

## MONOGRAF

# ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BLOOD DISEASE BACTERIUM

*pada Tanaman Pisang yang Terserang  
Patogen Layu Blood Disease Bacterium*

Dr. Ir. Suswati., M.P.



#### Sanksi Pelanggaran Pasal 113

#### Undang-Undang No. 28 Tahun 2014 Tentang Hak Cipta

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
3. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
4. Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp. 4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

## UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 9/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah

3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

*Monograf*

# ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BLOOD DISEASE BACTERIUM

pada Tanaman Pisang yang Terserang Patogen  
Layu Blood Disease Bacterium

**Dr. Ir. Suswati, M.P.**



UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 9/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

**Monograf: Isolasi dan Identifikasi Blood Disease Bacterium pada Tanaman Pisang yang Terserang Patogen Layu Blood Disease Bacterium**

Penulis:

**Dr. Ir. Suswati., M.P.**

Editor:

**Hikmawan Syahpitra, M.A**

Layouter:

**Hikmawan Syahputra, M.A**

Desain Sampul:

**Ananda Rizalni, S.Pd**

Cetakan Pertama; April 2023  
(viii + 104 hlm); 15.5 x 23 cm

ISBN : 978-602-97084-9-3  
E-ISBN : 978-602-97084-8-6 (PDF)

Penerbit:

**CV. Format Publishing**

Alamat:

Kompleks Griya Sei Rotan Syakinah Blok 5  
Jalan Sugeng, Dusun IX, Desa Sei- Rotan- Percut Sei Tuan, Deli Serdang –  
Sumatera Utara

Email: [format.publishing@gmail.com](mailto:format.publishing@gmail.com)

Website: [www.formatpublishing.id](http://www.formatpublishing.id)

Member IKAPI (No.039/SUT/2020)

**HAK CIPTA DILINDUNGI UNDANG-UNDANG**

Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini dengan bentuk dan cara apa pun tanpa izin tertulis dari penerbit

**UNIVERSITAS MEDAN AREA**

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 9/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

## Daftar Isi

Daftar Isi.....	v
Prakata.....	vii
BAB I	
Pendahuluan.....	1
BAB II	
Blood Disease Bacter.....	3
BAB III	
Tanaman Inang Blood Disease Bacterium.....	9
BAB IV	
Gejala Penyakit Darah pada Tanaman Pisang.....	15
BAB V	
Sifat dan Karakteristik Genetik Blood Disease Bacterium.....	21
BAB VI	
Mekanisme Infeksi Blood Disease Bacterium.....	37
BAB VII	
Teknik Isolasi dan Identifikasi pada Tanaman Pisang yang Terserang Patogen Layu BDB.....	41
BAB VIII	
Hasil Isolasi dan Identifikasi pada Tanaman Pisang yang Terserang Patogen Layu BDB.....	57

UNIVERSITAS MEDAN AREA

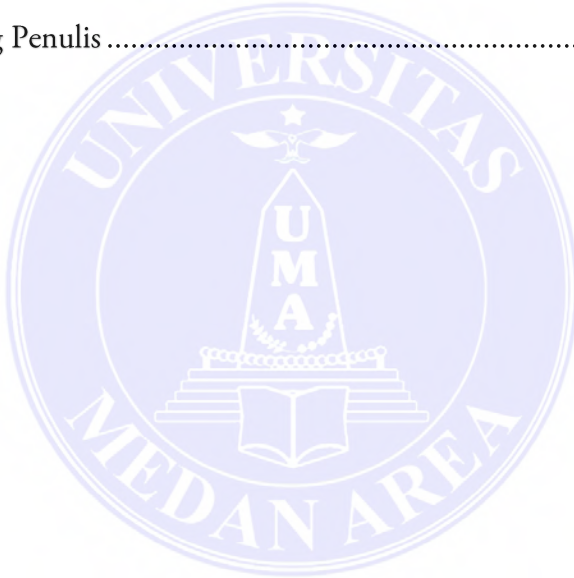
© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 19/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

## BAB IX

Penutup .....	75
Daftar Pustaka.....	79
Glosarium .....	87
Indeks .....	93
Tentang Penulis .....	95



## Prakata

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas tersusunnya monograf dengan judul: “Isolasi dan Identifikasi Blood Disease Bacterium Pada Tanaman Pisang yang Terserang Patogen Layu Bakteri Blood Disease Bacterium”

Monograf ini disusun berdasarkan hasil penelitian dan kajian literatur yang bersumber pada berbagai artikel jurnal Internasional relevan terkait. Buku ini merupakan salah satu luaran penelitian sesuai kompetensi penulis di bidang hama dan penyakit tanaman.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada: Dekan dan Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian atas dukungan moril dan fasilitas yang disediakan bagi kelancaran penelitian dan penyusunan monograf ini.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

Medan, April 2023  
Penulis



UNIVERSITAS MEDAN AREA

viii

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 9/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From (repository.uma.ac.id)9/5/23



## BAB I

# Pendahuluan

Patogen penyakit darah bakteri yang disebabkan oleh Blood Disease Bacterium (BDB) menempati urutan pertama dalam daftar prioritas penyakit pisang yang menyebabkan kehilangan hasil 20-100 % dan kontaminasi lahan. Penyakit tersebut sejak tahun 1980-an hingga sekarang masih mewabah hampir di seluruh daerah sentra produksi pisang di Indonesia (Arwiyanto 1988, Eden-Green et al. 1988, Sumardiono et al. 1997, Kusumoto et al. 2004, dan Supriadi 2005). Pada tahun 2004, jumlah tanaman pisang yang terserang dilaporkan mencapai 2.116.829 rumpun (Departemen Pertanian 2005).

Gejala penyakit darah pada tanaman pisang biasanya ditunjukkan oleh pelepah daun melemah (flaccid) kemudian patah pada bagian pangkalnya sehingga daun terlihat patah menggantung. Warna daun menjadi kuning kemudian nekrosis dan kering. Kulit buah sering tampak normal, kadangkadang ada yang tampak kuning terlalu awal dan menghitam. Kalau buah dipotong, bagian dalam buah kelihatan berwarna merah kecoklatan atau menjadi busuk berlendir (Tjahjono dan EdenGreen 1988, Satari dan Sumarauw 1990, Eden Green dan Sastraatmadja 1990). Pengetahuan metode inokulasi dan kerapatan populasi BDB dalam menimbulkan penyakit pada tanaman pisang adalah cukup penting untuk pemulia tanaman dan ilmuwan penyakit tanaman. Untuk pemulia tanaman,

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 19/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From repository.uma.ac.id/75/23

pengetahuan tersebut berguna dalam menyeleksi (*screening*) ketahanan tanaman pisang terhadap BDB kemudian bagi ilmuwan penyakit tanaman berguna dalam mengetahui karakteristik patogenesisnya.

Kehilangan hasil tersebut diakibatkan oleh faktor yang cukup kompleks dari serangan hama dan penyakit, karena pada tanaman yang menunjukkan gejala sakit/layu/mati, hampir selalu ditemukan beberapa jenis hama (serangga penggerek dan pengunjung bunga) yang berasosiasi dengan tanaman yang terserang penyakit darah. Perkembangan dan penyebaran penyakit ini tergolong sangat cepat dan hingga saat ini semua pertanaman pisang di Indonesia telah terserang. Salah satu penyebab terjadinya distribusi penyakit yang begitu hebat adalah peranan serangga vektor.

Pengembangan tanaman pisang dihadapkan pada tingginya serangan BDB. Hal tersebut 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) tingginya potensi penularan oleh serangga vektor, dan (iii) biaya pengendaliannya relatif mahal serta hanya dapat diimplementasikan dalam areal kerja yang luas.

Tujuan kajian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi blood disease bacterium yang diisolasi dari tanaman pisang yang terserang BDB dengan gejala penguningan daun.

## BAB II

# *Blood Disease Bacter*

Penyakit darah bakteri merupakan salah satu penyakit utama pada tanaman pisang (Sulyo, 1992) dan menempati urutan pertama dalam daftar penyakit pisang di Indonesia (Hermanto, Habazar, Rivai, 2000), bersifat mematikan dan menginfeksi jaringan pembuluh secara sistemik (Eden-Green, 1992). Penyakit ini pertama kali dilaporkan pada tahun 1907 di Kepulauan Selayar (Wardlaw, 1972). Pada tahun 1987 penyakit ini ditemukan di Jakarta Selatan (Eden-Green, 1987) dan pada tahun 1989 menyebar ke berbagai area di Jawa Barat seperti Jonggol (Hartati et al., 1989), Jawa (Subianto et al., 1989; Eden-Green, 1992, Sahlan dan Nurhadi, 1994; Hermanto, 1999). Di Banjar Baru, Minahasa, Maluku Tengah, Jaya Pura (Soenaryono et al., 1989), Muharram dan Subijanto, 1991, Edison et al., 1998), Sumatera Barat (Sahlan dan Nurhadi, 1994), Bali dan Nusa Tenggara Barat (Hermanto dan Setyawati, 2000).

*Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* (BDB) secara historis dideskripsikan dan diberi nama *P. celebensis* pada tahun 1921, tetapi nama tersebut menjadi tidak valid ketika strain tipe aslinya hilang (Gäumann, 1921; Eden-Green, 1994). Jones (2000) mengemukakan bahwa patogen penyakit darah ikut berevolusi dengan pisang. Buddenhagen (2009) bagaimanapun, menunjukkan bahwa ini tidak mungkin karena perbedaan kapan dan di mana penyakit ini pertama kali muncul. Penyakit darah

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 30/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

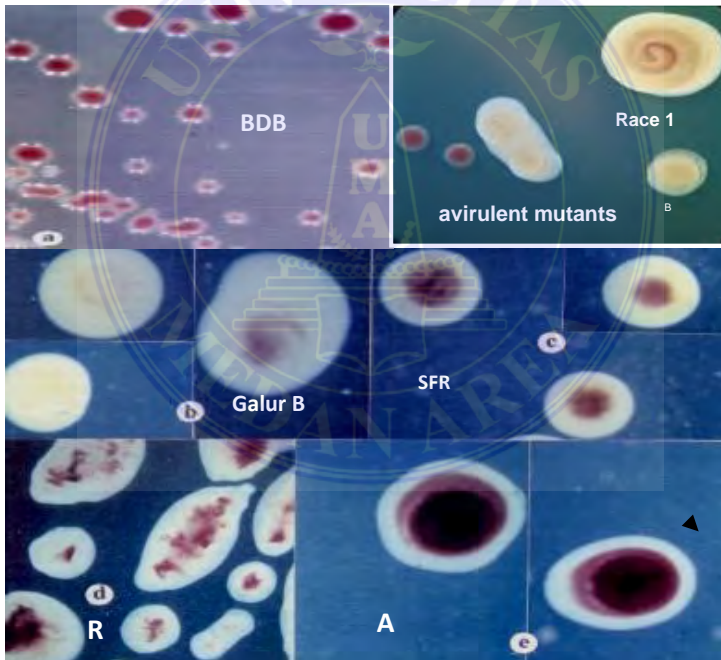
Access From repository.uma.ac.id/75/23

pertama kali diamati di mana pisang liar tidak ditemukan (Rijks, 1916), mendukung dugaan bahwa bakteri tersebut berasal dari spesies tumbuhan lain selain pisang (Buddenhagen, 2009). Koloni strain 'banana blood disease' lebih kecil daripada *R. solanacearum* yang menyebabkan Moko dan tumbuh lambat, non-fluida pada media TZC (*Triphenyl Tetrazolium Chloride*) Kelman (biasanya digunakan untuk *R. solanacearum*) dan memiliki margin halus dengan pusat berwarna merah tua (CAB International, 2014). Analisis genetik, dengan pengelompokan RFLP seluruh genom, perbandingan sekuens DNA ribosom 16s parsial dan analisis produk amplifikasi primer tRNA konsensus, menunjukkan hubungan yang dekat, tetapi jelas berbeda dari strain lain dari kompleks spesies *R. solanacearum* (Seal et al., 1993; Eden-Green, 1994a, b). Analisis genetik mengungkapkan bahwa ada sedikit keragaman di antara strain BDB (Thwaites et al., 1999; Fegan dan Prior, 2006), menunjukkan beberapa peristiwa pengantar dan pendiri serta evolusi terakhir pada pisang (Ploetz et al., 2015).

Bakteri dapat diisolasi dari oose yang terdapat pada kelopak bunga pisang yang lepas dari bunga jantan pisang terineksi atau dari oose berwarna putih, kuning sampai coklat kemerahan dari tangkai buah. Bakteri bersifat gram negatif, berbentuk batang, aerob, katalase positif, oksidase Kovac's positif, poly- $\beta$ -hydroxybutirate positif, uji HR positif, uji oksidatif/fermentatif positif/negatif, tumbuh pada 40C dan 410C, arginin dihydrolase, denitrifikasi, hidrolisa pati, pigmen fluorescens, pigmen melanin, toleransi terhadap NaCl 2% dan produksi Levan (Tabel 2.2). Pada medium TZC yang diinkubasikan pada temperatur 28 0C selama 72 jam, koloni bakteri berukuran 0.5-4.5 mm, tidak beraturan, cembung dan

fluidal dengan atau tanpa pusat formasi merah muda (Soguilon et al., 1995).

Patogen ini mempunyai banyak galur. Galur yang sangat virulen yaitu bakteri yang berasal dari oose pada tanaman sakit yang penularannya dibantu oleh serangga dan diistilahkan galur SFR (small, fluidal and round) berdasarkan pada karakteristik koloni (Buddenhagen and Elasser, 1962). Selanjutnya Stover, 1972 cit . Habazar, 2001 mengelompokkan bakteri ini menjadi 4 galur yaitu D, B, SFR dan H. Karakteristik galur ras 2 dapat dilihat pada Tabel 2.2 dan Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Perbandingan morfologi koloni BDB dan *R. solanacearum* ras 2 galur A, B,R, SFR.

*Keterangan.* a. BDB, b. *R. solanacearum* galur B, c. Galur SFR, d. Galur R, dan e. Galur A dan galur avirulent.

Menurut Baharudin (1994), koloni bakteri pada medium biakan TZC (tripenil tetrazolium chlorida) yang diinkubasi pada temperatur 280C selama 72 jam berukuran 00,5-4,5 mm, tidak beraturan, cembung dan non-fluidal dengan atau tanpa formasi merah muda.

Isolat bakteri tidak patogenik terhadap Solanaceae, tetapi gejala segera terjadi pada penularan mekanis terhadap bonggol atau batang semu pisang pada semua tingkatan umur. Analisis genetik melalui pengelompokan genom RFLP dengan cara membandingkan rangkaian 16S rRNA dan analisis produk amplifikasi primer tRNA mengindikasikan bahwa bakteri penyakit darah sangat berkaitan dengan galur-galur *P.solanacearum*, meskipun masih terdapat beberapa perbedaan. Meskipun belum terdapat kesepakatan diantara ahli-ahli taksonomi bakteri, tatanama bakteri penyebab penyakit layu pisang secara umum adalah sebagai berikut (Goto, 1990; Yabuuchi et al., 1992; Gillis et al., 1995; Yabuuchi et al., 1995 cit Schell, 1996). Kingdom: Prokaryote, Divisi: Gracilicutes Gibbons and Murray, 1978 kelas: Proteobacteria, famili: Pseudomonadaceae Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers and Smith, 1917 dan genus : *Pseudomonas* (=Ralstonia).

Pada media biakan TZC koloni bakteri non-fluidal berukuran lebih kecil dan berkembang lebih lambat (2-4 hari setelah inkubasi), menggunakan dan memproduksi asam. Sifat-sifat fisiologis dan biokimia BDB menurut Baharuddin (1994), bakteri berbentuk batang, aerob, gram negatif, katalase positif, menghasilkan hidrogen sulfat dari cystein.

**Tabel. 2.1**  
 Karakteristik galur BDB dibandingkan dengan *Pseudomonas solanacearum* ras 2

Karakteristik	BDB	<i>P. Solanacearum</i> ras 2	
Reaksi Gram	Negatif	Negatif	
Flagella	-	Pollar > 1	
Oksidase Kovac's	+	+	
Katalase	+	+	
Poly-b-hydroxybutirate	+	+	
Uji HR	+	+	
Uji Oksidatif/fermentif	+/-	+/-	
Pertumbuhan pada 4°C	-	-	
Pertumbuhan pada 41°C	-	-	
Arginin dihidrolase	-	-	
Denitrifikasi	-	-	
Pigmen fluorescens	-	-	
Pigmen Melanin	-	-	
Toleransi NaCl 2%	-	-	
Hidrolisa gelatin	-	+	
Hidrolisa Tween 80	-	+	
Produksi asam dari		Biovar I	Biovar II
Maltosa	+	-	+
Laktosa	-	-	+
Sukrosa	+	+	+
Galaktosa	+	+	+
Mannitol	-	-	+
Sorbitol	-	-	+
Sellobiose	-	-	+
Gliserol	+	+	+

Sumber: (Baharuddin., 1994)

**Tabel. 2.2**  
Karakteristik *R. solanacearum* ras 2

Tipe Galur <sup>a</sup>	Penyebaran <sup>a,b</sup>	Karakteristik <sup>a</sup>	Ekologi <sup>a</sup>	MLG <sup>b,c</sup>
SFR (small fluidal round)	Amerika Tengah, Venezuela, Columbia, Caribia	Small fluidal round,	Sangat patogeni, disebarkan oleh serangga, sangat kecil kemungkinan ditularkan oleh tanah	25,28
B (banana rapid wilt)	Amerika Tengah dan Amerika Selatan, Philiphina	Koloni berbentuk eliptik, besar	Sangat patogenik, kecil kemungkinan disebarkan oleh serangga, tular tanah	24
D (distortion)	Costa Rica, Suriname, Guyana	Koloni berbentuk eliptik, besar	Patogenisitas rendah untuk tanaman pisang segar/ plantain/ heliconia	24, 25
H (Heliconia)	Costa Rica	Koloni berbentuk eliptik, besar	Patogenik terhadap kelompok plantain tetapi tidak patogenik terhadap kelompok pisang segar (banana)	24

Sumber: Fegan and Prior, 2005, <sup>a</sup>. dari Thwaites et al; <sup>b</sup> Fegan and Prior; <sup>c</sup> Cook and Sequeira cit Fegan and Prior, 2005



### BAB III

## *Tanaman Inang Blood Disease Bacterium*

Menurut Fegan dan Prior (2005), patogen ini memiliki inang yang spesifik dan sempit yaitu hanya menyerang tanaman pisang dan tanaman pisang hias seperti *Heliconia collenciana*, *H. revolata*, *Canna indica*, *Asclepias currasiva*, *Steritza reginae*, *Solanum nigrum* dengan tingkat virulensi yang lemah. Menurut Baharuddin (1994), BDB (*R. syzygii* subsp. *celebesensis*) tidak mampu menimbulkan gejala penyakit pada beberapa tanaman yang merupakan inang utama *R. solanacearum*, seperti tomat, buncis, tembakau, cabai, kacang tanah, kentang, dan terung.

Skrining ketahanan varietas pisang terhadap BDB telah dilakukan oleh Hanudin dkk di Bogor dan Sudana dkk di Bali. Hasil pengujian menunjukkan bahwa hampir semua varietas pisang yang ada rentan terhadap BDB. Beberapa varietas menunjukkan sifat agak tahan terhadap BDB (Tabel 1) yang ditunjukkan oleh relatif rendahnya tingkat keparahan penyakit.

**Tabel. 3.1**  
**Pengujian Tingkat Ketahanan Varietas Pisang**  
**Terhadap BDB**

Varietas rentan	Varietas “tahan”
Ambon Lumut, Ambon Jepang, Ambon Putih, Ampyang, Badak, Bangkahulu, Barangan, Emas, Embe, Jambe, Jimbluk, Kepok (Saba), Lilin, Nangka, Raja Sere, Seribu, Siman, Sogit, Siam, Tanduk	Batu (Klutuk), Bancan, Bunting, Bojong, Dak Nangka, Kayu, Ketip, Marga, Kepet, Muli, Papan, Rempeneng, Susu Ketan, Susu, Plepeden, Telur, Udang

BDB hanya menginfeksi pisang dengan gejala layu, sedangkan tomat, terung, dan cabai tidak menunjukkan gejala layu (tetap sehat) sampai 4 minggu setelah inokulasi. Ini menunjukkan bahwa BDB hanya menginfeksi pisang dan tidak menginfeksi tanaman lain

Sejalan dengan penelitian Hanudin dan Sudana, penelitian yang dilakukan oleh INIBAP, Nasution, Pasberg-Gauhl dan Lehmann-Danzinger menunjukkan bahwa tidak ada tanaman pisang yang tahan terhadap BDB. Beberapa varietas pisang memiliki respon yang berbeda terhadap BDB dilihat dari waktu yang diperlukan mulai dari inkubasi sampai muncul gejala layu pertama dan seluruh daun nekrosis (Tabel 3.2).

**Tabel. 3.2**  
Respon beberapa varietas pisang terhadap BDB

Type	Genom	Spesies/ Cultivar	Lamanya waktu (hari) yang diperlukan mulai dari inkubasi sampai		Reaksi
			Muncul gejala layu pertama	Seluruh daun nekrosis	
Wild Banana		M. ornata	9	14	S
		M. acuminata var. Bantamensis	10	16	S
	BB	M. balbisiana	8	16	S
		M. acuminata var nakii	10	17	S
		M. salaciensis	9	16	S
	AB	Ney poovan	10	21	S
Desert Banana	AA	Pisang mas	9	18	S
		Pisang bawang	10	22	S
	AAA	Pisang ambon	10	24	S
		Gran nain	12	23	S
		Petit nain	11	23	S
		Valery	11	20	S
		Gros Michael	12	24	S
		Pisang susu	13	21	S
		Pisang langsung	13	22	S
	AAAA	IC2	15	27	S
Plan- tain	AAB	Pisang raja	14	25	S
		Pisang sutera	14	26	S
		Laknau	11	24	S
		Curare	10	24	S
	ABA	Chato	11	20	S
		Pisang kapok	10	23	S
	ABB	Pelipita	16	27	S
	BBB	Saba	17	35	S
ABBB	Klue teparot	16	30	S	

Hasil survei Muharam *et al.* (1992) menunjukkan bahwa di Jawa Barat, Pisang Ambon Putih paling rentan terhadap penyakit darah sedangkan di Sulawesi Selatan, Pisang Kepok paling umum dijumpai terserang. Hasil pengamatan Rustam tahun 2002 di Kabupaten Indragiri Hulu Riau dan tahun 2003/2004 di beberapa daerah pertanaman pisang di Bogor menunjukkan bahwa pisang kepok juga paling umum terserang penyebab penyakit darah. Pengujian Baharuddin (1994) terhadap 20 spesies tanaman menunjukkan bahwa BDB memiliki kisaran inang yang lebih luas. Selain pada pisang, BDB mampu menimbulkan gejala penyakit pada *Heliconia collinsiana*, *H. revolata*, *Strelitzia reginae*, *Canna indica*, *Solanum nigrum*, dan *Asclepias currasiva*, tetapi tidak mampu menimbulkan gejala penyakit pada beberapa tanaman yang merupakan inang utama *R. solanacearum*, seperti tomat, buncis, tembakau, cabai, kacang tanah, kentang, dan terung.



Gambar 3.1: Pisangan Bali (*Heliconia collinsiana*)

Sumber: [https://en.wikipedia.org/wiki/Heliconia\\_collinsiana](https://en.wikipedia.org/wiki/Heliconia_collinsiana)



Gambar 14. *Strelitzia reginae* (Bird of Paradise).

Sumber:[https://en.wikipedia.org/wiki/Strelitzia\\_reginae#/media/File:Bird\\_of\\_Paradise\\_flower.JPG](https://en.wikipedia.org/wiki/Strelitzia_reginae#/media/File:Bird_of_Paradise_flower.JPG)



Gambar 15. *Canna indica*.

Sumber:[https://www.wikipedia.org/wiki/Bunga\\_rasbih/media/Berkas:Bunga\\_rasbih\\_\(12\).jpg](https://www.wikipedia.org/wiki/Bunga_rasbih/media/Berkas:Bunga_rasbih_(12).jpg)



Gambar 16. *Solanum nigrum*.

Sumber:<https://www.indiamart.com/proddetail/solanum-nigrum-extract-makoi-extract-16684056088.html>



Gambar 17. *Asclepias currasiva*.

Sumber: <https://pondplantsofamerica.com/products/mexican-butterfly-plant>

Dikin *et al.* (1997) melaporkan bahwa isolat bakteri *P. solanacearum* yang berasal dari pisang di Lampung dapat menyerang tanaman pisang, heliconia, dan jahe. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang ditemukan di Lampung agak berbeda dengan yang ditemukan sebelumnya di tempat lain. Meskipun demikian, belum diketahui apakah isolat bakteri layu yang ada di Lampung juga dapat menyerang jenis-jenis tanaman lainnya. Semua jenis pisang (*Musa*) dapat menjadi inang utama dari BDB, terutama pisang olahan (ABB). Bakteri patogen ini menyebabkan kerusakan besar pada berbagai jenis pisang seperti Pisang Ambon, Pisang Nangka, Pisang Mas, Pisang Raja, dan Pisang Kepok di Indonesia (Eden-Green, 1994, Supriadi 2005, Rustam, 2007). Semua bagian dari tanaman pisang dapat diserangnya, seperti daun, akar, batang, bunga dan buah. Sampai saat ini belum ada satu jenis pisangpun yang tahan terhadap BDB (Mackie *et al.*, 2007).

## BAB IV

# *Gejala Penyakit Darah pada Tanaman Pisang*

Gejala tanaman pisang yang terserang BDB dapat dideteksi dari ciri luar (visual) maupun bagian dalam dari organ tanaman (Supriadi, 2005). Secara visual bagian tulang dan tangkai daun menjadi layu, tangkai daun rontok, daun muda mulai menguning, kemudian menjadi nekrotik dan kering, sedangkan bentuk buah dari luar masih tampak normal. Keadaan ini dapat berlangsung lama sampai buah hampir menyelesaikan proses pemasakan, setelah itu semua daun mendadak menguning, layu dan menjadi coklat, bunga jantan menjadi kerut dan pada akhirnya tanaman seluruhnya menjadi layu dan mati.

Gejala internal yaitu jaringan vaskular berwarna coklat yang tampak sepanjang batang sampai masuk ke bonggol dan akar tanaman. Pada tanaman yang terserang, jika bagian bonggol batang bila dipotong, akan keluar cairan seperti lendir yang berwarna coklat kemerahan, sedangkan pada buah yang terinfeksi, ruang bagian dalam buah yang biasanya berisi daging buah, penuh terisi oleh cairan lendir yang berwarna merah kecoklatan (Supriadi, 2005). Cairan lendir ini merupakan ooze bakteri yang warnanya mirip seperti darah sehingga penyakit ini

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 15/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From repository.uma.ac.id 15/5/23

disebut sebagai penyakit darah. Gejala penyakit darah pisang dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1. Area penelitian dan lokasi pengambilan sampel tanaman pisang dan serangga di lahan endemik  
(Sumber: Suswati Dokumentasi)

Keterangan :

A dan C : Lokasi di dataran tinggi Tabek Panjang,

B : Lokasi dataran rendah Pasar Usang, Sumatera Barat.

Gejala penyakit darah pada tanaman pisang ditunjukkan oleh pelepas 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) .

Bunga jantan bisa menjadi keriput. Buah dari tanaman yang terserang BDB menjadi hitam pada ujungnya atau matang sebelum waktunya. Namun buah juga sering tidak menunjukkan gejala dari luar. Buah tetap berwarna hijau segar, tetapi bila buah dipotong daging buahnya akan mengeluarkan lendir (ooze) bakteri yang berwarna coklat kemerahan menyerupai darah seperti gejala pada batang (Gambar 4.2).



Gambar 4.2. Perkembangan gejala serangan BDB pada Bunga tanaman pisang Kepok di lahan endemik

Gejala yang lebih spesifik pada penyakit ini terdapatnya lendir bakteri yang berwarna putih abu-abu sampai coklat kemerahan keluar dari potongan buah atau bonggol tanaman pisang (Tjahjono and Eden-Green., 1988; Muharam dan Subijanto., 1991; Baharuddin., 1994). Apabila bonggol di belah melintang maka akan tampak bercak berwarna kuning pucat sampai coklat gelap atau biru kehitaman. Bercak-bercak berwarna cenderung menuju ke bagian tengah bonggol. Secara internal, bercak pembuluh berwarna coklat bisa diamati pada tangkai buah, tangkai tandan, pseudostem dan buah. Gejala yang paling khas adalah terjadinya pembusukan daging buah sehingga terjadinya perubahan warna kuning sampai coklat kemerahan (Gambar 4.3).



Gambar 4.3. Perkembangan gejala serangan BDB pada tanaman pisang Kepok di lahan endemik Tabek Panjang. A, B, C : Tipe 1; D: Tipe 2 dan E: Tipe 3. A = gejala pada fase vegetatif; B, D, E, F, G = gejala pada fase generatif, G = gejala pada buah yang penularannya oleh serangga. Eksudat bakteri (arah panah). Sumber :

Suswati/Dokumentasi Pribadi

Gejala yang lebih spesifik yaitu terdapatnya lendir bakteri dan berwarna putih abu-abu sampai coklat kemerahan keluar dari potongan buah atau bonggol tanaman pisang (Tjahjono and Eden-Green., 1988; Muharam dan Subijanto., 1991; Baharuddin., 1994). Pada kasus lain apabila buah dipotong melintang maka bagian dalamnya keras dan busuk kering, tandan pisang membusuk dan berwarna hitam (Tjahjono dan Eden-Green, 1988; Muharram dan Subijanto) (Gambar 4.4).



Gambar 4.4. Gejala serangan BDB pada berbagai jenis buah pisang

Gejala dalam dapat diamati apabila bonggol di belah melintang maka akan tampak bercak berwarna kuning pucat sampai coklat gelap atau biru kehitaman. Bercak-bercak berwarna cenderung menuju ke bagian tengah bonggol. 1991; Baharuddin, 1994). Gejala khas yang ditemukan pada buah yang terserang di lahan endemik BDB Tabek Panjang adalah keluarnya tetesan ooze bakteri berwarna putih abu-abu, kuning

sampai coklat kehitaman disebabkan karena kulit buah mengalami kebocoran, apabila buah ditekan maka akan keluar cairan kuning kecoklatan (Suswati et al, 2008). Secara internal bercak pembuluh berwarna coklat bisa diamati pada tangkai buah, tangkai tandan, pseudostem dan buah.

Seringkali tanaman yang terinfeksi masih tampak normal dari luar, daun-daun masih hijau dan buah kelihatan berkembang normal. Hal ini memperbesar peluang penyebaran penyakit melalui distribusi buah hasil panen keluar daerah endemis (Hermanto et al., 1998).

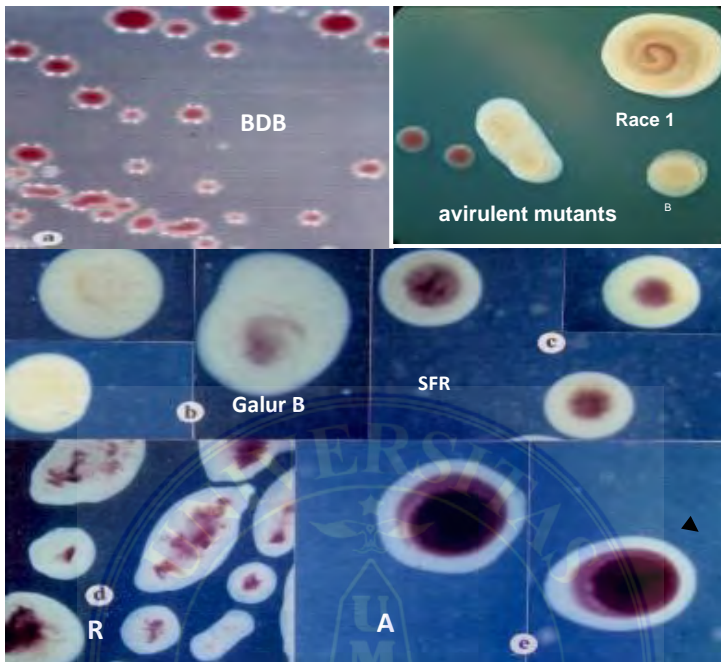


## BAB V

# ***Sifat dan Karakteristik Genetik Blood Disease Bacterium***

### **A. Sifat Morfologi BDB**

Menurut Baharudin, (1994), koloni bakteri pada medium biakan TTC (*tripenil tetrazolium chlorida*) yang diinkubasi pada temperatur 28°C selama 72 jam berukuran 00,5-4,5 mm, tidak beraturan, cembung dan *non-fluidal* dengan atau tanpa formasi merah muda. Pada media biakan TTC koloni bakteri non-fluial berukuran lebih kecil dan berkembang lebih lambat (2-4 hari setelah inkubasi. Pada medium TTC yang diinkubasikan pada temperatur 28°C selama 72 jam, koloni bakteri berukuran 0.5-4.5 mm, tidak beraturan, cembung dan fluidal dengan atau tanpa pusat formasi merah muda (Gambar 5.1) (Soguilon *et al.*, 1995). Koloni BDB pada medium yang mengandung TZC berukuran kecil, agak lengket, merah di tengah dan putih di bagian pinggirnya. Sel BDB selalu nonmotil.



Gambar 5.1. Perbandingan morfologi koloni BDB dan *R. solanacearum* ras 2 galur A, B,R, SFR

Keterangan:

- a. BDB
- b. *R. solanacearum* galur B.
- c. Galur SFR.
- d. Galur R, dan
- e. Galur A dan galur avirulent.

## B. Sifat Fisiologis BDB

Bakteri bersifat gram negatif, berbentuk batang, aerob, katalase positif, menghasilkan hidrogen sulfida dari *cystein* dan menampakkan reaksi hypersensitif pada tembakau. Isolat bakteri tidak patogenik terhadap Solanaceae, tetapi gejala segera terjadi

pada penularan mekanis terhadap bonggol atau batang semu pisang pada semua tingkatan umur. Analisis genetik melalui pengelompokan genom RFLP dengan cara membandingkan rangkaian 16S rRNA dan analisis produk amplifikasi primer tRNA mengindikasikan bahwa bakteri penyakit darah sangat berkaitan dengan galur-galur *P.solanacearum*, meskipun masih terdapat beberapa perbedaan. Meskipun belum terdapat kesepakatan diantara ahli-ahli taksonomi bakteri, tatanama bakteri penyebab penyakit layu pisang secara umum adalah sebagai berikut (Goto, 1990; Yabuuchi *et al.*, 1992; Gillis *et al.*, 1995; Yabuuchi *et al.*, 1995 *cit* Schell, 1996).

BDB menggunakan dan memproduksi asam. Sifat-sifat fisiologis dan biokimia BDB menurut Baharuddin (1994), bakteri aerob, gram negatif, katalase positif, menghasilkan hidrogen sulfat dari cystein, oksidase *Kovac's* positif, poly-b-hydroxybutirate positif, uji HR positif, uji oksidatif/fermentatif positif/negatif, tumbuh pada 4°C dan 41°C, arginin dihidrolase, denitrifikasi, hidrolisa pati, pigmen fluorescens, pigmen melanin, toleransi terhadap NaCl 2% dan produksi Levan (Tabel 5.1).

**Tabel. 5.1**  
Karakteristik *R. solanacearum* ras 2

Tipe Galur <sup>a</sup>	Penyebaran <sup>a,b</sup>	Karakteristik <sup>a</sup>	Ekologi <sup>a</sup>	MLG <sub>b,c</sub>
SFR (small fluidal round)	Amerika Tengah, Venezuela, Columbia, Caribia	Small fluidal round,	Sangat patogeni, disebarkan oleh serangga, sangat kecil kemung-kinan ditularkan oleh tanah	25,28
B (banana rapid wilt)	Amerika Tengah dan Amerika Selatan, Philipina	Koloni berbentuk elliptik, besar	Sangat patogenik, kecil kemung-kinan disebarkan oleh serangga, tular tanah	24
D (distortion)	Costa Rica, Suriname, Guyana	Koloni berbentuk elliptik, besar	Patogenisitas rendah untuk tanaman pisang segar/ plantain/ heliconia	24, 25
H (Heliconia)	Costa Rica	Koloni berbentuk elliptik, besar	Patogenik terhadap kelompok plantain tetapi tidak patogenik terhadap kelompok pisang segar (banana)	24

Sumber: Fegan and Prior, 2005, <sup>a</sup>. dari Thwaites et al; <sup>b</sup> Fegan and Prior; <sup>c</sup> Cook and Sequeira cit Fegan and Prior, 2005

Patogen ini mempunyai banyak galur. Galur yang sangat virulen yaitu bakteri yang berasal dari oose pada tanaman sakit yang penularannya dibantu oleh serangga dan diistilahkan galur SFR (*small, fluidal and round*) berdasarkan pada karakteristik koloni (Buddenhagen and Elasser, 1962). Selanjutnya Stover, 1972 *cit*. Habazar, 2001 mengelompokkan bakteri ini menjadi 4 galur yaitu D, B, SFR dan H. Karakteristik galur ras 2 dapat dilihat pada Tabel 5.2.



**Tabel. 5.2**  
Karakteristik galur BDB dibandingkan dengan *Pseudomonas solanacearum* ras 2 (Baharuddin., 1994)

Karakteristik	BDB	<i>P.Solanacearum</i> ras 2	
Reaksi Gram	Negatif	Negatif	
Flagella	-	Pollar > 1	
Oksidase Kovac's	+	+	
Katalase	+	+	
Poly-b-hydroxybutirate	+	+	
Uji HR	+	+	
Uji Oksidatif/fermentif	+/-	+/-	
Pertumbuhan pada 4 <sup>o</sup> C	-	-	
Pertumbuhan pada 41 <sup>o</sup> C	-	-	
Arginin dihidrolase	-	-	
Denitrifikasi	-	-	
Pigmen fluorescens	-	-	
Pigmen Melanin	-	-	
Toleransi NaCl 2%	-	-	
Hidrolisa gelatin	-	+	
Hidrolisa Tween 80	-	+	
Produksi asam dari		Biovar I	Biovar II
Maltosa	+	-	+
Laktosa	-	-	+
Sukrosa	+	+	+
Galaktosa	+	+	+
Mannitol	-	-	+
Sorbitol	-	-	+
Sellobiose	-	-	+
Gliserol	+	+	+

Roberts et al. (1990) dan Baharuddin et al. (1994) telah membuktikan bahwa strain BDB dan *R. syzygii* memiliki DNA yang homolog pada uji serologi dan menunjukkan sidik jari dengan tingkat similaritas yang tinggi melalui uji Polymerase Chain Reaction dengan amplifikasi menggunakan primer tRNA (Seal et al., 1992b). Analisis filogenetik menggunakan 16S

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 09/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber

2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah

3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From repository.uma.ac.id 09/5/23

rDNA, poligalaktu ronase, dan endoglukanase (Seal et al., 1994; Thagayi et al., 1996; Fegan et al., 1998) lebih menegaskan bahwa BDB dan *R. syzygii* dapat diklasifikasi kembali ke dalam genus *Ralstonia*. BDB dan *R. syzygii* dapat dengan mudah dibedakan dari isolat *R. solanacearum* berdasarkan kisaran inangnya, perbedaan morfologi bakteri, sifat fisiologi jika dikulturkan (Eden-Green, 1994), dan kespesifikan fragmen DNA *R. solanacearum* dengan metode Polymerase Chain Reaction (Seal et al., 1992a). Analisis filogenetik berdasarkan 16S-23S (Internal Transcribed Spacer, ITS), endoglukanase dan urutan DNA gen mutS, menggolongkan BDB dalam filotipe IV, sedangkan *Ralstonia solanacearum* ras 2 digolongkan dalam filotipe II (Fegan & Prior, 2005).

**Tabel. 5.3**

Identifikasi isolat Bakteri asal Pisang Kepok dari berbagai lokasi pertanaman pisang Kepok di Indonesia

No	Kode	Daerah Asal Isolat	Varietas Inang
1	Slk-31	Solok, Sumatera Utara	Kepok
2	Slk-33	Solok, Sumatera Utara	Kepok
3	Lpg-29	Lampung	Kepok
4	Sln-03	Sleman, D.I. Yogyakarta	Kepok
5	Btl-11	Bantul, D.I. Yogyakarta	Kepok
6	Skh-06	Sukoharjo, Jawa Tengah	Kepok
7	Pwr-07	Purworejo, Jawa Tengah	Kepok
8	Sal-48	Salaman, Jawa Tengah	Kepok
9	Byl-35	Boyolali, Jawa Tengah	Raja Bandung
10	Klt-34	Klaten, Jawa Tengah	Kepok
11	Bal-50-	Tabanan, Bali	Kepok
12	Plu-32	Palu, Sulawesi Tengah	Kepok
13	Mks-51	Makassar, Sulawesi Selatan	Kepok
14	Mksr-52	Makassar, Sulawesi Selatan	Kepok

15	Btp-22	Batu Putih, Sulawesi Selatan	Ambon
16	Lmp-28	Lompo, Sulawesi Selatan	Kepok
17	Mdo-53	Manado, Sulawesi Utara	Kepok
18	Bpn-46	Tritip, Balikpapan, Kalimantan Timur	Kepok
19	Bpn-47	Tritip, Balikpapan, Kalimantan Timur	Kepok
20	Bpn-44	Karang Juang, Balikpapan, Kalimantan Timur	Kepok
21	Smerd-45	Samarinda, Kalimantan Timur	Kepok

Deteksi BDB dengan *Polymerase Chain Reaction*. Hasil polimerasi dengan primer 121F dan 121R, primer spesifik untuk deteksi BDB pada pisang di Indonesia menunjukkan bahwa semua isolat (21) positif sebagai BDB yang ditunjukkan dengan terbentuknya fragmen DNA dengan ukuran 317 pb.



Gambar 5.2. Amplikasi DNA genom BDB dengan PCR menggunakan primer 121F dan 121R menunjukkan seluruh isolat positif sebagai bakteri penyebab penyakit

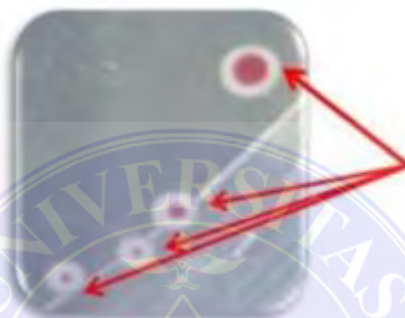
Keterangan:

- 1) Slk-31, 2) Slk-33, 3) Lpg-29, 4. Sln-03, 5. Btl-11, 6. Skh-06, 7. Pwr- 07, 8. Sal-48, 9. Byl-35, 10. Klt-34, 11. Bal-50, 12. Plu-32, 13. Mks-52, 14. Mkasr-51, 15. Btp-22, 16. Lmp-28, 17. Mdo-53, 18. Bpn-46, 19. Bpn-47, 20. Bpn-44, 21. Smerd-45
- K. Kontrol (R. solanacearum isolate tembakau)

Primer tersebut dikembangkan dari hasil klon DNA genom BDB yang dibandingkan dengan DNA genom *Ralstonia solanacearum* lalu diidentifikasi dengan metode substractive hybridization. Meskipun sekuen yang diperoleh tidak sesuai dengan data base Bank Gen, akan tetapi hasil uji pada banyak strain BDB menunjukkan hasil positif sedangkan pada *R. solanacearum* menunjukkan hasil negatif. Spesifikasi urutan basa DNA primer 121F dan 121R mampu mengenali BDB pada total genom DNA-nya. Hasil polimerasi menunjukkan bahwa primer spesifik tersebut hanya mampu mengamplifikasi fragmen DNA BDB dan tidak mengamplifikasi fragmen DNA *R. solanacearum* isolat tembakau. Sekalipun kedua jenis bakteri tersebut tergolong dalam satu genus *Ralstonia*, akan tetapi pencirian khusus yang dimiliki oleh BDB pada fragmen DNA-nya akan menjadi faktor identitas utama sekaligus menjadi karakter pembeda dengan bakteri yang lain.

Gejala yang ditimbulkan sangat mirip dengan gejala penyakit Moko di Amerika Latin yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* ras 2 (Sequeira, 1997). *R. syzygii subsp. celebesensis* termasuk kelompok bakteri Gram negatif, selnya berbentuk batang, dan berukuran sekitar 0.5 x 1.0–1.5  $\mu\text{m}$ . Pada medium *tetrazolium chloride* (TZC), morfologi koloninya berbentuk bulat, berukuran kecil (diameter 0.5-2.0 mm), pinggirannya koloninya putih, dengan bagian tengahnya berwarna merah (Gambar 27). Ciri yang lainnya adalah koloninya cenderung lengket pada permukaan medium TZC sehingga agak sulit kalau diambil dengan jarum ose (Fegan & Prior, 2005). *R. syzygii subsp. celebesensis* dapat berkembang optimum pada kondisi suhu udara yang relatif tinggi yaitu 24-35°C, kelembaban tanah tinggi

dan lingkungan tanah dengan pH 5.0-5.5 (Elhottova, et al., 2006). Menurut Hadiwiyono (2011), bakteri ini dapat bertahan hidup pada jaringan tanaman inang dan juga dapat bertahan hidup selama 5-18 bulan di dalam tanah tanpa tanaman inang di atasnya dan tanpa kehilangan virulensinya.



Gambar 5.3. Morfologi koloni tunggal BDB (*R. syzygii* subsp. *celebesensis*) dengan berbagai ukuran diameter pada permukaan media TZC (Sumber: Aisyah, et al., 2017)

Pada medium TTC, koloni bakteri penyebab penyakit darah pada tanaman pisang baru dapat diamati pada hari ketiga sampai keempat setelah isolasi. Pada umur tersebut ukuran koloni bervariasi dari satu sampai lima milimeter, berbentuk bulat dengan titik merah di tengah yang dikelilingi oleh lendir putih susu, dengan variasi intensitas warna dari merah muda sampai merah tua, selain itu ditemukan juga koloni yang seluruhnya berwarna merah tua dan bakteri kontaminan yang berwarna putih kotor (Gambar 5.4 a,b,c). Karakter bakteri yang diisolasi dari bagian batang (atas, tengah dan bawah) memiliki bentuk, ukuran dan warna yang sama demikian juga bakteri yang diisolasi dari bagian buah (sisir 1, sisir 3, sisir 5 dan sisir 7) serta di bagian jantung dan tandan. Selain koloni BDB juga ditemukan koloni lain yang berwarna kuning dengan lendir bening dibagian pinggir (Gambar 5.14d). Bakteri ini dapat diisolasi dari

semua bagian jaringan tanaman, dimana populasinya tertinggi ditemukan di buah dan terendah dibagian tanah.

Ukuran dan warna koloni bakteri berkaitan erat dengan strain patogen (Wardlaw, 1972) dimana strain-strain virulen biasanya memiliki warna koloni yang lebih muda. Jumlah koloni yang teramati akan konstan pada hari ke enam dan ke tujuh. Populasi bakteri ditemukan dalam jumlah tinggi pada setiap jaringan tanaman dengan gejala penguningan daun (Tabel 5.4).

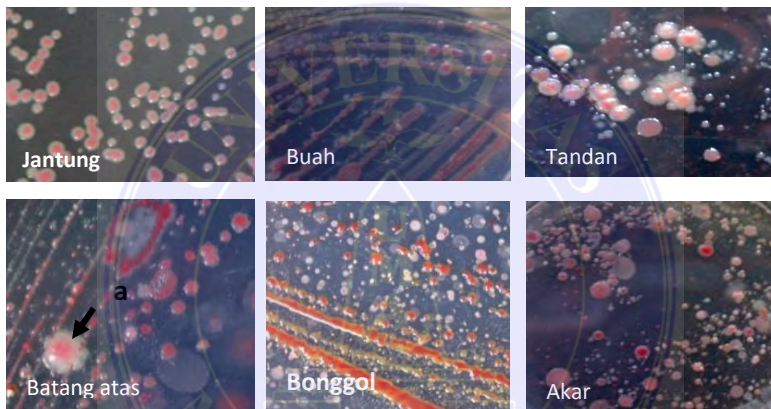
**Tabel. 5.4**

Jumlah bakteri penyebab penyakit layu pada tanaman pisang dengan gejala penguningan daun

Jaringan Tanaman	Populasi bakteri (upk/ml)
Jantung	40 x10 <sup>11</sup>
Sisir 7	29 x10 <sup>11</sup>
Sisir 5	52 x10 <sup>11</sup>
Sisir 3	61 x10 <sup>11</sup>
Sisir 1	48 x10 <sup>11</sup>
Tandan	63 x10 <sup>11</sup>
Batang semu atas	60 x10 <sup>11</sup>
Batang semu tengah	57 x10 <sup>11</sup>
Batang semu bawah	54 x10 <sup>11</sup>
Bonggol	43 x10 <sup>11</sup>
Akar	34 x10 <sup>11</sup>
Tanah	10 x10 <sup>11</sup>

Konsentrasi bakteri tertinggi ditemukan pada bagian bunga jantan (jantung) dan bagian batang dan terendah di dalam akar. Berdasarkan data tersebut diduga penularan penyakit pada tanaman sampel terjadi melalui bunga oleh serangga pengujung bunga. Dugaan ini didasarkan pada asumsi bahwa populasi bakteri tertinggi akan berbanding lurus dengan jarak dari sumber

infeksi. Nomor sandi buah (sisir 1,3,5 dan 7) merupakan urutan sisir pertama dari pangkal ke ujung. Tidak adanya perbedaan populasi menyolok antar nomor buah mengindikasikan bahwa penularan penyakit dapat terjadi melalui semua bagian bunga betina. Keberadaan bakteri dalam jumlah tinggi juga ditemukan dalam bunga jantan. Hal ini menandakan bahwa penularan bakteri oleh serangga dapat terjadi melalui bunga betina dan bunga jantan.



Gambar 5.4. Variasi koloni isolat bakteri pada tanaman pisang dengan gejala penguningan daun (sumber: Mairawita et al, 2012)

Keterangan:

- A. Koloni 1,
- B. Koloni 2,
- C. Koloni 3.

Secara morfologi, BDB hampir mirip dengan *R. solanacearum* (umumnya penyebab layu bakteri), tetapi terdapat perbedaan dalam hal ketidakmampuan patogen penyakit darah dalam mereduksi nitrat menjadi nitrit dan menghidrolisis gelatin (Baharuddin 1994), serta kemampuan BDB dalam menimbulkan reaksi lisogeni pada pengujian bakteriofage (Supriadi 2003). Kultur dan reaksi biokimia BDB juga berbeda

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 19/5/23

- 1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
- 2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
- 3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

dengan *R. solanacearum* (Tabel 6). Perbedaannya antara lain koloni BDB berukuran kecil dan tidak berfluida pada medium *Tetrazolium Chloride* (TZC). BDB tidak mampu mengoksidasi glukosa, sukrosa, manosa, dan ribosa, tetapi mampu mengoksidasi galaktosa, dan gliserol (Eden-Green 1994; Eden-Green et al. 1998). Thwaites et al. (1998) menyatakan bahwa BDB pada pisang berbeda dengan *R. solanacearum*, tetapi berkerabat dekat dengan *Pseudomonas syzygii* penyebab penyakit pada tanaman cengkeh.

**Tabel. 5.5**

Karakter bakteri (sifat morfologi dan fisiologi) penyebab penyakit layu pisang di dataran tinggi Tabek Panjang, Kecamatan Baso, Kabupaten Agam, Sumatera Barat.

Sifat morfologi dan fisiologi	Ciri-ciri
Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda
Bentuk sel	Batang
Reaksi Gram	-
Pigmen fluorescens	-
Pektinase	+
Kovac's oksidase	+
Uji HR	+
Uji patogenisitas	+

*R. solanacearum* menghasilkan beberapa senyawa yang mempengaruhi faktor virulensi, yaitu senyawa extracellular polysaccharide (EPS) dan konsorsium enzim pengurai dinding sel tanaman seperti endoglucanase (EG) dan polygalacturonase (PG). Perbedaan dalam produksi EPS dan EG menyebabkan



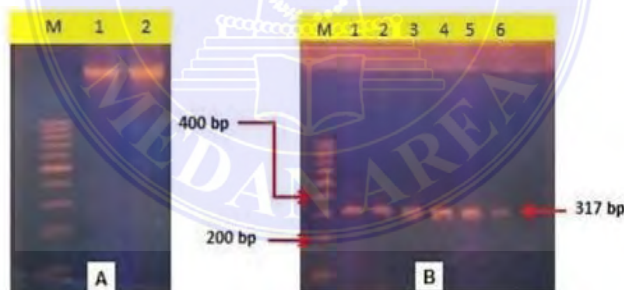
virulensi berkurang (Denny & Baek, 1991; Kao et al., 1992; Roberts et al., 1988), tetapi peran yang tepat dari factor-faktor ini dalam pengembangan penyakit belum diketahui. Sebuah penelitian terkini tentang invasi akar tomat dan kolonisasi batang oleh mutan *R. solanacearum* dalam produksi EG dan EPS I (EPS dengan massa molekul asam tinggi) menemukan bahwa baik EPS I maupun EG tidak diperlukan untuk invasi akar (Saile et al., 1997). Namun, EPS I dan EG diperlukan untuk kolonisasi batang secara cepat oleh *R. solanacearum*. EPS I juga memfasilitasi penyebaran bakteri di dalam batang tomat (Saile et al., 1997). Virulensi *R. solanacearum* tergantung pada konsorsium faktor virulensi yang besar, termasuk enzim penghancur dinding sel tanaman yang disekresikan, zat polimer ekstraseluler, dan puluhan efektor tipe III (Deslandes & Genin, 2014).

*R. solanacearum* dapat berkembang dalam sistem vaskular tanaman tanpa menyebabkan penyakit (Hayward, 1991; Elphinstone, 1996; Swanson et al., 2007). Meskipun infeksi laten secara epidemiologis penting, sifat-sifat yang diperlukan untuk membangun dan mempertahankan populasi bakteri dalam inang tanpa gejala belum dapat dipahami (Prior et al., 1998). *R. solanacearum* adalah fitobakteri yang memiliki kemampuan untuk bertahan dan berkembang di lingkungan dengan tidak adanya inang, dan dapat dengan cepat mengambil keuntungan saat inangnya muncul (Morris et al., 2009; Takikawa, 2012). Sebagai saprofit mereka dapat bertahan hidup selama bertahun-tahun di tanah (Graham & Lloyd, 1979) dan di aliran air (Elphinstone, 2005).

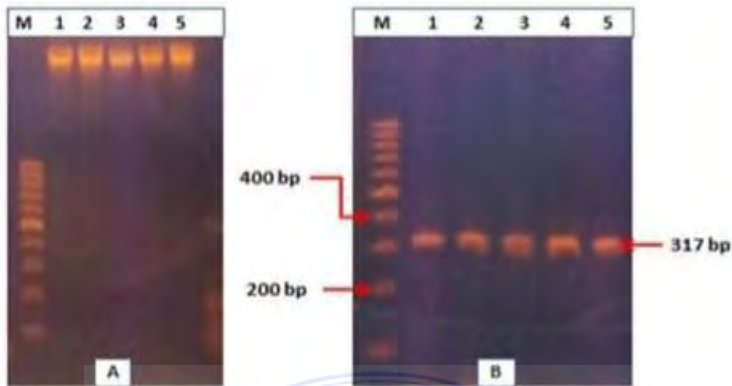
*R. solanacearum* dilaporkan mampu bertahan hidup di lingkungan ini dalam bentuk yang layak tetapi tidak dapat dibiakkan (Xu et al., 1982), sebuah mekanisme yang digunakan untuk mengatasi kondisi lingkungan yang merugikan (Gray & Steck, 2001). Materi perbanyak tanaman yang terinfeksi laten, misalnya, kentang, pisang, dan geranium, diyakini merupakan rute utama penyebaran jarak jauh patogen ini (Buddenhagen, 1986; Janse, 1996; Janse et al., 2004).

### C. Karakteristik Genetik BDB

Hasil amplifikasi DNA target (DNA BDB) dengan primer spesifik 121F/R menunjukkan bahwa semua isolat positif sebagai BDB yang ditunjukkan dengan terbentuknya pita DNA (fragmen spesifik DNA) dengan ukuran 317 bp (Gambar 5.6 dan Gambar 5.7).



Gambar 5.6. (A) Hasil ekstraksi DNA Genom BDB (*R. syzygii* subsp. *celebesensis*) dari koloni murni BDB (*R. syzygii* subsp. *celebesensis*) dengan menggunakan Presto TM Mini gDNA Bacteria Kit  
(Sumber: Imas Aisyah, 2020)



Gambar 5.7. (B) DNA BDB dari no 1-6 (positif) dengan ukuran 317 bp; M-Penanda DNA (Thermo Scientific GeneRuler 1000bp DNA Ladder) (Aisyah, et al., 2017) (**Sumber.** *Imas Aisyah, 2020*)

Saat ini penyebab penyakit darah dikenal sebagai *Blood Disease Bacterium* (Fegan & Prior 2005; Supriadi 2005). BDB termasuk kelompok bakteri gram negatif, berbentuk batang, tidak aktif bergerak, berflagel, dan berukuran sekitar 0.5 x 1.0–1.5  $\mu\text{m}$ . Pada medium King's B, bakteri ini tidak mengeluarkan pigmen fluorescens dan menunjukkan reaksi hipersensitif pada tanaman tembakau (Baharuddin 1994). BDB masuk dalam kompleks spesies *R. solanacearum* anggota divisi 2, phylotype IV, dan sequevar 10 (Fegan & Prior 2005).



UNIVERSITAS MEDAN AREA

36

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 9/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From (repository.uma.ac.id)9/5/23

## BAB VI

# *Mekanisme Infeksi Blood Disease Bacterium*

Masuknya patogen ke dalam tanaman terjadi melalui luka mekanik atau luka yang disebabkan oleh organisme soilborne seperti nematoda dan serangga. Pindahkan anakan dari tanaman yang terinfeksi menyebabkan sejumlah pelukaan terbuka yang mengeluarkan cairan bakteri. Cairan bakteri tersebut merupakan sumber inokulum yang disebarkan oleh bakteri atau vektor lain. Pelukaan atau penghancuran jaringan yang terinfeksi menyebabkan masuknya bakteri ke dalam tanah dan tersebar melalui air tanah. Pada penyakit Moko oleh *R. solanacearum* penyebaran melalui tanah dan mekanik tidak terlalu berperan dibandingkan transmisi oleh serangga (Molina, 1999).

Keberhasilan terinfeksi tanaman oleh bakteri melibatkan pergerakan bakteri mencapai inang, kontak antara patogen dengan permukaan inang, penetrasi dan proliferasi bakteri didalam yang diikuti oleh penyebaran (Gnanamanickam et al., 1999). Observasi lapangan di Uganda ditemukan bahwa Xcm menginfeksi tanaman melalui bagian bawah tanaman (akar, anakan dan pemotongan tangkai daun) yang terinfeksi melalui inokulum dari tanah (soilborne inoculum) dan/atau melalui

bunga yang disebarkan oleh serangga atau udara (aerosol) (Shimelas et al., 2008). Transmisi dari satu tanaman ke tanaman lain dalam kebun disebabkan oleh serangga dan alat-alat yang terkontaminasi bakteri selama proses pemeliharaan tanaman.

Tabel 6.1.

Kandungan Gula Nektar Bunga Betina dari Berbagai Jenis Pisang

<b>Kultivar</b>	<b>Genom</b>	<b>Rata-Rata Gula (%) ± (95% CI)</b>
Kole	AA	19.60 (13.78-19.42)
Kalkuta	AA	18.12 (14.95-21.29)
Lilin	AA	21.00
Rejang	AA	16.78 (15.05-18.51)
Telur	AA	20.00
Manis	AA	18.33 (17.61-19.05)
Barangan	AA	15.00 (13.70-16.30)
Kalek		22.50 (20.01-24.00)
Kalek Air		17.33 (15.89-18.77)
Bogo		21.08 (20.01-22.15)
Cavendish	AAA	10.33
Sabeh		21.50 (15.66-27.34)
Angleng		20.00
Perancis		19.00 (17.52-20.48)
Jambe	BB	21.57 (18.64-24.50)
Klutuk	AAB	20.10 (19.29-20.91)
Awu	AAB	18.77 (16.74-20.80)
Triolin	AAB	19.00 (17.89-20.10)
Kepok	AAB	26.37 (24.81-27.93)

Bakteri masuk dalam jaringan pembuluh melalui luka mekanis melalui bibit dan bonggol pisang, setelah bakteri masuk ke dalam jaringan dan berkembang serta menyebar secara sistemis pada seluruh bagian tanaman yaitu pada batang semu, tangkai daun sehingga menyebabkan tanaman menjadi layu.

Jaringan pembuluh menunjukkan perubahan warna dari coklat muda sampai coklat tua diseluruh bagian tanaman, bila tanaman dipotong akan keluar ooze. Gejala penyakit ini terlihat jelas pada daun muda dan diikuti dengan nekrosis pada daun-daun lainnya. Selanjutnya bakteri dapat berkembang pada cabang-cabang bonggol dan anakan. Tanaman muda yang terserang dapat menguning sebagian dan layu, sedangkan anakan menunjukkan kelompok daun yang berpilin dan menghitam. Pada kasus lain, daun yang masih menggulung menjadi patah.

Gejala yang lebih spesifik pada penyakit ini terdapatnya lendir bakteri yang berwarna putih abu-abu sampai coklat kemerahan keluar dari potongan buah atau bonggol tanaman pisang (Tjahjono and Eden-Green., 1988; Muharam dan Subijanto., 1991; Baharuddin., 1994). Apabila bonggol di belah melintang maka akan tampak bercak berwarna kuning pucat sampai coklat gelap atau biru kehitaman. Bercak-bercak berwarna cenderung menuju ke bagian tengah bonggol. Secara internal, bercak pembuluh berwarna coklat bisa diamati pada tangkai buah, tangkai tandan, pseudostem dan buah. Gejala yang paling khas adalah terjadinya pembusukan daging buah sehingga terjadinya perubahan warna kuning sampai coklat kemerahan.

Gejala dalam dapat diamati apabila bonggol di belah melintang maka akan tampak bercak berwarna kuning pucat sampai coklat gelap atau biru kehitaman. Bercak-bercak berwarna cenderung menuju ke bagian tengah bonggol. Gejala yang lebih spesifik yaitu terdapatnya lendir bakteri dan berwarna putih abu-abu sampai coklat kemerahan keluar dari

potongan buah atau bonggol tanaman pisang (Tjahjono and Eden-Green., 1988; Muharam dan Subijanto., 1991; Baharuddin., 1994). Pada kasus lain apabila buah dipotong melintang maka bagian dalamnya keras dan busuk kering, tandan pisang membusuk dan berwarna hitam (Tjahjono dan Eden-Green, 1988; Muharram dan Subijanto, 1991; Baharuddin, 1994). Gejala khas yang ditemukan pada buah yang terserang di lahan endemik BDB T.Panjang adalah keluarnya tetesan oose bakteri berwarna putih abu-abu, kuning sampai coklat kehitaman disebabkan karena kulit buah mengalami kebocoran, apabila buah ditekan maka akan keluar cairan kuning kecoklatan (Suswati et al, 2008). Secara internal bercak pembuluh berwarna coklat bisa diamati pada tangkai buah, tangkai tandan, pseudostem dan buah.

Seringkali tanaman yang terinfeksi masih tampak normal dari luar, daun-daun masih hijau dan buah kelihatan berkembang normal. Hal ini memperbesar peluang penyebaran penyakit melalui distribusi buah hasil panen keluar daerah endemis (Hermanto et al., 1998)



## BAB VII

# **Teknik Isolasi dan Identifikasi pada Tanaman Pisang yang Terserang Patogen Layu BDB**

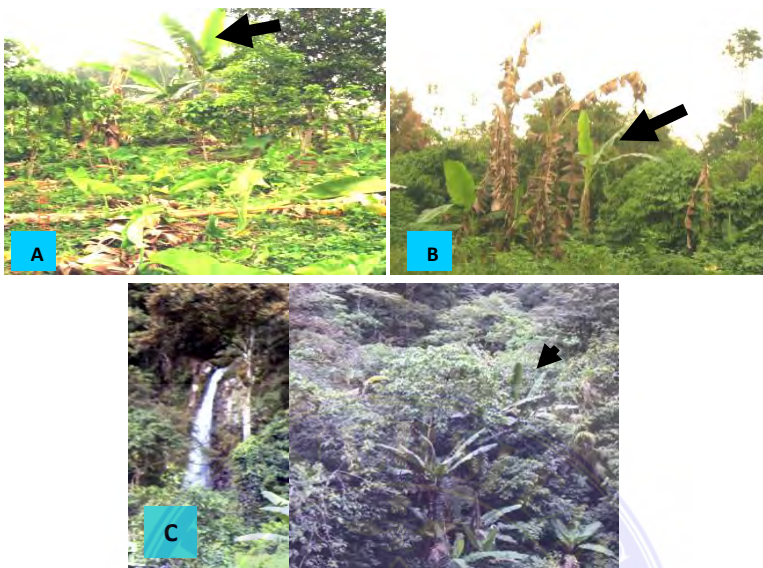
### A. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan melalui dari tiga tahap, yaitu :

1. Isolasi dan identifikasi BDB dari jaringan tanaman pisang yang terserang BDB
2. Isolasi BDB dari serangga *Erionata thrax*
3. Uji Patogenisitas isolat BDB

### B. Teknik Pengambilan Sampel tanaman Terserang BDB dan Isolasi BDB

Luas pertanaman pisang 0,3 – 1 ha dan endemik penyakit layu bakteri (kecuali tanaman pisang liar yang diambil di kawasan Cagar Alam Lembah Anai). Untuk setiap lokasi diambil sebanyak 10 rumpun tanaman. Untuk sampel tanah dan akar tanaman pisang liar hanya diambil dari tanaman yang sehat sebab dilokasi kawasan Cagar Alam Lembah Anai tidak ditemukan adanya pisang liar yang terserang BDB. Kondisi lahan endemik pertanaman pisang di Nagari Tabek Panjang, Nagari Pasar Usang dan kawasan Cagar Alam Lembah Anai dapat dilihat pada Gambar 7.1



Gambar 7.1. Pengambilan sampel tanah dan akar tanaman pisang sehat di lahan endemik BDB. A. Lahan endemik BDB Tabek Panjang, B. Lahan endemik BDB Pasar Usang dan tanaman pisang liar kawasan Cagar Alam Lembah Anai

### C. Teknik Pengambilan Sampel Tanah Rhizosfer Tanaman Pisang Terserang BDB dan Isolasi BDB

Tanah diambil dari 4 titik rhizosfer perakaran tanaman pisang yang terserang BDB. Tanah sekitar perakaran digali hingga kedalaman 20 cm, kemudian diambil tanah sebanyak 500 g, tanah diaduk secara merata, dimasukkan ke dalam kantong plastik PVP berukuran 2 kg. Kantong plastik yang berisi tanah diikat menggunakan karet atau tali rafia, kemudian diberi label yang berisi informasi hari/tanggal pengambilan sampel, titik koordinat dan jenis pisang (Gambar 7.2).

Sebanyak 1 g tanah dari rizosfir perakaran tanaman pisang Kepok yang terinfeksi BDB di masukkan ke dalam

tabung reaksi yang berisi 10 ml air steril. Selanjutnya campuran tersebut di homogenkan dengan cara memvortex 300 rpm selama 1 menit, 100 µl campuran tersebut dimasukkan ke cawan petri steril, kemudian dituang 15 ml media TZC. Agar penyebaran pertumbuhan BDB merata, maka cawan petri yang telah berisi biakan bakteri dan media TZC digoyang-goyang. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari (Gambar 7.2).

Isolasi bakteri pada media TZC dilakukan menggunakan metode pour plate, yang setelahnya dilakukan inkubasi dengan suhu ruang dalam kurun waktu 24 jam. Pemurnian dilakukan dengan mengambil koloni bakteri yang tumbuh menggunakan jarum ose dan digoreskan pada media TZC, kultur bakteri yang tumbuh diamati morfologinya berdasarkan, warna, bentuk, permukaan, tepian koloni bakteri, dan hasil pewarnaan gram.

#### **D. Teknik Pengambilan Sampel Akar Tanaman Pisang Terserang BDB**

Tanaman pisang yang digunakan sebagai sumber inokulum bakteri adalah tanaman pisang Kepok yang memperlihatkan gejala serangan penyakit layu bakteri dengan perkembangan gejala penguningan daun (Gambar 7.2).

Akar tanaman yang terserang BDB diambil dari jaringan yang sakit dan jaringan sehat (Gambar 1).Selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan dan isolasi bakteri menggunakan metode yang dikemukakan oleh Zinniel et al. (2002) dengan beberapa modifikasi. Potongan akar pisang dengan tebal kurang lebih 10 cm dicuci bersih kemudian permukaannya disterilkan dengan

Caranya merendam potongan akar dalam larutan NaOCI 2% yang mengandung 0,1% Tween 20 selama 10 detik. Akar kemudian dibilas dua kali dengan akuades steril dan dikeringkan dengan kertas tisu steril. Akar yang sudah steril permukaannya tersebut dibuat potongan-potongan kecil menggunakan pelubang gabus (cork baret) berdiameter 1 cm dengan panjang potongan kurang lebih 1 cm. Potongan akar digerus menggunakan mortar steril. Akar yang sudah halus kemudian diencerkan secara berseri menggunakan 12,5 mM bufer fosfat (pH 7,1). Sebanyak 100 µl suspensi dari setiap pengenceran disebarkan secara merata pada media nutrisi-broth yeast extract agar (NSYA) dalam cawan petri berdiameter 9 cm. Setelah diinkubasikan pada suhu ruang (kurang lebih 28°C) selama 24-48 jam, koloni bakteri yang tumbuh dipisahkan satu sama lain pada media agar yang baru sehingga diperoleh isolat murni (hanya satu jenis bakteri setiap cawan petri). Setiap isolat murni bakteri endofit yang diperoleh diuji reaksi hipersensitifnya terhadap tembakau (HR). Isolat yang menimbulkan reaksi HR negatif kemudian disimpan dalam akuades steril untuk jangka pendek (satu bulan) dan untuk pengujian selanjutnya sedangkan untuk jangka panjang bakteri disimpan dalam larutan gliserol 20% pada suhu -70 °C.

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode Cahyaniati et al., (1997) dengan medium triphenyl tetrazolium chlorid (TZC) (Baharuddin, 1992) dengan tahapan isolasi seperti Gambar 7.2

### **E. Teknik Pengambilan Sampel Bonggol Tanaman Pisang Terserang BDB**

Untuk bagian bonggol dipotong sebanyak 3 bagian seluas 1 cm<sup>2</sup>. Selanjutnya masing-masing potongan digerus menggunakan mortar porselen dan ditambahkan air steril. Hasil gerusan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan volume air steril dicukupkan hingga 10 ml. Suspensi bakteri dihomogenkan dengan memvortex 300 rpm selama 1 menit, 100 µl suspensi BDB dimasukkan ke cawan petri steril, kemudian dituang 15 ml media TZC. Agar penyebaran pertumbuhan BDB merata, maka cawan petri yang telah berisi biakan bakteri dan media TZC digoyang-goyang. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari. Tahapan isolasi BDB dari Bonggol Tanaman Pisang Terserang BDB dapat dilihat pada Gambar 7.2.

### **F. Teknik Pengambilan Sampel Batang Tanaman Pisang Terserang BDB**

Untuk bagian batang semu diambil dari lapisan kedua terluar, bagian pangkal tandan, bonggol dan akar dipotong sebanyak 3 bagian seluas 1 cm<sup>2</sup>. Selanjutnya masing-masing potongan digerus menggunakan mortar porselen dan ditambahkan air steril. Hasil gerusan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan volume air steril dicukupkan hingga 10 ml. Suspensi bakteri dihomogenkan dengan memvortex 300 rpm selama 1 menit, 100 µl suspensi BDB dimasukkan ke cawan petri steril, kemudian dituang 15 ml media TZC. Agar penyebaran pertumbuhan BDB merata, maka cawan petri yang telah berisi biakan bakteri dan media TZC digoyang-goyang. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari. Tahapan

isolasi BDB dari Batang Tanaman Pisang Terserang BDB dapat dilihat pada Gambar 7.2.

### **G. Teknik Pengambilan Sampel Bunga Tanaman Pisang Terserang BDB**

Bagian bunga pisang yang terserang BDB diiris tipis (setebal 5 mm), dengan mengikut sertakan bagian yang sehat, dipotong 1 cm<sup>2</sup>. Potongan bunga disterilisasi dengan cara merendam dalam larutan Bayclin 5 %, selama 30 detik dibilas dengan akuades steril. Selanjutnya masing-masing potongan digerus menggunakan mortar porselen dan ditambahkan air steril. Hasil gerusan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan volume air steril dicukupkan hingga 10 ml. Suspensi bakteri dihomogenkan dengan memvortex 300 rpm selama 1 menit, 100 µl suspensi BDB dimasukkan ke cawan petri steril, kemudian dituang 15 ml media TZC. Agar penyebaran pertumbuhan BDB merata, maka cawan petri yang telah berisi biakan bakteri dan media TZC digoyang-goyang. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari.

### **H. Teknik Pengambilan Sampel Buah Tanaman Pisang Terserang BDB**

Buah yang terserang BDB oleh serangga penular diambambil dari setiap sisir buah (sisir 1,3,5,7,9), selanjutnya 1 buah pisang yang terserang BDB diambil dan dilakukan isolasi BDB dengan cara sebagai berikut: bagian kulit pisang yang terserang BDB dikupas tipis (setebal 5 mm), dengan mengikut sertakan bagian yang sehat, dipotong 1 cm<sup>2</sup>. Potongan kulit disterilisasi dengan cara merendam dalam larutan Bayclin 5 %,

selama 30 detik dibilas dengan akuades steril. Untuk bagian batang semu diambil dari lapisan kedua terluar, bagian pangkal tandan, bonggol dan akar dipotong sebanyak 3 bagian seluas 1 cm<sup>2</sup>. Selanjutnya masing-masing potongan digerus menggunakan mortar porselen dan ditambahkan air steril. Hasil gerusan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan volume air steril dicukupkan hingga 10 ml. Suspensi bakteri dihomogenkan dengan memvortex 300 rpm selama 1 menit, 100 µl suspensi BDB dimasukkan ke cawan petri steril, kemudian dituang 15 ml media TZC. Agar penyebaran pertumbuhan BDB merata, maka cawan petri yang telah berisi biakan bakteri dan media TZC digoyang-goyang. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari.



Gambar 7.2 Isolasi BDB dari tanaman pisang Kepok yang terinfeksi BDB. A= bunga jantan, B= buah, C=pangkal tandan, D=Batang semu (batang atas, batang tengah dan batang bawah), E= bonggol dan F=akar dan tanah rhizosfir pisang kepok.

Koloni-koloni yang tipikal dengan karakter bulat, non-fluidal, mucoid dan berukuran kecil (0,5-2 mm) dengan warna merah pada bagian tengahnya setelah 3-5 hari (Baharuddin, 1994) dihitung dan diperbanyak untuk uji fisiologis dan uji patogenisitas.

## I. Parameter Pengamatan

Identifikasi dilakukan terhadap morfologi dan sifat fisiologi BDB dengan uraian sebagai berikut :

### 1. Pengujian Sifat Morfologi

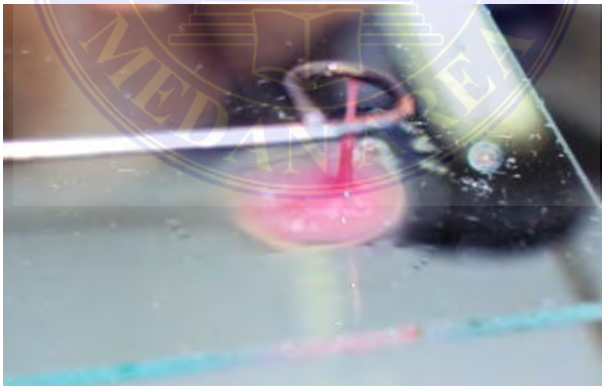
Semua isolat bakteri yang diperoleh diuji pertumbuhannya pada medium selektif TZC, diinkubasi pada suhu ruang 29 0C selama 48-72 jam. Isolat BDB yang diperoleh dimurnikan, diperbanyak, dan disimpan dalam akuades steril untuk digunakan dalam pengujian-pengujian berikutnya. Untuk memastikan bahwa isolat tersebut adalah BDB maka dilakukan karakterisasi berdasarkan beberapa pengujian, di antaranya: uji karakter kultur pada media SPA (Supriadi 1999) dan media TZC (Baharuddin 1994), uji reaksi Gram (Schaad et al. 2001), uji pembentukan pigmen fluoresens, reaksi oksidatif/fermentatif, hidrolisis argini (Kerr 1980), uji reaksi hipersensitif, uji pembentukan bakteriofag (Supriadi 1997, 2003), dan uji patogenisitas (Supriadi 1999). Pengamatan sifat morfologi koloni bakteri . medium TZC (3 hsi) meliputi bentuk, ukuran, bentuk pinggiran, warna dan bentuk permukaan.



## 2. Sifat Fisiologi

### a. Uji Reaksi Gram

Pengujian ini merupakan tahap awal dalam mengidentifikasi suatu spesies bakteri yang belum diketahui. Uji Gram dilakukan dengan metode Hayward (1990). Larutan KOH 3% ditetaskan pada gelas objek kemudian ditambah satu lup koloni bakteri dan diaduk hingga rata, jika di dalam pengujian ini ada reaksi (lengket) maka digolongkan dalam reaksi Gram negatif. Gram negatif yang ditandai dengan mengentalnya kultur bakteri setelah ditetesi KOH 3% . isolat diketahui Gram negatif (Gambar 7.3) ditandai dengan terbentuknya gumpalan saat direaksikan dengan larutan KOH 3%. Hal ini didukung oleh pendapat Suwanda (2008), bahwa bakteri *R. solanacearum* termasuk gram negatif apabila suspensi berubah menjadi menggumpal, lengket dan terangkat seperti benang bersama jarum ose.



Gambar 7.3. Hasil uji Gram koloni BDB yang diisolasi dari serangga.

### b. Uji Enzim Pektinase

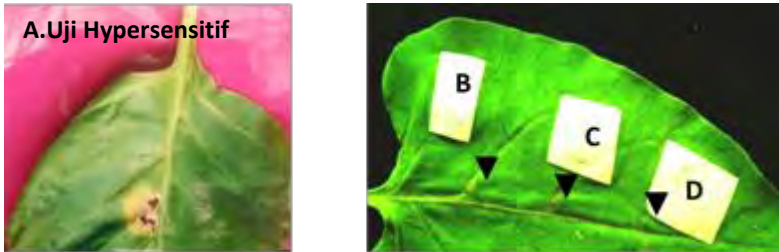
Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim pektinase menggunakan metode Schaad (1988). Kentang dipotong-potong ukuran 1 cm<sup>2</sup>, permukaannya didesinfeksi dengan alkohol 70% selama 5 menit kemudian dibilas dengan air steril 3-4 kali. Irisan kentang di letakkan di atas cawan petri yang telah dilapisi kertas saring steril, 1 lup oose bakteri dioleskan ke permukaan atas potongan kentang, kemudian diinkubasikan pada suhu 29°C selama 72 jam. Reaksi positif apabila terjadi perubahan warna permukaan kentang (menjadi coklat kehitaman) dan permukaan kentang menjadi lunak (Gambar 7.4).



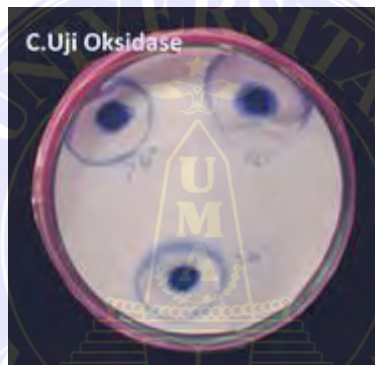
Gambar 7.4. Hasil uji pektinase koloni BDB yang diisolasi dari tanaman pisang . Keterangan: A= Kontrol, B. isolat bakteri asal C.sordidus. C. isolat bakteri asal O.longicollis. D. isolat bakteri asal Trigona sp

### c. Uji Hipersensitif

Uji reaksi hipersensitif dilakukan dengan menyuntikkan 300 µl suspensi koloni bakteri yang diduga koloni BDB pada permukaan bawah daun tanaman Mirabilis jalapa. Hasil positif pada uji reaksi hipersensitif menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan patogen tumbuhan dan dapat diduga bakteri tersebut merupakan BDB (Gambar 7.5).



Gambar 7.5 Hasil uji Hipersensitif koloni BDB yang diisolasi dari tanaman pisang (A), B,C,D. Isolat BDB dari Serangga. Keterangan: A= Tanaman Pisang, B. isolat bakteri asal C.sordidus. C. isolat bakteri asal O.longicollis. D. isolat bakteri asal Trigona sp.



Gambar 7.6. Hasil uji Oksidase koloni BDB yang diisolasi dari tanaman pisang

#### d. Uji Patogenisitas

Untuk memastikan bahwa koloni bakteri yang diperoleh adalah *R. solanaceum* Phylotype IV maka koloni yang menunjukkan hasil positif pada uji reaksi hipersensitif dilakukan uji patogenisitas pada tanaman pisang. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui virulensi dari isolat BDB yang berasal dari serangga. Pengujian dilakukan menggunakan metode pelukaan akar yang mengacu pada metode Fahy & Hayward (1983) dan Schaad et al. (2001) yang telah dimodifikasi. Bibit tanaman

pisang Kepok berumur 3 bulan akarnya dilukai (menggunakan jarum pentul steril) kemudian disiram dengan 10 ml suspensi bakteri kepadatan 10<sup>8</sup> upk/ml. Pengamatan dilakukan mulai dari tanaman diinokulasi BDB sampai munculnya gejala layu. Pengamatan gejala kelayuan menggunakan skala perkembangan penyakit layu bakteri menurut Winstead dan Kelman (1952) cit Leiwakabessy (1999) (Tabel 7.1) dan virulensi bakteri dinilai berdasarkan periode inkubasi dan tipologi gejala menurut Baharuddin (1994) (Tabel 7.2).

Tabel 7.1.

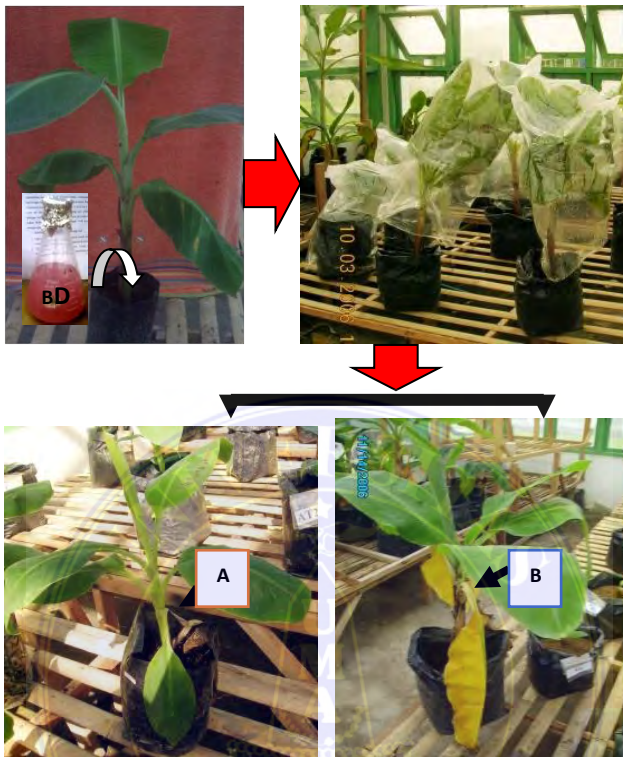
Skala Penilaian Gejala Layu

Skala	Deskripsi
0	Tidak ada gejala kelayuan
1	1 daun layu
2	2-3 daun layu
3	Semua daun layu, kecuali 2 atau 3 daun pucuk
4	Semua daun layu
5	Tanaman mati

Tabel 7.2.

Virulensi Bakteri Penyebab Layu

Sifat	Deskripsi
Sangat Virulen	Tanaman menunjukkan gejala layu < 20 hari setelah inokulasi (hsi)
Virulen Moderat	Tanaman menunjukkan gejala layu 20-30 hsi
Kurang Virulen	Tanaman menunjukkan gejala layu >30 hsi
Sangat Kurang Virulen	Tanaman menunjukkan gejala nekrosis pada tepi daun dan kerdil
Avirulen	Tanaman tidak menunjukkan gejala layu



Gambar 7.7. Hasil uji Patogenisitas Koloni BDB yang diisolasi dari Serangga . Keterangan: A= Kontrol, B. isolat bakteri asal *C.sordidus*. C. isolat bakteri asal *O.longicollis*. D. isolat bakteri asal *Trigona sp.*



Gambar 7.8. Uji patogenisitas dan perbanyakan inokulum BDB pada tanaman pisang umur 2 bsa. A. Patahnya tulang daun, B. Daun menguning. (Sumber: Suswati.Dokumentasi)

### 3. Masa Inkubasi (Hari)

Masa inkubasi adalah rentang waktu (hari) setelah inokulasi bakteri sampai dengan saat munculnya gejala awal penyakit layu yang ditandai dengan terjadinya penguningan daun yang dimulai pada bagian tengah didekat pelepah daun dan diikuti dengan layunya daun tersebut (Baharuddin, 1994). Efektivitas perlambatan masa inkubasi dihitung dengan rumus Sivan dan Chet (1986) yaitu :

$$EM = (M_k - M_p) / M_k \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

EM = Efektivitas penekanan intensitas penyakit

M<sub>k</sub> = Intensitas serangan pada kontrol

M<sub>p</sub> = Intensitas serangan pada perlakuan

### 4. Lama Kematian Tanaman yang Terserang

Lama kematian tanaman yang terserang diamati dari gejala pertama muncul hingga keseluruhan daun tanaman layu.

### 5. Intensitas Serangan Penyakit

Intensitas serangan layu bakteri pada bibit pisang diamati tiap minggu mulai dari gejala pertama muncul (minggu kedua setelah inokulasi *R.solanacearum*). Intensitas penyakit dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$I = \sum n \times V \cdot N^{-1} Z^{-1} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

*Keterangan* : I = Intensitas penyakit; n = Jumlah tanaman dengan skor tertentu; V = Tanaman dengan skor tertentu; N = Jumlah tanaman yang diamati; Z = Skala tertinggi (4)

Pengelompokan skala intensitas penyakit layu bakteri pada bibit pisang Kepok dapat dilihat pada tabel 7.3

Tabel 7.3  
Skor Serangan Penyakit disebabkan oleh BDB pada bibit pisang.

Skor	Keterangan
0	Daun sehat
1	1 helai daun layu/kering
2	2-3 daun layu/kering
3	4-5 daun layu/kering
4	>5 daun layu/kering/tanaman mati

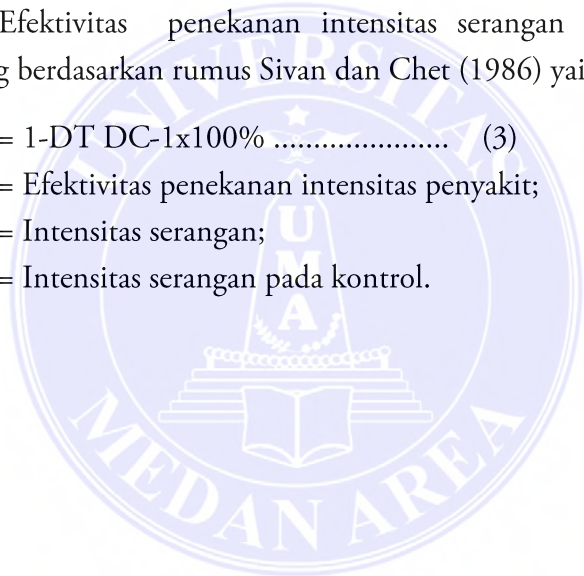
Efektivitas penekanan intensitas serangan penyakit dihitung berdasarkan rumus Sivan dan Chet (1986) yaitu :

$$EI = 1 - \frac{DT}{DC} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

EI = Efektivitas penekanan intensitas penyakit;

DT = Intensitas serangan;

DC = Intensitas serangan pada kontrol.







## BAB VIII

# ***Hasil Isolasi dan Identifikasi pada Tanaman Pisang yang Terserang Patogen Layu BDB***

### **A. BDB Hasil Isolasi dari Tanah dan Jaringan Tanaman Pisang yang Terserang BDB**

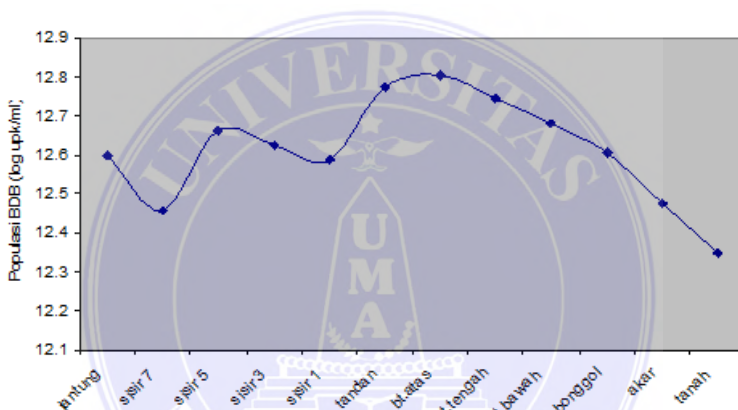
#### **1. Hasil Isolasi BDB dari Tanah Rhizosfer Perakaran Tanaman Pisang yang Terserang BDB**

BDB dapat diisolasi dari tanah di rhizosfer perakaran tanaman pisang Kepok yang terserang BDB. Populasi BDB ditemukan dalam jumlah tinggi dari tanah rhizosfir perakaran tanaman dengan populasi  $33 \times 10^{12}$  upk/ml (Tabel 4.4).

Ukuran koloni bervariasi dari satu sampai lima milimeter, berbentuk bulat dengan titik merah di tengah yang dikelilingi oleh lendir putih susu, dengan variasi intensitas warna dari merah muda sampai merah tua, selain itu ditemukan juga koloni yang seluruhnya berwarna merah tua dan bakteri kontaminan yang berwarna putih kotor.

## 2. Hasil Isolasi BDB dari Jaringan Tanaman

BDB berhasil diisolasi dari seluruh jaringan tanaman yang terserang penyakit layu. Terdapat perbedaan karakter dan populasi bakteri dari masing-masing jaringan tersebut (Gambar 8.1). Populasi BDB ditemukan dalam jumlah tinggi pada semua jaringan tanaman yang terserang. Bakteri juga berhasil diisolasi dari tanah rhizosfir perakaran tanaman dengan populasi  $33 \times 10^{12}$  upk/ml (Tabel 8.1)



Gambar 8.1. Kepadatan BDB pada Jaringan Tanaman Pisang

Populasi BDB antar sampel buah dari masing-masing sisir tidak memperlihatkan perbedaan populasi yang mencolok. Tidak adanya perbedaan populasi yang menyolok antar nomor buah mengindikasikan bahwa penularan penyakit dapat terjadi melalui semua bagian buah.

### 3. Karakterisasi Bakteri

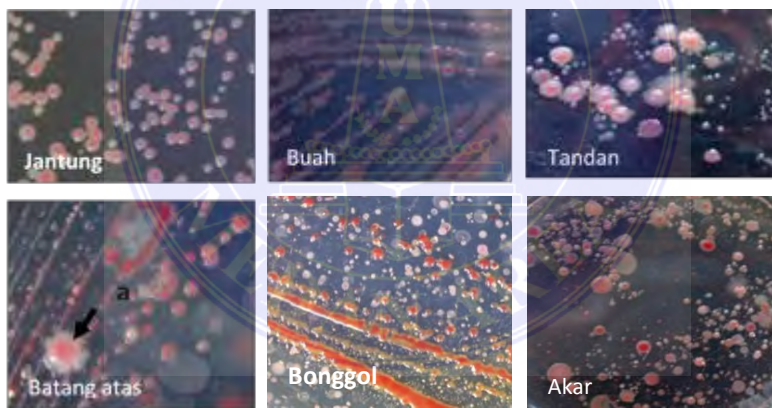
Pada medium TZC, koloni bakteri penyebab penyakit darah pada tanaman pisang baru dapat diamati pada hari ketiga sampai keempat setelah isolasi. Pada umur tersebut ukuran koloni bervariasi dari satu sampai lima milimeter, berbentuk bulat dengan titik merah di tengah yang dikelilingi oleh lendir putih susu, dengan variasi intensitas warna dari merah muda sampai merah tua, selain itu ditemukan juga koloni yang seluruhnya berwarna merah tua dan bakteri kontaminan yang berwarna putih kotor (Gambar 8.2a,b,c). Karakter bakteri yang diisolasi dari bagian batang (atas, tengah dan bawah) memiliki bentuk, ukuran dan warna yang sama demikian juga bakteri yang diisolasi dari bagian buah (sisir 1, sisir 3, sisir 5 dan sisir 7) serta di bagian jantung dan tandan. Selain koloni BDB juga ditemukan koloni lain yang berwarna kuning dengan lendir bening dibagian pinggir (Gambar 8.2d). Bakteri ini dapat diisolasi dari semua bagian jaringan tanaman, dimana populasinya tertinggi ditemukan di buah dan terendah dibagian tanah.

Ukuran dan warna koloni bakteri berkaitan erat dengan strain patogen (Wardlaw, 1972) dimana strain-strain virulen biasanya memiliki warna koloni yang lebih muda. Jumlah koloni yang teramati akan konstan pada hari ke enam dan ke tujuh. Populasi bakteri ditemukan dalam jumlah tinggi pada setiap jaringan tanaman dengan gejala penguningan daun (Tabel 8.1).

Konsentrasi bakteri tertinggi ditemukan pada bagian bunga jantan (jantung) dan bagian batang dan terendah di dalam akar. Berdasarkan data tersebut diduga penularan penyakit pada

tanaman sampel terjadi melalui bunga oleh serangga pengunjung bunga. Dugaan ini didasarkan pada asumsi bahwa populasi bakteri tertinggi akan berbanding lurus dengan jarak dari sumber infeksi.

Nomor sandi buah (sisir 1,3,5 dan 7) merupakan urutan sisir pertama dari pangkal ke ujung. Tidak adanya perbedaan populasi menyolok antar nomor buah mengindikasikan bahwa penularan penyakit dapat terjadi melalui semua bagian bunga betina. Keberadaan bakteri dalam jumlah tinggi juga ditemukan dalam bunga jantan. Hal ini menandakan bahwa penularan bakteri oleh serangga dapat terjadi melalui bunga betina dan bunga jantan.



Gambar 8.2. Variasi koloni isolat bakteri pada tanaman pisang dengan gejala penguningan daun. Keterangan: a. koloni 1, b. koloni 2, c. Koloni 3. d. Koloni bakteri kontaminan Isolat tipe 4

Karakterisasi bakteri patogen dilakukan untuk mengkonfirmasi jenis patogen yang terdapat di dataran tinggi Tabek Panjang, Kabupaten Agam, Sumatera Barat dibandingkan dengan bakteri penyebab penyakit darah (blood

disease bacterium) *R.solanacearum* Phylotype IV. Karakter isolat bakteri yang diperoleh di dataran tinggi Tabek Panjang disajikan pada Tabel 8.2.

Isolat bakteri dari dataran tinggi Tabek Panjang bersifat Gram negatif, reaksi gram merupakan karakter dari struktur penyusun dinding sel bakteri. Mayoritas dari bakteri gram negatif adalah bakteri patogen tanaman (Gambar 8.3).

Tabel 8.1.

Jumlah bakteri penyebab penyakit layu pada tanaman pisang dengan gejala penguningan daun.

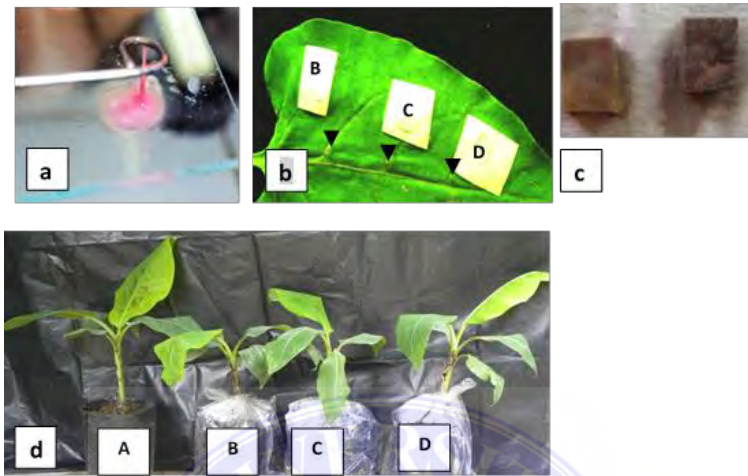
Jaringan Tanaman	Populasi bakteri (upk/ml)
Jantung	40 x10 <sup>11</sup>
Sisir 7	29 x10 <sup>11</sup>
Sisir 5	52 x10 <sup>11</sup>
Sisir 3	61 x10 <sup>11</sup>
Sisir 1	48 x10 <sup>11</sup>
Tandan	63 x10 <sup>11</sup>
Batang semu atas	60 x10 <sup>11</sup>
Batang semu tengah	57 x10 <sup>11</sup>
Batang semu bawah	54 x10 <sup>11</sup>
Bonggol	43 x10 <sup>11</sup>
Akar	34 x10 <sup>11</sup>
Tanah	10 x10 <sup>11</sup>

**Tabel. 8.2**

Karakter bakteri (sifat morfologi dan fisiologi) penyebab penyakit layu pisang di dataran tinggi Tabek Panjang, Kecamatan Baso, Kabupaten Agam, Sumatera Barat.

Sifat morfologi dan fisiologi	Ciri-ciri
Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
Warna koloni	putih dengan/ tanpa formasi merah muda
Bentuk sel	Batang
Reaksi Gram	-
Pigmen fluorescens	-
Pektinase	+
Kovac's oksidase	+
Uji HR	+
Uji patogenisitas	+

Ukuran dan warna koloni ini berkaitan erat dengan strain patogen (Wardlaw, 1972), dimana strain-strain virulen biasanya memiliki warna koloni yang lebih muda, dan koloni yang berwarna merah darah merupakan koloni yang avirulen. Jumlah koloni yang teramati pada cawan petri mulai konstan pada hari ke enam atau ke tujuh. Isolasi dan penghitungan populasi bakteri dari jaringan tanaman pisang sampai pengenceran 10<sup>-6</sup> masih terlalu padat sehingga pada beberapa bagian tanaman (terutama pada buah) tidak dapat dihitung.



Gambar 8.3. Hasil uji Gram, reaksi hypersensitive, uji pektinase dan uji patogenisitas koloni bakteri yang diisolasi dari serangga. Keterangan: a.Reaksi Gram, b. Reaksi hypersensitif, c.Uji pektinase, d. Uji patogenisitas. A= Kontrol, B. isolat bakteri asal *C.sordidus*. C. isolat bakteri asal *O.longicollis*. D. isolat bakteri asal *Trigona* sp

## B. Ciri Morfologi Blood Disease Bacterium Pada Medium TZC

### 1. Karakterisasi dan Populasi BDB Dari Berbagai Sumber Koloni

Pada medium TZC, koloni bakteri penyebab penyakit darah pada tanaman pisang baru dapat diamati pada hari ketiga sampai keempat setelah isolasi. Pada umur tersebut ukuran koloni bervariasi dari satu sampai lima milimeter, berbentuk bulat dengan titik merah di tengah yang dikelilingi oleh lendir putih susu, dengan variasi intensitas warna dari merah muda sampai merah tua, selain itu ditemukan juga koloni yang seluruhnya berwarna merah tua dan bakteri kontaminan yang berwarna putih kotor (Gambar 8.2a,b,c). Karakter bakteri yang

diisolasi dari bagian batang (atas,tengah dan bawah) memiliki bentuk, ukuran dan warna yang sama demikian juga bakteri yang diisolasi dari bagian buah (sisir 1, sisir 3, sisir 5 dan sisir 7) serta di bagian jantung dan tandan. Selain koloni BDB juga ditemukan koloni lain yang berwarna kuning dengan lendir bening dibagian pinggir (Gambar 8.2d). Bakteri ini dapat diisolasi dari semua bagian jaringan tanaman, dimana populasinya tertinggi ditemukan di buah dan terendah dibagian tanah.

Ukuran dan warna koloni bakteri berkaitan erat dengan strain patogen (Wardlaw, 1972) dimana strain-strain virulen biasanya memiliki warna koloni yang lebih muda. Jumlah koloni yang teramati akan konstan pada hari ke enam dan ke tujuh. Populasi bakteri ditemukan dalam jumlah tinggi pada setiap jaringan tanaman dengan gejala penguningan daun (Tabel 8.2).

Konsentrasi bakteri tertinggi ditemukan pada bagian bunga jantan (jantung) dan bagian batang dan terendah di dalam akar. Berdasarkan data tersebut diduga penularan penyakit pada tanaman sampel terjadi melalui bunga oleh serangga pengunjung bunga. Dugaan ini didasarkan pada asumsi bahwa populasi bakteri tertinggi akan berbanding lurus dengan jarak dari sumber infeksi.

Nomor sandi buah (sisir 1,3,5 dan 7) merupakan urutan sisir pertama dari pangkal ke ujung. Tidak adanya perbedaan populasi menyolok antar nomor buah mengindikasikan bahwa penularan penyakit dapat terjadi melalui semua bagian bunga betina. Keberadaan bakteri dalam jumlah tinggi juga ditemukan



dalam bunga jantan. Hal ini menandakan bahwa penularan bakteri oleh serangga dapat terjadi melalui bunga betina dan bunga jantan.

Karakterisasi bakteri patogen dilakukan untuk mengkonfirmasi jenis patogen yang terdapat di dataran tinggi Tabek Panjang, Kabupaten Agam, Sumatera Barat dibandingkan dengan bakteri penyebab penyakit darah (blood disease bacterium) *R.solanacearum* Phylotype IV.

Semua isolat bakteri berhasil diisolasi dari semua jaringan tanaman pisang yang terserang BDB. Bakteri yang diduga BDB yang dibiakkan pada medium selektif TZC, yang telah diinkubasi pada suhu ruang 29 0C selama 48-72 jam memperlihatkan ciri koloni BDB. Tabel 4.5. Karakter bakteri (sifat morfologi dan fisiologi) penyebab penyakit layu pisang di dataran tinggi Tabek Panjang, Kecamatan Baso, Kabupaten Agam, Sumatera Barat.

Tabel 8.3.

Ciri Morfologi dan Sifat Fisiologi BDB

Sumber BDB dari Tanaman Pisang	Sifat Morfologi dan Fisiologi	Ciri-Ciri
Tanah	Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
	Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda
	Bentuk sel	batang
	Reaksi Gram	-
	Pigmen fluorescens	-

	Pektinase	+
	Kovac's oksidase	+
	Uji HR	+
	Uji patogenisitas	+
<b>Akar</b>	Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
	Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda
	Bentuk sel	batang
	Reaksi Gram	-
	Pigmen fluorescens	-
	Pektinase	+
	Kovac's oksidase	+
	Uji HR	+
	Uji patogenisitas	+
	Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
	Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda
<b>Batang semu</b>	Bentuk sel	batang
	Reaksi Gram	-
	Pigmen fluorescens	-
	Pektinase	+
	Kovac's oksidase	+
	Uji HR	+
	Uji patogenisitas	+
	Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
	Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda

<b>Buah</b>	Bentuk sel	batang
	Reaksi Gram	-
	Pigmen fluorescens	-
	Pektinase	+
	Kovac's oksidase	+
	Uji HR	+
	Uji patogenisitas	+
	Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
	Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda
	Bentuk sel	batang
	Reaksi Gram	-
	Pigmen fluorescens	-
	Pektinase	+
	Kovac's oksidase	+
	Uji HR	+
	Uji patogenisitas	+
	Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
	Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda
	Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
	Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda
<b>Bunga pisang</b>	Bentuk sel	batang
	Reaksi Gram	-
	Pigmen fluorescens	-
	Pektinase	+

	Kovac's oksidase	+
	Uji HR	+
	Uji patogenisitas	+
	Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
	Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda
	Bentuk sel	batang
	Reaksi Gram	-
	Pigmen fluorescens	-
	Pektinase	+
	Kovac's oksidase	+
	Uji HR	+
	Uji patogenisitas	+
	Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
	Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda
	Bentuk koloni	bulat, mukoid, fluidal
	Warna koloni	putih dengan/tanpa formasi merah muda

Ukuran dan warna koloni ini berkaitan erat dengan strain patogen (Wardlaw, 1972), dimana strain-strain virulen biasanya memiliki warna koloni yang lebih muda, dan koloni yang berwarna merah darah merupakan koloni yang avirulen. Jumlah koloni yang teramati pada cawan petri mulai konstan pada hari ke enam atau ke tujuh. Isolasi dan penghitungan

populasi bakteri dari jaringan tanaman pisang sampai pengenceran  $10^{-6}$  masih terlalu padat sehingga pada beberapa bagian tanaman.

Tabel 8.4.

Jumlah Bakteri Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Pisang Dengan Gejala Penguningan Daun.

Jaringan Tanaman	Populasi bakteri (upk/ml)
Jantung	$40 \times 10^{11}$
Sisir 7	$29 \times 10^{11}$
Sisir 5	$52 \times 10^{11}$
Sisir 3	$61 \times 10^{11}$
Sisir 1	$48 \times 10^{11}$
Tandan	$63 \times 10^{11}$
Batang semu atas	$60 \times 10^{11}$
Batang semu tengah	$57 \times 10^{11}$
Batang semu bawah	$54 \times 10^{11}$
Bonggol	$43 \times 10^{11}$
Akar	$34 \times 10^{11}$
Tanah	$10 \times 10^{11}$

### C. Karakterisasi dan Deteksi Cepat Bakteri Penyebab Penyakit Darah Pada Pisang

Sampai saat ini patogen penyakit darah pada pisang belum memiliki nama yang valid sekalipun kedudukan taksonominya telah ditentukan bahwa patogen ini tergolong ke dalam *Ralstonia* kompleks spesies dan memiliki hubungan kekerabatan yang dekat dengan *Ralstonia solanacearum* ras 2, penyebab penyakit layu pisang di Amerika Latin dan Filipina serta *Ralstonia syzygii* penyebab penyakit mati pucuk pada

cengkeh (Fegan & Prior, 2006). Bakteri penyebab penyakit darah hanya dikenal dengan nama umum Blood Disease Bacterium (BDB).

Roberts et al. (1990) dan Baharuddin et al. (1994) telah membuktikan bahwa strain BDB dan *R. syzygii* memiliki DNA yang homolog pada uji serologi dan menunjukkan sidik jari dengan tingkat similaritas yang tinggi melalui uji Polymerase Chain Reaction dengan amplifikasi menggunakan primer tRNA (Seal et al., 1992b). Analisis filogenetik menggunakan 16S rDNA, poligalakturonase, dan endoglukanase (Seal et al., 1994; Thagayi et al., 1996; Fegan et al., 1998) lebih menegaskan bahwa BDB dan *R. syzygii* dapat diklasifikasi kembali ke dalam genus *Ralstonia*. BDB dan *R. syzygii* dapat dengan mudah dibedakan dari isolat *R. solanacearum* berdasarkan kisaran inangnya, perbedaan morfologi bakteri, sifat fisiologi jika dikulturkan (Eden-Green, 1994), dan kespesifikan fragmen DNA *R. solanacearum* dengan metode Polymerase Chain Reaction (Seal et al., 1992a).

Analisis filogenetik berdasarkan 16S-23S (Internal Transcribed Spacer, ITS), endoglukanase dan urutan DNA gen *mutS*, menggolongkan BDB dalam filotipe IV, sedangkan *Ralstonia solanacearum* ras 2 digolongkan dalam filotipe II (Fegan & Prior, 2005). Sebaran geografi BDB yang sangat luas di Indonesia dan kompleksnya keragaman bakteri layu vaskular pada pisang menjadi alasan dibutuhkan metode deteksi BDB strain Indonesia untuk membedakannya dengan strain-strain bakteri lain penyebab penyakit layu pada pisang.

Karakterisasi bakteri penyebab penyakit darah (BDB) dan deteksi cepat dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk kepentingan diagnosis. daerah berbeda di Indonesia. Bakteri dikulturkan pada medium Tetrazolium Chloride Agar (TZC) (Kelman, 1994) pada suhu ruang.

Karakterisasi bakteri dilakukan menurut metode yang dideskripsikan oleh Fahy dan Hayward (1983), Lelliot dan Stead (1987), Baharuddin (1994), Eden-Green (1994). Isolasi dan karakterisasi bakteri. Isolat BDB yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1. Isolat-isolat BDB diperoleh dari daerah daerah berbeda di Indonesia. Bakteri dikulturkan pada medium Tetrazolium Chloride Agar (TZC) (Kelman, 1994) pada suhu ruang. Karakterisasi bakteri dilakukan menurut metode yang dideskripsikan oleh Fahy dan Hayward (1983), Lelliot dan Stead (1987), Baharuddin (1994), Eden-Green (1994). Uji patogenisitas. Untuk mengetahui kisaran inang BDB, uji patogenisitas dilakukan dengan metode infectivity titration (Subandiyah, 1991) dengan kerapatan sel bakteri 10<sup>8</sup> CFU/ml. Tanaman uji adalah pisang, tomat, terung, dan cabai.

#### **D. Ekstraksi dan Pemurnian DNA**

Total genom DNA BDB diekstraksi dengan metode yang dideskripsikan oleh Ausubel et al. (1992). Analisis PCR. Isolat-isolat BDB diidentifikasi dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) menggunakan primer spesifik (5'-CGT ATT GGA TGC CGT AAT GGA-3') dan 121R (5'-AAG TZC ATT GGT GCC GAA TCA-3'). Amplifikasi fragmen DN BDB

dilakukan pada mesin pendaur panas (Biorad, Jerman), volume total reaksi 25 l dengan komposisi 200 M dNTP, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, buffer 10 x, 1 unit DNA Taq polymerase (Core Kit, Roche, Jerman), 25 pmol masing-masing primer 121F dan 121R, 50 ng DNA template. Kondisi mesin pendaur panas diatur sebagai berikut: 1 siklus 96°C selama 10 menit; 30 siklus berturut-turut terdiri atas 94°C selama 15 detik, 59°C selama 30 detik, dan 72°C selama 30 detik. Satu siklus pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 10 menit, PCR dihentikan pada suhu 11°C. Produk PCR (5 µl) dielektroforesis menggunakan agarosa 1% dalam larutan buffer 0.5 x (Tris-acetate-EDTA buffer, 89 mM Tris-acetate, pH 8,0 dan 2 mM EDTA) dengan pengaturan pergerakan DNA pada gel agarosa 10 V/cm selama 25 menit. Pewarnaan DNA dilakukan dengan ethidium bromide (0,5 g/ml), lalu fragmen DNA yang terbentuk diamati di atas UV transiluminator. Untuk membuktikan kespesifikan primer. Uji yang sama dilakukan pada *Ralstonia solanacearum* isolat tembakau sebagai kontrol. Isolat BDB dimurnikan dengan dikulturkan pada medium TZC sampai ditemukan koloni tunggal dengan ciri-ciri: bentuk koloni bakteri bulat, berdiameter 2–4 mm, berwarna putih susu dengan warna merah muda pada bagian tengahnya, mengilap, dan tidak fluidal. Koloni tunggal kemudian dipindahkan ke medium CPG.



## E. Deteksi BDB Dengan Polymerase Chain Reaction

Hasil polimerasi dengan primer 121F dan 121R, primer spesifik untuk deteksi BDB pada pisang di Indonesia menunjukkan bahwa semua isolat (21) positif sebagai BDB yang ditunjukkan dengan terbentuknya fragmen DNA dengan ukuran 317 pb (Gambar 8.4). Primer tersebut dikembangkan dari hasil klon DNA genom BDB yang dibandingkan dengan DNA genom *Ralstonia solanacearum* lalu diidentifikasi dengan metode subtractive hybridization. Meskipun sekuen yang diperoleh tidak sesuai dengan data base Bank Gen, akan tetapi hasil uji pada banyak strain BDB menunjukkan hasil positif sedangkan pada *R. solanacearum* menunjukkan hasil negatif. Spesifikasi urutan basa DNA primer 121F dan 121R mampu mengenali BDB pada total genom DNA-nya. Hasil polimerasi menunjukkan bahwa primer spesifik tersebut hanya mampu mengamplifikasi fragmen DNA BDB dan tidak mengamplifikasi fragmen DNA *R. solanacearum* isolat tembakau. Sekalipun kedua jenis bakteri tersebut tergolong dalam satu genus *Ralstonia*, akan tetapi pencirian khusus yang dimiliki oleh BDB pada fragmen DNA-nya akan menjadi faktor identitas utama sekaligus menjadi karakter pembeda dengan bakteri yang lain.



Gambar 1. Amplifikasi DNA genom BDB dengan PCR menggunakan primer 121F dan 121R menunjukkan seluruh isolat positif sebagai bakteri penyebab penyakit darah

Keterangan:

- |           |            |              |            |   |
|-----------|------------|--------------|------------|---|
| 1. Slk-31 | 6. Skh-06  | 11. Bal-50   | 16. Lmp-28 | 21. Smrd-45   |
| 2. Slk-33 | 7. Pwr-07  | 12. Plu-32   | 17. Mdo-53 | K. Kontrol ( <i>R. solanacearum</i><br>isolat tembakau) |
| 3. Lpg-29 | 8. Sal-48  | 13. Mks-52   | 18. Bpn-46 |   |
| 4. Sln-03 | 9. Byl-35  | 14. Mkasr-51 | 19. Bpn-47 |   |
| 5. Btl-11 | 10. Klt-34 | 15. Btp-22   | 20. Bpn-44 |   |

#### Gambar 8.4 Aplikasi DNA Genom BDB dengan PCR

Sumber: Edy Nur , Subandiyah.S, Sumardiyono.C dan Widada.J. 2011. Karakterisasi Dan Deteksi Cepat Bakteri Penyebab Penyakit Darah Pada Pisang Characterization And Rapid Detection Of Blood Disease Bacterium On Banana And Plantain Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia, Vol. 17, No.1, 2011: 26–30

## BAB IX

# Penutup

BDB berhasil diisolasi dari seluruh jaringan tanaman yang terserang penyakit layu. Terdapat perbedaan karakter dan populasi bakteri dari masing-masing jaringan tersebut (Gambar 8.1). Populasi BDB ditemukan dalam jumlah tinggi pada semua jaringan tanaman yang terserang. Bakteri juga berhasil diisolasi dari tanah rhizosfir perakaran tanaman dengan populasi  $33 \times 10^{12}$  upk/ml.

Pada medium TZC, koloni bakteri penyebab penyakit darah pada tanaman pisang baru dapat diamati pada hari ketiga sampai keempat setelah isolasi. Pada umur tersebut ukuran koloni bervariasi dari satu sampai lima milimeter, berbentuk bulat dengan titik merah di tengah yang dikelilingi oleh lendir putih susu, dengan variasi intensitas warna dari merah muda sampai merah tua, selain itu ditemukan juga koloni yang seluruhnya berwarna merah tua dan bakteri kontaminan yang berwarna putih kotor. Karakter bakteri yang diisolasi dari bagian batang (atas, tengah dan bawah) memiliki bentuk, ukuran dan warna yang sama demikian juga bakteri yang diisolasi dari bagian buah (sisir 1, sisir 3, sisir 5 dan sisir 7) serta di bagian jantung dan tandan. Selain koloni BDB juga ditemukan koloni lain yang berwarna kuning dengan lendir bening dibagian pinggir. Bakteri ini dapat diisolasi dari semua bagian jaringan tanaman, dimana

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 09/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

populasinya tertinggi ditemukan di buah dan terendah dibagian tanah.

Ukuran dan warna koloni bakteri berkaitan erat dengan strain patogen (Wardlaw, 1972) dimana strain-strain virulen biasanya memiliki warna koloni yang lebih muda. Jumlah koloni yang teramati akan konstan pada hari ke enam dan ke tujuh. Populasi bakteri ditemukan dalam jumlah tinggi pada setiap jaringan tanaman dengan gejala penguningan daun.

Konsentrasi bakteri tertinggi ditemukan pada bagian bunga jantan (jantung) dan bagian batang dan terendah di dalam akar. Berdasarkan data tersebut diduga penularan penyakit pada tanaman sampel terjadi melalui bunga oleh serangga pengujung bunga. Dugaan ini didasarkan pada asumsi bahwa populasi bakteri tertinggi akan berbanding lurus dengan jarak dari sumber infeksi.

Nomor sandi buah (sisir 1,3,5 dan 7) merupakan urutan sisir pertama dari pangkal ke ujung. Tidak adanya perbedaan populasi menyolok antar nomor buah mengindikasikan bahwa penularan penyakit dapat terjadi melalui semua bagian bunga betina. Keberadaan bakteri dalam jumlah tinggi juga ditemukan dalam bunga jantan. Hal ini menandakan bahwa penularan bakteri oleh serangga dapat terjadi melalui bunga betina dan bunga jantan. Populasi BDB antar sampel buah dari masing-masing sisir tidak memperlihatkan perbedaan populasi yang mencolok. Tidak adanya perbedaan populasi yang menyolok antar nomor buah mengindikasikan bahwa penularan penyakit dapat terjadi melalui semua bagian buah.

Bakteri yang diisolasi dari jaringan tanaman yang terserang BDB tersebut memiliki sifat morfologi dan sifat fisiologi tipikal BDB penyebab penyakit darah yaitu: Koloni-koloni karakter bulat, non-fluidal, mucoid dan berukuran kecil (0.5 – 2 mm) dengan warna merah pada bagian tengahnya setelah 3–5 hari (Baharuddin., 1994). Populasi bakteri ditemukan dalam jumlah tinggi pada bagian buah dan batang diduga penularan bakteri disebabkan oleh serangga.

Dapat ditarik dua kesimpulan dari penelitian dan kajian dalam buku monograf ini, yaitu:

1. Pada tanaman pisang yang terserang BDB dengan gejala penguningan daun maka isolate BDB dapat diisolasi dari semua jaringan tanaman pisang dan juga dari tanah rhizosfer perakaran tanaman pisang yang terserang BDB tersebut.
2. Isolat bakteri tersebut memperlihatkan profil BDB



UNIVERSITAS MEDAN AREA

78

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 9/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From (repository.uma.ac.id)9/5/23

## Daftar Pustaka

- Advinda, L., Habazar, T., Syarif, A., Mansyurdin, Putra, D.P. 2007. Aktivitas Enzim Pertahanan Bibit Pisang yang Diinduksi dengan *Pseudomonad fluoresens*. Jurnal Ilmiah Konservasi Hayati. Vol. 03. No. 02. Oktober 2007.
- Ausubel, F.M., R. Brent., R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, & K. Struhl (eds.). 1992. Current Protocols in Molecular Biology. Greene Publishing Association; WileyInterscience, New York.
- Baharuddin. 1994. Patological, biochemical and sero-logical characterization of the blood disease bacterium affecting banana and plantain (*Musa spp.*) in Indonesia. Disertasi 129 hal. Cuvillier Verlag Gottingen.
- BPTP Yogyakarta. 2006. Penyakitlayu pada tanaman pisang. Lembaran Informasi Pertanian. Departemen Pertanian. Agdex: 654-658
- Buddenhagen ZW & Elasser TA. 1962. An insect spread wild epiphytotic of bluggoe bananas. Nature 194: 146-165.
- Buddenhagen I.W, Kelman A. 1964. Biological dan physiological aspects of bacterial wilt caused by *P.solanacearum*. Ann. Rev. of Phytopathological Waterhouse I. 1994. Biological control of weeds in southeast Asia. CAB.
- Cahyaniati, C.N Mortensen, Mathur S.B. 1997. Bacterial wilt of banana in Indonesia, Tech. Bulletin. 7p.
- Denny, T.P. 2000. *Ralstonia solanacearum* – a plant pathogen in touch with its host. Trends In Microbiology. 489, 8 : 11.
- Dikin, A., F. Kornida, Hermawan. 1995. Perbedaan Isolat Bakteri Penyebab Penyakit Layu Pisang di Lampung dan Jawa. Prosiding Kongres Nasional VIII dan Seminar tlmiah. PF1 Mataram

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 09/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From repository.uma.ac.id 09/5/23

- Dimiyati, A., I. Djatnika, C. Hermanto, N. Nasir and A. Hasyim. 2001, current reseach activities on banana diseases and pests in Indonesia proceedings of The 10<sup>th</sup> INIBAB SPENET regional advisory committee meeting. Bangkok
- Eden-Green, SJ, and AH Sasraatmadja. 1990. Blood disease bacterium present in Java. FAO Plant Protection Bulletin. 38: 49-90.
- Eden-Green, S. J. 1994. *Banana Blood Disease*. [http://www.inibab.org/publication/factsheet/fiche\\_3eng.pdf](http://www.inibab.org/publication/factsheet/fiche_3eng.pdf)
- Eden-Green SJ. 1992. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria from banana and plantain in South East Asia. Pp.51-57. In: M. lemattre, S. Freigoun, K. Rudolph and J.G Swings (Eds): Plant Phatogenic Bacteria. IRNA.
- Eden-Green SJ. 1994. Banana blood disease. Musa Disease Fact Sheet No.3. 2p.
- Eden-Green SJ. 2004. How can the advance of banana Xanthomonas wilt be halted? InfoMusa 13(2): 38-41.
- Edison, HS, Sutanto, A, Hermanto, C, Lakuy, H, Rumsarwir, Y., 2002, The exploration of Musaceae in Irian Jaya (Papua), Research Institute for Fruits dan INIBAP, 58 pp.
- Edison, H.S., Hermanto, C. 2016. Idiotipa Tanaman Pisang dan Sumber Daya Genetik Pendukungnya. Iptek Hortikultura 12:65-69.
- Edy, Nur. Subandiyah, Siti. Sumardiyono, Christanti & Widada, Jaka. Karakterisasi dan Deteksi Cepat Bakteri Penyebab Penyakit Darah pada Pisang. Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia, Vol. 17, No.1, 2011: 26–30.
- Fahy PC & Hayward AC. 1983. Media and Methods for Isolation and Diagnostic Test In: PC Fahy and GJ Persley. Bacterial Disease A Diagnostic Guide. Academic Press. Australia



- Fegan, M., M. Taghavi, Sly Li, & A.C. Hayward. 1998. Phylogeny, Diversity, and Molecular Diagnostic of *Ralstonia solanacearum*, p. 19–33. In P.C. Prior, C. Allen, J. Elphinstone. (eds.), *Bacterial Wilt, Molecular, and Ecological Aspects*. Berlin Heidelberg, Germany and Paris, Frances. Springer-Verlag and INRA Edition.
- Fegan, M. and P. Prior, 2005. *Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia Solanacearum Species Complex: How complex is the Ralstonia solanacearum species complex*. Minnesota: APS Press
- Fegan, M. & P. Prior. 2005. How Complex is the "Ralstonia solanacearum species complex"?, p. 449–461. In C. Allen, P. Prior, & A.C. Hayward (eds.), *Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota.
- Fegan, M. & P. Pror. 2006. Diverse Members of the *Ralstonia solanacearum* Species Complex Cause Bacterial Wilt of Banana. *Australian Plant Pathology* 35: 93–101.
- Gnanamanickam et al., 1999, An overview of bacterial blight disease of rice and strategies for its management.
- Gold CS, Bandyopadhyay R, Tinzaara W, Ssewiko F, Eden-Green SJ. 2006. Identifying Insect Vectors and Transmission Mechanisms for Banana *Xanthomonas* Wilt. International Institute Of Tropical Agriculture Oyo Road, PMB 5320, Ibadan, Nigeria.
- Habazar, T., dan Rivai, F. 2000. *Dasar-dasar Bakteri Patogenik Tumbuhan*. Fakultas Pertanian. Universitas Andalas Padang.
- Hadiwiyono. 2011. Blood bacterial wilt disease of banana: the distribution of pathogen in infected plant, symptoms, and potentiality of diseased tissues as source of infective inoculums. *Bioscience*. 3(3):112–117. DOI: <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n030302>.

- Hartati, S.Y. Supriadi & S.J. Eden-Green. 1989. Uji Patogenesitas Bakteri Penyebab Penyakit Darah (Blood Disease) Pisang Pada beberapa Varietas Pisang dan Tanaman Solanaceae. Prosiding Konggres Nasional X dan Seminar ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Denpasar. Hal. 273 – 275
- Hayward, A.C. 2006. Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas solanacearum*, in Asia and Australia: an Overview. In: Persley GJ (Ed.), Bacterial Wilt Disease in Asia and the South Pacific. Australian Centre for International Agricultural Research 13:15 – 24.
- Hermanto C, Setyawati T & Santoso PJ. 1998. Konfirmasi: Daerah endemik baru penyakit layu bakteri pisang di Sumatera Barat. Disampaikan pada seminar sehari PFI Komca Sumbar, Riau dan Jambi, Padang. 4 November 1998.
- Liwakabessy C. 1999. Potensi Beberapa Jenis Serangga dalam Penyebaran Penyakit Layu Bakteri *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* Yabuuchi et al. pada Pisang di Lampung. Tesis Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
- Liwakabessy, C. 1999. Potensi Beberapa Jenis Serangga dalam Penyebaran Penyakit Layu Bakteri *Ralstonia (Pseudomonas solanacearum* Yabuuchi et al.) pada Pisang di Lampung. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Lelliot, R.A. & D.E. Stead. 1987. Methods in Plant Pathology. Vol. 2. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. British Society for Plant Pathology by Blackwell Scientific Publication, Oxford. 216 p.
- Mackie, A., Hamond, D., and Kumar, S. 2007. Banana blood disease. Department of Agriculture and Food. Factsheet.
- Mairawita, Habazar T, Hasyim A, Nazir N, Suswati. 2012. Potensi Serangga Pengunjung Bunga sebagai Vektor Penyakit Darah Bakteri (*Ralstonia solanacearum* Phylotype IV) pada Pisang di Sumatera Barat. Jurnal Entomologi Indonesia 9 (1): 38 – 47.

- Mujim, S., T. N. Aeny, C. Ginting, S. Kusumoto, Y. Takikawa, S. Tsuyumu, & T. Tsuge. 1999. Studies on bacterial wilt of banana in Lampung, Indonesia: Identification of the causal agent and screening of banana cultivars for disease resistance. Pages 527-532
- Muharram, A and Subijanto. 1991. Status of banana diseases in Indonesia. 44-49 in:R.V. Valmayor, B.E. Umali and C.P. Bejosano (Eds.): Banana Diseases in Asia and The Pacific. International Network for Asia and the Pacific. tNt:BAP.
- Nurhadi, M. Rais dan Harlion. 1994. Serangan bakteri dan cendawan pada tanaman pisang di Propinsi Dati I Lampung. Info Hortikultura Vol 2 (1): 37-41.
- Roberts, S.J. Eden-Green, P. Jones, & D.J. Ambler. 1990. *Pseudomonas syzygii* sp. Nov., the Cause of Sumatera Disease of Cloves. Systematic and Applied Microbiology 13: 34-43.
- Rustam E, Atmasari I, Yanwirasti. 2007 Efek Anti inflamasi Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma domestika* Val.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi. 12 (2) : 112-115.
- Seal, S.E., L. Jackson, & M.J. Daniels. 1992a. Isolation of a *Pseudomonas solanacearum*, specific DNA probe by subtraction hybridization and Construction of Species-specific Oligonucleotide Primers for Sensitive Detection by Polymerase Chain Reaction. Applied and Environmental Microbiology 59: 3751-3758.
- Seal, S.E. & J.G. Elphinstone. 1994. Advances in Identification and Detection of *Pseudomonas solanacearum*, p. 35-57. In A.C. Haywards & G.L. Hartman (eds.), Bacterial Wilt: the Disease and its Causative Agent, *Pseudomonas solanacearum*. CAB International. Wallingford, UK.

- Sivan, A., U. Ona & I. Chet 1986. Biological Control of Fusarium spp. in Cotton, Wheat and Muskmelon by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 116: 39–47.
- Supriadi. 2000. Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Pada Tumbuhan Obat dan Strategi Penanggulangannya. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor.
- Suswati, Habazar T, Rivai F, & Putra DP. 2007. Peningkatan Ketahanan Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan Cendawan Mikoriza Arbuskular terhadap Penyakit Hawar Daun (*Xanthomonas axonopodis* pv *allii*). Kongres Asosiasi Mikoriza Indonesia II. Institut Pertanian Bogor 17-21 Juli 2007.
- Suswati S, Nasril N, & Azwana A. 2013. Peningkatan Ketahanan Tanaman Pisang Barangan Terhadap *Blood Disease Bacterium* (BDB) Dengan Aplikasi Fungi Mikoriza Arbuskular Indigenus. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 13(1), 96-104.
- Setyobudi L, Hermanto C. 1999. Rehabilitation of cooking banana farms; base line status of *Banana Disease Bacterium* (Darah) distribution in Sumatera. In: A.B. Molina and V.N Roa (Eds.), *Advancing Banana and Plantain R&D in Asia and The Pasific*. p117-120. Guangchou: Proc of the 9 th INIBAP-ASPNET Regional Advisory Committee Meeting.
- Shimelash D, Alemu T, Addis T, Turyagyenda FL, Blomme G. 2008. Banana *Xanthomonas* Wilt in Ethiopia: occurrence and insect vectortrans mission. *African Crop Science Journal* 16: 75-87.
- Subandiyah, S., S. Indarti, T. Harjaka, S.N.H., Utami, C. Sumardiyono, & Mulyadi. 2005. Bacterial Wilt Diseases Complex of Banana in Indonesia. In: C. Allen, P. Prior, A.C. Hayward. *Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex*. American Phytopathological Society Press, Minnesota.

- Subandiyah, S. 1991. Bacterial Wilt of Peanut Caused by *Pseudomonas solanacearum* F.F. Smith. Thesis master. The University of Queensland, St. Lucia, Queensland, Australia.
- Suharjo, R., S. Subandiyah & E. Martono. 2006. Potensi *Erionota thrax* Sebagai Agen Penyebar Patogen Penyebab Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Pisang (*Blood Disease Bacterium*). Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika 6(2): 100 – 106
- Sumardiyono, & Mulyadi. 2005. Bacterial Wilt Disease Complex Of Banana In Indonesia. In: C. Allen, P. Prior, A.C. Hayward. Bacterial Wilt Disease and The *Ralstonia solanacearum* Species Complex. APS Press. St. Paul. Minnesota U.S.A.
- Schaad NW, Jones JB & Chun W. 2001. Laboratory Guide For Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press Minnesota.
- Setyobudi & Hermanto. 1999. Rehabilitation of cooking banana farms; Base line status of Banana Disease Bacterium (Darah) distribution in Sumatera, Pp. 117-120. In: A.B. Molina and V.N Roa (eds) Advancing Banana and Plantain R&D in Asia and The Pasific. Proc of the 9 th INIBAP-ASPNET Regional Advisory Committee Meeting, Guangchou.
- Soguilon CE, Magnave LV & Natural MP. 1995. Bugtok disease of banana. Musa fact sheet No.5 INIBAP.
- Thagavi, M., A.C. Hayward, L.I. Sly, & M. Fegan. 1996. Analysis of Phylogenetic Relationship of Strains *Bulkhoderia solanacearum*, *Pseudomonas syzygii*, Blood Disease Bacterium based on 16S rRNA Gene Sequences. International Journal of Systematic Bacteriology 46: 10–15.
- Tjahjono B, Eden-Green S.J. 1988. Blood disease of bananas in Indonesia (abstract). International Congress of Plant Pathology 5th, Kyoto Japan

Tinzaara W, Gold CS, Ssekiwoko F, Tushemeirwe W, Bandyopadhyay R, Eden-Green SJ. 2006. The possible role of insects in the transmission of Banana Xanthomonas Wilt. In: The 4th International Bacteria Wilt Symposium (UK, 17-20 July) York, UK.

Wardlaw CW. 1972. Banana Disease. Including Plantains and Abaca. Logman.

**Website:**

[https://en.wikipedia.org/wiki/Heliconia\\_collinsiana](https://en.wikipedia.org/wiki/Heliconia_collinsiana)

[https://en.wikipedia.org/wiki/Strelitzia\\_reginae#/media/File:Bird\\_of\\_Paradise\\_flower.JPG](https://en.wikipedia.org/wiki/Strelitzia_reginae#/media/File:Bird_of_Paradise_flower.JPG)

<https://www.indiamart.com/proddetail/solanum-nigrum-extract-makoi-extract-16684056088.html>



## Glosarium

Aerob	Organisme yang melakukan metabolisme dengan bantuan oksigen.
AHLs	Molekul mudah larut dan berdifusi, yang berperan sebagai sinyal interselular yang menstimulasi ekspresi gen yang tergantung pada kepadatan sel yang ada di suatu lingkungan
Alkaloid	Sebuah golongan senyawa basa bernitrogen yang kebanyakan heterosiklik dan terdapat di tumbuhan.
<i>Apis dorsata</i>	Lebah madu raksasa merupakan lebah madu Asia yang berhabitat di hutan
Avirulent	Tidak beracun; tidak mendatangkan penyakit.
<i>Blood Disease Bacterium</i>	Penyakit darah pada pisang disebabkan oleh bakteri patogen tanaman
Bractea	Daun pelindung
Chloropidae	Suatu famili yang secara umum dikenal sebagai lalat grass (famili Poaceae atau Graminae)
Cis Acting Element	Daerah DNA non-coding yang mengatur transkripsi gen tetangga.
Cystein	Obat untuk melawan keracunan paracetamol dan karbon monoksida.
Diskolorasi	Proses perubahan warna atau rona
Eksudat	Cairan tubuh yang keluar dari pembuluh darah ke ruang di sekitarnya akibat kebocoran pembuluh darah atau peningkatan permeabilitas pembuluh darah akibat terjadinya peradangan atau infeksi
Endoglucanase (EG)	Komplek enzim selulase yang memiliki kemampuan menghidrolisis selulosa.

Entrysite	Elemen RNA yang memungkinkan inisiasi translasi dengan cara yang tidak bergantung pada tutup, sebagai bagian dari proses sintesis protein yang lebih besar.
Extracellular Polysaccharide (EPS)	Koloni bakteri tertutupi lendir dengan ketebalan berbeda-beda
Fenol	Asam karbolat atau benzenol adalah zat kristal tak berwarna yang memiliki bau khas.
Filotipe	Kesamaan yang diamati yang digunakan untuk mengklasi-fikasikan sekelompok organisme berdasarkan hubungan fenetiknya
Fisiologis	Salah satu dari cabang-cabang biologi yang mempelajari berlangsungnya sistem kehidupan
Fitokimia	Segala jenis zat kimia atau nutrien yang diturunkan dari sumber tumbuhan, termasuk sayuran dan buah-buahan.
Flavonoid	Senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon yang umumnya tersebar di dunia tumbuhan.
Fospor	Mineral yang dibutuhkan tubuh untuk melakukan berbagai fungsi penting.
Fungi Mikoriza Arbuskular (FMA)	Salah satu fungi yang bersimbiosis dengan perakaran tanaman yang mampu memperbaiki pertumbuhan tanaman melalui penyediaan hara dan air yang lebih baik
Genom	Genetika dan biologi molekular modern
Glomus	Sel khusus yang ditemukan di beberapa pembuluh darah dan sepanjang saraf



Imago	Serangga dewasa yang telah memiliki sayap sempurna dan siap untuk berkembang biak.
Inokulasi	Pekerjaan memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru dengan tingkat ketelitian yang sangat tinggi
Inokulum	Suatu populasi BAL (Bakteri Asam Laktat) baik dalam bentuk cair atau bubuk yang digunakan dalam proses pembuatan silase sebagai penghasil biopreservatif alami yaitu asam laktat dan memberikan suasana yang optimum dalam proses fermentasi silase (Ensilase).
Korteks	Bagian terluar dari batang atau akar tumbuhan yang dibatasi di bagian luar oleh epidermis dan di bagian dalam oleh endodermis.
Kultivar	Sekelompok tumbuhan yang telah dipilih/diseleksi untuk suatu atau beberapa ciri tertentu yang khas dan dapat dibedakan secara jelas dari kelompok lainnya
LuxR	Reseptor sitoplasmik untuk sinyal gen target pengatur tanggapan terhadap konsentrasi pengimbasan AHL atau turunannya
Media TZC	Media khusus mengisolasi <i>R. Solanacearum</i> .
Mikronutrien	Zat gizi mikro, unsur penting yang dibutuhkan oleh organisme dalam jumlah yang bervariasi sepanjang hidup untuk mengatur berbagai fisiologis untuk menjaga kesehatan

Morfologi	Ilmu pengetahuan tentang bentuk luar dan susunan makhluk hidup
mRNA	Salah satu jenis RNA (ribonukleat acid) yang ditemukan di dalam sel.
<i>Musa acuminata</i>	Jenis pisang yang diyakini sebagai salah satu induk dari pisang komersial yang sekarang banyak dibudidayakan.
<i>Musa balbisiana</i>	Pisang liar, spesies pisang yang masih memiliki biji.
Nonmotil	Spesies bakteri yang tidak memiliki kemampuan dan struktur yang memungkinkan mereka untuk mendorong diri sendiri.
Patogen	Istilah medis dari kuman, yaitu organisme kecil penyebab infeksi.
Pektin	Segolongan polimer heterosakarida yang diperoleh dari dinding sel tumbuhan darat.
Plasma	Substansi yang mirip dengan gas dengan bagian tertentu dari partikel terionisasi.
Polinator	Prantara penyerbukan
Polygalacturonase (PG)	Enzim utama yang bertanggung jawab untuk pembongkaran pektin dalam pemasakan buah.
Propagul	Suatu bentuk atau bagian dari organisme yang dipergunakan sebagai alat penyebaran atau reproduksi.
Quorum Sensing	Mekanisme untuk memastikan jumlah sel mencukupi sebelum suatu spesies melakukan respon biologi khusus.
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Bakteri patogen tanaman yang tidak membentuk spora, Gram-negatif, aerobik.
Rizosfer	Wilayah sempit tanah atau substrat yang secara langsung dipengaruhi oleh sekresi

	akar dan mikroorganisme tanah terkait yang dikenal sebagai mikrobioma akar.
Saponin	Jenis senyawa kimia yang berlimpah dalam berbagai spesies tumbuhan. Senyawa ini merupakan glikosida amfipatik yang dapat mengeluarkan busa jika dikocok dengan kencang di dalam larutan.
Tannin	Suatu senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan, berasa pahit dan kelat, yang bereaksi dengan dan menggumpalkan protein, atau berbagai senyawa organik lainnya termasuk asam amino dan alkaloid.
Tripenil Tetrazolium Chlorida (TTC)	Indikator redoks yang biasa digunakan dalam eksperimen biokimia terutama untuk menunjukkan respirasi seluler.
Varietas	Sekelompok tanaman dari suatu jenis atau spesies tanaman yang memiliki karakteristik tertentu
Virulensi	Kemampuan mikroorganisme patogenik untuk menyebabkan kerusakan pada inang.
Vortex	Aliran cairan yang berputar dan biasanya turbulen.
Xilem	Jaringan pengangkut tumbuhan yang berfungsi untuk mengangkut air dan garam mineral, dari akar menuju daun.



UNIVERSITAS MEDAN AREA

92

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 9/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Access From (repository.uma.ac.id)9/5/23

## Indeks

<b>A</b>	<b>F</b>
Agen, 88	Fisiologis, 22, 96
Akar, 31	FMA, 96
<b>B</b>	<b>G</b>
Bacterium, 35, 87, 88, 89, 95	Galur, 5, 22, 24
Bakteri, i, iii, iv, vii, 4, 14, 22, 26, 30, 38, 58, 59, 64, 65, 69, 70, 71, 74, 75, 77, 80, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 97, 98	Gejala, v, 1, 15, 16, 18, 19, 28, 39, 69
Bali, 12, 27, 81	Genom, 11, 35, 96
Barangan, 10	Genus, 92
Batang, 30, 32, 62, 85	<b>H</b>
BDB, v, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 34, 35, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 53, 55, 57, 58, 59, 63, 64, 65, 69, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 77, 79, 80	Hama, 105
Bibit, 79	Hortikultura, iv, 82, 84, 92
Biologi, 79, 88, 90	<b>I</b>
Blood, 35, 79, 81, 82, 83, 88, 89, 95	Identifikasi, iv, v, vii, 26, 41, 48, 57
Blood Disease Bacterium, i, iii, iv, v, vii, 9, 21, 35, 37, 63, 70, 74, 88, 95	Inang, v, 9, 26
Bonggol, 30	Indonesia, 14, 26, 27, 80, 81, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 92
Buah, 88, 90	Infeksi, v, 37
Bunga, 13, 80, 84	Isolasi, iv, v, vii, 41, 42, 43, 44, 47, 57, 58, 62, 68, 71, 79
<b>D</b>	Isolat, 22, 26, 80
Darah, v, 15, 70, 74, 80, 83, 84, 86, 87, 89	<b>J</b>
Daun, 95	Jantung, 30
Disease, 35, 79, 82, 83, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 95	Jawa, 12, 26, 27, 92
DNA, 26, 27, 28, 34, 35, 95	<b>K</b>
<b>E</b>	Kalimantan, 27
Eksudat, 95	Karakteristik, 7, 8, 24, 25, 34
	Kepok, 10, 12, 14, 26, 27
	Koloni, 8, 21, 24, 32, 80, 96
	Korteks, 97

Kultur, 32	58, 65, 69, 70, 74, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 91, 92, 93, 98
<b>L</b>	Primer, 28
Layu, i, iii, iv, v, vii, 41, 57, 69, 84, 86, 87, 88	Produk, 85, 90
Lebah, 88, 95	Produksi, 7, 25, 90
<b>M</b>	<b>S</b>
Medan, 105	Serangan, 80, 84
Mekanisme, v, 37, 98	Serangga, 80, 84, 85, 87, 88
Monograf, i, iii, iv, vii	SFR, 5, 8, 22, 24
Morfologi, 21, 29, 98	Sifat, 21, 22, 23, 32, 62
<b>O</b>	Sisir, 30
Obat, 86	Struktur, 90
Olahan, 85	Sulawesi, 12, 27
Organik, 105	Sumatera, 16, 26, 32, 62, 83, 84, 87, 89
<b>P</b>	Suswati, iii, iv, 105
Pasar, 16	<b>T</b>
Patogen, i, iii, iv, v, vii, 1, 5, 24, 41, 57, 88, 98	Tanah, 31
Penelitian, 105	Tanaman, i, iii, iv, v, vii, 9, 15, 30, 39, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 51, 52, 54, 57, 58, 61, 65, 69, 72, 74, 79, 80, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 90, 92, 93, 105
Penyakit, v, 1, 3, 15, 55, 69, 70, 74, 79, 80, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 92, 95, 105	Teknik, v, 41, 86
Penyebaran, 84, 87, 88	Terserang, i, iii, iv, v, vii, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 57
Pertanian, 80, 81, 83, 84, 87, 88, 90, 105	Tinggi, 105
Pisang, i, iii, iv, v, vii, 10, 11, 12, 14, 15, 26, 38, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 51, 57,	Tumbuhan, 83, 86, 88, 92
	<b>V</b>
	Variasi, 31
	Varietas, 10, 26, 83, 99

## Tentang Penulis

Dr. Ir. Suswati., M.P.



Penulis lahir di Parapat, 25 Mei 1965. Menyelesaikan pendidikan sarjana di Institut Pertanian Bogor (IPB) pada bidang ilmu Hama dan Ilmu Penyakit Tanaman (HPT) tahun 1988, kemudian menempuh pendidikan magister dan doktoral pada bidang ilmu yang sama di Universitas Andalas dan menyelesaikan pada tahun 2011. Penulis mengasuh mata kuliah pada bidang Agroteknologi, di antaranya: Pertanian Organik, Dasar Perlindungan Tanaman, Biologi Pertanian, Sistem Peramalan Hama dan Penyakit, dan Pengelolaan OPT Secara Berkelanjutan. Berbagai penelitian akademik telah dilakukan atas pendanaan dari Universitas Medan Area dan Kementerian Ristek-Dikti,

Saat ini penulis aktif sebagai dosen Kopertis Wilayah I Medan Fakultas Pertanian di Universitas Medan Area (UMA) dengan jabatan fungsional Lektor Kepala/IVa. Atas dedikasinya sebagai seorang pendidik, peneliti dan pengabdian masyarakat, penulis pernah beberapa kali memperoleh prestasi dan penghargaan, misalnya Pemenang Poster Terbaik Hasil Penelitian Kompetitif Nasional tahun 2015, Dosen PTS Beprestasi Tingkat Kopertis Wilayah I tahun 2018, Dosen Berprestasi Tingkat Universitas Medan Area tahun 2018 dan memperoleh Nominasi Terbaik Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Berorientasi Industri tahun 2018.

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

Document Accepted 09/5/23

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Penyakit darah bakteri yang disebabkan oleh Blood Disease Bacterium (BDB) menempati urutan pertama dalam daftar prioritas penyakit pisang yang menyebabkan kehilangan hasil 20-100 % dan kontaminasi lahan. Gejala penyakit darah pada tanaman pisang biasanya ditunjukkan oleh pelepah daun melemah (flaccid) kemudian patah pada bagian pangkalnya sehingga daun terlihat patah menggantung. Demikian pada pengembangan tanaman pisang dihadapkan pada tingginya serangan BDB tersebut. Hal tersebut 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) tingginya potensi penularan oleh serangga vektor, dan (iii) biaya pengendaliannya relatif mahal serta hanya dapat diimplementasikan dalam areal kerja yang luas. Atas dasar itu, buku ini hadir dengan tujuan memberikan kajian tentang isolasi dan identifikasi blood disease bacterium yang diisolasi dari tanaman pisang yang terserang BDB dengan gejala penguningan daun.



Dr. Ir. Suswati., M.P. lahir di Parapat, 25 Mei 1965. Menyelesaikan pendidikan doktoral pada bidang ilmu Hama dan Ilmu Penyakit Tanaman (HPT) di Universitas Andalas tahun 2011. Saat ini penulis aktif sebagai dosen Kopertis Wilayah I Medan Fakultas Pertanian di Universitas Medan Area (UMA) dengan jabatan fungsional Lektor Kepala/IVa. Atas dedikasinya sebagai seorang pendidik, peneliti dan pengabdian masyarakat, penulis pernah beberapa kali memperoleh prestasi dan penghargaan, misalnya Pemenang Poster Terbaik Hasil Penelitian Kompetitif Nasional tahun 2015, Dosen PTS Beprestasi Tingkat Kopertis Wilayah I tahun 2018, Dosen Berprestasi Tingkat Universitas Medan Area tahun 2018 dan memperoleh Nominasi Terbaik Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Berorientasi Industri tahun 2018.

