

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENYEBAB PENYAKIT  
BUSUK LUNAK PADA BUAH STROBERI (*Fragaria x ananassa*)**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIAL CAUSING  
SOFT ROT DISEASE ON STRAWBERRY FRUIT  
(*Fragaria x ananassa*)**

**Made Mega Yuliasari<sup>1\*</sup>, Retno Kawuri<sup>1</sup>, Meitini Wahyuni Proborini<sup>1</sup>**  
*Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bali*  
*Email: megieyulia@gmail.com*

**INTISARI**

Penyakit busuk lunak pada buah stroberi (*F. x ananassa*) ditemukan di perkebunan stroberi daerah Candi Kuning, Bedugul, Bali. Busuk lunak pada buah stroberi disebabkan oleh mikroorganisme yaitu bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi bakteri patogen penyebab busuk lunak dengan *plating method* dan mengidentifikasi bakteri penyebab busuk lunak pada buah stroberi menggunakan Kit *Microgen<sup>TM</sup> GNA+B-ID System* dan acuan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994). Hasil penelitian diperoleh lima isolat bakteri (IB-1, IB-2, IB-3, IB-4, dan IB-5). Hasil positif uji Postulat Koch menunjukkan bahwa bakteri penyebab busuk lunak pada buah stroberi adalah isolat IB-1. Hasil identifikasi menggunakan Kit *Microgen<sup>TM</sup> GNA+B-ID System* dan acuan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) menunjukkan bahwa IB-1 adalah bakteri *Weeksella*.

Kata kunci: identifikasi, busuk lunak, buah stroberi, *Weeksella*.

**ABSTRACT**

Soft rot on strawberry fruit was found in strawberry (*F. x ananassa*) plantation in Candi Kuning, Bedugul, Bali. Soft rot on strawberry fruit can be caused by microorganism i.e. bacteria. Objectives of the research were to isolate pathogen causing soft rot on strawberry fruit with *plating method* and to identify bacteria causing soft rot by using Kit *Microgen<sup>TM</sup> GNA+B-ID System* and *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* reference (Holt *et al.*, 1994). Results showed there were five isolates of bacteria (IB-1, IB-2, IB-3, IB-4, and IB-5). Positive result of Postulat Koch showed that bacteria causing soft rot on strawberry is IB-1. Identification that was done by using Kit *Microgen<sup>TM</sup> GNA+B-ID System* and *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* reference (Holt *et al.*, 1994), showed that the isolate IB-1 is *Weeksella*.

Key words: identification, soft rot, strawberry fruit, *Weeksella*.

**PENDAHULUAN**

Buah stroberi (*F. x ananassa*) di Bali memiliki nilai ekonomis yang tinggi karena

dimanfaatkan sebagai buah segar, industri obat-obatan, dan bahan kecantikan (Hanif dkk., 2012). Kualitas buah stroberi penting

dipertahankan untuk memenuhi kebutuhan masyarakat dan mempertahankan perekonomian para petani stroberi (Budiman dan Saraswati, 2008). Produksi stroberi di Indonesia pada tahun 2011 yaitu 41.035 ton meningkat 313,78% menjadi 169.793 ton (Badan Pusat Statistik, 2013). Produksi buah stroberi dalam negeri belum mampu menutupi permintaan pasar yang tinggi sehingga pada tahun 2012 terdapat peningkatan impor bibit stroberi sebesar 13,7%, yaitu dari 88.000 menjadi 100.000 (Deptan, 2013). Budidaya stroberi di Indonesia belum dilakukan secara optimal karena kurangnya pengolahan lahan dan tidak maksimalnya teknik pemupukan serta pemeliharaan yang diterapkan petani menyebabkan tanaman ini rentan dari serangan patogen penyebab penyakit busuk pada buah stroberi (Kurnia, 2005).

Penyakit busuk pada buah stroberi yang disebabkan oleh jamur dan bakteri belum banyak diteliti (Hanif dan Ashari, 2008). Beberapa jenis jamur patogen yang ditemukan antara lain *Botrytis cinerea* (bercak kelabu), *Colletotrichum acutatum* (busuk antraknosa), dan *Phytophthora cactorum* (busuk kulit buah) (Hartman dan Kaiser, 2008). Penelitian yang dilakukan Kuchareck dan Bartz (1994), bakteri yang menyebabkan penyakit busuk lunak pada buah stroberi termasuk famili Enterobacteriaceae adalah *Erwinia carotovora* dan *Pseudomonas marginalis* di Florida.

Hasil observasi yang dilakukan di Candi Kuning, Bedugul, Tabanan, ditemukan ciri-ciri morfologi gejala penyakit busuk lunak pada buah stroberi yaitu bagian buah yang busuk terlihat basah, berwarna sedikit kecoklatan, berlendir, dan mengeluarkan bau busuk. Berdasarkan hasil wawancara, penyakit busuk lunak pada buah stroberi sangat mengganggu produk panen (Puja, Kompri 2013). Untuk itu, maka perlu dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri patogen penyebab busuk lunak pada buah stroberi.

## MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan pada dua tempat yaitu kebun stroberi di daerah Candi Kuning, Bedugul, Tabanan sebagai tempat pengambilan

sampel buah stroberi yang mengalami busuk lunak dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana untuk isolasi dan identifikasi bakteri patogen penyebab busuk lunak pada buah stroberi. Penelitian dilakukan selama 4 bulan yaitu dari bulan Oktober 2013 sampai Januari 2014.

### Pengambilan Sampel

Buah stroberi yang memiliki ciri-ciri morfologi gejala busuk lunak dari kebun daerah Candi Kuning, Bedugul diambil sebagai sampel. Sebanyak 3 buah stroberi dimasukkan ke dalam kantong plastik dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana untuk diisolasi dan diidentifikasi.

### Isolasi Bakteri dari Busuk Lunak Buah Stroberi (*F. x ananassa*)

Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran (*Plating Method*) (Pelczar dan Chan, 2006). Diambil bagian buah yang setengah busuk dan setengah segar dengan ukuran 1x1 cm. Secara aseptik sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi 5 mL air steril dan dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Sampel dibuat faktor pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-3}$ . Masing-masing faktor pengenceran secara aseptik diambil 1 mL untuk dimasukkan ke cawan petri steril yang berisi media NA (*Nutrient Agar*). Sampel dihomogenkan dan diinkubasi selama 48 jam dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan metode *streak quadrant*. Isolat bakteri disimpan pada media NA miring dan dikultur di media NB (*Nutrient Broth*) selama 24 jam untuk Uji Postulat Koch.

### Uji Postulat Koch Bakteri Penyebab Busuk Lunak pada Buah Stroberi (*F. x ananassa*)

Buah stroberi matang dan segar dipotong secara longitudinal (metode *slice test*) menjadi dua bagian (Snijder dan Tuyl, 2002). Buah stroberi disterilisasi dengan menggunakan Bayclin 10% selama 5 menit dan dibilas dengan air steril tiga kali. Buah stroberi steril

dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah dilapisi tisu steril. Buah ditusuk menggunakan jarum steril dan ditambahkan 100 µL suspensi bakteri murni dari hasil isolasi. Buah stroberi diinkubasi di dalam suhu ruangan. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam dan dicatat perubahan atau gejala yang ditimbulkan. Pengamatan dihentikan setelah buah stroberi mengalami busuk lunak dan mengeluarkan bau busuk. Uji Postulat Koch diulang sebanyak 3 kali untuk memastikan bahwa bakteri tersebut menyebabkan busuk lunak pada buah stroberi (*F.x ananassa*) dan dilanjutkan dengan pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram bakteri patogen.

**Identifikasi Bakteri Patogen Penyebab Busuk Lunak**

Disiapkan isolat kultur bakteri murni yang akan diidentifikasi setelah diinkubasi 18-24 jam. Identifikasi bakteri patogen menggunakan Kit *Microgen™ GNA+B-ID System* dari Korea dan acuan *Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, 1994).

**HASIL**

**Isolasi Bakteri**

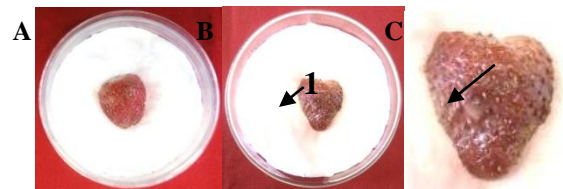
Hasil penelitian diperoleh lima isolat bakteri pada buah stroberi yang mengalami busuk lunak. Morfologi kelima isolat bakteri secara makroskopis adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1 Ciri-ciri koloni isolat bakteri

No.	Isolat Bakteri	Ciri-ciri koloni
1.	IB-1	Bentuk bulat, pinggir bergelombang, warna putih, dan permukaan yang timbul datar
2.	IB-2	Bentuk tidak rata, pinggir berbenang, warna putih, permukaan rata
3.	IB-3	Bentuk bulat L-form, rata dan bening, putih tua di tengah, timbul datar
4.	IB-4	Bentuk rhizoid, pinggir bercabang, warna putih, permukaan rata
5.	IB-5	Bentuk bulat, pinggir berbenang, warna putih, permukaan melengkung

**Uji Postulat Koch Bakteri Penyebab Busuk Lunak pada Buah Stroberi (*F. x ananassa*).**

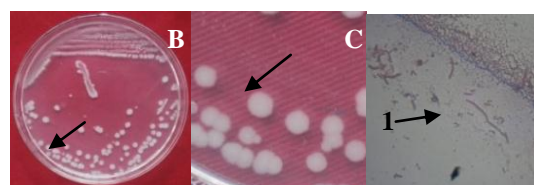
Hasil Postulat Koch pada kelima bakteri uji menunjukkan bahwa isolat IB-1 mampu menunjukkan gejala busuk lunak pada buah stroberi segar (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil positif uji Postulat Koch pada buah stroberi yang diinokulasikan isolat bakteri setelah diinkubasi 3 hari; A = kontrol, B = isolat IB-1 (tanda panah 1), dan C = busuk lunak buah stroberi (perbesaran 6 x)

**Identifikasi Bakteri Penyebab Busuk Lunak Buah Stroberi (*F. x ananassa*).**

Hasil identifikasi isolat IB-1 memiliki ciri-ciri koloni dengan bentuk bulat, pinggir bergelombang, warna putih, dan permukaan yang timbul datar. Pengamatan secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri penyebab busuk lunak berbentuk batang berantai dan Gram negatif (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil streak isolat IB-1 pada media NA (Gambar A), koloni bakteri dengan perbesaran 6x memiliki bentuk bulat dan berwarna putih (Gambar B), dan mikroskopis isolat IB-1 dengan ciri-ciri Gram negatif bentuk batang berantai (Gambar C, tanda panah 1).

Berdasarkan hasil identifikasi dengan menggunakan Kit *Microgen™ GNA+B-ID System* menunjukkan bakteri tersebut adalah *Weeksella* dikarenakan persentase hanya 75,3 % sehingga hanya sampai tingkat genus. Genus *Weeksella* ditemukan oleh Holmes *et al.* (1986). Karakteristik dari genus ini adalah bakteri berbentuk batang berantai, tidak membentuk

endospora, Gram negatif, oksidase positif, non motil, dan tumbuh pada temperatur 18-42<sup>0</sup>C. Berikut tabel hasil identifikasi bakteri *Weeksella*:

Tabel 2. Hasil uji IB-1 dengan menggunakan Kit *Microgen<sup>TM</sup> GNA+B-ID System*

Hasil Uji			
+ Oxidase	- Manitol	- TDA	- Lactose
- Motilitas	- Xylose	+ Gelatin	- Arabinose
- Nitrat	- ONPG	- Malonate	- Adonitol
- Lysin	- Indole	- Inositol	- Raffinose
- Ornithine	- Urease	- Sorbitol	- Salicin
- H <sub>2</sub> S	+ VP	- Rhamnose	+ Arginine
- Glucose	- Citrat	- Sucrose	

Klasifikasi bakteri *Weeksella* menurut Holt (1994) adalah sebagai berikut:  
Kingdom Bacteria, Phylum Bacteroidetes, Kelas Flavobacteria, Ordo Flavobacteria-les, Family Flavobacteriaceae, dan Genus *Weeksella*.

## PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri pada busuk lunak buah stroberi didapatkan lima isolat bakteri (IB-1, IB-2, IB-3, IB-4, dan IB-5). Berdasarkan hasil pengamatan bentuk koloni bakteri yang didapat bervariasi yaitu bulat, bulat L-form, dan tidak beraturan. Perbedaan pinggir koloni setelah diamati yaitu bergelombang, berbenang, rata dan bening. Warna koloni bakteri yang didapat yaitu putih keseluruhan dan putih tua di tengah, sedangkan permukaan koloni bakteri ada yang berbentuk rata, timbul datar, dan melengkung. Menurut Kaur dan Sethi (2012), bentuk-bentuk koloni yang berbeda dapat dijadikan dasar untuk identifikasi bakteri.

Hasil positif uji Postulat Koch menunjukkan buah stroberi yang mengalami busuk lunak memiliki gejala yang sama dengan sampel di lapangan. Isolat bakteri penyebab busuk lunak pada buah stroberi segar adalah IB-1 (Gambar 1.B.). Gejala busuk yang ditimbulkan oleh isolat bakteri 1 dimana awalnya, pada permukaan buah yang dilukai memunculkan air sehingga menjadi basah. Luka pada buah berbentuk cekung dan berwarna lebih gelap dibandingkan jaringan sehat di sekitarnya. Warna daerah perlukaan menjadi putih keruh yang disebabkan oleh jaringan buah yang rusak.

Luka yang ditimbulkan melebar dan menghasilkan bau busuk. Menurut Kuchareck dan Bartz (1994), bakteri patogen penyebab busuk lunak akan masuk ke jaringan buah dan menghasilkan enzim yang menghancurkan ikatan antar sel dan menimbulkan luka. Luka tersebut akan memunculkan cairan dari jaringan yang rusak sehingga terjadi busuk lunak.

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan Kit *Microgen<sup>TM</sup> GNA+B-ID System* menunjukkan bakteri patogen penyebab busuk lunak pada buah stroberi adalah genus *Weeksella* dikarenakan persentase 75,3% sehingga tidak sampai ke tingkat spesies. Bakteri *Weeksella* memiliki ciri-ciri koloni dengan bentuk bulat, warna putih, dan pinggir bergelombang, sedangkan secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri penyebab busuk lunak adalah Gram negatif dan berbentuk batang berantai. Hal ini sesuai dengan Holt (1994) bahwa *Weeksella* memiliki koloni dengan bentuk bulat, warna putih, dan pinggir bergelombang, termasuk Gram negatif dan pada umumnya berbentuk batang berantai. Menurut Vaneechoutee *et al.* (2011) *Weeksella* termasuk bakteri dalam grup bakteri Gram negatif, oksidase positif, dan bersifat aerob yang dapat menghidrolisis gelatin dan positif arginin. Hal ini sesuai dengan hasil identifikasi bahwa bakteri yang diidentifikasi positif gelatin dan arginin.

Bakteri *Weeksella* pertama kali ditemukan oleh Holmes *et al.* (1986). Keberadaan *Weeksella* telah diketahui sebagai bakteri kontaminan pada makanan manusia bahkan sebagai patogen pada manusia sejak tahun 1986. Berdasarkan penelitian Botha *et al.* (1998), sebagian genus *Weeksella* telah mengkontaminasi mentega, daging domba, dan makanan cepat saji baik buah maupun sayuran. Bakteri *Weeksella* biasanya ditemukan di lingkungan seperti tanah, air, dan limbah ternak yang digunakan untuk berbagai macam produk pertanian (Vaneechoutee *et al.*, 2011). Limbah ternak yang digunakan petani stroberi untuk menyuburkan tanah memungkinkan penyebaran bakteri *Weeksella* semakin meluas di areal pertanian. Penelitian Berg *et al.* (2002), *Weeksella* ditemukan pada lahan pertanian

khususnya tanah perkebunan stroberi dan *oilseed rape*. Keberadaan *Weeksella* pada tanah perkebunan stroberi dan *oilseed rape* sangat melimpah karena memanfaatkan nutrisi dari rhizosfer stroberi dan *oilseed rape* untuk tumbuh dan berkembang biak. Bahkan menurut penelitian Gouveia (2008), penyebaran *Weeksella* meluas ke lingkungan dengan bantuan serangga seperti lalat pasir (*Lutzomyia longipalpis*).

Dalam penelitian ini tidak ditemukan bakteri patogen *Erwinia carotovora* atau *Pseudomonas marginalis* sebagai agen penyebab busuk lunak pada buah stroberi tetapi disebabkan oleh *Weeksella*. Bakteri *Weeksella* yang dapat menginfeksi buah stroberi belum ditemukan sebelumnya. Menurut Agrios (2005), bakteri dapat menyebabkan suatu penyakit pada inang apabila terjadi kontak antara patogen dengan tanaman inang. Berdasarkan identifikasi, *Weeksella* memproduksi acetoin yang dalam hal ini menurut (Xiao dan Xu, 2007), merupakan senyawa yang digunakan oleh bakteri untuk berasosiasi dengan tanaman. Kemampuan *Weeksella* menimbulkan penyakit busuk lunak diduga karena bakteri tersebut memiliki enzim pendegradasi dinding sel buah stroberi. Menurut Agrios (2005), bakteri patogen busuk lunak mampu mengekskresikan enzim pendegradasi dinding sel inang untuk menimbulkan gejala busuk lunak. Hal tersebut memungkinkan bahwa *Weeksella* memiliki enzim pendegradasi dinding sel buah stroberi karena buah yang terinfeksi oleh *Weeksella* memiliki gejala busuk lunak yang sama dengan yang disebabkan oleh bakteri patogen *Erwinia carotovora* atau *Pseudomonas marginalis*.

## SIMPULAN

Penelitian ini diperoleh 5 isolat bakteri (IB-1, IB-2, IB-3, IB-4, dan IB-5) dari buah stroberi yang mengalami busuk lunak. Hasil positif uji Postulat Koch disebabkan oleh IB-1. Identifikasi menggunakan Kit *Microgen<sup>TM</sup> GNA+B-ID System* dan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, 1994) menunjukkan bakteri IB-1 teridentifikasi sebagai *Weeksella*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 1996. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal. 330.
- Badan Pusat Statistik. 2013. Perkembangan Beberapa Indikator Sosial-Ekonomi Indonesia [cited 1 Okt 2013]. Available at: [http://www.bps.go.id/booklet/Boklet\\_Agustus\\_2013.pdf](http://www.bps.go.id/booklet/Boklet_Agustus_2013.pdf).
- Berg, G., N. Roskot, A. Steidle, L. Eberl, A. Zock and K. Smalla. 2002. Plant-Dependent Genotypic and Phenotypic Diversity of Antagonistic Rhizobacteria Isolated from Different *Verticillium* Host Plants. *Appl Environ Microbiol.* 68(7): 3328-3338.
- Budiman, S. dan D. Saraswati. 2008. Berkebun Stroberi secara Komersial. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal 12, 80-85.
- Deptan, 2013. Volume Impor Ekspor Benih Buah [cited 1 Okt 2013]. Available at: [http://hortikultura.deptan.go.id/index.php?option=com\\_content&view=article&id=376&Itemid=713](http://hortikultura.deptan.go.id/index.php?option=com_content&view=article&id=376&Itemid=713).
- Gouveia, C., M.D. Asensi, V. Zahner, E.F. Rangel and S.M.P. de Oliveira. 2008. Study on the Bacterial Midgut Microbiota Associated to Different Brazilian Populations of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae). *Neotrop. entomol.* 37(5):1519 -1526.
- Hanif, Z., E. Budiyati dan J.S. 2012. Basuki. Budidaya Stroberi (*Fragaria x ananassa*) [cited 23.2.2013]. Available at: <http://rangsingkuang.blogspot.com/2012/10/budidaya-stroberi-fragariaxananassa.html>.
- Hanif, Z. dan H. Ashari. 2008. Sebaran Stroberi (*Fragaria x ananassa*) di Indonesia [Cited 23.2.2013]. Available at: [file:///D:/JURNAL2/\(1\)SebaranStrober\(Fragariaxananassa\)diIndonesia\\_ZainuriHanifAcademia.edu.htm](file:///D:/JURNAL2/(1)SebaranStrober(Fragariaxananassa)diIndonesia_ZainuriHanifAcademia.edu.htm).
- Hartman, J. and C. Kaiser. 2008. Strawberry Fruit Rots. [Cited 30.8.2013]. Available at: [http://www2.ca.uky.edu/agcollege/plantpathology/ext\\_files/PPFShtml/PPFS-FR-S-8.pdf](http://www2.ca.uky.edu/agcollege/plantpathology/ext_files/PPFShtml/PPFS-FR-S-8.pdf).

- Holmes, B., A.G. Steigerwalt, R.E. Weaver, D.J. Brenner. 1986. *Weeksella virosa* gen. nov., sp. nov. (formerly group IIf), Found in Human Clinical Specimens. Syst. Appli. Microbiol. 8:185-190.
- Holt, J.G., N.P. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9<sup>th</sup> Edition. New York: Lippincott Williams and Wilkins.
- Kaur, G., P. Sethi. 2012. A Novel Methodology for Automatic Bacterial Colony Counter. International Journal of Computer Applications. 49(15): 0975-8887.
- Kucharek, T., J. Bartz. 1994. Bacterial Soft Rots of Vegetables and Agronomic Crops [Cited 30.8.2013]. Available at: <http://plantpath.ifas.ufl.edu/extension/factsheets/pdfs/pp0012.pdf>.
- Kurnia, A. 2005. Petunjuk Praktis Budidaya Stroberi. Jakarta: Agromedia Pustaka. Hal 3, 14.
- Pelczar, Chan. 2006. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Reina, J., J. Gil, F. Salva, J. Gomez and P. Alomar. 1990. Microbiological Characteristics of *Weeksella virosa* (Formerly CDC Group IIf) Isolated from the Human Genitourinary Tract. J. Clin. Microbiol. 28(10):2357.
- Slenker, B.D., D.L. Jungkind and J.A. Desimone. 2012. Fatal Case of *Weeksella virosa* Sepsis. J. Clin. Microbiol. 50 (12) 4166-4167.
- Vaneechoutte, M., L. Dijkshoorn, A. Nemeč, P. Kampfer and G. Wauters. 2011. Acinetobacter, Chryseobacterium, Moraxella, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. J. of Bacteriol. 50: 714-738.
- Xiao, Z. and P. Xu. 2007. Acetoin Metabolism in Bacteria. J. of Micobiol. 33(2):127-40.