

**KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI KISARAN INANG  
KELOMPOK BAKTERI BUSUK LUNAK YANG MENYERANG  
TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.) DI LAMPUNG TIMUR**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**HEVIRA INTAN SARI**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI KISARAN INANG KELOMPOK BAKTERI BUSUK LUNAK YANG MENYERANG TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.) DI LAMPUNG TIMUR

Oleh

**HEVIRA INTAN SARI**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik, identitas, dan inang alternatif penyebab penyakit busuk lunak tanaman pepaya. Penelitian ini dilaksanakan pada Agustus 2022 sampai Juni 2023 di Laboratorium Bioteknologi dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Sebanyak tujuh isolat bakteri yang diduga menjadi penyebab busuk lunak tanaman pepaya yang digunakan dalam penelitian ini. Karakterisasi dan identifikasi dilakukan berdasarkan hasil uji biokimia dan analisa sekuens 16SrDNA. Uji kisaran inang dilakukan pada berbagai macam spesies tanaman. Hasil uji biokimia memperlihatkan bahwa isolat bakteri merupakan Gram negatif, bersifat fermentatif, *lechitinase* negatif, hipersensitif lima isolat positif dan dua isolat negatif, *soft rot* positif, tidak berpendar pada media King's B negatif, *arginine dihydrolase* positif, casein positif, mampu tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C, serta mampu menggunakan *Citic acid monohydrate*, *Tri sodium citrate dehydrate*, *Cisaconitic acid*, *D-raffinose*, *D-arabinose*, *D-melibiose*, *Myo-innositol*, *Mannitol*, *Strach*, *Glycerol*, dan *Lactose* sebagai sumber karbonnya. Hasil identifikasi molekuler menggunakan sekuens 16SrDNA menunjukkan bahwa isolat yang diuji termasuk dalam kelompok *Pectobacterium aroidearum*. Hasil uji kisaran inang menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu menginfeksi pada seledri, wortel, lidah buaya, sawi putih, kubis, lobak, labusiam, timun, gambas, pare, buncis, daun bawang, bawang merah, bawang putih, bawang bombay, cabai, paprika, tomat, terung, kacang panjang, dan okra.

**Kata kunci** : Busuk lunak, *Carica papaya* L., identifikasi molekuler, kisaran inang, dan uji biokimia.

**KARAKTERISASI, IDENTIFIKASI, DAN UJI KISARAN INANG  
KELOMPOK BAKTERI BUSUK LUNAK YANG MENYERANG  
TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.) DI LAMPUNG TIMUR**

Oleh

HEVIRA INTAN SARI

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 KELOMPOK BAKTERI BUSUK LUNAK YANG MENYERANG TANAMAN PEPAYA (*Carica papaya* L.) DI LAMPUNG TIMUR**

Nama Mahasiswa

: **Hevira Intan Sari**

Nomor Pokok Mahasiswa

: **1914121025**

Jurusan

: **Agroteknologi**

Fakultas

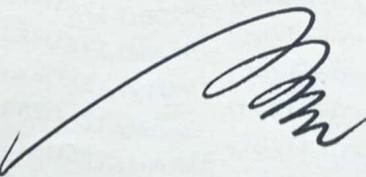
: **Pertanian**



  
**Radix Suharjo, 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

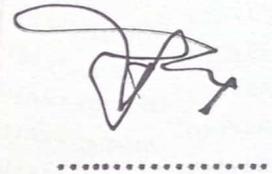
Pembimbing Utama : **Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D.**



Sekretaris : **Ir. Rugayah, M.P.**



Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dr. Ir. Joko Prasetyo, M.P.**



Dekan Fakultas Pertanian



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **25 Agustus 2023**

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Karakterisasi, Identifikasi, dan Uji Kisaran Inang Kelompok Bakteri Busuk Lunak yang Menyerang Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) di Lampung Timur”** 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, 25 Agustus 2023  
Penulis,



Hevira Intan Sari  
NPM 1914121025

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Bandar Jaya Timur, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah pada 23 Oktober 2000. Penulis merupakan anak keempat dari empat bersaudara pasangan Bapak Husen Tarmizi (Alm) dan Ibu Mega Sari. Penulis telah menyelesaikan pendidikan TK di TK An-Nur Bandar Jaya pada tahun 2007, SDN 1 Bandar Jaya pada tahun 2013, MTs An-Nur Pelopor Bandar Jaya pada tahun 2016, dan MAN 1 Lampung Tengah pada tahun 2019. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai Mahasiswa Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Jurusan Agroteknologi melalui jalur PMPAP atau Penerimaan Mahasiswa Perluasan Akses Pendidikan.

Pada tahun 2022 penulis telah melaksanakan Praktik Umum di Balai Pelatihan Pertanian (BPP) di Hajimena, Bandar Lampung. Pada tahun 2022, penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata di Desa Trimulyo Mataram, Kecamatan Seputih Mataram, Kabupaten Lampung Tengah. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Biologi 1 dan Dasar-dasar Perlindungan Tanaman. Selain itu, penulis juga aktif dalam Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) yaitu DPM U KBM Unila sebagai Staff ahli bidang PSDM (Pengembangan Sumber Daya Manusia) periode 2020, serta organisasi Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (Perma AGT) sebagai anggota bidang Kaderisasi periode 2021 dan sekretaris bidang Kaderisasi periode 2022.

## PERSEMBAHAN

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Karakterisasi, Identifikasi, dan Uji Kisaran Inang Kelompok Bakteri Busuk Lunak yang Menyerang Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) di Lampung Timur**”

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

1. Bapak dan Ibu tersayang, Husen Tarmizi (Alm) dan Mega Sari yang senantiasa memberikan doa, dukungan, arahan, 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. Ir. Joko Prasetyo, M.P. yang selalu memberikan bimbingan kepada penulis selama menempuh pendidikan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
3. Kakak tersayang Nardi Saputra, Hesti Fadillah, dan Henita Indah Sari, A.Md.A.B. yang selalu memberikan doa, motivasi serta semangat selama menempuh pendidikan dan penulisan skripsi ini.
4. Keluarga besar Agroteknologi 2019 dan Perma AGT yang selalu memberikan pengalaman cerita dan semangat kepada penulis selama pendidikan serta almamater tercinta Universitas Lampung yang telah memberikan beasiswa penuh selama penulis menempuh pendidikan.

## MOTTO

*Man Jadda Wajada*

*Barang siapa yang bersungguh-sungguh pasti akan berhasil*

-Akbar Zainudin-

“Hanya orang optimis yang bisa melihat bahwa ada kesempatan  
dibalik kegagalan”

-Merry Riana-

“Orang hebat tidak dihasilkan dari kemudahan, kesenangan, dan kenyamanan.  
Mereka dibentuk melalui kesulitan, tantangan, dan air mata.”

-Dahlan Iskan-

*“It always seems impossible until it's done”*

(Suatu hal akan tampak selalu mustahil sampai selesai)

-Nelson Mandela-

## SANWACANA

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Karakterisasi, Identifikasi, dan Uji Kisaran Inang Kelompok Bakteri Busuk Lunak yang Menyerang Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) di Lampung Timur”**.

Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan pengikutnya hingga akhir zaman. Adapun tujuan dalam penulisan skripsi ini yaitu sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Pertanian di Universitas Lampung. Tentunya penulis tidak lepas dari dukungan, doa, dan motivasi dalam proses 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. Ir. Joko Prasetyo, M.P., selaku Pembahas dan Pembimbing Akademik yang telah memberikan banyak masukan, saran motivasi, serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini dan selama menempuh pendidikan.

6. Kedua orangtua saya tersayang dan tercinta Husen Tarmizi (Alm) dan Mega Sari yang telah memberikan banyak nasehat, doa, dan dukungan yang membangun semangat selama penulis menempuh pendidikan.
7. Tim penelitian konsentrasi hama dan penyakit tanaman, serta teman-teman penelitian keluarga besar laboratrium bioteknologi yang banyak memberikan dorongan semangat dan dukungan motivasinya.
8. Kepada mba Tari, mba Yeyen, mba Safira, bang Nando, bang Sem, mas Helmi, mas Zain, terima kasih atas saran dan bantuan selama penulis melaksanakan penelitian.
9. Keluarga besar Agroteknologi angkatan 2019, keluarga besar Perma AGT, dan adik-adik Agroteknologi angkatan 2020 dan 2021 yang selalu memberikan bantuan dan dukungan semangat kepada penulis.

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

Bandar Lampung, 25 Agustus 2023

Penulis

**Hevira Intan Sari**

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan .....	2
1.3 Kerangka Pemikiran .....	2
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Tanaman Pepaya ( <i>Carica papaya</i> L.) .....	4
2.1.1 Taksonomi dan morfologi tanaman pepaya .....	5
2.1.2 Syarat tumbuh tanaman pepaya .....	6
2.2 Patogen Tanaman Pepaya .....	6
2.2.1 Gejala penyakit .....	7
2.2.2 Penyebab penyakit .....	8
2.2.3 Pengendalian penyakit .....	8
2.2.4 Kisaran inang .....	8
<b>III. BAHAN DAN METODE</b> .....	<b>10</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	10
3.2 Alat dan Bahan .....	10
3.3 Metode Penelitian .....	11
3.3.1 Uji patogenesitas .....	11
3.3.2 Karakterisasi dan identifikasi patogen pepaya .....	12
3.3.2.1 Uji biokimia .....	12
3.3.2.2 Identifikasi molekuler .....	17
3.3.3 Uji kisaran inang .....	19
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>20</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	20
4.1.1 Uji patogenesitas .....	20
4.1.1.1 Uji patogenesitas pada bibit pepaya .....	20
4.1.1.1 Uji patogenesitas pada buah pepaya .....	22
4.1.2 Karakterisasi dan identifikasi penyebab penyakit .....	23

4.1.2.1 Uji biokimia.....	23
4.1.2.2 Identifikasi molekuler.....	29
4.1.3 Uji kisaran inang.....	30
4.2 Pembahasan .....	34
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>42</b>
5.1 Simpulan .....	42
5.2 Saran .....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>43</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian.....	11
2. Hasil uji kemampuan bakteri penyebab busuk lunak pepaya untuk menggunakan beberapa jenis bahan organi .....	28
3. Hasil uji patogenesitas dan uji hipersensitif tiga isolat terpilih.....	29
4. Hasil uji kisaran inang bakteri busuk lunak tanaman papaya .....	31

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Contoh bibit pepaya yang digunakan untuk uji patogenesitas .....	12
2. Bibit pepaya bergejala dan tanpa gejala mati pucuk .....	21
3. Hasil <i>soft rot</i> pada umbi kentang setelah 24 jam diinokulasi.....	21
4. Gejala busuk lunak pada buah pepaya setelah diinokulasi dengan isolat bakteri.....	22
5. Hasil <i>soft rot</i> bagian buah pepaya pada umbi kentang setelah 24 jam diinokulasi isolat bakteri .....	22
6. Pada uji Gram terbentuk lendir setelah ditetesi KOH 3% .....	23
7. Pada media uji O/F menunjukkan perubahan warna dari hijau menjadi kuning baik yang diberi maupun tidak diberi minyak parafin .....	24
8. Pada uji <i>lechitinase</i> bereaksi negatif ditandai tidak ada zona putih buram di sekitar koloni bakteri .....	24
9. Pada media King's B tidak menunjukkan adanya pigmen yang berpendar (fluoresen).....	25
10. Pada media arginin menunjukkan warna media menjadi ungu.....	25
11. Pada uji casein terdapat zona bening di sekitar goresan koloni bakteri.....	26
12. Daun tembakau yang bergejala dan tidak bergejala pada area yang diinokulasi isolat bakteri .....	26
13. Pembusukan umbi kentang menunjukkan reaksi positif uji <i>soft rot</i> .....	27
14. Pada media mengalami perubahan warna setelah diinkubasi selama 7 hari pada suhu 39 <sup>0</sup> C dan 40 <sup>0</sup> C .....	27

15. Perubahan warna media bahan organik dari hijau (a) menjadi kuning (b) atau biru (c) .....	29
16. Pohon filogenik hasil analisis sekuensing menunjukkan kekerabatan paling dekat dengan <i>Pectobacterium aroidearum</i> .....	30
17. Gejala kisaran inang busuk lunak pada famili <i>Apiaceae</i> , <i>Asphodelaceae</i> , <i>Brassicaceae</i> , <i>Cucurbitaceae</i> , dan <i>Fabaceae</i> .....	33
18. Gejala kisaran inang busuk lunak pada famili <i>Liliaceae</i> , <i>Solanaceae</i> , <i>Leguminoceae</i> , dan <i>Malvaceae</i> .....	34

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan salah satu tanaman buah yang sudah populer bagi masyarakat di Indonesia dan banyak memiliki manfaat. Tanaman pepaya mudah dibudidayakan dan dapat tumbuh pada dataran rendah sampai dengan ketinggian sekitar 1000 m dpl. Tanaman pepaya memiliki banyak manfaat yang dapat digunakan dalam bahan makanan, minuman, obat tradisional, pakan ternak, dan kosmetik (Sianipar, 2019). Selain itu, getah pepaya mengandung enzim papain yang bersifat proteolitik untuk melunakkan daging (Juwita dkk., 2022). Buah pepaya mengandung air, gula, protein, vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, dan vitamin C. Zat gizi yang terkandung dalam buah pepaya dapat memenuhi kebutuhan gizi bagi kesehatan manusia sehingga banyak dikonsumsi masyarakat (Imanda dan Suketi, 2018).

Berdasarkan kandungan zat gizi dan manfaatnya, pepaya berpotensi untuk dikembangkan. Menurut *Food and Agriculture Organization* (2022), Indonesia mendapatkan peringkat kelima sebagai penghasil pepaya terbesar di dunia setelah negara India, Brazil, Nigeria, dan Mexico. Akan tetapi, produksi buah pepaya di Indonesia mengalami penurunan pada tahun 2017 dengan menghasilkan 875.106 ton pepaya (Kementerian Pertanian Republik Indonesia, 2022). Penurunan produksi buah pepaya juga terjadi di Provinsi Lampung mulai tahun 2020 menghasilkan 92.459 ton dan semakin menurun pada tahun 2021 menjadi 87.378 ton (Badan Pusat Statistik, 2022). Salah satu penyebab penurunan produksi buah pepaya adalah adanya patogen tanaman.

Pepaya yang terserang patogen dapat dilihat melalui gejala dan tanda yang bermanfaat dalam proses identifikasi bagian tanaman terinfeksi (Yudiarti, 2007). Berbagai patogen tanaman pepaya apabila tidak diidentifikasi dan dicegah penyebarannya akan menimbulkan kerugian dalam produksi tanaman pepaya. Penyakit mati pucuk sebagai salah satu penyakit penting tanaman pepaya karena dapat mengakibatkan kerugian hingga 100%. Penyakit tersebut diduga berasal dari bakteri antara lain *Erwinia papayae* dan *Erwinia mallotivora* (Suharjo *et al.*, 2021). Selain itu, penyakit busuk lunak juga ditemukan pada tanaman pepaya yang disebabkan oleh kelompok bakteri *Pectobacterium* (Fitria, 2022). Informasi mengenai penyakit tanaman pepaya disebabkan patogen terutama bakteri di Indonesia masih tergolong sedikit. Isolat bakteri dari Lampung Timur berbeda dengan bakteri mati pucuk yang dilaporkan oleh Suharjo *et al.* (2021) yang mengidentifikasi bakteri tersebut berbeda spesies. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan informasi mengenai karakteristik, identitas, dan inang alternatif dari bakteri yang menyerang tanaman pepaya agar tidak merugikan produksi pepaya di Indonesia.

## **1.2 Tujuan**

Tujuan dilakukan penelitian ini sebagai berikut :

1. Mengetahui karakteristik kelompok bakteri busuk lunak tanaman pepaya yang berasal dari Lampung Timur.
2. Mengetahui identitas kelompok bakteri busuk lunak tanaman pepaya yang berasal dari Lampung Timur.
3. Mengetahui kisaran inang kelompok bakteri busuk lunak selain pada tanaman pepaya.

## **1.3 Kerangka Pemikiran**

Produksi dan kualitas pepaya dapat semakin menurun dengan semakin menyebarnya patogen tanaman pepaya, sehingga adanya patogen pada tanaman pepaya dapat menimbulkan kerugian bagi petani (Pratama, 2016). Salah satu patogen tanaman pepaya berasal dari kelompok bakteri. Penyakit tanaman pepaya

yang disebabkan oleh bakteri salah satunya adalah penyakit mati pucuk. Penyakit ini telah ditemukan pada tanaman pepaya di Indonesia termasuk di Lampung. Penyakit mati pucuk sudah sekitar 10 tahun menjadi masalah bagi petani pepaya (Pratama, 2016). Penyakit mati pucuk pepaya di Indonesia pertama kali diketahui di Pulau Jawa disebabkan oleh *Erwinia papayae*. Berdasarkan hasil penelitian Oktaviana (2018), penyakit mati pucuk tanaman pepaya di Lampung Tengah disebabkan oleh *Erwinia mallotivora*.

*Erwinia papayae* dan *Erwinia mallotivora* merupakan patogen satu genus berkerabat dekat. Patogen ini dapat menular dari satu tanaman ke tanaman lain yang sama. Penularan *Erwinia papayae* dan *Erwinia mallotivora* dapat melalui serangga, burung, manusia, dan percikan air hujan. *Erwinia mallotivora* sebagai penyebab penyakit mati pucuk pepaya di Indonesia yang paling banyak ditemukan pada pepaya jenis Calina (Suharjo *et al.*, 2021). Bakteri penyebab penyakit mati pucuk pepaya diidentifikasi sebagai *Erwinia papayae*, sedangkan bakteri *Erwinia mallotivora* menyebabkan kehancuran tanaman bagian petiole tanpa bukti gejala kanker (Amin *et al.*, 2011). Selain penyakit mati pucuk pepaya, tanaman pepaya terutama buah pepaya juga dapat diserang bakteri penyebab penyakit busuk basah yang disebabkan bakteri (Solichah, 2011). Bakteri yang dapat menginfeksi pepaya dengan gejala busuk lunak disebabkan oleh kelompok bakteri *Pectobacterium* (Fitria, 2022).

Berdasarkan manfaat, penurunan produksi dan kualitas pepaya, serta kerugian besar yang dapat ditimbulkan oleh patogen tanaman pepaya, maka penelitian ini perlu dilakukan. Selain itu, belum banyak informasi mengenai bakteri *Erwinia papayae* dan *Erwinia mallotivora* maupun kelompok bakteri lain sebagai penyebab penyakit busuk lunak tanaman pepaya di Indonesia terutama di Lampung Timur juga menjadi dasar pemikiran bahwa perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menerapkan beberapa metode. Pengujian dilakukan melalui uji patogenesis, uji biokimia, identifikasi molekuler, dan uji kisaran inang. Pengujian tersebut dilakukan untuk mengetahui karakteristik, identitas, dan inang alternatif bagi bakteri tanaman pepaya yang berasal dari Lampung Timur.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Pepaya (*Carica papaya L.*)

Pepaya (*Carica papaya L.*) adalah salah satu tanaman yang berasal dari Amerika tropis. Penyebaran tanaman pepaya pusatnya berada di sekitar daerah Meksiko bagian Selatan dan Nikaragua bersama para pelayar bangsa Portugis di abad ke 16 (Solichah, 2011). Tanaman pepaya juga menyebar ke berbagai benua dan negara, diantaranya ke benua Afrika, Asia, dan India (Pratama, 2016). Penyebaran tanaman pepaya yang telah berkembang di seluruh kepulauan Indonesia menimbulkan beberapa nama daerah lokal, seperti kates (Jawa Tengah, Jawa Timur, Madura), betik (Palembang), pente (Aceh), panancane (Minangkabau), tela (Batak), gedang (Jawa Barat, Bali), pundi kayu (Lampung), asewa (Irian Jaya), dan tapaya (Ternate). Namun, nama umumnya adalah pepaya (Cahyono, 2017).

Pepaya merupakan komoditi buah yang memiliki nilai gizi cukup tinggi.

Kandungan dalam buah pepaya adalah provitamin, mineral, kalsium, serat, dan beberapa enzim yang sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Buah pepaya per 100 g mengandung 0,5-1,90 g protein, 0,45 g vitamin A, 0,03-0,08 mg vitamin B1, 0,07-0,15 mg vitamin B2, 78-85 mg vitamin C, 7-13% karbohidrat, 85-90% air, 11-51 mg kalsium, 39-337 mg kalium, dan 7-33 mg fosfor (Suketi dkk., 2010). Kelebihan dari buah pepaya yang banyak digemari masyarakat adalah mudah didapatkan dan memiliki harga terjangkau. Selain itu, tanaman pepaya termasuk golongan buah yang musim panennya sepanjang tahun, sehingga buahnya tersedia setiap saat (Purwanto dkk., 2021).

### 2.1.1 Taksonomi dan morfologi tanaman pepaya

Taksonomi tanaman pepaya diklasifikasikan oleh Warisno (2003), sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Caricales
Famili	: Caricaceae
Genus	: <i>Carica</i>
Spesies	: <i>Carica papaya</i> L.

Menurut Cahyono (2017), akar tanaman pepaya merupakan akar tunggang. Pepaya berkembang dengan akar tunggang yang cukup kuat setelah tanam. Dalam kondisi yang baik, akar dapat menembus tanah hingga kedalaman 2 m. Sebagian besar dari akar yang berfungsi untuk penyerapan nutrisi terdapat dalam lapisan sekitar 500 mm di atas tanah.

Batang tanaman pepaya berbentuk bulat lurus dan beruas-ruas. Batang tanaman pepaya tidak berkayu, banyak mengandung air dan getah, serta memiliki pertumbuhan yang cepat hingga mencapai ketinggian lebih dari 10 m. Selain itu, batang tanaman pepaya biasanya tidak bercabang. Batang tanaman berfungsi sebagai tempat jalannya pengangkutan air dan zat-zat hara menuju daun (Cahyono, 2017).

Daun pepaya merupakan daun tunggal yang berukuran besar dan bergerigi. Selain itu, daun pepaya mempunyai bagian-bagian tangkai daun dan helaian daun (lamina). Bagian ujung daun pepaya lancip dengan tangkai daun (petiole) panjang dan berongga. Permukaan daun licin sedikit mengkilat. Apabila dilihat dari susunan tulang daunnya, maka daun pepaya termasuk dalam golongan daun yang bertulang menjari (Tyas, 2008).

Buah pepaya tergolong buah sejati tunggal. Buah sejati tunggal yaitu buah yang terdiri dari bunga dengan satu bakal buah saja. Buah pepaya memiliki getah dan

akan menghilang apabila mendekati kematangan buah saat siap dipanen. Buah pepaya termasuk buah yang berdinging tebal dan bentuknya bulat sampai lonjong (Putri, 2016). Di Indonesia terdapat banyak jenis pepaya, baik berdaging buah kuning, merah, dan jingga (Solichah, 2011).

Biji pepaya memiliki ukuran yang kecil, bentuknya bulat telur, berwarna hitam, bersifat keras, dan permukaan biji berkeriput. Biji buah pepaya dilapisi kulit berlendir dengan warna putih transparan (bening) dan lunak seperti agar-agar. Pada umumnya, dalam satu buah pepaya mengandung biji yang berjumlah banyak. Biji pepaya mengandung minyak yang di dalamnya terdapat 71,60% asam oleat, 15,13%, asam palmitat, 3,60%, dan asam-asam lemak lain dalam jumlah sedikit (Cahyono, 2017).

### **2.1.2 Syarat tumbuh tanaman pepaya**

Tanaman pepaya tumbuh subur pada daerah yang memiliki curah hujan 1.000–2.000 mm/tahun. Suhu udara optimum 22–26°C dengan kelembaban udara 40%. Tanah yang subur, gembur, dan banyak mengandung humus sangat baik untuk pertumbuhan tanaman pepaya. Derajat keasaman tanah (pH) antara 6–7. Tanaman pepaya di Indonesia dapat tumbuh pada daerah dataran rendah hingga pegunungan dengan ketinggian 1000 m di atas permukaan laut. Luas daerah pertanaman pepaya dengan orientasi bisnis umumnya mencapai 52.250 ha, dengan produksi 402.346 ton per tahun. Buah pepaya belum menjadi komoditi ekspor yang dapat diandalkan karena masih terbatas untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri (Warisno, 2003).

### **2.2 Patogen Tanaman Pepaya**

Penyakit yang sering merugikan tanaman pepaya adalah penyakit yang disebabkan cendawan, virus mosaik, bakteri, dan nematoda (Sunarjono, 2005). Penyakit tanaman pepaya yang biasanya disebabkan bakteri adalah penyakit mati pucuk dan busuk basah yang disebabkan bakteri *Erwinia papayae* (Solichah, 2011). Selain itu, dapat juga disebabkan oleh bakteri *Erwinia mallotivora* (Noriha *et al.*, 2011). Penyakit yang disebabkan bakteri seringkali mengakibatkan kegagalan panen secara total karena serangan yang cepat meluas dan

menghabiskan tanaman dalam waktu singkat. Penyakit ini dapat ditemui pada hampir semua tanaman, baik tanaman pangan, hortikultura, tanaman perkebunan maupun tanaman hias (Pratama, 2016).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E. papayae* maupun *E. mallotivora* jika tidak segera dilakukan penanganan dapat menyebar sangat cepat. Dalam waktu beberapa hari, penyakit tersebut dapat menghabiskan puluhan hektar tanaman pepaya (Pratama, 2016). Tanah yang lembab, suhu rendah, dan curah hujan yang tinggi adalah kondisi yang paling baik bagi perkembangbiakan dan penyebaran bakteri (Solichah, 2011). *E. papayae* termasuk dalam ordo *Enterobacteriales* dan famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini berbentuk basil (batang), panjang 1,0-1,5  $\mu\text{m}$ , berantai, tidak berspora, gram negatif, dan aerob (Pratama, 2016). Selain penyakit mati pucuk, pada buah pepaya juga ditemukan penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri. Menurut Fitria (2022), penyakit busuk lunak pada buah pepaya disebabkan oleh *Pectobacterium aroidearum* dan *Pectobacterium odoriferum*.

### **2.2.1 Gejala penyakit**

Gejala yang ditimbulkan oleh bakteri *E. papayae* dan *E. mallotivora* umumnya berupa luka basah dan bercak pada daun, serta luka daun dan petiolenya. Luka ini dapat menyebabkan infeksi sekunder, kemudian menyebabkan kematian tanaman pepaya. *E. mallotivora* menunjukkan gejala yang parah dan menyebabkan kematian pucuk yang terinfeksi, menyebabkan kehancuran tanaman tanpa bukti gejala kanker (Amin *et al.*, 2011). Penyakit tanaman pepaya yang dapat disebabkan bakteri *E. papayae* dan *E. mallotivora* awalnya dikenali oleh luka yang direndam air pada bagian petiole atau tangkai daun, kemudian gejalanya juga dapat terbentuk di permukaan daun. Penyakit mati pucuk ditemukan di daerah produksi pepaya di Lampung menyebabkan kerusakan hingga kehilangan hasil 100%, salah satunya berada di Tanggamus (Suharjo *et al.*, 2021).

### 2.2.2 Penyebab penyakit

Penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya dapat disebabkan oleh bakteri *E. papayae* dan *E. mallotivora*. Penularan bakteri ini dapat terjadi melalui serangga, burung, manusia, dan percikan air hujan. Metode penyebaran utama *E. papayae* adalah melalui percikan air hujan. Bakteri *E. papayae* dan *E. mallotivora* dapat menyerang tanaman sehat melalui lubang alami atau luka pada tanaman. *E. papayae* tidak dapat bertahan lama pada akar tanaman sakit yang membusuk dalam tanah. Akan tetapi, apabila terdapat inang alternatif seperti kacang, belewah dan tomat, bakteri ini dapat hidup lebih lama pada inang tersebut (Pratama, 2016).

### 2.2.3 Pengendalian penyakit

Pengendalian penyakit tanaman pepaya dapat dilakukan secara manual. Pengendalian secara manual dapat dilakukan dengan memilih bibit dan benih yang bebas dari bakteri. Selain itu, juga dapat dilakukan dengan cara membongkar dan membakar tanaman yang terinfeksi bakteri *E. papayae* maupun *E. mallotivora* untuk menghilangkan sumber inokulum penyakit sebelum memasuki musim hujan. Setelah pembongkaran tanaman terinfeksi, jangan menyentuh tanaman lain yang masih sehat ketika sudah melakukan kontak langsung dengan tanaman yang terinfeksi. Pengendalian secara kimiawi dapat dilakukan dengan penggunaan bakterisida dengan bahan aktif tembaga hidroksida yang biasa digunakan untuk mengendalikan penyakit tersebut di Philipina. Aplikasinya dilakukan dengan penyemprotan ke seluruh bagian tanaman. Pencegahan dapat dilakukan secara kultur teknis dengan menggunakan benih yang bebas *E. papayae* dan *E. mallotivora*, serta penggunaan varietas pepaya yang tahan akan serangan bakteri (Pratama, 2016).

### 2.2.4 Kisaran inang

Bakteri *E. papayae* dan *E. mallotivora* selain menyerang buah dan petiole (pucuk pepaya) juga dapat menyerang tanaman lain yang menjadi inangnya. Bakteri *E. papayae* dan *E. mallotivora* dapat menyerang tanaman sehat melalui luka pada tanaman. Bakteri *E. papayae* memiliki inang alternatif yaitu belewah dan kacang tunggak. Adanya kedua inang alternatif tersebut dapat menyebabkan bakteri *E.*

*papayae* bertahan lebih lama pada akar tanaman yang membusuk dalam tanah (Indriyani, 2008). Berbeda dengan *E. papaya*, inang alternatif *E. mallotivora* hingga saat ini baru ditemukan pada tanaman terung. Selain menginfeksi tanaman pepaya, bakteri *E. mallotivora* dapat menginfeksi dan menimbulkan gejala pada buah terung (Oktaviana, 2018).

### III. BAHAN DAN METODE

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan mulai Agustus 2022 hingga Juni 2023. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), *water bath*, *rotamixer*, *shaker*, *magnetic bar*, *microwave*, *magnetic stirrer*, *freezer*, jarum ose, jarum ent, pinset, mikro pipet, tabung reaksi, tabung *ependorf* 1,5 mL, erlenmeyer, bunsen, gelas ukur, gelas objek, dan cawan petri. Alat yang digunakan untuk identifikasi molekuler adalah mesin PCR, alat elektroforesis, *microcentrifuge*, *gel documentation system*, cetakan gel 20x16x1 cm<sup>3</sup> mikro pipet 0-1000 µL, pipet tip 0-1000 µL, dan tabung *ependorf* 100 µL. Alat lain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pisau, nampan plastik, aluminium foil, *plastic wrap*, plastik tahan panas, spidol, kertas label, penggaris, kapas, tisu, karet gelang, dan korek api.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain akuades, air steril, umbi kentang, kuning telur, minyak parafin, KOH 3%, alkohol 70%, ethidium bromide (EtBr), Bromthymol blue (BTB) 2%, 5% NaCl, *marker DNA ladder*, *loading dye*, *buffer TE*, MyTaq<sup>TM</sup> *Red Mix*, dan DNA primer (fD1 dan rP2), agarose, bibit dan buah pepaya, serta tembakau. Bahan organik yang digunakan adalah *Citic acid monohydrate*, *Tri sodium citrate dehydrate*, *Cisaconitic acid*, *D-raffinose*, *D-arabinose*, *D-melibiose*, *Myo-inositol*, *Mannitol*, *Strach*, *Glycerol*, *Lactose*,

*Sortic acid*, *D-tartrate*, *M-tartrate*, *5-ketogluconate*, dan *Inulin*. Media biakan yang digunakan yaitu *Yeast Peptone Agar* (YPA) dan *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA). Media yang digunakan untuk penelitian ini adalah *Yeast Peptone* (YP), Oksidatif/Fermentatif (O/F), dan King's B.

### 3.3 Metode Penelitian

Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 7 jenis dan diambil dari bagian batang pepaya yang berasal dari Lampung Timur. Isolat tersebut merupakan koleksi dari Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Keterangan isolat secara detail dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini.

No.	Kode Isolat	Inang	Tahun Isolasi
1.	BP3.1		
2.	BP3.2		
3.	BP4.1		
4.	BP4.2	Batang	2022
5.	BP7.1		
6.	BP7.2		
7.	E12		

#### 3.3.1 Uji patogenesisitas

Uji patogenesisitas dilakukan untuk mengetahui bakteri yang didapatkan benar sebagai bakteri yang menyebabkan gejala pada petiole (tangkai daun) dan buah pepaya. Uji patogenesisitas dilakukan dengan menyiapkan suspensi bakteri dan bibit tanaman pepaya. Uji patogenesisitas dilakukan pada 8 buah pepaya serta 8 bibit pepaya berumur 60 hari dengan 1 tanaman pepaya sebagai kontrol dan 7 tanaman pepaya dilakukan penyuntikkan suspensi 7 jenis isolat bakteri uji (Gambar 1).

Persiapan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil 2 ose bakteri yang berumur 24 jam dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL yang telah diisi air steril sebanyak 1 mL. Selanjutnya suspensi bakteri tersebut dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Uji patogenesisitas dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri uji, lalu disuntikkan pada bagian pangkal buah dan

tangkai sebanyak 1 mL. Setelah itu, dilakukan pengamatan selama 7 hari setelah inokulasi.



Gambar 1. Contoh bibit pepaya yang digunakan untuk uji patogenesis.

### **3.3.2 Karakterisasi dan identifikasi patogen pepaya**

Karakterisasi dan identifikasi patogen tanaman pepaya dalam penelitian ini dapat dilakukan dengan dua pengujian yaitu uji biokimia dan uji molekuler.

#### **3.3.2.1 Uji biokimia**

Pengujian yang dilakukan menggunakan uji biokimia sebagai berikut :

##### **a. Uji Gram**

Uji Gram bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri termasuk Gram positif atau Gram negatif. Pengujian dilakukan dengan mengambil satu ose isolat bakteri berumur 24 jam yang sudah diremajakan. Satu ose bakteri diletakkan pada kaca preperat, kemudian ditetaskan KOH 3% dan diratakan pada kaca tersebut menggunakan jarum ose. Setelah itu, jarum ose diangkat secara perlahan hingga tinggi kurang lebih 1 cm. Apabila terbentuk lendir dan mengental ketika diangkat, maka hasil uji menunjukkan reaksi positif, sehingga dapat dikatakan isolat bakteri tersebut adalah Gram negatif. Apabila saat diangkat tidak membentuk lendir dan mengental, maka hasil uji menunjukkan reaksi negatif. Artinya bakteri tersebut adalah Gram positif (Powers, 1995).

### **b. Uji oksidatif/fermentatif (O/F)**

Uji oksidatif/fermentatif bertujuan untuk mengetahui sifat isolat bakteri termasuk aerob atau anaerob. Pengujian bakteri akan dilakukan menggunakan media O/F (Basal medium). Media tersebut dibuat menggunakan bahan yaitu 98 g bubuk media O/F dan 1000 mL akuades. Media dituang sebanyak 4 mL ke dalam tabung reaksi dan disterilisasi. Lalu isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil menggunakan jarum ent dan ditusukkan sampai dasar tabung media O/F. Dua tabung dengan isolat bakteri yang sama salah satunya diberi minyak parafin steril dan salah satunya lagi tidak diberi minyak parafin. Kemudian bakteri diinkubasi pada suhu 28<sup>0</sup>C selama 1-7 hari dan diamati perubahan warna yang terjadi pada media O/F. Menurut Tito (2014), apabila warna hijau berubah menjadi warna kuning pada media O/F yang diberi minyak parafin maupun tidak, maka reaksi itu menunjukkan bakteri bersifat fermentatif. Apabila warna hijau berubah menjadi warna kuning pada media yang tidak diberi minyak parafin, maka reaksi ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat oksidatif.

### **c. Uji *lechitinase***

Uji *lechitinase* dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menggunakan *lechitin*. Media yang digunakan berbahan dasar YPA dan *egg yolk*. Bahan yang digunakan untuk membuat media YPA yaitu 10 g pepton, 5 g *yeast*, 20 g agar, dan 1000 mL akuades. Pengujian dilakukan dengan memasukkan 0,5 mL *egg yolk* ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan 10 mL media YPA dan dihomogenkan sampai merata. Isolat bakteri yang sudah berumur 24 jam diambil sebanyak satu ose dan digoreskan pada media *lechitinase*. Setelah itu, bakteri diinkubasi pada suhu 28<sup>0</sup>C dan diamati selama 1-7 hari. Apabila pada area goresan terdapat zona putih buram yang menyebar di sekitar koloni bakteri, maka isolat tersebut menunjukkan *lechitinase* positif. Apabila tidak menunjukkan zona buram pada area goresan, maka dikatakan sebagai *lechitinase* negatif (Desnidasari, 2015).

#### **d. Uji fluoresensi pada media King's B**

Uji fluoresensi dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan fluoresen. Bahan media yang digunakan yaitu 20 g pepton, 1,5 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 15 mL gliserol, 15 g agar dan 1000 mL akuades. Pengujian dilakukan pada cawan petri yang berisi media King's B. Satu ose bakteri berumur 24 jam diambil dan digoreskan pada media King's B, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Apabila bakteri memproduksi pigmen fluoresen, maka reaksi ini dapat dilihat ketika biakan bakteri disinari lampu ultra violet (UV) akan menghasilkan warna hijau berpendar, sehingga tergolong sebagai bakteri fluoresen (Schaad *et al.*, 2001).

#### **e. Uji arginine dihydrolase (Moeller media)**

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan pertumbuhan bakteri pada kondisi anaerob dalam media yang mengandung bahan kimia arginin. Pengujian dilakukan menggunakan media moeller 21 g dan 1000 mL akuades yang dihomogenkan. Media dipanaskan menggunakan *microwave* dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian disterilisasi dengan autoklaf. Pengujian ini dilakukan dengan mengambil bakteri berumur 24 jam menggunakan jarum preparat untuk ditusukkan pada media moeller sampai dasar tabung dan ditambahkan minyak parafin steril. Bakteri diinkubasi pada suhu 28<sup>0</sup>C dan dilakukan pengamatan selama 7-14 hari. Setelah itu, dilakukan pengamatan untuk melihat perubahan warna yang terjadi. Reaksi positif terjadi apabila terdapat perubahan warna pada media dari merah kecoklatan menjadi warna ungu, sedangkan reaksi negatif menunjukkan adanya perubahan warna media menjadi warna kuning (Suharjo, 2013).

#### **f. Uji casein**

Uji casein bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis protein. Pengujian ini menggunakan media *Skim Milk Agar*. Bahan yang digunakan yaitu 10 g *Skim Milk Agar* dan 1000 mL akuades. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam dan digoreskan pada cawan petri yang sudah berisi media *Skim Milk Agar*, lalu diinkubasi selama

24-48 jam pada suhu 28<sup>0</sup>C. Reaksi positif ditunjukkan oleh adanya zona bening di sekitar goresan bakteri, sedangkan reaksi negatif tidak menunjukkan adanya zona bening (Fardiaz, 1992).

#### **g. Uji hipersensitif**

Uji hipersensitif dilakukan untuk mengetahui respon daun tanaman tembakau terhadap isolat bakteri yang telah diinokulasi pada daun tersebut. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam, disuspensikan menggunakan 0,5 mL air steril, dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL. Kemudian suspensi dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Suspensi bakteri sebanyak 0,5 mL diambil dan disuntikkan pada daun tembakau melalui tulang daun sekunder atau tepatnya diantara kedua epidermis daun tembakau menggunakan jarum suntik. Area bagian tersuntik diberikan label dan diinkubasi selama 24-48 jam. Apabila setelah diinkubasi terbentuk gejala nekrotik pada area inokulasi, maka reaksi ini menunjukkan reaksi positif, sedangkan tidak adanya gejala nekrotik, maka reaksi ini menunjukkan reaksi negatif (Baroroh *et al.*, 2014).

#### **h. Uji soft rot**

Uji *soft rot* dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri yang menyebabkan busuk lunak pada tanaman pepaya termasuk dalam bakteri penyebab busuk lunak atau tidak. Pengujian dilakukan dengan mengiris umbi kentang setebal 1 cm, irisan umbi tersebut diletakkan dalam gelas beaker dan direndam dengan air mengalir selama 30 menit. Setelah itu, umbi kentang ditiriskan dan masing-masing irisan kentang diletakkan pada cawan petri yang diberi tisu dan sudah dilembabkan dengan aquades. Satu ose isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil dan digoreskan pada bagian tengah permukaan kentang. Kemudian umbi kentang diinkubasi selama 24-48 jam dan dilakukan pengamatan. Reaksi positif pengujian ini ditunjukkan oleh adanya pembusukan dan lendir pada umbi kentang (Lelliot and Stead, 1987).

### **i. Uji kemampuan tumbuh pada beberapa suhu**

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri apakah dapat tumbuh dalam suhu 39<sup>0</sup>C dan 40<sup>0</sup>C. Uji ini dilakukan menggunakan media *Yeast Pepton* (YP) dengan bahannya 10 g pepton, 5 g *yeast* dan 1000 mL akuades. Satu ose bakteri yang sudah berumur 24 jam diambil dan disuspensikan ke dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL yang telah berisi 0,5 mL air steril. Suspensi tersebut dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Kemudian, suspensi diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi media YP. Setelah itu, bakteri diinkubasi dalam *waterbath* selama 3-7 hari yang dilakukan secara bergantian pada suhu 39<sup>0</sup>C dan 40<sup>0</sup>C. Reaksi positif uji ini yaitu setelah dilakukan inkubasi akan terjadi perubahan warna media dari warna kuning menjadi putih keruh (Oktaviana, 2018).

### **j. Uji kemampuan untuk menggunakan beberapa jenis bahan organik**

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan tumbuh bakteri pada bahan organik tertentu. Media yang digunakan adalah media Ayer's dengan komposisi NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g, KCl 0,2 g, MGSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,2 g, Bromthymol Blue (BTB) 2% sebanyak 1,8 g, dan air akuades sebanyak 1000 mL. Bakteri diuji dengan beberapa bahan organik, yaitu *Citic acid monohydrate*, *Tri sodium citrate dehydrate*, *Cisaconitic acid*, *D-raffinose*, *D-arabinose*, *D-melibiose*, *Myo-innositol*, *Mannitol*, *Strach*, *Glycerol*, *Lactose*, *Sortic acid*, *D-tartrate*, *M-tartrate*, *5-ketogluconate*, dan *Inulin*. Pengujian dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam, masukkan dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL yang berisi 0,5 mL air steril, dan homogenkan dengan *rotamixer*. Setelah itu, bakteri diambil menggunakan jarum preparat dan ditusukkan pada media Ayer's sampai dasar tabung, lalu diinkubasi pada suhu 28<sup>0</sup>C selama 21 hari untuk dilakukan pengamatan. Reaksi positif terjadi ketika adanya perubahan warna media dari hijau menjadi kuning atau biru dengan menyesuaikan bahan organik yang digunakan. Reaksi tersebut menunjukkan bahwa bakteri mampu menggunakan bahan organik tersebut (Suharjo, 2013).

### 3.3.2.2 Identifikasi molekuler

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

#### a. Ekstraksi DNA

Ekstraksi bakteri dilakukan secara manual dengan mengambil satu ose bakteri berumur 24 jam dari media PPGA dan dipindahkan ke dalam tube 1,5 mL. Selanjutnya, 20  $\mu$ L TE ditambahkan menggunakan mikropipet dan ditambahkan 30 mL SDS 10% + 3  $\mu$ L protinase K, lalu dihomogenkan. Tube yang sudah berisi bakteri diinkubasi di *waterbath* dengan suhu 37°C selama 1 jam, selanjutnya ditambahkan 100  $\mu$ L NaCl dan dihomogenkan secara perlahan. CTAB 2% ditambahkan sebanyak 80  $\mu$ L dan diinkubasi kembali pada suhu 65°C selama 10 menit di *waterbath*. Setelah itu, tube ditambahkan 720  $\mu$ L *Chloroform Isoamyl Alcohol* (CI) (24:1) dan dihomogenkan secara kuat menggunakan tangan, kemudian disentrifuse 14.000 rpm selama 5 menit.

Hasil sentrifuse diambil supernatan, diletakkan ke dalam tube 1,5 mL dan ditambahkan *Phenol Chloroform Isoamylalcohol* (PCI) (25:24:1) dengan volume sama seperti supernatan. Supernatan yang telah ditambahkan tersebut dihomogenkan dan disentrifuse 14.000 rpm selama 5 menit, lalu supernatan diambil dan dipindahkan dalam tube 1,5 mL yang baru. Setelah itu, supernatan ditambahkan isopropanol 60% dengan volume sama dengan supernatan, kemudian dihomogenkan kembali secara perlahan dan diinkubasi dalam freezer selama 10 menit. Hasil inkubasi selanjutnya disentrifuse 14.000 rpm selama 5 menit. Setelah itu, supernatan dalam tube dibuang dan ditambahkan alkohol 70% dingin sebanyak 400  $\mu$ L, kemudian disentrifuse kembali selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Selanjutnya alkohol dibuang dan pelet diinkubasi selama 1 hari pada suhu ruang. Setelah kering, tube berisi pelet ditambahkan 20  $\mu$ L TE.

Melihat ada tidaknya DNA yang didapat dilakukan dengan elektroforesis dan divisualisasikan menggunakan *Digidoc Imaging System*.

### **b. Amplifikasi DNA dengan PCR**

Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR dilakukan dengan memasukkan *Master Mix (Red Mix)* sebanyak 12,5  $\mu\text{L}$  ke dalam tabung eppendorf 100  $\mu\text{L}$ , kemudian primer 16SrDNA yaitu fD1 dan rP2 ditambahkan masing-masing sebanyak 1  $\mu\text{L}$ , larutan ekstrak DNA bakteri sebanyak 1  $\mu\text{L}$  dan akuades steril 9,5  $\mu\text{L}$ . Setelah larutan sudah dibuat, dilakukan amplifikasi menggunakan mesin PCR. Penggunaan PCR ada lima tahapan, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Tahapan inisiasi adalah tahapan yang dilakukan pada suhu 95°C selama 5 menit dan hanya dalam 1 kali siklus, dilanjutkan dengan 30 siklus tahap denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit. Tahapan selanjutnya yaitu annealing pada suhu 58°C selama 1 menit dan ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit, serta tahap terakhir yaitu elongasi pada suhu 72°C selama 5 menit dalam 1 kali siklus (Suharjo *et al.*, 2014).

### **c. Elektroforesis dan visualisasi hasil PCR**

Elektroforesis dilakukan dengan pembuatan gel agarose 0,5% yang sudah ditambah 1  $\mu\text{L}$  ethidium bromide (ETBr 10 mg/mL), kemudian dituangkan pada cetakan gel 20x16x1 cm<sup>3</sup> dengan sisir. Gel agarose dimasukkan dalam alat elektroforesis yang berisi larutan TBE. Pada sumur pertama dalam agarose dimasukkan 3  $\mu\text{L}$  Marker DNA *ladder*. Pada sumur berikutnya diisi oleh 3  $\mu\text{L}$  hasil DNA dan dilakukan elektroforesis selama 60-70 menit dengan tegangan 50 volt. Hasil PCR ditunggu hingga DNA bergerak ke bawah sampai di tengah-tengah baris 3 dan 4 dari ujung lawan. Hasil elektroforesis dapat dilihat dengan *Digidoc Imaging System*, kemudian hasilnya disimpan dalam komputer dan keberadaan profil DNA antar lokus gen dapat terlihat berupa pita terang (Oktaviana, 2018).

#### **d. Sekuensing dan analisis hasilnya**

Hasil PCR yang diperoleh dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk dilakukan sekuensing. Hasil sekuensing yang sudah diperoleh akan dianalisis menggunakan program MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016).

#### **3.3.3 Uji kisaran inang**

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui inang alternatif isolat bakteri patogen selain pada tanaman pepaya. Pengujian dilakukan dengan mengambil satu ose isolat bakteri berumur 24 jam dan dimasukkan dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL berisi air steril 0,5 mL. Kemudian suspensi bakteri dihomogenkan dengan *rotamixer* dan bakteri disuntikkan pada tanaman uji yang sudah dibasahi menggunakan tisu yang diberi akuades. Apabila bagian tanaman yang telah disuntik dengan isolat bakteri menunjukkan gejala busuk sebelum atau saat inkubasi hari ke-7, maka reaksi tersebut menunjukkan isolat bakteri dapat menyebabkan busuk lunak pada beberapa tanaman yang digunakan.

Pengujian kisaran inang dipilih sebanyak 22 jenis tanaman yang sering terinfeksi patogen baik pada bagian batang, daun, buah, maupun umbi. Pengujian infeksi patogen bagian batang diinokulasikan pada tanaman pakcoy, kubis, daun bawang, dan sawi putih. Pengujian infeksi patogen bagian daun diinokulasikan pada tanaman lidah buaya. Pengujian infeksi patogen bagian buah diinokulasikan pada jenis tanaman antara lain timun, terung, paprika, cabai, tomat, seledri, kacang panjang, buncis, labusiam, okra, gambas, dan pare. Pengujian infeksi patogen pada bagian umbi, isolat diinokulasikan pada jenis tanaman wortel, lobak, bawang bombay, bawang merah, dan bawang putih.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Bakteri penyebab busuk lunak tanaman pepaya memiliki karakteristik antara lain Gram negatif, bersifat fermentatif, *lechitinase* negatif, hipersensitif lima isolat positif dan dua isolat negatif, *soft rot* positif, tidak berpendar pada media King's B negatif, *arginine dihydrolase* positif, casein positif, mampu tumbuh pada suhu 39<sup>0</sup>C dan 40<sup>0</sup>C, serta mampu menggunakan *Citic acid monohydrate*, *Tri sodium citrate dehydrate*, *Cisaconitic acid*, *D-raffinose*, *D-arabinose*, *D-melibiose*, *Myo-innositol*, *Mannitol*, *Strach*, *Glycerol*, dan *Lactose* sebagai sumber karbonnya.
2. Penyakit busuk lunak dari kelompok isolat bakteri BP3.1, BP4.1, dan BP7.2 pada tanaman pepaya yang ditemukan di Lampung Timur disebabkan oleh bakteri spesies *Pectobacterium aroidearum*.
3. Bakteri penyebab busuk lunak pada tanaman pepaya mampu menginfeksi beberapa jenis tanaman sayuran yaitu seledri, wortel, lidah buaya, sawi putih, kubis, lobak, labusiam, timun, gambas, pare, buncis, daun bawang, bawang merah, bawang putih, bawang bombay, cabai, paprika, tomat, terung, kacang panjang, dan okra.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang kisaran inang pada beberapa tanaman buah-buahan dan tanaman hias terhadap bakteri busuk lunak yang menyerang tanaman pepaya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, N. S., Wahyuni, S., dan Khaeruni, A. R. 2017. Pengujian sifat amilolitik dan proteolitik dari isolat bakteri asam laktat (BAL) hasil fermentasi air cucian beras merah (*Oryza nivara*) kultivar wakawondu. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*. 2(5): 759-769.
- Amin, N. M., Bunawan, H., Redzuan, R. A., and Jaganath, I. B. S. 2011. *Erwinia mallotivora* sp. a new pathogen of papaya (*Carica papaya*) in Peninsular Malaysia. *International Journal of Molecular Sciences*. 12(1): 39-45.
- Amrulloh, M. K., Addy, H. S., dan Wahyuni, W. S. 2021. Karakterisasi fisiologis dan biokimia penyebab penyakit bakteri pembuluh kayu pada tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) di PT Tirta Harapan. *Jurnal Proteksi Tanaman Tropis*. 2(1): 1-7.
- Apriyanthi, D. P. R. V., Laksmi, A. S., dan Widayanti, N. 2022. Identifikasi bakteri kontaminan pada gelang tri datu. *Jurnal Biologi Makassar*. 7(2): 24-33.
- Asril, M. dan Leksikowati, S. S. 2019. Isolasi dan seleksi bakteri proteolitik asal limbah cair tahu sebagai dasar penentuan agen pembuatan biofertilizer. *Journal of Islamic Science and Technology*. 5(2): 86-99.
- Arwin, M., Ijong, F. G., dan Tumbol, R. 2016. Characteristics of *Aeromonas hydrophila* isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Science and Management Journal*. 4(2): 52-55.
- Badan Pusat Statistik. 2022. Produksi Tanaman Buah-buahan Tahun 2021. <https://www.bps.go.id/indicator/55/62/1/produksi-tanaman-buah-buahan.html>. Diakses tanggal 8 Agustus 2022.
- Baroroh, H. B., Aini, L. Q., dan Abadi, A. L. 2014. Uji efektivitas antibakteri ekstrak daun dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap blood disease bacterium. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*. 2(2): 87-97.
- Cahyono, B. 2017. *Pepaya (Budi Daya Intensif Pertanian Organik dan Anorganik)*. Srikandi Empat Widya Utama. Bandung. 122 hlm.

- Danaatmadja, Y., Subandiyah, S., Joko, T., dan Sari, C. U. 2009. Isolasi dan karakterisasi *Ralstonia syzygii*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15(1): 7-12.
- Desnidasari. 2015. Karakterisasi dan Uji Kisaran Inang Bakteri Penyebab Penyakit Busuk Lunak pada Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L., Merr.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 38 hlm.
- Fajar, I., Perwira, I. Y., dan Ernawati, N. M. Pengaruh derajat keasaman (pH) terhadap pertumbuhan bakteri toleran kromium heksavalen dari sedimen mangrove di Muara Tukad Mati, Bali. *J. Current Trends In Aquatic Science*. 5(1): 1-6.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 320 hlm.
- Fauziah, Q., Ramdan, E. P., dan Yukti, A. M. 2022. Deteksi bakteri patogen terbawa benih kedelai dengan metode *liquid assay*. *Jurnal Agronida*. 8(1): 9-15.
- Fitria, R. 2022. Karakterisasi, Identifikasi, dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Busuk Lunak Buah Pepaya (*Carica papaya* L.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung. 36 hlm.
- Food and Agriculture Organization. 2022. Production of Papayas : Top 10 Producers. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Diakses tanggal 1 September 2022.
- Handoko, Y. A., Kristiawan, Y. A., dan Agus, Y. H. 2020. Isolasi dan karakterisasi biokimia bakteri pembusuk buah cabai rawit. *J. Teknologi Pangan*. 11(1): 34-41.
- Hardiansyah, M. Y., Yunus, M., dan Abdul, M. J. 2020. Identifikasi plant growth promoting rhizobacteria pada rizosfer bambu duri dengan Gram KOH 3%. *Agrotechnology Research Journal*. 4(1): 41-46.
- Imanda, N., dan Suketi, K. 2018. Pengaruh jenis media tanam terhadap pertumbuhan bibit buah pepaya (*Carica papaya* L.) Genotipe 3, IPB 4, dan IPB 9. *Jurnal Agrohorti*. 6(1): 99-111.
- Indriyani, N. L. P., Affandi, dan D. Sunarwati. 2008. *Pengelolaan Kebun Pepaya Sehat*. Balai Penelitian Buah Tropika. 22 hlm.
- Joko, T., Kusumandari, N., dan Hartono, S. 2011. Optimasi metode PCR untuk deteksi *Pectobacterium carotovorum*, penyebab penyakit busuk lunak angrek. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 17(2): 54-59.

- Juwita, R., Tyas, E., Sejati, D. A. P., dan Simanjuntak, A. V. S. 2022. Inovasi ekstraksi pepaya sebagai enzim papain. *Jurnal MIPA dan Pembelajarannya*. 2(4): 300-306.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2022. Produksi Pepaya di Indonesia Tahun 2015-2019. <https://www.pertanian.go.id/home/?show=page&act=view&id=61>. Diakses tanggal 4 September 2022.
- Kumar, A. M. S., Hunjan, H. Kaur, P. P., Singh 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.
- Mangunwardoyo, W., Ismayasari, R., dan Riani, E. 2009. Aktivitas kitinase, lesitinase, dan hemolisin isolat dari bakteri ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) yang dikultur dalam keramba jaring apung waduk jatiluhur, purwakarta. *J. Riset Akuakultur*. 4(2): 257-265.
- Masnilah, R., Abdul, L. A., Tutung, H. A., dan Luqman, Q. A. 2013. Karakterisasi bakteri penyebab penyakit hawar daun edamame di jember. *J. Berkala Ilmiah Pertanian*. 1(1):10-14.
- Masyahit, M., Sijam, K., Awang, Y., Ghazali, M., dan Satar, M. 2009. First report on bacterial soft rot disease on dragon fruit (*Hylocereus* sp.) cause by enterobacter cloacein peninsular Malaysia. *Journal of Agriculture and Biology*. 11(6): 659-666.
- Noriha, Bunawan, H., Redzuan, R. A., and Jaganath, I. B. S. 2011. *Erwinia mallotivora* sp., a new pathogen of papaya (*Carica papaya*) in Peninsular Malaysia. *International Journal of Molecular Sciences*. 12: 39-45.
- 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.
- Oviana, T., Aeny, N. T., dan Prasetyo, J. 2015. Isolasi dan karakterisasi penyebab penyakit busuk buah pada tanaman nanas (*Ananas comosus* L. Merr.). *Jurnal Agrotek Tropika*. 3(2): 220-225.
- Paweninggalih, L. L. 2017. Karakterisasi Bakteri Penyebab Penyakit Busuk Lunak Pada Tanaman Bunga Krisan (*Chrysanthemum* sp.). *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang. 37 hlm.

- Powers, E. M. 1995. Efficacy of the ryu nonstaining KOH technique for rapidly determining gram reactions of foodborne and waterborne bacteria and yeasts. *Applied Environment Microbiology*. 61(10): 3756-3758.
- Pratama, N. W. 2016. Penyakit pada Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) yang Disebabkan Oleh Penyakit Busuk Bakteri (*Erwinia papayae*). Paper. Universitas Sumatera Utara. Medan. 18 hlm.
- Purwanto, D., Yuntarso, A., dan Wiwis, D. 2021. Analisa bakteri total pada buah pepaya (*Carica papaya* L.) yang di steril menggunakan metode autoclave. *Jurnal SainHealth*. 5(1): 25-29.
- Putri, U. 2016. *Untung Besar dari Berkebun Pepaya*. Akar Publishing. Jawa Barat. 104 hlm.
- Sabar, M. dan Inayah. 2016. Analisis kandungan bahan organik dan bakteri patogen (*E. coli*) di pelabuhan bastiong dan pantai kayu merah kota ternate. *Jurnal Techno*. 5(1): 64-75.
- Sari, D. P., Amir, H., dan Elvia, R. 2020. Isolasi bakteri dari tanah tempat pembuangan akhir (TPA) air sebakul sebagai agen biodegradasi limbah plastik polyethylene. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 4(2): 98-106.
- 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.
- Sianipar, G. W. 2019. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit pada Akar Pepaya (*Carica papaya* L.). *Skripsi*. Universitas Medan Area. Medan. 44 hlm.
- Sibarani, G. E. 2018. Respon 3 Varietas Pakcoy (*Brassica rapa* L.) terhadap Simulasi Cekaman Salinitas. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang. 35 hlm.
- Simamora, C. J. K. dan Sukmawati. 2018. Identification and characterization of PrTK-2 bacterial isolate producing extracellular protease enzyme from rubber seeds tempeh. *J. Bioscience*. 2(1): 79-88.
- Sogandi. 2019. Biologi Molekuler : Identifikasi Bakteri Secara Molekuler. *Skripsi*. Universitas 17 Agustus 1945. Jakarta. 60 hlm.
- Solichah, Y. R. 2011. *Eksplorasi Bakteri dan Cendawan yang Berasosiasi dengan Busuk Basah pada Buah Pepaya (Carica papaya L.)*. Departemen Proteksi Tanaman IPB Press. Bogor. 43 hlm.
- Stanto, N. H. 2014. Pengendalian Suhu dan Waktu Proses Fermentasi dalam Pembuatan Yoghurt Berbasis *Programmable Logic Control dan Human Machine Interface*. Publikasi Jurnal Skripsi Universitas Brawijaya. Malang.

- 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.
- Suharjo, R. 2015. Sekilas tentang klasifikasi dan teknik identifikasi *Erwinia chrysanthemi*, *E. carotovora*, dan *E. ananatis*. *Seminar Regional Ilmu Penyakit Tumbuhan*. 56-58.
- Suharjo, R., Oktaviana, H, A., Aeny, T, N., Ginting, C., Wardhana, R, A., Nugroho, A., dan Ratdiana. 2021. *Erwinia mallotivora* is the causal agent of papaya bacterial crown rot disease in Lampung Timur, Indonesia. *Journal Plant Protection Science*. 57(2): 122-133.
- Suketi, K., Poerwanto, R., Sujiprihati, S., Sobir, dan Widodo, W. D. 2010. Studi karakter mutu buah pepaya IPB. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 1(1): 17-26.
- Sunarjono, H. 2005. *Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah*. Penebar Swadaya. Jakarta. 173 hlm.
- Suriani, S., Soemarno, dan Soeharjono. 2013. Pengaruh suhu dan pH terhadap laju pertumbuhan lima isolat bakteri anggota genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari ekosistem sungai tercemar deterjen di sekitar kampus Universitas Brawijaya. *Jurnal Pembangunan dan Alam Lestari*. 3(2): 1-5.
- Thornley, M. J. 1960. The differentiation of *Pseudomonas* from other Gram negative bacteria on the basis arginine metabolism. *Journal Application Bacteriology*. 1: 37-52.
- Tito, I. M. 2014. *Isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik yang terdapat pada cangkang lobster air tawar (Cherax quadricarinatus)*. Skripsi. Universitas Airlangga. Surabaya. 46 hlm.
- Tyas, W. S. 2008. Evaluasi Keragaan Pepaya (*Carica papaya* L.) di Enam Lokasi di Boyolali. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 42 hlm.
- Usman, W. S. 2015. Bakteri Asosiasi Karang Yang Terinfeksi Penyakit *Brown Band* (BRB) di Perairan Pulau Barrang Lompo Kota Makassar. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Warisno. 2003. *Budi Daya Pepaya*. Kanisius. Yogyakarta. 74 hlm.
- Yudiarti, T. 2007. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Graha Ilmu. Yogyakarta. 117 hlm.