

## POTENSI *TRIGONA* SPP. SEBAGAI AGEN PENYEBAR BAKTERI *RALSTONIA SOLANACEARUM* PHYLOTIPE IV PENYEBAB PENYAKIT DARAH PADA TANAMAN PISANG

Mairawita<sup>1</sup>, Trimurti Habazar<sup>2</sup>, Ahsol Hasyim<sup>3</sup> & Nasril Nasir<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Ilmu-Ilmu Pertanian Pemusatan Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman, Sekolah Pascasarjana,  
Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis, Padang 25163

E-mail: mairawitamarlisrahman@gmail.com

<sup>2</sup>Program Studi Hama dan Penyakit Tanaman, Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis

<sup>3</sup>Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Lembang

<sup>4</sup>Program Studi Biologi Universitas Andalas, Kampus Unand Limau Manis

### ABSTRACT

**Potency of *Trigona* spp. as the spreader agent of *Ralstonia solanacearum* Phylotype IV, the causal agent of Banana Blood Disease.** Banana blood disease (*Blood Disease Bacteria*, BDB) caused by *Ralstonia solanacearum* Phylotype IV is the most important banana disease in Indonesia. So far, information on the spread of disease by insects is very limited. The research was aimed to determine the role of insect as a disseminator of *R. solanacearum* Phylotype IV and to determine the amount of BDB inoculum carried by each individual insect. The experiment was conducted in May - September 2008. Samples of insects (adult insects, the young insects, larvae, eggs), nectar, and pollen were taken from a colony of *Trigona* spp. collected from BDB endemic area, Baso plateau (876 m asl) using purposive sampling method. Active adult insects were collected from the BDB infected banana flowers and healthy banana flowers. BDB on adult insects was isolated from the caput and abdomen, while for the young insects, larvae and pupae the isolation source were not differentiated. Each of the samples was rinsed, macerated, and cultured on medium containing *Triphenyl Tetrazolium Chloride* (TTC). BDB isolate characterization and identification were conducted through morphological, physiological, and pathogenicity tests. The parameter observed was the: population of BDB (cfu/ml) on each stage of insect development. The results showed that BDB can be isolated from the outside and the inside of the body of an adult, a young insect, pupa, larva also on pollen and nectar but it was not found in eggs. BDB population was higher in inside part of the insect body in each phase of the development of the insect. From all phases, the BDB was higher in inner part of the body of adult insects which have visited infected banana flower.

Key words : *Trigona* spp., insects spreaders, insect vector, banana, *R. solanacearum* Phylotype IV, the population of BDB.

### ABSTRAK

**Potensi *Trigona* spp. sebagai agen penyebar bakteri *Ralstonia solanacearum* phylotype IV penyebab penyakit darah pada tanaman pisang.** Penyakit darah (*Blood Disease Bacteria*, BDB) yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* Phylotype IV menempati urutan pertama dalam daftar penyakit pisang di Indonesia. Sampai saat ini informasi mengenai penyebaran penyakit ini oleh serangga sangat terbatas. Tujuan penelitian adalah (i) mengetahui peran *Trigona* spp. sebagai penyebar *R. solanacearum* Phylotype IV dan (ii) mengetahui jumlah inokulum BDB yang terbawa oleh setiap individu serangga. Penelitian dilaksanakan pada Mei - September 2008. Sampel serangga (serangga dewasa, serangga muda, larva, telur) nektar dan polen diambil dari koloni *Trigona* spp. di daerah endemik BDB dataran tinggi Baso (876 m dpl) menggunakan metode *purposive sampling*. Serangga dewasa aktif diambil dari bunga pisang Kepok yang terinfeksi BDB dan bunga pisang sehat. Isolasi BDB dari serangga dewasa dilakukan dari bagian caput dan abdomen, sementara untuk serangga muda, larva dan pupa tidak dilakukan pembagian tubuh. Isolasi BDB menggunakan teknik pembilasan dan maserasi yang dibiakkan pada medium *Triphenyl Tetrazolium Chlorid* (TTC). Karakterisasi dan identifikasi BDB dilakukan dengan uji morfologi, fisiologis dan uji patogenisitas. Parameter penelitian adalah populasi BDB (upk/gr) dari setiap tahapan perkembangan serangga. Hasil penelitian menunjukkan bahwa BDB dapat diisolasi dari bagian luar dan bagian dalam tubuh serangga dewasa, serangga muda, pupa, larva di polen dan nektar sedang pada telur tidak ditemukan BDB. Populasi BDB ditemukan lebih tinggi pada bagian dalam dibanding bagian luar setiap fase perkembangan serangga, dimana populasi BDB tertinggi ditemukan pada bagian dalam tubuh serangga dewasa yang mengunjungi bunga pisang terinfeksi BDB.

Kata kunci : *Trigona* spp., serangga penyebar, serangga vektor, pisang, *R. solanacearum* Phylotype IV, populasi BDB.

## PENDAHULUAN

Penyakit darah (*Blood disease bacteria*/BDB) yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* Phylotype IV merupakan penyebab utama turunnya produksi pisang di Indonesia dan menempati urutan pertama dalam daftar prioritas penyakit pisang. Bakteri ini bersifat mematikan dan menginfeksi jaringan pembuluh secara sistemik (Eden-Green, 1992), dan dilaporkan pertama kali pada tahun 1907 di Kepulauan Selayar (Wardlaw, 1972). Sampai tahun 1999 sebaran penyakit BDB (*Blood Disease Bacteria*) telah dilaporkan di Sumatera Barat (Hermanto *et al.*, 1998; Setyobudi & Hermanto, 1999), enam tahun kemudian dilaporkan bahwa tanaman pisang di Nagari Tabek Panjang, Bungo Koto Tuo, Simarasok, Padang Tarok dan Koto Tinggi, Kecamatan Baso yang merupakan sentra pertanaman pisang di dataran tinggi Kabupaten Agam Sumatera Barat telah terserang BDB dengan kategori berat hingga puso (Janimar, 2005).

Perkembangan dan penyebaran penyakit ini tergolong sangat cepat. Penyebaran geografis penyakit darah di Indonesia berkisar 100 km tahun<sup>-1</sup> (Eden-Green, 1994) dan di Sumatera berkisar antara 189-203 km tahun<sup>-1</sup> (Setyobudi & Hermanto, 1999), saat ini semua pertanaman pisang di Sumatera Barat telah terserang BDB. Cepatnya perkembangan dan penyebaran penyakit BDB disebabkan oleh serangga vektor. Beberapa peneliti melaporkan adanya indikasi yang kuat bahwa serangga berperan penting dalam penyebaran penyakit (Maryam *et al.*, 1994; Soguilon *et al.*, 1995; Setyobudi & Hermanto, 1999).

Jenis serangga yang dilaporkan sering mengunjungi bunga pisang yang terserang penyakit layu dan diduga berperan dalam penyebaran penyakit Moko (strain SFR) adalah *Trigona* spp. (Apidae), *Polybia* sp. (Vespidae) dan *Drosophila* sp. (Drosophilidae) (Buddenhagen & Ellaser, 1962). Menurut Leiwakabessy (1999), *Trigona* spp. merupakan agen penular penyakit BDB pada pertanaman pisang di Lampung. Penyebaran penyakit layu pada tanaman pisang yang disebabkan *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* (Xcm) di Uganda juga disebabkan oleh serangga pengunjung bunga (Tushemereirwe *et al.*, 2001; 2003). Beberapa famili serangga Apidae, Lonchaeidae, Muscidae, Tephritidae dan Vespidae ditemukan sebagai vektor penyakit layu *Xanthomonas* pada pertanaman pisang di Ethiopia (Shimelas *et al.*, 2008).

Kelompok serangga vektor sering ditemukan mengunjungi bunga jantan (*male bract*) bunga betina (*flower scars*) pada tanaman sakit dan sehat (Eden-Green, 2004). Kelompok *stingless bee* (*Plebeina*

*denoiti*) dan spesies yang belum teridentifikasi (Apidae) dilaporkan berperan sebagai vektor Xcm dan jumlah koloni bakteri tertinggi ditemukan pada serangga yang mengunjungi bunga tanaman pisang yang terinfeksi Xcm dibanding pada serangga yang mengunjungi bunga tanaman sehat. Hasil observasi di pertanaman pisang yang terserang berat BDB di dataran tinggi (Tabek Panjang, Kecamatan Baso, Kabupaten Agam, Propinsi Sumatera Barat) menunjukkan adanya dua jenis serangga yang paling sering mengunjungi bunga pisang yaitu *Trigona* spp. (Apidae) dan *Drosophila* spp. Penelitian tentang peran kedua jenis serangga tersebut khususnya *Trigona* spp. (lebah tak bersengat), atau yang lebih dikenal dengan sebutan galo-galo, dalam penyebaran penyakit BDB di dataran tinggi masih terbatas.

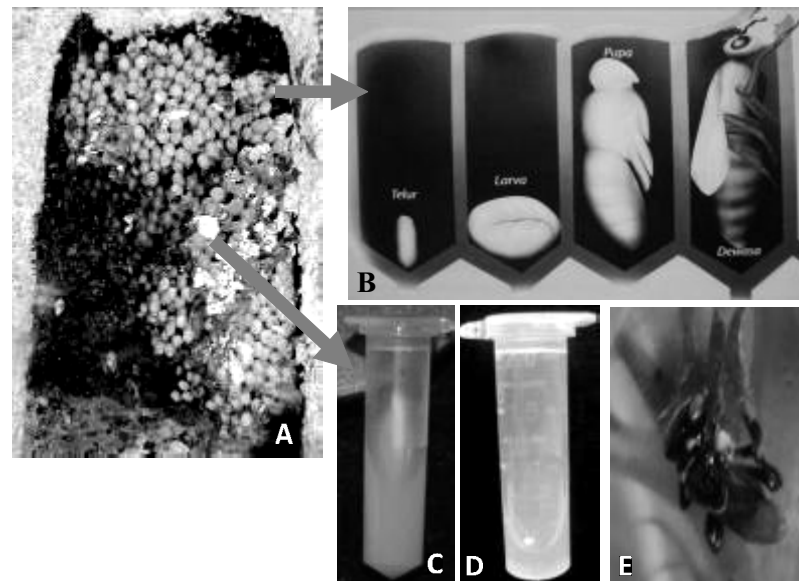
Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui peran *Trigona* spp. sebagai penyebar BDB dan mengetahui jumlah inokulum BDB yang terbawa oleh setiap individu serangga tersebut.

## METODE PENELITIAN

Penetapan lokasi penelitian menggunakan metode *purposive sampling* yaitu berdasarkan daerah endemik BDB di dataran tinggi Baso (S.00°16'02.2"-S.00°16'02.5", E 100°27'08.7"- E 100°27'12.2"), ketinggian tempat 876 m dpl, Kecamatan Baso, Kabupaten Agam, Propinsi Sumatera Barat. Penelitian dilaksanakan pada Mei-September 2008.

**Pengambilan Sampel Imago *Trigona* spp. dari Bunga Pisang.** Imago *Trigona* spp. (Gambar 1E) ditangkap pada bunga jantan ("jantung") pisang sehat dan bunga jantan pisang yang terserang BDB menggunakan jaring serangga (*sweep net*) pada pukul 09.00-10.00 Wib. Sampel serangga diambil dari 11 bunga pisang Kepok sehat dan 7 bunga Kepok sakit. Serangga yang diperoleh dilemahkan dengan menggunakan uap Ether, kemudian setiap ekor dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf berisi 9 ml air steril (3 ulangan), dilabeli, dan dimasukkan ke dalam kotak es (*ice box*) dan dibawa ke laboratorium untuk isolasi dan identifikasi BDB.

**Pengambilan Sampel Telur, Larva, Pupa, Imago Baru *Trigona* spp., Polen dan Nektar dari Koloni *Trigona* spp.** Fase telur, larva, pupa, imago baru *Trigona* spp., polen dan nektar diambil dari koloni *Trigona* spp. (Gambar 1 B, C, D dan A). dan masing-masing tahapan perkembangan *Trigona* spp. diambil 3 ekor atau butir, dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf



Gambar 1. Koloni, fase perkembangan *T. minangkabau*, dan imago *Trigona* spp.. (A) Koloni *T. minangkabau*, (B) fase perkembangan *T. minangkabau* (telur, larva, pupa dan dewasa), (C) polen, (D) nektar, dan (E) imago *Trigona* spp..

yang berisi 9 ml air steril, dilabeli dan diletakkan di dalam kotak es, dibawa ke laboratorium Bakteriologi untuk isolasi BDB. Pengambilan sampel serangga dilakukan pada pukul 09.00 WIB. Selanjutnya, sebanyak 1 gr polen dan 100  $\mu$ l nektar dimasukkan ke dalam masing-masing tabung Ependroff yang berisi 9 ml air steril.

**Isolasi BDB dari Bagian Luar Tubuh Imago *Trigona* spp. yang Mengunjungi Bunga Jantan.** BDB diisolasi dengan menggunakan medium *triphenyl tetrazolium chloride* (TTC) (Baharuddin, 1994). Isolasi bakteri dilakukan dari 3 ekor imago *Trigona* spp. Sebanyak 1 gr masing-masing bagian tubuh serangga (kepala dan abdomen) dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air steril, kemudian divortex dengan kecepatan 300 rpm. Air bilasan diencerkan ( $10^{-2}$  dan  $10^{-4}$ ), kemudian 10  $\mu$ l masing-masing hasil pengenceran dibiakkan dengan metode tuang pada medium selektif TTC, dan diinkubasi pada suhu ruang  $29^{\circ}\text{C}$  selama 48-72 jam. Isolasi BDB ini juga dilakukan pada sampel telur, larva, pupa, dan imago baru *Trigona* spp..

**Isolasi BDB dari Bagian Dalam Tubuh Imago *Trigona* spp. yang Mengunjungi Bunga Jantan.** Bagian kepala dan abdomen *Trigona* spp. secara terpisah didesinfeksi dengan larutan Natrium hipoklorit 5% selama 15 menit. Setelah itu dicuci dengan air steril 3-4 kali kemudian dikeringanginkan, dan 1 gr masing-masing bagian digerus lalu ditambahkan air steril 9 ml.

Hasil gerusan diencerkan ( $10^{-2}$  dan  $10^{-4}$ ), kemudian 10  $\mu$ l masing-masing hasil pengenceran dibiakkan dengan metode tuang pada medium selektif TTC, diinkubasi pada suhu ruang  $29^{\circ}\text{C}$  selama 48-72 jam. Isolasi BDB ini juga dilakukan pada sampel telur, larva, pupa, dan imago baru *Trigona* spp..

**Isolasi BDB dari Polen *Trigona* spp..** Sebanyak 1 gr polen diambil dari sel polen koloni *Trigona* spp. dan ditambahkan ke dalam 9 ml air steril, divortex dengan kecepatan 300 rpm dan diencerkan ( $10^{-2}$  dan  $10^{-4}$ ). Sebanyak 10  $\mu$ l masing-masing hasil pengenceran dibiakkan dengan metode tuang pada medium selektif TTC, kemudian diinkubasi pada suhu ruang  $29^{\circ}\text{C}$  selama 48-72 jam.

**Isolasi BDB dari Nektar *Trigona* spp.** Sebanyak 100  $\mu$ l nektar diambil dari sel nektar koloni *Trigona* spp. dan ditambahkan ke dalam 9 ml air steril, divortex dengan kecepatan 300 rpm dan diencerkan ( $10^{-2}$  dan  $10^{-4}$ ). Sebanyak 10  $\mu$ l masing-masing hasil pengenceran dibiakkan dengan metode tuang pada medium selektif TTC, dan diinkubasi pada suhu ruang  $29^{\circ}\text{C}$  selama 48-72 jam.

**Identifikasi Patogen Penyakit Darah.** Identifikasi dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang diisolasi dari semua fase perkembangan serangga, polen dan nektar benar-benar *R. solanacearum* Phylotype IV penyebab penyakit darah pada tanaman pisang. Biakan murni BDB digunakan sebagai sumber inokulum untuk

pengujian patogenisitas dan karakterisasi sifat morfologis dan fisiologis BDB.

**Pengujian Sifat Morfologi.** Semua isolat bakteri yang diperoleh diuji pertumbuhannya pada medium selektif TTC, diinkubasi pada suhu ruang 29°C selama 48-72 jam. Sifat morfologi koloni bakteri pada medium TTC (3 hsi) yang dicatat meliputi bentuk, ukuran, bentuk pinggiran, warna dan bentuk permukaan.

**Sifat Fisiologi.** Sifat fisiologi *R. solanacearum* Phylotipe IV meliputi uji reaksi Gram, uji enzim Pektinase, uji reaksi hipersensitif (HR) dan uji patogenisitas.

**Uji Reaksi Gram.** Uji Gram dilakukan dengan metode Hayward (1990). Larutan KOH 3% diteteskan pada gelas objek kemudian ditambah satu lup koloni bakteri dan diaduk hingga rata, jika di dalam pengujian ini ada reaksi (lengket) maka bakteri digolongkan dalam bakteri yang bersifat Gram negatif, sebaliknya jika tidak ada reaksi, maka bakteri tersebut bersifat Gram positif.

**Uji Enzim Pektinase.** Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim pektinase menggunakan metode Schaad (1988). Kentang dibersihkan dan dipotong-potong ukuran 1 cm<sup>2</sup> berbentuk persegi, permukaannya didesinfeksi dengan alkohol 70% selama 5 menit kemudian dibilas dengan air steril 3-4 kali. Irisan kentang diletakkan 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 terjadi apabila ada perubahan warna permukaan kentang (menjadi coklat kehitaman) dan permukaan kentang menjadi lunak.

**Uji Reaksi Hipersensitif.** Uji reaksi hipersensitif dilakukan dengan menyuntikkan 300 µl suspensi koloni bakteri yang diduga koloni BDB pada permukaan bawah daun tanaman kembang pukul empat (*Mirabilis jalapa* L.). Hasil positif pada uji reaksi hipersensitif menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan patogen tumbuhan dan dapat diduga bakteri tersebut merupakan BDB.

**Uji Patogenisitas.** Untuk memastikan bahwa koloni bakteri yang diperoleh adalah *R. solanacearum* Phylotipe IV maka koloni yang menunjukkan hasil positif pada uji reaksi hipersensitif diuji patogenisitasnya 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 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 dengan 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 (Tabel 1) menurut Winstead & Kelman (1952) dalam Leiwakabessy (1999). Virulensi bakteri dinilai berdasarkan periode inkubasi dan tipologi gejala menurut Baharuddin (1994) (Tabel 2).

**Pengamatan Populasi *Trigona spp.* dan Populasi *R. solanacearum* Phylotipe IV.** Pengamatan aktivitas serangga *Trigona spp.* dilakukan terhadap populasi serangga yang mengunjungi bunga pisang sehat dan sakit (terserang penyakit darah bakteri) selanjutnya dilakukan penghitungan propagul *R. solanacearum* Phylotipe IV dari semua stadia *Trigona spp.*, nektar dan polen dari sel-sel penyimpanan dalam koloni serangga tersebut.

Populasi *Trigona spp.* dihitung berdasarkan jumlah serangga yang tertangkap di setiap bunga tanaman sehat dan sakit. Populasi *R. solanacearum* Phylotipe IV yang terdapat pada bagian kepala dan abdomen (bagian luar dan dalam) serangga dewasa pada bunga pisang sehat dan sakit, serangga muda, pupa, larva, telur, polen dan nektar yang berasal dari koloni *T. minangkabau* ditentukan menggunakan rumus Klement *et al.* (1990) yang dimodifikasi:

$$JB = A \times B$$

dengan:

JB = Jumlah bakteri

A = Jumlah koloni bakteri

B = Faktor pengenceran

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Populasi *Trigona spp.* pada Bunga Pisang.** Di lahan endemik BDB dataran tinggi Tabek Panjang, Kecamatan Baso, Kabupaten Agam, Propinsi Sumatera Utara, ditemukan populasi *Trigona spp.* atau galo-galo dalam jumlah tinggi pada bunga pisang Kepok yang terserang BDB dibanding dengan yang terjadi pada bunga sehat. Dalam satu hari, satu tanaman pisang Kepok sakit yang berbunga dikunjungi oleh (28,14 ± 13,75) ekor, dengan kunjungan pada pagi hari lebih tinggi (18,00 ± 8,75) ekor dibanding dengan kunjungan pada sore hari

(10,14 ± 5,00) ekor, sedang pada bunga pisang sehat jumlah serangga ditemukan lebih rendah. Terjadi peningkatan kunjungan sebesar 29,02 % pada bunga jantan pisang sakit (Tabel 3). Hal ini disebabkan karena imago tertarik bau cairan bakteri (oospore) yang menetes dari patahan kelompok bunga jantan atau seludang. Oospore ini mengandung propagul bakteri dalam jumlah tinggi.

Tingginya populasi *Trigona* spp. yang mengunjungi bunga pisang sakit sangat menentukan cepatnya perkembangan dan penyebaran penyakit darah di dataran tinggi Tabek Panjang. Dalam periode satu kali masa berbunga pisang terserang BDB dikunjungi lebih banyak imago *Trigona* spp. (140,70 ± 68,75) ekor dibanding pada bunga sehat (109,05 ± 33,15) ekor. Pada bunga pisang kultivar Kayinja (pisang Awak) yang terserang BXW di distrik Mukono, Luwero dan Mpigi, Uganda ditemukan serangga pengunjung bunga dalam jumlah tinggi dari famili Apidae (*Plebeina denoiti* (Vachal) *stingless bee*, lalat buah (Drosophilidae) dan *grass flies* (Chloropidae). Ketiga jenis serangga tersebut

jumlahnya 4 kali lebih banyak pada bunga jantan tanaman yang terserang (Shimelash *et al.*, 2008).

Tingginya kepadatan *Trigona* spp. yang mengunjungi bunga pisang Kepok pada pagi hari disebabkan karena berbagai faktor diantaranya kesesuaian dengan sumber makanan dan kualitas makanan. Kadar gula bunga pisang Kepok tergolong lebih tinggi (26.37 (24.81-27.93) %) dari kadar gula jenis pisang lainnya (Setyobudi & Hermanto, 1999). Konsentrasi gula nektar yang dihasilkan pagi hari lebih disukai *Trigona* spp. Menurut Yuniana (2002) konsentrasi gula nektar tanaman jeruk manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) yang dihasilkan pagi hari lebih tinggi (38%-39%) dan lebih disukai oleh *T. minangkabau*, *T. itama* dan *T. moorei*. Hal ini juga diperkuat oleh hasil penelitian Widjaja (1991) bahwa kunjungan lebah pekerja lapangan pada jenis-jenis tumbuhan bergantung pada letak bunga dari lokasi sarang, kadar gula nektar, letak nektar, warna dan aroma bunga. Disamping itu seringkali kunjungan *Trigona* spp. pada bunga pisang Kepok juga disebabkan karena jarak sarang ke sumber makanan yang relatif dekat. Di sekitar

Tabel 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 2. Penelitian 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

Tabel 3. Rerata populasi *Trigona* spp. (± SD) yang mengunjungi bunga pisang Kepok sehat dan sakit

Tanaman pisang	Frekuensi kedatangan (ekor/pengamatan)		Populasi (ekor/hari)	Peningkatan (%)
	09.00-10.00 wib	15.00- 16.00 wib		
Tanaman sehat	13,00 ± 2,64 (11) <sup>a</sup>	8,81 ± 3,99	21,81 ± 6,63	-
Tanaman sakit	18,00 ± 8,75 (7)	10,14 ± 5,00	28,14 ± 13,75	29,02

<sup>a</sup>Jumlah tanaman pisang yang berbunga tempat pengambilan sampel *Trigona* spp.



daerah penelitian ditemukan banyak sarang koloni *Trigona spp.* seperti pada pondok-pondok kebun, rongga pohon, tiang-tiang bambu, celah-celah dinding rumah. Hampir 50% rumah penduduk sekitar daerah penelitian terbuat dari kayu terutama rumah Gadang. Pada satu rumah Gadang ditemukan 3-4 koloni *Trigona spp.* Hasil penelitian Salmah (1992) menunjukkan bahwa *Trigona spp.* membuat sarang pada rongga-rongga batang pohon dan cabang pohon, tiang-tiang bambu, celah-celah dinding rumah dan rongga pada paku tiang.

**Isolasi BDB pada Fase Imago *Trigona spp.* yang Mengunjungi Bunga Pisang.** Isolasi BDB dari *Trigona spp.* dilakukan terhadap bagian caput dan abdomen (bagian permukaan dan dalam). Pada permukaan tubuh/bagian dalam tubuh serangga yang tertangkap pada bunga pisang sakit ditemukan 100% positif membawa bakteri BDB dan 90,91% (30 ekor) pada serangga yang tertangkap dari bunga pisang sehat. Hal ini disebabkan karena aktivitas serangga mengunjungi bunga pisang sakit ataupun sehat sangat tinggi. Dalam pengamatan di lapang ditemukan bahwa imago *Trigona spp.* berpindah dari bunga pisang sehat ke bunga pisang sakit atau sebaliknya mencari polen dan nektar. Menurut Molina (1999), serangga sangat berperan dalam mentransmisi penyakit Moko yang disebabkan oleh *R. solanacearum* dari satu tanaman ke tanaman lain dalam kebun. Di samping itu seringkali tanaman yang terinfeksi masih tampak normal dari luar, daun-daun masih hijau dan buah kelihatan berkembang normal. Menurut Hermanto *et al.* (1998), kondisi ini memperbesar peluang penyebaran penyakit melalui aktivitas serangga pengunjung bunga.

**Isolasi BDB dari Bagian Kepala dan Abdomen, Imago *Trigona spp.* yang Mengunjungi Bunga Pisang.** Hasil isolasi menunjukkan bahwa pada bagian permukaan dan bagian dalam kepala ditemukan koloni bakteri. Masuknya bakteri ke dalam saluran ludah dan pencernaan *Trigona spp.* diduga terbawa pada waktu serangga ini mencari nektar dan oose dari bunga

tanaman pisang yang terserang BDB. Jumlah koloni BDB ditemukan lebih tinggi pada *Trigona spp.* yang mengunjungi bunga pisang sakit dibanding pada bunga pisang sehat. Jumlah koloni BDB pada permukaan kepala dan abdomen *Trigona spp.* dari bunga pisang sakit masing-masing ( $923 \pm 670$  upk/ml) dan ( $1423 \pm 853$  upk/ml) dan bagian dalam kepala ( $15,95 \pm 18,58$ )  $\times 10^4$  upk/ml dan ( $22,71 \pm 21,15$ )  $\times 10^4$  upk/ml. Jumlah koloni bakteri dari bagian permukaan kepala dan abdomen *Trigona spp.* bunga pisang sehat masing-masing ( $703 \pm 687$  upk/ml) dan ( $893 \pm 905$  upk/ml). Pada bagian dalam kepala dan abdomen jumlah koloni yang diisolasi ( $5,91 \pm 9,81$ )  $10^4$  upk/ml dan ( $14,18 \pm 17,60$ )  $10^4$  upk/ml (Tabel 4). Hasil penelitian Gold *et al.* (2005) menunjukkan bahwa, jumlah koloni Xcm penyebab layu *Xanthomonas* dapat diisolasi dari bagian tubuh *Plebeina denotii* yang merupakan serangga vektor banana *Xanthomonas Wilt* (BXW) di pertanaman pisang Uganda.

Tingginya jumlah inokulum bakteri di bagian dalam abdomen diduga bahwa bakteri memakan polen, nektar dan oose bunga jantan yang terkontaminasi BDB dari tanaman pisang yang terserang BDB. Hasil penelitian sebelumnya menemukan bahwa populasi BDB  $3,5 \times 10^{11}$  upk  $ml^{-1}$  pada bunga jantan dan seludang  $2,3 \times 10^{11}$  dengan gejala serangan tanaman layu, daun menguning, buah mengalami kebocoran. Dalam aktivitasnya BDB mengeluarkan enzim pektinase yang menyebabkan jaringan terserang mengalami maserasi dan mengeluarkan bau yang menarik serangga pengunjung bunga. Menurut Taneja & Guerin (1997), *Rhagoletis pomonella* dan banyak spesies serangga tertarik pada materi jaringan tanaman yang mengalami pembusukan. Protein yang terkandung di dalam buah mengalami penguraian menjadi ammonia yang mengeluarkan bau khas yang menarik serangga buah (Drew & Faye, 1988).

Menurut Eden-Green (2004) populasi bakteri *Xanthomonas wilt* (BXW) ditemukan dalam jumlah tinggi pada nektar pisang, cairan eksudat patahan seludang dan oose tanaman pisang kultivar Kayinja

Tabel 4. Rerata jumlah koloni BDB ( $\pm$  SD) dari bagian tubuh *Trigona spp.* pada bunga Kepok sehat dan sakit di dataran tinggi Tabek Panjang

Bagian tubuh serangga	Rerata jumlah koloni per serangga (upk/ml)	
	Tanaman sehat	Tanaman terserang BDB
Permukaan kepala	703 $\pm$ 687	923 $\pm$ 670
Permukaan abdomen	893 $\pm$ 905	1423 $\pm$ 853
Bagian dalam kepala	(5,91 $\pm$ 9,81) $\times 10^4$	(15,95 $\pm$ 18,58) $\times 10^4$
Bagian dalam abdomen	(14,18 $\pm$ 17,60) $\times 10^4$	(22,71 $\pm$ 21,15) $\times 10^4$

(pisang Awak) yang terserang banana *Xanthomonas wilt* (BXW) di distrik Mukono, Luwero dan Mpigi, Uganda. Dalam nektar bunga jantan ditemukan  $1,891 \times 10^4$  upk/ml, pada eksudat segar patahan seludang  $3,625 \times 10^5$  upk/ml dan pada oose  $1,896 \times 10^{11}$  upk/ml Xcm. Sewaktu bunga jantan tanaman sakit, rontok atau seludangnya patah maka oose bakteri keluar berupa tetesan berwarna putih susu. Serangga tertarik pada bau dan mendatangi oose bakteri kemudian hinggap pada bekas bunga jantan yang baru rontok, patahan seludang atau rengkahan buah yang sakit. Bagian tubuh serangga akan terkontaminasi dan bakteri masuk ke dalam saluran pencernaan serangga, karena serangga menghisap cairan oose bakteri dan nektar bunga pisang yang terserang Xcm.

Menurut Huffaker & Rabb (1984), propagul *Pseudomonas savastanoi* penyebab *Olive knot* di daerah Mediterranean ditemukan dalam sistem pencernaan lalat Olive (*Dacus oleae*) yang diketahui melalui hasil sekresi dan telur yang sudah terkontaminasi dan *Xanthomonas stewartii*, penyebab hawar daun Stewart pada jagung, bertahan di dalam usus (*gut*) kumbang flea (*Chaetocnema* sp) sampai akhir musim dingin dan selanjutnya akan menginfeksi pada awal musim semi ketika imago menyerang tanaman inang.

#### Isolasi BDB dari Semua Fase Perkembangan *Trigona* spp. yang Berasal dari Koloni *Trigona* spp.

Propagul BDB ditemukan pada semua fase perkembangan *Trigona* spp., nektar dan polen kecuali pada telur (Tabel 5). Terkontaminasinya semua fase perkembangan *Trigona* spp. kecuali fase telur oleh BDB kemungkinan disebabkan karena imago pekerja telah terkontaminasi BDB pada saat mencari nektar, polen dan sumber makanan (oose, polen, dan nektar) yang dikumpulkan berasal dari bunga pisang yang terinfeksi BDB. Oleh lebah pekerja, oose, polen dan nektar yang terkontaminasi bakteri tersebut diberi makan

kepada larva, pupa dan imago. Pada penelitian awal ditemukan adanya propagul BDB dalam polen dan nektar bunga pisang Kepok yang terinfeksi BDB di lahan endemik dataran tinggi Tabek Panjang dan dataran rendah Pasar Usang.

Menurut Atkins (1978), sel-sel bakteri melekat pada permukaan tubuh serangga sebagai kontaminan maupun masuk ke dalam saluran pencernaan serangga. Sel-sel ini akan terbawa pada saat serangga makan, mengisap nektar bunga atau meletakkan telurnya (oviposisi). Sumber inokulum bakteri yang disebarkan oleh serangga berasal dari bunga jantan dan oose bakteri dapat bertahan selama 3 tahun. Sewaktu bunga jantan rontok maka oose bakteri keluar dari rengkahan pedunkel berupa tetesan berwarna putih susu. Serangga tertarik akan bau dan mendatangi oose bakteri kemudian hinggap pada bekas bunga jantan yang baru rontok, patahan seludang atau rengkahan bunga yang sakit. Bagian tubuh serangga akan terkontaminasi dan bakteri masuk ke dalam saluran pencernaan serangga, karena serangga menghisap cairan oose bakteri dan nektar bunga pisang yang terserang Xcm (Eden-Green, 2004; Tinzaara *et al.*, 2006).

**Isolasi dan Identifikasi Bakteri.** Hasil isolasi bakteri dari imago *T. minangkabau* di lapangan dan dalam koloni ditemukan propagul bakteri dengan ciri-ciri berwarna merah muda, koloni bakteri berukuran 0,5 – 4,5 mm, tidak beraturan, cembung dan *non-fluidal* dengan atau tanpa pusat formasi merah muda (Gambar 3). Ciri-ciri tersebut sesuai dengan ciri-ciri koloni *R. solanacearum* Phylotipe IV yang dideskripsikan oleh Eden-Green (1994); Soguilon *et al.* (1995); Schaad *et al.* (2001); Baharuddin (1994).

Hasil pengujian terhadap sifat-sifat fisiologi *R. solanacearum* Phylotipe IV diperoleh bahwa bakteri tersebut merupakan kelompok gram negatif (Gambar 4a), menghidrolisis pektin (Gambar 4b), uji reaksi

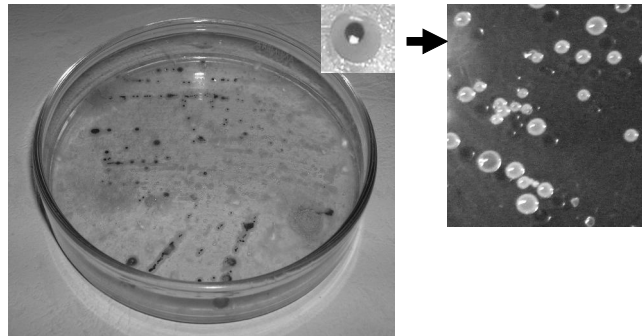
Tabel 5. Hasil isolasi BDB dari koloni *Trigona* spp.

Sumber isolasi	Bagian yang diisolasi	Keberadaan BDB
Imago	permukaan tubuh	++
	dalam tubuh	+++
Pupa	permukaan tubuh	++
	dalam tubuh	+++
Larva	permukaan tubuh	++
	dalam tubuh	+++
Telur	permukaan	-
Polen		+++
Nektar		+

- : tidak ditemukan koloni BDB, +: jumlah koloni rendah, ++: jumlah koloni sedang, +++: jumlah koloni tinggi.

hipersensitif menunjukkan hasil yang positif yang ditunjukkan dengan adanya nekrotik pada daerah yang disuntik dengan suspensi bakteri (Gambar 4c). Hasil uji patogenesis menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat patogen terhadap tanaman pisang dengan masa inkubasi 3-4 hari dengan skala 4 (semua daun layu) dan

tingkat virulensi tinggi (skala 5). Gejala tipikal penyakit darah berupa layu keseluruhan daun terjadi pada 3-4 hari setelah inokulasi (hsi) (Gambar 5). Sifat-sifat fisiologi yang ditemukan (Tabel 6) merupakan tipikal *R. solanacearum* Phylotype IV penyebab penyakit darah bakteri.



Gambar 3. Koloni bakteri yang berasal dari *T. minangkabau* dalam medium TTC, 48 jam setelah inkubasi.



Gambar 4. Hasil uji Gram, reaksi hipersensitive, uji pektinase, dan uji patogenesis koloni bakteri yang diisolasi dari *T. minangkabau*. (A) Hasil uji Gram koloni *R. solanacearum* Phylotype IV, (B) reaksi hipersensitif pada daun tanaman *M. jalapa* pada 48 jam setelah inokulasi (K1, koloni bakteri dari permukaan kepala; K2, koloni bakteri dalam kepala; K3, koloni bakteri permukaan abdomen; K4, koloni bakteri bagian dalam abdomen; dan K5, air steril), dan (C) uji pektinase pada potongan umbi kentang.



Gambar 5. Uji patogenesis beberapa isolat *R. solanacearum* Phylotype IV pada tanaman pisang Kepok umur 4 bulan setelah aklimatisasi. (A) Aplikasi suspensi *R. solanacearum* Phylotype IV yang diisolasi dari permukaan caput *T. minangkabau*, (B) isolat *R. solanacearum* Phylotype IV dari dalam caput, (C) isolat *R. solanacearum* Phylotype IV dari permukaan abdomen, (D) isolat *R. solanacearum* Phylotype IV dari dalam abdomen, (E) isolat *R. solanacearum* Phylotype IV dari telur, (F) kontrol, (G) isolat *R. solanacearum* Phylotype IV dari larva, (H) isolat *R. solanacearum* Phylotype IV dari pupa, (I) isolat *R. solanacearum* Phylotype IV dari polen, dan (J) isolat *R. solanacearum* Phylotype IV dari nektar.



Tabel 6. Hasil uji Gram, uji reaksi hipersensitif dan uji patogenisitas koloni bakteri yang diisolasi dari bagian tubuh *Trigona* spp.

Fase Perkembangan/ bagian tubuh/makanan	Uji Gram	Uji Pektinase	Reaksi Hipersensitif	Uji Patogenisitas
Permukaan kepala	-	+	+	+
Dalam kepala	-	+	+	+
Permukaan abdomen	-	+	+	+
Dalam abdomen	-	+	+	+
Telur	-	+	+	+
Larva	-	+	+	+
Pupa	-	+	+	+
Polen	-	+	+	+
Nektar	-	+	+	+

Menurut Buddenhagen & Elasser (1962), koloni bakteri yang ditularkan oleh serangga merupakan galur yang sangat virulen dan diistilahkan galur SFR (small, fluidal and round). Menurut Leiwakabessy (1999), strain *R. solanacearum* yang diisolasi dari famili Apidae (Hymenoptera) di pertanaman pisang yang terserang BDB di Lampung memiliki tingkat virulensi sangat tinggi pada tanaman pisang Barangan dengan masa inkubasi 7 hsi.

### SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa *T. minangkabau* memiliki potensi yang sangat besar untuk menyebarkan *R. solanacearum* Phylotipe IV. Populasi serangga tersebut ditemukan dalam jumlah tinggi pada bunga pisang sehat dan sakit. Sel-sel bakteri ditemukan dalam jumlah tinggi pada permukaan dalam semua fase perkembangan serangga kecuali pada telur. Propagul *R. solanacearum* Phylotipe IV juga ditemukan dalam nektar dan polen koloni *T. minangkabau*. Isolat *R. solanacearum* Phylotipe IV yang ditularkan oleh *T. minangkabau* tergolong strain virulen.

### DAFTAR PUSTAKA

- Atkins MD. 1978. *Insects in Perspective*. Macmillan Publishing Company.
- Baharuddin B. 1994. *Pathological, Biochemical and Serological Characterization of the Blood Disease Bacterium Affecting Banana and Plantain (Musa spp.) in Indonesia*. Cuvillier Verlag Gottingen. 129p.
- Buddenhagen ZW & Elasser TA. 1962. An insect spread wild epiphytotic of bluggoe bananas. *Nature* 194: 146-165.
- Drew RAI & Faye HA. 1988. Elucidation of the roles of ammonia and bacteria in the attraction of *Dacus tryoni* (Froggat) (Queensland fruit fly) to proteinaceous suspensions. *J. Plant Prot. Trop.* 5: 127-130
- 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 Pathogenic 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.
- 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
- 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.
- 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.
- Huffaker CB & Rabb RL. 1984. *Ecological Entomology*. John Willey and Sons.

- Janimar. 2005. *Survei Penyebaran Serangan OPT Tanaman Pisang Di Sumatera Barat Tahun 2005*. Dinas pertanian Tanaman Pangan Dan Hortikultura Balai Perlindungan Tanaman Pangan Dan Hortikultura Sumatera Barat.
- Leiwakabessy 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.
- MaryamAbn, Tata Rasta O, Handayani W & Sihombing D. 1994. Beberapa jenis serangga pengunjung bunga pisang yang diduga sebagai penular penyakit layu bakteri (*Pseudomonas solanacearum* E.F.Smith) Disampaikan dalam *Prosiding Rapat Kerja Penyusunan Prioritas dan Desain Penelitian Hortikultura*, Solok 17-19 Nopember. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat penelitian dan Pengembangan Hortikultura.
- Salmah S. 1992. Lebah: Pengembangan dan Pelestariannya. Pidato Pengukuhan Guru Besar Ilmu Biologi. Universitas Andalas. Padang.
- 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*.
- Taneja J & Guerin PM. 1997. Ammonia attracts the haematophagus but *Triatoma infestans* : behavioural and neurophysiological data on nymphs. *J. Comp. Physiol.* A 181: 21-34.
- Tushemereirwe WK, Kangire A, Smith J, Nakyanzi M, Karyeija R, Kataama D & Musiitwa C. 2001. An out break of Banana bacterial wilt in Mukono and Kayunga districts: A new and devastating disease. NARO/KARI.
- Tushemereirwe WK, Kangire A, Smith J, Ssekiwoko F, Nakyanzi M, Kataama D, Musiitwa C & Karyeija R. 2003. An outbreak of bacterial wilt on banana in Uganda. *Infomusa* 12:6-8
- Wardlaw CW. 1972. *Banana Disease*. Including Plantains and Abaca. Logman.
- Yuniana B. 2002. Komposisi dan Struktur Komunitas Apidae dan Aktivitas Kunjungannya pada jeruk Manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). Tesis Program Studi Biologi Pascasarjana Universitas Andalas. Padang.