

**UJI METODE INOKULASI DAN PATOGENISITAS *Blood Disease*
Bacterium (BDB) PADA BUAH PISANG (*Musa* sp.)**

Oleh:

RATRI KUSUMA DEVI

**MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2013**

**UJI METODE INOKULASI DAN PATOGENISITAS *Blood Disease*
Bacterium (BDB) PADA BUAH PISANG (*Musa* sp.)**

Oleh:

RATRI KUSUMA DEVI
0910480135

**MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN**

**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2013**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Maret 2013

Ratri Kusuma Devi



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Uji Metode Inokulasi Dan Patogenisitas *Blood Disease Bacterium* (BDB) pada Buah Pisang (*Musa sp.*)

Nama : Ratri Kusuma Devi

NIM : 0910480135

Program Studi : Agroekoteknologi

Minat : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Menyetujui : Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS
NIP. 19550821 1980021002

Luqman Qurata Aini, SP. MSi. Ph.D
NIP. 19720919 1998021001

Mengetahui,
Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan
Ketua,

Dr. Ir. Bambang Tri Rahadjo, SU.
NIP. 19550403 198303 1 003

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Dr. Ir. Bambang Tri Rahadjo, SU
NIP. 19550403 198303 1 003

Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS
NIP. 19550522 198103 1 006

Penguji III

Penguji IV

Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS
NIP. 19550821 198002 1 002

Luqman Qurata Aini, SP. MSi. Ph.D
NIP. 19720919 199802 1 001

Tanggal Lulus :

RINGKASAN

RATRI KUSUMA DEVI. 0910480135. Uji Metode Inokulasi Dan Patogenisitas *Blood Disease Bacterium* (BDB) Pada Buah Pisang (*Musa* sp.). Dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS dan Luqman Qurata Aini, SP. MSi. Ph.D

Pisang merupakan ekspor utama buah Indonesia khususnya pada tahun 1996 – 1999. Tetapi sejak tahun 2000 terjadi penurunan ekspor yang cukup signifikan. Hal ini diakibatkan adanya serangan bakteri *Blood Disease Bacterium* (BDB) pada pertanaman pisang yang mengakibatkan beberapa perkebunan swasta menghentikan proses produksinya (Deptan, 2012). Pengetahuan metode inokulasi dan patogenisitas BDB dalam menimbulkan penyakit pada buah pisang cukup penting untuk pemulia tanaman dan peneliti penyakit tanaman. Untuk pemulia tanaman, pengetahuan tersebut berguna dalam menyeleksi ketahanan tanaman pisang terhadap BDB sedangkan bagi peneliti penyakit tanaman bermanfaat untuk mengetahui karakteristik patogenisitasnya (Rustam, 2007). Penelitian ini bertujuan untuk menguji beberapa metode inokulasi dalam rangka uji patogenisitas BDB pada buah pisang.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya pada bulan Mei sampai Desember 2012. Percobaan pertama bertujuan untuk menemukan metode inokulasi BDB yang dapat menyebabkan gejala penyakit darah pada buah pisang. Percobaan pertama terdiri dari 4 perlakuan dan 3 ulangan masing – masing perlakuan menggunakan kontrol aquades steril dan diamati setiap hari selama 7 hari. Percobaan kedua bertujuan untuk membandingkan gejala yang ditimbulkan oleh BDB dengan gejala patogen lain pada buah pisang. Patogen yang digunakan adalah *Xanthomonas oryzae*, *Ralstonia solanacearum*, *Pantoea* sp. dan *Erwinia carotovora* yang diinjeksikan kedalam buah pisang. Percobaan ketiga bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi suspensi bakteri patogen BDB pada perkembangan gejala penyakit darah pada buah pisang. Percobaan ketiga dilaksanakan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Pengamatan panjang dan prosentase gejala dilakukan pada hari ketiga dan keenam.

Berdasar hasil penelitian, Metode inokulasi injeksi dan pengolesan suspensi bakteri menggunakan *cotton bud* mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada buah pisang, Metode injeksi merupakan metode inokulasi yang paling efektif karena dapat menimbulkan gejala penyakit darah pada hari pertama setelah inokulasi pada buah pisang.

Pengujian beberapa bakteri patogen lain dan BDB pada buah pisang menunjukkan perbedaan kenampakan gejala. Bakteri patogen *Xanthomonas oryzae*, *Pantoea* sp dan *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacearum* mampu menimbulkan gejala pada daging buah, tetapi berbeda dengan gejala yang ditimbulkan oleh BDB. BDB dapat menimbulkan gejala berwarna kecoklatan baik pada daging maupun pada plasenta buah, sedangkan pathogen yang lain tidak mampu menimbulkan gejala yang sama. Kerapatan populasi BDB 10^8 dan 10^9 CFU/ml mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada hari ketiga dan keenam

setelah inokulasi. Sedangkan suspensi bakteri BDB pada kerapatan 10^7 CFU/ml tidak mampu menimbulkan gejala sampai hari ke enam setelah inokulasi.



SUMMARY

RATRI KUSUMA DEVI. 0910480135. Inoculation Methods and Pathogenicity Test of *Blood Disease Bacterium* (BDB) on Banana Fruit (*Musa* sp.). Supervised by Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS and Luqman Qurata Aini, SP. MSi. Ph.D

In 1996-1999 bananas are the major exported fruit in Indonesia. However, since 2000 the export was significantly declined due to the presence of *Blood Disease Bacterium* (BDB) disease outbreak on banana plantation. Inoculation and pathogenicity assay methods of BDB on banana fruit is important for breeder and researcher on BDB disease. For breeder, such knowledge is useful to select banana plants which have resistance against the BDB. For BDB disease researcher it is helpful to study the characteristics of the pathogenicity (Rustam, 2007). This study aims to examine several inoculation methods for pathogenicity test of BDB on banana fruit.

The research was conducted in the Laboratory of Plant Pathology, Departement of Plants Pest and Disease, Faculty of Agriculture, Brawijaya University from May until December 2012. First experiment was conducted to test the inoculation methods of BDB, consisted of four treatments, each treatment was replicated three times. The observation was conducted at 7 days after inoculation. The second experiment aims to compare the symptoms caused by BDB with those caused by other bacterial pathogen on the banana fruit. Bacterial pathogens used in this study are *Xanthomonas oryzae*, *Ralstonia solanacearum*, *Pantoea* sp. and *Erwinia carotovora*. The third experiment was conducted to test the effect of inoculums densities of BDB on symptom development of banana fruit by using Completely Randomized Design with four treatments. Each of the treatment was replicated three times.

Results showed that injection method and smearing suspension bacteria using cotton bud on the base of fruit were capable in producing symptoms of blood disease on banana fruit. The injection method is shown to be the most effective method because it caused blood disease symptoms in the banana fruit at the first day after inoculation. *Xanthomonas oryzae*, *Ralstonia solanacearum*, *Pantoea* sp. and *Erwinia carotovora* could produce the symptom on the the fruit flesh of banana, but the symptom is different with that of. BDB produced unique symptoms by causing yellowing and browning on the flesh of a banana fruit as well as browning at the fruit placenta. Inoculums densities of 10^8 and 10^9 CFU/ml of BDB could develop disease on third and sixth day after inoculation, but not in the inoculum densities 10^7 CFU/ml.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan berjudul “Uji Metode Inokulasi dan Patogenisitas *Blood Disease Bacterium* (BDB) pada Buah Pisang (*Musa* sp.)”. Skripsi ini disajikan sebagai tugas akhir dalam rangka menyelesaikan pendidikan sarjana strata satu di Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan.

Penyusunan skripsi ini juga tidak lepas dari bantuan berbagai pihak yang telah banyak membantu penulis. Dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS dan Luqman Qurata Aini, SP. MSi. PhD selaku pembimbing yang telah memberikan waktu dan kesabaran serta bimbingannya dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU selaku ketua jurusan HPT Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
3. Kakek, Nenek, dan Mas Ndiet yang menjadi motivasi utama penulis menyelesaikan studi secepat mungkin. Terimakasih atas kasih sayang, perhatian dan semangat yang telah diberikan selama ini.
4. Teman-teman HPT 09, Gembel Agro C 09 dan HIMAPTA serta semua pihak atas bantuan, perhatian dan dukungan yang telah diberikan selama penyusunan skripsi.

Penulis menyadari akan keterbatasan dalam menyusun skripsi ini, namun demikian penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Aamiin.

Malang, Maret 2013

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis merupakan putri pertama dari dua bersaudara dari pasangan Sunarko dan Yuli Andarwati, dilahirkan di Probolinggo pada tanggal 9 Juli 1991.

Penulis mengawali pendidikan di Taman Kanak-kanak Wijaya Kusuma I Maron pada tahun 1996 – 1997. Pada tahun 2003 penulis menyelesaikan pendidikan dasar di SDN Maron Wetan I, kemudian melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMPN 1 Maron dan tamat pada tahun 2006. Penulis melanjutkan sekolah menengah atas di SMA Taruna Dra. Zulaeha Leces-Probolinggo dan tamat pada tahun 2009. Pada tahun yang sama, penulis terdaftar sebagai mahasiswa program studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang melalui jalur Penerimaan Mahasiswa Berprestasi, dan pada semester 5 penulis memilih minat Hama dan Penyakit Tumbuhan.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif sebagai anggota HIMAPTA dan menjabat sebagai Ketua Departemen PSDA periode 2012-2013 serta pernah menjadi Ketua Pelaksana PROTEKSI 2012. Penulis aktif dalam berbagai kegiatan yang diadakan oleh Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman Indonesia (HMPTI). Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Dasar Perlindungan Tanaman, Peramalan Hama dan Epidemiologi, Hama dan Penyakit Penting Tanaman, Teknologi Produksi Pertanian, Manajemen Agroekosistem, Pertanian Berlanjut dan Bakteriologi Pertanian.

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	iii
KATA PENGANTAR	iv
RIWAYAT HIDUP	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
 I. PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	2
1.3 Hipotesis	2
 II. TINJAUAN PUSTAKA	 3
2.1 Pisang (<i>Musa</i> sp.)	3
2.2 Blood Disease Bacterium	5
2.3 Uji Patogenisitas	9
2.4 Inokulasi	9
 III. METODE PENELITIAN	 11
3.1 Tempat dan Waktu	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Metode Penelitian	11
 IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	 16
4.1 Isolasi BDB dari Buah Pisang	16
4.2 Pengujian Metode Inokulasi BDB pada Buah Pisang	19
4.3 Pengujian Beberapa Bakteri Patogen Lain dan BDB pada Buah Pisang	22
4.4 Pengaruh Kerapatan Inokulum BDB Pada Perkembangan Gejala Penyakit Darah Pada Buah Pisang	25
 V. KESIMPULAN DAN SARAN	 27
5.1 Kesimpulan	28
5.2 Saran	28
 DAFTAR PUSTAKA	 29
LAMPIRAN	32

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Berbagai tingkat ketuaan buah pisang (Werdiningsih, 2008).....	4
2.	Bagian penampang melintang buah pisang	5
3.	Buah pisang kepok yang telah dipanen	6
4.	Massa bakteri yang keluar dari batang tanaman pisang	8
5.	Pembusukan daging buah akibat BDB	8
6.	Irisan buah pisang yang terserang BDB	16
7.	A. Koloni BDB pada media TZC. B. Morfologi koloni tunggal BDB.....	17
8.	Hasil uji hipersensitif pada daun tembakau. Panah menunjukkan gejala nekrosis pada daun tembakau.	17
9.	Hasil uji patogenisitas pada tanaman pisang. (A) tanaman pisang diinokulasi dengan aquades (kontrol). (B) tanaman pisang setelah diinokulasi BDB. Gambar diambil pada umur 18 hsi. Panah menunjukkan gejala daun layu pada tanaman pisang.....	18
10.	Hasil uji patogenisitas pada tanaman jahe. Tanaman jahe tidak menunjukkan gejala layu hingga 20 hsi. hal ini menunjukkan bahwa tanaman jahe bukan inang alternatif dari BDBD.....	19
11.	Hasil pengujian metode inokulasi pada buah pisang pada 7 hsi: (a) P1(injeksi); (b) P2 (ditusuk dengan jarum); (c) P3 (dioles menggunakan <i>cotton bud</i>); (d) P4 (disemprot suspensi bakteri). Gejala serangan BDB ditunjukkan oleh tanda panah.	21
12.	Perbandingan gejala pada buah pisang yang disebabkan oleh BDB dan patogen lain. Tanda panah menunjukkan daging buah pisang yang terserang BDB.....	22
13.	Gejala serangan <i>Xanthomonas oryzae</i> pada buah pisang ditunjukkan oleh tanda panah	23
14.	Gejala serangan (A) <i>Erwinia carotovora</i> (B) <i>Pantoea</i> sp. pada buah pisang. Gejala ditunjukkan oleh tanda panah.....	23
15.	Gejala serangan pada buah pisang yang disebabkan oleh (a) <i>Ralstonia solanacearum</i> (b) BDB. Gejala pada buah pisang ditunjukkan oleh tanda panah.....	24
16.	Gejala infeksi BDB pada buah pisang. Tanda panah menunjukkan bercak kemerahan sebagai ciri khas dari BDB.....	27

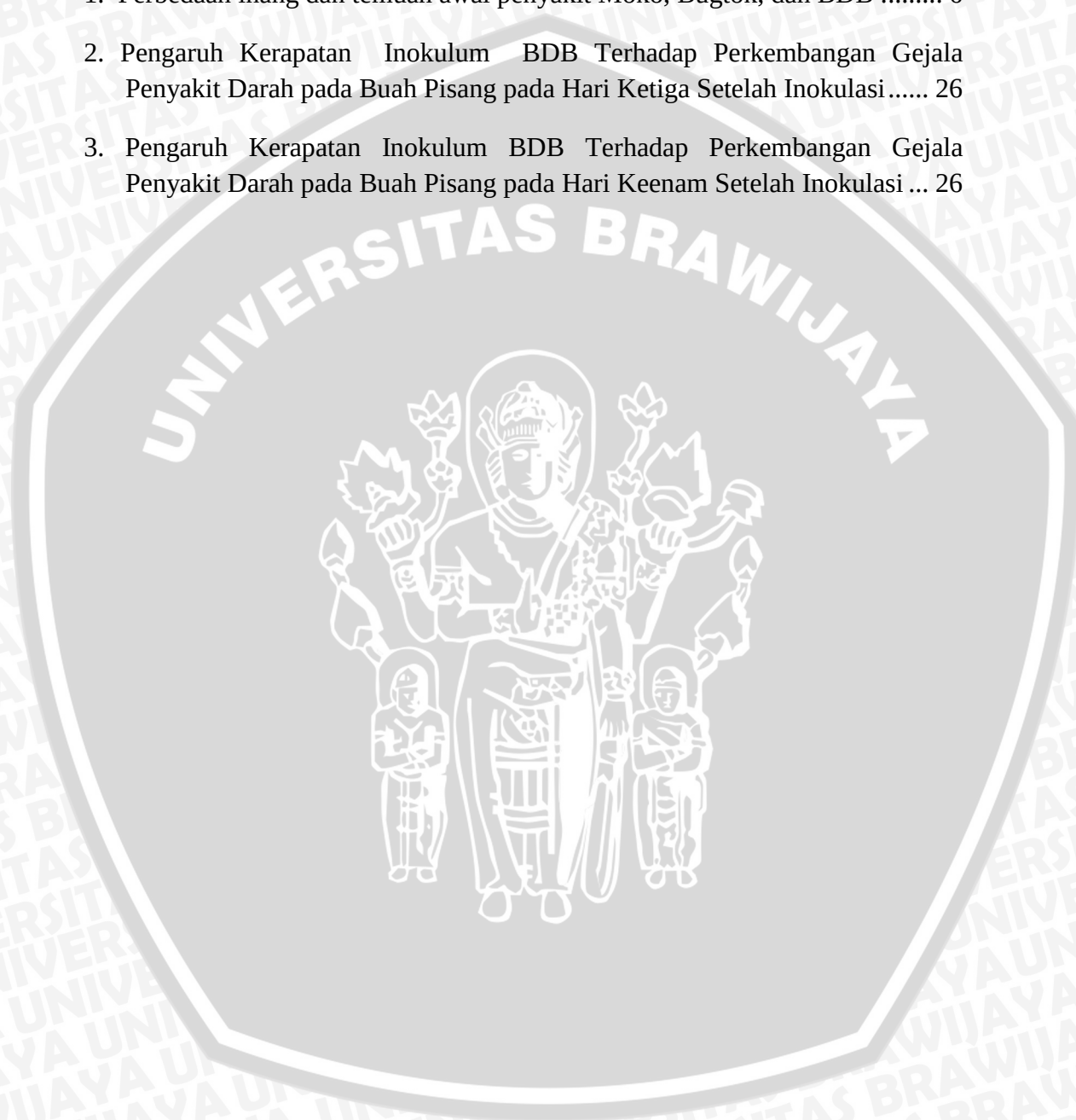
DAFTAR TABEL

Nomor

Teks

Halaman

1. Perbedaan inang dan temuan awal penyakit Moko, Bugtok, dan BDB 6
2. Pengaruh Kerapatan Inokulum BDB Terhadap Perkembangan Gejala Penyakit Darah pada Buah Pisang pada Hari Ketiga Setelah Inokulasi 26
3. Pengaruh Kerapatan Inokulum BDB Terhadap Perkembangan Gejala Penyakit Darah pada Buah Pisang pada Hari Keenam Setelah Inokulasi ... 26



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Tabel Analisis Ragam Percobaan Ketiga	32
2.	Gambar Hasil Perlakuan P1	33
3.	Gambar Hasil Perlakuan P2	34
4.	Gambar Hasil Perlakuan P3	35
5.	Gambar Hasil Perlakuan P4	36



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pisang merupakan ekspor utama buah Indonesia khususnya pada tahun 1996 – 1999. Tetapi pada tahun 2000 terjadi penurunan yang cukup signifikan yaitu 70.056 ton pada tahun 1999, turun menjadi 2.105 ton, bahkan pada tahun 2002 hanya sebesar 512 ton. Hal ini diakibatkan adanya serangan penyakit layu bakteri dan *Fusarium* pada pertanaman pisang yang mengakibatkan beberapa perkebunan swasta menghentikan proses produksinya (Deptan, 2012).

Penyakit layu bakteri yang sangat penting dan menyebabkan kerusakan besar pada tanaman pisang adalah penyakit darah yang disebabkan oleh *Blood Disease Bacterium* (BDB) (Rustam, 2007).

Menurut Sequira (1988), *Blood Disease Bacterium* (BDB) diketahui sebagai penyebab kerusakan lebih parah pada pertanaman pisang dibandingkan dengan penyakit pisang lainnya, seperti penyakit layu fusarium yang disebabkan cendawan *Fusarium oxysporum*. Hal ini disebabkan (i) semua jenis tanaman pisang yang dibudidayakan saat ini rentan terhadap patogen tersebut dan sumber-sumber ketahanan yang ada pada tanaman pisang tipe liar sangat terbatas, (ii) potensi penularan oleh serangga vektor yang cukup besar, dan (iii) biaya pengendalian relatif mahal serta hanya dapat diimplementasikan dalam areal kerja yang luas.

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

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

daun menguning dan mati, pada tanaman muda terjadi kelayuan menyeluruh (Edy, 2008)

Pengetahuan metode inokulasi dan patogenisitas BDB dalam menimbulkan penyakit pada tanaman pisang sangat penting bagi pemulia dan peneliti penyakit tanaman pisang. Bagi pemulia tanaman, pengetahuan tersebut berguna dalam menyeleksi ketahanan tanaman pisang terhadap BDB, sedangkan bagi peneliti penyakit tanaman bermanfaat untuk mengetahui karakteristik patogenisitasnya (Rustam, 2007).

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

Pengujian metode inokulasi BDB secara langsung pada buah pisang belum pernah dilakukan. Seperti diketahui bahwa BDB bisa menginfeksi pada buah pisang, karena terbawa oleh serangga vektor (Leiwakabessy, 1999), sehingga ada potensi buah pisang dapat digunakan sebagai bahan untuk uji patogenisitas BDB.

1.2 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah menguji beberapa metode inokulasi dalam rangka uji patogenisitas BDB pada buah pisang.

1.3 Hipotesis

Inokulasi *Blood Disease Bacterium* (BDB) pada buah pisang dapat menimbulkan gejala penyakit darah dan metode inokulasi dengan cara injeksi lebih cepat menunjukkan gejala penyakit darah pada buah pisang.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pisang (*Musa* sp.)

Pisang merupakan tanaman buah yang berasal dari kawasan di daerah Asia tenggara (termasuk Indonesia) dan banyak terdapat serta tumbuh di daerah tropis maupun subtropis seperti Afrika, Amerika Selatan dan Tengah.

Klasifikasi botani tanaman pisang adalah sebagai berikut. Kingdom : Plantae, Divisi : Spermatophyta, Sub Divisi : Angiospermae, Class : Monocotyledonae, Family : *Musaceae*, Genus : *Musa*, Spesies : *Musa* spp.

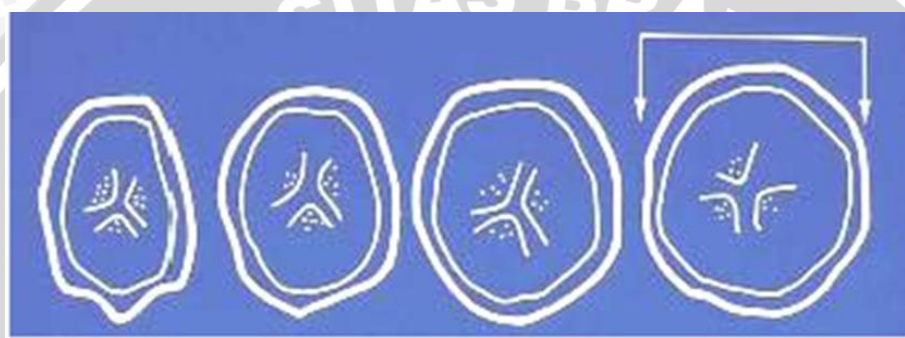
Menurut Prihatman (2000), jenis pisang dibagi menjadi empat, yaitu : (1) Pisang yang dimakan buahnya tanpa dimasak, yaitu *M. paradisiaca* var *sapientum*, *M. nana* atau disebut juga *M. cavendishii*, *M. sinensis*. Contoh pisang tersebut adalah pisang ambon, susu, raja, cavendish, barangan dan mas. (2) Pisang yang dimakan setelah buahnya dimasak, yaitu *M. parasidiacaformatypica* atau disebut juga *M. parasidiaca normalis*. Contoh pisang jenis ini adalah pisang nangka, tanduk, dan kepok. (3) Pisang berbiji, yaitu *M. brachycarpa* yang di Indonesia dimanfaatkan daunnya, misalnya pisang batu dan klutuk. (4) Pisang yang diambil seratnya, misalnya pisang manila (abaca).

Berdasarkan cara konsumsi, pisang dikelompokkan dalam dua golongan, yaitu *banana* dan *plantain*. *Banana* adalah pisang yang lebih sering dikonsumsi dalam bentuk segar setelah buah matang, contohnya pisang ambon, susu, raja, seribu dan sunripe. *Plantain* adalah pisang yang dikonsumsi setelah digoreng, direbus, dibakar atau dikolak, seperti pisang kepok, siam, kapas, tanduk dan uli (Anonim, 2008).

Pemanenan pisang harus disesuaikan dengan tujuan karena akan mempengaruhi mutu. Waktu, teknik dan kondisi pada saat pemanenan dapat mempengaruhi mutu dan harga jual.

Tingkat ketuaan buah sangat mempengaruhi mutu serta kandungan kimia dan gizinya. Tingkat ketuaan buah dapat dilihat dari tanda fisik dan umur. Umur panen dapat ditentukan mulai dari saat bunga mekar sampai buah siap dipanen. Buah pisang yang siap panen adalah buah yang berumur antara 100-120 hari setelah bunga mekar. Berdasar tingkat ketuaannya, buah digolongkan menjadi beberapa tingkatan, yaitu ; (1) tingkat ketuaan buah $\frac{3}{4}$ penuh, dengan tanda bentuk

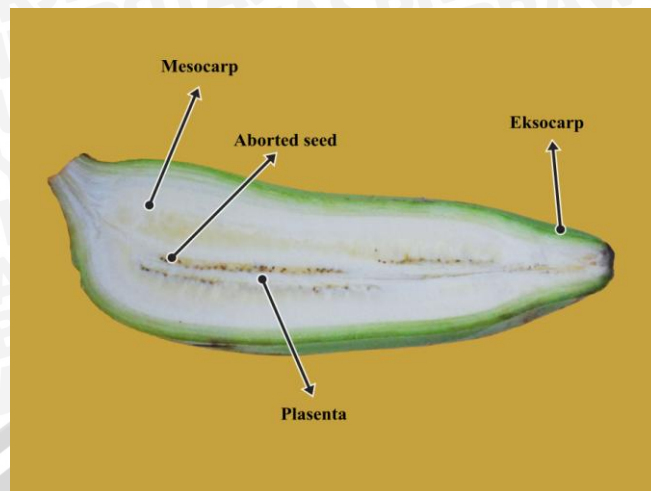
sudut pada penampang melintang buah tampak jelas dan berukuran separuh dari ukuran maksimumnya. Buah ini lebih kurang berumur 80 hari setelah pembungaan. (2) Tingkat ketuaan hampir penuh. Beberapa sudut penampang melintang buah masih tampak. Umur buah ini sekitar 90 hari setelah pembungaan. (3) Tingkat ketuaan penuh. Sudut penampang lintang buah sudah tidak tampak lagi, umur buah kurang dari 100 hari setelah pembungaan. (4) Tingkat ketuaan benar – benar penuh dengan bentuk sudut pada penampang melintang buah sudah tidak tampak lagi dan 1-2 buah bewarna kuning. Buah ini berumur 110 hari setelah pembungaan (Satuhu, 1995).



Gambar 1. Berbagai tingkat ketuaan buah pisang (Werdiningsih, 2008).

Menurut Tjitrosoepomo (2009), buah pisang dapat berkembang tanpa pembuahan dan perkembangan biji. Peristiwa tersebut dikenal sebagai partenokarpi. Bakal bijinya cepat mengerut sebelum terjadi pembuahan. Bakal biji yang abortif ini masih dapat dijumpai dengan bintik-bintik kecil berwarna cokelat dalam buah matang. Pada perkembangannya dinding buah sering menebal, bahkan berdaging. Dalam hal ini dapat dibedakan menjadi beberapa lapisan, yaitu :

- Epicarp* yaitu bagian luar buah yang lebih keras
- Mesocarp* yaitu lapisan bagian tengah yang terdiri dari jaringan renggang, berdaging, atau berserat dan merupakan bagian terlebar
- Endocarp* yaitu lapisan paling dalam dan tipis berupa selaput (Purnobasuki, 2009)
- Plasenta merupakan saluran makanan menuju biji (Limbongan, 2011). Biji yang abortif masih melekat pada plasenta. Jaringan yang menghubungkan plasenta dan biji disebut *funikulus*.



Gambar 2. Bagian penampang melintang buah pisang

2.2 Blood Disease Bacterium

Penyakit darah adalah penyakit pada tanaman pisang yang disebabkan oleh bakteri. Penyakit ini pertama kali ditemukan di Pulau Selayar, Sulawesi tahun 1910. Tahun 1923 patogen penyebab penyakit darah pada pisang diberi nama *Pseudomonas celebensis* (Semangun, 1994).

Taksonomi yang tepat untuk menyatakan nama bakteri penyebab penyakit darah pada tanaman pisang sampai saat ini belum ada, sehingga penyebutan nama bakteri ini hanya digunakan nama umum saja yaitu penyakit darah, dalam bahasa Inggris disebut *blood disease bacterium* yang disingkat menjadi BDB (Molina, 2005). Dinamakan penyakit darah karena bila batang pisang yang terserang dipotong, pada permukaan bidang potongan keluar lendir (ooze) bakteri yang berwarna kemerahan menyerupai darah. Menurut Mackie (2007) pada jaringan pembuluh, terlihat bercak-bercak berwarna coklat kemerahan (*discoloration*) yang merupakan gejala khas penyakit ini. *Discoloration* juga sering muncul pada bonggol dan anakan.



Gambar 3. Buah pisang kepok yang telah dipanen

BDB awalnya ditemukan di Sulawesi pada tahun 1920-an, kemudian menyebar di Jawa Barat pada tahun 1980-an. Saat ini, BDB sudah menyebar hingga ke Sumatera yang menyebabkan kerusakan parah terhadap tanaman pisang (Molina, 2005) dan menjadi salah satu masalah serius dalam budidaya tanaman pisang di Indonesia (Anonim, 2007).

Ada 3 jenis penyakit layu yang umumnya menyerang pisang, yaitu penyakit Moko, Bugtok dan BDB. Penyakit Moko pertama kali ditemukan pada tahun 1890-an dan berstatus endemik di Amerika Selatan dan di bagian selatan Filipina. Penyakit Bugtok ditemukan pertama kali di Filipina pada pertengahan tahun 1960, sedangkan BDB hingga saat ini hanya ditemukan di Indonesia. Ketiga patogen ini mempunyai perbedaan karakteristik pada tingkat morfologi, kisaran inang, dan aras molekulernya (Anonim, 2007).

Tabel 1. Perbedaan inang dan temuan awal penyakit Moko, Bugtok, dan BDB (Anonim, 2007).

	Moko	Bugtok	BDB
Nama Patogen	<i>R. solanacearum</i> ras 2	<i>R. solanacearum</i> ras 2	BDB
Inang Utama	<i>Heliconia sp.</i>	<i>Heliconia sp.</i>	Pisang
Inang alternatif	Pisang	Pisang	-
Negara asal	Amerika selatan (1980)	Filipina (1960)	Indonesia (1920)

Patogen BDB pada awalnya disebut *Pseudomonas celebensis*. Seiring dengan penelitian yang terus menerus dilakukan oleh ilmuwan, nama bakteri ini

diganti menjadi *Pseudomonas solanacearum*. Hasil penelitian selanjutnya mengalami perubahan lagi sehingga bakteri ini digolongkan kedalam genus *Ralstonia* dan namanya berubah menjadi *Ralstonia solanacearum*. Penelitian terakhir kemudian membuktikan bahwa bakteri penyebab BDB pada tanaman pisang di Indonesia berbeda dengan *R. Solanacearum* ras 2 yang menyerang pisang di luar Indonesia (Anonim, 2007).

Asrul (2008) melaporkan bahwa pada medium TZC (*Tetrazolium chloride*) yang diinkubasikan pada temperatur 28°C selama 4 hari, koloni bakteri berukuran 2 – 5 mm, tidak beraturan, cembung dan fluidal, dengan atau tanpa pusat formasi merah muda. Ciri lainnya adalah koloni cenderung lengket pada permukaan media sehingga agak sulit diambil menggunakan jarum ose. Sifat ini tidak dijumpai pada bakteri *Ralstonia solanacearum* dan *Pseudomonas syzygii*.

BDB dapat menyebabkan turunnya produksi pisang secara signifikan. Pengamatan di lapangan menunjukkan bahwa BDB selalu menyerang pisang *plantain* seperti pisang kepok, pisang raja dan pisang nangka (Molina, 2005). Penyebaran penyakit ini dibantu oleh vektor yang menjadi pengunjung bunga jantan pada jantung pisang (Anonim, 2007). Eden-Green (1994) melaporkan bahwa pada tanaman yang sudah berbuah, ibu tulang daun dan tangkai menjadi lemah dan patah. Daun muda menjadi kuning terang, kemudian nekrotik dan mengering. Gejala dalam penyakit darah dapat diketahui dengan memotong batang atau bonggol tanaman pisang atau bagian dalam buah pisang yang terinfeksi. Gejala yang paling khas ialah terjadinya pembusukan daging buah sehingga terjadinya perubahan warna kuning sampai coklat kemerahan. Pada umumnya permukaan kulit buah pisang yang terinfeksi tidak memperlihatkan gejala dan ukuran buah normal.



Gambar 4. Massa bakteri yang keluar dari batang tanaman pisang berwarna kecoklatan



Gambar 5. Pembusukan daging buah akibat BDB

Penyebaran BDB dapat melalui serangga vektor. Menurut Leiwakabessy (1999) serangga yang mengunjungi bunga dapat berperan sebagai pembawa patogen yang terkontaminasi pada bagian luar jaringan tubuh serangga dan menjadi salah satu cara penyebaran penyakit. Serangga ordo Diptera (famili *Chloropidae*, *Platypezidae* dan *Drosophilidae*) berpotensi sebagai vektor dan pembawa patogen karena BDB ditemukan di dalam jaringan tubuh serangga, sedangkan serangga lain dari ordo Diptera (famili *Tephritidae*, *Culicidae*, *Calliphoridae*, *Anthomyidae* dan *Muscidae*), ordo Lepidoptera (Famili *Coleophoridae*), ordo Hymenoptera (famili *Apidae*) dan ordo Blattaria (Famili *Blattidae*) ditemukan adanya kontaminasi BDB di luar jaringan tubuh serangga tersebut.

Mekanisme penularan BDB adalah melalui serangga pengunjung bunga pisang. Pisang Kepok memiliki fase pembentukan bunga jantan yang terbuka dan tidak terlindungi oleh brakatea sehingga menjadi bukaan alami bagi BDB yang terbawa oleh serangga vektor untuk menginfeksi pisang kepok (Edy, 2008). Hasil penelitian Hadiwiyono (2010) menunjukkan bahwa inokulasi suspensi BDB pada bunga pisang dapat menyebabkan gejala penyakit. BDB dapat pula menginfeksi melalui perakaran (Rustam, 2007). Bakteri masuk kedalam jaringan akar tanaman melalui lubang alami, luka buatan akibat alat pertanian, maupun luka akibat tusukan stilet nematoda (Anonim, 2012).

2.3 Uji Patogenisitas

Patogenisitas adalah kemampuan patogen dalam menyebabkan penyakit, sedangkan virulensi merupakan keberhasilan ekspresi patogenisitas. Suatu patogen dikatakan avirulen apabila gagal menimbulkan penyakit (Bilgrami dan Dube, 1976). Menurut Zimnoch-Guzowska dan Lojkowska (1993) uji patogenisitas adalah uji yang digunakan secara khusus pada identifikasi bakteri (atau jamur, virus) patogen tanaman sebagai uji untuk memastikan proses deteksi terhadap patogen. Tujuan dari uji patogenisitas adalah untuk mendeskripsikan kemampuan patogen dalam menyebabkan gejala penyakit. Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil uji patogenisitas selain perbedaan genetik antara strain bakteri (atau jamur, virus), adalah tingkat kelembapan ruangan, intensitas penerangan, suhu optimal dan waktu inkubasi selama uji patogenisitas.

Schaad (2001) mengemukakan bahwa ada beberapa prinsip yang harus dipatuhi ketika melakukan uji patogenisitas, yaitu : (1) Menumbuhkan patogen pada kondisi paling sesuai dengan pertumbuhan patogen dan mirip dengan kondisi perkembangan alaminya di lapangan. (2) Memilih teknik inokulasi yang paling mirip dengan metode inokulasi alami patogen terhadap tanaman. (3) Gejala yang terjadi pada tanaman yang telah diinokulasi harus menyerupai gejala yang terjadi di lapang.

2.4 Inokulasi

Inokulasi adalah hubungan antara patogen dengan bagian tanaman dimana infeksi mungkin terjadi. Patogen yang mendarat atau terbawa menuju tanaman

dan bersentuhan dengan tanaman disebut inokulum. Inokulum adalah bagian dari patogen yang dapat menyebabkan infeksi (Agrios, 2004).

Ada beberapa cara inokulasi patogen pada buah. Inokulasi pada buah pepaya dapat menggunakan cara penempelan, yaitu buah pepaya yang akan diinokulasi dilukai menggunakan jarum suntik steril pada empat titik permukaan buah, lalu potongan biakan cendawan ditempelkan pada permukaan buah tersebut (Hafsah, 2007). Devy (2000) menggunakan metode inokulasi celup dan tusuk pada buah cabai yang akan diuji respon ketahanannya terhadap penyakit antraknosa.

Umumnya cara inokulasi BDB dilakukan melalui pelukaan akar tanaman pisang. Rustam (2007) melakukan inokulasi BDB dengan menyiramkan 25 ml suspensi BDB ke tanah disekeliling akar yang telah dilukai. Waktu inkubasi yang dibutuhkan untuk menimbulkan gejala BDB relatif lama yaitu sekitar 18 hari setelah inokulasi.



III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

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

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan Petri (diameter 7 cm), tabung reaksi, scalpel, bunsen, jarum ose, *cotton bud*, gelas ukur (500 ml, 250 ml), autoklaf, kompor listrik, botol media, pisau, milimeter blok, penggaris, mikropipet, spektrofotometer, timbangan, sprayer, syringae, stik L, plastik dan Laminar Air Flow Cabinet (LAFC).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pisang kepok, media Nutrient Agar (NA), media Tetrazolium Chloride (TZC), aquades, spiritus, alkohol, aquades steril, dan kertas tisu steril. Biakan murni bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Blood Disease Bacterium* (BDB), *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacearum*, *Pantoea* sp., dan *Xanthomonas oryzae*.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Persiapan penelitian.

Pembuatan media Nutrient Agar (NA). Agar sejumlah 15 gram dilarutkan ke dalam 0,75 liter aquades dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk. Setelah mendidih, 8 gram *nutrient broth* yang telah dilarutkan dalam 0,25 liter aquades dicampur, kemudian dibagi ke dalam beberapa botol steril masing – masing berisi 100 ml media. Botol-botol yang telah terisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121°C selama 25 menit.

Pembuatan media *tetrazolium chloride* (TZC). Agar sejumlah 15 gram dilarutkan ke dalam 1 liter aquades dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk. Setelah mendidih, 5 gram pepton, 0,5 gram kasein hidrolisat, dan 2,5 gram glukosa ditambahkan, kemudian dibagi ke dalam beberapa botol steril masing – masing berisi 100 ml media. Botol-botol yang telah terisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121°C selama 25 menit. Sebelum dituang ke dalam petri dicampurkan larutan 2,5% TZC ke dalam botol.

Isolasi BDB dari buah pisang sakit. Bakteri patogen diisolasi dari buah pisang yang terserang penyakit darah yang dicirikan dengan gejala daging buah mengalami perubahan warna menjadi kecoklatan dan membusuk. Jika bagian daging buah yang bergejala ditekan akan keluar cairan berwarna coklat yang merupakan massa bakteri. Daging buah tersebut kemudian dipotong lalu direndam di dalam akuades steril selama 15 menit sampai massa bakterinya keluar. Selanjutnya, suspensi bakteri tersebut digores (*streak*) pada satu sisi cawan Petri yang berisikan media TZC menggunakan jarum ose yang telah disterilkan. Lalu di-*streak* kembali dari sisi sebelumnya menuju sisi yang lain dengan tujuan mendapatkan koloni tunggal untuk diperbanyak kembali (Waller, 2002)

3.3.2 Identifikasi BDB

Identifikasi dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang diisolasi dari buah pisang kepok adalah BDB bukan bakteri penyebab layu pada tanaman pisang yaitu *Ralstonia solanacearum*. Ciri – ciri dari BDB antara lain : koloni tumbuh lambat, berbentuk bulat dengan ukuran kecil (2 – 5 mm), non fluidal dan agak lengket (*viscid*) (Asrul, 2008).

Identifikasi terhadap BDB dilakukan dengan menggunakan dua tahapan yaitu :

Uji hipersensitif. uji reaksi hipersensitif dilakukan dengan menggunakan tembakau. Masing-masing suspensi isolat BDB dengan konsentrasi 10^9 CFU/ml. Suspensi bakteri diinjeksikan ke daun tembakau melalui tulang daun sekunder. Reaksi yang muncul diamati sampai satu minggu setelah perlakuan. Isolat yang bersifat patogen menunjukkan gejala nekrosis di sekitar tempat injeksi dalam kurun waktu 4 hari

Uji patogenisitas. Uji patogenisitas dilakukan dengan metode pelukaan akar dan injeksi. Pengujian dilakukan pada tanaman pisang dan tanaman jahe. Pada tanaman pisang, pisang yang digunakan adalah pisang kultivar kepok merah hasil kultur jaringan. Inokulum BDB dibiakkan dalam media NA selama 3 hari. Kemudian dari biakan dibuat suspensi dengan aquades steril hingga diperoleh kerapatan 10^9 CFU/ml.

Inokulasi dilakukan dengan cara penyiraman suspensi inokulum BDB sebanyak 25 ml/tanaman pada perakaran tanaman pisang yang telah dilukai

menggunakan *scalpel* (Rustam, 2007). Sebagai kontrol, tanaman pisang yang lain diinokulasi dengan 25 ml aquades.

Pada tanaman Jahe inokulasi dilakukan dengan cara menginjeksikan 25 ml/tanaman suspensi BDB kedalam rimpang jahe berumur 2 bulan. Sebagai kontrol, tanaman jahe yang lain diinokulasi dengan 25 ml aquades. Pengamatan dilakukan 20 hsi (Edy, 2008). Jika hasil uji patogenisitas BDB pada tanaman jahe tidak menimbulkan gejala layu, maka bakteri yang diinokulasikan tersebut adalah BDB. Karena tanaman Jahe bukan merupakan inang dari BDB melainkan inang alternatif dari *Ralstonia solanacearum*.

3.3.3 Percobaan pertama.

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

Bakteri BDB yang telah diinkubasikan selama 48 - 72 jam dipanen menggunakan stik gelas L dan dibuat suspensi dalam aquades steril. Suspensi bakteri diatur dengan spektrofotometer pada $OD_{660} = 1$, kemudian disesuaikan hingga konsentrasi 10^9 CFU/ml.

Jenis perlakuan inokulasi adalah sebagai berikut :

- P1 = injeksi satu ml suspensi bakteri menggunakan *syringe* dibagian tengah buah pisang ,
- P2 = menusuk di bagian tengah buah pisang menggunakan jarum yang telah dilumuri suspensi bakteri ,
- P3 = mengolesi pangkal buah yang telah dipotong dengan pisau steril dengan suspensi bakteri menggunakan *cotton bud*,
- P4 = penyemprotan suspensi bakteri pada permukaan buah pisang

3.3.4 Percobaan kedua

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan gejala yang ditimbulkan oleh BDB dengan gejala patogen lain pada buah pisang. Patogen yang digunakan adalah *Xanthomonas oryzae*, *Ralstonia solanacearum*, *Pantoea* sp. dan *Erwinia carotovora*. Bakteri dibiakkan selama 24-48 jam pada media NA, dibuat suspensi

dalam aquades steril, diatur dengan spektrofotometer pada $OD_{660} = 1$, kemudian disesuaikan hingga konsentrasi 10^9 CFU/ml. Suspensi bakteri diinokulasi pada buah pisang kepok menggunakan metode inokulasi yang paling efektif dari hasil percobaan pertama. Perbedaan gejala yang tampak diamati dan dibandingkan dengan gejala yang ditimbulkan oleh BDB.

3.3.5 Percobaan ketiga

Percobaan ketiga bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi suspensi bakteri patogen BDB pada pembentukan gejala penyakit darah pada buah pisang. Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Pengamatan gejala dilaksanakan pada hari ketiga dan keenam setelah inokulasi.

Bakteri BDB yang telah dibiakkan selama 48 - 72 jam pada media NA dipanen menggunakan stik L, dibuat suspensi dalam aquades steril, diatur dengan spektrofotometer pada $OD_{660} = 1$, kemudian disesuaikan hingga konsentrasi yang ditetapkan. Perlakuan yang dilakukan adalah injeksi satu ml suspensi BDB pada konsentrasi yang berbeda menggunakan *syringe* pada bagian tengah buah. Perlakuan selengkapnya adalah sebagai berikut :

- R1 : konsentrasi 1×10^9 CFU/ml
- R2 : konsentrasi 1×10^8 CFU/ml
- R3 : konsentrasi 1×10^7 CFU/ml
- R4 : aquades steril (kontrol)

3.3.6 Variabel pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap gejala kerusakan jaringan pada buah pisang yang dihasilkan oleh bakteri BDB. Buah pisang diiris membujur dan melintang, kemudian kerusakan jaringan yang dihasilkan diukur baik luas dan panjang menggunakan milimeter blok dan penggaris.

Variabel yang diamati adalah panjang plasenta buah serta panjang gejala pada plasenta buah.

Untuk mendapatkan proporsi kerusakan plasenta buah digunakan rumus :

$$P = A/B \times 100\%$$

Keterangan : P = Proporsi panjang gejala kerusakan plasenta buah (%)

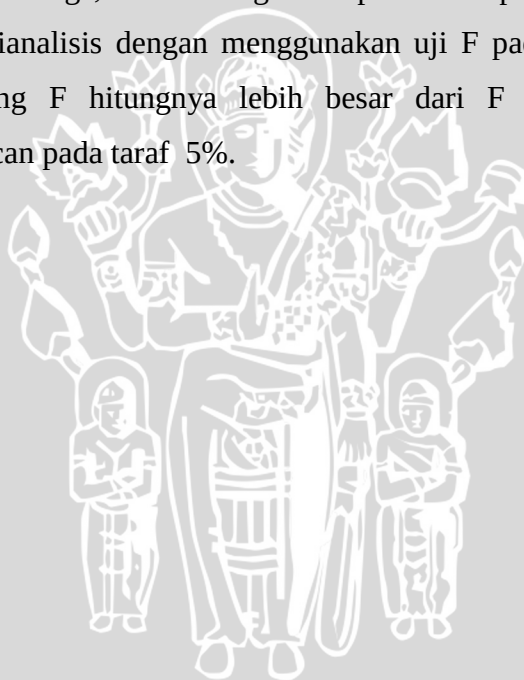
A = Panjang gejala plasenta buah yang rusak (cm)

B = Panjang plasenta buah (cm)

Foto gejala yang tampak akibat inokulasi bakteri patogen pada buah pisang merupakan variabel kualitatif untuk menunjukkan tingkat patogenisitas patogen pada buah pisang. Pengambilan gambar dilakukan setiap hari selama 7 hari.

3.3.6 Analisis data

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



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

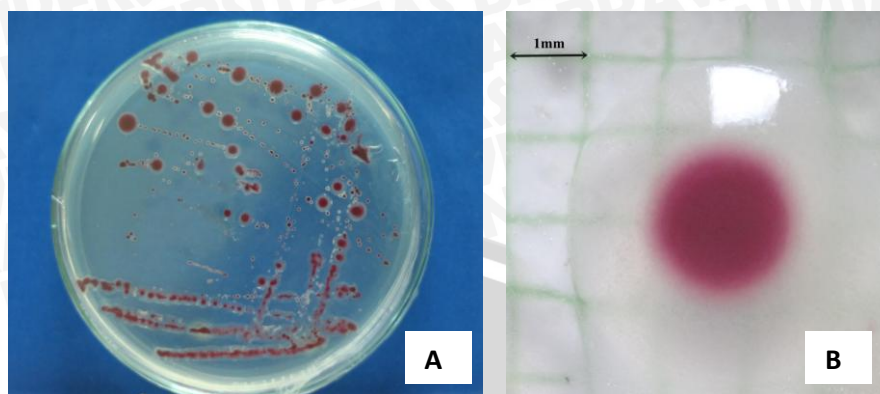
4.1 Isolasi BDB dari Buah Pisang

Buah pisang yang diduga terserang penyakit *Blood Disease Bacterium* (BDB) diambil dari kebun pisang di Desa Maron, Kabupaten Probolinggo. Ciri-ciri buah pisang yang terserang penyakit BDB adalah jika daging buah dibelah terdapat gejala perubahan warna menjadi kecoklatan. Jika bagian daging buah yang bergejala ditekan akan keluar cairan berwarna coklat yang merupakan massa bakteri (Gambar 6).



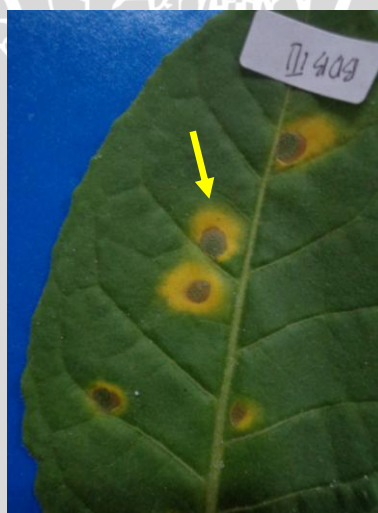
Gambar 6. Irisan buah pisang yang terserang BDB

Bakteri BDB yang diisolasi dari buah pisang ditumbuhkan di media TZC. Pada media TZC, koloni BDB mempunyai ukuran 1- 4 mm, bentuk bulat, permukaan cembung, bagian tengah koloni berwarna merah dengan pinggiran koloni jelas dan bening (Gambar 7). Ciri lainnya adalah koloni cenderung lengket pada permukaan medium sehingga agak sulit jika diambil menggunakan jarum ose. Selain itu koloni baru terbentuk pada hari keempat setelah ditumbuhkan pada suhu ruangan. Hal ini sesuai dengan karakter BDB yang dilaporkan peneliti sebelumnya (Asrul, 2008), yaitu koloni tumbuh lambat, berbentuk bulat dengan ukuran kecil (2 – 5 mm), non fluidal dan agak lengket (viscid) pada permukaan medium sehingga agak sulit jika diambil menggunakan jarum ose. Sifat ini tidak dijumpai pada bakteri *Ralstonia solanacearum* dan *Pseudomonas syzygii*.



Gambar 7. A. Koloni BDB pada media TZC. B. Morfologi koloni tunggal BDB

Uji reaksi hipersensitif dilakukan untuk menentukan apakah isolat yang diperoleh tergolong patogen atau non patogen. Isolat BDB dibiakkan dalam media NA selama 3 hari. Kemudian dari biakan dibuat suspensi bakteri dengan aquades steril hingga diperoleh kerapatan 10^9 CFU/ml. Suspensi bakteri diinjeksikan ke daun tembakau melalui tulang daun sekunder. Isolat yang bersifat patogen menunjukkan gejala nekrosis di sekitar tempat injeksi dalam kurun waktu 4 hari (Gambar 8).



Gambar 8. Hasil uji hipersensitif pada daun tembakau. Panah menunjukkan gejala nekrosis pada daun tembakau.

Selanjutnya dilakukan uji patogenisitas yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat BDB dalam menimbulkan gejala penyakit pada inangnya. Pengujian dilakukan pada tanaman pisang kultivar kepok merah hasil kultur

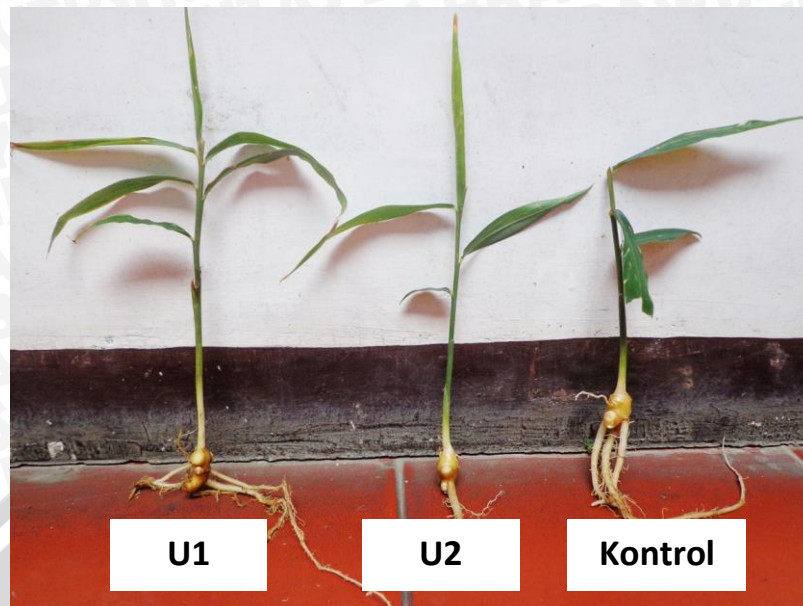
jaringan. Inokulum BDB dibiakkan dalam media NA selama 3 hari. Kemudian dari biakan dibuat suspensi dengan aquades steril hingga diperoleh kerapatan 10^9 CFU/ml.

Inokulasi dilakukan dengan cara penyiraman suspensi inokulum BDB sebanyak 25 ml/tanaman pada perakaran tanaman pisang yang telah dilukai menggunakan *scalpel* (Rustam, 2007). Sebagai kontrol, tanaman pisang yang lain diinokulasi dengan 25 ml aquades. Hasil uji patogenisitas menunjukkan bahwa isolat BDB mampu menimbulkan gejala layu pada 18 hari setelah inokulasi (hsi), sedangkan pada kontrol gejala layu tersebut tidak muncul (Gambar 9). Hasil ini menunjukkan bahwa isolat BDB yang diisolasi dari buah pisang adalah penyebab penyakit darah.



Gambar 9. Hasil uji patogenisitas pada tanaman pisang. (A) tanaman pisang diinokulasi dengan aquades (kontrol). (B) tanaman pisang setelah diinokulasi BDB. Gambar diambil pada umur 18 hsi. Panah menunjukkan gejala daun layu pada tanaman pisang.

Hasil uji patogenisitas pada tanaman jahe menunjukkan hasil negatif. tidak Pada hari ke-20 setelah inokulasi, tanaman jahe tidak menunjukkan gejala layu seperti terserang bakteri *Ralstonia solanacearum*. Hal ini membuktikan bahwa bakteri yang diinokulasi pada tanaman jahe adalah BDB karena tanaman jahe bukan merupakan inang dari BDB.



Gambar 10. Hasil uji patogenisitas pada tanaman jahe. Tanaman jahe tidak menunjukkan gejala layu hingga 20 hsi, hal ini menunjukkan bahwa tanaman jahe bukan inang alternatif dari BDBD

4.2 Pengujian Metode Inokulasi BDB pada Buah Pisang

Hasil pengujian menunjukkan bahwa metode inokulasi BDB menentukan terjadinya gejala penyakit darah pada buah pisang. Metode inokulasi dengan injeksi suspensi bakteri pada konsentrasi 1×10^9 CFU/ml ke dalam buah pisang (perlakuan P1) mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada satu hari setelah inokulasi (hsi) (Gambar 10). Gejala diawali dengan perubahan warna pada daging buah menjadi kuning kecoklatan dan pada 5 hsi menjadi coklat gelap. Pada 6 hsi mulai muncul bercak berwarna kemerahan pada daging buah pisang (Lampiran 2).

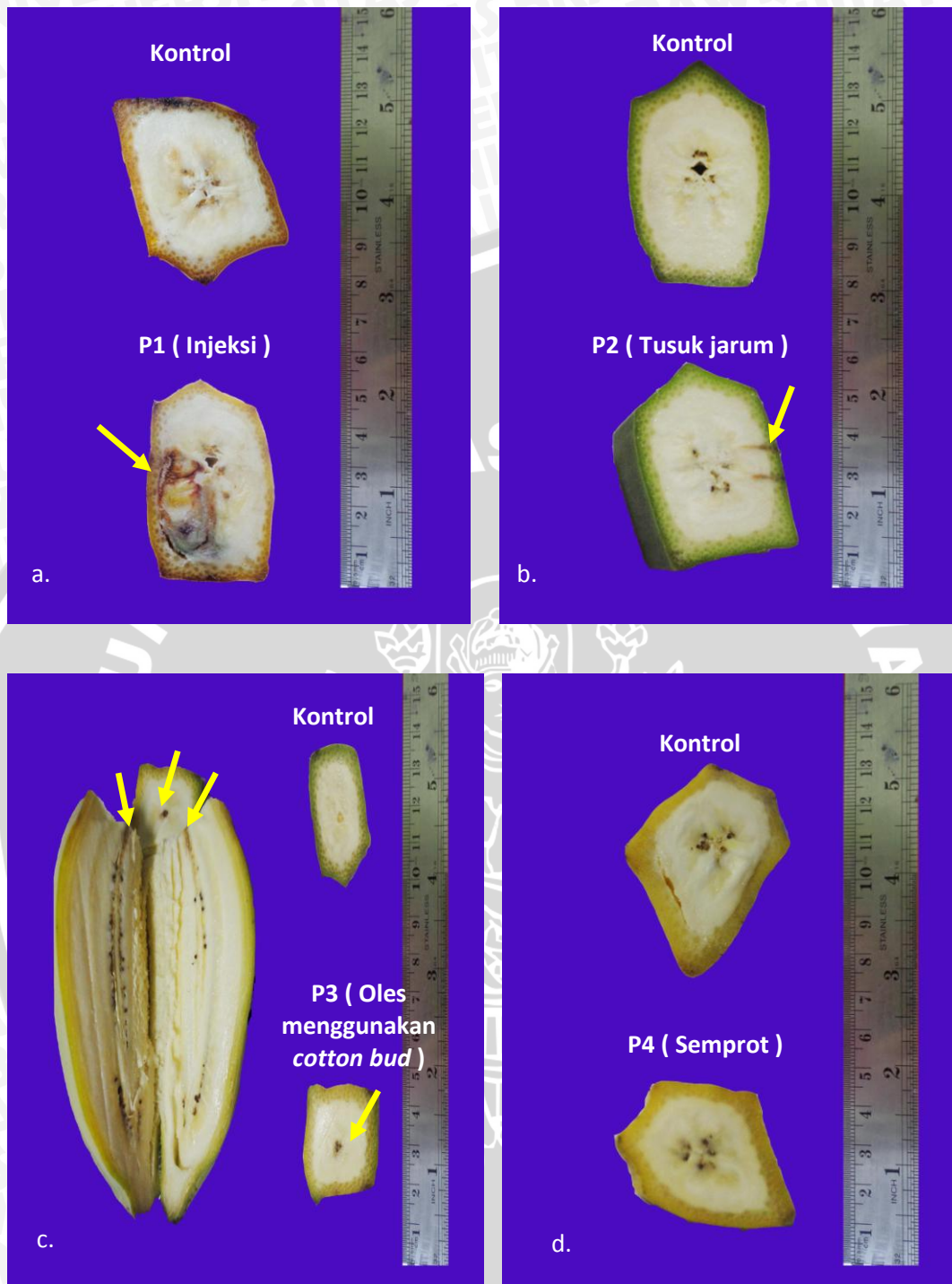
Metode inokulasi dengan jarum yang telah dilumuri suspensi bakteri (perlakuan P2), tidak menimbulkan gejala kerusakan sampai pada pengamatan 6 hsi (Gambar 10 dan Lampiran 3). Pada 7 hsi, ketika buah pisang dibelah membujur terdapat bercak memanjang yang merupakan bekas luka tusukan jarum pada daging buah. Bekas tusukan tersebut belum menunjukkan gejala penyakit darah pada buah pisang.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa metode inokulasi dengan pengolesan suspensi bakteri menggunakan *cotton bud* (perlakuan P3) tidak menimbulkan gejala serangan BDB pada 1 hingga 6 hsi (Lampiran 4). Pada 7 hsi

gejala mulai muncul pada buah pisang. Ketika buah pisang dibelah melintang, pada bagian plasenta buah menunjukkan perubahan warna menjadi kecoklatan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa selain dapat menyerang pada daging buah, BDB juga mampu menyerang bagian plasenta buah pisang. Hal ini diduga karena plasenta buah adalah jalur makanan menuju biji yang mengandung banyak cadangan makanan yang dibutuhkan untuk perkembangan bakteri (Limbongan, 2011)

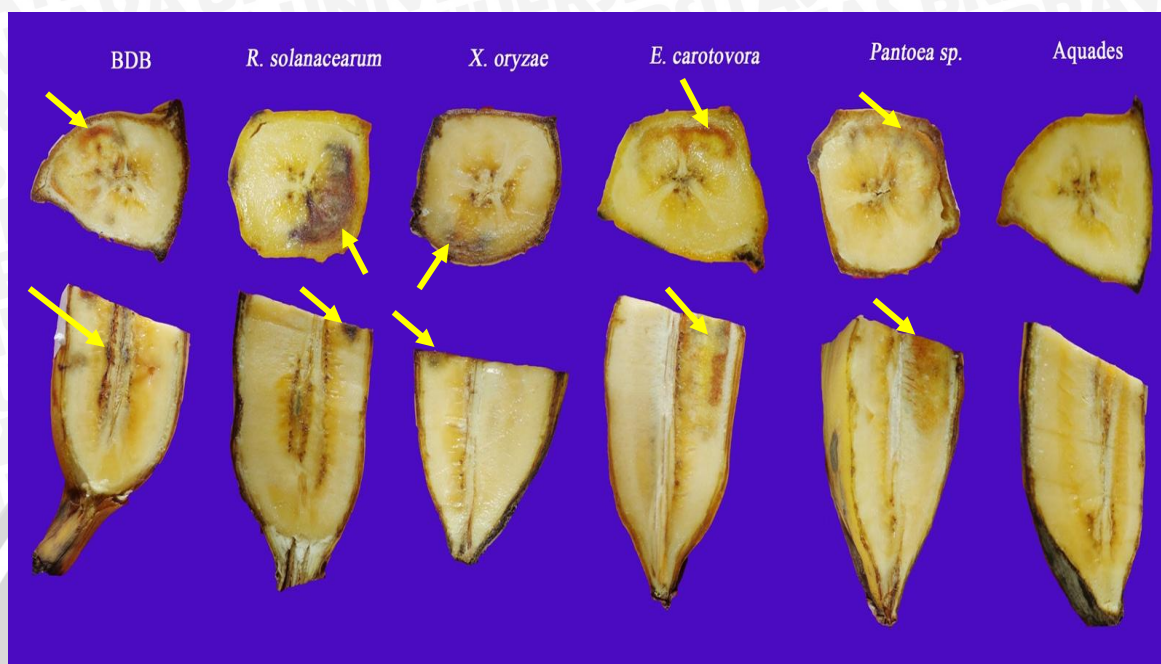
Pada metode inokulasi penyemprotan suspensi bakteri pada buah pisang (perlakuan P4), hingga 7 hsi tidak menunjukkan gejala serangan BDB pada buah pisang (Gambar 10 dan Lampiran 5).

Pada metode inokulasi injeksi, patogen secara langsung diinjeksikan ke dalam jaringan buah pisang sehingga BDB tidak melalui tahapan proses infeksi alami. Pada metode inokulasi dengan penyemprotan, suspensi bakteri disemprotkan di sekeliling buah pisang sehingga patogen masih berada di luar permukaan tanaman dan harus melalui semua tahapan proses infeksi agar dapat menimbulkan gejala penyakit. Karena tidak ada gejala yang timbul sampai dengan 7 hsi, dapat diduga bahwa BDB tidak mampu melakukan proses infeksi alami tersebut. Tahapan proses infeksi alami oleh bakteri patogen adalah; inokulasi, pengenalan dan kontak patogen dengan inang, penetrasi dan kolonisasi patogen dalam jaringan inang (Abadi, 2003)



Gambar 11. Hasil pengujian metode inokulasi pada buah pisang pada 7 hsi: (a) P1(injeksi); (b) P2 (ditusuk dengan jarum); (c) P3 (dioles menggunakan *cotton bud*); (d) P4 (disemprot suspensi bakteri). Gejala serangan BDB ditunjukkan oleh tanda panah.

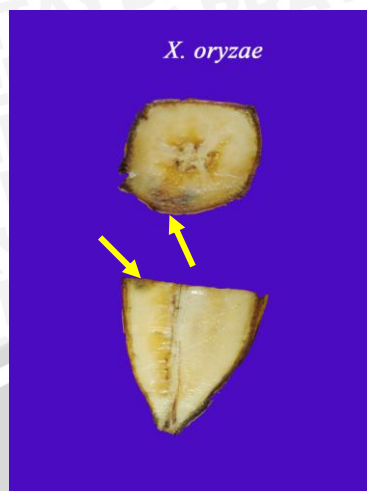
4.3 Pengujian Beberapa Bakteri Patogen Lain dan BDB pada Buah Pisang



Gambar 12. Perbandingan gejala pada buah pisang yang disebabkan oleh BDB dan patogen lain. Tanda panah menunjukkan daging buah pisang yang terserang BDB.

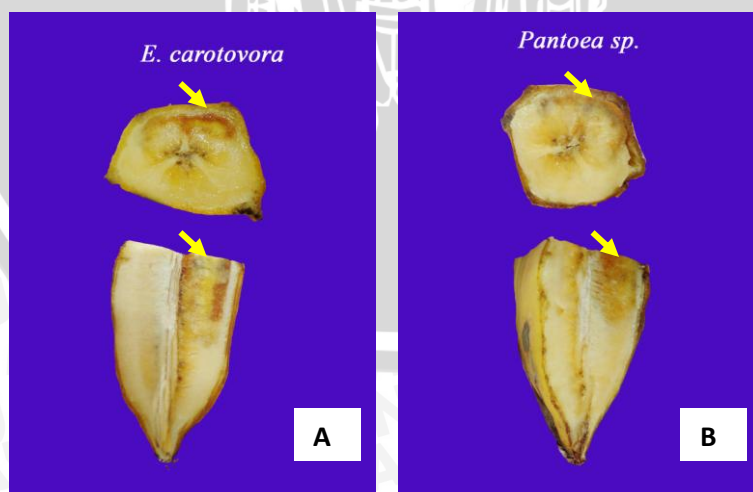
Berdasarkan hasil percobaan pertama, metode inokulasi yang paling efektif adalah menggunakan metode injeksi. Pada percobaan kedua, metode injeksi digunakan untuk inokulasi BDB, *Xanthomonas oryzae*, *Erwinia carotovora*, *Pantoea sp.*, dan *Ralstonia solanacearum* pada buah pisang.

Seluruh bakteri yang diinokulasikan dapat menyebabkan gejala pada buah pisang. Gejala yang ditunjukkan oleh *Xanthomonas oryzae* adalah berupa perubahan warna pada daging buah menjadi kuning kecoklatan dan tidak ditemukan gejala pada bagian plasenta buah (Gambar 11 dan 12).



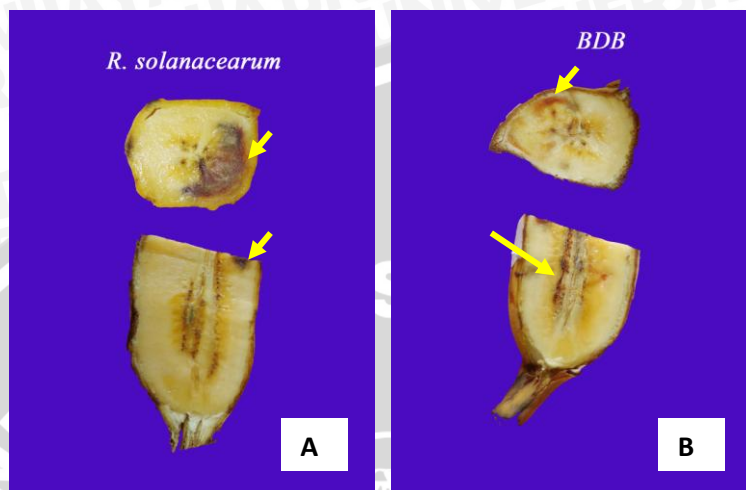
Gambar 13. Gejala serangan *Xanthomonas oryzae* pada buah pisang ditunjukkan oleh tanda panah

Gejala yang ditunjukkan oleh *Pantoea sp* dan *Erwinia carotovora* adalah berupa perubahan warna menjadi coklat hingga sedikit warna oranye pada tepian daging buah, sedangkan pada bagian plasenta buah tidak terdapat gejala (Gambar 11 dan 13). Semangun (1994) menyatakan bahwa bakteri golongan *Erwinia carotovora* adalah bakteri patogen tanaman yang menyebabkan busuk lunak pada inangnya. Golongan *Erwinia* biasa juga dijumpai di gudang tempat penyimpanan sebagai patogen kontaminan. Bakteri masuk ke dalam jaringan tanaman melalui lubang tanaman, luka, dan bekas potongan. Gejala umumnya berupa perubahan warna pada jaringan tanaman menjadi kuning kemudian coklat disertai cairan lendir berbau busuk.



Gambar 14. Gejala serangan (A) *Erwinia carotovora* (B) *Pantoea sp.* pada buah pisang. Gejala ditunjukkan oleh tanda panah.

Ralstonia solanacearum menimbulkan gejala perubahan warna menjadi kecoklatan hingga hitam pada daging buah. Sama dengan patogen sebelumnya, *R. solanacearum* tidak mampu menimbulkan gejala pada plasenta buah (Gambar 11 dan 14).



Gambar 15. Gejala serangan pada buah pisang yang disebabkan oleh (a) *Ralstonia solanacearum* (b) BDB. Gejala pada buah pisang ditunjukkan oleh tanda panah.

Ketika diinokulasikan pada buah pisang, BDB menimbulkan gejala perubahan warna kuning hingga kecoklatan serta menimbulkan warna merah pada daging buah. Selain itu gejala yang khas dan tidak ditemukan pada patogen lain yang diinokulasikan pada buah pisang adalah bagian plasenta buah mengalami kerusakan berupa perubahan warna menjadi kecoklatan. Hasil ini menunjukkan bahwa hanya BDB yang mampu melakukan infeksi dan menyebar pada bagian plasenta buah. Hal tersebut membedakan gejala yang ditimbulkan oleh BDB dengan gejala yang ditimbulkan patogen lain, sehingga dapat pula dijadikan salah satu karakteristik khusus infeksi BDB pada buah pisang. Menurut Wardiyati (2012, komunikasi pribadi) bagian plasenta merupakan bagian buah pisang yang mempunyai cadangan makanan paling banyak. BDB dapat menginfeksi dan berkembang pada plasenta buah diduga karena kandungan nutrisi pada plasenta buah pisang sesuai dengan yang dibutuhkan BDB.

4.4 Pengaruh Kerapatan Inokulum BDB Pada Perkembangan Gejala Penyakit Darah Pada Buah Pisang

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa inokulasi beberapa tingkat kerapatan inokulum BDB berpengaruh nyata terhadap gejala serangan BDB pada plasenta buah pisang (Tabel 2 dan Tabel Lampiran 1). Hasil pengujian menunjukkan bahwa inokulum BDB dengan kerapatan 10^8 CFU/ml (perlakuan R2) dan 10^9 CFU/ml (perlakuan R1) mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada buah pisang pada hari ketiga dan keenam setelah inokulasi. Sedangkan inokulum BDB dengan kerapatan 10^7 CFU/ml (perlakuan R3) dan kontrol tidak mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada plasenta buah pisang.

Diduga ketidakmampuan inokulum BDB dengan kerapatan 10^7 CFU/ml dalam menimbulkan gejala penyakit darah pada buah pisang disebabkan kerapatan inokulum tersebut dibawah ambang minimal untuk menyebabkan gejala penyakit darah pada buah pisang dan juga pada kerapatan tersebut inokulum sudah tidak virulen lagi. Kemungkinan lain, inokulasi pada buah pisang yang telah dipotong dari batang utama menyebabkan metabolisme jaringan pembuluh xylem dan floem menurun. Menurut Goodman *et al.* (1986) ketika bakteri penyebab penyakit yang menyerang jaringan pembuluh masuk kedalam inang, bakteri akan memperbanyak diri pada bagian xylem dan floem. Penurunan metabolisme jaringan pembuluh pada buah pisang diduga sebagai penyebab inokulum tersebut tidak dapat memperbanyak diri dan menghambat kemampuan inokulum dalam menimbulkan gejala penyakit darah.

Pada hari ketiga setelah inokulasi tidak ada perbedaan yang nyata diantara perlakuan R4, R3, dan R2, tetapi perlakuan R1 mempunyai perbedaan nyata dengan perlakuan yang lain. Kerusakan pada plasenta buah yang ditimbulkan oleh perlakuan R2 dengan kerapatan inokulum BDB 10^8 CFU/ml adalah sebesar 3,70% sedangkan kerusakan yang ditimbulkan perlakuan R1 dengan kerapatan inokulum BDB 10^9 CFU/ml sebesar 12,34%.

Pada hari keenam tingkat kerusakan plasenta buah pada perlakuan R4 dan R3 berbeda nyata dengan perlakuan R2 dan R1, sedangkan perlakuan R2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan R1. Perlakuan R2 dengan kerapatan inokulum BDB 10^8 CFU/ml dan perlakuan R1 dengan kerapatan inokulum BDB 10^9 CFU/ml

memberikan pengaruh nyata pada kerusakan plasenta buah dibandingkan dengan kontrol (Tabel 2 dan Tabel 3). Pada hari keenam setelah inokulasi, inokulum BDB dengan kerapatan 10^8 CFU/ml menyebabkan kerusakan sebesar 47,13% sedangkan inokulum BDB dengan kerapatan 10^9 CFU/ml menyebabkan kerusakan sebesar 50%.

Menurut Baharuddin (1994 *dalam* Rustam 2007), bahwa inokulasi BDB pada kerapatan 10^4 - 10^8 CFU/ml dengan metode injeksi pada batang tanaman pisang, dapat menimbulkan gejala penyakit darah, sedangkan pada kisaran kerapatan populasi 10^0 – 10^3 CFU/ml tidak mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada tanaman pisang. Dengan demikian kerapatan populasi BDB berpengaruh terhadap perkembangan gejala kerusakan yang ditimbulkan oleh BDB tanaman pisang.

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

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

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

Tabel 3. Pengaruh Kerapatan Inokulum BDB Terhadap Perkembangan Gejala Penyakit Darah pada Buah Pisang pada Hari Keenam Setelah Inokulasi

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

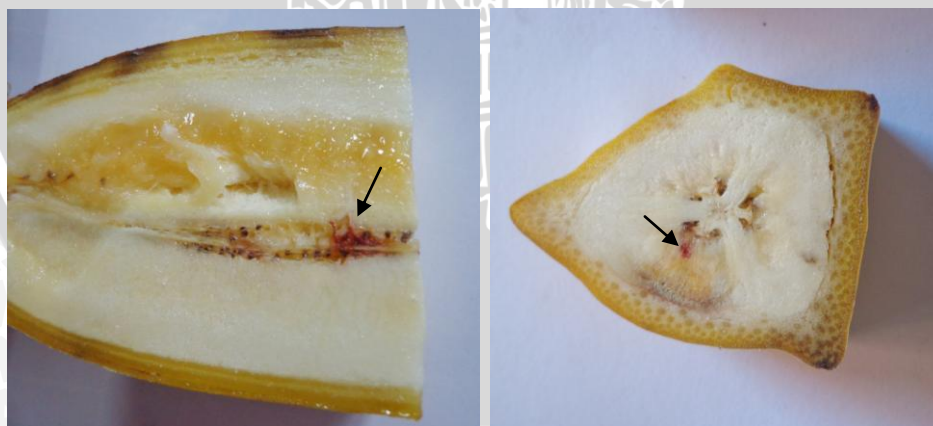
Keterangan : nilai yang diikuti dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

Secara umum hasil penelitian ini menunjukkan bahwa buah pisang dapat digunakan sebagai bahan percobaan uji patogenisitas BDB. Gejala yang

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

Perbedaan kerapatan inokulum BDB juga berpengaruh terhadap perkembangan gejala penyakit darah pada daging dan plasenta buah pisang. Kerapatan inokulum minimum untuk dapat menimbulkan gejala pada buah pisang adalah 10^8 CFU/ml. Hal ini jauh lebih tinggi dibanding kerapatan minimal yang dibutuhkan untuk menimbulkan gejala penyakit darah pada tanaman pisang dengan metode injeksi pada batang yaitu 10^4 CFU/ml (Baharuddin, 1994).

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



Gambar 16. Gejala infeksi BDB pada buah pisang. Tanda panah menunjukkan bercak kemerahan sebagai ciri khas dari BDB

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Metode inokulasi injeksi dan pengolesan suspensi bakteri menggunakan *cotton bud* pada buah pisang mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada buah pisang.
2. Metode injeksi pada buah pisang merupakan metode inokulasi yang lebih efektif karena dapat menimbulkan gejala penyakit darah pada hari pertama setelah inokulasi.
3. Kerapatan populasi BDB 10^8 dan 10^9 cfu/ml mampu menimbulkan gejala penyakit darah pada hari ketiga dan keenam setelah inokulasi.
4. Ciri khas gejala serangan BDB pada buah pisang adalah munculnya bercak kemerahan pada daging buah pisang dan perubahan warna pada plasenta buah pisang menjadi kecoklatan pada 7 hari setelah inokulasi, ciri tersebut berbeda dengan gejala yang ditimbulkan oleh patogen lain yaitu: *Xanthomonas oryzae*, *Pantoea sp* dan *Erwinia carotovora*, dan *Ralstonia solanacearum*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan khususnya tentang identifikasi dan karakterisasi BDB serta pengaruh inokulasi BDB pada beberapa varietas buah pisang yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, A. L. 2003. Ilmu Penyakit Tumbuhan 3. Bayumedia. Malang. p 145
- Agrios, G.N. 2004. Plant Pathology. Fifth Edition. Academic Press. San Diego. p 80.
- Anonim^a. 2007. Workshop Pengendalian Penyakit Darah Pada Pisang (Online). Fakultas Pertanian Universitas Taduluko, Sulawesi Tengah, 26 Februari 2007. Diunduh dari www.karantina.deptan.go.id tanggal 9 November 2008.
- Anonim^b, 2008. Pisang (Online). Diunduh dari <http://id.wikipedia.org/wiki/pisang> tanggal 9 November 2008.
- Anonim^c, 2012. Blood Disease Bacteria (BDB) pada Pisang (Online). Diunduh dari <http://kusumadarma17.blogspot.com/2011/07/blood-disease-bacteria-bdb-pada-pisang.html> tanggal 18 Desember 2012.
- Asrul, 2008. Uji Sensivitas Koloni BDB Terhadap Pemberian Bahan Kimia Secara In Vitro. J. Agroland 15 (3) : 198-203
- Baharuddin, B. 1994. Pathological, Biochemical, and Sereological Characterization of the Blood Disease Bacterium Affecting Banana and Plantain (*Musa* sp.). Molecular Plant Pathology. 84 (6) : 570-575
- Bilgrami, K.S. dan H.C Dube. 1976. A Textbook of Modern Plant Pathology. PVT LTD. New Delhi.
- Daeli, J.H. 2009. Induksi Enzim Polifenol Oksidase Tanaman Pisang Kultivar Kepok sebagai Respon Fisiologis terhadap Bakteri Penyakit Darah. Skripsi. Universitas Andalas.
- Deptan.2012.http://www.deptan.go.id/ditlinhorti/index.php?option=com_content&view=article&id=738%3Aperbanyak-benih-pisang-sehat&catid=1%3Aberita&Itemid=161 (Online). Diunduh tgl 22 juni 2012
- Devy, L. 2000. Uji Laboraturium untuk Mengevaluasi Resistensi Cabai Merah (*Capsicum annum* L.) terhadap Patogen Antraknosa (*Colletotrichum capsici*) : Pengaruh Metode Inokulasi dan Tingkat Kematangan Buah. Skripsi. Institut Pertanian Bogor
- Eden-Green, S.J. 1994. Banana Blood Disease. Musa Disease Fact Sheet No 3. INIBAP. Agropolis.

- Edy, N.P., Johanis dan Baharuddin. 2008. Karakterisasi Morfologi Patogenisitas dan Biokimia Bakteri Penyebab Penyakit Darah pada Pisang di Lembah Palu. *J. Agrisains* 9(2):65-72.
- Goodman, R.N., Z. Kiraly dan K.R. Wood. 1986. *The Biochemistry and Physiology of Plant Disease*. p 28-29
- Hadiwiyono. 2010. *Penyakit Darah Pada Tanaman Pisang : Infeksi dan Keanekaragaman Genetika Patogen*. Disertasi. Universitas Gadjah Mada.
- Hafsah, S. 2007. Daya Gabung dan Heterosis Ketahanan Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Penyakit Antraknosa. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 35 (3).
- Leiwakabessy, C. 1999. Potensi Beberapa Jenis Serangga dalam Penyebaran Layu Bakteri *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* Yabuuchi *et al.* Pada Pisang Lampung. Thesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Limbongan, J. 2011. Karakteristik Morfologis dan Anatomis Klon Harapan Tahan Penggerek Buah Kakao sebagai Sumber Bahan Tanam. *Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan*. 31 (1).
- Mackie, A. 2007. *Banana Blood Disease : Blood Disease Bacterium*. Departement of Agriculture and Food. Factsheet. p 186.
- Molina, A.B. 2005. Developing a Regional Strategy to Adress the Outbreak of Banana *Xanthomonas* Wilt in East and Central Africa : Managing bacterial wilt/fruit Rot Disease of Banana in Southest Asia. Dalam *Proceeding of Banana Xanthomonas Wilt Regional Preparedness and Strategy Development Workshop Held in Kampala, Uganda, 14 – 18 February 2005*.
- Prihatman, K. 2000. Pisang (*Musa spp*). Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Pedesaan, BAPPENAS. Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Permasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Jakarta. <http://www.ristek.go.id>
- Purnobasuki, H. 2009. Buah (Online). Diunduh dari biologiunair.files.wordpress.com/2011/03/buah.ppt pada tanggal 9 November 2012.
- Rustam. 2007. Uji Metode Inokulasi dan Kerapatan Populasi Blood Disease Bacterium pada Tanaman Pisang. *J. Hort*. 17 (4):387-392
- Satuhu, S. 1995. Teknik Pemeraman Buah. Penebar Swadaya. Jakarta. p 137

- Schaad, N.W., J.B. Jones, dan W. Chun . 2001 . Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, Third Edition. St. Paul : APS Press. p 102
- Semangun, H. 1994. Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. UGM Press. Yogyakarta. p 850
- Sequeira, L. 1988. Bacterial Wilt : The Missing Element in International Banana. INRA. p 6-14
- Tjitrosoepomo, G. 2009. Morfologi Tumbuhan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. p 266
- Waller, J.M., J.M. Lenne and S.J. Waller. 2002. Plant Pathologist's Pocketbook 3rd Edition. CABI. p 208
- Werdiningsih, W. 2008. Kajian Perubahan Mutu Pisang Raja Bulu Selama Proses Penyimpanan dan Pemeraman. Skripsi. Institut Pertanian Bogor
- Zimnoch-Guzowska and Lojewska, 1993. Resistance to *Erwinia* spp. in diploid potato with a high starch content. Potato Research 36: 177-182. (<http://www.biotech.univ.gda.pl/odl/biochem/photogenicity.html>). Diunduh pada tanggal 19 Juni 2012.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Analisis Ragam Percobaan Ketiga

Tabel Lampiran 1. Tabel Analisis Ragam Kerusakan Plasenta Buah pada Hari Ketiga Setelah Inokulasi

sk	jk	db	kt	F hit	F tab 5%	F tab 1%
Perlakuan	2.27	3	0.75	5.08*	4.06	7.59
Galat	1.19	8	0.14			
Total	3.47	11				

Tabel Lampiran 2. Tabel Analisis Ragam Proporsi Kerusakan Plasenta Buah pada Hari Ketiga Setelah Inokulasi

sk	jk	db	kt	F hit	F tab 5%	F tab 1%
Perlakuan	996.52	3	332.17	7.64**	3.23	5.29
Galat	695.09	16	43.44			
Total	1691.62	19				

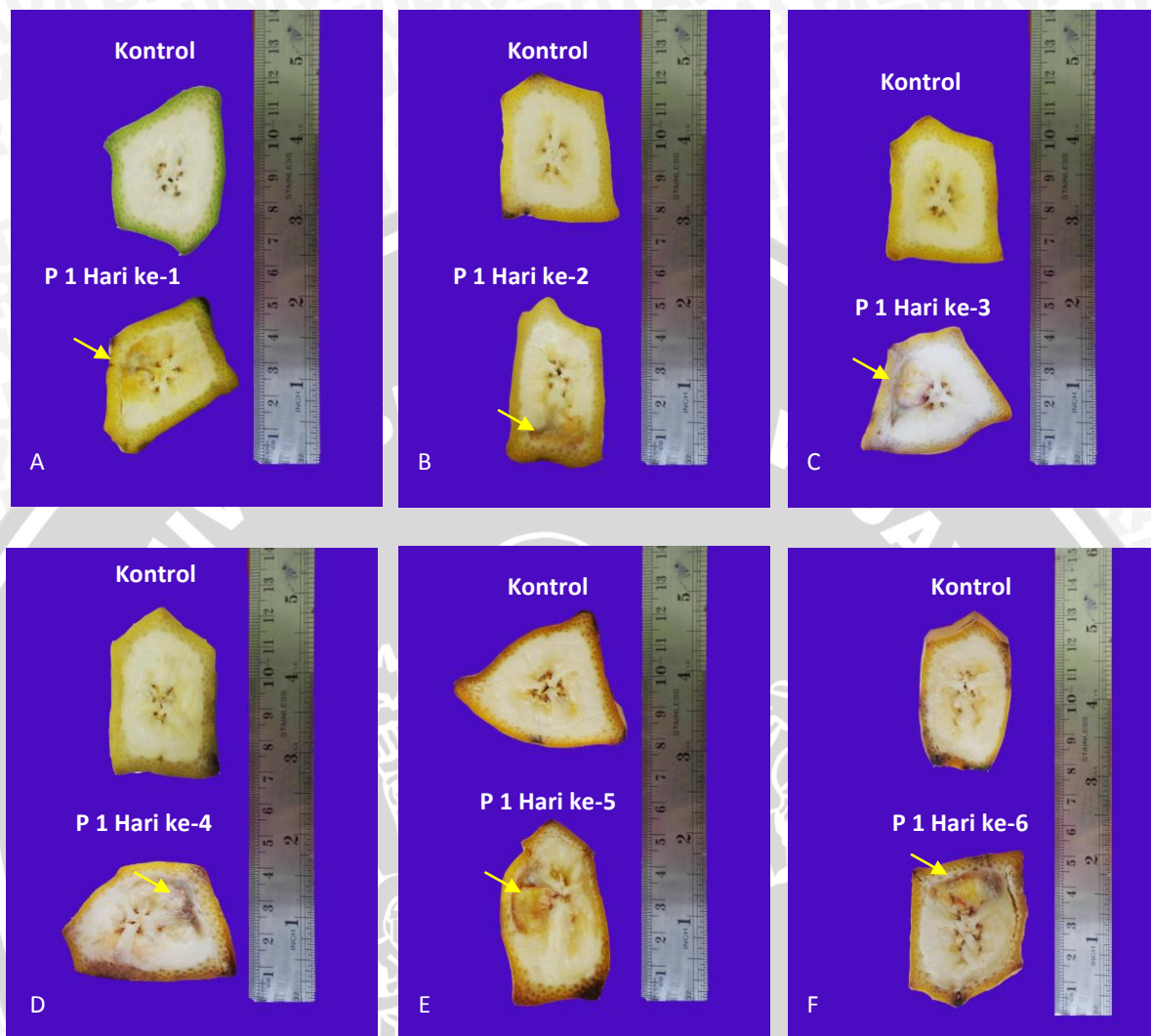
Tabel Lampiran 3. Tabel Analisis Ragam Kerusakan Plasenta Buah pada Hari Keenam Setelah Inokulasi

sk	jk	db	kt	F hit	F tab 5%	F tab 1%
Perlakuan	99.037	3	33.01	9.29**	3.23	5.29
Galat	56.84	16	3.55			
Total	155.87	19				

Tabel Lampiran 4. Tabel Analisis Ragam Proporsi Kerusakan Plasenta Buah pada Hari Keenam Setelah Inokulasi

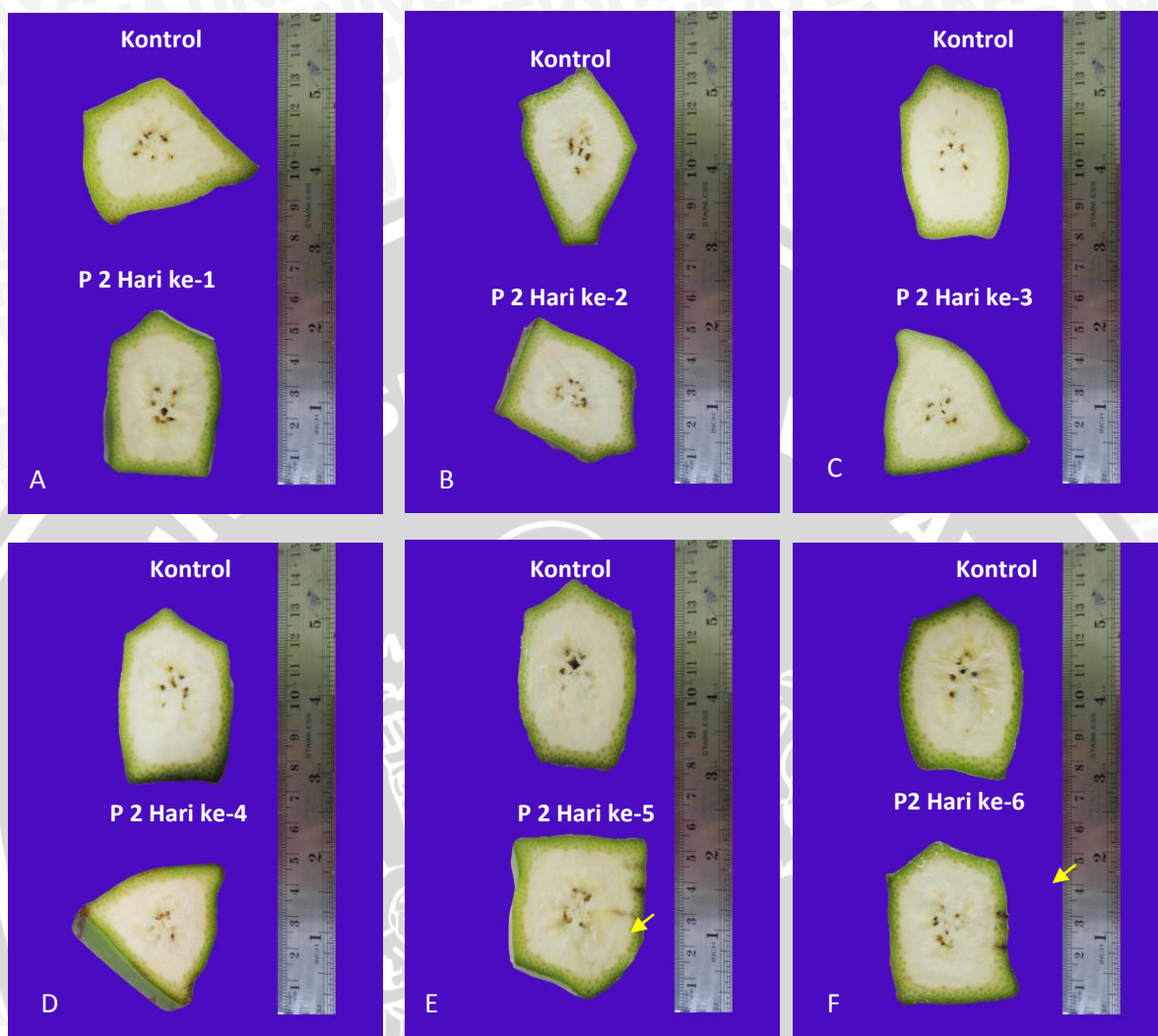
sk	jk	db	kt	F hit	F tab 5%	F tab 1%
Perlakuan	11814.42	3	3938.13	9.31**	3.23	5.29
Galat	6764.21	16	422.76			
Total	18578.63	19				

Lampiran 2. Gambar Hasil Perlakuan P1



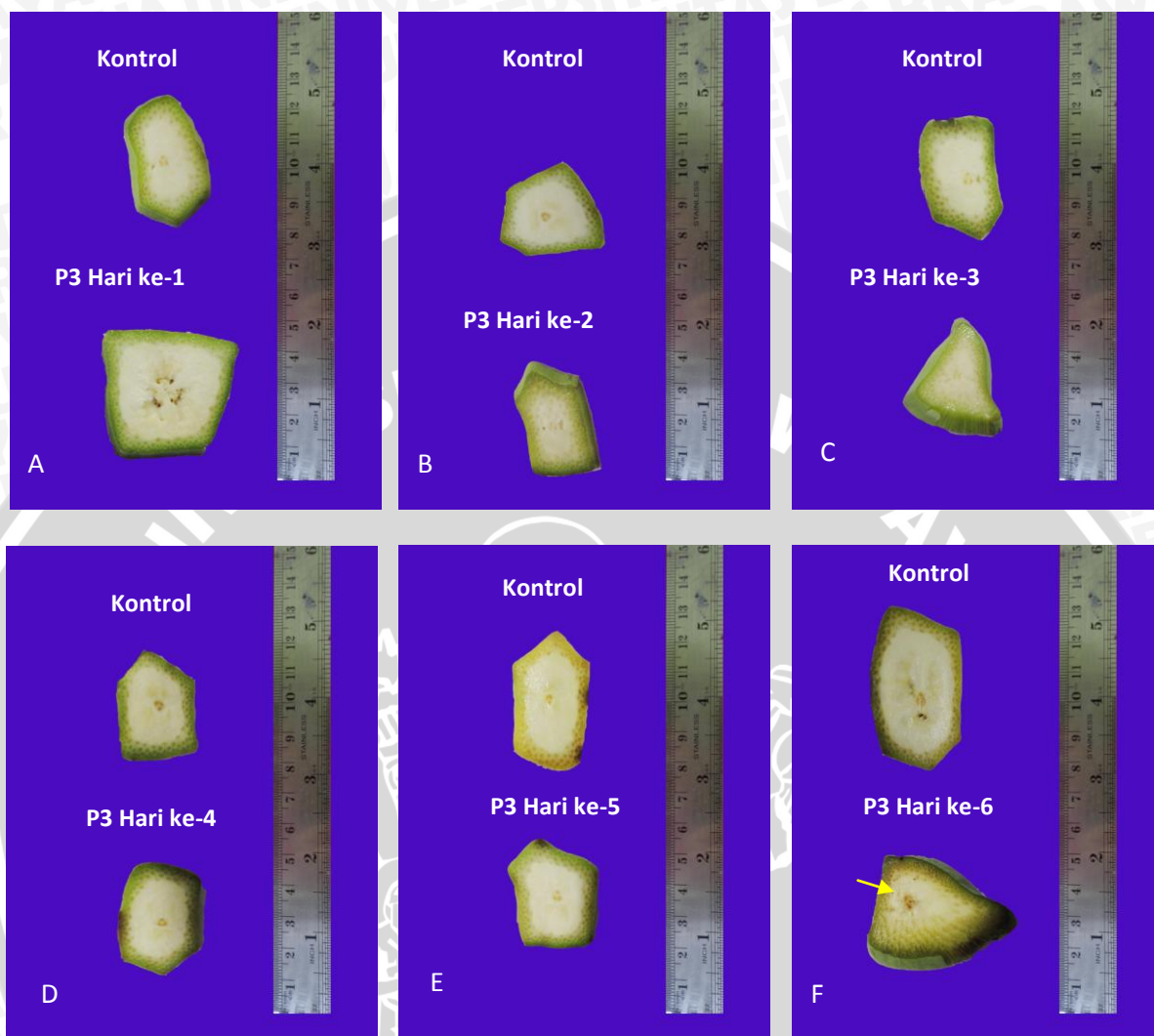
Gambar Lampiran 1. Hasil Pengujian metode inokulasi injeksi (P1) pada buah pisang. (A) 1 hsi; (B) 2 hsi; (C) 3 hsi; (D) 4 hsi; (E) 5 hsi; (F) 6 hsi. Tanda panah menunjukkan gejala kerusakan akibat inokulasi BDB.

Lampiran 3. Gambar Hasil Perlakuan P2



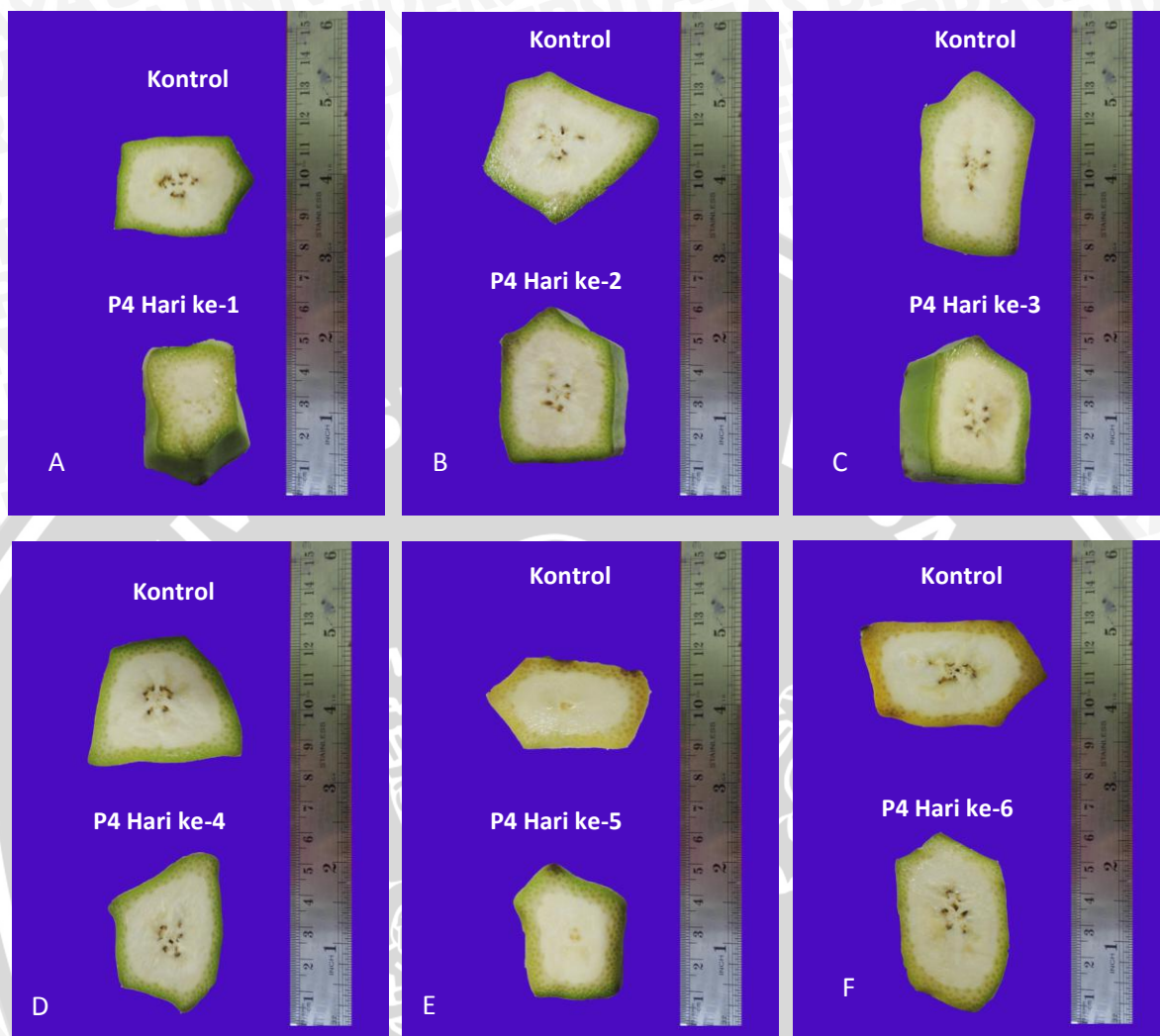
Gambar Lampiran 2. Hasil Pengujian metode inokulasi menusukkan jarum yang telah di olesi suspensi bakteri (P2) pada buah pisang. (A) 1 hsi; (B) 2 hsi; (C) 3 hsi; (D) 4 hsi; (E) 5 hsi; (F) 6 hsi. Tanda panah menunjukkan gejala kerusakan akibat inokulasi BDB.

Lampiran 4. Gambar Hasil Perlakuan P3



Gambar Lampiran 3. Hasil Pengujian metode inokulasi mengolesi pangkal buah menggunakan *cotton bud* yang telah dilumuri suspensi bakteri (P3) pada buah pisang. (A) 1 hsi; (B) 2 hsi; (C) 3 hsi; (D) 4 hsi; (E) 5 hsi; (F) 6 hsi. Tanda panah menunjukkan gejala kerusakan akibat inokulasi BDB.

Lampiran 5. Gambar Hasil Perlakuan P4



Gambar Lampiran 4. Hasil Pengujian metode inokulasi menyemprot buah pisang menggunakan suspensi bakteri (P4) pada buah pisang. (A) 1 hsi; (B) 2 hsi; (C) 3 hsi; (D) 4 hsi; (E) 5 hsi; (F) 6 hsi. Tidak ada gejala kerusakan yang muncul.