk lunak pada buah melon termasuk spesies *Pectobacterium aroidearum* (kode isolat M2, M3, dan M10) dan *Pectobacterium carotovorum* (kode isolat M6).
3. Bakteri penyebab busuk lunak buah melon mampu menginfeksi dan menunjukkan adanya gejala pada tanaman sayuran seperti gambas, buncis, daun bawang, bawang merah, bawang putih, bawang bombay, cabai, paprika, tomat, terung, kacang panjang, dan okra. Sebaliknya pada tanaman sayuran seperti seledri, wortel, lidah buaya, sawi putih, kubis, pakcoy, brokoli, lobak, labusiam, timun, dan pare tidak menunjukkan adanya gejala.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang tingkat ketahanan beberapa varietas buah melon terhadap serangan bakteri penyebab busuk lunak serta dilakukan uji kisaran inang pada beberapa tanaman buah-buahan yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Annisa, P. dan Helfi, G. 2017. Respon pertumbuhan dan produksi tanaman melon terhadap pemberian pupuk organik cair. *Jurnal UMJ*. 104-114.
- Badan Pusat Statistik. 2017. Hortikultura Produksi Tanaman Buah Melon (Ton). <http://www.bps.go.id/site/pilihdata>, diakses pada 08 Juni 2017.
- Christy, J. 2020. Respon peningkatan produksi buah tanaman melon (*Cucumis melo* L.) secara hidroponik. *Jurnal Agrium*. 22(3): 150-156.
- Czajkowski, R., Pérombelon, M. C. M., Van Veen, J. A., dan Van der Wolf, J. M. 2011. Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review. *Plant Pathology*. 60(6): 999-1013.
- Czajkowski, R., Pérombelon, M. C. M., Jafra, S., Lojkowska, E., Potrykus, M., dan Wolf, J. M. Van Der. 2015. Detection, identification and differentiation of *Pectobacterium* and *Dickeya* species causing potato blackleg and tuber soft rot: a review. *Annals of Applied Biology I*. 166: 18-38.
- Daryono, B. S., Asep, R.I., dan Sigit, D.M. 2015. Aplikasi teknologi budidaya melon (*Cucumis melo* L.) kultivar gama melon basket di lahan karst pantai porok Kabupaten Gunungkidul D.I. Yogyakarta. Biogenesis. *Jurnal Ilmiah Biologi*. 3(1): 39-46.
- Daryono, B.S. dan Sigit, D.M. 2018. *Keanekaragaman dan Potensi Sumber Daya Genetik Melon*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Direktorat Tanaman Buah. 2006. Melon Buah Segar Berpotensi. <http://www.deptan.go.id>, diakses pada 25 Juni 2006.
- EI-Hendawy, H. H., Freer, J. H., Clarke, D. D., dan Saleh, Y. E. 1997. Pectate lyase isozymes and the pathogenicity of soft rotting strains of *Erwinia* for melon and cucumber. *Microbiological Research*. 152(4): 331-339.
- Essarts, Y. R., Cigna, J., Quêtu-Laurent, A., Caron, A., Munier, E., Beury-Cirou, A., Hélias, V., dan Faure, D. 2016. Biocontrol of the potato blackleg and soft rot diseases caused by *Dickeya dianthicola*. *Applied and Environmental*

Microbiology. 82(1): 268-278.

- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- 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(2): 381-391.
- Ginting, A. P., Asil, B., dan Rosita, S. 2017. Pertumbuhan dan produksi melon (*Cucumis melo* L.) terhadap pemberian pupuk NPK dan pemangkasan buah. *Jurnal Agroekoteknologi FP USU*. 5(4): 786-798.
- Grumet, R., Gene, L., dan Daniel, J. C. 2008. Melon Fruits: Genetic Diversity, Physiology, and Biotechnology Features. *Critical Reviews in Biotechnology*. 13-55.
- Hadas, R., Kritzman, G., Gefen, T., and Manulis, S. 2001. Detection, quantification and characterization of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* contaminating pepper seeds. *Plant Pathology*. 50(1): 117-123.
- Handoko, Y. A., Yulis, A.K., dan Yohanes, H.A. 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., Musa, Y., dan Jaya, A.M. 2020. Identifikasi plant growth promoting rhizobacteria pada rizosfer bambu duri dengan Gram KOH 3%. *Agrotechnology Research Journal*. 4(1): 41-46.
- Herawati, A. 2016. Isolasi dan karakterisasi penyebab penyakit hawar daun bakteri (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* L.) pada tanaman padi di wilayah Sulawesi Selatan. *Jurnal Pertanian Berkelanjutan*. 3(4): 1-14.
- Huda, A. N., Willy, B. S., dan Awang, M. 2018. Karakteristik buah melon (*Cucumis melo* L.) pada lima stadia kematangan. *Jurnal Agron*. 46(3): 298-305.
- Iqbal, M., Muhammad, F.B., dan Atra, R. 2019. Pertumbuhan dan hasil tanaman melon (*Cucumis melo* L.) pada komposisi media tanam dan frekuensi pemupukan yang berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. 21(2): 108-114.
- Joko, T., Nanda, K., dan Sedyo, H. 2011. Optimasi metode PCR untuk deteksi *Pectobacterium carotovorum*, penyebab penyakit busuk lunak anggrek. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 2(17): 54-59.

- Joshi, M. and J. D. Deshpande. 2010. Polymerase chain reaction: methods, principles and application. *International Journal of Biomedical Research*. 1(5): 81-97.
- Khumaero, W.W., Darda, E., Willy, B.S., dan Sobir. 2014. Evaluasi karakteristik hortikultura empat genotipe melon (*Cucumis melo* L.) pusat kajian hortikultura tropika IPB. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 5(1): 56-63.
- Kumar, A., Mandeep, S. H., Harleen, K., dan Rajwinder, K. 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. 224 hlm.
- Lizmah, S. F. dan Resti, Y. G. 2018. Keanekaragaman hama pada tanaman melon (*Cucumis melo* L.). *Agrotek Lestari*. 5(1): 1-7.
- Ma, B., Hibbing, M. E., Kim, H., Reedy, R. M., Yedidia, I., Breuer, J., Breuer, J., Glasner, J. D., Perna, N. T., Kelman, A., dan Charkowski, A. O. 2007. Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology*. 9(97): 146.
- Maghfiroh, E. L., Abdul, M., Abdjad, A. N., dan Alina, A. 2022. Karakterisasi bakteri penyebab busuk lunak pada umbi porang (*Amorphophallus muelleri*) menggunakan primer PCR spesifik. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 27(3): 463-472.
- Masnilah, R., Abdul, L.A., Tutung, H. A., dan Luqman, Q.A. 2013. Karakterisasi bakteri penyebab penyakit hawar daun Edamame di Jember. *Jurnal Berkala Ilmiah Pertanian*. 1(1): 10-14.
- Mergaert, J., Verdonck, L., dan Kersters, K. 1984. Numerical taxonomy of *Erwinia* species using API systems. *Journal of General Microbiology*. 130(8): 1893-1910.
- Muharni., Juswardi., dan Prihandayani, I. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri termofilik penghasil protease dari sumber air panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera Selatan. *Jurnal FMIPA Unila*. 1(1): 139-143.
- 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., Titik, N. A., dan Joko, P. 2015. Isolasi dan karakterisasi penyebab penyakit busuk buah pada tanaman nanas (*Ananas comosus* [L.] Merr.). *Jurnal Agrotek Tropika*. 3(2): 220-225.

- Prajnanta, F. 1998. *Melon Pemeliharaan Secara Intensif Kiat Sukses Beragribisnis*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Prasetyo, D., N. Hidayat, dan T. Afirianto. 2018. Sistem diagnosis penyakit tanaman melon menggunakan metode *Dempster-Shafer*. *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer*. 2(11): 4532-4538.
- Rukmana, R. 1994. *Budidaya Melon Hibrida*. Kanisius. Yogyakarta.
- Saraswati, R., Santosa, E., dan Yuniarti, E. 2006. *Organisme Perombak Bahan Organik, Pupuk Organik, dan Pupuk Hayati*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian. Bogor.
- Saraswati, L. 2021. *Karakterisasi dan Potensi Bakteri yang Berasosiasi dengan Arthropoda pada Pertanaman Jagung sebagai Pengendali Hayati Dickeya zea*. [Skripsi] Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Bandar Lampung. 29 Hlm.
- Schaad, N. W. J. B., Jonesand, W., and Chun. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. Third Edition. APS Press. America.
- Sobir, F., dan Siregar, D. 2010. *Budidaya Melon Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Suharjo, R. 2013. Studies on the taxonomy and identification of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium* spp. Isolated in Japan. *PhD Thesis*. Shizuoka University. Jepang.
- Suharjo, R. 2015. Sekilas tentang klasifikasi dan teknik identifikasi *Erwinia chrysanthemi*, *E. carotovora*, dan *E. ananas*. *Prosiding Seminar Regional Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Hal 58-65.
- Sukmaningtyas, A., dan Hartoyo. 2013. Pengaruh nilai dan gaya hidup terhadap preferensi dan perilaku pembelian buah-buahan impor. *Jurnal Ilmu Keluarga dan Konsumen*. 6(1): 39-48.
- Suwarno, W. B., Sobir., dan Endang, G. 2016. Melon breeding: past experiences and future challenges. *Proceeding International Seminar on Tropical Horticulture*. Hal 16-23.
- Triadiati., Mafrikhul, M., dan Nelly, S.A. 2019. Pertumbuhan, produksi, dan kualitas buah melon dengan pemberian pupuk silika. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 24 (4): 366-374.
- Usman, W. S. 2015. Bakteri asosiasi karang yang terinfeksi penyakit *Brown Band* (BRB) di perairan pulau barrang lombo Kota Makassar. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin. Makasar.