

**KARAKTERISTIK MORFO-FISIOLOGI, PATOLOGI, DAN  
MOLEKULER *Dickeya zae*, BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT  
BUSUK BATANG JAGUNG DI INDONESIA DAN UJI  
VIRULENSINYA TERHADAP BEBERAPA GALUR HASIL  
PERSILANGAN**

***MORHO-PHYSIOLOGICAL, PATHOLOGICAL, AND MOLECULAR  
CHARACTERISTICS OF *Dickeya zae*, CAUSAL AGENT OF  
BACTERIAL STALK ROT DISEASE ON CORN IN INDONESIA  
AND VIRULENCE EVALUATION ON SEVERAL CROSSED LINES***

**SURIANI**

**P013201017**



**PROGRAM STUDI ILMU PERTANIAN  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**KARAKTERISTIK MORFO-FISIOLOGI, PATOLOGI, DAN  
MOLEKULER *Dickeya zae*, BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT  
BUSUK BATANG JAGUNG DI INDONESIA DAN UJI  
VIRULENSINYA TERHADAP BEBERAPA GALUR HASIL  
PERSILANGAN**

Disertasi  
sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar doktor  
Program Studi Ilmu Pertanian

Disusun dan diajukan oleh

SURIANI  
P013201017

Kepada

**PROGRAM STUDI ILMU PERTANIAN  
SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**



**LEMBAR PENGESAHAN DISERTASI**

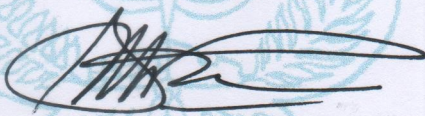
**KARAKTERISTIK MORFO-FISIOLOGI, PATOLOGI, DAN MOLEKULER  
*Dickeya zae*, BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT BUSUK BATANG JAGUNG  
DI INDONESIA DAN UJI VIRULENSINYA TERHADAP BEBERAPA GALUR  
HASIL PERSILANGAN**

Disusun dan diajukan oleh

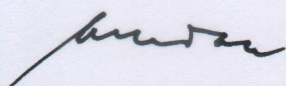
**SURIANI  
NIM.P013201017**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Doktor Program Studi Ilmu Pertanian Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada tanggal 01 Agustus 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

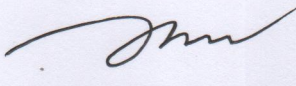
Menyetujui  
Promotor

  
**Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin**  
NIP.196012241986011001

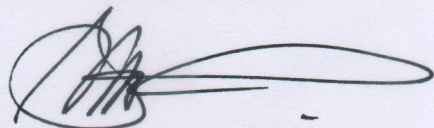
Ko-promotor

  
**Prof. (R). Dr. Ir. Amran Muis, M.S.**  
NIP. 195810101986031003

Ko-promotor

  
**Dr. Muhammad Junaid, S.P.,M.P.**  
NIP. 197612312008121004

Ketua Program Studi

  
**Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin**  
NIP. 196012241986011001

Dekan Sekolah Pascasarjana

  
**Prof. dr. Budu, Ph.D., Sp. M(K), M.MedEd.**  
NIP. 196612311995031009



## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, disertasi berjudul "*Karakteristik Morfo-Fisiologi, Patologi, dan Molekuler Dickeya zeae, Bakteri Penyebab Penyakit Busuk Batang Jagung di Indonesia dan Uji Virulensinya terhadap Beberapa Galur Hasil Persilangan*" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin, Prof (R) Dr. Ir. Amran Muis, MS dan Dr. Muhammad Junaid, SP., M.P). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka disertasi ini. Sebagian dari isi disertasi ini telah dipublikasikan di Jurnal Biodiversitas Volume 24 No. 3 Maret 2023 dengan judul "Morphophysiological and molecular characteristics of bacteria causing stalk rot disease on corn in Gorontalo, Indonesia" dan artikel kedua pada jurnal Biodiversitas Volume 24 No. 6 Juni 2023 dengan judul "New corn resistant lines to stalk rot disease (*Dickeya zeae*) in Indonesia". Bab I Telah Telah dipresentasikan di Seminar Internasional ICFST, di Makassar Publish pada IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science **807** (2021).

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa disertasi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 15 Agustus 2023



NIM P013201017



## PRAKATA

*Bismillahirrahmanirrahim,*

Alhamdulillah puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT berkat segala limpahan rahmat, petunjuk, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian sampai penyusunan tulisan disertasi dengan judul "**Karakteristik Morfo-Fisiologi, Patologi, dan Molekuler *Dickeya zeae*, Bakteri Penyebab Penyakit Busuk Batang Jagung di Indonesia dan Uji Virulensinya terhadap Beberapa Galur Hasil Persilangan**"

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan 'jazakumullah *khairan katsiran*' kepada:

1. Prof Dr Ir Jamaluddin Jompa, M.Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin, Prof. dr. Budu Ph.D., Sp.M(K), Med.Ed, selaku Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin dan Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Pertanian yang telah memberikan dukungan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Universitas Hasanuddin.
2. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin., Prof (R). Dr. Ir. Amran Muis, MS dan Dr. Muhammad Junaid, SP., M.P., selaku komisi pembimbing yang senantiasa meluangkan waktu memberikan arahan, bimbingan, dan motivasi kepada penulis dalam melakukan penelitian dan penulisan disertasi ini.
3. Prof Dr Ir. Yunus Musa, M.Sc, Prof. Dr. Ir. Ade Rosmana, M.Sc., Prof (R). Muhammad Azrai, SP., MP., Fuji Lestari, SP., Puji Lestari, SP., MSi., PhD dan Dr. Juhriah, M.Si selaku komisi penguji dan penilai kualifikasi ujian tertutup, dan seluruh staf pengajar yang telah mencurahkan ilmunya selama menempuh Pendidikan di Sekolah Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin.
4. Ayahanda Palla (Alm), Ibunda Imida, Bapak mertua H. Muhammad Nadir, dan Ibu mertua Hj. Telma Polii (Alm), Kakak-kakakku dan Adikku tercinta sekeluarga terima kasih atas segala doa dan dukungan, kebersamaan, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan.
5. Badan Litbang Pertanian, Kementerian Pertanian dan Badan Riset dan Inovasi Nasional atas kesempatan dan beasiswa untuk melanjutkan pendidikan program doktor bidang ilmu pertanian. Ucapan terima kasih juga kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan biaya penelitian Disertasi kami melalui Program Hibah Disertasi Doktor.

6. Prof (R). Muhammad Azrai, SP., MP selaku kepala Balai Penelitian Tanaman Serealia periode 2017-2022 atas dorongan dan dukungan kepada kami dalam menempuh pendidikan program doktor.
7. Kepala BSIP Tanaman Serelia yang telah memfasilitasi penelitian kami serta Bapak/Ibu Peneliti BRIN atas bantuan dan ilmu yang telah diberikan selama penulis menjadi mahasiswa pascasarjana.
8. Kepada Saudara/saudariku seperjuangan pada Program Doktor Ilmu Pertanian UNHAS Angkatan 2020, terima kasih atas bantuan, motivasi, persaudaraan, kebersamaannya selama ini.
9. Kepada Suamiku tercinta Fandi Abdullah Nadir, S.TP., serta anakku Abiyyu Dzaki Ahsan Fandi, atas dukungan kasih sayang dan penuh kesabaran mendampingi selama menempuh pendidikan S3 dan menjadi inspirasi untuk tetap bersemangat.
10. Kepada semua pihak yang turut membantu dalam penelitian dan penyusunan disertasi ini namun tidak disebutkan satu persatu, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya
11. Penulis berharap semoga hasil penelitian yang tertuang dalam disertasi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembacanya.

Makassar, 15 Agustus 2023

Suriani


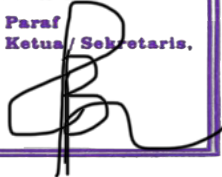


## ABSTRAK

**SURIANI.** *Karakteristik Morfo-Fisiologi, Patologi dan Molekuler Dickeya zeae, Bakteri Penyebab Penyakit Busuk Batang Jagung di Indonesia dan Uji Virulensinya terhadap Beberapa Galur Hasil Persilangan.* (Dibimbing oleh **Baharuddin, Amran Muis, Muhammad Junaid**).

Kurangnya informasi tentang karakteristik bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia menyebabkan sulitnya perakitan teknologi pengendalian penyakit. Penelitian bertujuan untuk menganalisis dan melaporkan: (1) Karakteristik morfo-fisiologi dan molekuler bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia; (2) Karakteristik patologi *D. zeae*; (3) Ketahanan beberapa genotipe jagung terhadap penyakit busuk batang untuk pengembangan galur tahan. Penelitian diawali dengan eksplorasi gejala penyakit busuk batang jagung dari Sulawesi Selatan, Sulawesi Barat, Gorontalo, Kalimantan Timur, dan Yogyakarta. Selanjutnya isolasi dan karakterisasi patogen serta skrining dan pembentukan galur tahan dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Serealia, Sulawesi Selatan, Indonesia. Sebanyak 9 isolat bakteri penyebab busuk lunak pada batang diperoleh dengan karakteristik koloni yakni berbentuk bulat, cembung, tepian rata, berwarna putih keabuan, sel berbentuk basil tunggal berukuran 2-3  $\mu\text{m}$ . Secara fisiologis, karakteristik isolat adalah gram dan oksidase negative, katalase dan indol positif, adaptif tumbuh pada suhu 39°C dan NaCl 5%, produksi enzim lesitinase, protease, fosfatase, sensitive antibiotik. Hasil identifikasi molekuler menggunakan 2 pasang primer (dnaXr/dnaXf dan 27F/1492R), tujuh isolat teridentifikasi sebagai *Dickeya zeae* dan dua isolat sebagai *Dickeya* sp (*syn. Erwinia crysanthemii*). Terdapat satu dari sembilan isolat bakteri yang mempunyai tingkat virulensi tertinggi dan masa inkubasi tercepat (*D. zeae* strain #064), isolat tersebut dijadikan sebagai isolat standar untuk pengujian lebih lanjut. Karakteristik patologi *D. zeae* yakni kisaran inang luas, bersifat tular tanah dan tidak dapat ditularkan lewat benih. Penelitian ini juga menemukan dua galur jagung secara konsisten memiliki nilai AUDPC rendah dan indeks proteksi lebih dari 50% pada dua musim tanam. Galur-galur tersebut telah diselfing hingga terbentuk galur S3 yang berpotensi digunakan sebagai bahan perakitan varietas unggul baru yang tahan penyakit busuk batang.

**Kata Kunci:** *karakteristik, jagung, Dickeya zeae, galur tahan, penyakit busuk batang*


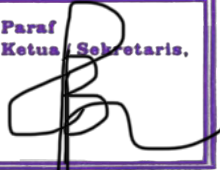
 <b>GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS</b>	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	

## ABSTRACT

**SURIANI.** *Morho-Physiological, Pathological and Molecular Characteristics of Dickeya zeaе, Causal Agent of Bacterial Stalk Rot Disease on Corn in Indonesia and Virulence Evaluation on Several Crossed Lines.* (Supervised by **Baharuddin, Amran Muis, Muhammad Junaid**).

Inadequate information on the characteristics of bacteria that caused corn stalk rot disease in Indonesia proved difficult in assembling a disease control technology. The presented study analyzes and report on: (1) Morpho-physiological and molecular characteristics of bacteria-caused corn stalk rot in Indonesia; (2) Pathological characteristics of *D. zeaе*; and (3) Resistance of several corn genotypes to stalk rot for resistant lines development. The study began with exploring stalk rot disease symptoms from South Sulawesi, West Sulawesi, Gorontalo, East Kalimantan, and Yogyakarta. Furthermore, isolation and characterization of pathogens as well as screening and resistant lines formation were conducted in Indonesian Cereals Research Institute (ICERI), South Sulawesi, Indonesia. A total of nine bacteria isolates that caused stalk soft rot were obtained with the characteristics of colonies in the form of round, convex, flat edges, white-gray, single bacilli cell sized 2-3  $\mu\text{m}$ . Physiologically, the isolates were gram and oxidase negative, catalase and indole positive, adaptive growing at 39C and 5% NaCl, production of lecithinase, protease, phosphatase enzymes, sensitive to antibiotic. The results of molecular identification used 2 pairs of primers (dnaXr/dnaXf and 27F/1492R) where seven isolates were identified as *Dickeya zeaе* and two isolates as *Dickeya* sp (*syn. Erwinia crysanthemi*). One of the nine isolates that have the highest virulence and the fastest incubation period (*D. zeaе* strain #064) used as a standard isolate for further tests. The pathological characteristics of *D. zeaе* was such having a wide range of hosts, soil-borne and cannot be transmitted by seed. This study also found that two corn lines, consistently had a low AUDPC values and more than 50% of protection index during two growing seasons. The corn lines have been self-pollinated to S3 lines which should have the potential to be used as materials for assembling new superior maize varieties resistant to stalk rot disease.

**Keywords:** *Characteristics; Corn, Dickeya zeaе; Resistant lines; Stalk rot disease.*

 <b>GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS</b>	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris.
Tanggal : _____	



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Review of Evidence/ Gap of Knowledge .....	3
1.3. Rumusan Masalah.....	10
1.4. Tujuan Penelitian .....	11
1.5. Manfaat Penelitian .....	11
1.6. Kebaruan Penelitian .....	12
1.7. Ruang Lingkup Penelitian.....	12
1.8. Sistematika Penulisan.....	14
Daftar Pustaka .....	15
<b>BAB II KARAKTERISASI MORFO-FISIOLOGI DAN MOLEKULER BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT BUSUK BATANG JAGUNG DI INDONESIA .....</b>	<b>19</b>
Abstrak .....	19
2.1. Pendahuluan.....	19
2.2. Metode Penelitian.....	21
2.3. Hasil dan Pembahasan .....	29
2.4. Kesimpulan.....	49
Daftar Pustaka .....	50
<b>BAB III KARAKTERISASI PATOLOGI BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT BUSUK BATANG JAGUNG (<i>Dickeya zeae</i>).....</b>	<b>69</b>
Abstrak .....	69

3.1. Pendahuluan .....	69
3.2. Metode Penelitian .....	71
3.3. Hasil dan Pembahasan .....	78
3.4. Kesimpulan .....	93
Daftar Pustaka .....	94
<b>BAB IV EVALUASI KETAHANAN DAN PEMBENTUKAN GALUR JAGUNG TAHAN PENYAKIT BUSUK BATANG SERTA PENGARUHNYA TERHADAP KOMPONEN EPIDEMIOLOGI PENYAKIT.....</b>	<b>107</b>
Abstrak .....	107
4.1. Pendahuluan .....	107
4.2. Metode Penelitian.....	109
4.3. Hasil dan Pembahasan .....	113
4.4. Kesimpulan .....	131
Daftar Pustaka.....	132
<b>BAB V PEMBAHASAN UMUM.....</b>	<b>147</b>
<b>BAB V KESIMPULAN UMUM.....</b>	<b>151</b>
<b>LAMPIRAN</b>	



## DAFTAR TABEL

Nomor Urut	Halaman
2.1 Tingkat patogenisitas 24 isolat bakteri terhadap jagung umur 10 HST.....	35
2.2 Karakterisasi fisiologi 9 isolat bakteri dengan pembandingan <i>Pectobacterium</i> spp. dan <i>Dickeya</i> spp.....	38
2.3 Identifikasi Phenon Bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia.....	41
2.4 Matriks identitas sikuen DNA isolat bakteri penyebab busuk batang jagung yang disandingkan dengan isolat-isolat yang ada pada GenBank berdasarkan hasil amplifikasi <i>houseskeping</i> gen <i>dnaX</i> .....	45
2.5 Matriks identitas sikuen DNA isolat bakteri penyebab busuk batang jagung yang disandingkan dengan isolat-isolat yang ada pada GenBank berdasarkan hasil amplifikasi gen 16S rDNA .....	46
3.1 Rerata jumlah koloni 4 isolat <i>D. zeae</i> yang dihitung menggunakan metode TPC .....	78
3.2 Rerata diameter perkembangan gejala infeksi bakteri <i>Dickeya zeae</i> pada 13 jenis tanaman hortikultura saat 1 sampai 3 hari setelah inokulasi.....	80
3.3 Daftar isolat bakteri yang dieksplorasi dari benih jagung yang terinfeksi penyakit busuk batang.....	83
3.4 Insidensi penyakit busuk batang jagung pada 3 metode inokulasi buatan.....	89
3.5 Rata-rata waktu yang dibutuhkan untuk inokulasi jagung menggunakan 3 teknik inokulasi.....	90
4.1 Daftar materi uji berupa 15 galur S1 jagung potensi hasil tinggi dan 2 galur pembandingan.....	109
4.2 Kriteria ketahanan genotipe jagung terhadap infeksi penyakit busuk batang ( <i>D. zeae</i> ) .....	111
4.3 Tingkat insidensi penyakit busuk batang jagung pada beberapa genotipe jagung potensi hasil tinggi di Kab. Gowa, Sulawesi Selatan pada Musim Hujan (Februari-Mei 2022).....	115
4.4 Tingkat insidensi penyakit busuk batang pada beberapa genotipe jagung potensi hasil tinggi di Kab. Gowa, Sulawesi Selatan pada Musim Kemarau (Juni-September 2022).....	116
4.5 Hasil uji ketepatan model perkembangan penyakit busuk batang jagung pada 2 musim tanam (Hujan dan Kemarau) di Kab. Gowa, Sulawesi Selatan.....	119
4.6 Pengaruh genotipe jagung terhadap nilai AUDPC dan indeks proteksi penyakit busuk batang jagung pada musim hujan dan kemarau.....	121
4.7 Karakter tongkol dan biji jagung pada galur S2 jagung potensi hasil tinggi.....	127
4.8 Tingkat Insidensi penyakit busuk batang saat musim hujan pada Galur asal (S1) jagung potensi hasil tinggi dan galur S2 yang terbentuk.....	130

## DAFTAR GAMBAR

Nomor Urut	Halaman
1.1 Gejala serangan penyakit busuk batang bakteri pada tanaman jagung yang ditemukan di Korea (Myung et al., 2010).....	3
1.2 Gejala tanaman yang terinfeksi penyakit busuk batang bakteri yang di temukan di Kab. Gowa, Sulawesi Selatan Tahun 2021 (a); Maserasi batang yang terinfeksi mulai dari bagian bawah permukaan tanah (b); perubahan warna pada jaringan batang yang terinfeksi (c); jaringan batang yang sehat (d) (Koleksi Pribadi).....	4
1.3 Kultur koloni tunggal <i>D. zae</i> yang diisolasi dari batang jagung dan dimurnikan pada media King B (Kumar et al., 2015) (A) dan kultur <i>D. zae</i> pada media Nutrient Agar (Sumber: Ali et al., 2014) (B)...	5
1.4 Hasil uji gram menggunakan KOH 3% (a); Hasil uji pembusukan umbi kentang (kiri) dan uji O/F pada isolat bakteri B, C dan D (kanan) Hasil uji menggunakan media TZC pada isolat B (b) dan (c); Hasil uji menggunakan media TZC pada isolat B (d) (Sumber: Oviana et al., 2015).....	6
1.5 Pohon filogenik hasil uji PCR 2 isolat patogen busuk batang jagung yang ditemukan di Korea (Myung et al., (2010).....	7
1.6 Kerangka pikir penelitian .....	13
2.1 Batang yang terinfeksi akan terlihat jelas batas busuk lunak dan berbau (a,c); Gejala awal penyakit busuk batang dengan ciri daun layu keseluruhan seperti tercekam air (b); tanaman fase generatif yang terinfeksi penyakit busuk batang akan layu dengan daun berubah warna hingga kuning kecoklatan (d,e).....	30
2.2 Batang jagung yang terinfeksi penyakit busuk batang mengalami perubahan warna dan mudah roboh (a); jaringan batang berwarna coklat kebasahan dan mengeluarkan bau kurang sedap (b,c).....	31
2.3 Gejala pada tangkai tongkol yang membusuk sehingga mudah terkulai (a); daun klobot terluar terlihat busuk basah (b); pada tangkai tongkol busuk biasa ditemukan cendawan yang tumbuh dan serangga (c).....	32
2.4 Reaksi hipersensitif daun tembakau saat 60 jam (a) dan 72 jam (b) setelah diinokulasi beberapa isolat bakteri hasil eksplorasi dari penyakit busuk batang jagung di Indonesia; Ko: control (daun diinokulasi dengan aquades steril).....	33
2.5 Gejala tanaman jagung yang terserang penyakit busuk batang (a-c); Tanaman yang tetap sehat pada perlakuan kontrol (d).....	34
2.6 Bentuk koloni <i>D. zae</i> pada <i>Nutrient Agar</i> yang diinkubasi selama 24 jam (a); Morfologi koloni berupa telur goreng pada media <i>Potato Dextrose Agar</i> yang diinkubasi selama 48 jam (b).....	36
2.7 Bentuk sel bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia.....	36
2.8 Sensitivitas isolat bakteri patogen busuk batang jagung terhadap antibiotik eritromisin 15 µg yang ditandai dengan pembentukan zona bening setelah 24 jam inkubasi (a); Reaksi bakteri pada uji indol (b).....	39
2.9 Produksi enzim lesitinase dengan terbentuknya zona bening pada media NA yang diperkaya dengan emulsi kuning telur (a); produksi	41



	enzim protease yang ditandai pembentukan zona bening pada media skim agar (b); Aktivitas pektolitik bakteri pada umbi kentang dan media CVP (c,d).....	
2.10	Visualisasi fragmen DNA dari amplifikasi gen <i>pelADE</i> dengan primer ADE1 dan ADE2. Produk PCR dengan elektroforesis pada gel agarosa 1%. 100bp, Marker/DNA ladder, 1-9 isolat bakteri busuk batang jagung.....	42
2.11	Visualisasi fragmen DNA dari amplifikasi Produk PCR dengan primer 27F/1497R (a) dan primer <i>dnaXr/dnaXf</i> (b) pada gel agarosa 1%.....	43
2.12	Konstruksi pohon filogeni isolat bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung berdasarkan amplifikasi gen <i>dnaX</i> menggunakan metode statistik <i>UPGMA tree</i> dan model substitusi <i>maximum composite likelihood</i> dengan jumlah ulangan <i>bootstrap</i> 1000 kali. Pohon filogeni diimplementasikan dalam program Bioedit 7.3. dan MEGA11. Nilai pada <i>branches</i> adalah koefisien jarak genetic antar isolat yang menggambarkan jumlah rata-rata perubahan nukleotida di antara isolat. A, amplifikasi menggunakan pasangan primer <i>dnaXr</i> dan <i>dnaXf</i> . B, amplifikasi menggunakan pasangan primer 27F/1492R. *) Nomor aksesori NCBI; ■) sampel penelitian.....	46
2.13	Konstruksi pohon filogeni isolat bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung berdasarkan amplifikasi gen 16S rDNA menggunakan metode statistik <i>UPGMA tree</i> dan model substitusi <i>maximum composite likelihood</i> dengan jumlah ulangan <i>bootstrap</i> 1000 kali. Pohon filogeni diimplementasikan dalam program Bioedit 7.3. dan MEGA11. Nilai pada <i>branches</i> adalah koefisien jarak genetic antar isolat yang menggambarkan jumlah rata-rata perubahan nukleotida di antara isolat. A, amplifikasi menggunakan pasangan primer <i>dnaXr</i> dan <i>dnaXf</i> . B, amplifikasi menggunakan pasangan primer 27F/1492R. *) Nomor aksesori NCBI; ■) sampel penelitian.....	48
3.1	Tingkat insidensi penyakit (%) yang terjadi pada 7 jenis tanaman setelah diinokulasi dengan <i>Dickeya zeae</i> .....	79
3.2	Gejala nekrosis pada sorgum dan jewawut (a); gejala busuk batang pada tanaman sorgum, jewawut dan padi setelah 4HSI (b-d); Gejala positif infeksi <i>D. zeae</i> pada: seledri (e), sansievera (f), pakcoy (g), lidah buaya (h), terong (i), anggrek (j), bawang bombay (k), pisang (l), sawi putih (m); nenas (n); mentimun (o); daun bawang (q).....	81
3.3	Rata-rata persentase benih yang ditumbuhi bakteri pada uji penularan patogen busuk batang jagung melalui benih secara in vitro.....	82
3.4	Insidensi penyakit busuk batang jagung (%) varietas NK7328 dan BISI 18 yang diinokulasikan 8 level konsentrasi suspensi <i>D. zeae</i> melalui tanah .....	84
3.5	Insidensi penyakit busuk batang jagung (%) pada yang diinokulasi 8 level konsentrasi suspensi <i>D. zeae</i> melalui tanah.....	85
3.6	Masa inkubasi penyakit busuk batang jagung (hari) pada varietas NK7328 dan BISI 18 yang diinokulasi 8 level konsentrasi suspensi <i>D. zeae</i> melalui tanah.....	86

3.7	Kepadatan populasi bakteri yang ditemukan pada tanah bekas tanaman terinfeksi <i>D. zeae</i> yang disimpan selama 30, 45 dan 60 hari setelah tanaman terinfeksi mati.....	87
3.8	Penampilan tanaman yang sehat, batang segar dengan warna kemerahan (a); tanaman yang terinfeksi penyakit busuk batang dengan pembusukan yang dimulai dari batang jagung bagian bawah tanah, perubahan warna batang menjadi kecoklatan dan lebih lunak (b, c).....	88
3.9	Korelasi insiden penyakit busuk batang jagung dengan kadar lignin batang 17 galur jagung hibrida (Nilai korelasi sebesar - 0.60877) .....	91
3.10	Korelasi insiden penyakit busuk batang jagung dengan kadar fenol batang 17 galur jagung hibrida (Nilai korelasi sebesar - 0.06047).....	92
4.1	Gejala awal penyakit busuk batang jagung yakni daun tanaman layu secara keseluruhan (a); kemudian 1-2 hari setelah daun layu, tanaman mati dengan pembusukan pada bagian batang (b,c); Penampilan tanaman yang terinfeksi busuk batang diantara tanaman sehat pada fase generatif tanaman (d,e).....	114
4.2	Tingkat keparahan penyakit busuk batang pada 17 genotipe jagung saat musim hujan (KP_MH) dan musim kemarau (KP_MK) di Kab. Gowa, Sulawesi Selatan.....	118
4.3	Pengaruh beberapa galur jagung potensi hasil tinggi terhadap nilai LDBKPP dan indeks proteksi di Sulawesi Selatan pada musim hujan; (a) genotipe MTD1-1; (b) genotipe MTD1-4; (c) genotipe MTD1-5; (d) genotipe MTD1-6; (e) genotipe MTD1-7; (f) genotipe MTD2-1; (g) genotipe MTD2-4; (h) genotipe MTD3-5; (i) genotipe MTD3-7; (j) genotipe MTD4-2; (k) genotipe MTD4-4; (l) genotipe MTD5-1; (m) genotipe MTD5-2; (n) genotipe MTD5-3; (o) genotipe MTD6-2; (p) genotipe Mal 03; (q) genotipe MGOLD.....	124
4.4	Pengaruh beberapa galur jagung potensi hasil tinggi terhadap nilai LDBKPP dan indeks proteksi di Sulawesi Selatan pada musim kemarau; (a) genotipe MTD1-1; (b) genotipe MTD1-4; (c) genotipe MTD1-5; (d) genotipe MTD1-6; (e) genotipe MTD1-7; (f) genotipe MTD2-1; (g) genotipe MTD2-4; (h) genotipe MTD3-5; (i) genotipe MTD3-7; (j) genotipe MTD4-2; (k) genotipe MTD4-4; (l) genotipe MTD5-1; (m) genotipe MTD5-2; (n) genotipe MTD5-3; (o) genotipe MTD6-2; (p) genotipe Mal 03; (q) genotipe MGOLD.....	124
4.5	Tongkol yang terpilih dari hasil selfing untuk pembentukan galur S2 jagung hibrida potensi hasil tinggi tahan penyakit busuk batang.....	129

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Urut	Tabel	Hal
2.1	Karakter fisiologi 76 isolat bakteri yang dieksplorasi dari gejala penyakit busuk batang jagung di Indonesia.....	54
2.2	Daftar isolat bakteri yang menunjukkan karakter Genera Erwinia.....	56
2.3	Rerata waktu terjadinya reaksi hipersensitif pada daun tembakau dan pembusukan umbi kentang yang diinokulasi dengan 28 isolat bakteri dari gejala penyakit busuk batang jagung.....	56
2.4	Insidensi penyakit busuk batang yang terjadi setelah diinokulasi 28 isolat bakteri dari gejala penyakit busuk batang jagung.....	57
2.5	Masa inkubasi penyakit busuk batang jagung yang terjadi setelah diinokulasi 28 isolat bakteri dari gejala penyakit busuk batang jagung.....	58
2.6	Runutan basa nukleotida isolat sampel bakteri penyebab busuk batang hasil amplifikasi menggunakan pasangan primer 27F/1492R. Tanda *(bintang) menunjukkan basa nukleotida yang identik.....	58
2.7	Runutan basa nukleotida isolat sampel bakteri penyebab busuk batang hasil amplifikasi menggunakan pasangan primer dnaXf/dnaXr. Tanda *(bintang) menunjukkan basa nukleotida yang identik.....	64
3.1	Nilai optical density 4 isolat <i>Dickeya zea</i> yang dihitung dengan metode turbiditas menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.....	96
3.2	Tingkat insidensi penyakit busuk batang/daun (%) pada 7 jenis tanaman saat 2 hari setelah diinokulasi <i>D. zea</i> .....	96
3.3	Tingkat insidensi penyakit busuk batang/daun (%) pada 7 jenis tanaman saat 3 hari setelah diinokulasi <i>D. zea</i> .....	96
3.4	Tingkat insidensi penyakit busuk batang/daun (%) pada 7 jenis tanaman saat 4 hari setelah diinokulasi <i>D. zea</i> .....	97
3.5	Tingkat insidensi penyakit busuk batang/daun (%) pada 7 jenis tanaman saat 5 hari setelah diinokulasi <i>Dickeya zea</i> .....	97
3.6	Diameter kerusakan (cm) bagian 15 jenis tanaman hortikultura saat 1 hari setelah diinokulasi dengan suspensi <i>D. zea</i> .....	97
3.7	Diameter kerusakan (cm) bagian 15 jenis tanaman hortikultura saat 2 hari setelah diinokulasi dengan suspensi <i>D. zea</i> .....	98
3.8	Diameter kerusakan (cm) bagian 15 jenis tanaman hortikultura saat 3 hari setelah diinokulasi dengan suspensi <i>D. zea</i> .....	98
3.9	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 2 varietas jagung yang diinokulasi dengan 8 level konsentrasi <i>D. zea</i> .....	99
3.10	Jumlah koloni bakteri <i>D. zea</i> ( $\times 10^4$ cfu/ml) yang tumbuh dari tanah bekas tanaman terinfeksi penyakit busuk batang saat 30 hari setelah tanaman mati.....	99
3.11	Jumlah koloni bakteri <i>D. zea</i> ( $\times 10^3$ cfu/ml) yang tumbuh dari tanah bekas tanaman terinfeksi penyakit busuk batang saat 45 hari setelah tanaman mati.....	99

3.12	Jumlah koloni bakteri <i>D. zaeae</i> ( $\times 10$ cfu/ml) yang tumbuh dari tanah bekas tanaman terinfeksi penyakit busuk batang saat 60 hari setelah tanaman mati.....	100
3.13	Insidensi penyakit busuk batang jagung (%) pada 3 metode inokulasi <i>D. zaeae</i> saat 1 minggu setelah diinokulasi.....	100
3.14	Insidensi penyakit busuk batang jagung (%) pada 3 metode inokulasi <i>D. zaeae</i> saat 2 minggu setelah diinokulasi.....	100
3.15	Insidensi penyakit busuk batang jagung (%) pada 3 metode inokulasi <i>D. zaeae</i> saat 3 minggu setelah diinokulasi.....	101
3.16	Insidensi penyakit busuk batang jagung (%) pada 3 metode inokulasi <i>D. zaeae</i> saat 4 minggu setelah diinokulasi.....	101
3.17	Tingkat keparahan penyakit busuk batang jagung (%) pada 3 metode inokulasi <i>D. zaeae</i> saat tanaman berumur 90 HST.....	102
3.18	Waktu (detik) yang digunakan untuk inokulasi suspensi <i>D. zaeae</i> pada tanaman jagung menggunakan 3 metode inokulasi dengan jumlah sampel 5, 20 dan 100 tanaman.....	102
3.19	Rerata kandungan lignin batang dari 17 genotipe jagung hibrida potensi hasil tinggi.....	103
3.20	Rerata kandungan fenol batang dari 17 genotipe jagung hibrida potensi hasil tinggi.....	103
4.1	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 1 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Hujan (Februari-Mei Tahun 2022).....	135
4.2	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 2 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Hujan (Februari-Mei Tahun 2022).....	135
4.3	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 3 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Hujan (Februari-Mei Tahun 2022).....	136
4.4	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 4 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Hujan (Februari-Mei Tahun 2022).....	136
4.5	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 5 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Hujan (Februari-Mei Tahun 2022).....	137
4.6	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 6 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Hujan (Februari-Mei Tahun 2022).....	137
4.7	Tingkat keparahan penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 90 setelah tanam di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Hujan (Februari-Mei Tahun 2022).....	138
4.8	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 1 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Kemarau (Juni-September Tahun 2022) .....	138
4.9	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 2 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Kemarau (Juni-September Tahun 2022).....	139
4.10	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 3 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Kemarau (Juni-September Tahun 2022).....	139
4.11	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 4 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Kemarau (Juni-September Tahun 2022).....	140



4.12	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 5 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Kemarau (Juni-September Tahun 2022).....	140
4.13	Insidensi penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 6 minggu setelah diinokulasi di Kab. Gowa, SulSel pada Musim Kemarau (Juni-September Tahun 2022).....	141
4.14	Tingkat keparahan penyakit busuk batang (%) pada 17 genotipe jagung saat 90 setelah tanam di Kab. Gowa SulSel pada Musim Kemarau (Juni-September Tahun 2022).....	141
4.15	Daftar galur S3 jagung potensi hasil tinggi tahan terhadap penyakit busuk batang jagung yang disebabkan oleh <i>D. zea</i> .....	142

### Gambar

2.1	Uji gram bakteri dengan KOH 3%, bakteri gram negative ditandai dengan terbentuknya lendir, sementara bakteri gram positif tidak terbentuk lendir setelah suspensi bakteri ditetesi KOH 3%.....	67
2.2	Uji oksidatif fermentatif ditandai dengan terjadi perubahan warna menjadi kuning baik pada media yang tidak ditutup maupun yang ditutup paraffin; jika terjadi perubahan warna kuning hanya pada tabung yang tidak diberi minyak parafin, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat oksidatif; jika perubahan warna menjadi kuning hanya pada tabung yang diberi minyak parafin maka bakteri tersebut bersifat fermentatif .....	67
2.3	Uji katalase bakteri dengan reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung pada suspensi yang ditetesi H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (a); sebaliknya suspensi bakteri yang tidak membentuk busa setelah ditetesi H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> menandakan katalase negatif (b).....	68
3.1	Perhitungan kepadatan bakteri <i>D. zea</i> menggunakan Spektrofotometer dan metode TPC.....	104
3.2	Uji kisaran inang pada daun sawi putih dengan cara menginjeksi suspensi bakteri ke daun dan perkembangan gejala busuk diukur.....	104
3.3	Uji penularan <i>D. zea</i> melalui benih.....	105
3.4	Uji penularan <i>D. zea</i> melalui tanah.....	106
3.5	Uji teknik inokulasi yang tepat untuk skrining ketahanan jagung terhadap penyakit busuk batang.....	106
4.1	Inokulasi bakteri <i>D. zea</i> pada 17 genotipe jagung potensi hasil tinggi saat tanaman berumur 45 HST di Kab. Gowa, Sulawesi Selatan Tahun 2022.....	143
4.2	Penampilan genotipe jagung potensi hasil tinggi yang tahan dan rentan penyakit busuk batang pada fase vegetatif dan generatif tanaman.....	143
4.3	Penampilan beberapa genotipe jagung potensi hasil tinggi yang terinfeksi penyakit busuk batang jagung pada musim hujan Tahun 2022 di Kab. Gowa, Sulawesi Selatan.....	145
4.4	Penampilan beberapa genotipe jagung potensi hasil tinggi yang terinfeksi penyakit busuk batang jagung pada musim hujan Tahun 2022 di Kab. Gowa, Sulawesi Selatan.....	145

4.5	Proses seleksi tanaman tahan penyakit busuk batang untuk pembentukan galur S2 dan S3 jagung potensi hasil tinggi di Kab. Gowa, Sulawesi Selatan.....	146
-----	--	-----

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Jagung (*Zea mays* L.) merupakan tanaman sereal yang banyak dibudidayakan petani di Indonesia terkait perannya yang multifungsi. Penggunaan jagung tidak hanya terbatas sebagai pangan, namun juga digunakan sebagai bahan baku industri pakan. Kebutuhan jagung nasional pada Tahun 2022 sebesar 16.275.862 ton (Badan Pangan Nasional, 2023). Jagung kebanyakan dipilih sebagai bahan penyusun ransum ternak disebabkan karena mudah dicerna dan tidak mengandung anti nutrisi. Jagung juga mengandung xanthofil yang dapat meningkatkan warna kuning pada yolk dan warna kuning pada kaki dan kulit karkas ayam (Yuniarsih and Taufiq, 2020).

Di Indonesia, jagung tersebar hampir diseluruh propinsi dengan produktivitas pada Tahun 2022 sebesar 19.569.072 ton (Badan Pangan Nasional, 2023). Tingginya produktivitas jagung tentunya didukung oleh beberapa faktor diantaranya sumber daya alam, lingkungan agroekologi, dan kebijakan pemerintah dalam mendukung peningkatan produksi jagung. Saat sekarang ini peningkatan produksi jagung terus dipacu melalui satu Program Pengembangan Kawasan Tanaman Pangan Korporasi (ProPaktani) untuk peningkatan produksi dan ekspor agar sektor pertanian makin kuat sebagai penopang perekonomian nasional. Program lainnya yakni pengadaan benih melalui Model Kawasan Mandiri Benih di bawah koordinasi Balitbangtan dan Desa Mandiri Benih di bawah koordinasi Direktorat Jenderal Tanaman Pangan (Amzeri, 2018). Hipi *et al* (2015) dalam (Bahtiar *et al.*, 2020) menyatakan bahwa pembinaan kelompok tani dalam program Desa Mandiri benih di beberapa propinsi mensukseskan petani memproduksi benih jagung hibrida berkualitas. Hal ini tentunya berdampak bagi petani sekitarnya karena dapat mengurangi biaya produksi jagung berupa harga benih lebih rendah karena diproduksi dari wilayah setempat.

Program swasembada jagung berkelanjutan yang dicanangkan pemerintah merupakan kondisi ideal karena Indonesia memiliki sumber daya alam dan lingkungan agroekologi yang mendukung (Panikkai *et al.*, 2017). Namun

demikian, upaya peningkatan produksi tidak terlepas dari kendala lingkungan biotik dan abiotik yang menurunkan produktivitas termasuk gangguan iklim, penggunaan benih tidak bermutu dan serangan organisme pengganggu tanaman. Di Indonesia dilaporkan 3 penyakit utama yang menginfeksi tanaman jagung diantaranya penyakit bulai, hawar daun maydis, dan karat daun. Evaluasi ketahanan calon varietas unggul baru terhadap ketiga penyakit ini menjadi prasyarat utama dalam pelepasan varietas baru (Suriani *et al.*, 2020a). Namun saat sekarang ini mulai ditemukan infeksi patogen yang menyebabkan pembusukan jaringan pada batang dengan ciri busuk lunak dan berlendir, tanaman menjadi layu dan serangan berat mengakibatkan tanaman mati. Studi literatur yang dilakukan menunjukkan gejala penyakit tersebut adalah penyakit busuk batang yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Dickeya zea* yang sebelumnya dikenal dengan *Erwinia chrysanthemi* pv. *zea* yang merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman jagung di dunia. Bakteri ini memiliki kisaran inang yang luas diantaranya tanaman jagung, padi, lidah buaya, anggrek bulan, krisan, pisang, dan pisang (Permentan, 2020). Keberadaan *D. zea* telah lama di laporkan di Indonesia menginfeksi pertanaman lidah buaya di Lampung dan Kalimantan Barat.

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian karakterisasi bakteri penyebab penyakit busuk batang pada tanaman jagung baik dari karakteristik patologi, biokimia maupun molekuler dari beberapa wilayah pengembangan jagung di Indonesia. Karakteristik patologi dilakukan untuk melihat virulensi isolat bakteri yang ditemukan dari pertanaman jagung dalam menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta ketahanan beberapa varietas eksisting jagung terhadap penyakit busuk batang. Karakteristik biokimia dilakukan untuk melihat sifat fisiologis isolat bakteri penyebab penyakit busuk batang untuk mengetahui karakteristik dan spesifiknya dengan melihat aktivitas enzim. Karakteristik molekuler untuk mendapatkan informasi lebih akurat spesies bakteri yang ditemukan. Selain itu, pada penelitian ini juga dilakukan evaluasi dan pembentukan galur jagung hibrida potensi hasil tinggi tahan terhadap penyakit busuk batang.



## 1.2. Review of Evidence/ Gap of Knowledge

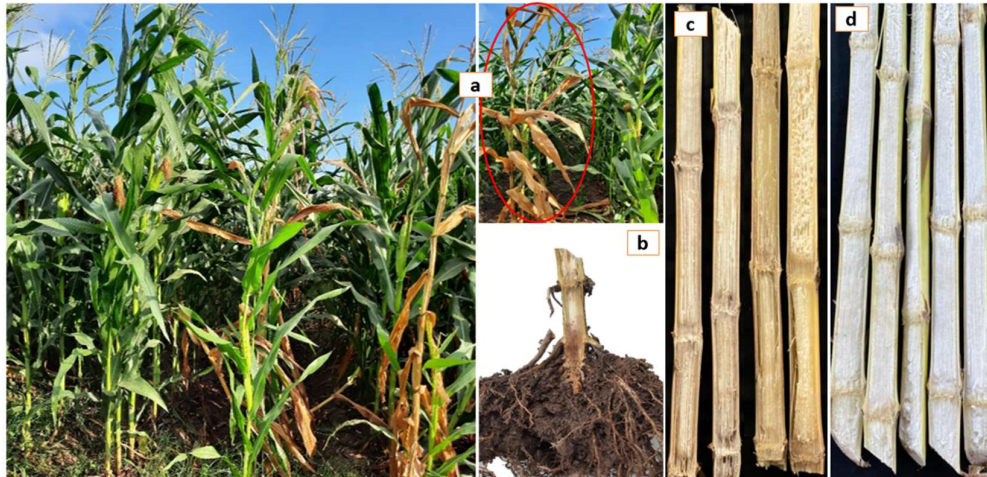
### 1.2.1. Identifikasi patogen penyakit busuk batang jagung secara morfo-fisiologis dan molekuler

**Gejala penyakit.** Gejala penyakit busuk batang jagung yang disebabkan oleh infeksi bakteri umumnya ditemukan adanya maserasi dari batang dan perubahan warna jaringan yang terinfeksi menjadi coklat dan busuk melunak, mengeluarkan bau tidak sedap dan akhirnya tanaman roboh (Adesh et al., 2017; Guan et al., 2020; Myung et al, 2010). Adanya bau tidak sedap menjadi salah satu hal yang membedakan gejala serangan penyakit busuk batang yang disebabkan oleh bakteri dengan cendawan (Hu et al., 2018).

Serangan penyakit busuk batang jagung merugikan secara ekonomis karena putusnya aliran nutrisi ke jaringan tanaman sehingga pengisian tongkol tidak sempurna bahkan infeksi berat dapat mematikan tanaman sebelum masak fisiologis (Subekti & Salazar, 2007). Lebih lanjut Myung et al., (2010) dan Kumar et al., (2015) menemukan bahwa kondisi serangan parah menyebabkan tanaman yang terinfeksi akan roboh sehingga terjadi penurunan hasil biji secara signifikan (Gambar 1.1). Infeksi berat biasanya ditemukan saat kondisi iklim dengan suhu dan kelembaban tinggi, seperti di wilayah tropis dan sub tropis, terjadi secara sporadis (Martinez-Cisneros et al., 2014). Gejala penyakit yang ditemukan di beberapa wilayah pengembangan jagung di Indonesia memiliki gejala yang sama dengan deskripsi diatas, jika batang jagung terinfeksi dibelah terdapat perubahan warna menjadi coklat dan mengeluarkan bau tidak sedap, tanaman mati secara keseluruhan (Gambar 1.2).



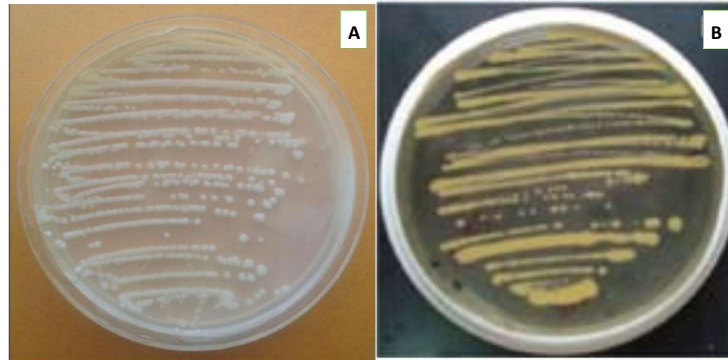
Gambar 1.1. Gejala serangan penyakit busuk batang bakteri pada tanaman jagung yang ditemukan di Korea (Myung et al., 2010)



Gambar 1.2. Gejala tanaman yang terinfeksi penyakit busuk batang bakteri yang di temukan di Kab. Gowa, Sulawesi Selatan Tahun 2021 (a); Maserasi batang yang terinfeksi mulai dari bagian bawah permukaan tanah (b); perubahan warna pada jaringan batang yang terinfeksi (c); jaringan batang yang sehat (d) (Koleksi Pribadi)

**Karakterisasi morfologi.** Identifikasi bakteri secara umum dapat dilakukan melalui beberapa cara diantaranya dengan pengamatan morfologi, sifat biokimia, maupun dengan pemanfaatan peralatan molekuler. Karakterisasi morfologi bakteri secara makroskopis meliputi pengamatan bentuk koloni, tepi koloni, warna, elevasi dan struktur. Sementara pengamatan mikroskopis meliputi bentuk dan ukuran sel bakteri. Bentuk koloni bakteri biasanya berbentuk titik, bulat, tidak teratur atau berfilamen, sementara tepi koloni ada yang rata, berombak, bergerigi atau keriting. Struktur koloni bakteri halus mengkilap, kasar, dan berkerut (Zhang et al., 2014).

Identifikasi morfologi yang dilakukan oleh Kumar et al. (2015) terhadap *D. zea* ditemukan ciri bakteri berbentuk batang dan bersifat gram negatif. Ukuran bervariasi dari 0,8-3,2 x 0,5-0,8 mm (rata-rata 1,8 x 0,6 mm) dan terdapat 3-14 flagela peritrichous. Bakteri tersebut adalah menghasilkan koloni putih, berlendir dan mengkilap pada media King's B, sementara pada media Nutrient Agar koloni bakteri berwarna abu-abu dan sedikit menonjol (Myung et al., 2010) (Gambar 1.3).



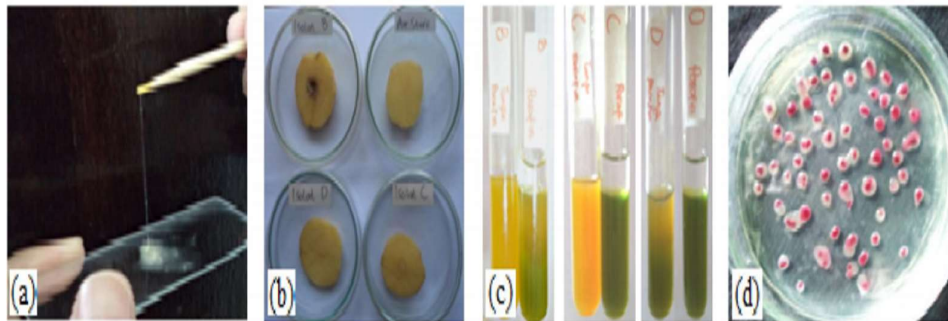
Gambar 1.3. Kultur koloni tunggal *D. zeae* yang diisolasi dari batang jagung dan dimurnikan pada media King B (Kumar et al., 2015) (A) dan kultur *D. zeae* pada media Nutrient Agar (Sumber: Ali et al., 2014) (B)

Karakteristik bakteri secara morfologi dianggap kurang efektif karena potensi kontaminasinya yang cukup besar (Ayu and Nurdyansyah, 2017). Kelemahan lain dari cara ini terletak pada sifat bakteri yang diperoleh. Hal ini dikarenakan banyak bakteri yang memiliki bentuk dan warna koloni yang sama. Maka dari itu, identifikasi bakteri perlu dilakukan melalui beberapa cara diantaranya karakteristik biokimia, patologi dan molekuler. Khusus bakteri penyebab busuk batang pada tanaman jagung telah diidentifikasi oleh beberapa peneliti baik dari karakteristik biokimia maupun deteksi dengan molekuler. Namun informasi terkait bakteri ini pada tanaman jagung belum banyak dilaporkan di Indonesia.

**Karakterisasi fisiologi.** Uji fisiologi membantu mengidentifikasi spesies bakteri yang berbeda berdasarkan aktivitas fisiologi yang berbeda. Perbedaan karbohidrat, protein, metabolisme lemak, produksi enzim tertentu, kemampuan untuk memanfaatkan senyawa tertentu, membantu untuk mengidentifikasi mikroorganisme. Beberapa peneliti telah mengidentifikasi secara fisiologi *D. zeae* yang diisolasi dari tanaman jagung dan karakteristik fisiologi berupa anaerob fakultatif dan non-flouresen, bersifat pektinolitik pada umbi kentang, menyebabkan reaksi hipersensitif pada daun tembakau, menghasilkan katalase dan lesitinase, tidak menghasilkan oksidase dan arginin dehidrolase, mampu reduksi nitrat dan dapat tumbuh pada suhu 37°C. Di antara 23 strain yang diteliti, 11 tumbuh dengan baik di bawah 5% NaCl, sementara pertumbuhan 12 strain lainnya terhambat, menunjukkan bahwa beberapa strain bakteri lebih toleran terhadap garam (Prokić et al., 2020). Strain membentuk koloni intensif “fried egg” dengan diameter 1,5 mm pada medium potato dextrose agar (PDA). Karakteristik pertumbuhan ini

digambarkan sebagai tipikal untuk bakteri yang termasuk dalam genus *Dickeya*. Peneliti lainnya melaporkan karakteristik yang sama terhadap bakteri penyebab busuk batang jagung yang ditemukan di Korea. Bakteri tersebut bersifat gram-negatif, oksidase negatif, katalase positif, fermentatif, berbentuk batang, motil, dan anaerob fakultatif.

*Dickeya zae* selain menyerang jagung juga ditemukan menginfeksi tanaman hortikultura seperti nenas. Hasil identifikasi bakteri penyebab busuk pada nenas di Indonesia yang teridentifikasi sebagai *D. zae* dilaporkan bersifat gram negatif, bersifat soft rot, anaerob fakultatif dan virulen pada jagung (Oviana et al., 2015).



Gambar 1.4. Hasil uji gram menggunakan KOH 3% (a); Hasil uji pembusukan umbi kentang (kiri) dan uji O/F pada isolat bakteri B, C dan D (kanan) Hasil uji menggunakan media TZC pada isolat B (b) dan (c); Hasil uji menggunakan media TZC pada isolat B (d) (Sumber: Oviana et al., 2015)

**Karakterisasi molekuler.** Karakterisasi molekuler merupakan alat penting untuk identifikasi patogen tanaman dengan bantuan primer spesifik lokus/gen (Phaneuf et al., 2016; Baharuddin et al., 2014). Skrining sekuen DNA target atau menggunakan probe untuk mengembangkan penanda DNA suatu patogen menjadi salah satu strategi yang banyak dilakukan untuk deteksi patogen secara cepat (Lin and Lin, 2016). Strategi lainnya yakni deteksi molekuler menggunakan Polymerasi Chain Reaction (PCR) sederhana dan pengembangannya.

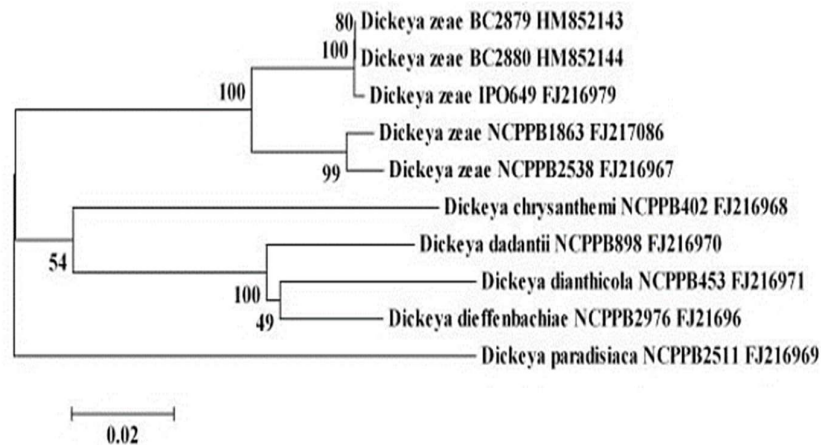
Genus *Dickeya* menyebabkan penyakit busuk lunak pada banyak tanaman terdiri dari enam spesies, yaitu *D. dianthicola*, *D. dadantii*, *D. zae*, *D. chrysanthemi*, *D. dieffenbachia* dan *D. paradisiaca* (Samson et al., 2005). Hasil karakteristik biokimia yang dilakukan oleh (Aeny et al., 2020) menyebutkan bahwa *D. dadantii* dan *D. zae* berada dalam phenon yang sama sehingga diperlukan identifikasi molekuler untuk lebih akurat penentuan spesies patogen. Penelitian yang dilakukannya untuk mengidentifikasi bakteri penyebab busuk lunak pada



tanaman nenas menggunakan tiga gen berbeda yaitu 16S rDNA, *recA*, dan *dnaX*. Pendekatan 16S rDNA dianggap sebagai salah satu teknik standar yang paling banyak digunakan untuk menyimpulkan hubungan filogenetik di antara bakteri tetapi terkadang tidak cukup untuk membedakan spesies yang berkerabat dekat. Sementara *recA* dan *dnaX* gen telah terbukti sebagai penanda yang kuat untuk menyimpulkan filogeni bakteri dan telah berhasil digunakan untuk membedakan spesies *Dickeya* ( Parkinson et al., 2009; Samson et al., 2005; Suharjo et al., 2014; Zhang et al., 2014).

Penggunaan primer spesifik untuk deteksi *D. zea* pertama dilakukan oleh Nassar et al. (1996) dengan menggunakan set primer spesifik (ADE1/ADE2) untuk mendeteksi 78 strain *D. zea* dan semua tanda menunjukkan pita spesifik 420 bps. Primer tersebut hingga saat ini telah banyak digunakan untuk deteksi *D. zea* pada beberapa komoditas seperti nenas, lidah buaya dan anggrek.

Identifikasi *D. zea* secara molekuler yang dilakukan oleh Myung et al., (2010) yang diisolasi dari pertanaman jagung di Korea menunjukkan hasil yang digambarkan pada pohon filogeni berikut ini (Gambar 1.5). Terdapat dua isolat yang diisolasi di Korea yakni *D. zea* BC2879 dan *D. zea* BC2880 memiliki tingkat kekerabatan yang dekat dengan isolat *D. zea* IPO649, *D. zea* NCPPB1863 dan *D. zea* NCPPB2538. Sementara itu, tes fenotipik dan amplifikasi fragmen 420-bp spesifik dalam uji PCR yang dilakukan oleh Prokić et al., (2020) menunjukkan bahwa 7 isolat busuk batang jagung termasuk dalam genus *Dickeya* berdasarkan analisis filogenetik berdasarkan hasil sequens gen menggunakan *recA*. Menggunakan analisis ERIC-PCR tujuh profil genetik yang berbeda diperoleh, menunjukkan adanya keragaman genetik dalam populasi patogen ini di Serbia.



Gambar 1.5. Pohon filogenik hasil uji PCR 2 isolat patogen busuk batang jagung yang ditemukan di Korea (Myung et al., (2010)

### 1.2.2. Karakteristik Patologi *Dickeya zea*

Kemampuan patogen dalam menimbulkan penyakit pada tanaman sangat berkaitan dengan kemampuannya memproduksi enzim, toksin dan kemampuan mengatasi system kekebalan inannya Russo et. al, (2006). Selain itu, patogenitas bakteri merupakan proses multifactorial, infeksi yang berhasil memerlukan koordinasi temporal dari kelangsungan hidup dan ekspresi gen virulensi (Reverchon and Nasser, 2013).

*Dickeya zea* dikenal sebagai bakteri busuk lunak Erwinia yang masuk dalam famili Enterobacteriaceae. *Dickeya zea* menghasilkan beberapa faktor virulensi termasuk zeamine fitotoksik dan enzim ekstraseluler diantaranya enzim pektinase, protease, feruloyl esterase dan selulase yang secara kolektif berkontribusi terhadap infeksi bakteri (Zhou et al., 2016; Zhou et al., 2015; Hugouvieux-Cotte-Pattat et al., 1996). Bakteri ini mensekresikan enzim perusak dinding sel tanaman tersebut sehingga menyebabkan lisis sel dan pelepasan cairan seluler berupa gejala busuk yang khas (Samson et al. 2005).

Karakterisasi patologi bakteri penyakit busuk batang jagung biasanya dilakukan melalui pengujian aktivitas pembusukan pada umbi kentang, reaksi hipersensitivitas pada daun tembakau, uji patogenisitas pada tanaman jagung serta metode inokulasi yang tepat. Isolat bakteri yang memiliki virulensi tinggi dapat digunakan untuk menapis ketahanan jagung terhadap penyakit busuk batang. Virulensi tinggi bakteri ditunjukkan oleh kemampuannya untuk menimbulkan gejala busuk lunak yang semakin cepat pada seluruh jaringan tanaman yang terinfeksi (Hanudin & Rahardjo, 2011). Bakteri busuk lunak dari golongan *Dickeya* spp. masuk kedalam umbi kentang melalui lentisel, stolon dan atau luka dan infeksi dapat menyebar ke seluruh bagian tanaman (Garlant, 2015).

Pengujian patogenitas patogen tanaman harus didukung teknik inokulasi yang tepat. Ahamad et al. (2015) telah menguji 4 metode inokulasi *D. zea* pada jagung di India dan hasilnya menunjukkan metode injeksi batang dan perendaman akar tanaman dengan suspensi bakteri menimbulkan insidensi penyakit terbesar. Namun metode perendaman akar dengan suspensi bakteri dianggap kurang efektif dalam pengujian ketahanan tanaman terhadap penyakit busuk batang di pertanaman serta peluang kerusakan tanaman akibat kecerobohan saat pencabutan akar cukup tinggi. Singh et al. (2019) melaporkan hasil pengujian 6

metode inokulasi bakteri *Dickeya dadantii* dalam menyebabkan penyakit busuk batang sorgum menunjukkan penggunaan *tootpick inoculation method* menimbulkan insidensi penyakit yang cukup tinggi.

### 1.2.3. Penyebaran Penyakit

Penyakit busuk batang bakteri pada tanaman jagung pertama kali dilaporkan oleh Prasad pada tahun 1930. Identifikasi yang dilakukan mengindikasikan bakteri penyebab penyakit ialah *Erwinia dissolvens*, namun karakteristik yang muncul lebih mirip *Erwinia chrysanthemi*. Wabah penyakit busuk batang bakteri pada tanaman jagung terjadi pada tahun 1969 di Himachal Pradesh. Patogen menyebar dari tanaman ke tanaman serta suatu areal ke areal pertanaman lainnya melalui air hujan dan rembesannya.

Bakteri ini telah lama ditemukan menginfeksi tanaman jagung di Filipina dengan intensitas serangan yang tinggi (Subekti & Salazar 2007). *D. zea* juga dilaporkan menyerang jagung hibrida dan komposit di empat wilayah pengembang jagung di India dengan rata-rata insiden penyakit 96,65% (Ahamad *et al.* 2015). Selain kedua negara tersebut, *D. zea* ditemukan menginfeksi tanaman jagung di Nepal, Serbia, China dan Mexico pada 10 tahun terakhir ini (Prokić *et al.*, 2020; Subedi *et al.*, 2016; Martinez-Cisneros *et al.*, 2014; Guan *et al.*, 2020). Infeksi awal di Shanghai China ditemukan menyerang pada jagung manis (Guan *et al.*, 2020). Hingga saat ini informasi terkait identifikasi detail bakteri penyebab penyakit busuk batang di Indonesia masih sangat terbatas. Penyakit busuk batang yang selama ini dilaporkan di Indonesia disebabkan oleh serangan cendawan *Fusarium* spp. (Suriani *et al.*, 2020b). Dalam permentan No. 25 Tahun 2020, bakteri ini digolongkan dalam OPTK A2 yang berarti keberadaannya telah ada di Indonesia, namun terbatas pada wilayah tertentu. Keberadaan *D. zea* telah ditemukan menyerang tanaman lidah buaya, nenas dan jagung di Indonesia (Supriadi *et al.*, 2002; Prasetyo and Aeny, 2014; Oviana *et al.*, 2015; Anonim, 2019). Infeksi bakteri ini ditemukan menyerang pertanaman nenas di wilayah Lampung dan uji kisaran inang yang dilakukan oleh Aeny *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa isolat bakteri *D. zea* yang diisolasi dari buah nenas dan diinokulasikan pada tanaman jagung menunjukkan gejala busuk batang. Keberadaan *D. zea* menginfeksi tanaman jagung di Indonesia baru dilaporkan oleh Stasiun Karantina Kelas II Mamuju pada tahun 2019, ditemukan dari wilayah Sulawesi Barat dan hasil identifikasi secara molekuler menunjukkan bakteri patogennya merupakan *D. zea* (Anonim, 2019).

Sementara dari wilayah pengembangan jagung lainnya belum dilakukan identifikasi dan survei keberadaan penyakit ini.

#### **1.2.4. Ancaman Penyakit terhadap Produksi Tanaman Jagung di Indonesia**

Penyakit busuk batang dapat menurunkan produksi jagung secara langsung dengan mempengaruhi aktivitas fisiologis tanaman dan akhirnya mengakibatkan rebah, yang merupakan penyebab utama kerugian ekonomi (Ledečan et al., 2018). Factor kelembaban yang tinggi dan tingkat oksigen yang rendah menyebabkan kejadian dan penyebaran penyakit tinggi, infeksi patogen meningkat karena bersifat anaerob fakultatif (Perambelon, 2002 dalam Garlant, 2015). Patogen ini dapat ditularkan melalui tanah (Czajkowski et al., 2010), namun inoculum dapat bertahan dalam sisa tanaman terinfeksi ditanah selama 270 hari (Kumar et al., 2017a). Bakteri ini dapat bergerak didalam tanah hingga jarak 10 m melalui air bebas sehingga dapat menginfeksi tanaman disekitarnya. Selain itu, penyebaran bakteri juga dapat dibantu oleh vector berupa serangga dari tanaman terinfeksi ketanaman sehat dan dapat muncul dalam aerosol yang dibentuk oleh impaksi hujan pada tanaman bergejala. Bakteri ini juga dapat bertahan pada air permukaan dan dapat tersebar melalui air irigasi (Lauria et al. 2008 dalam Garlant, 2015). Factor lain yang memicu perkembangan patogen ini dilahan pertanian ialah memiliki inang yang banyak (Bradbury, 1986). Samson et al (2005) menyatakan bahwa *D. zea* dapat menyebabkan kerusakan pada 16 famili tumbuhan dikotil dalam 11 ordo dan 10 famili monokotil dalam lima ordo.

### **1.3. Rumusan Masalah**

Penyakit busuk batang bakteri merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman jagung yang telah dilaporkan dari beberapa negara dapat menurunkan produksi jagung secara signifikan. Secara umum dilaporkan bahwa patogen penyebab penyakit ini ialah *Dickeya zea* dengan gejala infeksi berupa maserasi pada batang menyebabkan pembusukan lunak dan berbau khas. Gejala tersebut telah ditemukan pada pertanaman jagung di Indonesia namun laporan terkait identifikasi patogen penyebab penyakit busuk batang bakteri pada tanaman jagung di Indonesia baru dilaporkan dari Balai Karantina Sulawesi Barat, yang teridentifikasi *D. zea*. Eksplorasi dan identifikasi patogen penyakit busuk batang



pada jagung dari beberapa wilayah di Indonesia perlu dilakukan untuk perakitan teknologi pencegahan dan pengendalian yang tepat. Oleh sebab itu penelitian ini dirancang untuk menjawab permasalahan berikut ini:

- a. Bagaimana karakteristik morfo-fisiologis dan molekuler bakteri patogen penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia.
- b. Bagaimana karakteristik patologi bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung (*Dickeya zeae*) di Indonesia
- c. Bagaimana respon ketahanan galur jagung terhadap penyakit busuk batang pada dua musim tanam dan pembentukan galur tahan penyakit busuk batang.

#### **1.4. Tujuan Penelitian**

- a. Menganalisis karakteristik morfo-fisiologi dan molekuler bakteri patogen penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia.
- b. Menganalisis karakteristik patologi bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung (*Dickeya zeae*)
- c. Menganalisis ketahanan genotipe jagung terhadap penyakit busuk batang untuk pengembangan galur tahan.

#### **1.5. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

- a. Teridentifikasinya bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia dengan beberapa karakter fisiologi yang dapat dijadikan sebagai dasar dalam perakitan teknologi pengendalian penyakit.
- b. Diperolehnya informasi beberapa karakter patologis bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung berupa informasi kisaran inang patogen, kemampuan penyebaran patogen melalui tanah dan benih, metode inokulasi buatan yang efektif menimbulkan penyakit busuk batang, dan korelasi kadar lignin dan fenol batang dengan insidensi penyakit.
- c. Didapatkan galur S3 jagung tahan penyakit busuk batang bakteri dan beberapa informasi terkait pengaruh 17 genotipe jagung terhadap epidemiologi penyakit.

## 1.6. Kebaruan Penelitian

Adapun kebaruan dari penelitian ini adalah :

- a. Informasi terkait karakteristik morfologi, fisiologi, patologi dan molekuler bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia masih terbatas. Karakteristik tersebut merupakan informasi dasar dalam perakitan teknologi pengendalian penyakit.
- b. Galur S3 jagung tahan penyakit busuk batang yang terbentuk dapat dijadikan bahan pemuliaan tanaman dalam perakitan varietas unggul baru jagung tahan penyakit busuk batang sebagai salah satu teknologi pengendalian penyakit yang tepat dan efisien

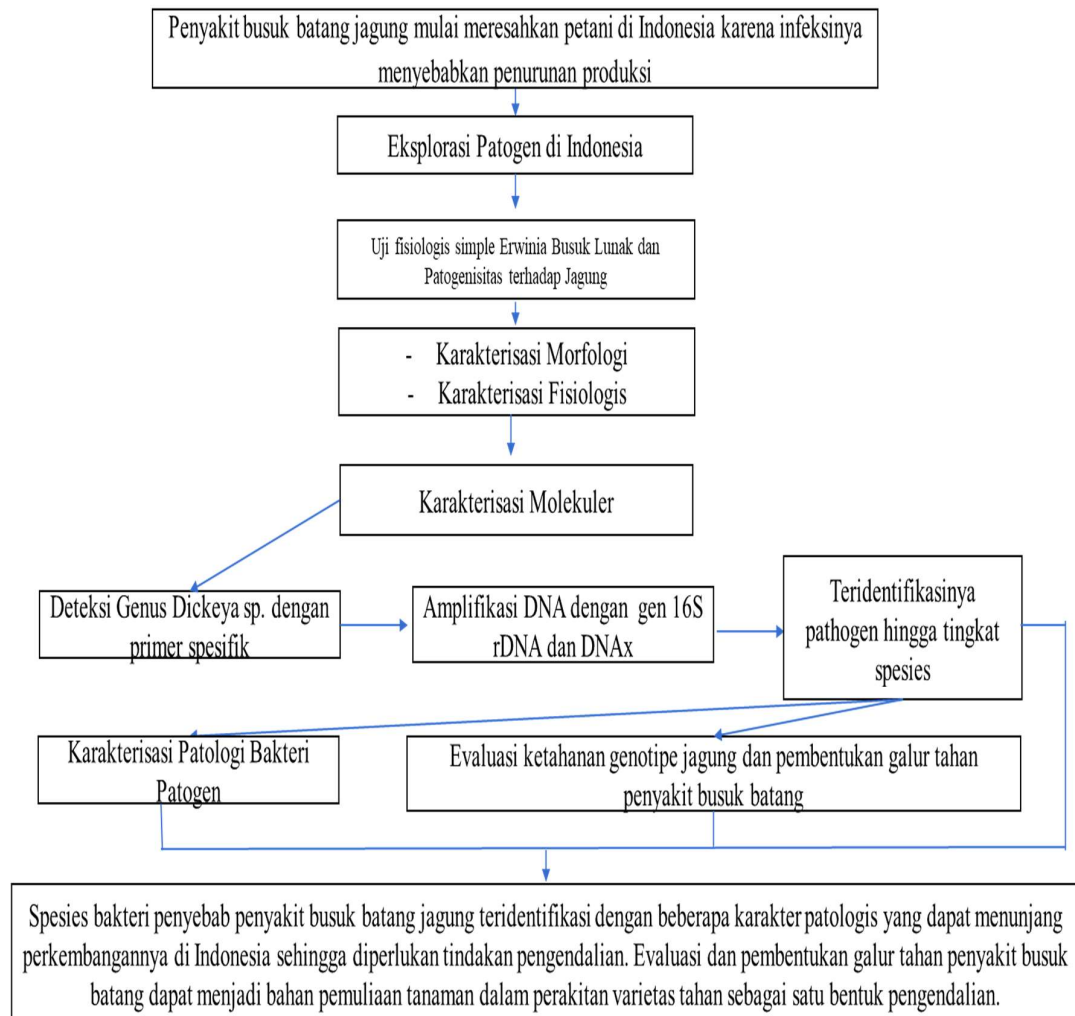
## 1.7. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini didasarkan pada permasalahan kurangnya informasi mengenai karakter bakteri penyebab penyakit busuk batang yang menginfeksi pertanaman jagung di Indonesia. Oleh karena itu, perakitan teknologi pengendalian masih sulit dilakukan sehingga penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakter morfo-fisiologi, patologi dan molekuler bakteri serta membentuk galur jagung tahan penyakit sebagai salah satu bentuk pengendalian penyakit busuk batang. Adapun tahapan-tahapan penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Menganalisis karakter morfo-fisiologi dan molekuler bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung yang diawali dengan eksplorasi gejala penyakit di Sulawesi Selatan, Sulawesi Barat, Gorontalo, Kalimantan Timur dan Yogyakarta. Karakterisasi morfologi koloni dan bentuk sel bakteri. Selanjutnya karakterisasi terhadap 28 karakter fisiologi bakteri termasuk kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim yang berperan dalam maserasi jaringan tanaman, kemampuan tumbuh pada lingkungan tertentu dan sensitivitas terhadap antibiotik. Karakterisasi lanjutan dengan analisis molekuler untuk melihat homologi DNA bakteri dengan koleksi di Genbank sehingga teridentifikasinya spesies bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung.
2. Menganalisis karakter patologi bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung diantaranya kurva perkembangan, kisaran inang, metode penularan

patogen, teknik inokulasi patogen dan pengaruh kadar lignin dan fenol batang terhadap insiden penyakit.

3. Menganalisis ketahanan beberapa genotype jagung terhadap penyakit busuk batang dan melakukan pembentukan galur tahan yang dapat dijadikan bahan pemuliaan tanaman dalam perakitan varietas unggul baru jagung tahan penyakit busuk batang. Varietas yang tahan penyakit menjadi teknologi pengendalian penyakit yang efisien dan efektif.



Gambar 1.6. Kerangka pikir penelitian

## 1.8. Sistematika Penulisan

Sistematika penelitian dibangun berdasarkan logika penelitian sebagaimana ditunjukkan sebagai berikut:

- Bab I** Menguraikan tentang pendahuluan secara umum yang meliputi latar belakang, masalah, tujuan, manfaat, kebaruan penelitian, ruang lingkup penelitian dan sistematika penulisan. Bab ini telah dipublikasi dalam Prosiding IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science **911** (2021) 012058
- Bab II** Menguraikan mengenai artikel yang telah publish pada Jurnal *Biodiversitas*. Artikel membahas tentang Karakterisasi morfofisiologi dan molekuler bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung. Dalam uraian ini, tujuan yang ingin dicapai adalah untuk mengetahui karakter-karakter bakteri yang menjadi patogen pada tanaman jagung di Indonesia dan menyebabkan penyakit busuk batang.
- Bab III** Menguraikan mengenai beberapa karakter patologis bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung berupa informasi kisaran inang patogen, kemampuan penyebaran patogen melalui tanah dan benih, metode inokulasi buatan yang efektif menimbulkan penyakit busuk batang, dan korelasi kadar lignin dan fenol batang dengan insidensi penyakit
- Bab IV** Menguraikan mengenai artikel yang sebagian datanya telah di publish di jurnal *Biodiversitas*. Artikel ini membahas tingkat ketahanan 17 genotipe jagung terhadap penyakit busuk batang dan pengaruhnya terhadap beberapa aspek epidemiologi penyakit. Dalam uraian ini, tujuan yang ingin dicapai adalah informasi ketahanan genotipe jagung terhadap penyakit busuk batang untuk pengembangan galur tahan.
- Bab V** Menunjukkan simpulan umum yang diangkat dari hasil-hasil yang telah dilakukan.

### Daftar Pustaka

- Adesh, K., Singh, H.M., Harleen, K., Roomi, R., Singh, P.P., 2017. Research Article studies on survival of *Dickeya zeae* causing agent of bacterial stalk rot disease of maize. J. Appl. & Nat. Sci. 9 (2): 1214 -1225.
- Aeny, T.N., Suharjo, R., Ginting, C., Hapsoro, D.W.I., Niswati, A., 2020. Characterization and host range assessment of *Dickeya zeae* associated with pineapple soft rot disease in east Lampung, Indonesia. Biodiversitas 21, 587–595. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210221>.
- Ahamad, S., Lal, B., Kher, D., 2015. Screening of maize germplasms against stalk rot diseases in The Intermediate Zone Of Jammu Region. Int. J. Innov. Sci. Eng. Technol. 2, 1024–1032.
- Ali, H.F., Ahmad, M., Junaid, M., Ali, A., 2014. Characterization of the causal organism of blackleg and soft rot of potato , and management of the disease with balanced fertilization soft rot of potato , and management of the disease. Pakistan J. Bot. 46, 2277–2288.
- Amzeri, A., 2018. Tinjauan Perkembangan Pertanian Jagung Di Madura Dan Alternatif Pengolahan Menjadi Biomaterial. Rekayasa 11, 74. <https://doi.org/10.21107/rekayasa.v11i1.4127>.
- Ayu, D., Nurdyansyah, 2017. Deteksi molekuler mikroorganismepatogen pada bahan pangan dengan metode RT-PCR (*Molecular Detection of Food Pathogenic Microorganism* by RT-PCR ). J. Ilmu Pangan dan Has. Pertan. 1, 80–89.
- Baharuddin, Kuswinanti, T., Syaifuddin, A., 2014. An Early detection of latent infection of *Ralstonia solanacearum* on potato tubers. Int. J. Agric. Syst. 2, 183–188.
- Bahtiar, B., Zanuddin, B., Azrai, M., 2020. Advantages of Hybrid Corn Seed Production Compared to Corn Grain. Int. J. Agric. Syst. 8, 44. <https://doi.org/10.20956/ijas.v8i1.2327>.
- Czajkowski, R., De Boer, W.J., Velvis, H., Van Der Wolf, J.M., 2010. Systemic colonization of potato plants by a soilborne, green fluorescent protein-tagged strain of *Dickeya* sp. biovar 3. Phytopathology 100, 134–142. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100-2-0134>.
- Garlant, L., 2015. Ecology and Genomics of *Dickeya solani*, a New Soft Rot Bacterium Infecting Potatoes. Dissertation. Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki.
- Guan, Y., Chen, W., Wu, Y., Hu, Y., Wang, H., He, Z., Zheng, H., 2020. First report of corn stalk rot caused by *Dickeya zeae* on sweet corn in Shanghai, China. J. Plant Pathol. 102, 557–558. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00447-8>

- Hanudin, Rahardjo, I.B., 2011. Karakteristik *Pseudomonas viridiflava*: penyebab penyakit busuk lunak dan evaluasi virulensinya pada klon anggrek phalaenopsis. J. HPT Trop. 11, 185–193.
- Hu, M., Li, J., Chen, R., Li, W., Feng, L., Shi, L., Xue, Y., Feng, X., Zhang, L., Zhou, J., 2018. *Dickeya zeae* strains isolated from rice, banana and clivia rot plants show great virulence differentials. BMC Microbiol. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1300-y>.
- Hugouvieux-Cotte-Pattat, N., Condemine, G., Nasser, W., Reverchon, S., 1996. Regulation of pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi*. Annu. Rev. Microbiol. 50, 213–257. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.50.1.213>.
- Kumar, A., Hunjan, M.S., Kaur, H., Dhillon, H.K., Singh, P.P., 2017. Biochemical responses associated with resistance to bacterial stalk rot caused by *Dickeya zeae* in maize. J. Phytopathol. 165, 822–832. <https://doi.org/10.1111/jph.12622>.
- Kumar, A., Vigyan, K., Jhansi, K., Kaur, H., 2015. Characterization of *Dickeya zeae* isolates causing stalk rot of maize based on biochemical assays and antibiotic sensitivity. Indian Phytopath 68 (64), 375–379.
- Lee, Y., Yu, C., 2006. A differential medium for the isolation and rapid identification of a plant soft rot pathogen, *Erwinia chrysanthemi* 64, 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2005.04.031>.
- Lin, Y.-H., Lin, Y.-J., 2016. Recent developments in the molecular detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. J. Nat. Sci. 2, 239.
- Martinez-Cisneros, B.A., Juarez-Lopez, G., Valencia-Torres, N., Duran-Peralta, E., Mezzalama, M., 2014. First report of bacterial stalk rot of maize caused by *Dickeya zeae* in Mexico. Plant Dis. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-14-0198-PDN>.
- Myung, I.-S., Jeong, I.H., Moon, S.Y., Kim, W.G., Lee, S.W., Lee, Y.H., Lee, Y.-K., Shim, H.S., Ra, D.S., 2010. First report of bacterial stalk rot of sweet corn caused by *Dickeya zeae* in Korea. New Disease Reports (2010) 22, 15. [doi:10.5197/j.2044-0588.2010.022.015].
- First Nassar, A., Darrasse, A., Lemattre, M., Kotoujansky, A., Dervin, C., Vedel, R. and Bertheau, Y. (1996). Characterization of *Erwinia chrysanthemi* by pectinolytic iso-zyme polymorphism and restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified fragments of pel genes. Appl. Environ. Microbiol. 62:2228-35.
- Oviana, T., Aeny, T., Prasetyo, J., 2015. Isolasi dan karakterisasi penyebab penyakit busuk buah pada tanaman nanas (*Ananas comosus* [L.] Merr.). J. Agrotek Trop. 3, 232966. <https://doi.org/10.23960/jat.v3i2.2001>.
- Panikkai, S., Nurmalina, R., Mulatsih, S., Purwati, H., 2017. Analisis ketersediaan jagung nasional menuju pencapaian swasembada dengan pendekatan model dinamik. Inform. Pertan. 26, 41.



- Pusdatin. 2020. Outlook Jagung Komoditas Pertanian Subsektor Tanaman Pangan.
- Phaneuf, C.R., Mangadu, B., Piccini, M.E., Singh, A.K., Koh, C.Y., 2016. Rapid, portable, multiplexed detection of bacterial pathogens directly from clinical sample matrices. *Biosensors* 6, 1–10. <https://doi.org/10.3390/bios6040049>.
- Prasetyo, J., Aeny, T.N., 2014. Pineapple fruit collapse: Newly emerging disease of pineapple fruit in Lampung, Indonesia. *J. Hama dan Penyakit Tumbuh. Trop.* 14, 96–99.
- Prokić, A., Zlatković, N., Kuzmanović, N., Ivanović, M., Gašić, K., Pavlović, Obradović, A., 2020. Identification and characterization of *Dickeya zeae* strains associated with maize stalk soft-rot in northern Serbia. *Eur. J. Plant Pathol.* 157, 685–691. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02019-4>.
- Reverchon, S., Nasser, W., 2013. *Dickeya* ecology, environment sensing and regulation of virulence programme. *Environ. Microbiol. Rep.* 5, 622–636. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12073>.
- Samson, R., Legendre, J.B., Christen, R., Fischer-Le Saux, M., Achouak, W., 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, *Dick. Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 1415–1427. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02791-0>.
- Singh, S., Singh, Y., Singh, V., 2019. Divulging the comparing inoculation methods for assessing pathogenicity of *Dickeya dadantii* inciting stalk rot disease of sorghum 8, 1409–1413.
- Subedi, S., Subedi, H., Neupane, S., 2016. Status of maize stalk rot complex in western belts of Nepal and its integrated management. *J. Maize Res. Dev.* 2, 30–42. <https://doi.org/10.3126/jmrd.v2i1.16213>.
- Subekti, N.A., Salazar, A.M., 2016. Diallel analysis of resistance to bacterial stalk rot (*Pectobacterium chrysanthemi* pv. *zeae* Burk., McFad. and Dim.) in corn (*Zea mays* L.). *Indonesia J. Agric. Sci.* 8, 48. <https://doi.org/10.21082/ijas.v8n2.2007.p48-52>.
- Suharjo, R., Sawada, H., Takikawa, Y., 2014. Phylogenetic study of Japanese *Dickeya* spp. and development of new rapid identification methods using PCR-RFLP. *J. Gen. Plant Pathol.* 80, 237–254. <https://doi.org/10.1007/s10327-014-0511-9>.
- Supriadi, ., IBRAHIM, N., TARYONO, ., 2002. Karakterisasi *Erwinia chrysanthemi* penyebab penyakit busuk bakteri pada daun lidah buaya (*Aloe vera*). *J. Penelit. Tanam. Ind.* 8, 45. <https://doi.org/10.21082/jlitri.v8n2.2002.45-48>.
- Suriani, Djaenuddin, N., Muis, A., 2020. Utilization of antagonistic bacteria *Bacillus subtilis* to control *Fusarium verticilloides* on corn. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 484. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/484/1/012100>.

- Suriani, N. Djaenuddin. dan A.T.Makkulawu, 2020. Prosiding Seminar Nasional Pertanian Peternakan Terpadu Ke-3 ISBN: 978-602-60782-2-3 Prosiding Seminar Nasional Pertanian Peternakan Terpadu Ke-3 ISBN: 978-602-60782-2-3 285–294.
- Yuniarsih, E.T., Taufiq, M., 2020. Analysis economic efficiency use of production factors corn farming on marginal land in South Sulawesi. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 484. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/484/1/012141>.
- Zhou, J., Cheng, Y., Lv, M., Liao, L., Chen, Y., Gu, Y., Liu, S., Jiang, Z., Xiong, Y., Zhang, L., 2015. The complete genome sequence of *Dickeya zeae* EC1 reveals substantial divergence from other *Dickeya* strains and species. BMC Genomics 16, 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1545-x>.
- Zhou, J.N., Zhang, H.B., Lv, M.F., Chen, Y.F., Liao, L.S., Cheng, Y.Y., Liu, S.Y., Chen, S.H., He, F., Cui, Z.N., Jiang, Z. De, Chang, C.Q., Zhang, L.H., 2016. SlyA regulates phytotoxin production and virulence in *Dickeya zeae* EC1. Mol. Plant Pathol. 17, 1398–1408. <https://doi.org/10.1111/mpp.12376>.

## BAB II

# KARAKTERISASI MORFO-FISIOLOGI DAN MOLEKULER BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT BUSUK BATANG JAGUNG DI INDONESIA

### Abstrak

Penyakit busuk batang yang ditemukan pada beberapa wilayah di Indonesia menunjukkan gejala yang khas seperti busuk lunak pada batang, daun layu, dan tanaman mati. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi bakteri penyebab penyakit busuk batang pada tanaman jagung secara morfo-fisiologi dan molekuler. Penelitian diawali dengan eksplorasi gejala penyakit busuk batang jagung dari Sulawesi Selatan, Sulawesi Barat, Gorontalo, Kalimantan Timur, dan Yogyakarta. Selanjutnya isolasi dan karakterisasi patogen dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Serealia, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan, Indonesia. Hasil isolasi bakteri dari tanaman bergejala didapatkan 76 isolat bakteri, 24 isolat diantaranya mampu menginfeksi jagung dan menyebabkan busuk batang. Sebanyak 9 isolat terpilih untuk karakterisasi secara morfologi, fisiologi dan molekuler menunjukkan karakteristik morfologi koloni yakni berbentuk bulat, cembung, tepian rata, berwarna putih keabuan, sel berbentuk basil tunggal berukuran 2-3  $\mu\text{m}$ . Secara fisiologis, karakteristik isolat adalah gram dan oksidase negative, katalase dan indol positif, adaptif tumbuh pada suhu 39°C dan NaCl 5%, produksi enzim lesitinase, protease, fosfatase, sensitive antibiotic. Isolat mampu menggunakan D-arabinosa, Laktosa, D-Melibiosa, D-Raffinosa, Mannitol, MSO-Tartrate dan Myo-Inositol sebagai satu-satunya sumber karbon. Amplifikasi DNA dengan PCR menggunakan primer spesifik *Dickeya* (pasangan primer ADE1/ADE2) menunjukkan bahwa kesembilan isolat termasuk dalam genus *Dickeya*. Identifikasi molekuler lebih lanjut menggunakan 2 pasang primer (dnaXr/dnaXf dan 27F/1492R) menunjukkan tujuh isolat teridentifikasi sebagai *Dickeya zeae* dan dua isolat sebagai *Dickeya* sp (*syn. Erwinia crysanthemi*). Informasi terkait karakteristik bakteri ini dapat digunakan sebagai dasar dalam perakitan teknologi pengendalian penyakit busuk batang jagung.

Kata Kunci: Jagung, karakterisasi patogen, penyakit busuk batang

### 2.1. Pendahuluan

Jagung merupakan salah satu tanaman prioritas pertanian di Indonesia karena mempunyai fungsi multiguna (4F), yaitu untuk pangan (*food*), pakan (*feed*), bahan bakar (*fuel*), dan bahan baku industri (*fiber*) (Panikkai et al. 2017). Produktivitas jagung nasional mencapai 5,47 ton/ha pada tahun 2020 dan produktivitas tertinggi pada lahan sawah berigasi sebesar 6,85 ton/ha. (BPS, 2020). Di Indonesia ada beberapa daerah yang menjadi sentra produksi jagung, diantaranya Jawa Timur, Sulawesi Selatan, Sumatera Utara, Kalimantan Selatan, dan Gorontalo.

Pengembangan usaha tani jagung terkadang terkendala karena adanya serangan organisme pengganggu tanaman yang dapat menurunkan kualitas dan kuantitas produksi (Mirsam et al., 2021a). Selama ini penyakit utama jagung yang dilaporkan merusak di Indonesia ialah penyakit bulai, hawar dan karat daun. Namun beberapa waktu terakhir ini ditemukan infeksi penyakit yang menyebabkan tanaman mati secara keseluruhan dengan gejala busuk lunak pada batang yang mengeluarkan bau. Penyakit ini umumnya ditemukan pada musim hujan. Menurut Subedi et al. (2016), pembusukan pada batang yang terjadi pasca pembungaan lebih menonjol dalam menurunkan produksi daripada pembusukan yang terjadi pada fase vegetatif. Tanaman yang terinfeksi akan layu dengan menguningnya daun mulai bagian atas, lama kelamaan daun keseluruhan menguning (Ahamad et al. 2015). Gejala luar pada batang berupa terjadinya maserasi batang dan ruas basal menyebabkan busuk lunak dan perubahan warna jaringan yang terinfeksi (Kumar et al., 2017). Dalam kondisi parah, timbul bau busuk dan tanaman roboh sehingga potensi kehilangan hasil cukup besar. Hasil identifikasi patogen penyebab penyakit tersebut yang telah dilaporkan beberapa negara penghasil yakni bakteri *Dickeya zae* yang sebelumnya dikenal dengan *Erwinia chrysanthemi* pv. *zae* (Samson et al., 2005; Ahamad et al. 2015; Martinez-Cisneros et al., 2014; Subedi et al., 2016; Guan et al., 2020; Prokić et al., 2020).

*Dickeya zae* dilaporkan sebagai bakteri pektolitik yang menghasilkan enzim pektik yang berperan penting dalam maserasi jaringan tanaman yang menyebabkan gejala busuk lunak. Beberapa faktor lain juga menjadi pemicu virulensi dan perkembangan bakteri ini, antara lain aliran air irigasi, pemupukan dengan nitrogen tinggi dan curah hujan (Kumar et al. 2017a). Fitopatogen yang bersifat pektolitik dilaporkan banyak merugikan secara ekonomis karena masih terbatasnya mekanisme pengendalian bakteri tersebut setelah menginfeksi tanaman. Langkah yang dapat dilakukan untuk mengatasi penyebaran patogen tersebut yakni deteksi dini dan karakterisasi sifat-sifat patogen (Motyka et al. 2017). Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain dengan mengamati sifat morfologi dan fisiologis atau dengan menggunakan peralatan molekuler. Pengamatan morfologi bakteri berupa bentuk koloni, margin, elevasi, dan tekstur. Identifikasi bakteri yang dilakukan hingga penentuan spesiesnya tidak cukup dengan karakterisasi morfologi. Hal ini disebabkan karena morfologis bakteri banyak yang memiliki kenampakan sama. Maka dari itu pengujian terhadap beberapa reaksi biokimia yang dihasilkan oleh bakteri

dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologi koloni bakteri yang berkaitan erat dengan proses metabolisme sel bakteri. Karakterisasi dan klasifikasi sebagian mikroorganisme seperti bakteri didasarkan pada reaksi enzimatik maupun biokimia. Pengujian karakter-karakter fisiologi bakteri dapat berupa produksi karbohidrat, protein, metabolisme lemak, produksi enzim tertentu, kemampuan untuk memanfaatkan senyawa tertentu (Kumar et al., 2017).

Identifikasi dan diagnosis yang tepat sangat penting di era perubahan iklim dan globalisasi keamanan pangan untuk mencegah penyebaran patogen seperti identifikasi berbasis DNA dan serologi (Balodi et al. 2017). Dengan berkembangnya identifikasi mikroorganisme, penamaan bakteri dapat dilakukan dengan metode berbasis molekuler.

Terbatasnya informasi terkait karakteristik bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia, maka penelitian ini dilakukan dengan isolasi bakteri patogen dari beberapa wilayah di Indonesia dan mengidentifikasi secara morfo-fisiologi dan molekuler. Tujuan penelitian yakni teridentifikasinya bakteri patogen penyebab penyakit busuk batang di Indonesia hingga tingkat spesies.

## **2.2. Metode Penelitian**

### **2.2.1. Ekplorasi Gejala Penyakit Busuk Batang Jagung**

Ekplorasi patogen dilakukan pada 5 wilayah di Indonesia yakni Sulawesi Selatan, Sulawesi Barat, Gorontalo, Kalimantan Timur, dan Yogyakarta. Sampel tanaman yang bergejala penyakit busuk batang dikumpulkan dan disimpan dalam kantong plastik terpisah untuk dibawa ke ruangan pembuatan suspensi dengan menggunakan kotak pendingin. Bagian batang antara daerah sakit dan sehat diambil sekitar 1 cm dan dilakukan sterilisasi permukaan. Sampel yang telah disterilkan dimaserasi dengan larutan gliserol 10%. Suspensi bakteri patogen yang terbentuk disimpan dalam tabung Eppendorf dan dibungkus untuk dibawa ke laboratorium Penyakit Balitsereal.

### **2.2.2. Isolasi Patogen**

Suspensi patogen dikulturkan pada media Nutrient Agar (NA) menggunakan metode *streak plate*, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam dalam inkubator. Koloni yang dominan dipilih dan dikultur ulang pada media NA untuk mendapatkan biakan bakteri murni.

### 2.2.3. Uji Fisiologi Sederhana Bakteri Busuk Lunak

Golongan bakteri yang selama ini dilaporkan menyebabkan busuk lunak umumnya dari golongan *Erwinia*. Maka dari itu, 76 isolat bakteri yang dikoleksi dari 5 Propinsi di Indonesia dikarakterisasi secara fisiologi sederhana yang meliputi uji gram, oksidatif/fermentative, hypersensitif pada daun tembakau, dan pembusukan pada umbi kentang. Adapun prosedur pelaksanaan uji fisiologis untuk genera *Erwinia* sebagai berikut:

**Uji gram.** Uji gram dilakukan untuk membedakan bakteri yang bersifat gram positif dan gram negatif menggunakan larutan KOH 3% dan pewarnaan. Biakan bakteri berumur 24 jam diambil dengan jarum ose dan diletakkan diatas gelas preparat, selanjutnya ditetesi dengan larutan KOH 3% sebanyak 10  $\mu$ L dan dicampurkan. Jika ujung ose diangkat ke atas dan suspensi berlendir selama 5-60 detik maka isolat tersebut bersifat gram negatif (Gambar Lampiran 1). Sebaliknya, jika suspensi tidak terbentuk lendir maka dikategorikan bakteri gram positif (Desi *et al.*, 2014; Mu'minah *et al.*, 2015). Uji gram dengan teknik pewarnaan dilakukan dengan membuat pulasan bakteri pada gelas objek. Selanjutnya, pulasan ditetesi larutan kristal violet dan didiamkan selama 30 detik lalu dicuci dengan air mengalir. Setelah itu, ditetesi dengan larutan iodine dan didiamkan selama 60 detik, dicuci kembali dengan air mengalir. Terakhir dituangi dengan etil alkohol 93% selama 15 - 25 detik untuk dekolorisasi. Terakhir, pulasan ditetesi safranin dan didiamkan selama 45 detik lalu dicuci. Morfologi bakteri diamati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000 kali (Tivani *et al.*, 2019).

**Uji oksidatif/fermentatif (O/F).** Uji O/F dilakukan untuk mengetahui bakteri uji bersifat *aerob* atau *anaerob* dengan menggunakan media OF (Oksidatif Fermentatif) yang sudah disterilisasi dengan komposisi bahan; 2 g Pepton, 3 gr NaCl, 0,3 g KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>, 3 g agar, 0,5 ml larutan glukosa (10%) dan 3 ml (1 %) bromtimol blue (Nonci *et al.* 2016). Pengujian ini diawali dengan mengambil media oksidasi sebanyak 5 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi hingga memadat. Setelah itu, kultur bakteri berumur 24 jam diambil sebanyak satu ose dan ditumbuhkan pada media tersebut kemudian ditutup dengan minyak parafin 1 ml dan tabung kedua tidak ditutup dengan parafin, diinkubasi selama 7-14 hari. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan warna media, jika terjadi perubahan warna menjadi kuning maka bakteri bersifat oksidatif dan fermentatif (Gambar Lampiran 2). Jika perubahan warna menjadi kuning hanya pada tabung yang diberi



minyak parafin maka bakteri tersebut bersifat fermentatif. Sebaliknya jika terjadi perubahan warna kuning hanya pada tabung yang tidak diberi minyak parafin, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat oksidatif (Lelliot dan Stead, 1987 dalam Oviana et al., 2015).

**Uji hipersensitivitas pada daun tembakau.** Uji hipersensitivitas dilakukan dengan infiltrasi suspensi bakteri konsentrasi  $10^6$  cfu/ml pada daun tembakau menggunakan jarum suntik kemudian disungkup plastik. Gejala hipersensitif berupa nekrotik atau klorosis pada daun tembakau diamati saat 24, 48, dan 72 jam.

**Uji pembusukan umbi kentang.** Tahapan ini dilakukan mengikuti metode Azadmanesh et al. (2016) yang dimodifikasi. Menyiapkan kultur bakteri pada media Nutrient Broth (NB) selama 48 jam, selanjutnya tusuk gigi steril dicelupkan pada kultur bakteri dan diinkubasi selama 24 jam. Tusuk gigi yang telah diinkubasi ditusukkan pada umbi kentang sedalam 1 cm yang diletakkan pada cawan petri yang dilapisi kapas basah untuk menjaga kelembabannya. Umbi kentang diamati saat 24, 36, 48, 60, dan 72 jam setelah inokulasi untuk melihat gejala busuk lunak (jaringan maserasi).

#### 2.2.4. Uji Patogenisitas

Tahapan ini dilakukan di rumah kaca. Benih varietas NK7328 diberi perlakuan air panas pada suhu  $55^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit, kemudian diangin-anginkan selama 20 menit di atas kertas steril. Benih uji ditanam dalam pot dengan tanah steril dan kompos (1:1). Pengujian disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap. Sebanyak 28 isolat yang masing-masing diulang 3 kali. Inokulasi dilakukan mengikuti metode Ahamad et al. (2015) pada jagung umur 10 hari setelah tanam (HST). Suspensi bakteri yang telah dikulturkan selama 24 jam diinjeksikan sebanyak 0,1 ml ke dalam ruas batang dekat tanah. Pada kontrol negatif, tanaman jagung diinjeksi dengan akuades steril. Parameter yang diamati adalah insidensi penyakit dan masa inkubasi penyakit (saat gejala penyakit pertama kali muncul). Tingkat insidensi penyakit diukur menurut rumus berikut (Persamaan 2.1):

$$DI = \frac{A}{B} \times 100\% \quad (2.1)$$

Dimana, DI = Insidensi Penyakit (%), A = Jumlah tanaman yang terinfeksi penyakit busuk batang, dan B = jumlah tanaman yang diinokulasi pada setiap isolat.

## 2.2.5. Karakterisasi Morfologi Patogen

Reisolasi bakteri dari uji patogenitas selanjutnya diidentifikasi secara morfologi, fisiologi dan molekuler. Berdasarkan uji patogenitas, maka untuk kebutuhan identifikasi secara morfologi, fisiologi dan molekuler difokuskan pada isolat dengan insiden penyakit tertinggi dan masa inkubasi tercepat dari setiap lokasi pengambilan sampel. Isolat-isolat yang dikarakterisasi lebih lanjut tersebut ada 9 yakni isolat 10.2, 19, 33, 64, 100, 105, 107, 117 dan 118.

Karakterisasi morfologi dilakukan dengan menumbuhkan 9 isolat bakteri pada 3 media yakni media *Nutrient Agar* (NA) dengan komposisi setiap 1 liter yakni *powder* 1 gr, *yeast extract* 2 gr, pepton 5 gr, *sodium clorida* 5 gr, agar 15 gr dengan pH 7,4. Media kedua yaitu *Potato Dextrose Agar* (PDA) dengan komposisi 4 gr ekstrak kentang, *dextrose* 20 gr dan agar 15 gr, pH 5,6. Media ketiga yakni Kings B yang terdiri atas *protease pepton* 20 gr,  $K_2HPO_4$  2,5 gr,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  6 g, Agar 15 g dan gliserol 15 ml. Isolat bakteri ditumbuhkan masing-masing 3 cawan permedia sehingga terdapat 81 cawan. Isolat bakteri yang diuji diidentifikasi berdasarkan karakteristik bentuk, elevasi, margin, dan warna koloni (Holt et al., 1994). Pengamatan bentuk sel dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x yang sebelumnya dilakukan pewarnaan gram.

## 2.2.6. Karakterisasi Fisiologi Patogen

Uji fisiologi terhadap 9 isolat bakteri dilakukan pada beberapa tahapan sebagai berikut:

**Uji oksidase.** Uji oksidase ini dilakukan untuk mengetahui bakteri yang diuji memiliki sitokrom oksidase atau tidak. Pengujian ini dilakukan mengikuti metode (Desi et al. 2014) dengan menggoreskan koloni bakteri berumur 24 jam pada strip oksidase, munculnya warna biru setelah beberapa detik menunjukkan bereaksi positif, apabila tidak menimbulkan warna biru artinya bereaksi negatif.

**Uji katalase.** Uji katalase berfungsi untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam memproduksi enzim katalase. Pengujian ini dilakukan dengan mengoleskan isolat bakteri merata pada gelas objek kemudian ditetesi dengan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) 3%. Suspensi dicampur secara perlahan menggunakan jarum ose. Reaksi positif ditandai dengan muncul gelembung udara, jika tidak terdapat gelembung udara maka reaksi negatif (Gambar Lampiran 2) (Dewi, 2013).

Gelembung oksigen yang terbentuk menunjukkan bahwa bakteri tersebut menghasilkan enzim katalase yang mengubah hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Sudewi et al. 2020).

**Uji Fermentasi Gula dan sumber karbon lainnya.** Uji ini dilakukan dengan menggunakan beberapa jenis karbon diantaranya glukosa, laktosa, sukrosa, D-Arabinosa, D-Tartrate, D-melibiose, D-raffinose, M-tartrate, Mannitol, My-Inositol, Sitrat. Pengujian penggunaan 3 jenis gula (glukosa, sukrosa dan laktosa) dilakukan menggunakan media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Media TSIA ditimbang sebanyak 4,55 gram, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan bersama dengan aquades sebanyak 70 mL. Media disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 7 mL dan dimiringkan sampai memadat pada kemiringan 30°. Setelah media memadat, secara aseptik isolat bakteri diinokulasikan dengan jarum ose dengan cara ditusuk pada bagian tengah sampai kedalaman  $\frac{3}{4}$  bagian dari permukaan media dan kemudian digores pada bagian miring dari media. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

Hasil uji TSIA dapat diketahui bakteri dapat memfermentasi glukosa saja ditandai dengan warna kuning (asam) pada dasar media dan berwarna merah pada lereng (basa). Apabila bakteri dapat memfermentasi semua karbohidrat ditandai dengan warna kuning pada dasar media (asam) dan berwarna kuning juga pada lereng media (asam). Apabila bakteri tidak dapat memfermentasi semua karbohidrat ditandai dengan warna merah pada dasar media (basa) dan berwarna merah juga pada lereng media (Anggraini, Aliza, & Mellisa, 2016).

Uji sumber karbon lainnya seperti D-Arabinosa, D-Tartrate, D-melibiose, D-raffinose, dan My-Inositol mengikuti metode (Dickey 1978) menggunakan media yang terdiri dari 1% *water pepton*, 1 ml *bromtimol blue* 1.6% dan masing-masing sumber karbon uji 1%. Media dicampur kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi masing-masing 10 ml dan disterilkan. Selanjutnya isolat bakteri berumur 24 jam diinokulasikan pada media dan diinkubasi selama 7 hari. Perubahan media dari biru tua menjadi kuning menandakan isolat bakteri menggunakan gula tersebut sebagai sumber karbon. Sementara uji penggunaan mannitol menggunakan media *Mannitol Salt Agar*, setiap 1 liter terdiri atas *Protease peptone* 10 g, NaCl 75 g, D-Mannitol 10 g, *beef ekstrak* 1 g, *phenol red* 0,025 g dan agar 15 gr, pH 7,4. Isolat bakteri umur 24 jam ditumbuhkan pada media tersebut dan diinkubasi selama 3 hari. Perubahan warna media dari merah

menjadi kuning menandakan bakteri mampu memfermentasikan mannitol menjadi asam, sebaliknya media tetap berwarna merah, tidak memfermentasikan mannitol.

**Aktivitas lesitinase.** Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui adanya aktivitas lesitinase isolat bakteri yang mampu mendegradasi jaringan tanaman. Difrensiasi bakteri *Dickeya* dengan bakteri lain dengan adanya aktivitas lesitinase (Goszczyńska et al., 2000). Pengujian ini menggunakan 10 ml emulsi kuning telur steril yang ditambahkan pada media NA cair kemudian didinginkan. Selanjutnya isolat bakteri ditumbuhkan pada media dan indikator positif terlihat dengan adanya zona buram disekeliling kultur bakteri (Lelliott et al. 1966).

**Uji aktivitas Protease.** Uji ini dilakukan menggunakan media skim milk agar yang mengandung 1% *Nutrient Broth*, 2% agar dan 2% *skim milk*. Pengujian kemampuan bakteri menghasilkan enzim protease dilakukan mengikuti metode Boluk et al. (2021), sebanyak 50 µl biakan bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam dimasukkan ke sumur pelat uji (diameter 3 mm) dan diinkubasi pada 28°C selama 24 - 48 jam. Adanya aktivitas enzim protease kemudian diamati dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri setelah diinkubasi.

**Uji indol.** Uji indol dilakukan dengan menggunakan reagen Ehrlich/Kovac's yang berisi *paradimetil amino bensaldehid*. Isolat bakteri uji ditumbuhkan pada media *Tryptone Soya Broth* (TSB) dan diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya ditetesi reagen kovac's sebanyak tiga tetes. Hasil uji indol dapat diketahui negatif (-) ditandai dengan tidak adanya bentukan berwarna merah seperti lapisan cincin di permukaan biakan. Apabila positif (+) ditandai dengan adanya bentukan berwarna merah seperti lapisan cincin di permukaan biakan bakteri, dapat diartikan bahwa sumber karbon berasal dari triptophan yang membentuk indol (Lumantouw et al. 2014).

**Uji dihidrolase arginin Moeller.** Uji arginine dehidrolase dilakukan mengikuti metode Hanudin and Rahardjo (2011) untuk mengetahui kemampuan bakteri menghidrolisa arginine. Prosedur pengujiannya sebagai berikut isolat yang diuji dibiakkan pada media arginine (komposisi media per liter: 1g *neutralized peptone*, 5g NaCl, 0.3g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 10g L (+) arginine HCl, 0.01g *red phenol* dan 3g agar), diaduk dan disteril. Tabung reaksi yang berisi media Arginin 10 ml diinokulasikan isolat bakteri kemudian ditutup menggunakan vaselin. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 28°C selama 3 hari, reaksi positif diindikasikan dengan perubahan warna media dari jingga menjadi merah muda.

**Uji Pertumbuhan pada suhu 37°C dan 39°C.** Kultur bakteri yang berumur 24 jam diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan pada media NA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan 39°C.

**Pertumbuhan bakteri pada 5% NaCl.** Uji ini dilakukan pada NA yang telah ditambahkan NaCl 5% kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

**Sensitivitas terhadap antibiotik eritromisin.** Pengujian ini dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri uji pada media NA secara merata. Selanjutnya kertas cakram antibiotik dengan konsentrasi 15 µg diletakkan pada permukaan media, jarak kertas cakram diatur agar tidak terlalu rapat dan diinkubasi selama 24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap pembentukan zona bening disekitar kertas cakram antibiotik yang menandakan bahwa bakteri sensitif terhadap antibiotik tersebut. (Kanzil et al., 2015).

### 2.2.7. Karakterisasi Molekuler

Sebanyak 9 isolat bakteri dikarakterisasi secara molekuler dengan tahapan preparasi sampel dan ekstraksi DNA, amplifikasi PCR dan visualisasi DNA molekuler dilakukan di Laboratorium Molekuler Balai Penelitian Tanaman Serealia. Sementara proses sequencing dilakukan di PT. Genetika Science.

Adapun tahapan karakterisasi molekuler sebagai berikut:

**Preparasi Sampel dan Ekstraksi DNA.** Ekstraksi DNA menggunakan *ZymoBiomics Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Miniprep Kit*. Sebelum dilakukan ekstraksi DNA, terlebih dahulu inokulum bakteri ditumbuhkan pada media NB selama 24 jam pada suhu ruangan. Selanjutnya disuspensikan dengan aquades steril dan disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 2 menit pada suhu 20°C. Pelet bakteri yang terbentuk diambil sebanyak 50 mg dan resuspensi dengan 200µl aquades steril yang disimpan dalam *ZR BashingBead Lysis Tube*. Setelah itu ditambahkan *BashingBead Buffer* sebanyak 750 µl kemudian dishaker selama 30 menit dengan kecepatan rendah. Campuran tersebut selanjutnya disentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 10.000 g. Supernatan yang terbentuk diambil sebanyak 400 µl dan dimasukkan ke dalam *Zymo Spim IIIIF filter* yang telah didasari dengan *Collection Tube* dan disentrifuge kembali selama 1 menit dengan kecepatan 8.000 g. Sebanyak 1.200 µl *Genomic Lysis Buffer* ditambahkan ke dalam *Collection Tube* sebelumnya yang berisi suspensi bakteri, kemudian dipindahkan ke dalam *Zymo Spin IICR tube* dan disentrifuge kembali

selama 1 menit dengan kecepatan 10.000 g, supernatant dibuang dan pellet DNA disimpan. Tahap berikutnya ditambahkan 200  $\mu$ l DNA Prewash kedalam Zymo Spin IICR tube dari step sebelumnya dan disentrifuge selama 1 menit pada kecepatan 10.000 g. Pellet DNA yang terbentuk ditambahkan 500 $\mu$ l DNA Wash Buffer, sentrifuge kembali selama 1 menit dan terakhir pellet DAN yang terbentuk ditambahkan DNA Elution Buffer dan sentrifuge selama 30 menit.

**Amplifikasi PCR.** Amplifikasi PCR menggunakan primer spesifik untuk mengkonfirmasi genus bakteri *Dickeya* menggunakan pasangan primer ADE1 (5'-GATCAGAAAGCCCGCAGCCAGAT-3') dan ADE2 (5'-CTGTGGCCGATCAGGATGGTTTTGTCGTGC-3') yang dikembangkan oleh Nassar et al. (1996) dengan target amplicon  $\pm$ 420 bp. Selanjutnya untuk menentukan spesies bakteri dilakukan analisis 16S rDNA menggunakan pasangan primer universal 27F (5-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3) dan 1492R (5-GGTTACCTTGTTACGACTT-3) dengan target amplicon  $\pm$ 1300 bp dan analisis urutan dnaX menggunakan pasangan primer dnaXf (5'-TATCAGGTYCTTGCCCGTAAGTGG-3') dan primer dnaXr (5'-TCGACATCCARCG CYTTGAGATG-3') yang dikembangkan oleh Slawiak et al. (2009).

Amplifikasi PCR menggunakan total volume 25  $\mu$ L dari cocktail, 1,25  $\mu$ L masing-masing primer, 12,5  $\mu$ L master mix Kapa, 2  $\mu$ L template DNA, dan 8  $\mu$ L nano pure water. PCR dilakukan menggunakan mesin Thermal Cycler SensoQuest (Jerman) dengan siklus sebagai berikut: untuk primer ADE1/ADE2 yakni 1 siklus denaturasi awal pada 94°C selama 2 menit, 35 siklus terdiri 35 siklus 94°C selama 45 detik, 62°C selama 45 detik, dan 72°C selama 2 menit, dan diakhiri dengan perpanjangan pada 72°C selama 3 menit; untuk primer 27F/1492R yakni siklus denaturasi awal pada 95°C selama 3 menit, 35 siklus terdiri dari denaturasi pada 95°C selama 15 detik, aneling pada 55°C selama 30 detik, ekstensi primer pada 72°C selama 1 menit, dan ekstensi akhir pada 72°C selama 3 menit; serta untuk amplifikasi dengan dnaXr/dnaXf terdiri dari denaturasi awal (94°C, 3 menit) diikuti dengan 35 siklus denaturasi (94°C, 1 menit), anil (59°C, 1 menit), dan ekstensi (72°C, 2 menit) dengan langkah ekstensi akhir tunggal (72°C, 5 menit).

**Visualisasi DNA.** Produk PCR dari 16S rDNA dielektroforesis menggunakan gel agarosa 1% (Joko et al. 2011). Penyiapan gel agarosa 1% dilakukan dengan menimbang 0,5 gr agarosa dan dilarutkan kedalam 50 ml 0,5 $\times$  buffer Tris-Boric



Acid-EDTA (TBE) (pH 8,0), lalu dipanaskan dan dituang pada cetakan gel. Selanjutnya gel agarosa dimasukkan kedalam wadah yang telah diisi dengan 0,5x buffer TAE secukupnya kemudian sampel DNA bakteri dimasukkan ke dalam sumur-sumur gel (Aris et al. 2013). Untuk pengukuran DNA digunakan marker 100 bp DNA ladder. Elektroforesis dilakukan pada 110 volt selama 60 menit. Hasil elektroforesis selanjutnya direndam dengan larutan EtBr selama 15 menit, kemudian ke dalam aquades selama 3 menit. Hasilnya divisualisasikan di bawah DigiDoc UV transilluminator (UVP, USA).

**Sekuensing DNA.** Sekuensing dilakukan untuk menentukan urutan nukleotida pada fragmen DNA yang terdeteksi dari hasil visualisasi DNA yang teramplifikasi dalam proses PCR menggunakan mesin autosequencing (Rau et al. 2018). Produk PCR yang menunjukkan hasil elektroforesis positif dilakukan sekuensing DNA oleh 1st Base. Proses sekuensing DNA dilakukan menggunakan metode Sanger dideoksi.

**Analisis filogenetik.** Hasil sekuensing kemudian dianalisis menggunakan program BioEdit for Windows ver. 7.2.6 (Hall, 1999). Pohon filogenetik dibangun berdasarkan urutan 16S rDNA dan dnaX menggunakan metode *neighbour-joining* (model Jukes dan Cantor) dengan MEGA7 for Windows (Kumar et al., 2016). Data urutan strain referensi spesies *Dickeya* diperoleh dari NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), yang digunakan untuk mencari similaritas suatu sekuen nukleotida atau protein (*query sequence*) dengan sekuens data base (*subject sequence*).

## 2. 3. Hasil dan Pembahasan

### 2.3.1. Dekscripsi Penyakit

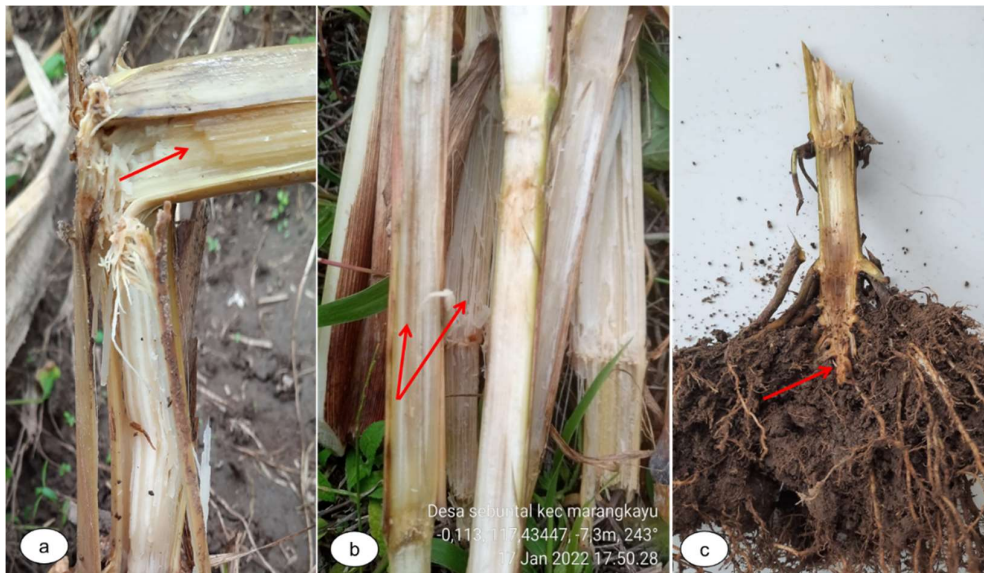
Penyakit busuk batang jagung pada lokasi pengambilan sampel ditemukan menginfeksi pertanaman jagung hibrida dan tetua hibrida yang dikembangkan oleh petani. Gejala penyakit ditemukan baik pada fase vegetatif maupun generatif tanaman. Gejala saat fase vegetatif yakni tanaman layu secara keseluruhan seperti gejala tercekam air atau genangan, daun menjadi layu dan berubah warna menjadi abu kekuningan. Gejala lain yang diamati secara visual ialah perubahan warna pada ruas batang bawah menjadi coklat basah dengan batas yang jelas (Gambar 2.1a,b). Sebagian besar tanaman yang ditemukan roboh jika terinfeksi saat fase vegetatif. Sementara itu, gejala pada tanaman fase generatif hampir sama dengan fase vegetatif, akan tetapi tanaman tidak langsung roboh. Tanaman

terinfeksi biasanya tetap tegak namun daun secara keseluruhan layu dan berubah warna menjadi abu kekuningan hingga kuning coklat seperti tercekam air (Gambar 2.1c,d). Gejala penyakit tersebut mirip dengan infeksi bakteri *D. zeae* yang selama ini dilaporkan merusak tanaman jagung di beberapa wilayah di dunia. Bakteri *D. zeae* menimbulkan gejala penyakit yang khas dengan munculnya area lunak, basah diikuti oleh perubahan warna coklat tua pada jaringan batang terinfeksi. Gejala berkembang menjadi busuk batang yang menyebabkan layu total pada bagian atas tanaman, diikuti dengan rebahnya tanaman. Bau tidak sedap bisa dirasakan di dekat tanaman yang sakit (Prokić et al. 2020; Kumar et al. 2017a; Guan et al. 2020).



Gambar 2.1. Batang yang terinfeksi akan terlihat jelas batas busuk lunak dan berbau (a,c); Gejala awal penyakit busuk batang dengan ciri daun layu keseluruhan seperti tercekam air (b); tanaman fase generatif yang terinfeksi penyakit busuk batang akan layu dengan daun berubah warna hingga kuning kecoklatan (d,e)

Ruas batang jagung yang terinfeksi penyakit busuk batang secara visual terlihat adanya perubahan warna mulai ruas batang bawah dekat permukaan tanah (Gambar 2.2). Perubahan warna batang yang nampak visual diluar biasanya hanya terjadi pada ruas pertama hingga ketiga dari permukaan tanah, akan tetapi jika batang tersebut dibelah perkembangan gejala busuk batang sudah mencapai ruas-ruas di atasnya sehingga tanaman layu dan roboh. Jaringan batang berwarna coklat basah dan adanya aroma kurang sedap yang dikeluarkan menjadi salah ciri khas dari gejala penyakit ini. Menurut (Kumar et al. 2017b), penyakit busuk batang yang disebabkan oleh infeksi bakteri *D. zaeae* mirip dengan gejala busuk batang *Pythium* (*Pythium aphanidermatum*) pada jagung, tetapi busuk batang bakteri dapat disertai dengan bau busuk.

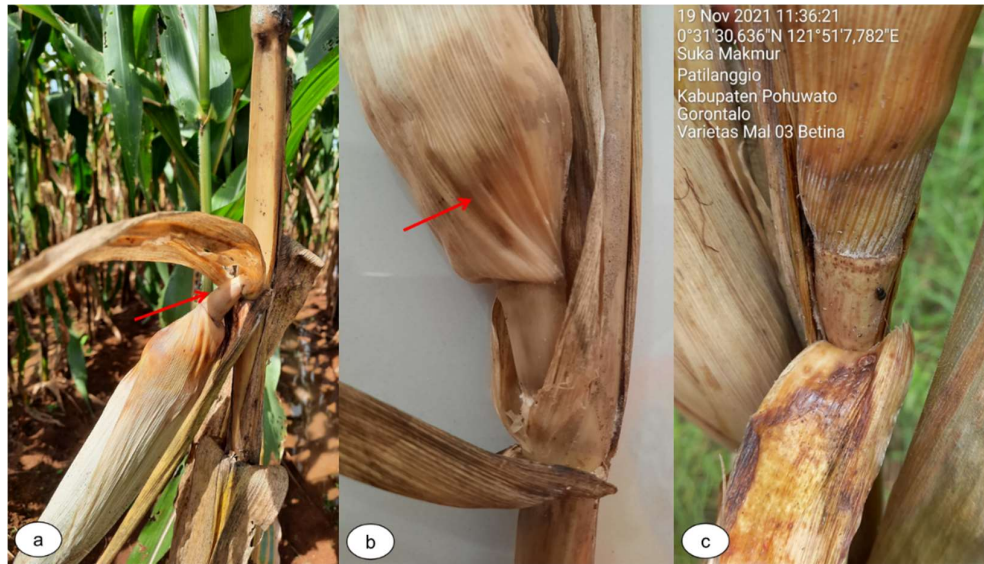


Gambar 2.2. Batang jagung yang terinfeksi penyakit busuk batang mengalami perubahan warna dan mudah roboh (a); jaringan batang berwarna coklat kebasahan dan mengeluarkan bau kurang sedap (b,c)

Perkembangan gejala penyakit busuk batang pada fase generative terkadang mencapai bagian tongkol sehingga menyebabkan tangkai tongkol membusuk dan terkulai serta pangkal daun klobot terluar terlihat basah (Gambar 2.3). Hal ini menyebabkan putusnya aliran nutrisi ke tongkol. Terjadinya busuk batang sebelum kematangan fisiologis menyebabkan kehilangan hasil karena biji yang tidak terisi dengan baik atau kematian dini tanaman (Subekti and Salazar 2007). Infeksi bakteri dipertanaman jagung biasanya dipicu oleh adanya luka yang ditimbulkan oleh serangan hama penggerek jagung (Thind & Singh, 1976). Populasi bakteri setelah mencapai potensi inokulum akan melepaskan sejumlah



besar enzim pendegradasi dinding sel, terutama pektat liase yang menyebabkan maserasi jaringan yang luas dan akhirnya menyebabkan pembusukan batang jagung. Perkembangan penyakit sangat dipengaruhi oleh virulensi dan agresivitas bakteri serta perbedaan resistensi kultivar jagung atau galur plasma nutfah (Kumar et al. 2017a).

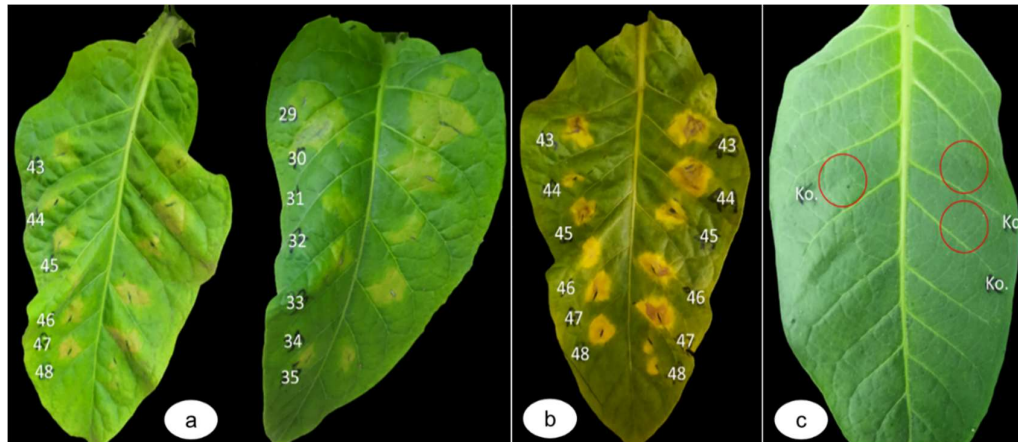


Gambar 2.3. Gejala pada tangkai tongkol yang membusuk sehingga mudah terkulai (a); daun klobot terluar terlihat busuk basah (b); pada tangkai tongkol busuk biasa ditemukan cendawan yang tumbuh dan serangga (c)

### 2.3.2. Karakterisasi Fisiologis Sempel Koleksi Bakteri dari Gejala Penyakit Busuk Batang dan Uji Patogenisitas terhadap Jagung

Hasil eksplorasi patogen dari gejala penyakit busuk batang didapatkan 76 isolat bakteri. Keseluruhan isolat tersebut diisolasi dari jagung hibrida (Luwu, Sulawesi Selatan, Gorontalo dan Kalimantan Timur), tetua jagung hibrida (Maros, Sulawesi Selatan, dan Sulawesi Barat) dan calon varietas jagung hibrida (Yogyakarta). Sebanyak 28 isolat yang tergolong genera *Erwinia soft rot* berdasarkan hasil uji fisiologis simpel (Klement et al. 1990) dengan karakter bakteri yakni bersifat gram negatif, oksidatif fermentatif, hipersensitif pada daun tembakau dan pektolitik pada umbi kentang (Tabel lampiran 2.1). Uji hipersensitif pada daun tembakau menunjukkan gejala nekrotik mulai muncul saat 24-60 jam setelah inokulasi pada areal daun yang diinjeksi suspensi bakteri (Gambar 2.4). Sementara hasil pengujian pembusukan pada umbi kentang menunjukkan

terjadinya pelunakan jaringan kentang berkembang dari titik inokulasi ketepi irisan disertai dengan bau tidak sedap mulai 24-72 jam setelah inokulasi (Tabel lampiran 2.2).



Gambar 2. 4. Reaksi hipersensitif daun tembakau saat 60 jam (a) dan 72 jam (b) setelah diinokulasi beberapa isolat bakteri hasil eksplorasi dari penyakit busuk batang jagung di Indonesia; Ko: control (daun diinokulasi dengan aquades steril)

Hasil uji patogenitas didapatkan 24 isolat bakteri yang mampu menimbulkan penyakit busuk batang jagung. Gejala yang ditemukan yakni tanaman layu keseluruhan dan ruas batang titik inokulasi hingga ruas berdekatan menjadi lunak dan berair. Beberapa tanaman yang langsung roboh atau mati, namun pada umumnya tanaman roboh setelah 1-3 hari munculnya gejala penyakit. Sementara itu, tanaman kontrol yang diinokulasi dengan aquades steril tetap tumbuh normal (Gambar 2.5). Busuknya jaringan batang merupakan gejala kematian pada jagung yang terinfeksi, sedangkan tanaman yang diinokulasi dengan akuades steril tidak menunjukkan gejala kerusakan. Rusaknya struktur jaringan disebabkan oleh aktivitas enzim pektolitik bakteri yang merusak bahan pengikat sel tumbuhan (Kumar et al. 2015). Selain itu, faktor fisiologi tanaman juga berpengaruh terhadap infeksi patogen seperti kandungan asam salisilat dan aktivitas enzim yang berperan dalam pertahanan tanaman terhadap cekaman biotik diantaranya enzim peroksidase dan kitinase. Enzim peroksidase berperan dalam proses oksidasi dan polimerisasi prekursor untuk biosintesis lignin yang merupakan salah satu penghambat fisik masuknya patogen ke tanaman (Oku, 1994). Berbeda dengan mekanisme pertahanan tanaman terhadap cekaman abiotik seperti kekeringan dan oksigen, kandungan senyawa prolin dan asam absitrat yang berperan. Senyawa prolin dapat mengatasi stress tanaman terhadap kekeringan melalui mekanisme osmoregulasi cairan sel, pertahanan metabolisme,

mengatur keasaman sel, penyimpanan karbon dan nitrogen (Sukma, 2015). Sementara asam absisat pada kondisi tanaman kekurangan oksigen akan mengalami peningkatan kemudian segera turun kembali setelah stress tersebut hilang.



Gambar 2.5. Gejala tanaman jagung yang terserang penyakit busuk batang (a-c); Tanaman yang tetap sehat pada perlakuan kontrol (d)

Insidensi dan masa inkubasi penyakit busuk batang yang ditimbulkan dari 24 isolat bakteri beragam (Tabel 2.1). Masa inkubasi tercepat ditunjukkan isolat 64, tanaman mulai menunjukkan gejala penyakit busuk batang sehari setelah diinokulasi dan rata-rata masa inkubasi tanaman sebesar 2,20 hari dengan tingkat insidensi penyakit sebesar 83,33%. *Dickeya zea* yang selama ini dilaporkan sebagai penyebab penyakit busuk batang jagung menyebabkan kerusakan jagung umur 1 bulan dengan cepat mulai 24 jam setelah inokulasi, gejala berkembang dan menyebabkan kematian tanaman saat 4-5 hari setelah inokulasi (Kumar et al. 2015; Jittikornkul et al. 2017). Berdasarkan hal ini, maka untuk kebutuhan identifikasi secara morfologi, fisiologi dan molekuler difokuskan pada isolat dengan insidensi penyakit tertinggi dan masa inkubasi tercepat dari setiap lokasi pengambilan sampel. Isolat-isolat yang dikarakterisasi lebih lanjut tersebut ada 9 yakni isolat 10.2, 19, 33, 64, 100, 105, 107, 117 dan 118.

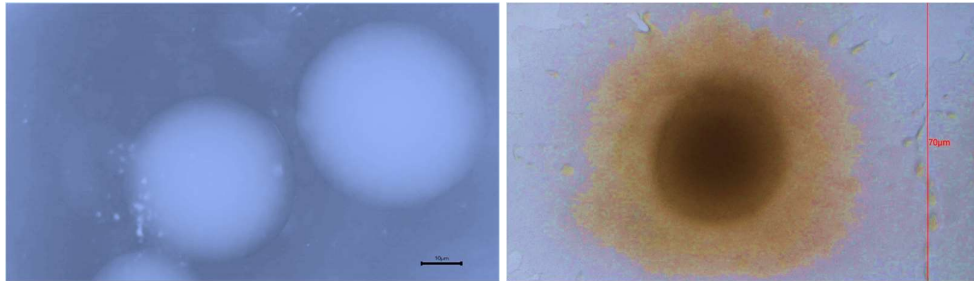
Tabel 2.1. Tingkat patogenisitas 24 isolat bakteri terhadap jagung umur 10 HST

No	Isolat	Insidensi Penyakit (%)	Masa Inkubasi Penyakit (HSI)	Rata-rata masa inkubasi penyakit (HSI)
1	4	50,00	6 s/d 10	8,33
2	7	33,33	4 s/d 10	7,00
3	10	50,00	8 s/d 10	8,67
4	10.2	66,67	2 s/d 6	3,50
5	17.2	66,67	2 s/d 4	3,00
6	18.1	33,33	4 s/d 10	7,00
7	19	66,67	2 s/d 4	3,00
8	30	33,33	4 s/d 10	7,00
9	33	50,00	4 s/d 6	4,67
10	40	50,00	7 s/d 10	8,00
11	56	16,67	10	10,00
12	64	83,33	1 s/d 4	2,20
13	91	66,67	3 s/d 7	4,50
14	95	66,67	3 s/d 5	4,00
15	96	83,33	3 s/d 6	4,20
16	98	66,67	3 s/d 6	5,00
17	100	83,33	3 s/d 4	3,40
18	101	50,00	3 s/d 4	3,67
19	102	50,00	2 s/d 6	4,33
20	105	83,33	2 s/d 6	3,00
21	106	83,33	3 s/d 8	6,00
22	107	66,67	2 s/d 4	2,50
23	117	83,33	2 s/d 3	2,40
24	118	33,33	4 s/d 8	5,00

### 2.3.3. Karakter Morfologi

Reisolasi 9 isolat bakteri yang terpilih dari hasil uji patogenisitas kemudian diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi. Karakter morfologi kesembilan isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam memiliki koloni berwarna putih abu-abu dengan bentuk bulat, elevasi cembung dan tepian rata. Saat 48 hingga 72 jam setelah inkubasi, bentuk koloni berubah menjadi hampir bulat dengan tepian bergelombang tidak beraturan. Sementara itu pada media PDA umur 48 jam setelah diinkubasi terlihat bentuk bakteri bulat dengan tepian bergelombang tidak beraturan dan membentuk koloni seperti telur goreng (Gambar 2.6). Karakter bakteri pada media Kings B yakni berwarna putih mengkilat dengan bentuk bulat cembung dan tidak menghasilkan pigmen fluoresen. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ciri morfologi *Dickeya* sp

yaitu koloni berbentuk lingkaran dan cembung, berwarna krem pada media Kings B, dan koloni seperti telur goreng pada media PDA atau NA yang diperkaya dengan glukosa 2% (Alic et al. (2017); Zhang et al. (2020); Mokrani and Nabti (2021).



Gambar 2.6. Bentuk koloni *D. zae* pada *Nutrient Agar* yang diinkubasi selama 24 jam (a); Morfologi koloni berupa telur goreng pada media *Potato Dextrose Agar* yang diinkubasi selama 48 jam (b)

Pengamatan mikroskopis menunjukkan sel bakteri berbentuk batang dengan ujung membulat dan tunggal dengan panjang 2-3µm (Gambar 2.7). Menurut Ahamad et al. (2015), *D. zae* yang menginfeksi tanaman jagung di India memiliki sel berbentuk basil dan tunggal. Aeny et al. (2020) juga melaporkan bahwa *D. zae* yang ditemukan menginfeksi tanaman nenas di Lampung memiliki bentuk sel berbentuk batang lurus, sel bakteri tunggal maupun berpasangan, tidak membentuk spora. Peneliti lainnya melaporkan bahwa *D. zae* memiliki sel berbentuk batang dengan ukuran 0,8-3,2 x 0,5-0,8 µm (rata-rata 1,8 x 0,6 µm), terdapat flagel peritrichus. (Kumar, et al. 2017) (Liu et al. 2016).



Gambar 2.7. Bentuk sel bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia



### 2.3.4. Karakter Fisiologi

Kesembilan isolat bakteri uji tergolong bakteri busuk lunak Erwinia berdasarkan bagan skema simpel difrensiasi kelompok bakteri patogen pada tanaman yang digambarkan oleh Klement et al. (1990). Bakteri golongan erwinia sudah dilaporkan sejak dulu menjadi agen perusak tanaman terutama penyebab busuk lunak pada beberapa jenis tanaman. Erwinia busuk lunak atau yang dikenal juga dengan erwinia pektolitik termasuk dalam filum Proteobacteria, kelas Gammaproteobacteria, ordo Enterobacteriales dan famili Enterobacteriaceae. Bulkholder et al (1957) membagi genus Erwinia tersebut sebagai dua spesies terpisah yakni *E. carotovora* dan *E. chrysanthemi*. Kedua strain tersebut telah diklasifikasi ulang menjadi genus baru yakni *Pectobacterium* spp (dulu *E. caratovora*). dan *Dickeya* spp. (*E. crysanhtemi*) (Nabhan et al., 2013; Aremu and Babalola 2015; Šalplachta et al. 2015). Baru-baru ini family Enterobacteriaceae direklasifikasi menjadi Pectobacteriaceae yang didalamnya termasuk dua genus yakni *Pectobacterium* dan *Dickeya* (Adeolu et al. 2016). Kedua genus bakteri ini telah dilaporkan merusak pada banyak jenis tanaman baik monokotil maupun dikotil (Hu et al. 2018; Li et al. 2020; Ma et al. 2007; Samson et al. 2005; Waldee 1942). Namun, penyakit busuk batang pada tanaman jagung yang selama ini dilaporkan disebabkan oleh infeksi bakteri *Dickeya*.

Karakterisasi fisiologi lanjutan yang dilakukan menunjukkan keseluruhan isolat bereaksi katalase positif, oksidase negatif dan oksidatif fermentatif dengan berubahnya warna media OF menjadi kuning baik yang ditutup parafin maupun yang tidak ditutup paraffin (Tabel 2.2). Genus *Pectobacterium* dan *Dickeya* memiliki aktivitas katalase tetapi tidak oksidase dan mampu memanfaatkan karbohidrat baik melalui fermentasi maupun oksidasi (Czajkowski et al. 2015). Keseluruhan isolat bakteri mampu tumbuh pada suhu 37°C dan 39°C dan hanya 7 isolat yang mampu tumbuh pada media NaCl 5%. Kemampuan *Dickeya* tumbuh pada suhu yang lebih tinggi mendukung perkembangan patogen ini dibandingkan dengan bakteri busuk lunak lainnya (Toth et al. 2011). Adesh et al. (2017) menemukan bahwa *D. zae* masih dapat bertahan hidup pada kondisi suhu 50°C, namun demikian perkembangan optimal bakteri ini ditemukan pada suhu 30°C.

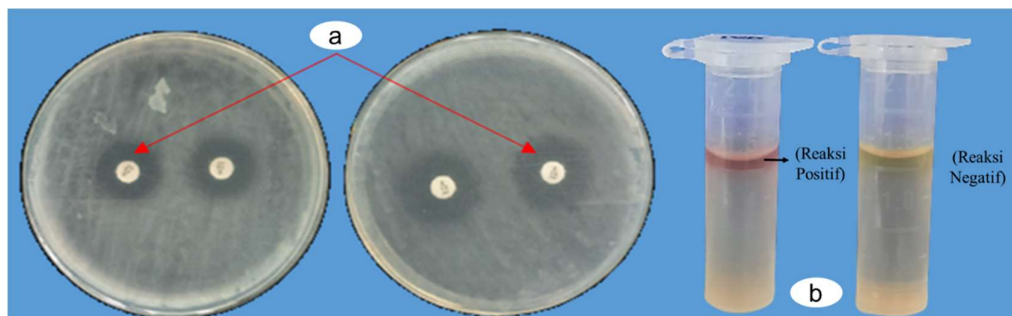
Tabel 2.2. Karakterisasi fisiologi 9 isolat bakteri dengan pembandingan *Pectobacterium* spp. dan *Dickeya* spp.

Karakter	Bakteri Penyebab Busuk Batang Jagung di Indonesia									Genus Pembandingan	
	10.2	19	64	100	107	117	118	105	33	<i>Pectobacterium</i> spp. <sup>a</sup>	<i>Dickeya</i> spp. <sup>b</sup>
Reaksi Gram	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Katalase	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Oksidase	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Pigmen Flourescens	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Oksidatif Fermentative	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F
Fosfatase	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
Pektolitik	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Produksi Indole	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
Penggunaan Sitrat	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Tumbuh pada kondisi:											
1. Suhu 37°C	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
2. Suhu 39°C	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
3. NaCl 5%	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)/v
Sensitif Eritromycin	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
"Fried egg" koloni	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Produksi Pigmen Indigiodine	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
	100% Dick.	93% Dick.	93% Dick.	93% Dick.	100% Dick.	100% Dick.	100% Dick.	100% Dick.	93% Dick.		
Kemiripan Genus	73% Pecto.	73% Pecto.	80% Pecto.	80% Pecto.	73% Pecto.	73% Pecto.	73% Pecto.	73% Pecto.	80% Pecto.		

Keterangan: <sup>a</sup>Karakter *Pectobacterium* spp berdasarkan Baghaee-Ravari et al. (2011); Brady et al. (2012); Czajkowski et al. (2015). <sup>b</sup>Karakter *Dickeya* spp berdasarkan Samson et al. (2005); Liu et al. (2016); Prokić et al. (2020)

Pengujian produksi indol menunjukkan seluruh isolat bakteri bereaksi positif. Kemampuan bakteri yang tergolong dalam genus *Dickeya* dalam produksi indol menjadi satu karakter pembeda dengan Genus *Pectobacterium* disebabkan karena genus *Pectobacterium* kekurangan enzim triptofanase yang menguraikan asam amino triptofan menjadi indol sehingga dalam pengujian indol bersifat negatif (Mikiciński et al. 2010; Kamau, 2020). Namun kedua genus bakteri ini memiliki beberapa karakter yang sama diantaranya aktivitas katalase, negatif oksidase, mampu memanfaatkan karbohidrat secara fermentatif maupun oksidatif, produksi enzim lesitinase (Czajkowski et al. (2015); Pratama et al. (2022)). Di bawah kondisi lingkungan yang menguntungkan bagi patogen, keadaan latensi infeksi terganggu dan SRP mengeluarkan *plant cell wall-degrading enzyme* (PCWDEs) memecah molekul makro inang seperti selulosa, pektin dan protein, untuk mengeksploitasi protoplas tanaman sebagai sumber nutrisi yang kaya (Jittikornkul et al. 2017). Enzim pektinase termasuk pektat liase (Pel) secara khusus menargetkan matriks pektin dari dinding sel tanaman dan merupakan penyebab utama keruntuhan jaringan, kerusakan dan kebocoran sel serta perkembangan penyakit secara umum. Isolat bakteri uji menunjukkan kemampuan menghasilkan enzim protease dan pektolitik pada umbi kentang.

Karakter khas pembeda antara genus *Pectobacterium* dan *Dickeya* selain produksi indol diantaranya kemampuan *Dickeya* produksi enzim fosfatase, sensitif terhadap antibiotik eritromisin dan kemampuan produksi pigmen indigoidine. Uji sensitivitas terhadap antibiotik positif ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram antibiotik, sementara pertumbuhan koloni bakteri pada media tanpa antibiotik merata pada permukaan media (Gambar 2.8).



Gambar 2.8. Sensitivitas isolat bakteri patogen busuk batang jagung terhadap antibiotik eritromisin 15 µg yang ditandai dengan pembentukan zona bening setelah 24 jam inkubasi (a); Reaksi bakteri pada uji indol (b)

Berdasarkan hasil karakterisasi fisiologi 9 isolat bakteri busuk batang jagung dapat disimpulkan bahwa kesembilan isolat tersebut tergolong dalam genus *Dickeya* dengan persentase kemiripan berkisar 93-100% (Tabel 2.2). Beberapa isolat yang menunjukkan karakter khas *Pectobacterium* seperti negative dalam uji produksi fosfatase (isolat 19 dan 33) dan tidak produksi pigmen indigoidine (isolat 64 dan 100), namun keseluruhan karakter isolat-isolat tersebut masih lebih mengarah pada genus *Dickeya*. Menurut (Czajkowski et al. 2015), perbedaan mendasar antara kedua genus bakteri busuk lunak tersebut yakni *Dickeya* mampu memproduksi indol dan fosfatase serta pigmen indigoidine. Namun, lebih lanjut dinyatakan bahwa beberapa strain *Dickeya* tidak produksi pigmen tersebut. Beberapa strain *Dickeya* yang koloninya berubah warna menjadi coklat gelap atau biru pada media NGM karena adanya pigmen indigoidine. Bakteri *Dickeya* yang diisolasi dari tanaman nenas di Lampung memiliki koloni yang tetap berwarna putih susu pada media NGM (Oviana et al. 2015).

Genus *Dickeya* direklasifikasi dari *E. chrysanthemi* berdasarkan kisaran inang, biokimia, dan analisis molekuler (Samson et al. 2005; Alic et al. 2017) (Balamurugan et al. 2020). Saat ini, genus *Dickeya* dibagi menjadi delapan spesies fitopatogenik yakni *D. chrysanthemi*, *D. dadantii* (dua subspecies, *D. dadantii* subsp. *dadantii* dan *D. dadantii* subsp. *dieffenbachiae*), *D. dianthicola*, *D. paradisiaca*, *D. zaeae* ( Samson et al. 2005; Garland 2015), *D. solani* (Van der Wolf et al. 2014), *D. fangzhongdai* (Tian et al. 2016; Charkowski 2018), dan *D. aquatica* (Parkinson et al. 2014). Maka dari itu, karakterisasi fisiologi lanjutan untuk menentukan phenon dari bakteri tersebut.

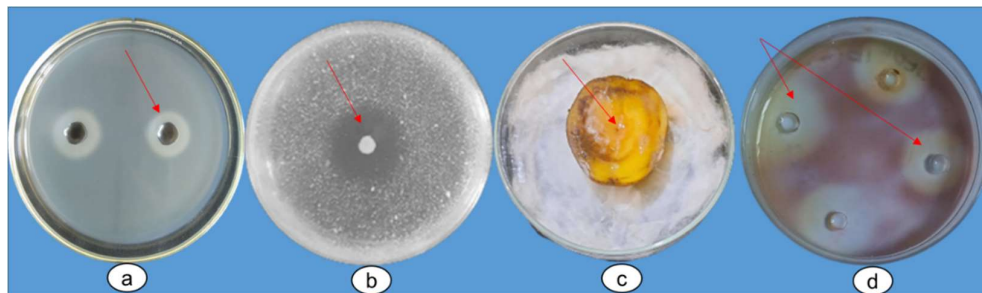
Bakteri penyebab penyakit busuk batang yang ditemukan memiliki karakter berupa ADH Moeller negatif, 7 isolat yang mampu enzim lesitinase dan protease. Isolat-isolat tersebut mampu memanfaatkan gula seperti D-arabinosa, Laktosa, D-Melibiosa, D-Raffinosa, Mannitol, Mso-Tartrate dan Myo-Inositol tetapi tidak menggunakan D-Tartrate, inulin, dan 5-ketoglukanat sebagai satu-satunya sumber karbon. Selain itu, bakteri ini mampu tumbuh pada suhu 39°C (Tabel 2.3). Karakterisasi ini menunjukkan bahwa 9 isolat bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung yang ditemukan pada penelitian ini termasuk bakteri phenon 1 (spesies *D. dadantii* atau *D. zaeae*).

Tabel 2.3. Identifikasi Phenon Bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung di Indonesia

Karakteristik	<i>Dickeya</i> isolat dari busuk batang jagung (n=9)	Phenon 1	Phenon 2	Phenon 3	Phenon 4	Phenon 5	Phenon 6
		<i>D. Dadantii</i> , <i>D. zea</i>	<i>D. chrysanthemi</i> <i>pv. parthenii</i>	<i>D.</i> <i>dieffenbachiae</i>	<i>D. chrysanthemi</i> <i>pv chrysanthemi</i>	<i>D.</i> <i>Dianthicola</i>	<i>D.</i> <i>paradisiaca</i>
Lesitinase	d(78)	+	+	+	+	+	-
ADH	-	d(15)	-	-	+	d(69)	-
D-Arabinose	+	+	-	+	-	-	+
D-Tartrate	-	-	d(25)	-	-	+	+
Inulin	-	-	-	-	+	d(88)	-
Lactose	+	+	d(75)	-	d(20)	-	d(17)
D-Melibiose	+	+	+	-	+	d(44)	d(83)
D-Raffinose	+	+	+	-	+	d(44)	d(83)
Mannitol	d(78)	+	+	+	+	+	-
Meso-Tartrate	+	+	d(75)	+	-	+	+
Myo-Inositol	+	+	+	+	d(80)	+	-
5-Keto-D-gluconate	-	-	-	d (20)	-	+	+
Protease	d(78)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tumbuh pd 39°C	+	+	+	+	+	-	d(83)

Keterangan: +, 89-100% positif; -, 89-100% negative; d(n), persentase jumlah isolat positif.

Kemampuan produksi enzim lesitinase dan protease yang dimiliki oleh isolat bakteri penyebab busuk batang ditunjukkan dengan pembentukan zona bening pada media agar susu skim dan media NA, diperkaya dengan emulsi kuning telur 5% (Gambar 2.9). Kedua enzim tersebut berperan dalam penguraian dinding sel tanaman atau maserasi jaringan tanaman (Boluk et al. 2021). Penentu patogenesis utama dari bakteri penyebab busuk lunak adalah produksi enzim pendegradasi dinding sel tanaman yang berlebihan termasuk pektinase, lesitinase, dan protease yang merusak jaringan inang (Tsuyumu et al., 2014) (Prajapat et al., 2013). Protease yang memecah protein dinding sel tumbuhan dan mendegradasi enzim disekresikan melalui system sekresi tipe I (T1SS) (Charkowski et al. 2012). *Dickeya* sp. mengeluarkan beberapa protease yang mungkin tidak memainkan peran penting dalam patogenesis, tetapi dapat menyediakan asam amino untuk biosintesis protein mikroba serta dapat membantu aktivitas pektinase untuk memecah komponen dinding sel (Toth et al. 2003).

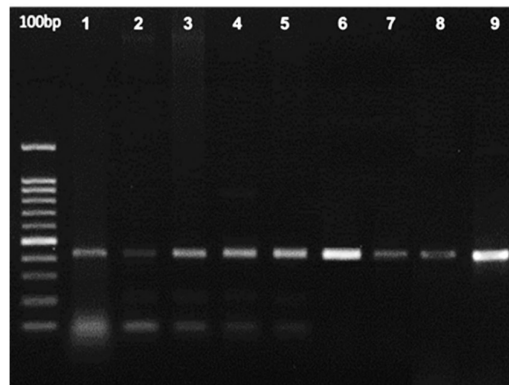


Gambar 2.9. Produksi enzim lesitinase dengan terbentuknya zona bening pada media NA yang diperkaya dengan emulsi kuning telur (a); produksi enzim protease yang ditandai pembentukan zona bening pada media skim agar (b); Aktivitas pektolitik bakteri pada umbi kentang dan media CVP (c,d)

Berdasarkan karakterisasi morfologi dan fisiologi, 9 isolat bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung menunjukkan karakter bakteri yang tergolong dalam genus *Dickeya* phenon 1 (*D. dadanthi*, *D. zeae*). Karakterisasi dilanjutkan dengan karakterisasi molekuler untuk deteksi tingkat spesies yang lebih tepat.

### 2.3.5. Karakter Molekuler

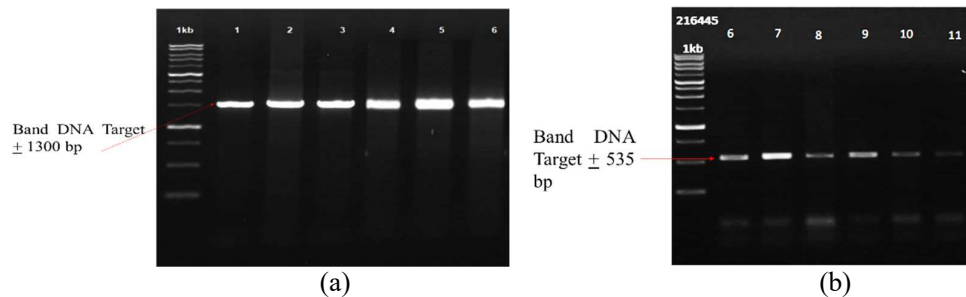
**Deteksi Genus *Dickeya* dengan primer spesifik ADE1/ADE2 berdasarkan amplifikasi gen pel pektat liase.** Isolat bakteri yang menunjukkan patogenitas terhadap jagung dan telah dikarakterisasi secara morfo-fisiologis sebanyak 9 isolat dideteksi dengan amplifikasi DNA menggunakan primer spesifik *Dickeya* yakni pasangan primer ADE1 dan ADE2. Kesembilan isolat bakteri tersebut teramplifikasi pada 420 bp (Gambar 2.10).



Gambar 2.10. Visualisasi fragmen DNA dari amplifikasi gen pelADE dengan primer ADE1 dan ADE2. Produk PCR dengan elektroforesis pada gel agarosa 1%. 100bp, Marker/DNA ladder, 1-9 isolat bakteri busuk batang jagung.

**Amplifikasi DNA menggunakan 16S rDNA dan dnaX.** Identifikasi tingkat spesies, teknik identifikasi lain menggunakan analisis urutan multilokus digunakan untuk mendapatkan kesimpulan yang akurat. Dalam penelitian ini digunakan dua gen yang berbeda yakni 16S rDNA dan dnaX untuk identifikasi spesies bakteri. Pendekatan 16S rDNA dianggap sebagai teknik standar yang banyak digunakan untuk menentukan hubungan filogenetik antar bakteri, namun terkadang tidak cukup membedakan spesies yang sangat mirip (Aenhy et al. 2020). Maka dari itu, penggunaan gen lain digunakan yakni dnaX yang telah terbukti sebagai penanda kuat untuk menyimpulkan filogeni bakteri dan telah berhasil digunakan membedakan spesies bakteri busuk lunak termasuk *Dickeya* (Slawiak et al. 2009; Suharjo et al. 2014; Zhang et al. 2014; Potrykus et al. 2016; Aeny et al. 2020). Gen dnaX mengkodekan subunit DNA polymerase II dan sekuennya dengan wilayah yang dikonservasi dan variabel informative untuk membedakan spesies *Dickeya* dan *Pectobacterium* (Slawiak et al 2009; Zeigler 2003). Hasil penelitian ini menunjukkan penggunaan pasangan primer universal 27F/1492R berhasil mengamplifikasi pita DNA 6 isolat bakteri yakni isolat 64, 10.2, 100, 19, 105, 33 dengan ukuran  $\pm 1300$  bp (Gambar 2.11a). Hal ini menunjukkan bahwa pasangan

primer universal 27F/1492R ini mendeteksi keberadaan gen penyandi 16S-rDNA pada isolat bakteri uji dimana gen ini diketahui merupakan kerangka penyusun ribosom yang umumnya digunakan dalam mengidentifikasi semua golongan bakteri. Sementara pasangan primer dnaXr dan dnaXf mengamplifikasi pita DNA 7 isolat bakteri (isolat 64, 10.2, 19, 100, 117, 118, 107) pada ukuran  $\pm 535$  bp (Gambar 2.11b).



Gambar 2.11. Visualisasi fragmen DNA dari amplifikasi Produk PCR dengan primer 27F/1497R (a) dan primer dnaXr/dnaXf (b) pada gel agarosa 1%.

**Tingkat Homologi Runutan DNA bakteri uji dengan Strain Bakteri pada GeneBank.** Hasil analisis runutan DNA dari isolat 64, 100, 117, 118, 19, 107, 33, 105, dan 10.2 berdasarkan amplifikasi gen 16S rDNA dan dnaX dengan program BLASTN 2.13.0+ menunjukkan identitas sekuen yang berbeda dengan masing-masing strain bakteri yang ada pada GeneBank. Analisis program BLASTN 2.13.0+ memperlihatkan runutan ketujuh DNA isolat yang teramplifikasi gen dnaX memiliki kemiripan yang paling tinggi dengan *D. zea* strain BH9 asal China, *D. zea* strain TSMDZ11 asal India, *D. zea* strain DZ15KB05 asal Thailand, *D. zea* strain DBM 1 asal Turkey, *D. zea* strain IPO 649 asal Netherlands, *D. zea* strain N\_Unila\_10 asal Lampung-Indonesia, *D. zea* strain DOAC-B2448 asal Thailand, dan *D. zea* strain SP14 asal Taiwan dengan nilai homologi 0.981-1 (Tabel 2.4). Ketujuh isolat bakteri yang ditemukan pada 5 propinsi di Indonesia juga memiliki kemiripan dengan *D. zea* yang diisolasi dari nenas di wilayah Lampung, Indonesia (*D. zea* strain N\_Unila\_10 - East Lampung, Indonesia (MW535752\*) dengan homologi 0,981-0,983.

Analisis program BLASTN memperlihatkan runutan DNA isolat 64, 10.2, 100, 19, 105 dan 33 yang teramplifikasi gen 16S rDNA memiliki kemiripan yang paling tinggi *D. zea* strain MS31 asal Taiwan, *E. chrysanthemi* strain GSPB413 asal Canada, *D. zea* strain DZ15SB01 asal Thailand, dan *D. zea* strain HNJF02 asal China (Tabel 2.5). Homologi tertinggi ditunjukkan isolat 100 dengan *D. zea* strain DZ15SB01 asal Thailand dan *D. zea* strain HNJF02 asal China (Tabel 2.5).



Tabel 2.4. Matriks identitas sikuen DNA isolat bakteri penyebab busuk batang jagung yang disandingkan dengan isolat-isolat yang ada pada GenBank berdasarkan hasil amplifikasi *houseskeping* gen *dnaX*

Isolat/ Strain	64	10.2	100	118	117	19	107	A	B	C	D	E	F	G	H	I
64	ID															
10.2	0,997	ID														
100	1,000	0,997	ID													
118	0,997	1,000	0,997	ID												
117	0,992	0,995	0,992	0,995	ID											
19	0,992	0,995	0,992	0,995	1,000	ID										
107	0,997	1,000	0,997	1,000	0,995	0,995	ID									
A	0,995	0,997	0,995	0,997	0,997	0,997	0,997	ID								
B	0,99	0,992	0,99	0,992	0,988	0,988	0,992	0,990	ID							
C	0,99	0,992	0,99	0,992	0,988	0,988	0,992	0,990	0,995	ID						
D	0,99	0,992	0,99	0,992	0,988	0,988	0,992	0,990	1,000	0,995	ID					
E	0,988	0,99	0,988	0,99	0,985	0,985	0,99	0,988	0,992	0,992	0,992	ID				
F	0,981	0,983	0,981	0,983	0,983	0,983	0,983	0,985	0,985	0,985	0,985	0,983	ID			
G	0,983	0,985	0,983	0,985	0,981	0,981	0,985	0,983	0,988	0,988	0,988	0,985	0,988	ID		
H	0,992	0,995	0,992	0,995	1,000	1,000	0,995	0,997	0,988	0,988	0,988	0,985	0,983	0,981	ID	
I	0,889	0,891	0,889	0,891	0,886	0,886	0,891	0,889	0,884	0,886	0,884	0,891	0,879	0,884	0,886	ID

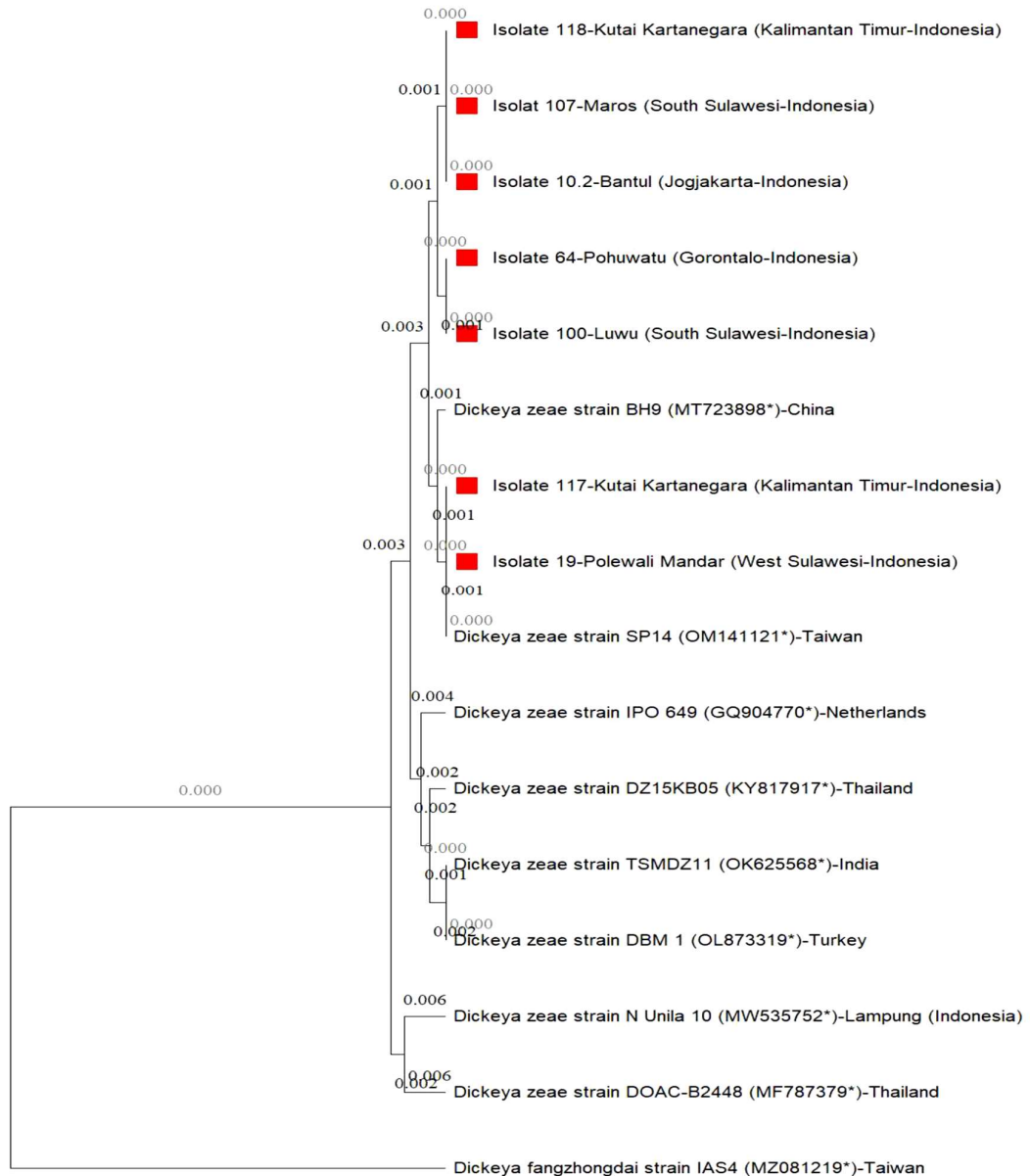
Keterangan: A) *D. zeae* strain BH9 asal China; B) *D. zeae* strain TSMDZ11 asal India; C) *D. zeae* strain DZ15KB05 asal Thailand; D) *D. zeae* strain DBM 1 asal Turkey; E) *D. zeae* strain IPO 649 asal Netherlands; F) *D. zeae* strain N\_Unila\_10 asal Lampung - Indonesia; G) *D. zeae* strain DOAC-B2448 asal Thailand; H) *D. zeae* strain SP14 asal Taiwan; I) *D. fangzhongdai* strain IAS4 asal Taiwan.

Tabel 2.5. Matriks identitas sikuen DNA isolat bakteri penyebab busuk batang jagung yang disandingkan dengan isolat-isolat yang ada pada GenBank berdasarkan hasil amplifikasi gen 16S rDNA.

Isolat/ Strain	64	10.2	100	19	105	33	A	B	C	D	E
64	ID										
10.2	0,965	ID									
100	0,993	0,967	ID								
19	0,965	1,000	0,967	ID							
105	0,933	0,944	0,935	0,944	ID						
33	0,949	0,947	0,951	0,947	0,956	ID					
A	0,990	0,970	0,997	0,970	0,933	0,949	ID				
B	0,947	0,97	0,954	0,970	0,958	0,965	0,956	ID			
C	0,993	0,967	1,000	0,967	0,935	0,951	0,997	0,954	ID		
D	0,993	0,967	1,000	0,967	0,935	0,951	0,997	0,954	1,000	ID	
E	0,793	0,786	0,800	0,786	0,777	0,795	0,802	0,783	0,800	0,800	ID

Keterangan: Keterangan: A) *D. zeae* strain MS31 asal Taiwan; B) *E. chrysanthemi* strain GSPB 413 asal Canada; C) *D. zeae* strain DZ15SB01 asal Thailand; D) *D. zeae* strain HNJF02 asal China; E) *Bacillus thuringiensis* strain IAM 12077 - NR\_043403\* asal Amerika

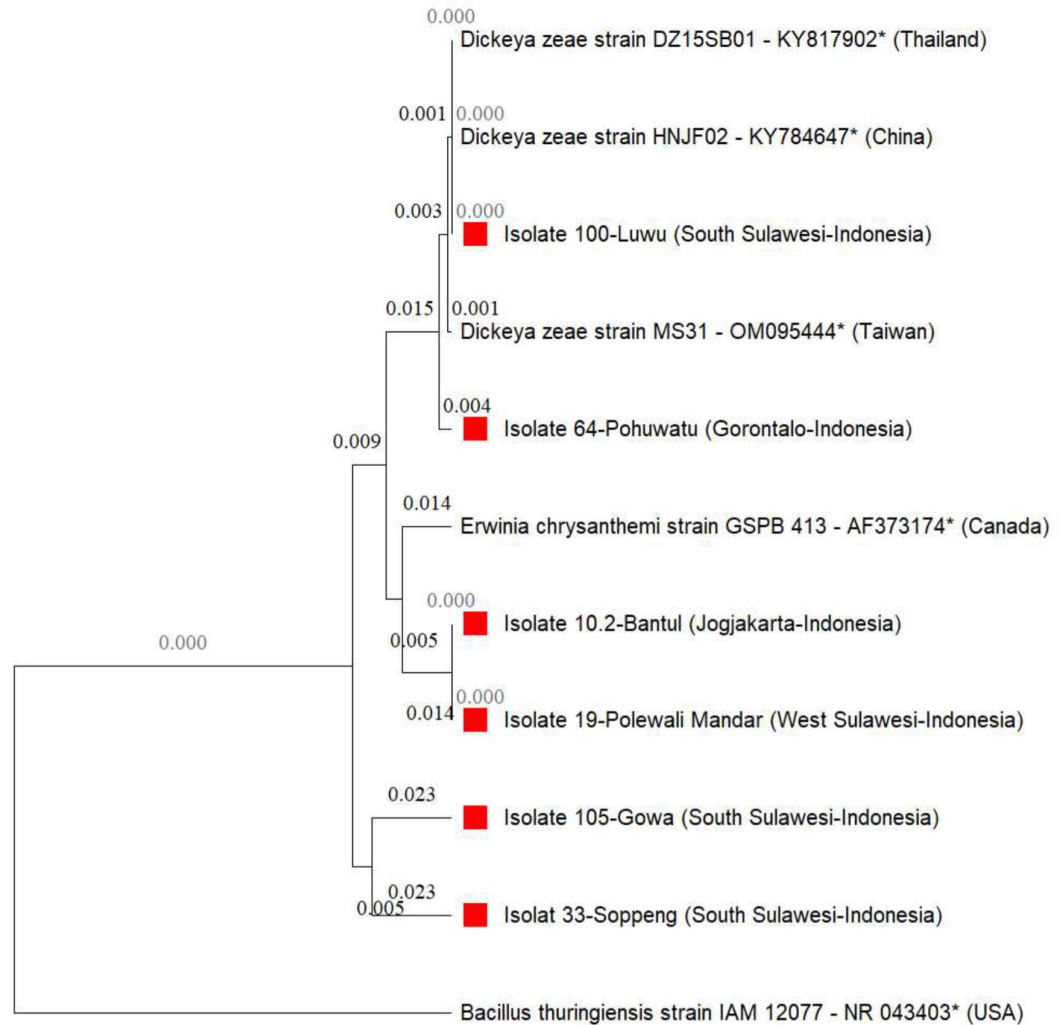
**Filogenetika Isolat bakteri penyebab penyakit busuk batang di Indonesia berdasarkan runutan basa nukleotida.** Analisis filogenetik berdasarkan runutan basa nukleotida dari hasil analisis sequencing dnaX menunjukkan bahwa semua isolat uji menunjukkan tingkat kekerabatan yang dekat dengan *D. zae* (Gambar 2.12).



Gambar 2.12. Konstruksi pohon filogeni isolat bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung berdasarkan amplikasi gen dnaX menggunakan metode statistik *UPGMA tree* dan model substitusi *maximum composite likelihood* dengan jumlah ulangan *bootstrap* 1000 kali. Pohon filogeni diimplementasikan dalam program Bioedit 7.3. dan MEGA11. Nilai pada *branches* adalah koefisien jarak genetic antar isolat yang menggambarkan jumlah rata-rata perubahan nukleotida di antara isolat. A, amplifikasi menggunakan pasangan primer dnaXr dan dnaXf. B, amplifikasi menggunakan pasangan primer 27F/1492R. \*) Nomor akses NCBI; ■) sampel penelitian

Runutan basa nukleotida hasil amplifikasi dengan dnaX isolat 10.2, 64, 100, 107, dan 118 memiliki tingkat kekerabatan paling dekat dengan *D. zeeae* strain BH9 asal China dan *D. zeeae* strain SP14 asal Taiwan dengan koefisien jarak genetik 0,003. Isolat 117 dan 19 juga memiliki kekerabatan paling dekat dengan kedua strain *D. zeeae* tersebut dengan koefisien jarak genetik sebesar 0,001. Selain itu, 7 isolat uji (isolat 10.2, 19, 64, 100, 107, 117 dan 118) menunjukkan kekerabatan dekat dengan *D. zeeae* strain IPO 649 asal Netherlands, *D. zeeae* strain DZ15KB05 asal Thailand, *D. zeeae* strain TSMDZ11 asal India, *D. zeeae* strain DBM 1 asal Turkey, *D. zeeae* strain N\_Unila\_10 asal Lampung-Indonesia, dan *D. zeeae* strain DOAC-B2448 asal Thailand dengan nilai koefisien genetik sebesar 0,003-0,006.

Amplifikasi DNA menggunakan pasangan primer 27F/1492R menunjukkan bahwa isolat 100 memiliki kekerabatan paling dekat dengan *D. zeeae* strain DZ15SB0-Thailand dan *D. zeeae* strain HNJF02-China dengan nilai koefisien genetik sebesar 0,001-0,002. Isolat 64 juga menunjukkan kekerabatan paling dekat dengan kedua strain *D. zeeae* tersebut dan juga kekerabatan paling dekat dengan *D. zeeae* strain MS1-Taiwan (Gambar 2.13). Sementara isolat 33, 105, 10.2 dan 19 memiliki kekerabatan dekat dengan *E. crysanthemii* strain GSPB 413-Canada dengan nilai koefisien jarak genetik 0,005-0,009. Dilaporkan sebelumnya bahwa genus *Dickeya* direklasifikasi dari *E. crysanthemii* berdasarkan kisaran inang, biokimia, dan analisis molekuler (Samson et al. 2005; Alic et al. 2017; Balamurugan et al. 2020). Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa keempat isolat bakteri tersebut termasuk dalam Genus *Dickeya*. Namun untuk isolat 10.2 dan 19 yang teridentifikasi genus *Dickeya* berdasarkan amplifikasi pasangan primer 27F/1492R diuraikan sebagai spesies *D. zeeae* berdasarkan hasil amplifikasi dnaX. Sementara kedua isolat lainnya yakni 33 dan 105 tidak teramplifikasi pada dnaX.



Gambar 2.13. Konstruksi pohon filogeni isolat bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung berdasarkan amplikasi gen 16S rDNA menggunakan metode statistik *UPGMA tree* dan model substitusi *maximum composite likelihood* dengan jumlah ulangan *bootstrap* 1000 kali. Pohon filogeni diimplementasikan dalam program Bioedit 7.3. dan MEGA11. Nilai pada *branches* adalah koefisien jarak genetic antar isolat yang menggambarkan jumlah rata-rata perubahan nukleotida di antara isolat. A, amplifikasi menggunakan pasangan primer dnaXr dan dnaXf. B, amplifikasi menggunakan pasangan primer 27F/1492R. \*) Nomor akses NCBI; ■) sampel penelitian

#### 2.4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolasi bakteri penyebab penyakit busuk batang jagung dari hasil eksplorasi gejala pada 5 propinsi didapatkan 76 isolat bakteri, terdapat 24 isolat yang menyebabkan busuk pada batang. Sebanyak 9 isolat yang menyebabkan busuk batang jagung terpilih untuk karakterisasi secara morfologi, fisiologi dan molekuler
2. Kesembilan isolat bakteri tersebut menunjukkan karakteristik morfologi koloni yakni berbentuk bulat, cembung, tepian rata, berwarna putih keabuan, sel berbentuk basil tunggal berukuran 2-3  $\mu\text{m}$ . Secara fisiologis, karakteristik isolat adalah gram dan oksidase negative, katalase dan indol positif, adaptif tumbuh pada suhu 39°C dan NaCl 5%, produksi enzim lesitinase, protease, phosphatase, sensitive antibiotic. Isolat mampu menggunakan D-arabinosa, Laktosa, D-Melibiosa, D-Raffinosa, Mannitol, MSO-Tartrate dan Myo-Inositol sebagai satu-satunya sumber karbon
3. Amplifikasi DNA dengan PCR menggunakan primer spesifik *Dickeya* (pasangan primer ADE1/ADE2) menunjukkan bahwa kesembilan isolat termasuk dalam genus *Dickeya*.
4. Identifikasi molekuler lebih lanjut menggunakan 2 pasang primer (dnaXr/dnaXf dan 27F/1492R) menunjukkan tujuh isolat teridentifikasi sebagai *Dickeya zeae* dan dua isolat sebagai *Dickeya* sp (*syn. Erwinia crysanthemii*).
5. Informasi terkait karakteristik bakteri ini dapat digunakan sebagai dasar dalam perakitan teknologi pengendalian penyakit busuk batang jagung.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aeny TN, Suharjo R, Ginting C, Hapsoro D, Niswati A. 2020. Characterization and host range assessment of *Dickeya zeae* associated with pineapple soft rot disease in east Lampung, Indonesia. *Biodiversitas* 21 (2): 587-595. DOI: 10.13057/biodiv/d210221.
- Ahamad S, Lal B, Kher D. 2015. Screening of maize germplasms against stalk rot diseases in the intermediate zone of Jammu Region. *Intl J Innov Sci Eng Technol* 2 (12):1024-1032.
- Alič Š, Naglič T, Tušek-Žnidarič M, Peterka M, Ravnikar M, Dreo T. 2017. Putative new species of the genus *Dickeya* as major soft rot pathogens in *Phalaenopsis* orchid production. *Plant Pathol* 66 (8): 1357-1368.
- Azadmanesh S, Mozafari J, Hasanzadeh N, Moslemkhani C. 2016. In vitro evaluation of potato genotypes for resistance against bacterial soft rot (*Pectobacterium carotovorum*)-A new tool for studying disease resistance. *J Plant Prot Res* 57 (1): 1-8. DOI: 10.1515/jppr-2017-0001.
- Begum K, Mannan SJ, Rezwan R, Rahman MdM, Rahman MdS, Nur-E-Kamal A. 2017. Isolation and characterization of bacteria with biochemical and pharmacological importance from soil samples of Dhaka City. *Dhaka Univ J Pharm Sci* 16 (1): 129-136. DOI: 10.3329/dujps.v16i1.33390
- Beissner M, Symank D, Phillips RO, Phillips RO, Amoaka YA, Awua-Boateng NY, Sarfo FS, Jansson M, Huber KL, Herbinger KH, Battke F, Loscher T, Adjei O, Bretzel G. 2012. Detection of viable *Mycobacterium ulcerans* in clinical samples by a novel combined 16S rRNA reverse transcriptase/IS2404 Real-Time qPCR assay. *PLoS Negl Trop Dis* 6 (8): e1756.
- Boluk G, Arizala D, Dobhal S, Zhang J, Hu J, Alvarez AM, Arif M. 2021. Genomic and phenotypic biology of novel strains of *Dickeya zeae* isolated from pineapple and taro in Hawaii: Insights into genome plasticity, pathogenicity, and virulence determinants. *Front Plant Sci* 12: 663851. DOI: 10.3389/fpls.2021.663851.
- Czajkowski R, Pérombelon McM, Jafra S, Lojkowska E, Potrykus M, Van Der Wolf Jm, Sledz W. 2015. Detection, identification and differentiation of *Pectobacterium* and *Dickeya* species causing potato blackleg and tuber soft rot: A review. *Ann Appl Biol* 166 (1): 18-38. DOI: 10.1111/aab.12166.
- Guan Y, Chen W, Wu Y, Hu Y, Wang H, He Z, Zheng H. 2020. First report of corn stalk rot caused by *Dickeya zeae* on sweet corn in Shanghai, China. *J Plant Pathol* 102 (16): 557-558. DOI: 10.1007/s42161-019-00447-8.
- Hu M, Li J, Chen R, Li W, Feng L, Shi L, Xue Y, Feng X, Zhang L, Zhou J. 2018. *Dickeya zeae* strains isolated from rice, banana, and clivia rot plants show great virulence differentials. *BMC Microbiol* 18 (1): 136. DOI: 10.1186/s12866-018-1300-y.
- Holt John G, Noel RK, Peter HAS, James TS, Stanley TW. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th Edition. A Waverly Company, USA.
- Jayaseelan T, Damodaran R, Ganesan S, Mani P. 2018. Biochemical characterization and 16s rRNA sequencing of different bacteria from textile dye effluents. *J Drug Deliv Ther* 8 (6): 35-40. DOI: 10.22270/jddt.v8i6.2004.
- Jittikornkul A, Watcharachaiyakup J, Patarapuwadol S, Kositratana W. 2017. Identification of stalk rot bacteria of corn by multilocus sequence analysis. *Agric Sci J* 48: 358-375.
- Kamau JW. 2020. Phenotypic and molecular characterization of *Pectobacterium* and *Dickeya* species associated with blackleg and soft rot of potato in

- Kenya. [Thesis]. Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology. [Kenya]
- Kanzil T, Fatimah, Manampiring A. 2015. Uji resistensi bakteri *Bacillus* sp yang diisolasi dari plak gigi terhadap merkuri dan eritromisin. Jurnal e-Biomedik 3: 1-4. DOI: 10.35790/ebm.3.1.2015.6610. [Indonesian]
- Klement Z, K Rudolph, D C Sand. 1990. Methods in Phytobacteriology. Academia Kiado, Budapest.
- Kumar A, Hunjan MS, Kaur H, Rawal R, Kumar A, Singh PP. 2017a. A review on bacterial stalk rot disease of maize caused by *Dickeya zaeae*. J Appl Nat Sci 9: 1214-1225. DOI: 10.31018/jans.v9i2.1348.
- Kumar A, Hunjan MS, Kaur H, Dhillon HK, Singh PP. 2017b. Biochemical responses associated with resistance to bacterial stalk rot caused by *Dickeya zaeae* in maize. J Phytopathol 165: 822-832. DOI: 10.1111/jph.12622.
- Kumar A, Vigyan K, Jhansi K, Kaur H. 2015. Characterization of *Dickeya zaeae* isolats causing stalk rot of maize based on biochemical assays and antibiotik sensitivity. Indian Phytopathol 68 (4): 375-379.
- Kumvinit A, Akarapisan A. 2019. Characterization of blackleg and soft rot from potato in northern Thailand. J Phytopathol 167 (11-12): 655-666. DOI: 10.1111/jph.12859.
- Li J, Hu M, Xue Y, Chen X, Lu G, Zhang L, Zhou J. 2020. Screening, identification, and efficacy evaluation of antagonistic bacteria for biocontrol of soft rot disease caused by *Dickeya zaeae*. Microorganisms 8 (5): 697. DOI: 10.3390/microorganisms8050697.
- Martinez-Cisneros BA, Juarez-Lopez G, Valencia-Torres N, Duran-Peralta E, Mezzalama M. 2014. First report of bacterial stalk rot of maize caused by *Dickeya zaeae* in Mexico. Plant Dis 98 (9): 1267. DOI: 10.1094/PDIS-02-14-0198-PDN.
- Mirsam H, Suriani, Rahman AA, Pakki S, Azrai M, Prayitno OD. 2021. Genotipe resistance of hybrid corn varieties candidate against major corn diseases. IOP Conf Ser: Earth Environ Sci 911: 012054. DOI: 10.1088/1755-1315/911/1/012054.
- Mirsam H, Suriani, Aqil M, Azrai M, Efendi R, Muliadi A, Sembiring H, Azis AI. 2022. Molecular characterization of indigenous microbe and its potential as a biological control agent of Fusarium stem rot (*Fusarium verticillioides*) on maize. Heliyon 8 (12): e11960. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e11960.
- Mokrani S, Nabti E. 2021. Rapid screening of phytopatogenic *Erwinia* sp. of two potato varieties (spunta and desiree) from Algerian agricultural fields. Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika 21 (2): 123-133. DOI: 10.23960/jhptt.221123-133.
- Muturi P, Yu J, Li J, Jiang M, Maina AN, Kariuki S, Mwaura FB, Wei H. 2018. Isolation and characterization of pectolytic bacterial pathogens infecting potatoes in Nakuru County, Kenya. J Appl Microbiol 124 (6): 1580-1588. DOI: 10.1111/jam.13730.
- Mu'minah, Baharuddin, Subair H, Fahrudin. 2015. Isolation and screening bacterial Exopolysaccharide (EPS) from potato rhizosphere in highland and the potential as a producer Indole Acetic Acid (IAA). Procedia Food Sci 3 (2015): 74-81. DOI: 10.1016/j.profoo.2015.01.007.
- Panikkai S, Nurmalina R, Mulatsih S, Purwati H. 2017. Analisis ketersediaan jagung nasional menuju pencapaian swasembada dengan pendekatan model dinamik. Informatika Pertanian 26 (1): 41-48. DOI: 10.21082/ip.v26n1.2017.p41-48. [Indonesian]



- Podungge D, Mashudi I, Katili AY. 2019. Analisis roadmap pengembangan industri jagung di Provinsi Gorontalo. Publik Jurnal Ilmu Administrasi 8 (2): 160-166. DOI: 10.31314/pjia.8.2.160-166.2019. [Indonesian]
- Potrykus M, Golanowska M, Sledz W, et al (2016) Biodiversity of *Dickeya* spp. Isolats from potato plants and water sources in temperate climate. Plant Dis 100:408–417. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-15-0439-RE>
- Pratama ML, Rosa, Helda Orbani S. 2022. Identification of bacteria causing maize wilt disease in Tanah Laut Regency, South Kalimantan. Intl J Biosci 20: 104-115. DOI: 10.12692/ijb/20.2.104-115.
- Prokić A, Zlatković N, Kuzmanović N, Ivanović M, Gašić K, Pavlović Ž, Obradović A. 2020. Identification and characterization of *Dickeya zeae* strains associated with maize stalk soft-rot in northern Serbia. Eur J Plant Pathol 157: 685-691. DOI: 10.1007/s10658-020-02019-4.
- Shah D, Khan MS, Aziz S, Ali H, Pecoraro L. 2022. Molecular and biochemical characterization, antimicrobial activity, stress tolerance, and plant growth-promoting effect of endophytic bacteria isolats from wheat varieties. Microorganisms 10 (1): 21. DOI: 10.3390/microorganisms10010021.
- Subedi S, Subedi H, Neupane S. 2016. Status of maize stalk rot complex in Western Belts of Nepal and its integrated management. J Maize Res Dev 2 (1): 30-42. DOI: 10.3126/jmrd.v2i1.16213.
- Sudewi S, Ala A, Baharuddin, Farid M. 2020. The Isolation, characterization endophytic bacteria from roots of local rice plant Kamba in Central Sulawesi, Indonesia. Biodiversitas 21 (4): 1614-1624. DOI: 10.13057/biodiv/d210442.
- Suharjo R, Sawada H, Takikawa Y. 2014. Phylogenetic study of Japanese *Dickeya* spp. and development of new rapid identification methods using PCR-RFLP. J Gen Plant Pathol 80 (3): 237-254. DOI: 10.1007/s10327-014-0511-9.
- Thakkar P, Modi HA, Prajapati JB. 2015. Isolation, characterization and safety assessment of lactic acid bacterial isolats from fermented food products. Intl J Curr Microbiol Appl Sci 4 (4): 713-723.
- Thakur P, Singh AK, Mukherjee G. 2021. Isolation and characterization of alkaline pectinase productive *Bacillus tropicus* from fruit and vegetable waste dump soil. Braz Arch Biol Technol 64: e21200319. DOI: 10.1590/1678-4324-2021200319.
- Yang Y, Yao Z, Zhang MQ, Zou C, Chen B. 2021. First report of stalk bacterial soft rot of sugarcane caused by *Dickeya zeae* in China. Plant Dis 105 (4): 1188. DOI: 10.1094/PDIS-10-20-2234-PDN.
- Zhang J, Arif M, Shen H, Hu J, Sun D, Pu X, Yang Q, Lin B. 2020. Genomic divergence between *Dickeya zeae* strain EC2 isolats from rice and previously identified strains, suggests a different rice foot rot strain. PLoS One 15 (10): e0240908. DOI: 10.1371/journal.pone.0240908.
- Zhang J, Shen H, Pu X, Lin B, Hu J. 2014. Identification of *Dickeya zeae* as a causal agent of bacterial soft rot in Banana in China. Plant Dis 98 (4): 436-442. DOI: 10.1094/PDIS-07-13-0711-RE.
- Zhang J, Arif M, Shen H, Sun D, Pu X, Hu J, Lin B, Yang Q. 2022. Genomic comparisons and phenotypic diversity of *Dickeya zeae* strains causing bacterial soft rot of banana in China. Front Plant Sci 13: 1-17. DOI: 10.3389/fpls.2022.822829.
- Zhang Q, Yu C, Wen L, Liu Q. 2018. Tat system is required for the virulence of *Dickeya zeae* on rice plants. J Plant Pathol 100: 409-418. DOI: 10.1007/s42161-018-0086-y.

**LAMPIRAN**

Tabel Lampiran 2.1. Karakter fisiologi 76 isolat bakteri yang dieksplorasi dari gejala penyakit busuk batang jagung di Indonesia

No	Kode Isolat	Lokasi Eksplorasi	Karakterisasi Fisiologi			
			Uji Gram	O/F	Hipersensitive	Pemb. Kentang
1	4	Kab. Soppeng, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
2	5	Kab. Polewali Mandar, Sulawesi Barat	-	O	+	-
3	7	Kab. Bantul, Yogyakarta	-	O/F	+	+
4	8	Kab. Bantul, Yogyakarta	-	O/F	+	+
5	9	Kab. Bantul, Yogyakarta	-	O	+	-
6	10	Kab. Bantul, Yogyakarta	-	O/F	+	+
7	10,2	Kab. Bantul, Yogyakarta	-	O/F	+	+
8	11	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
9	17,1	Kab. Polewali Mandar, Sulawesi Barat	-	O/F	+	-
10	17,2	Kab. Polewali Mandar, Sulawesi Barat	-	O/F	+	+
11	18,1	Kab. Polewali Mandar, Sulawesi Barat	-	O/F	+	+
12	19	Kab. Polewali Mandar, Sulawesi Barat	-	O/F	+	+
13	20	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	-
14	21	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	-
15	22	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	-
16	26	Kab. Soppeng, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
17	27	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	F	+	-
18	29	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
19	30	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
20	31	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
21	33	Kab. Soppeng, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
22	34	Kab. Bantul, Yogyakarta	+	O	-	-
23	36	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
24	40	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
25	52	Kab. Bantul, Yogyakarta	-	O	-	-
26	53	Kab. Polewali Mandar, Sulawesi Barat	-	O/F	+	-
27	54	Kab. Bantul, Yogyakarta	-	O	-	-
28	55	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O	+	-
29	56	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O/F	+	+
30	57	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O/F	+	-
31	58	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O	-	-
32	59	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
33	61	Kab. Pahuwato, Gorontalo	+	O	-	-
34	63	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O/F	+	-
35	64	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O/F	+	+
36	69	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O	+	-
37	70	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
38	77	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O/F	+	-

No	Kode Isolat	Lokasi Eksplorasi	Karakterisasi Fisiologi			
			Uji Gram	O/F	Hipersensitive	Pemb. Kentang
39	78	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O/F	-	-
40	79	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O/F	-	-
41	80	Kab. Pahuwato, Gorontalo	-	O	+	-
42	81	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O/F	-	-
43	82	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
44	83	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O	-	-
45	84	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	-
46	85	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O/F	-	-
47	88	Kab. Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur	-	O/F	+	+
48	90	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
49	91	Kab. Bantul, Jogjakarta	-	O/F	-	+
50	92	Kab. Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur	-	O	+	-
51	94	Kab. Luwu, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
52	95	Kab. Luwu, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
53	96	Kab. Luwu, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
54	97	Kab. Luwu, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
55	98	Kab. Luwu, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
56	99	Kab. Luwu, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	-
57	100	Kab. Luwu, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
58	101	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O/F	-	+
59	102	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O/F	-	+
60	103	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
61	104	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
62	105	Kab. Gowa, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
63	106	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
64	107	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O/F	+	+
65	108	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O	-	-
66	113	Kab. Bantul, Jogjakarta	-	O/F	+	-
67	114	Kab. Bantul, Jogjakarta	-	O	+	+
68	115	Kab. Bantul, Jogjakarta	-	O	-	-
69	116	Kab. Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur	-	O	+	+
70	117	Kab. Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur	-	O/F	+	+
71	118	Kab. Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur	-	O/F	+	+
72	119	Kab. Maros, Sulawesi Selatan	-	O	+	-
73	120	Kab. Polewali Mandar, Sulawesi Barat	-	O/F	-	-
74	121	Kab. Polewali Mandar, Sulawesi Barat	-	O	+	-
75	123	Kab. Soppeng, Sulawesi Selatan	-	O/F	-	-
76	124	Kab. Soppeng, Sulawesi Selatan	-	O/F	-	-

Tabel lampiran 2.2. Daftar isolat bakteri yang menunjukkan karakter Genera Erwinia

No	Isolat	Asal isolat	No	Isolat	Asal isolat
1	4	Soppeng, SulSel	15	88	Kalimantan Timur
2	7	Jogjakarta	16	91	Jogjakarta
3	8	Jogjakarta	17	95	Luwu, SulSel
4	10	Jogjakarta	18	96	Luwu, SulSel
5	10.2	Jogjakarta	19	97	Luwu, SulSel
6	11	Maros, SulSel	20	98	Luwu, SulSel
7	17.2	Sulawesi Barat	21	100	Luwu, SulSel
8	18.1	Sulawesi Barat	22	101	Maros, SulSel
9	19	Sulawesi Barat	23	102	Maros, SulSel
10	30	Maros, SulSel	24	105	Gowa, SulSel
11	33	Soppeng, SulSel	25	106	Maros, SulSel
12	40	Gowa, SulSel	26	107	Maros, SulSel
13	56	Gorontalo	27	117	Kalimantan Timur
14	64	Gorontalo	28	118	Kalimantan Timur

Tabel Lampiran 2.3. Rerata waktu terjadinya reaksi hipersensitif pada daun tembakau dan pembusukan umbi kentang yang diinokulasi dengan 28 isolat bakteri dari gejala penyakit busuk batang jagung

No	Isolat	Reaksi terjadi saat (jam setelah inokulasi)		No	Isolat	Reaksi terjadi saat (jam setelah inokulasi)	
		Uji hipersensitif	Pembusukan Kentang			Uji hipersensitif	Pembusukan Kentang
1	4	36	48	15	88	24	60
2	7	36	36	16	91	36	36
3	8	36	36	17	95	24	48
4	10	24	24	18	96	24	48
5	10.2	24	36	19	97	24	48
6	11	24	36	20	98	24	48
7	17.2	24	36	21	100	24	48
8	18.1	24	72	22	101	24	48
9	19	24	36	23	102	24	36
10	30	24	60	24	105	24	36
11	33	24	60	25	106	24	36
12	40	36	60	26	107	24	48
13	56	48	72	27	117	24	36
14	64	36	60	28	118	24	48

Tabel Lampiran 2.4. Insidensi penyakit busuk batang yang terjadi setelah diinokulasi 28 isolat bakteri dari gejala penyakit busuk batang jagung

No	Isolat	Insidensi Penyakit Busuk Batang (%)			Rerata
		U1	U2	U3	
1	4	50	100	0	50,00
2	7	0	50	50	33,33
3	10	50	50	50	50,00
4	8	0	0	0	0,00
5	10.2	100	50	50	66,67
6	11	0	0	0	0,00
7	17.2	50	50	100	66,67
8	18.1	0	100	0	33,33
9	19	50	100	50	66,67
10	30	0	50	50	33,33
11	33	50	50	50	50,00
12	40	50	50	50	50,00
13	56	0	50	0	16,67
14	64	100	100	50	83,33
15	91	100	50	50	66,67
16	88	0	0	0	0,00
17	95	50	100	50	66,67
18	96	100	100	50	83,33
19	97	0	0	0	0,00
20	98	100	50	50	66,67
21	100	50	100	100	83,33
22	101	50	50	50	50,00
23	102	50	0	100	50,00
24	105	100	100	50	83,33
25	106	50	100	100	83,33
26	107	100	50	50	66,67
27	117	50	100	100	83,33
28	118	50	50	0	33,33
	Rerata	56,25	68,75	52,08	59,03

Tabel Lampiran 2.5. Masa inkubasi penyakit busuk batang jagung yang terjadi setelah diinokulasi 28 isolat bakteri dari gejala penyakit busuk batang jagung

No	Isolat	Masa inkubasi penyakit busuk batang (hari)						Rerata
		U1		U2		U3		
		Sampel 1	Sampel 2	Sampel 1	Sampel 2	Sampel 1	Sampel 2	
1	4	10	tg	6	9	tg	tg	8,33
2	7	tg	tg	4	tg	tg	10	7,00
3	8	tg	tg	tg	tg	tg	tg	tg
4	10	tg	8	8	tg	10	tg	8,67
5	10.2	4	2	2	tg	6	tg	3,50
6	17.2	3	tg	3	tg	2	4	3,00
7	11	tg	tg	tg	tg	tg	tg	tg
8	18.1	tg	tg	4	10	tg	tg	7,00
9	19	4	tg	2	4	2	tg	3,00
10	30	tg	tg	4	tg	10	tg	7,00
11	33	tg	6	4	tg	4	tg	4,67
12	40	tg	7	7	tg	10	tg	8,00
13	56	tg	tg	tg	10	tg	tg	10,00
14	64	2	4	1	2	tg	2	2,20
15	88	tg	tg	tg	tg	tg	tg	tg
16	91	4	4	tg	3	7	tg	4,50
17	95	3	tg	3	5	5	tg	4,00
18	96	5	4	3	3	tg	6	4,20
19	97	tg	tg	tg	tg	tg	tg	tg
20	98	4	4	tg	6	tg	6	5,00
21	100	4	tg	3	3	3	4	3,40
22	101	tg	3	tg	4	4	tg	3,67
23	102	5	tg	tg	tg	2	6	4,33
24	105	6	2	3	2	2	tg	3,00
25	106	tg	8	8	6	3	5	6,00
26	107	2	2	tg	4	tg	2	2,50
27	117	2	tg	2	3	2	3	2,40
28	118	4	tg	tg	6	tg	tg	5,00
Rerata		4,13	4,50	3,94	5,00	4,80	4,80	4,53

Ket: tg, tanaman yang diinokulasi suspensi bakteri tidak menunjukkan gejala penyakit busuk batang jagung; masa inkubasi dalam satuan hari setelah diinokulasi.







```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            510      520      530      540      550
Isolat 64 CGGAATGACT GGGCGTAAAG CGCACGCAGG CGGTCTGTTA AGTTGGATGT
Isolat 10. CGGAATGACT GGGCGTAAAG CGCACGCAGG CGGTCTGTTA AGTTGGATGT
Isolat 100 CGGAATGACT GGGCGTAAAG CGCACGCAGG CGGTCTGTTA AGTTGGATGT
Isolat 19 CGGAATGACT GGGCGTAAAG CGCACGCAGG CGGTCTGTTA AGTTGGATGT
Isolat 105 CGGAATTACT GGGCGTAAAG CGCACGCAGG CGGTTGATTA AGTTAGATGT
Isolat 33 CGGAATTACT GGGCGTAAAG CGCACGCAGG CGGTCTGTCA AGTCGGATGT
Clustal Co ***** ** *

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            560      570      580      590      600
Isolat 64 GAAATCCCCG GGCTTAACCT GGGAACTGCA TTCAAAACCTG ACAGGCTAGA
Isolat 10. GAAATCCCCG GGCTTAACCT GGGAACTGCA TTCAAAACCTG ACAGGCTAGA
Isolat 100 GAAATCCCCG GGCTTAACCT GGGAACTGCA TTCAAAACCTG ACAGGCTAGA
Isolat 19 GAAATCCCCG GGCTTAACCT GGGAACTGCA TTCAAAACCTG ACAGGCTAGA
Isolat 105 GAAATCCCCG GGCTTAACCT GGGAACTGGCA TCTAAGACTG GTCAGCTAGA
Isolat 33 GAAATCCCCG GGCTCAACCT GGGAACTGCA TTCGAAAACCTG GCAGGCTAGA
Clustal Co ***** ** *

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            610      620      630      640      650
Isolat 64 GTCTCGTAGA GGGGGGTAGA ATTCCAGGTG TAGCGGTGAA ATGCGTAGAG
Isolat 10. GTCTCGTAGA GGGGGGTAGA ATTCCAGGTG TAGCGGTGAA ATGCGTAGAG
Isolat 100 GTCTCGTAGA GGGGGGTAGA ATTCCAGGTG TAGCGGTGAA ATGCGTAGAG
Isolat 19 GTCTCGTAGA GGGGGGTAGA ATTCCAGGTG TAGCGGTGAA ATGCGTAGAG
Isolat 105 GTCTTGTAGA GGGGGGTAGA ATTCCATGTG TAGCGGTGAA ATGCGTAGAG
Isolat 33 GTC-----
-
Clustal Co ***

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            660      670      680      690      700
Isolat 64 ATCTGGAGGA ATACCGGTGG CGAAGGCGGC CCCCTGGACG AAGACTGACG
Isolat 10. ATCTGGAGGA ATACCGGTGG CGAAGGCGGC CCCCTGGACG AAGACTGACG
Isolat 100 ATCTGGAGGA ATACCGGTGG CGAAGGCGGC CCCCTGGACG AAGACTGACG
Isolat 19 ATCTGGAGGA ATACCGGTGG CGAAGGCGGC CCCCTGGACG AAGACTGACG
Isolat 105 ATGTGGAGGA ATACCGGTGG CGAAGGCGGC CCCCTGGACA AAGACTGACG
Isolat 33 -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            710      720      730      740      750
Isolat 64 CTCAGGTGCG AAAGCGTGGG GAGCAAACAG GATTAGATAC CCTGGTAGTC
Isolat 10. CTCAGGTGCG AAAGCGTGGG GAGCAAACAG GATTAGATAC CCTGGTAGTC
Isolat 100 CTCAGGTGCG AAAGCGTGGG GAGCAAACAG GATTAGATAC CCTGGTAGTC
Isolat 19 CTCAGGTGCG AAAGCGTGGG GAGCAAACAG GATTAGATAC CCTGGTAGTC
Isolat 105 CTCAGGTGCG AAAGCGTGGG GAGCAAACAG GATTAGATAC CCTGGTAGTC
Isolat 33 -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            760      770      780      790      800
Isolat 64 CACGCTGTAA ACGATGTCGA TTTGGAGGTT GTGGTCTTGA ACCGTGGCTT
Isolat 10. CACGCTGTAA ACGATGTCGA TTTGGAGGTT GTGGTCTTGA ACCGTGGCTT
Isolat 100 CACGCTGTAA ACGATGTCGA TTTGGAGGTT GTGGTCTTGA ACCGTGGCTT
Isolat 19  CACGCTGTAA ACGATGTCGA TTTGGAGGTT GTGGTCTTGA ACCGTGGCTT
Isolat 105 CACGCTGTAA ACGATGTCGA TTTGAAGGTT GTTCCCTTGA GGAGTGGCTT
Isolat 33  -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            810      820      830      840      850
Isolat 64 CCGGAGCTAA CGCGTTAAAT CGACCGCCTG GGGAGTACGG CCGCAAGGTT
Isolat 10. CCGGAGCTAA CGCGTTAAAT CGACCGCCTG GGGAGTACGG CCGCAAGGTT
Isolat 100 CCGGAGCTAA CGCGTTAAAT CGACCGCCTG GGGAGTACGG CCGCAAGGTT
Isolat 19  CCGGAGCTAA CGCGTTAAAT CGACCGCCTG GGGAGTACGG CCGCAAGGTT
Isolat 105 TCGGAGCTAA CGCGTTAAAT CGACCGCCTG GGGAGTACGG CCGCAAGGTT
Isolat 33  -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            860      870      880      890      900
Isolat 64 AAAACTCAAA TGAATTGACG GGGGCCCGCA CAAGCGGTGG AGCATGTGGT
Isolat 10. AAAACTCAAA TGAATTGACG GGGGCCCGCA CAAGCGGTGG AGCATGTGGT
Isolat 100 AAAACTCAAA TGAATTGACG GGGGCCCGCA CAAGCGGTGG AGCATGTGGT
Isolat 19  AAAACTCAAA TGAATTGACG GGGGCCCGCA CAAGCGGTGG AGCATGTGGT
Isolat 105 AAAACTCAAA TGAATTGACG GGGGCCCGCA CAAGCGGTGG AGCATGTGGT
Isolat 33  -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            910      920      930      940      950
Isolat 64 TTAATTCGAT GCAACGCGAA GAACCTTACC TACTCTTGAC ATCCAGCGAA
Isolat 10. TTAATTCGAT GCAACGCGAA GAACCTTACC TACTCTTGAC ATCCACAGGA
Isolat 100 TTAATTCGAT GCAACGCGAA GAACCTTACC TACTCTTGAC ATCCAGCGAA
Isolat 19  TTAATTCGAT GCAACGCGAA GAACCTTACC TACTCTTGAC ATCCACAGGA
Isolat 105 TTAATTCGAT GCAACGCGAA GAACCTTACC TACTCTTGAC ATCCAGAGAA
Isolat 33  -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            960      970      980      990      1000
Isolat 64 CCTTGCAGAG ATACGAGGGT GCCTTCGGGA GCGCTGAGAC AGGTGCTGCA
Isolat 10. TCCGGCAGAG ATGCTGGAGT GCCTTCGGGA ACTGTGAGAC AGGTGCTGCA
Isolat 100 CCTTGTAGAG ATACGAGGGT GCCTTCGGGA GCGCTGAGAC AGGTGCTGCA
Isolat 19  TCCGGCAGAG ATGCTGGAGT GCCTTCGGGA ACTGTGAGAC AGGTGCTGCA
Isolat 105 TTTAGCAGAG ATGCTTAAAGT GCCTTCGGGA ACTCTGAGAC AGGTGCTGCA
Isolat 33  -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            1010      1020      1030      1040      1050
Isolat 64 TGGCTGTTGT CAGCTTGTGT TGTGAAATGT TGGGTTAAGT CCCGCAACGA
Isolat 10. TGGCTGTCGT CAGCTCGTGT TGTGAAATGT TGGGTTAAGT CCCGCAACGA
Isolat 100 TGGCTGTCGT CAGCTCGTGT TGTGAAATGT TGGGTTAAGT CCCGCAACGA
Isolat 19 TGGCTGTCGT CAGCTCGTGT TGTGAAATGT TGGGTTAAGT CCCGCAACGA
Isolat 105 TGGCTGTCGT CAGCTCGTGT TGTGAAATGT TGGGTTAAGT CCCGCAACGA
Isolat 33 -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            1060      1070      1080      1090      1100
Isolat 64 GCGCAACCCT TATCCTTTGT TGCCAGCACT TCGGGTGGGA ACTCAAGGGA
Isolat 10. GCGCAACCCT TATCCTTTGT TGCCAGCACT TCGGGTGGGA ACTCAAGGGA
Isolat 100 GCGCAACCCT TATCCTTTGT TGCCAGCACT TCGGGTGGGA ACTCAAGGGA
Isolat 19 GCGCAACCCT TATCCTTTGT TGCCAGCACT TCGGGTGGGA ACTCAAGGGA
Isolat 105 GCGCAACCCT TATCCTTTGT TGCCAGCACT TCGGGTGGGA ACTCAAGGGA
Isolat 33 -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            1110      1120      1130      1140      1150
Isolat 64 GACTGCCGGT GATAAACCGG AGGAAGGTGG GGATGACGTC AAGTCATCAT
Isolat 10. GACTGCCGGT GATAAACCGG AGGAAGGTGG GGATGACGTC AAGTCATCAT
Isolat 100 GACTGCCGGT GATAAACCGG AGGAAGGTGG GGATGACGTC AAGTCATCAT
Isolat 19 GACTGCCGGT GATAAACCGG AGGAAGGTGG GGATGACGTC AAGTCATCAT
Isolat 105 GACTGCCGGT GATAAACCGG AGGAAGGTGG GGATGACGTC AAGTCATCAT
Isolat 33 -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            1160      1170      1180      1190      1200
Isolat 64 GGCCCTTACG AGTAGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGCGT ATACAAAGAG
Isolat 10. GGCCCTTACG AGTAGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGCGT ATACAAAGAG
Isolat 100 GGCCCTTACG AGTAGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGCGT ATACAAAGAG
Isolat 19 GGCCCTTACG AGTAGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGCGT ATACAAAGAG
Isolat 105 GGCCCTTACG AGTAGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGCGT ATACAAAGAG
Isolat 33 -----
-
Clustal Co

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            1210      1220      1230      1240      1250
Isolat 64 AAGCGACCTC GCGAGAGCAA GCGGACCTCA TAAAGTACGT CGTAGTCCGG
Isolat 10. AAGCGACCTC GCGAGAGCAA GCGGACCTCA TAAAGTACGT CGTAGTCCGG
Isolat 100 AAGCGACCTC GCGAGAGCAA GCGGACCTCA TAAAGTACGT CGTAGTCCGG
Isolat 19 AAGCGACCTC GCGAGAGCAA GCGGACCTCA TAAAGTACGT CGTAGTCCGG
Isolat 105 AAGCGACCTC GCGAGAGCAA GCGGACCTCA TAAAGTACGT CGTAGTCCGG
Isolat 33 -----
-

```

## Clustal Co

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            1260      1270      1280      1290      1300
Isolat 64 ATTGGAGTCT GCAACTCGAC TCCATGAAGT CGGAATCGTT AGTAATCGTA
Isolat 10. ATTGGAGTCT GCAACTCGAC TCCATGAAGT CGGAATCGCT AGTAATCGTA
Isolat 100 ATTGGAGTCT GCAACTCGAC TCCATGAAGT CGGAATCGCT AGTAATCGTA
Isolat 19  ATTGGAGTCT GCAACTCGAC TCCATGAAGT CGGAATCGCT AGTAATCGTA
Isolat 105 ATTGGAGTCT GCAACTCGAC TCCATGAAGT CGGAATCGCT AGTAATCGTA
Isolat 33  -----
-

```

## Clustal Co

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            1310      1320      1330      1340      1350
Isolat 64  GATCAGAATG CTACGGTGAA TACGTTCCCG GCCCTTG--- -----
-
Isolat 10.  GATCAGAATG CTACGGTGAA TACGTTCCCG GGCCTTGTTAC ACACCGCCCG
Isolat 300  GATCAGAATG CTACGGTGAA TACGTTCCCG GGCCTTGTTAC ACACCGCCCG
Isolat 19  GATCAGAATG CTACGGTGAA TACGTTCCCG GGCCTTGTTAC ACACCGCCCG
Isolat 105 GATCAGAATG CTACGGTGAA TACGTTCCCG GGCCTTGTTAC ACACCGCCCG
Isolat 33  -----
-

```

## Clustal Co

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            1360      1370      1380      1390      1400
Isolat 64  -----
-
Isolat 10.  TCACACCATG GGAGTGGGTT GCA--AAAGA AGTAGGTAGC TTAACCTTCG
Isolat 100 TCACACCATG GGAGTGGGTT GCAACAAGAA GCTAGGTAG- -----
-
Isolat 19  TCACACCATG GGAGTGGGTT GCA--AAAGA AGTAGGTAGC TTAACCTTCG
Isolat 105 TCACACCATG GGAGTGGGTT GCA--AAAGA AGTAGGTAGC TTAACCTTCG
Isolat 33  -----
-

```

## Clustal Co

```

      ....|....| ....|..
            1410
Isolat 64  -----
Isolat 10.  GGAGGGCGC- -----
Isolat 100  -----
Isolat 19  GGAGGGCGC- -----
Isolat 105 GGAGGGCGCT TACCCAC
Isolat 33  -----
Clustal Co

```

Lampiran 2.7. Runutan basa nukleotida isolat sampel bakteri penyebab busuk batang hasil amplifikasi menggunakan pasangan primer dnaXf/dnaXr. Tanda \*(bintang) menunjukkan basa nukleotida yang identik.

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                10         20         30         40         50
Isolat 64  -CGACATCCC AGCGCTTTGA GATGAAACTG CAAACAGCGC GACAAAATCG
Isolat 10.  TCGACATCCC AGCGCTTTGA GATGAAACTG CAAACAGCGC GACAAAATCG
Isolat 100 -CGACATCCC AGCGCTTTGA GATGAAACTG CAAACAGCGC GACAAAATCG
Isolat 118 -CGACATCCC AGCGCTTTGA GATGAAACTG CAAACAGCGC GACAAAATCG
Isolat 117 -CGACATCC- AGCGCTTTGA GATGAAACTG CAAACAGCGC GACAAAATCG
Isolat 19  ----- --CGCTTTGA GATGAAACTG CAAACAGCGC GACAAAATCG
Isolat 107 -CGACATCCC AGCGCTTTGA GATGAAACTG CAAACAGCGC GACAAAATCG
Clustal Co          *****

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                60         70         80         90         100
Isolat 64  TCACCGGCAG TTTTTCGCGG TCCGTGGTCG CCAGCAGGAA TTTCACATGC
Isolat 10.  TCACCGGCAG TTTTTCGCGG TCCGTGGTCG CCAGCAGGAA TTTCACATGC
Isolat 100 TCACCGGCAG TTTTTCGCGG TCCGTGGTCG CCAGCAGGAA TTTCACATGC
Isolat 118 TCACCGGCAG TTTTTCGCGG TCCGTGGTCG CCAGCAGGAA TTTCACATGC
Isolat 117 TCACCGGCAG TTTTTCGCGG TCCGTAGTCG CCAGCAGGAA TTTCACATGC
Isolat 19  TCACCGGCAG TTTTTCGCGG TCCGTAGTCG CCAGCAGGAA TTTCACATGC
Isolat 107 TCACCGGCAG TTTTTCGCGG TCCGTGGTCG CCAGCAGGAA TTTCACATGC
Clustal Co *****

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                110        120        130        140        150
Isolat 64  GAAGGCGGCT CTTCCAGTGT TTTCAACAAC GCGTTGAAAC TGTGGCGGGA
Isolat 10.  GAAGGCGGCT CTTCCAGTGT TTTCAACAAC GCGTTGAAAC TGTGGCGGGA
Isolat 100 GAAGGCGGCT CTTCCAGTGT TTTCAACAAC GCGTTGAAAC TGTGGCGGGA
Isolat 118 GAAGGCGGCT CTTCCAGTGT TTTCAACAAC GCGTTGAAAC TGTGGCGGGA
Isolat 117 GAAGGCGGCT CTTCCAGTGT TTTCAACAAC GCGTTGAAAC TGTGGCGGGA
Isolat 19  GAAGGCGGCT CTTCCAGTGT TTTCAACAAC GCGTTGAAAC TGTGGCGGGA
Isolat 107 GAAGGCGGCT CTTCCAGTGT TTTCAACAAC GCGTTGAAAC TGTGGCGGGA
Clustal Co *****

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
                160        170        180        190        200
Isolat 64  GAGCATGTGC ACTTCGTCAA TCAGGTAAAC TTTGAAACGA CCGCGAGCCG
Isolat 10.  GAGCATGTGC ACTTCGTCAA TCAGGTAAAC TTTGAAACGA CCGCGAGCCG
Isolat 100 GAGCATGTGC ACTTCGTCAA TCAGGTAAAC TTTGAAACGA CCGCGAGCCG
Isolat 118 GAGCATGTGC ACTTCGTCAA TCAGGTAAAC TTTGAAACGA CCGCGAGCCG
Isolat 117 GAGCATGTGC ACTTCGTCAA TCAGGTAAAC TTTGAAACGA CCGCGAGCCG
Isolat 19  GAGCATGTGC ACTTCGTCAA TCAGGTAAAC TTTGAAACGA CCGCGAGCCG
Isolat 107 GAGCATGTGC ACTTCGTCAA TCAGGTAAAC TTTGAAACGA CCGCGAGCCG
Clustal Co *****

```



```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
            460         470         480         490         500
Isolat 64 ACCATTAGCC AACGCGGTCA GGACATGTTC CTGGCCTACC ACGTCGGCAA
Isolat 10. ACCATTAGCC AACGCGGTCA GGACATGTTC CTGGCCTACC ACGTCGGCAA
Isolat 100 ACCATTAGCC AACGCGGTCA GGACATGTTC CTGGCCTACC ACGTCGGCAA
Isolat 118 ACCATTAGCC AACGCGGTCA GGACATGTTC CTGGCCTACC ACGTCGGCAA
Isolat 117 ACCATTAGCC AACGCGGTCA GGACATGTTC CTGGCCTACC ACGTCGGCAA
Isolat 19 ACCATTAGCC AACGCGGTCA GGACATGTTC CTGGCCTACC ACGTCGGCAA
Isolat 107 ACCATTAGCC AACGCGGTCA GGACATGTTC CTGGCCTACC ACGTCGGCAA
Clustal Co *****

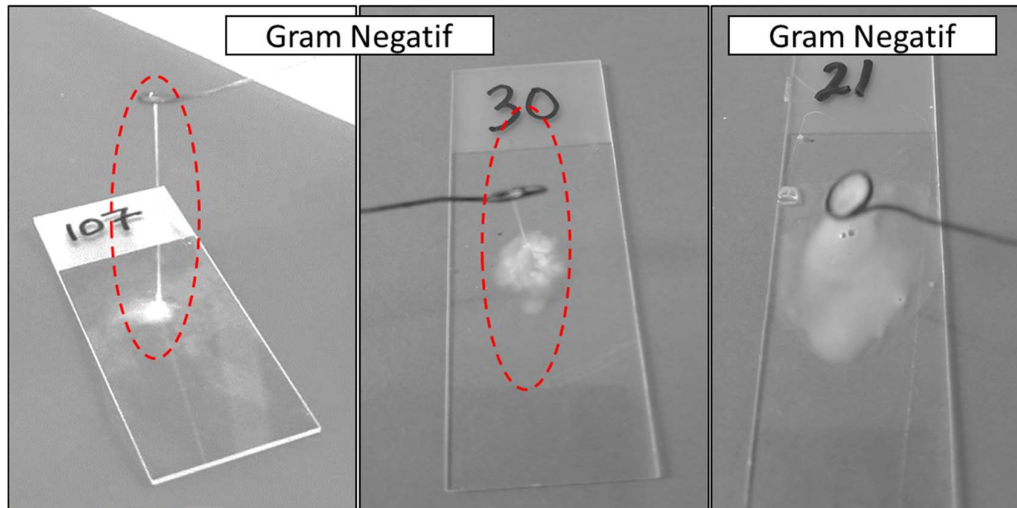
```

```

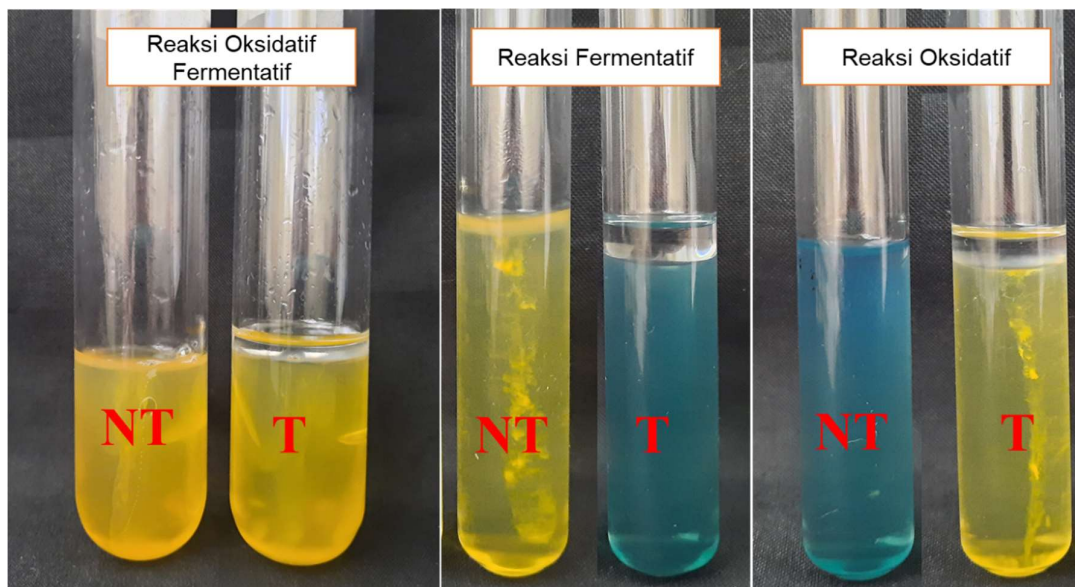
      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| .
            510         520         530         540
Isolat 64 AGGTTTGGGG ACGCCACTTA CGGGCAAGA- AACCTGATAA -
Isolat 10. AGGTTTGGGG ACGCCACTTA CGGGCAAGAG AACCTGATAA A
Isolat 100 AGGTTTGGGG ACGCCACTTA CGGGCAAGA- A-CCTGATAA -
Isolat 118 AGGTTTGGGG ACGCCACTTA CGGGCAAGA- -ACCTGATAA -
Isolat 117 AGGTTTGGGG ACGCCACTTA CGGGCAAGA- -ACCTGATAA -
Isolat 19 AGGTTTGGGG ACGCCACTTA CGGGCAAGA- -ACCTGAT-- -
Isolat 107 AGGTTTGGGG ACGCCACTTA CGGGCAAGA- AACCTGAT-- -
Clustal Co *****

```

### Lampiran Gambar

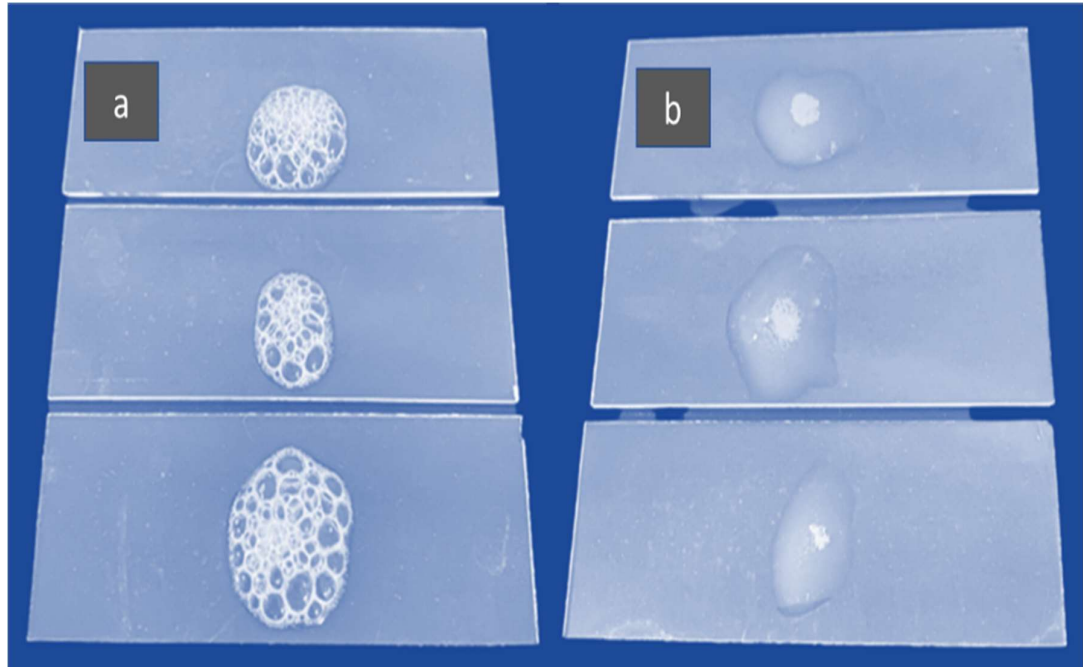


Gambar Lampiran 2.1. Uji gram bakteri dengan KOH 3%, bakteri gram negative ditandai dengan terbentuknya lendir, sementara bakteri gram positif tidak terbentuk lendir setelah suspensi bakteri ditetasi KOH 3%



Gambar Lampiran 2. Uji oksidatif fermentatif ditandai dengan terjadi perubahan warna menjadi kuning baik pada media yang tidak ditutup maupun yang ditutup paraffin; jika terjadi perubahan warna kuning hanya pada tabung yang tidak diberi minyak paraffin, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat oksidatif; jika perubahan warna menjadi kuning hanya pada tabung yang diberi minyak paraffin maka bakteri tersebut bersifat fermentatif





Gambar Lampiran 2.3. Uji katalase bakteri dengan reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung pada suspensi yang ditetesi  $H_2O_2$  (a); sebaliknya suspensi bakteri yang tidak membentuk busa setelah ditetesi  $H_2O_2$  menandakan katalase negatif (b)