

Karakterisasi penyebab penyakit kanker batang pada pepaya (*Carica papayae* L.) di Kecamatan Limau, Kabupaten Tanggamus, Lampung

Shakila Larasati AM¹, Radix Suharjo¹, Tri Maryono¹, Joko Prasetyo¹, Imam Masyuda², & Farhan Taha²

¹Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, ²Balai Penyuluh Pertanian Kabupaten Tanggamus, Lampung

Abstract: This study aims to determine the pathogen characteristics of papaya stem cancer and identify alternative host plants other than papaya. The research was conducted from October 2020 to May 2021 in the Laboratory of Agricultural Biotechnology and the Laboratory of Plant Diseases, Faculty of Agriculture, University of Lampung. Four bacterial isolates suspected to be the cause of papaya stem cancer in Limau (Tang 2(1), Tang 2(2), Ptl 1(2), Ptl 2(2)) were used in this study. Bacterial characterization was determined based on the results of biochemical tests. The results showed that the bacterial isolates were gram-negative, fermentative, lecithinase-negative, soft rot-negative, and hypersensitivity-negative, and did not produce fluorescence on King's B media. All isolates were positive for the arginine dihydrolase test, except for Tang 2(2) and Ptl 1(2). All isolates showed a negative reaction in the casein test, except for Tang 2(2). All isolates were able to grow at 39 °C or 40 °C. All bacterial isolates were able to utilize mannitol, L-tartrate, and mannitol, but not ascorbic acid. The results of the host range test showed that the bacteria were able to infect and cause symptoms in eggplant, chickpeas, luffa, and long beans. A pathogenicity test was conducted on 2-month-old papaya seedlings (cv. Calina). The results showed that all four bacterial isolates from Limau caused necrotic symptoms in the papaya seedlings.

Keywords: biochemical test, host range, necrotic symptom, papaya plant, pathogenicity

Sitasi: AM SL, Suharjo R, Maryono T, Prasetyo J, Masyuda I, & Taha F. 2024. Karakterisasi penyebab penyakit kanker batang pada pepaya (*Carica papayae* L.) di Kecamatan Limau, Kabupaten Tanggamus, Lampung. JPA 1(1): 1 – 13.

Artikel masuk: 2 Januari 2024
Revisi diterima: 29 Maret 2024
Publikasi online: 4 Mei 2024

*Penulis korespondensi:

Radix Suharjo (Email:

radix.suharjo@fp.unila.ac.id)

Pendahuluan

Tanaman pepaya merupakan tanaman yang berasal dari negara-negara Amerika Tengah dan termasuk dalam famili Caricaceae. Tanaman pepaya banyak tumbuh di daerah tropis dan sub tropis. Di Indonesia, tanaman pepaya tumbuh di dataran rendah sampai dataran tinggi dengan ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut. Daerah penghasil pepaya di Indonesia antara lain Lampung, Aceh, Sumatra Utara, dan Sumatra Barat (BPS, 2019).

Produksi pepaya di Lampung dalam rentang waktu 2016-2019 mengalami fluktuasi. Pada tahun 2016 produksi pepaya mencapai 88.107 ton, tahun 2017 mengalami penurunan produksi dengan total produksi 80.364 ton, tahun 2018 mengalami penurunan kembali dengan total produksi 64.813 ton, dan pada tahun 2019 mengalami kenaikan dengan total produksi 105.598 ton (BPS, 2019). Fluktuasi produksi pepaya ini disebabkan oleh berbagai faktor, salah satunya penyakit tanaman.

Salah satu penyakit baru tanaman pepaya adalah kanker batang yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia papayae* (Gardan *et al.*, 2004). Tanaman pepaya yang terserang patogen *E. papayae* memiliki gejala berupa tangkai daun dan batang yang masih hijau terdapat bercak kebasah-basahan. Menurut Gardan *et al.* (2004), gejala lanjut penyakit kanker batang ditandai dengan terbentuknya kanker pada bagian tanaman, khususnya pada bagian batang.

Pada tahun 2020, ditemukan gejala kanker batang tanaman pepaya di Limau, Kabupaten Tanggamus. Gejala ini mirip dengan gejala serangan *E. papayae* yang dilaporkan oleh Gardan *et al.* (2004). Hal ini memunculkan dugaan bahwa penyebab kanker batang tanaman pepaya di Limau adalah *E. papayae*. Bakteri *E. papayae* pertama kali dilaporkan di Jawa Timur pada tahun 1931 (Semangun, 2007). Sampai saat ini belum banyak laporan tentang *E. papayae* di Indonesia serta kisaran inang penyebabnya. Oleh karena itu perlu dilakukan proses karakterisasi dan uji kisaran inang untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menginfeksi dan menyebabkan gejala pada tanaman inang selain pepaya.

Metode Penelitian

Tempat dan waktu penelitian. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian dan Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan mulai Oktober 2020 sampai Mei 2021. Empat isolat yang digunakan dalam penelitian ini memiliki bentuk koloni bulat putih (Tabel 1).

Tabel 1. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian

No	Kode Isolat	Asal Isolat	Inang	Pada media PPGA
1.	Ptl 1(2)	Limau, Tanggamus	Pepaya	Putih kemerahmudaan
2.	Ptl 2(2)	Limau, Tanggamus	Pepaya	Putih
3.	Tang 2(1)	Limau, Tanggamus	Pepaya	Kering seperti kertas
4.	Tang 2(2)	Limau, Tanggamus	Pepaya	Putih

Uji patogenesitas. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil 2 ose bakteri berumur 24 jam dan dimasukkan dalam tabung *ependorf* 1,5 mL yang berisi air steril 1 mL, kemudian dihomogenkan menggunakan *rotamixer*. Selanjutnya bakteri diinokulasikan dengan cara disuntik pada batang tanaman pepaya.

Uji Biokimia. Karakterisasi dilakukan dengan melakukan serangkaian uji biokimia yaitu

Uji Gram. Uji gram dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri dari media PPGA yang berumur 24 jam. Bakteri diletakkan di kaca preparat lalu ditetesi KOH 3% dan diratakan menggunakan jarum ose. Kemudian jarum ose diangkat perlahan hingga tinggi kurang lebih 1 cm. Jika suspensi tersebut menjadi kental dan seperti benang saat diangkat, maka isolat bakteri bersifat gram negatif. Sebaliknya jika suspensi diangkat tidak terbentuk seperti benang maka isolat bakteri bersifat gram positif (Powers, 1995).

Uji oksidatif/fermentatif (O/F). Pengujian dilakukan dengan menggunakan media O/F. Bahan yang digunakan adalah 98 g bubuk media O/F dan 1000 mL akuades. Kemudian media dituang ke dalam tabung reaksi sebanyak 4 mL dan disterilisasi. Isolat bakteri yang berumur 24 jam pada media PPGA diinokulasikan dalam dua tabung reaksi media O/F dengan cara ditusukkan sampai dasar tabung

menggunakan jarum ent. Selanjutnya salah satu tabung yang sudah ditusukkan bakteri ditutup dengan minyak parafin steril, sedangkan tabung lainnya tidak diberi minyak parafin. Kemudian diinkubasi pada suhu 28 °C selama 1-7 hari yang selanjutnya diamati ada tidaknya perubahan warna pada O/F. Jika media berubah warna kuning, maka bakteri bersifat fermentatif. Jika media tidak berubah warna, maka bakteri bersifat oksidatif (Anggraini & Mellisa, 2016).

Uji hipersensitif. Pengujian dilakukan pada daun tembakau untuk mengetahui respon dari daun tanaman tembakau setelah diinokulasikan bakteri uji. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil 1 ose biakan murni bakteri berumur 24 jam dari media PPGA dan disuspensikan menggunakan air steril 0,5 mL dalam tabung eppendorf 1,5 mL. Suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan rotamixer. Kemudian 0,5 mL suspensi bakteri disuntikkan pada daun tembakau. Pengamatan gejala dilakukan 24-48 jam setelah diinokulasi. Jika warna daun tembakau berubah menjadi kecoklatan atau nekrotik, maka bakteri tersebut bersifat patogen tanaman (Parida dkk., 2016).

Uji lechitinase. Media yang digunakan yaitu YPA dan kuning telur. Bahan yang digunakan untuk pembuatan media YPA yaitu 10 g pepton, 5 g yeast, 20 g 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 dkk., 2020).

Uji soft rot. 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 dilembapkan 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).

Uji kemampuan tumbuh pada suhu 39°C dan 40°C. 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 eppendorf 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).

Uji fluoresensi pada media king's B. Uji ini dilakukan dengan cara mengambil 1 ose bakteri yang berumur 24 jam dan digoreskan pada media King's B. Bahan pembuatan media King's 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, maka biakan bakteri yang telah disinari sinar ultra violet (UV) akan menghasilkan warna hijau berpendar (Schaad et al., 2001).

Uji arginine dihydrolase (media Moeller). Pembuatan media Moeller basal medium sebagai berikut sebanyak 21 g yang dilarutkan dengan menggunakan aquades 1000 mL, kemudian media dipanaskan. Sebanyak 5 mL media dituang ke dalam tabung reaksi dan disterilkan pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Bakteri 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).

Uji casein. 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).

Uji kemampuan tumbuh pada beberapa jenis bahan organik. Media yang digunakan pada uji ini adalah media Ayer's dengan komposisi $NH_4H_2PO_4$ 1 g, KCl 0,2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 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 eppendorf 1,5 mL yang berisi air steril sebanyak 0,5 mL, kemudian dihomogenkan menggunakan rotamixer. Bakteri diambil dengan jarum ent dan ditusukkan pada media 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).

Uji kisaran inang. 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 yang telah dicuci bersih menggunakan jarum suntik dengan metode *stabbing*. Jika bagian tanaman yang diinokulasikan menunjukkan gejala nekrotik atau busuk lunak, maka isolat bakteri tersebut dapat menginfeksi tanaman tersebut. Jenis tanaman yang digunakan untuk uji kisaran inang antara lain adalah mentimun, janten, tomat, pare, selada, sawi putih, terong, cabai, labu siam, buncis, kubis, pakcoy, caisin, seledri, kemangi, gambas, wortel, daun bawang, bayam, kangkung, pepaya dan kacang panjang (Oktaviana, 2018).

Hasil dan Pembahasan

Uji patogenesis pada tanaman pepaya. Sebanyak empat isolat berasal dari Limau dan telah diuji/konfirmasi sebagai penyebab penyakit kanker batang. Hasil pengujian patogenesis menunjukkan bahwa semua isolat yang berasal dari Limau mampu menginfeksi dan menimbulkan gejala pada tanaman pepaya (Tabel 2). Gejala yang muncul berupa bercak kebasah-basahan seperti tersiram air panas yang melebar disekitar bekas inokulasi bakteri patogen dan terbentuk kanker pada bagian batang (Gambar 1). Gejala yang muncul ini sama dengan gejala yang ditemukan di Limau, yaitu terdapat bercak kebasah-basahan pada tangkai daun dan batang yang masih hijau.

Tabel 2. Hasil uji patogenesis pada tanaman pepaya

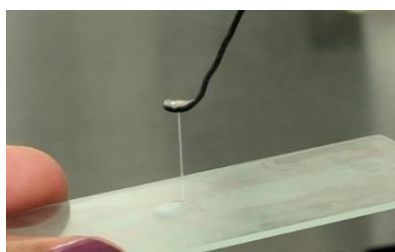
Kode Isolat	Hasil
Tang 2(2)	Kanker Batang
Tang 2(1)	Kanker Batang
Ptl 1(2)	Kanker Batang
Ptl 2(2)	Kanker Batang



Gambar 1. Hasil uji patogenesis pada tanaman pepaya 21 hari setelah inokulasi. Gejala kanker batang terlihat pada tanaman yang diinokulasi isolat Ptl 1(2), Ptl 2(2), Tang 2(1), Tang 2(2).

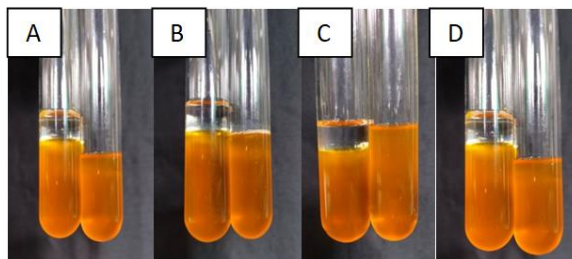
Uji Biokimia

Uji Gram. Hasil pengujian menunjukkan bahwa semua isolat bakteri bersifat Gram negatif. Gram negatif ditunjukkan dengan terbentuknya lendir yang seperti benang yang tidak terputus pada saat ose diangkat. Gram positif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya lendir pada saat ose diangkat (Gambar 2). Hasil uji gram yang dilakukan menggunakan KOH 3% menunjukkan bahwa semua isolat yang digunakan termasuk dalam kelompok bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif akan membentuk lendir saat uji menggunakan KOH 3% karena pecahnya dinding sel bakteri akibat berada dalam larutan alkali yang tinggi (KOH 3%). Sedangkan bakteri gram positif tidak membentuk lendir karena dinding sel bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal (Handoko dkk., 2020). Bakteri yang termasuk ke dalam kelompok gram negatif antara lain *Ralstonia*, *Pseudomonas*, *Dickeya*, *Erwinia* dan *Xanthomonas*.



Gambar 2. Reaksi Gram negatif dalam uji Gram.

Uji oksidatif/fermentatif. Hasil pengujian menunjukkan bahwa semua isolat bakteri bersifat fermentatif. Isolat yang bersifat fermentatif ditunjukkan dengan perubahan warna media O/F dari hijau menjadi kuning pada tabung yang diberi minyak parafin maupun yang tidak diberi minyak parafin (Gambar 3).



Gambar 3. Uji Oksidasi/Fermentatif. A. Tang 2(1); B. Tang 2(2), (C) Ptl 1(2), dan (D) Ptl 2(2).

Uji hipersensitif. Hasil uji hipersensitif yang telah dilakukan memperlihatkan bahwa empat isolat lainnya menunjukkan reaksi negatif (Tabel 3). Reaksi positif ditunjukkan dengan gejala seperti tersiram air panas atau nekrotik setelah 24 jam inokulasi (Gambar 4).

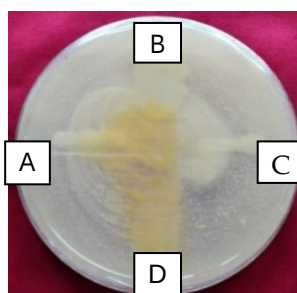
Tabel 3. Hasil uji hipersensitif pada tanaman tembakau

Kode Isolat	Hasil
Tang 2(2)	-
Tang 2(1)	-
Ptl 1(2)	-
Ptl 2(2)	-



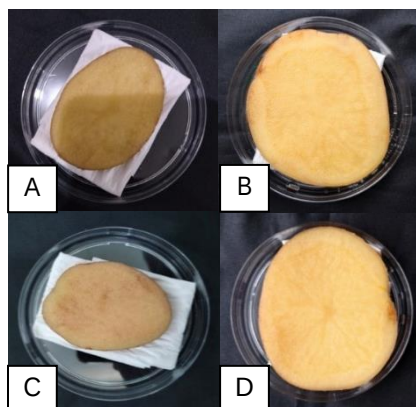
Gambar 4. Uji hipersensitif 24 jam setelah inokulasi.

Uji lechitinase. Hasil uji lechitinase menunjukkan bahwa semua isolat bakteri bereaksi negatif. Reaksi negatif ditandai dengan tidak adanya zona putih buram disekitar koloni bakteri tersebut setelah 7 hari inokulasi (Gambar 5).



Gambar 5. Uji *lechitinase* 7 hari setelah inokulasi. A. Tang 2(2); B. Tang 2(1); C. Ptl 1(2); D. Ptl 2(2).

Uji soft rot. Hasil uji soft rot menunjukkan bahwa semua isolat bakteri tidak menyebabkan busuk lunak pada umbi kentang, dapat disimpulkan bahwa semua isolat bakteri menunjukkan hasil reaksi negatif (Gambar 6).

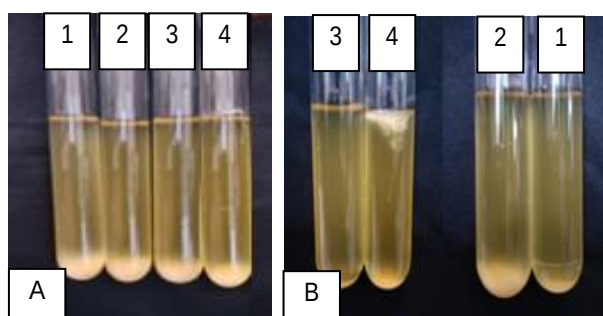


Gambar 6. Uji *soft rot* pada umbi kentang. A. Tang 2(2); B. Tang 2(1); C. Ptl 1(2), D. Ptl 2(2).

Uji kemampuan umbuh pada suhu 39°C dan 40°C. Hasil uji kemampuan tumbuh pada beberapa suhu menunjukkan bahwa semua isolat dapat tumbuh pada suhu 39 °C, sedangkan pada suhu 40 °C hanya ada 4 isolat yang dapat tumbuh di suhu tersebut (Tabel 4). Pada suhu 39 °C terdapat 1 isolat yang berubah warna menjadi hijau keruh yaitu Tang 2(2). Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan warna media yang semula kuning bening menjadi kuning keruh (Gambar 7).

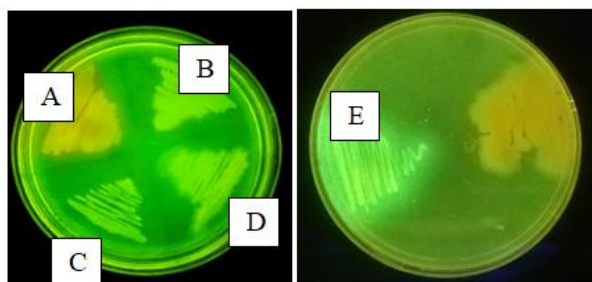
Tabel 4. Hasil uji kemampuan tumbuh pada beberapa suhu 39 °C dan 40 °C setelah 7 hari inokulasi

Kode Isolat	Kemampuan tumbuh pada suhu	
	39 °C	40 °C
Tang 2(2)	+	+
Tang 2(1)	+	+
Ptl 1(2)	+	+
Ptl 2(2)	+	+



Gambar 7. Hasil uji kemampuan tumbuh pada beberapa suhu setelah 7 hari inokulasi. A. Suhu 39 °C; B. Suhu 40 °C; 1) Ptl 1(2); 2) Ptl 2(2); 3) Tang 2(1); 4) Tang 2(2).

Uji fluoresensi pada media king's B. Hasil pengujian menunjukkan bahwa semua isolat bakteri yang diinokulasikan menunjukkan reaksi negatif. Reaksi negatif ditunjukkan dengan tidak berpendarnya isolat bakteri di bawah sinar UV (Gambar 8).

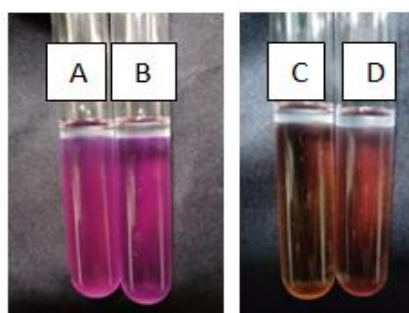


Gambar 8. Hasil uji fluoresensi pada media King's B di bawah sinar UV. Hasil uji fluoresensi isolat *Pseudomonas aeruginosa* (KL7) pada media King's B di bawah sinar UV (Saraswati, 2021). A. Tang 2(2); B. Tang 2(1); C. Ptl 1(2); D. Ptl 2(2); E. KL7.

Uji arginine dihydrolase (media moeller). Hasil uji arginine dihydrolase menunjukkan bahwa tidak semua isolat bakteri memiliki reaksi positif (Tabel 5). Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan warna dari warna merah bata menjadi ungu (Gambar 9). Perubahan warna tersebut terjadi karena bakteri dapat tumbuh dalam kondisi anaerob, dalam media yang mengandung arginin.

Tabel 5. Hasil uji *arginine dihydrolase* setelah 7 hari inokulasi

Kode Isolat	Hasil
Tang 2(2)	-
Tang 2(1)	+
Ptl 1(2)	-
Ptl 2(2)	+

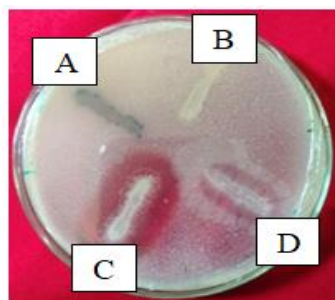


Gambar 9. Hasil uji *arginine dihydrolase* setelah 7 hari inokulasi. A. Tang 2(1); B. Ptl 2(2); C. Tang 2(2); D. Ptl 1(2).

Uji casein. Hasil uji casein menunjukkan satu isolat bereaksi positif yaitu Tang 2(2), sedangkan lima isolat bakteri lainnya negatif (Tabel 6). Reaksi positif ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri (Gambar 10).

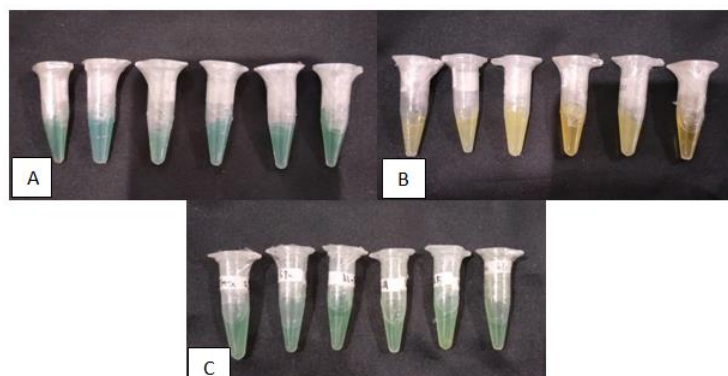
Tabel 6. Hasil uji casein setelah 2 hari inokulasi

Kode Isolat	Hasil
Tang 2(2)	+
Tang 2(1)	-
Ptl 1(2)	-
Ptl 2(2)	-



Gambar 10. Hasil uji casein setelah 2 hari inokulasi. (A) Ptl 2(2), (B) Ptl 1(2), (C) Tang 2(2), dan (D) Tang 2(1).

Uji kemampuan tumbuh pada beberapa jenis bahan organik. Hasil uji kemampuan untuk menggunakan beberapa jenis bahan organik (D-melibiose, Lactose, L-ascorbic Acid, Ascorbic Acid dan Citrate, Myo-inositol, L-tartrate, D-tartrate, Mannitol, Starch, D-Arabinose, Innulin, S-Ketogluconate, D-raffinose, serta M-tartrate) ditunjukkan pada Tabel 7. Semua isolat terlihat bakteri mampu menggunakan Mannitol, L-tartrate, Myo-inositol, Innulin, M-tartrate, Citrate, dan D-tartrate namun tidak untuk Ascorbic Acid. Tidak semua isolat mampu menggunakan Lactose kecuali Ptl 1(2), D-Arabinose kecuali Tang 2(2) dan Ptl 1(2), L-ascorbic Acid kecuali Tang 2(1) dan Ptl 2(2), Starch kecuali Ptl 1(2), S-Ketogluconate kecuali Ptl 2(2), D-melibiose kecuali Tang 2(2) dan Ptl 1(2), D-raffinose kecuali Ptl 1(2). Bakteri yang mampu menggunakan bahan organik ditunjukkan dengan adanya perubahan media dari warna hijau menjadi kuning atau biru, sedangkan bahan organik yang tidak digunakan oleh bakteri maka tidak terlihat adanya perubahan warna pada media yang diinokulasikan (Gambar 11).



Gambar 11. Hasil uji pertumbuhan pada beberapa bahan organik bereaksi positif berwarna biru (A) atau kuning (B) dan bereaksi negatif berwarna hijau (C).

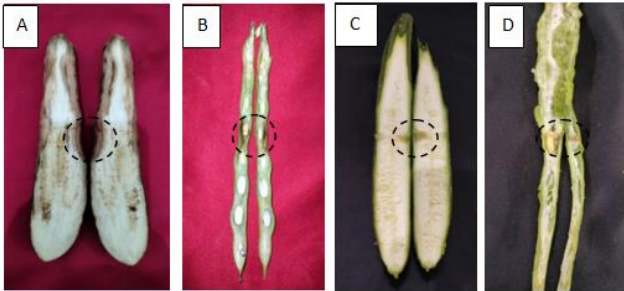
4.1.3 Uji kisaran inang

Uji kisaran inang. Sebanyak 22 bagian tanaman sayuran digunakan sebagai tanaman uji. Hasil uji menunjukkan bahwa tidak semua sayuran menunjukkan gejala setelah diinokulasi (Tabel 7). Sebanyak 4 bagian tanaman yang menunjukkan gejala yaitu terong (buah), buncis (buah), gambas (buah), dan

kacang panjang (buah). Bagian tanaman yang di uji menunjukkan gejala setelah 5 hari inokulasi (Gambar 12).

Tabel 7. Hasil uji kemampuan tumbuh pada beberapa jenis bahan organik

Isolat	Bahan Oganik														
	Lactose	Myo- inno- sitol	D- arabi- nose	L- ascorbic acid	Strach- anth	Man- nitol	S- ketoglu- conate	D- melibi- ose	D- raffin- ose	Ascorb- ic-acid	D- tartr- ate	M- tartr- ate	Citrate	L- tartra- te	Immulin
Tang 2(2)	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
Tang 2(1)	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Ptl 1(2)	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+
Ptl 2(2)	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+



Gambar 12. Hasil uji kisaran inang. A. Terong; B. Buncis; C. Gambas; D. Kacang panjang.

Sebanyak empat isolat yang merupakan representatif dari 31 isolat yang digunakan dalam penelitian ini. Keempat isolat tersebut memiliki bentuk koloni bulat putih. Isolat Tang 2(2) yang telah ditumbuhkan di media PPGA akan memiliki ciri kering seperti kertas. Isolat Ptl 1(2) setelah di tumbuhkan di media PPGA memiliki warna putih kemerahmudaan. Sedangkan untuk isolat Tang 2(2) dan Ptl 2(1) memiliki warna putih pada media PPGA.

Hasil uji oksidatif/fermentatif menunjukkan semua isolat bersifat fermentatif. Isolat bakteri yang bersifat fermentatif juga bersifat anaerob. Bakteri anaerob adalah bakteri yang dapat tumbuh dengan atau tanpa adanya oksigen. Bakteri yang bersifat fermentatif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada media dari hijau menjadi kuning pada tabung yang ditutupi minyak parafin (Oviana dkk., 2015). Pada uji kali ini, bakteri yang diinokulasikan pada media yang tidak diberi minyak parafin juga tumbuh. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut, selain juga bersifat fermentatif juga bersifat oksidatif (aerob). Bakteri aerob adalah bakteri yang mampu tumbuh pada kondisi ada udara.

Pada uji casein menunjukkan bahwa hanya isolat Tang 2(2) yang menunjukkan reaksi positif. Reaksi positif ditandai dengan adanya adanya zona bening disekitar koloni bakteri. Zona bening mengindikasikan bahwa isolat bakteri mampu menghidrolisis protein (proteolitik). Sifat proteolitik bakteri ditunjukan dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri sebagai hasil dari menghidrolisis protein tersebut menjadi peptida (Putri dkk., 2011).

Hasil uji soft rot menunjukkan semua isolat memberikan hasil negatif. Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya pembusukkan pada umbi kentang. Hasil negatif pada uji soft rot menunjukkan bahwa

bakteri tersebut bukan bakteri penyebab penyakit busuk lunak. Sedangkan bakteri yang bersifat *soft rot* positif merupakan bakteri yang menyebabkan busuk lunak pada tanaman dan bersifat patogenik (Oviana dkk., 2015). Dua kelompok bakteri penyebab penyakit *soft rot* atau busuk lunak adalah bakteri yang berasal dari kelompok genus *Dickeya* dan *Pectobacterium* (Joko & Kusumandari, 2014).

Pada uji hipersensitif, isolat bakteri menunjukkan reaksi negatif. Reaksi negatif pada pengujian hipersensitif tanaman tembakau ditandai dengan tidak munculnya gejala nekrotik pada jaringan daun setelah 24 jam setelah inokulasi. Hipersensitif merupakan mekanisme pertahanan yang menghasilkan penghambatan dari serbuan mikroorganisme (Danaatmaja dkk., 2009). Respons hipersensitif pada tumbuhan ditunjukkan dengan adanya gejala bercak pada daun tembakau yang menandakan kematian sel-sel pada jaringan yang diinfeksi dengan patogen. Kematian jaringan yang terinfeksi merupakan mekanisme tanaman untuk menghambat pertumbuhan dan perkem-

baran patogen (Satwika dkk., 2017). Bakteri yang bersifat hipersensitif merupakan patogen tanaman, namun tidak semua bakteri yang tidak bersifat hipersensitif bukan patogen tanaman. Beberapa bakteri patogen tanaman menimbulkan reaksi negatif pada uji hipersensitif contohnya *Xanthomonas* sp. (Kurniawati dkk., 2020).

Hasil uji pertumbuhan bakteri pada beberapa suhu menunjukkan bahwa semua isolat bakteri dapat tumbuh pada suhu 39 °C dan 40 °C. Hal ini ditandai dengan perubahan warna media YP dari berwarna kuning bening menjadi kuning keruh.

Pada uji fluoresensi menunjukkan bahwa semua isolat bakteri yang diinokulasi pada media King's B bersifat fluoresensi negatif. Fluoresensi negatif ditunjukkan dengan tidak berpendarnya isolat bakteri yang diuji ketika diamati di bawah sinar UV. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak menghasilkan pigmen fluoresen. Indikator fluoresensi adalah senyawa yang memancarkan sinar yang akan tampak jika di sinari dengan sinar UV (Anam, 2015).

Pada uji *arginine dihydrolase* semua isolat bakteri selain Tang 2(2) dan Ptl 1(2) menunjukkan reaksi positif. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan warna media yang dari merah kecoklatan menjadi warna ungu. Perubahan warna pada media terjadi karena adanya aktivitas enzim desmidase yang berperan mendegradasi *arginine* menjadi *citrulline* dan NH_3 serta enzim *citrulline ureidase* yang dapat mengubah *citrulline* menjadi *ornithine*, CO_2 dan NH_3 (Simatupang, 2008).

Hasil uji *lechitinase* menunjukkan bahwa semua isolat memberikan hasil negatif. Reaksi negatif ditunjukkan dengan tidak adanya zona putih keruh di sekitar koloni bakteri. Kelompok bakteri yang mempunyai enzim *lechitinase* ditunjukkan dengan kemampuannya dalam katalisis lesitin (trigliserida) menjadi digliserda. Kelompok bakteri yang dapat memproduksi enzim lechitinase adalah *Pseudomonas* sp. (Esselman & Liu, 1961).

Hasil uji kemampuan tumbuh pada beberapa bahan organik menunjukkan bahwa tidak semua isolat bereaksi positif. Reaksi positif ditandai dengan perubahan media dari warna hijau menjadi kuning atau biru. Berubahnya media menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu hidup dan berkembang dengan memanfaatkan bahan organik yang ada di dalam media tersebut. Sekresi hasil metabolisme yang dilakukan akan merubah pH media (warna hijau) menjadi cenderung ke basa (warna biru) atau asam (warna kuning) (Purwaningsih, 2005).

Hasil uji kisaran inang menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diuji memberikan hasil yang negatif pada kemangi, daun bawang, seledri, wortel, kangkung, buncis (kecuali Ptl 2(2)), selada, sawi hijau, terong (kecuali Tang 2(2)), sawi putih, kubis, caisin, pakcoy, labu siam, timun, pare, tomat, cabai, janten,

dan kacang panjang (kecuali Tang 2(2), Tang 2(1) dan Ptl 1(2)). Pada gambas, semua isolat bakteri menunjukkan reaksi positif. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya gejala busuk pada daerah inokulasi. Hasil positif ini menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut mempunyai potensi untuk menginfeksi dan menimbulkan gejala (berpotensi sebagai patogen) tanaman uji tersebut (Oviana dkk., 2015).

Hampir semua isolat bakteri pada uji patogenesitas menimbulkan gejala pada tanaman pepaya berupa bercak kebasah-basahan seperti tersiram air panas yang melebar disekitar bekas inokulasi dan terbentuk kanker pada bagian batang. Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut merupakan bakteri patogen tanaman pada pepaya seperti yang ditemukan di Limau. Gejala yang ditemukan yaitu terdapat bercak kebasah-basahan seperti tersiram air panas pada batang dan tangkai daun yang masih hijau.

Hasil karakterisasi isolat bakteri yang berasal dari Kecamatan Limau tidak menunjukkan gejala busuk lunak. Isolat juga termasuk kedalam Gram negatif, bersifat fermentatif, dan tidak berpendar dibawah sinar UV pada media king's B. Isolat juga tidak menimbulkan gejala hipersnsitif, namun menunjukan gejala patogenesitas pada tanaman pepaya. Menurut Kartini dkk. (2014), bakteri *Erwinia* memiliki karakteristik busuk lunak, termasuk gram negatif, bersifat fermentatif, berpendar pada saat di beri sinar UV, hipersensitif positif, dan patogenesitas positif.

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa bakteri patogen yang berasal dari Limau memiliki karakteristik antara lain: gram negatif, bersifat fermentatif, dapat tumbuh pada suhu 39 °C maupun 40 °C, hipersensitif negatif, *lechinase* negatif, *soft rot* negatif, tidak berpendar, casein positif pada isolat Tang 2(2), *arginine* positif pada isolat Ptl 2(2) dan Tang 2(1), serta dapat menggunakan bahan organik *mannitol*, *innulin*, dan *L-tertate*. Isolat yang berasal dari limau dapat menginfeksi dan menimbulkan gejala pada sayuran gambas, terong, buncis dan kacang panjang.

Referensi

- Anam, K. 2015. Isolasi senyawa triterpenoid dari alga merah (*Eunheuma cottonii*) menggunakan kromatografi lapis tipis (klt) dan analisisnya menggunakan spektrofotometer uv-vis dan ftir. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri. Malang.
- Anggraini, R. & Mellisa, S. 2016. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan uji mikrobiologi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. 1(2): 270-286.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2019. *Produksi Buah Pepaya di Provinsi Lampung*. <http://www.bps.go.id/indicator/55/62/6/produksi-tanaman-buah-buahan>. Diakses pada tanggal 6 April 2021.
- Danaatmaja, Y., Siti, S., Tri, J., & Cavrina, U.S. 2009. Isolasi dan karakterisasi *Ralstonia syzygii*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15(1): 7-12.
- Esselman, M. T. & Liu, P. V. 1961. Lecithinase production by gram negative bacteria. *Journal of Bacteriol*. 81(6): 939-945.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Gardan, L., Christen, R., Achouak, W., & Prior, P. 2004. *Erwinia papayae* sp. nov., a pathogen of papaya (*Carica papayae*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54: 107-113.
- Handoko, Y. A., Kristiawan, Y. A., & Agus, Y. H. 2020. Isolasi dan karakterisasi biokimia bakteri pembusuk buah cabai rawit. *Teknologi Pangan : Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*. 11(1): 34-41.
- Joko, T. & Kusumandari, N. 2014. Deteksi molekular bakteri penyebab penyakit busuk lunak pada anggrek menggunakan teknik polymerase chain reaction. *Prosiding Seminar Nasional dalam Rangka Dies Natalis ke-68 Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada 2014*. 643-648.

- Kurniawati, K., Nursipa, N. T., & Munif, A. 2020. Nematoda puru akar pada seledri (*Apium graveolens* L.) dan pengendaliannya menggunakan bakteri endofit secara in vitro. *Agrovigor*. 13(1): 70-81.
- Kartini, E., Abadi, A. L., & Aini, L. Q. 2014. Pengembangan bio-bakterisida yang memanfaatkan bahan aktif bakteri endofit potensial antagonis untuk mengendalikan *Erwinia* sp., di umbi kentang. *Jurnal HPT*. 2(4): 2338-4336.
- Oktaviana, H. A. 2018. Identifikasi dan uji kisaran inang penyebab penyakit mati pucuk pada tanaman pepaya (*Carica papayae* L.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Oviana, T., Aeny, T. N., & Prasetyo, J. 2015. Isolasi dan karakterisasi penyebab penyakit busuk buah pada tanaman nanas (*Ananas comosus* [L.] Merr.). *Jurnal Agrotek Tropika*. 3(2): 220-225.
- Parida, I., Damayanti, T. A., & Giyanto, G. 2016. Isolasi, seleksi, dan identifikasi bakteri endofit sebagai agens penginduksi ketahanan padi terhadap hawar daun bakteri. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 12(6): 199-208.
- Powers, E. M. 1995. Efficacy of the ryu nonstaining koh technique for rapidly determining gram reactions of food-borne and waterborne bacteria and yeasts. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(10): 3756-3758.
- Purwaningsih, S. 2005. Isolasi, enumerasi, dan karakterisasi bakteri *rhizobium* dari tanah kebun biologi Wamena, Papua. *Biodiversitas*. 6(2): 82-84.
- Putri, Y. S., Fatimah, & Sumarsih, S. 2011. Skrining dan uji aktivitas enzim protease bakteri dari limbah rumah pemotongan hewan. *Skripsi*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Saraswati, L. 2021. Karakterisasi dan potensi bakteri yang berpotensi dengan serangga dan arthropoda pada pertanaman jagung sebagai pengendali hayati *Dickeya zeae*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Satwika, T. D., Rusmana, I., & Akhdiya, A. 2017. Potensi quorum quencher bakteri filosfer dan rizosfer terhadap *Dickeya dadantii*. *Jurnal Agro Biogen*. 13(2): 101-110.
- Schaad, N. W., Jones, J. B., & Chun, W. 2001. *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. APS Press. Amerika.
- Semangun, H. 2007. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Suharjo, R. 2013. Studies on the taxonomy and identification of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium* spp. isolated in Japan. *PhD Thesis*. Shizuoka University. Jepang.
- Simatupang, D. S. 2008. Berbagai mikroorganisme rizosfer pada tanaman pepaya (*Carica papayae* L.) di Pusat Kajian Buah-Buahan tropika (PKBT) IPB Desa Ciomas, Kecamatan Pasir Kuda, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.