

**KARAKTERISASI BIOKIMIA, IDENTIFIKASI MOLEKULER,
PATOGENISITAS, DAN KISARAN INANG *Pectobacterium* sp. PATOGEN
BUSUK BATANG JAGUNG (*Zea mays*)**

Skripsi

Oleh

Oka Emaniyar



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

KARAKTERISASI BIOKIMIA, IDENTIFIKASI MOLEKULER, PATOGENISITAS, DAN KISARAN INANG *Pectobacterium* sp. PATOGEN BUSUK BATANG JAGUNG (*Zea mays*)

Oleh

OKA EMANIYAR

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik, identitas, patogenisitas, dan inang alternatif penyebab penyakit busuk batang jagung. Penelitian ini dilaksanakan pada Agustus 2022 sampai Juni 2023 di Laboratorium Bioteknologi dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Sebanyak tiga isolat bakteri yang diduga menjadi penyebab busuk batang jagung digunakan dalam penelitian ini. Karakterisasi dan identifikasi dilakukan berdasarkan hasil uji biokimia dan analisis sekuens *RecA*. Uji kemampuan bakteri *pectobacterium* sp. dalam menginfeksi beberapa varietas tanaman jagung dilakukan pada lima varietas. Uji kisaran inang dilakukan pada beberapa macam spesies tanaman. Hasil uji biokimia memperlihatkan bahwa isolat bakteri merupakan Gram negatif, bersifat fermentatif, *lechinase* negatif, hipersensitif dua isolat positif dan tiga isolat negatif, *soft rot* positif, tidak berpendar pada media King's B, *arginine dihydrolase* tiga isolat positif dan dua isolat negatif, casein positif, mampu tumbuh pada suhu 39°C tapi tidak mampu tumbuh pada suhu 40°C, mampu menggunakan *D-arabinose*, *D-tartrate*, *Glycerol*, *Inulin*, *Lactose*, *Cisaconitic acid*, *D-melibiose*, *D-raffinose*, *5-ketogluconate*, *Citic acid monohydrate*, *Mannitol*, *M-tartrate*, *Myo-innositol*, *Strach*, *Sortic acid*, dan *Tri sodium citrate dihydrate* sebagai sumber karbonnya. Hasil identifikasi molekuler menggunakan sekuen *recA* menunjukkan isolat yang diuji berada dalam kelompok *Pectobacterium aroidearum*. Hasil uji kemampuan bakteri *pectobacterium* sp. dalam menginfeksi beberapa varietas tanaman jagung menunjukkan hasil bahwa tiga isolat bakteri mampu menginfeksi pada semua varietas yang diuji. Hasil uji kisaran inang menunjukkan tiga isolat bakteri mampu menginfeksi bawang merah, bawang putih, bawang bombay, daun bawang, seledri, wortel, lobak putih, labu siam, cabai, paprika, kacang panjang, buncis, okra, gambas, timun, pak coy, pare, lidah buaya, sawi putih, kubis, tomat.

Kata Kunci: identifikasi, jagung, karakterisasi, patogenisitas, dan *P. aroidearum*

**KARAKTERISASI BIOKIMIA, IDENTIFIKASI MOLEKULER,
PATOGENISITAS, DAN KISARAN INANG *Pectobacterium* sp. PATOGEN
BUSUK BATANG JAGUNG (*Zea mays*)**

Oleh

OKA EMANIYAR

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 BOKIMIA,
IDENTIFIKASI MOLEKULER,
PATOGENISITAS, DAN KISARAN
INANG *Pectobacterium* sp. PATOGEN
BUSUK BATANG JAGUNG (*Zea mays*)**

Nama Mahasiswa : **Oka Emaniyar**

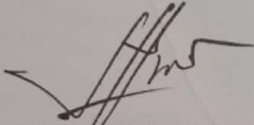
Nomor Pokok Mahasiswa : **1914121026**

Jurusan : **Agroteknologi**

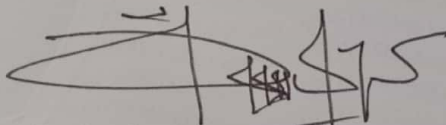
Fakultas : **Pertanian**

MENYETEJUI

1. Komisi Pembimbing

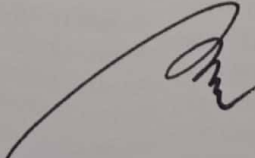


Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D.
NIP 198106212005011003



Purba Sanjaya, S.P., M.Si.
NIP 198805112019031012

2. Ketua Jurusan Agroteknologi

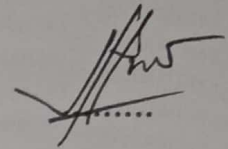


Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si.
NIP 196305081988112001

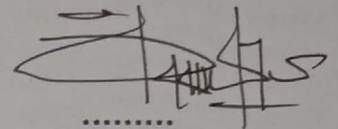
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

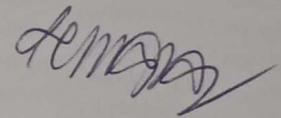


Sekretaris : **Purba Sanjaya, S.P., M.Si.**



Penguji

Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P.**

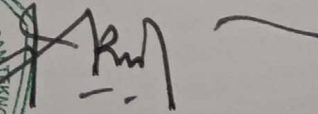


2. Dekan Fakultas Pertanian



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

NIP. 196110201986031002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **31 Agustus 2023**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“KARAKTERISASI BOKIMIA, IDENTIFIKASI MOLEKULER, PATOGENISITAS, DAN KISARAN INANG *Pectobacterium* sp. PATOGEN BUSUK BATANG JAGUNG (*Zea mays*)”** 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, 1 Agustus 2023

Penulis



METERAI
TEMPEL
B71AKX608358139

Oka Emaniyar

NPM 1914121026

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Marang, Kecamatan Pesisir Selatan, Kabupate Pesisir Barat pada 14 Oktober 2001. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Amrullah, S.Pd. dan Ibu Mesra Susanti. Penulis telah menyelesaikan pendidikan SD di SDN 57 Krui pada tahun 2013, SMPN 15 Krui pada tahun 2016, SMAN 1 Ngambur pada tahun 2019. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai Mahasiswa Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Jurusan Agroteknologi melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Pada tahun 2022 penulis telah melaksanakan Praktik Umum di Suneng Hydrofarm, perum Korpri, Sukarame, Bandar Lampung. Pada tahun 2022 penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Pelita Jaya, Kecamatan Pesisir Selatan, Kabupaten Pesisir Barat. Selama menjadi mahasiswa, penulis mendapatkan bantuan biaya pendidikan Bidikmisi, mengikuti kelas Permata-Sari di Universitas Riau, asisten praktikum mata kuliah Biologi II dan Teknik Pengendalian Hama Tanaman. Selain itu, penulis juga aktif dalam organisasi Persatuan Mahasiswa Agroteknologi (Perma AGT) sebagai anggota bidang Penelitian dan Pengembangan Keilmuan periode 2021 dan aktif dalam organisasi Forum Komunikasi Bidikmisi Universitas Lampung (FORKOM BIDIKMISI) sebagai anggota divisi Pembinaan dan Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa (PPSDM) periode 2021 dan kepala divisi Pembinaan dan Pengembangan Sumber Daya Mahasiswa (PPSDM) periode 2022.

PERSEMBAHAN

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Karakterisasi Biokimia, Identifikasi Molekuler, Patogenisitas, dan Kisaran Inang *Pectobacterium* sp. Patogen Busuk Batang Jagung (*Zea mays*)**” Dengan penuh rasa syukur karya ini ku persembahkan sebagai ucapan terima kasihku untuk :

1. Bapak dan Ibu ku tersayang, Amrullah dan Mesra Susanti yang senantiasa memberikan doa, dukungan, motivasi, dan semangat yang tiada henti selalu diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan pendidikan.
2. Bapak Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D. yang selalu memberikan bimbingan dan memfasilitasi seluruh kegiatan penelitian kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
3. Keluarga besar Agroteknologi 2019 yang selalu memberikan semangat dan dukungan serta memberikan cerita kepada penulis selama pendidikan.
4. Almamater tercinta Universitas Lampung yang telah memberikan beasiswa penuh selama penulis menempuh pendidikan.

MOTTO

“Berbaik sangkalah (husnudzon) untuk semua hal yang kamu tidak senangi,
karena itu akan membuat mu lebih ikhlas”

(Oka Emaniyar, 2023)

“Angin tidak berhembus untuk menggoyangkan pepohonan, melainkan menguji
kekuatan akarnya”

(Ali bin Abi Thalib)

“Allah tidak akan menyegerakan sesuatu kecuali itu baik, dan tidak pula
melambat-lambatkan sesuatu kecuali itu yang terbaik”

(Anonymous)

SANWACANA

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

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang memfasilitasi mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Lampung untuk melaksanakan penelitian.
2. Prof. Dr. Ir. Sri Yusnaini, M.Si. selaku Ketua Jurusan Agroteknologi yang telah memberikan saran, dukungan, dan doa.
3. Radix Suharjo, S.P., M.Agr., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan banyak masukan, saran, motivasi serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Purba Sanjaya, S.P. M.Si. selaku Dosen Pembimbing Kedua yang telah memberikan banyak masukan, saran, motivasi serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan banyak masukan, saran, motivasi, serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

6. Ir. Nur Yasin, M. Si. sebagai Dosen Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan saran, materi, dan semangat selama penulis menempuh pendidikan.
7. Kedua orang tua Bapak Amrullah dan Ibu Mesra Susanti yang telah memberikan banyak nasihat, dukungan, doa, dan semangat yang membangun selama penulis menempuh pendidikan.
8. Adik-adik ku, April Rizqi Prawira dan Yona Faradiche yang senantiasa memberikan semangat kepada penulis.
9. Keponakan ku tersayang, Arumi Nasha Razeta yang selalu memberikan kebahagiaan kepada penulis.
10. Sahabat ku Efrillian yang selalu memberikan dukungan, dan senantiasa mendengarkan keluh kesah penulis dalam segala hal.
11. Angga Padela, S.Kom. yang senantiasa memberikan dukungan secara moril dan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. Tim penelitian penulis Hevira Intan Sari yang senantiasa berkenan memberikan bantuan, dan memberikan dukungan kepada penulis.
13. Teman-teman penelitian Iis Nurdayanti, Andreas Putra Wijaya, dan Ichwan Asfa yang banyak memberikan bantuan dan semangat kepada penulis.
14. Keluarga Besar Biotek mba Tari, mba Yeyen, bang Nando, mba Safira, Devi Ariza, Dita Meliana, Dita Oktaviani, Hafiz, Haura, Hikmah, Agung, Ketut, Anggraini, Puja, Suci, Anisa, Vina, Carsinah, Ica, Lionita, Lisa, Reni, Salsabila, Syifa, bang Sem, Mas Helmi, terima kasih atas saran dan bantuan selama penulis melaksanakan penelitian.
15. Keluarga besar Jurusan Agroteknologi angkatan 2019 yang telah memberikan cerita, semangat, dan dukungan kepada penulis selama menempuh pendidikan.
16. Teman-teman seperjuangan, Denita Eptiana dan Dona Julita yang selalu kebersamai dan memberikan semangat selama perkuliahan.
17. Induk semang P3 di Wonoharjo, Tanggamus Bapak Sukimo dan Ibu Suratini yang selalu memberikan doa, dukungan, dan nasihat kepada penulis.

18. Teman-teman pimpinan Forum Komunikasi Bidikmisi periode 2022, Rizki, Dewi, Rani, Okta Inggil, Dimas, Desi, Tina, Ajeng, Vina, Max, Bella, Novita, Mulyati, Della, Diana, yang telah memberikan cerita dan memberikan semangat kepada penulis.
19. Teman-teman lainnya yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas dukungan dan doa yang telah diberikan 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, 1 Agustus 2023
Penulis

Oka Emaniyar

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Kerangka Pemikiran.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Jagung.....	4
2.1.1 Taksonomi dan morfologi tanaman jagung.....	5
2.1.2 Syarat tumbuh tanaman jagung.....	6
2.2 Penyakit Busuk Batang Tanaman Jagung.....	6
2.2.1 Gejala penyakit.....	6
2.2.2 Penyebab penyakit.....	7
2.2.3 Kisaran inang.....	7
III. BAHAN DAN METODE	8
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	8
3.2 Bahan dan Alat.....	8
3.3 Metode Penelitian.....	9
3.3.1 Uji patogenisitas.....	9
3.3.2 Karakterisasi penyebab penyakit.....	10
3.3.3 Identifikasi molekuler patogen busuk batang tanaman jagung	14
3.3.4 Kemampuan bakteri <i>Pectobacterium</i> sp. dalam menginfeksi	
beberapa varietas tanaman jagung.....	16
3.3.5 Kisaran Inang.....	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1 Hasil Penelitian.....	18
4.1.1 Uji patogenisitas.....	18
4.1.2 Karakterisasi penyebab penyakit.....	19
4.1.3. Identifikasi molekuler.....	27

4.1.4 Kemampuan bakteri <i>Pectobacterium</i> sp. dalam menginfeksi beberapa varietas tanaman jagung	28
4.1.5 Kisaran inang.....	30
4.2 Pembahasan.....	36
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	45
5.1 Simpulan.....	45
5.2 Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Isolat yang digunakan dalam penelitian.....	9
2. Hasil uji kemampuan bakteri penyebab busuk batang jagung untuk menggunakan beberapa jenis bahan organik.....	25
3. Hasil uji kemampuan bakteri <i>Pectobacterium</i> spp. dalam menginfeksi beberapa varietas tanaman jagung.....	28
4. Gejala busuk pada batang tanaman jagung yang telah diinokulasi bakteri pada uji kemampuan bakteri <i>Pectobacterium</i> sp. dalam menginfeksi beberapa varietas tanaman jagung.....	29
5. Hasil uji kisaran inang busuk batang jagung.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gejala busuk pada batang tanaman jagung yang telah diinokulasi Bakteri.....	18
2. Hasil <i>soft rot</i> pada umbi kentang 24 jam setelah inokulasi.....	19
3. Reaksi gram negatif pada uji gram adanya lendir setelah ditetesi KOH 3%.....	19
4. Perubahan warna media menjadi kuning pada uji O/F menunjukkan adanya sifat fermentatif pada lima isolat yaitu (A) BHT 2.1, (B) JAGUNG L.9, (C)RICE 3.3.2, (D)REP1.S2 (5)A, (E)REP1.S4 (5)A.....	20
5. Gejala nekrotik pada area daun yang diinokulasi isolat bakteri menunjukkan reaksi positif pada uji hipersensitif.....	21
6. Tidak terbentuknya zona putih buram disekitar koloni bakteri menunjukkan reaksi negatif pada uji lechitinase.....	21
7. Pembusukan pada umbi kentang menunjukkan reaksi positif pada uji <i>soft rot</i>	22
8. Warna putih keruh pada media menunjukkan reaksi positif dan kuning bening menunjukkan reaksi negatif pada suhu 39 °C dan 40 °C.....	23
9. Tidak adanya warna pendar menunjukkan reaksi negatif pada uji King's B	23
10. Perubahan warna media menjadi ungu menunjukkan reaksi positif dan warna kuning menunjukkan reaksi negatif pada uji arginine dihydrolase.....	24
11. Terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri menunjukkan reaksi positif pada uji casein.....	25

12. Perubahan warna media menjadi biru atau kuning menunjukkan reaksi positif pada uji kemampuan bakteri untuk menggunakan bahan organik.....	26
13. Pohon filogenik hasil analisis sekuens <i>recA</i> yang menunjukkan kode isolat Rep1.S2 (5)A, Rep1.S2 (5)A, Jagung L.9, Rice 3.3.2 memiliki kekerabatan yang paling dekat dengan <i>Pectobacterium aroidearum</i> dan BHT 2.1 memiliki kekerabatan yang paling dekat dengan <i>Pectobacterium carotovorum</i>	27
14. Hasil uji soft rot pada umbi kentang.....	30
15. Gejala busuk lunak kisaran inang pada famili <i>Asphodelaceae</i> , <i>Cucurbitaceae</i> , <i>Liliaceae</i>	34
16. Gejala busuk lunak kisaran inang pada famili <i>Malvaceae</i> , <i>Leguminosae</i> , <i>Apiaceae</i> , <i>Brassicaceae</i> , <i>Fabaceae</i>	35
17. Gejala busuk lunak pada kisaran inang famili <i>Solanaceae</i>	36

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jagung (*Zea mays*) termasuk sumber karbohidrat kedua setelah beras sehingga jagung merupakan salah satu bahan pangan yang penting dan menjadi komoditas utama setelah beras. Selain menjadi bahan pangan, jagung juga dimanfaatkan menjadi bahan pakan ternak dan industri (Purwono dan Rudi, 2005). Selain dapat dijadikan bahan pangan, jagung juga memiliki nilai gizi tinggi yang dapat mensuplai nutrisi dan keseimbangan gizi masyarakat yang terdiri atas karbohidrat 61,0%, air 13,5%, lemak 4,0%, protein 10%, serat kasar 2,3%, gula 1,4%, pentosa 6,0%, abu 1,4%, dan zat-zat kimia lainnya 0,4%, (Suprpto, 1996).

Meningkatnya kesadaran masyarakat akan manfaat jagung mengakibatkan kebutuhan pasar jagung masih terus meningkat, dan harga yang tinggi membuat jagung berpotensi menjadi komoditas strategis yang dapat meningkatkan pendapatan petani. Permintaan pasar yang terus meningkat dan usaha dalam mencukupi kebutuhan jagung di pasaran dapat dilakukan dengan optimalisasi produksi jagung di Indonesia. Hingga saat ini peningkatan produksi dan kualitas jagung terus diupayakan, namun terdapat beberapa kendala dalam produksi jagung salah satunya adalah gangguan hama penyakit tanaman.

Busuk batang merupakan salah satu penyakit penting yang menyerang tanaman jagung. Gejala penyakit busuk batang pada tanaman jagung yang ditemukan di Jawa Tengah disimpan sebagai koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, dan teridentifikasi sebagai *Pectobacterium* sp. Hingga saat ini belum diketahui secara pasti spesies dan karakteristik penyebab penyakit busuk batang koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Oleh karena itu, perlu

dilakukan uji lebih lanjut untuk mengetahui karakteristik dan identitas dari patogen serta kisaran inang selain tanaman jagung. Informasi tersebut juga dibutuhkan untuk dapat menentukan metode pengendalian yang tepat terhadap penyakit busuk batang jagung.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

- 1) Karakterisasi biokimia dan patogenisitas bakteri *Pectobacterium* sp. penyebab busuk batang pada tanaman jagung.
- 2) Identifikasi molekuler bakteri *Pectobacterium* sp. penyebab busuk batang pada tanaman jagung.
- 3) Patogenisitas bakteri *Pectobacterium* sp. pada beberapa varietas tanaman jagung.
- 4) Kisaran inang bakteri *Pectobacterium* sp. penyebab busuk batang pada tanaman jagung.

1.3 Kerangka Pemikiran

Patogen merupakan organisme pengganggu tanaman yang dapat menyebabkan penyakit pada tanaman. Patogen dapat menginfeksi beberapa bagian tanaman salah satunya pada batang yang dapat menyebabkan penyakit busuk batang. Penyakit busuk batang dapat disebabkan oleh banyak jamur dan bakteri. Sebagian besar patogen ini umumnya terjadi di lapangan dan berperilaku oportunistik dengan menginfeksi tanaman yang mengalami penuaan, luka, atau stres. Penyakit busuk batang pada tanaman jagung merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri yang ditandai oleh gejala perubahan warna pada daun, buku-buku batang dan pelepah daun. Penyakit ini menyebar dengan cepat ke sepanjang batang dan daun sampai akhirnya jaringan membusuk dan bagian atas tanaman menjadi mudah terlepas dari bagian tanaman lain.

Penyakit busuk batang jagung diduga ditimbulkan oleh patogen yang berasal dari famili *Enterobacteriaceae*. Terdapat dua genus bakteri patogen yang berasal dari famili *Enterobacteriaceae* yaitu *Dickeya* dan *Pectobacterium*. Menurut Ma *et al* (2007), anggota genus *Pectobacterium* (dahulu *Erwinia*) menyebabkan penyakit busuk lunak pada tanaman dari sedikitnya 16 famili angiosperma dikotil dan 11 monokotil. Berbagai jenis tanaman pangan, sayuran, buah dan tanaman hias juga dilaporkan dapat diserang oleh *Pectobacterium* spp. seperti padi, konjak, melon, nanas, mulberi, sawi putih, kentang, brokoli, bawang daun, kubis, wortel, seledri, collar dan tsukena (Goto, 1965; Ma *et al.*, 2007; Kaneshiro *et al.*, 2008; Suharjo, 2013).

Sebelumnya dilaporkan bahwa bakteri *Dickeya zea* menyebabkan pembusukan batang bakteri pada jagung, yang diisolasi dari daerah Hoshiarpur, Punjab (Kumar *et al.*, 2016). Selain itu, penyakit pada batang tanaman jagung juga menyerang di Kecamatan Panyabungan, Kabupaten Mandailing Natal, Provinsi Sumatera Utara. Berdasarkan studi morfologi yang dilakukan terdapat lima jenis yaitu penyakit busuk batang Gibbrella, busuk batang Pythium, busuk batang Diplodia, busuk batang Fusarium, dan busuk batang arang. Jenis organisme pengganggu tanaman yang menyebabkan penyakit busuk batang ini adalah jamur (Syahriani dkk., 2021).

Baru-baru ini, spesies *Pectobacterium aroidearum* telah dideskripsikan sebagai spesies yang sangat virulen, terutama pada monokotil (Nabhan *et al.*, 2013). Beberapa penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa *P. aroidearum* adalah patogen busuk lunak utama konjac di Provinsi Hubei barat, China. Terhitung *P. aroidearum* menyumbang 70%, sementara *Dickeya* menyumbang 30% kerusakan (Miaomiao Sun *et al.*, 2019). *P. aroidearum* juga menyebabkan gejala busuk lunak pada selada di Brazil (Barroso *et al.*, 2019 dalam Barroso *et al.*, 2021). Penelitian terkait penyakit busuk batang jagung menyebutkan bahwa patogen tersebut disebabkan oleh kelompok bakteri *Dickeya*. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penyakit busuk batang jagung juga disebabkan oleh *Pectobacterium*. Patogen tersebut disimpan sebagai koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jagung

Jagung (*Zea mays* L.) merupakan tanaman serealia yang termasuk famili poaceae, ordo poales dan merupakan tanaman berumah satu atau berbiji tunggal (monokotil) (Warrier and Tripathi, 2011). Tanaman jagung memiliki banyak manfaat dan dapat dikatakan sebagai tanaman multifungsi karena memiliki banyak kegunaan dan hampir dari seluruh bagian tanaman jagung dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan, oleh karena itu jagung memiliki arti penting dalam pengembangan di Indonesia karena merupakan bahan baku untuk industri pangan (Bakhri, 2013).

Selain penting dalam dunia industri, tanaman jagung juga merupakan kebutuhan yang cukup penting bagi kehidupan manusia dan hewan. Jagung memiliki kandungan gizi dan serat kasar yang cukup memadai sebagai pengganti bahan makanan pokok yaitu beras. Sebagai bahan ternak, biji pipilan kering digunakan untuk pakan ternak bukan ruminant seperti ayam, itik, puyuh, sedangkan seluruh tanaman jagung atau limbah jagung dimanfaatkan untuk pakan ternak ruminansia seperti sapi. Jagung juga berpotensi sebagai bahan baku kimia farmasi dan industri lainnya yang memiliki nilai tinggi seperti tepung jagung, gritz jagung, gula, etanol, asam organik dan lainnya (Budiman, 2010).

2.1.1 Taksonomi dan morfologi tanaman jagung

Taksonomi tanaman jagung diklasifikasikan oleh Tjitrosoepomo (1989), sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae
Genus	: <i>Zea</i>
Spesies	: <i>Zea mays</i> L.

Tanaman jagung memiliki akar yang tumbuh relatif dangkal merupakan akar adventif dengan percabangan yang amat lebat, menyerap hara pada tanaman. Akar layang penyokong memberikan tambahan topangan untuk tumbuh tegak dan membantu penyerapan unsur hara. Akar layang ini tumbuh di atas permukaan tanah, tumbuh rapat pada buku-buku dasar dan tidak bercabang sebelum masuk ke tanah (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Batang jagung tidak bercabang, berbentuk silinder, dan terdiri dari beberapa ruas dan buku ruas. Pada buku ruas akan muncul tunas yang berkembang menjadi tongkol. Tinggi batang jagung tergantung varietas dan tempat penanaman, umumnya berkisar 60-300 cm (Purwono dan Hartono, 2006).

Daun tanaman jagung berbentuk pita atau garis, mempunyai ibu tulang daun yang terletak tepat di tengah-tengah daun. Tangkai daun merupakan pelepah yang biasanya berfungsi untuk membungkus batang tanaman jagung. Daun pada tanaman jagung mempunyai peranan penting dalam pertumbuhan tanaman utamanya dalam penentuan produksi (Warisno, 2007). Jumlah daun umumnya berkisar antara 10-18 helai, rata-rata munculnya daun yang terbuka sempurna adalah 3-4 hari setiap daun. Tanaman jagung di daerah tropis mempunyai jumlah daun relatif lebih banyak dibanding di daerah beriklim sedang (*temperate*) (Suprpto dan Marzuki, 2002).

Jagung disebut juga tanaman berumah satu (*monoceous*) karena bunga jantan dan bunga betina terdapat dalam satu tanaman. Bunga betina (tongkol) muncul dari axillary apical tajuk. Bunga jantan (*tassel*) berkembang dari titik tumbuh apikal diujung tanaman. Rambut jagung (*silk*) adalah pemanjangan dari saluran stilar ovary yang matang pada tongkol. Hampir 95% dari persariannya berasal dari serbuk sari tanaman lain, dan hanya 5% yang berasal dari serbuk sari tanaman sendiri. Karena itu disebut juga tanaman bersari bebas (*cross pollinated crop*). Buah jagung terdiri atas tongkol, biji, dan daun pembungkus. Biji jagung mempunyai bentuk, warna dan kandungan endosperm yang bervariasi, tergantung pada jenisnya. Pada umumnya, biji jagung tersusun dalam barisan yang melekat secara lurus atau berkelok-kelok dan berjumlah antara 8-20 baris biji. Biji jagung terdiri atas tiga bagian utama, yaitu kulit biji (*seedcoat*), endosperm dan embrio (Rukmana, 2009).

2.1.2 Syarat tumbuh tanaman jagung

Tanaman jagung memiliki beberapa syarat tumbuh yang akan menunjang produktivitas dan hasil panen diantaranya adalah tanah yang gembur dan kaya akan humus menjadikan tanaman jagung tumbuh dengan optimal, dan dengan derajat keasamaan (pH) tanah antara 5,5-7,5, dengan kedalaman air tanah 50-200 cm dari permukaan tanah dan kedalaman efektif tanah mencapai 20-60 cm dari permukaan tanah (Nurhidayah, 2015). Tanaman jagung dapat tumbuh diberbagai jenis tanah mulai dari lempung berdebu sampai dengan liat, namun jagung lebih menghendaki jenis tanah lempung berdebu (Dongoran, 2009).

2.2 Penyakit Busuk Batang Tanaman Jagung

2.2.1 Gejala penyakit

Gejala penyakit busuk batang jagung karena bakteri pada jagung ditandai oleh perubahan warna selubung daun yang menyebar ke tangkai maupun ke daun lainnya. Ketika jaringan membusuk, bau busuk terdeteksi dan tanaman tumbang ke bawah (Kumar *et al.*, 2016). Gejala fisiologis dari infeksi yang disebabkan

oleh bakteri tersebut adalah menguningnya daun baru, lembek, layu dan batang berbau busuk (Slade and Tiffin, 1984).

2.2.2 Penyebab penyakit

Penyebab penyakit busuk batang jagung yang sudah diketahui ialah disebabkan oleh bakteri *Dickeya zea* berbentuk batang dengan ukuran $8-3,2 \times 0,5-0,8 \mu\text{m}$ (Samson *et al.*, 2005) Selain disebabkan oleh bakteri *Dickeya zea*, diperkirakan penyakit busuk batang jagung juga dapat disebabkan oleh bakteri yang berasal dari genus *Pectobacterium*.

2.2.3 Kisaran inang

Dickeya spp. dan *Pectobacterium* spp. mempunyai kisaran inang yang cukup luas mencakup berbagai jenis tanaman budidaya termasuk tanaman hias. *Dickeya* spp. dilaporkan dapat menyerang tanaman pangan seperti jagung, padi, ubi jalar; buah buahan termasuk pisang, nanas, stroberi, mangga; sayur sayuran seperti kentang, bawang daun, terong, wortel; tanaman hias seperti krisan, vanda, phalaenopsis (Dickey, 1979; Ma *et al.*, 2007; Miyahira *et al.*, 2008; Sahilah *et al.*, 2008; Kaneshiro *et al.*, 2008; Suharjo *et al.*, 2014). Berbagai jenis tanaman pangan seperti jagung, padi, sorgum (Kido *et al.*, 2008; Cota *et al.*, 2010; Krawczyk *et al.*, 2010) sayuran, buah dan tanaman hias juga dilaporkan dapat diserang oleh *Pectobacterium* spp. seperti padi, konjak, melon, nanas, mulberi, sawi putih, kentang, brokoli, bawang daun, kubis, wortel, seledri, collar dan tsukena (Goto, 1965; Ma *et al.*, 2007; Kaneshiro *et al.*, 2008; Suharjo, 2013).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

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

3.2 Bahan dan Alat

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

Alat yang akan digunakan pada penelitian ini *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, *rotamixer*, *microwave*, *shaker*, *water bath*, *magnetic bar*, *magnetic stirer*, *freezer*, jarum ent, jarum ose, pinset, mikro pipet, tabung eppendorf 1,5 mL, tabung reaksi, erlenmeyer, bunsen, gelas objek, gelas ukur dan cawan petri. Alat yang digunakan untuk identifikasi molekuler adalah mesin PCR, alat elektroforesis, *gel documentation system*, *microcentrifuge*, cetakan gel 20x16x1 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, *plastic wrap*, karet gelang, korek api, kapas, dan tisu.

3.3 Metode Penelitian

Pada pelaksanaan penelitian ini isolat bakteri yang digunakan sebanyak tiga isolat yang berasal dari tanaman jagung. Satu isolat berasal dari padi, dan satu isolat berasal dari pepaya diikutsertakan dalam penelitian ini sebagai pembanding. Isolat tersebut merupakan koleksi Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Secara detail keterangan isolat tersebut dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Isolat yang digunakan dalam penelitian

Kode					
No	Isolat	Inang	Bagian Isolat	Asal Isolat	Identitas
1.	REP1.S4 (5)A	Jagung			
2.	REP1.S2 (5)A	Jagung	Batang	Jawa Tengah	<i>Pectobacterium</i> sp.
3.	Jagung L.9	Jagung			
4.	BHT 2.1	Pepaya	Buah	Lampung Tengah	<i>Pectobacterium</i> <i>carotovorum</i>
5.	Rice 3.3.2	Padi	Tangkai	Talang Padang	<i>Pectobacterium</i> <i>aroidearum</i>

3.3.1 Uji Patogenisitas

Tujuan dilakukan uji patogenisitas adalah untuk memastikan bahwa bakteri *Pectobacterium* sp. merupakan patogen penyebab penyakit busuk batang jagung. Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ose bakteri berumur 24 jam dan dimasukkan dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL yang berisi air steril 0,5 mL

kemudian dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Selanjutnya bakteri diinokulasikan pada tanaman jagung menggunakan jarum suntik dengan metode *stabbing*. Apabila bagian tanaman yang diinokulasikan menunjukkan gejala, maka hal tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diperoleh dapat menginfeksi tanaman tersebut.

3.3.2 Karakterisasi penyebab penyakit

karakterisasi penyebab penyakit busuk batang pada jagung dilakukan dengan melakukan beberapa pengujian yaitu sebagai berikut :

3.3.2.1 Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan melalui beberapa pengujian antara lain :

a) Uji gram

Uji gram merupakan salah satu uji karakteristik pada pengujian identifikasi suatu organisme khususnya bakteri. Pengujian ini dilakukan sebagai bentuk pembuktian apakah bakteri ini termasuk ke dalam kelompok pathogen atau nonpatogen. Penandanya dengan melihat bakteri ini termasuk gram positif atau gram negatif. Langkah dalam melakukan uji gram adalah dengan mengambil sampel satu ose dari media PPGA yang telah berumur 24 jam. Sampel bakteri tadi diletakkan pada kaca preparat yang selanjutnya ditetesi larutan KOH 3% dan diratakan secara perlahan menggunakan jarum ose. Lalu pembuktiannya dengan mengangkat suspensi dengan jarum ose hingga tinggi kurang lebih 1 cm. Jika gram negatif ditandai dengan adanya seperti benang dan berbentuk kental, dan sebaliknya jika suspensi diangkat tidak terbentuk seperti benang maka isolat bakteri tersebut bersifat gram positif (Powers, 1995).

b) Uji oksidatif/ fermentatif (O/F)

Uji oksidatif/fermentatif dilakukan untuk mengetahui karakter dari bakteri ini memiliki sifat aerob atau anaerob. Media yang digunakan pada uji ini adalah media O/F dengan bahan utama yakni isolat bakteri yang sudah berumur 24 jam. Pengujian dengan menginokulasi bakteri pada tabung reaksi yang sudah berisi

media O/F dengan cara mengambil isolat bakteri dengan jarum ent lalu ditusukkan pada media O/F sampai dasar media. Setelah itu tabung yang berisi bakteri tadi ditutup dengan minyak parafin steril, sedangkan tabung lainnya tidak ditutup dengan minyak parafin. Selanjutnya bakteri diinkubasi pada suhu 28 °C selama kurun waktu 1-7 hari setelah inokulasi. Setelah itu dilakukan pengamatan pada tabung dengan melihat perubahan yang terjadi, apabila berubah warna kuning pada media O/F maka bakteri tersebut bersifat bakteri fermentatif dan jika media tidak berubah warna, maka bakteri tersebut termasuk bakteri bersifat oksidatif (Tito, 2014).

c) Uji hipersensitif

Uji hipersensitif termasuk salah satu pengujian karakteristik pada bakteri. Pengujian dengan melihat respon daun tanaman tembakau ketika dilakukannya inokulasi dengan bakteri. Langkah yang dilakukan dengan mempersiapkan isolat bakteri yang sudah berumur 24 jam yang dikembangbiakkan pada media PPGA. Setelah itu dilakukan suspensi pada bakteri yang sebelumnya mengambil 1 ose biakan murni. Suspensi dengan menggunakan air steril 0,5 mL di dalam tabung *ependorf* 1,5 mL. setelah dicampur selanjutnya dihomogenkan dengan bantuan alat yakni rotamixer. Selanjutnya dilakukan penyuntikkan pada organ tanaman tembakau yakni daun dengan mengambil 0,5 mL suspensi. Penyuntikkan dengan memasukkan suspensi pada bagian bawah daun secara perlahan. Setelah itu langkah terakhir yakni pengamatan dengan melihat respon tanaman setelah dilakukan penyuntikkan. Pada umumnya akan timbul gejala pada kurun waktu 24-48 jam setelah diinokulasi. Gejala yang ditimbulkan seperti daun yang berubah warna kecoklatan pada bagian yang disuntikkan atau nekrotik dan dapat disimpulkan bakteri tersebut bersifat pathogen (Baroroh *et al.*, 2014).

d) Uji *lechitinase*

Tujuan dilakukan uji *lechitinase* adalah untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi enzim *lechitinase*. Media yang digunakan yaitu YPA dan kuning telur. Bahan yang digunakan untuk pembuatan media YPA yaitu 10 gr pepton, 5 gr *yeast*, 20 gr agar dan 1000 mL akuades. Pengujian dilakukan dengan

memasukkan kuning telur sebanyak 0,5 mL ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan YPA 10 mL dan dicampur secara merata. Satu ose bakteri yang berumur 24 jam diambil menggunakan jarum ose dan digoreskan pada media *lechitinase*. Bakteri diinkubasi pada suhu 28 °C dan dilakukan pengamatan selama 1-7 hari. Jika pengujian menghasilkan zona putih buram yang menyebar disekitar/ditepi koloni bakteri maka bakteri tersebut positif memproduksi enzim lechitinase (Handoko *et al.*, 2020).

e) Uji *soft rot*

Tujuan dilakukan uji *soft rot* adalah untuk mengetahui bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung termasuk ke dalam bakteri penyebab busuk lunak atau bukan. Umbi kentang dipotong setebal 1 cm dan direndam dalam air mengalir selama 30 menit. Kemudian irisan kentang tersebut diletakkan dalam cawan petri yang telah diberi tisu yang sebelumnya sudah dilembabkan dengan menggunakan akuades. Satu ose bakteri yang berumur 24 jam diambil kemudian digoreskan pada bagian tengah permukaan umbi kentang. Kemudian umbi kentang diinkubasi dalam suhu ruang selama 2-3 hari. Reaksi positif ditunjukkan dengan terjadinya pembusukan pada bagian umbi kentang yang telah diinokulasikan bakteri (Oviana dkk., 2015).

f) Uji kemampuan tumbuh pada beberapa suhu

Uji kemampuan tumbuh pada beberapa suhu dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri uji pada tabung reaksi yang berisi 5 mL media *Yeast Peptone* (YP) dan diinkubasi pada suhu 39 °C dan 40 °C. Bahan yang digunakan dalam pembuatan media YP yaitu 10 g pepton, 5 g *yeast* dan 1000 mL akuades. Satu ose isolat bakteri yang berumur 24 jam diambil dan disuspensikan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL yang telah berisi air steril 0,5 mL, selanjutnya isolat bakteri yang telah disuspensi kemudian dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Suspensi diambil menggunakan jarum ose dan masuk ke dalam tabung reaksi yang berisi media YP. Bakteri diinkubasi di dalam *waterbath* selama 3-7 hari yang dilakukan secara bergantian pada suhu 39 °C dan 40 °C. Apabila reaksi positif hal itu menunjukkan bahwa bakteri dapat tumbuh pada suhu tersebut yang

ditandai dengan perubahan warna media dari warna kuning menjadi putih keruh (Oktaviana, 2018).

g) Uji fluoresensi pada Media King's B

Tujuan uji fluoresensi pada media king's B adalah untuk mengetahui kemampuan bakteri mengeluarkan fluoresen. Uji ini dilakukan dengan cara mengambil 1 ose bakteri yang berumur 24 jam dan digoreskan pada media King's B. Bahan pembuatan media Kings'B yaitu 20 g pepton, 1,5 g K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 15 mL gliserol, 15 g agar dan 1000 mL akuades. Kemudian diinkubasi dalam suhu ruang selama 24-48 jam. Jika bakteri mengeluarkan pigmen fluoresen, hal maka biakan bakteri yang telah disinari sinar ultra violet (UV) akan menghasilkan warna hijau berpendar (Schaad *et al.*, 2001).

h) Uji arginin dihidrolase (Moeller Media)

Tujuan dilakukan uji arginine dihydrolase adalah untuk mendeteksi pertumbuhan bakteri pada kondisi anaerob dalam media yang mengandung bahan kimia arginin. Pengujian dilakukan dengan menggunakan media Moeller limear sebanyak 21 g dengan pH 6,8 yang dilarutkan dengan menggunakan akuades 1000 mL. Kemudian media dipanaskan, lalu sebanyak 5 mL media dituang ke dalam tabung reaksi dan diautoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Bakteri yang ingin diuji diambil dengan jarum ent dan ditusukkan ke dalam tabung reaksi sampai dasar tabung kemudian ditutup dengan minyak parafin steril. Selanjutnya bakteri diinkubasi selama 7-14 hari pada suhu 28 °C. Jika media berubah warna menjadi ungu, maka bakteri memiliki reaksi positif. Sedangkan jika media berubah warna menjadi kuning, maka bakteri memiliki reaksi negatif (Suharjo, 2013).

i) Uji casein

Tujuan dilakukan uji casein adalah untuk mengetahui apakah bakteri dapat menghidrolisis protein. Media yang digunakan yaitu *Skim Milk Agar*. Bahan yang digunakan yaitu 10 g bubuk *Skim Milk Agar* dan 100 mL akuades. Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ose bakteri yang berumur 24 jam pada media

PPGA dan digoreskan ke dalam media *Skim Milk Agar*, kemudian diinkubasi selama 24-48 hari pada suhu ruang. Reaksi positif ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri yang telah diinokulasikan (Fardiaz, 1992).

j) Uji kemampuan untuk menggunakan beberapa jenis bahan organik

Tujuan dilakukannya uji pertumbuhan adalah untuk mengetahui kemampuan tumbuh bakteri pada bahan organik tertentu. Media yang digunakan pada uji ini adalah media Ayer's dengan komposisi $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1 g, KCl 0,2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g, Bromthymol Blue (BTB) 2%, dan air akuades sebanyak 1000 mL. Bakteri diuji dengan beberapa bahan organik yang berbeda, yaitu *D-arabinose*, *D-tartrate*, *Inulin*, *Lactose*, *Cis-aconitic acid*, *D-melibiose*, *D-raffinose*, *5-ketogluconate*, *mannitol*, *M-tartrate*, dan *Myo-inositol*. Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 1 ose bakteri berumur 24 jam dan dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL yang berisi air steril sebanyak 0,5 mL, kemudian dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Bakteri diambil dengan jarum ent dan ditusukkan pada media Ayer's sampai dasar tabung dan diinkubasi pada suhu 28°C dan pengamatan dilakukan pada 2, 4, 7, 14 dan 21 hari. Reaksi positif ditandai dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi kuning atau biru menyesuaikan bahan organik yang digunakan, perubahan warna menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu menggunakan bahan organik tersebut untuk tumbuh (Suharjo, 2013).

3.3.3 Identifikasi Molekuler Patogen Busuk Batang Tanaman Jagung

Identifikasi molekul adalah identifikasi yang dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi menggunakan mesin PCR, elektroforesis dan visualisasi hasil PCR, sekuensing DNA dan analisis hasilnya. Sebanyak 3 isolat bakteri digunakan sebagai representasi isolat yang diidentifikasi lebih lanjut secara molekuler. Identifikasi patogen busuk batang tanaman jagung akan dilakukan dengan beberapa pengujian yaitu sebagai berikut :

a. Ekstraksi DNA

Ekstraksi bakteri dilakukan secara manual yaitu dengan cara mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam lalu bakteri dimasukkan kedalam tube 1,5 mL dan ditambah 20 μ L TE menggunakan mikropipet, kemudian dihomogenkan. Setelah itu 10 mL SDS 10% + 3 μ L proteinase K ditambah kedalam tube dan dihomogenkan. Tube yang sudah berisi bakteri diinkubasi di *water bath* selama satu jam pada suhu 37 °C. Setelah diinkubasi kemudian ditambahkan 100 μ L NaCl dan dihomogenkan secara manual kemudian ditambah 80 μ L CTAB 2%. Kemudian tube diinkubasi kembali selama 10-15 menit pada suhu 65 °C di *water bath* dan dihomogenkan setiap 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 720 μ L CI (*Chloroform Isoomyl alcohol*) dan dihomogenkan secara manual, kemudian selama 5 menit di sentrifuse (14.000 rpm). Setelah disentrifuse, diambil supernatan dan dimasukkan ke dalam tube 1,5 mL yang baru ditambah PCI dengan volume yang sama dengan supernatan, kemudian dihomogenkan dan disentrifuse lagi (14.000 rpm) selama 5 menit. Setelah itu supernatan diambil dan dipindahkan kedalam tube 1,5 mL yang baru dan ditambahkan isopropanol 60% dari volume supernatan. Tube dihomogenkan secara manual kemudian diinkubasi di dalam freezer dengan suhu 40 °C selama 20 menit dan disentrifuse (14.000 rpm) selama 5 menit. Setelah disentrifuse supernatan yang ada dalam tube dibuang dan ditambahkan 400 μ L alkohol 70% dingin, lalu disentrifuse (14.000 rpm) kembali selama 5 menit. Kemudian alkohol dibuang dan pelet dikeringanginkan selama 1 hari pada suhu ruang. Setelah kering, tube berisi pelet ditambahkan TE sebanyak 20 μ L. Ada tidaknya template DNA dilihat dari elektroforesis dan divisualisasikan menggunakan *Digidoc Imaging System*.

b. Amplifikasi dengan mesin PCR

Amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR, yaitu dengan membuat larutan dengan cara menambahkan 12,5 μ L *Master Mix (Red Mix)* ke dalam tabung *ependorf* 100 μ L dan primer RS₁ dan RS₂ masing masing sebanyak 1 μ L, larutan ekstrak DNA bakteri sebanyak 1 μ L serta akuades steril 9,5 μ L. Larutan yang sudah dibuat kemudian di amplifikasi menggunakan mesin PCR. Ada lima tahapan dalam PCR, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Tahap

inisiasi merupakan tahap yang dilakukan pada suhu 94 °C (5 menit) dalam 1 siklus. Tahap denaturasi dilakukan pada suhu 94 °C (1 menit), annealing dilakukan pada suhu 58 °C (1 menit), tahap ekstensi dilakukan pada suhu 72 °C (1 menit) yang dilakukan dalam 30 siklus. Tahap elongasi pada suhu 72 °C (5 menit) dalam 1 kali siklus.

c. Elektroforesis dan visualisasi hasil PCR

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

d. Sekuensing DNA dan analisis hasil.

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

3.3.4 Kemampuan bakteri *Pectobacterium* sp. dalam menginfeksi beberapa varietas tanaman jagung

Tujuan dilakukan uji kemampuan bakteri dalam menginfeksi beberapa varietas tanaman jagung adalah untuk mengetahui tingkat ketahanan beberapa varietas tanaman jagung terhadap serangan bakteri patogen *Pectobaacterium* sp. Pengujian dilakukan dengan cara seperti uji patogenisitas yang diinokulasikan menggunakan jarum suntik pada beberapa varietas tanaman jagung dan kemudian diamati masa inkubasi atau munculnya gejala pada setiap varietas tanaman jagung tersebut. Patogenisitas dan uji kemampuan ini berbeda pada tujuannya, patogenisitas untuk

memastikan bakteri merupakan patogen penyebab busuk batang pada jagung dan uji kemampuan ini untuk melihat respon dari berbagai varietas tanaman jagung terhadap gejala yang ditimbulkan oleh bakteri *Pectobaacterium* sp.

3.3.5 Kisaran Inang

Tujuan dilakukan uji kisaran inang adalah untuk mengetahui penyebab penyakit busuk batang jagung. Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ose bakteri berumur 24 jam dan dimasukkan dalam tabung *eppendorf* 1,5 mL yang berisi air steril 0,5 mL kemudian dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Selanjutnya bakteri diinokulasikan pada tanaman uji menggunakan jarum suntik dengan metode *stabbing*. Jika bagian tanaman yang diinokulasikan menunjukkan gejala, maka isolat bakteri yang diperoleh dapat menginfeksi tanaman tersebut. Beberapa jenis tanaman yang digunakan untuk uji kisaran inang antara lain adalah sawi putih, pakcoy, kubis, gambas, terong, paprika, buncis, okra, lobak putih, lidah buaya, pare, daun bawang, seledri, bawang putih, bawang merah, bawang Bombay, cabai, tomat, wortel, kacang panjang, timun, labu siam.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri penyebab busuk batang jagung memiliki karakteristik antara lain Gram negatif, fermentatif, *lechitinase* negatif, *soft rot*, hipersensitif, tidak berpendar pada media King's B negatif, *arginine dihydrolase* positif dan negatif, casein, beberapa bakteri mampu tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C, sedangkan beberapa bakteri tidak mampu tumbuh. Mampu menggunakan 16 jenis bahan organik dan mampu menginfeksi tanaman jagung sebagai patogen.
2. Bakteri busuk batang pada tanaman jagung yang ditemukan disebabkan oleh *Pectobacterium aroidearum* (JAGUNG L.9, REP1.S2 (5)A, REP1.S4 (5)A).
3. Bakteri busuk batang jagung mampu menginfeksi beberapa jenis varietas tanaman jagung yaitu Bonanza F1, Secada F1, Bimmo F1, Bisi 18, dan Lokal dengan varietas paling rentan Secada F1 dan varietas paling tahan Bisi 18.
4. Bakteri penyebab busuk batang jagung mampu menginfeksi beberapa jenis tanaman yaitu bawang merah, bawang putih, bawang bombay, daun bawang, seledri, wortel, lobak putih, labu siam, cabai, paprika, kacang panjang, buncis, okra, gambas, timun, pak coy, pare, lidah buaya, sawi putih, kubis, tomat.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai tingkat ketahanan beberapa jenis varietas tanaman pangan selain jagung terhadap *Pectobacterium aroidearum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bakhri, S. 2013. *Budidaya Jagung Dengan Konsep Pengelolaan Tanaman Terpadu*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. Sulawesi Tengah.
- Baroroh, H. F., Aini, L. Q., dan Abadi, A. L. 2014. Uji efektivitas anti bakteri ekstrak daun dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L). terhadap blood disease bacterium. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*. 2(2): 87-97.
- Barroso, K. A., Oliveira, X. B D., Almeida, C. D. O., Lorenzo, V. P., Vilar, F. C. R., Queiroz, M. F., Da Paz, C. D., and Peixoto, A. R. 2021. Efficacy of essential oils in the management of soft rot caused by *Pectobacterium aroidearum* in Lettuce. *Bioscience Journal*. 37(e37095): 1981-3163.
- Budiman, H. 2010. *Sukses Bertanam Jagung Komoditas yang Menjanjikan*. Pustaka baru Press. Bandung.
- Cota, L. V., Costa, R. V., Silva, D. D., Parreira, D. F., Lana, U. G. P., and Casela, C. R. 2010. First report of pathogenicity of *Pantoea ananatis* in sorghum (*Sorghum bicolor*) in Brazil. *Australasian Plant Disease Note*. 5(1): 120-122.
- 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 ada Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L., Merr.). *skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Dickey, R. S. 1979. *Erwinia chrysanthemi*: A comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. *Phytopathology*. 69(4): 324–329.
- Dongoran, D. 2009. Respon Pertumbuhan dan Produksi Jagung Manis (*Zea mays saccharata* Sturt) terhadap Pemberian Pupuk Cair TNF dan Pupuk Kandang Ayam. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi pangan I*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

- Goto, M. 1965. A comparative study of the sheath rot bacteria of rice. *Japanese Journal of Phytopathology*. 30(1): 42-45.
- 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., Musa, Y., dan Jaya, A. M. 2020. Identifikasi plant growth promoting rhizobacteria pada rizosfer bamboo duri dengan Gram KOH 3%. *Agrotechnology research journal*. 4(1): 41-46.
- Kaneshiro, W. S., Burger, M., Vine, B. G., de Silva, A. S., and Alvarez, A. M. 2008. Characterization of *Erwinia chrysanthemi* from a bacterial heart rot of pineapple outbreak in Hawaii. *Plant Disease*. 92(10): 1444- 1450.
- Kido, K., Adachi, R., Hasegawa, M., Yano, K., Hikichi, Y., Takeuchi, S., Atsuchi, T., and Takikawa, Y. 2008. Internal fruit rot of netted melon caused by *Pantoea ananatis* (*Erwinia ananas*) in Japan. *Journal of General Plant Pathology*. 74(4): 302-312.
- Krawczyk, K., Kamasa, J., Zwolinska, A., and Pospieszny, H. 2010. First report of *Pantoea ananatis* isolatd with leaf spot disease of maize in Poland. *Journal of Plant Pathology*. 92(3): 807-811.
- Kumar, A., Hunjan, M. S., Kaur, H., Singh, P. P. and Kaur, R. 2016. Evaluation of management of bacterial stalk rot of maize (*Dickeya zae*) using bioagents and chemical agents. *Journal of Applied and Natural Science*. 8(3): 1146-1151.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikrobial di Laboratorium*. PT Grafindo Persada. Jakarta. 168.
- Lelliot, R.A. and Stead, D. E. 1987. *Methods for the Diagnosis of Bacterial Disease of Plants*. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Ma, B., Hibbing, M. E., Kim, H. S., Reedy, R. M., Yedidia, I., Breuer, J., Breuer, J., Glasner, J.D., Perna, N. T., Kelman, A., and Charkowski, O. 2007. Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya*. *Phytopathology*. 97(9): 1150-1163.
- Miaomiao, S., Hao, L., Junbin, H., Jinbo, P., Fuhua, F., Zhang, Y., Tom, H., and Zheng, L. 2019. A Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid Detection of *Pectobacterium aroidearum* that Causes Soft Rot in Konjac. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(8): 1-13.

- Miyahira, N., Takushi, T., Furuya, N., Kawano, S., Takeshita, M., and Tsuchiya, K. 2008. Bacterial shoot blight of mango (*Mangifera indica* L.) caused by *Erwinia chrysanthemi* (abstract in Japanese). *Ann Phytopathol Soc Jpn.* 74: 253-254.
- Muharni, Juswardi, dan Prihandayani, I. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri termofilik penghasil protease dari sumber air panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera selatan. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung.* (1)1: 139-143.
- Nabhan, S., de Boer, S. H., Maiss, E., and Wydra, K. 2013. *Pectobacterium aroidearum* sp. nov., a soft rot pathogen with preference for monocotyledonous plants. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 63(7): 2520-2525.
- Nurhidayah. 2015. Respon Pertumbuhan Tanaman Jagung Manis (*Zea mays saccharata* Sturt) terhadap Kombinasi Pupuk *Bio-Slurry* Padat dan Pupuk Anorganik. *Skripsi.* Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Oktaviana, H. A. 2018. Identifikasi dan uji kisaran inang penyebab penyakit mati pucuk pada tanaman papaya (*Carica papaya* L.). *Skripsi.* Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Oviana, T., Aeny, T.N., dan Prasetyo, J. 2015. Isolasi dan karakterisasi penyebab penyakit busuk buah pada tanaman Nanas (*Ananas comous* [L.] Merr). *Jurnal Agrotek Tropika.* 3(2): 220-225.
- Powers, E. M. 1995. Efficacy of the Ryu nonstaining KOH technique for rapidly determining gram reactions of foodborne and waterborne bacteria and yeasts. *Applied Environmental Microbiology.* 61(10): 3756-2266.
- Prahasta, A. 2009. *Agribisnis Jagung.* Pustaka grafika. Bandung.
- Purwono dan Rudi. 2005. *Bertanam Jagung Unggul.* Penebar swadaya. Jakarta.
- Purwono dan Hartono, R. 2006. *Bertanam Jagung Unggul.* Penebar Swadaya, Jakarta.
- Rubatzky, V.E., dan Yamaguchi, Ma. 1998. *Sayuran Dunia : Prinsip, Produksi dan Gizi Jilid II.* ITB, Bandung.
- Rukmana, R. 2009. *Usaha Tani Jagung.* Kasinus. Yogyakarta.
- Sahilah, A. M., Rozeita, L., Kalsum, M. S. U., and Son, R. 2008. Typing of *Erwinia Chrysanthemi* isolated from josapine pineapple in Malaysia using antimicrobial susceptibility, plasmid profiles, ERIC-PCR and RFLP analysis. *International Food Research Journal.* 15(3): 273-280.

- Samson, R., Legendre, J.B., Christen, R., Fischer, M., Achouak, W. and Gardan, L. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al, 1953) Brenner et al 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. Nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. Nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. Nov. and *Dickeya zae* sp. Nov. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*. 55(4): 1415-1427.
- Schaad, N, W., Jonesand. J. B., and Chun, W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Third Edition. APS Press. Amerika.
- Semangun, H. 2000. *Penyakit-penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Slade, M.B. and Tiffin A.I. 1984. 5 Biochemical and serological characterization of *Erwinia*. *Journal of Methods in Microbiology*. 15: 228-293.
- Suada, I. K. dan Suniti, N. W. 2014. Isolasi dan identifikasi patogen getah kuning manggis melalui pendekatan Postulat Koch dan analisis secara molekuler. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*. 14(2): 142-151.
- Suharjo, R. 2013. *Studies on the taxonomy and identification of Dickeya spp. and Pectobacterium spp. isolate in Japan*. PhD. Thesis. Shizuoka University. Jepang.
- 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.
- Suprpto dan Marzuki. 2002. *Bertanam Jagung*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Suprpto dan Marzuki, 2005. *Respon Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Jagung (Zea Mays Saccharata Sturt)*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Suprpto, H. S. 1996. *Bertanam Jagung*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Syahriani, I., Evelyn, C., Istiqomah, D., Novianti, E., Adila, H., Rahayu, R. P., et al. 2021. Identifikasi penyakit pada batang tanaman jagung (*Zea mays L.*) di Kecamatan Panyabungan Kabupaten Mandaling Natal. Sumatera Utara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. 1(2): 325--332.
- Tito, I. M. 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik yang terdapat pada cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*). *Skripsi*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Warisno. 2007. *Budidaya Jagung Manis Hibrida*. Kanisius, Yogyakarta

Warrier, R and Tripathi, K.K. 2011. *Biology of Zea mays (Maize)*.
Department of Biotechnology Government of India. India.

Yunasfi. 2008. Serangan Patogen dan Gangguan Terhadap Proses Fisiologis
Pohon. *Karya Tulis*. Universitas Sumatera Utara. Medan.