

UJI METODE INOKULASI DAN PATOGENISITAS *BLOOD DISEASE BACTERIUM* (BDB) PADA BUAH PISANG (*Musa Sp.*)

Ratri Kusuma Devi, Luqman Qurata Aini, Abdul Latief Abadi

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
Jln. Veteran, Malang 65145

ABSTRACT

This study aims to examine several inoculation methods for pathogenicity test of BDB on banana fruit. The Results showed that injection method and smearing suspension bacteria using cotton bud on the base of fruit was capable in producing symptoms of blood disease on banana fruit. The injection method is shown to be the most effective method because it caused blood disease symptoms in the banana fruit at the first day after inoculation. Inoculum densities of 10^8 and 10^9 CFU/ml of BDB could develop disease on third and sixth day after inoculation. BDB produced unique symptoms by causing yellowing and browning on the flesh of a banana fruit as well as browning at the fruit placenta in 7 days after inoculation, the symptom is different with caused by other pathogen like as *Xanthomonas oryzae*, *Pantoea sp* dan *Erwinia carotovora*, dan *Ralstonia solanacearum*.

Keywords: banana, *Blood Disease Bacterium* (BDB), inoculation

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji beberapa metode inokulasi dalam rangka uji patogenitas *Blood Disease Bacterium* (BDB) pada buah pisang. Metode inokulasi injeksi dan pengolesan suspensi bakteri menggunakan *cotton bud* pada buah pisang mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada buah pisang. Metode injeksi pada buah pisang merupakan metode inokulasi yang lebih efektif karena dapat menimbulkan gejala penyakit darah pada hari pertama setelah inokulasi. Kerapatan populasi BDB 10^8 dan 10^9 cfu/ml mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada hari ketiga dan keenam setelah inokulasi. Ciri khas gejala serangan BDB pada buah pisang adalah munculnya bercak kemerahan pada daging buah pisang dan perubahan warna pada plasenta buah pisang menjadi kecoklatan pada 7 hari setelah inokulasi, ciri tersebut berbeda dengan gejala yang ditimbulkan oleh patogen lain yaitu: *Xanthomonas oryzae*, *Pantoea sp* dan *Erwinia carotovora*, dan *Ralstonia solanacearum*.

Kata kunci: *Blood Disease Bacterium* (BDB), inokulasi, pisang

PENDAHULUAN

Penyakit darah pada pisang pertama kali dilaporkan terjadi pada Pulau Selayar, Sulawesi pada tahun 1920an. Disebut penyakit darah karena

adanya oose bakteri berwarna merah kecoklatan dari potongan bonggol pisang dan buah (Baharuddin, 1994). Menurut Sequira (1988), *Blood Disease Bacterium* (BDB) diketahui sebagai penyebab kerusakan utama

pada pertanaman pisang dibandingkan dengan penyakit pisang lainnya, seperti penyakit layu fusarium yang disebabkan cendawan *Fusarium oxysporum*. Hal ini disebabkan (i) semua jenis tanaman pisang yang dibudidayakan saat ini rentan terhadap patogen tersebut dan sumber-sumber ketahanan yang ada pada tanaman pisang tipe liar sangat terbatas, (ii) potensi penularan oleh serangga vektor yang cukup besar, dan (iii) biaya pengendalian relatif mahal serta hanya dapat diimplementasikan dalam areal kerja yang luas.

Mekanisme penularan BDB umumnya melalui serangga polinator pada bunga pisang. Bakteri yang terbawa serangga kemudian melakukan penetrasi pada nektartoda atau luka pada bunga pisang yang tidak menjadi buah, BDB dapat pula menginfeksi melalui perakaran (Rustam, 2007). Bakteri masuk kedalam jaringan akar tanaman melalui lubang alami, luka buatan akibat alat pertanian, maupun luka akibat tusukan stilet nematoda.

Gejala penyakit darah pada tanaman pisang ditunjukkan oleh pelepah daun melemah kemudian patah pada bagian pangkalnya sehingga daun terlihat patah menggantung. Warna daun menjadi kuning kemudian nekrosis dan kering. Kulit buah sering tampak normal. Kadang-kadang ada yang tampak kuning terlalu awal dan menghitam. Kalau buah dipotong, bagian dalam buah akan berwarna merah kecoklatan atau menjadi busuk berlendir. Kelayuan pada daun diawali dengan daun menguning dan mati, pada tanaman muda terjadi kelayuan menyeluruh (Edy, 2008)

Pengetahuan metode inokulasi dan patogenisitas BDB dalam menimbulkan penyakit pada tanaman pisang sangat penting bagi pemulia dan peneliti penyakit tanaman pisang. Bagi

pemulia tanaman, pengetahuan tersebut berguna dalam menyeleksi ketahanan tanaman pisang terhadap BDB, sedangkan bagi peneliti penyakit tanaman bermanfaat untuk mengetahui karakteristik patogenisitasnya (Rustam, 2007).

Penelitian tentang metode inokulasi BDB pada tanaman pisang telah dilakukan oleh Rustam (2007) menggunakan metode injeksi ke bonggol tanaman pisang. Waktu inkubasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan gejala BDB relatif lama yaitu sekitar 18 hari setelah inokulasi. Penelitian Hadiwiyono (2010) menunjukkan bahwa inokulasi suspensi BDB pada bunga pisang juga dapat menyebabkan gejala penyakit, tetapi metode tersebut cukup sulit dilakukan karena membutuhkan tanaman pisang yang sudah berbunga.

Pengujian metode inokulasi BDB secara langsung pada buah pisang belum pernah dilakukan. Seperti diketahui bahwa BDB bisa menginfeksi pada buah pisang, karena terbawa oleh serangga vektor (Leiwakabessy, 1999), sehingga ada potensi buah pisang dapat digunakan sebagai bahan untuk uji patogenisitas BDB. Selain itu diharapkan dengan menggunakan buah, waktu yang dibutuhkan untuk menunjukkan gejala penyakit darah bisa lebih singkat.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai Desember 2012.

Metode

Sumber inokulum BDB pada tanaman pisang diisolasi dari buah pisang kepok yang menunjukkan gejala penyakit darah di daerah Probolinggo. Isolasi BDB dari contoh buah pisang dilakukan dengan metode gores pada media TZC.

Isolat BDB yang diperoleh dimurnikan, diperbanyak dan disimpan dalam akuades steril untuk digunakan dalam pengujian-pengujian berikutnya. Untuk memastikan isolat tersebut adalah penyakit darah dilakukan uji karakter kultur pada media TZC (Baharuddin, 1994), uji hipersensitif pada daun tembakau dan uji patogenitas pada tanaman pisang dan jahe.

Pengujian Metode Inokulasi pada Buah Pisang

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui metode inokulasi BDB yang dapat menyebabkan gejala penyakit darah pada buah pisang. Percobaan terdiri dari 4 perlakuan dan 3 ulangan, masing – masing perlakuan menggunakan kontrol aquades steril dan diamati setiap hari selama 7 hari

Bakteri BDB yang telah diinkubasikan selama 48 - 72 jam dipanen menggunakan stik gelas L dan dibuat suspensi dalam aquades steril. Suspensi bakteri kemudian disesuaikan hingga konsentrasi 10^9 CFU/ml.

Jenis perlakuan inokulasi adalah sebagai berikut :

- P1: Injeksi satu ml suspensi bakteri menggunakan *syringe* dibagian tengah buah pisang.
- P2: Menusuk di bagian tengah buah pisang menggunakan jarum yang telah dilumuri suspensi bakteri.
- P3: Mengolesi pangkal buah yang telah dipotong dengan pisau steril

dengan suspensi bakteri menggunakan *cotton bud*.

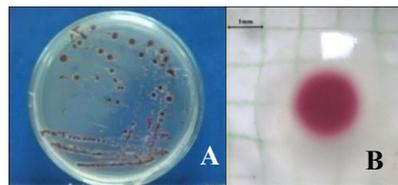
- P4: Penyemprotan suspensi bakteri pada permukaan buah pisang.

Analisis Data

Pada percobaan ketiga, untuk mengetahui perbedaan pengaruh perlakuan, data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji F pada taraf kesalahan 5%. Bila F hitung lebih besar dari F tabel, dilanjutkan menggunakan uji Duncan pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada media TZC, koloni BDB mempunyai ukuran 1- 4 mm, bentuk bulat, permukaan cembung, bagian tengah koloni berwarna merah dengan pinggiran koloni jelas dan bening (Gambar 1). Ciri lain adalah koloni cenderung lengket pada permukaan medium sehingga agak sulit jika diambil menggunakan jarum ose. Selain itu koloni baru terbentuk pada hari ketiga setelah ditumbuhkan pada suhu ruangan. Hal ini sesuai dengan karakter BDB yang dilaporkan peneliti sebelumnya (Asrul, 2008).



Gambar 1. (A). Koloni BDB pada media TZC.;(B) Morfologi koloni tunggal BDB.

Isolat BDB mampu menimbulkan gejala layu 18 hari setelah inokulasi (hsi) pada tanaman pisang varietas Kepok dan tidak mampu menimbulkan gejala pada tanaman jahe setelah

diamati selama 20 hsi. Uji hipersensitif pada daun tanaman tembakau menunjukkan gejala nekrosis pada daun setelah 4 hsi.

Pengujian Metode Inokulasi pada Buah Pisang

Metode inokulasi dengan injeksi suspensi bakteri pada konsentrasi 1×10^9 CFU/ml ke dalam buah pisang (perlakuan P1) mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada satu hari setelah inokulasi (hsi).

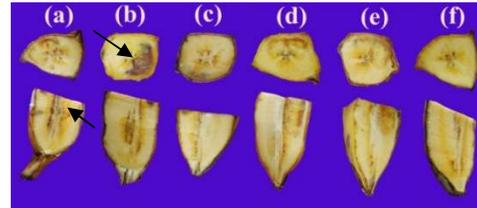
Gejala diawali dengan perubahan warna pada daging buah menjadi kuning kecoklatan dan pada 5 hsi menjadi coklat gelap. Pada 6 hsi mulai muncul bercak berwarna kemerahan pada daging buah pisang.

Metode inokulasi dengan jarum yang telah dilumuri suspensi bakteri (perlakuan P2), tidak menimbulkan gejala kerusakan sampai pada pengamatan 7 hsi. Metode inokulasi dengan pengolesan suspensi bakteri menggunakan *cotton bud* (perlakuan P3) tidak menimbulkan gejala serangan BDB hingga 6 hsi. Pada 7 hsi gejala mulai muncul pada buah pisang berupa perubahan warna menjadi kecoklatan. Pada metode inokulasi penyemprotan suspensi bakteri pada buah pisang (perlakuan P4), hingga 7 hsi tidak menunjukkan gejala serangan BDB pada buah pisang. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode inokulasi dengan injeksi merupakan metode yang lebih efektif dibanding metode yang lain. Selain dapat menyerang pada daging buah, BDB juga mampu menyerang bagian plasenta buah pisang.

Pengujian Beberapa Bakteri Patogen Lain dan BDB pada Buah Pisang

Berdasarkan hasil percobaan pertama, diketahui metode inokulasi yang paling efektif adalah

menggunakan metode injeksi. Pada percobaan kedua, metode injeksi digunakan untuk inokulasi BDB, *Xanthomonas oryzae*, *Erwinia carotovora*, *Pantoea* sp., dan *Ralstonia solanacearum* pada buah pisang.



Gambar 2. Perbandingan gejala pada buah pisang yang disebabkan oleh BDB dan patogen lain. Tanda panah menunjukkan gejala kerusakan. a. (BDB), b. (*R. solanacearum*), c. (*X. oryzae*), d. (*E. carotovora*), e. (*Pantoea* sp.), f. (Aquades).

Seluruh strain bakteri yang diinokulasikan dapat menyebabkan gejala pada buah pisang. *Xanthomonas oryzae*, *Pantoea* sp, *Erwinia carotovora* dan *Ralstonia solanacearum* dapat menimbulkan gejala nekrotik dan perubahan warna pada daging buah. tetapi tidak mampu menimbulkan gejala pada plasenta buah. Sedangkan BDB, selain menimbulkan gejala nekrotik dan perubahan warna menjadi merah pada daging buah juga dapat menimbulkan kerusakan pada bagian plasenta buah. Hasil ini menunjukkan bahwa hanya BDB yang mampu melakukan infeksi dan menyebar pada bagian plasenta buah. Hal tersebut membedakan gejala yang ditimbulkan oleh BDB dengan gejala yang ditimbulkan patogen lain. Menurut Wardiyati (2012, komunikasi pribadi) bagian plasenta merupakan bagian buah pisang yang mempunyai

cadangan makanan paling banyak. BDB dapat menginfeksi dan berkembang pada plasenta buah diduga karena kandungan nutrisi pada plasenta buah pisang sesuai dengan yang dibutuhkan BDB.

Pengaruh Kerapatan Inokulum BDB pada Perkembangan Gejala Penyakit Darah pada Buah Pisang

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa inokulasi dengan kerapatan inokulum BDB yang berbeda berpengaruh nyata terhadap gejala serangan BDB pada plasenta buah pisang (Tabel 2 dan 3). Inokulum BDB dengan kerapatan 10^8 CFU/ml (perlakuan R2) dan 10^9 CFU/ml (perlakuan R1) mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada buah pisang pada hari ketiga dan keenam setelah inokulasi. Sedangkan inokulum BDB dengan kerapatan 10^7 CFU/ml (perlakuan R3) dan kontrol tidak

mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada plasenta buah pisang. Pada hari keenam setelah inokulasi, inokulum BDB dengan kerapatan 10^8 CFU/ml menyebabkan kerusakan sebesar 47,13% sedangkan inokulum BDB dengan kerapatan 10^9 CFU/ml menyebabkan kerusakan sebesar 50%.

Inokulum BDB dengan kerapatan 10^7 CFU/ml tidak mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada buah pisang diduga karena kerapatan inokulum tersebut dibawah ambang minimal untuk menyebabkan gejala penyakit darah pada buah pisang. Selain itu buah pisang yang telah dipotong dari batang utama menyebabkan metabolisme pada jaringan pembuluh xylem dan floem menurun. Hal tersebut menyebabkan inokulum tersebut tidak dapat memperbanyak diri dan menghambat kemampuan inokulum dalam menimbulkan gejala.

Tabel 1. Pengaruh Kerapatan Inokulum BDB Terhadap Perkembangan Gejala Penyakit Darah pada Buah Pisang pada Hari Ketiga Setelah Inokulasi

Perlakuan	Kerusakan plasenta buah pisang (cm)	Proporsi kerusakan plasenta buah pisang (%)
R1	1.07b	12.34b
R2	0.33ab	3.70ab
R3	0.00a	0.00a
R4	0.00a	0.00a

Keterangan : Nilai yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%.

Menurut Baharuddin (1994), inokulasi BDB pada kerapatan 10^4 - 10^8 CFU/ml dengan metode injeksi pada batang tanaman pisang, dapat menimbulkan gejala penyakit darah, sedangkan pada kerapatan populasi 10^0 – 10^3 CFU/ml tidak mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada tanaman pisang. Dengan demikian kerapatan populasi BDB berpengaruh terhadap perkembangan

gejala kerusakan yang ditimbulkan oleh BDB tanaman.

Secara umum hasil penelitian ini menunjukkan bahwa buah pisang dapat digunakan sebagai bahan uji patogenesis BDB. Gejala yang ditimbulkan oleh BDB pada buah

pisang sangat khas yaitu mampu menimbulkan bercak nekrotik berwarna kemerahan baik pada daging buah dan plasenta buah pisang pada hari ketiga sampai hari ketujuh setelah inokulasi. Selain itu hanya BDB yang mampu menginfeksi dan menyebar pada bagian plasenta buah. Hal ini tidak ditemukan pada gejala yang ditimbulkan oleh bakteri patogen lain.

Perbedaan kerapatan inokulum BDB berpengaruh terhadap

perkembangan gejala penyakit darah pada daging dan plasenta buah pisang. Kerapatan inokulum minimum untuk dapat menimbulkan gejala pada buah pisang adalah 10^8 CFU/ml. Hal ini jauh lebih tinggi dibanding kerapatan minimal yang dibutuhkan untuk menimbulkan gejala penyakit darah pada tanaman

pisang dengan metode injeksi pada batang yaitu 10^4 CFU/ml Baharuddin, 1994).

Tabel 2. Pengaruh Kerapatan Inokulum BDB Terhadap Perkembangan Gejala Penyakit Darah pada Buah Pisang pada Hari Keenam Setelah Inokulasi

Perlakuan	Kerusakan plasenta buah pisang (cm)	Proporsi kerusakan plasenta buah pisang (%)
R1	4.50b	50.00b
R2	4.40b	47.13b
R3	0.00a	0.00a
R4	0.00a	0.00a

Keterangan : Nilai yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%.

Kelebihan dari metode inokulasi pada buah pisang adalah waktu yang dibutuhkan cukup singkat yaitu tiga sampai tujuh hari setelah inokulasi untuk menimbulkan gejala, sedangkan pada metode injeksi pada batang tanaman pisang dibutuhkan waktu minimal 18 hari. Bahkan kerapatan inokulum BDB 10^9 CFU/ml mampu menyebabkan gejala pada buah pisang hanya satu hari setelah inokulasi. Hal ini menjadi keuntungan tersendiri dari segi waktu yang dibutuhkan bagi pemulia atau peneliti yang berkaitan dengan penyakit BDB pada tanaman pisang.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Metode inokulasi injeksi dan pengolesan suspensi bakteri

menggunakan *cotton bud* pada buah pisang mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada buah pisang.

2. Metode injeksi pada buah pisang merupakan metode inokulasi yang lebih efektif karena dapat menimbulkan gejala penyakit darah pada hari pertama setelah inokulasi.
3. Kerapatan minimum populasi BDB untuk mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada buah pisang adalah 10^8 cfu/ml.
4. Ciri khas gejala serangan BDB pada buah pisang adalah munculnya bercak kemerahan pada daging buah pisang dan perubahan warna pada plasenta buah pisang menjadi kecoklatan pada 7 hari setelah inokulasi, ciri tersebut berbeda dengan gejala yang ditimbulkan oleh patogen lain yaitu: *Xanthomonas oryzae*, *Pantoea sp* dan *Erwinia*

carotovora, dan *Ralstonia solanacearum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, A. L. 2003. Ilmu Penyakit Tumbuhan 3. Bayumedia. Malang. p 145
- Asrul, 2008. Uji Sensivitas Koloni BDB Terhadap Pemberian Bahan Kimia Secara In Vitro. J. Agroland 15 (3) : 198-203.
- Baharuddin, B. 1994. Pathological, Biochemical, and Serological Characterization of the Blood Disease Bacterium Affecting Banana and Plantain (*Musa* sp.). Molecular Plant Pathology. 84 (6) : 570-575
- Deptan.2012.http://www.deptan.go.id/ditlinhorti/index.php?option=com_content&view=article&id=738%3Aperbanyak-benih-pisangsehat&catid=1%3Aberita&Itemid=161. Diunduh tgl 22 juni 2012
- Eden-Green, S. J 1994. Banana Blood Disease. Musa Disease Fact Sheet No 3. dalam J.H. Daeli, 2009. Induksi Enzim Polifenol Oksidase Tanaman Pisang Kultivar Kepok Sebagai Respon Fisiologis Terhadap Bakteri Penyakit Darah. Skripsi. Universitas Andalas.
- Edy, N.P., Johanis dan Baharuddin. 2008. Karakterisasi Morfologi Patogenesis dan Biokimia Bakteri Penyebab Penyakit Darah pada Pisang di Lembah Palu. J. Agrisains 9(2):65-72.
- Goodman, R.N., Z. Kiraly dan K.R. Wood. 1986. The Biochemistry and Physiology of Plant Disease. p 28-29
- Hadiwiyono. 2010. Penyakit Darah Pada Tanaman Pisang : Infeksi dan Keanekaragaman Genetika Patogen. Disertasi. Jogjakarta . Universitas Gadjah Mada.
- Leiwakabessy, C. 1999. Potensi Beberapa Jenis Serangga dalam Penyebaran Layu Bakteri *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* Yabuuchi et al. Pada Pisang Lampung. Thesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Limbongan, J. 2011. Karakteristik Morfologis dan Anatomis Klon Harapan Tahan Penggerek Buah Kakao sebagai Sumber Bahan Tanam. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan. 31 (1).
- Rustam. 2007. Uji Metode Inokulasi dan Kerapatan Populasi Blood Dosease Bacterium pada Tanaman Pisang. J. Hort. 17 (4):387-392,2007.
- Sequeira,L. 1988. Bacterial Wilt : The Missing Element in International Banana Improvement Programs. In P.H. Prior, C. Allen and J.E Elphinstone, (Eds). Bacterial Wilt Disease, Molecular and Ecological Aspects. Gosier 22-27 Jun. Berlin : INRA. P. 6-14