

## Patogenisitas Penyakit *Speckle* Daun Pisang (*Cladosporium musae* Mason) pada Tanaman Pisang

Sahlan<sup>1</sup>, Z. A. M. Ahmad<sup>2</sup>, S. Meon<sup>2</sup>, Z. Wahab<sup>3</sup>, dan G. Singh<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Balai Penelitian Tanaman Buah, Jl. Raya Solok-Aripan Km. 8, Solok, Sumatera Barat 27301

<sup>2</sup> Plant Protection Department dan <sup>3</sup> Plant Science Department, Fakultas Pertanian, UPM, 43400 Serdang, Selangor D. E. Malaysia

<sup>4</sup> Direktur Riset United Plantations Bhd., 36009 Teluk Intan, Perak. Malaysia

Naskah diterima tanggal 10 Oktober 2003 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 7 Maret 2004

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitopatologi Fakultas Pertanian Universiti Putra Malaysia dari bulan Juni sampai September 2002. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui patogenisitas cendawan *Cladosporium musae* Mason pada tanaman pisang sebagai tanaman inangnya. Bibit tanaman pisang barangan (AAA) umur 8 minggu yang berasal dari kultur jaringan dan potongan daun bibit pisang barangan umur 8 minggu diinokulasi dengan cara disemprot suspensi konidia *C. musae* ( $10^6$  konidia per ml). Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun bibit pisang barangan yang diinokulasi dengan suspensi konidia *C. musae* dan dipelihara di dalam rumah kaca gagal menunjukkan gejala spesifik penyakit *speckle* daun. Meskipun demikian, patogenisitas *C. musae* dapat dibuktikan melalui inokulasi potongan daun bibit pisang barangan dengan suspensi konidia cendawan tersebut. Pengujian secara mikroskopis menunjukkan bahwa infeksi penyakit terjadi melalui stomata. Selain itu pengujian secara histologis menunjukkan bahwa di dalam sel-sel daun, hifa *C. musae* tumbuh dan berkembang baik secara intrasel maupun antarsel.

Kata kunci: *Musa* sp.; Jamur patogen; *Cladosporium musae* Mason

**ABSTRACT.** Sahlan, Z. A. M. Ahmad, S. Meon, Z. Wahab, and G. Singh. 2004. Pathogenicity study of banana leaf speckle (*Cladosporium musae* Mason) on banana. The experiment was conducted in Phytopathology Laboratory Faculty of Agriculture, University of Putra Malaysia from June - September, 2002. The aim of this experiment was to establish and confirm the pathogenicity of *Cladosporium musae* Mason on banana as the host plant. The banana seedlings of barangan (AAA) of 8 weeks old produced by tissue culture and detached banana leaves of barangan were inoculated by spraying with conidia suspension of *C. musae* ( $10^6$  conidia per ml). The results of this experiment showed that inoculation of barangan seedlings which were maintained under glasshouse conditions was failed showing the speckle disease symptom on banana leaves. However, evidence of pathogenicity was obtained by a similar inoculation done on detached leaves of barangan. Microscopic examinations revealed hyphal penetration via stomata resulting in necrosis of the cells adjacent. Histological examinations also showed intracellular and intercellular growth of *C. musae* within leaf cells.

Keywords : *Musa* sp.; Pathogenic fungi; *Cladosporium musae* Mason

Penyakit *speckle* daun pisang yang disebabkan oleh cendawan *Cladosporium musae* Mason merupakan salah satu penyakit bercak daun pisang yang telah tersebar di seluruh pertanaman pisang di dunia. Stover (1972) dan Jones (2000) melaporkan bahwa penyakit *speckle* biasanya ditemukan pada daun-daun pertanaman pisang yang sudah tua yang ditanam di daerah tropika basah dan lembab.

Penyakit *speckle* daun pisang pertama kali ditemukan di Jamaika dan Afrika Barat (Frossard 1963; Stover 1972). Belakangan ini, penyakit *speckle* daun juga ditemukan di negara-negara lain di Asia (Bangladesh, Hongkong, Indonesia, Malaysia, Nepal, Sri Lanka, Thailand, dan Vietnam), Australia-Oseania (Papua New Guinea, Kepulauan Solomon, dan Samoa Barat), Afrika (Burundi, Cameroon, Ivory Cost,

Republik Demokratik Congo, Mesir, Ethiopia, Ghana, Guinea, Rwanda, Sierra Leone, Afrika Selatan, Sudan, Togo, Uganda, dan Zimbabwe) dan di negara-negara Amerika Latin dan Caribia (Cuba, Ekuador, Honduras, dan Jamaika) (Martyn 1945; Frossard 1963; David 1988; Siboe 1994; Jones 2000).

Tushemereirwe & Bagabe (1998) melaporkan bahwa di Uganda penyakit *speckle* daun *cladosporium* menyebabkan kerusakan (nekrosis) pada daun pisang mencapai lebih dari 95% dan secara nyata menurunkan produksi buah mencapai lebih dari 37%.

Meskipun selama ini penyakit *speckle* daun pisang *cladosporium* dianggap sebagai penyakit yang tidak penting, namun ternyata beberapa kultivar pisang di beberapa negara sangat peka terhadap penyakit ini. Hahn *et al.* (1989) dan

Vuylsteke *et al.* (1993) menyatakan bahwa hampir semua tanaman pisang baik pisang segar maupun pisang olah peka terhadap penyakit bercak daun. Keadaan ini tampaknya sama dengan penyakit *speckle* daun pisang *cladosporium*. Frossard (1963) dan Stover (1972) melaporkan bahwa di Ivory Cost kultivar-kultivar tanaman pisang dalam kelompok cavendish (AAA) dan gros michel (AAA) peka terhadap penyakit *speckle* daun, sebaliknya kultivar-kultivar pisang dalam kelompok yang bergenom AB, AAB, dan ABB serta kelompok *Musa* sp. yang berbiji dianggap tidak peka. Meskipun demikian, di Cameroon baru-baru ini gejala penyakit *speckle* daun pisang ditemukan pada kultivar-kultivar pisang olahan (AAB) (Jones 2000).

Telah dilaporkan sebelumnya bahwa ada sedikit perbedaan reaksi beberapa kultivar pisang terhadap penyakit *speckle* daun pisang *cladosporium*, khususnya pada kultivar-kultivar pisang diploid (AA). Frossard (1963) melaporkan bahwa di Ivory Cost kultivar pisang *figue sucree* (AA. *syn.* *sucrier*) dianggap tahan terhadap penyakit *speckle* daun. Sementara Jones (2000) melaporkan bahwa di Thailand pisang kluai khai (AA. *syn.* *sucrier*) sangat peka, demikian juga dengan pisang orito (AA. *syn.* *sucrier*) di Ekuador. Di Malaysia, penyakit *speckle* daun pisang *cladosporium* terutama sekali ditemukan menyerang tanaman pisang mas (diploid AA), barangan (triploid AAA), dan pisang angka (triploid AAB) (Jones 2000).

Sejauh ini perhatian terhadap penyakit *speckle* daun pisang *cladosporium* masih sangat sedikit. Hal ini disebabkan karena penyakit yang disebabkan oleh *C. musae* ini hanya dianggap sebagai penyakit yang tidak penting yang hanya menyerang daun-daun pisang yang sudah tua yang ditanam di daerah tropis yang beriklim lembab dan basah (Stover 1972).

Pada penelitian ini dilakukan usaha untuk melakukan inokulasi baik pada bibit pisang sehat maupun pada potongan daun pisang menggunakan konidia *C. musae* yang berasal dari biakan murni cendawan *C. musae* yang ditumbuhkan pada media buatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui patogenisitas cendawan *C. musae* pada tanaman pisang sebagai tanaman inangnya.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian patogenisitas *C. musae* pada bibit tanaman pisang serta patogenisitas pada potongan daun dilakukan di Rumah Kaca dan Laboratorium Fitopatologi Fakultas Pertanian UPM, Serdang, Malaysia dari bulan Juni - September 2002.

### Patogenisitas pada bibit pisang

**Asal bibit pisang.** Bibit pisang yang digunakan pada penelitian ini adalah pisang barangan (AAA) yang berasal dari kultur jaringan yang diperoleh dari laboratorium United Plantations Berhad di Teluk Intan, Perak, Malaysia. Plantlet pisang yang telah diaklimatisasikan ditanam dalam polibag berukuran 20 cm yang berisi campuran tanah dan kompos (1:4 v/v) dan dipelihara di dalam rumah kaca Universiti Putra Malaysia, Serdang selama 8 minggu. Penyiraman bibit dilakukan setiap hari dan dipupuk dengan NPK (20:20:20) seminggu sekali. Jumlah bibit yang diinokulasi sebanyak 10 tanaman. Inokulasi ini diulang sebanyak lima kali.

**Metode inokulasi.** Konidia *C. musae* yang digunakan untuk inokulasi berasal dari biakan berumur 6 minggu yang ditumbuhkan pada media MEA. Untuk melepaskan konidia, tuangkan 5 ml larutan 0,1% tween-20 ke dalam cawan petri yang berisi biakan cendawan, skrap secara hati-hati permukaan koloni cendawan dengan kuas yang halus. Selanjutnya suspensi konidia ini disaring dengan kain katun dan dengan *haemocytometer*, atur konsentrasi konidia yang diperoleh sampai didapatkan konsentrasi sekitar  $10^6$  konidia per ml (Reynolds *et al.* 1997; Turechek & Stevenson 1998). Sebanyak 10 bibit tanaman pisang barangan yang telah berdaun 6-8 diinokulasi dengan suspensi konidia *C. musae* dengan menyemprot permukaan bagian atas semua daun yang ada. Selanjutnya bibit tanaman pisang yang telah diinokulasi ini diletakkan di atas permukaan suatu kotak (tinggi  $\pm 7$  cm dan lebar 1,2 m yang berisi air setinggi  $\pm 3$  cm) dan disungkup dengan plastik selama 3 hari. Hal ini dilakukan agar kelembaban relatif udara di sekitar daun yang diinokulasi ini mencapai lebih dari 95%. Kemudian pada hari ke-4, sungkup plastik ini

dibuka. Selanjutnya bibit pisang yang telah diinokulasi ini diamati setiap hari.

**Cara pengamatan patogenisitas.** Pada berbagai waktu inkubasi (12, 18, 24, 36, 48, 72, 96, 120, 144, 168, dan 192 jam setelah inokulasi), daun tanaman pisang yang telah diinokulasi diambil contohnya (dua buah potongan daun yang berukuran 10x10 mm) untuk dilakukan pengamatan tentang perkecambah konidia, terjadi tidaknya kolonisasi cendawan ataupun terjadi tidaknya infeksi pada jaringan daun. Daun yang diambil dimasukkan ke dalam larutan lakto fenol-etanol (ferol 10 g, asam laktat 10 ml, gliserin 20 ml, etanol 96% sebanyak 20 ml) dan dipanaskan (O'Donnell & Dickinson 1980) untuk membuang klorofilnya. Setelah bersih, untuk mengecat konidia yang telah berkecambah ataupun hifa jamur yang ada di atas permukaan daun, contoh daun direndam selama 24 jam dalam larutan lakto fenol-etanol yang telah ditambah dengan 0,01% *trypan blue*. Selanjutnya, untuk membuang sisa-sisa cat yang ada pada permukaan daun tersebut, contoh-contoh daun ini direndam kembali dalam larutan lakto fenol-etanol. Dengan menggunakan mikroskop, selanjutnya diamati perkecambah dan perkembangan tabung kecambah (kolonisasi dan infeksi) yang ada pada permukaan daun tersebut.

#### **Patogenisitas pada potongan daun**

Daun bibit pisang barangan (umur 8 minggu yang dipelihara di dalam rumah kaca) dipotong (lebar  $\pm 20$  cm) dengan skalpel dan dibawa ke laboratorium. Setelah diinokulasi (caranya sama dengan cara inokulasi pada bibit pisang) daun tersebut dipotong-potong dengan ukuran 50x50 mm dan setiap potongan diletakkan di atas kertas saring basah yang diletakkan di dalam cawan petri. Selanjutnya cawan-cawan petri ini di lak/dibungkus dengan parafilm dan disimpan di dalam inkubator yang bersuhu  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ . Sebanyak delapan cawan petri digunakan dalam penelitian ini. Metode pengamatan terhadap jumlah konidia yang berkecambah, kolonisasi, dan infeksi *C. musae* sama dengan metode yang digunakan pada bibit tanaman pisang.

#### **Metode pengujian secara histologis jaringan daun pisang yang telah diinokulasi.**

Daun pisang yang telah diinokulasi dan diinkubasikan seperti tersebut di atas diambil dan dipotong-potong dengan ukuran 5x5 mm dan direndam (fiksasi) dalam larutan Bouin's

(75 ml asam pikrat, 25 ml formalin (formaldehid 40%)), dan 5 ml asam asetat glasial dan diletakkan di dalam *vacuum chamber* selama 1 malam untuk menghilangkan udara yang ada di dalam jaringan daun. Selanjutnya, buang bahan-bahan kimia fiksasi yang ada pada daun tersebut dengan cara mencucinya dengan air suling. Daun-daun yang telah bersih dari bahan kimia fiksasi ini selanjutnya direndam di dalam etanol (20, 30, 40, 50, 70, 90, dan 95%) sebanyak dua kali, kemudian dipindahkan ke dalam larutan metilbenzoat (30 menit) dan *xylene* (30 menit) masing-masing diulang dua kali. Selanjutnya, daun-daun tersebut kembali direndam selama 3 hari dalam larutan metilbenzoat yang telah ditambah 2% *celloidin*. Daun-daun tersebut diangkat dan direndam kembali di dalam cairan *xylene* selama 1 malam. Setelah selesai, daun-daun ini diangkat dan direndam dalam larutan lilin (*paraplast + xylene*) dan diletakkan di dalam oven bersuhu  $60^\circ\text{C}$  selama 1 malam. Kemudian, larutan lilin ini dituangkan ke dalam cetakan-cetakan untuk membentuk balok-balok lilin dan biarkan menjadi dingin dengan meletakkan balok-balok lilin ini di atas meja dalam ruangan selama 3 hari. Setelah dingin dan padat, potong daun tersebut menggunakan mikrotom dengan ketebalan antara 12-15  $\mu\text{m}$  dan letakkan potongan-potongan daun ini di atas *glass slide* dan biarkan selama 2 minggu pada ruangan yang bersuhu  $30-40^\circ\text{C}$ . Setelah 2 minggu, letakkan *glass slide* ini dalam suatu wadah untuk segera diproses untuk membuang lilin yang menempel pada potongan-potongan daun tersebut dengan merendam di dalam cairan *xylene* dan cairan etanol 100%. Setelah bersih, angkat *glass slide* tersebut dan rendam kembali dalam cairan etanol 95, 70, dan 50% kemudian air suling. Akhirnya, potongan-potongan daun ini dicat dengan safranin O (1% w/v) dan *fast green* (1% w/v) (O'Brien & McCully 1981).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Patogenisitas pada bibit pisang**

Hasil pengamatan pada potongan daun yang diperoleh dari bibit pisang dengan mikroskop cahaya menunjukkan tidak adanya perubahan bentuk konidia *C. musae* pada saat berkecambah.

Pengamatan contoh daun yang diambil 12 jam setelah inokulasi menunjukkan rata-rata jumlah konidia yang berkecambah mencapai 18%. Persentase konidia yang berkecambah meningkat mencapai 68% setelah 24 jam inokulasi.

Perkecambahan konidia menghasilkan tabung kecambah yang tumbuh memanjang dan menghasilkan suatu hifa yang menyerupai appresorium pada bagian ujungnya (Gambar 1A). Pada umumnya, tabung kecambah ini tumbuh tersebar di atas permukaan daun. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada umumnya tabung kecambah tumbuh lurus dan beberapa di antaranya tumbuh melengkung. Apabila tabung kecambah ini berada di atas vena-vena daun, tabung kecambah ini seringkali memendek dan membengkok. Rataan panjang tabung kecambah termasuk appresoriumnya berkisar antara 18 µm sampai dengan lebih dari 150 µm.

Pengamatan yang dilakukan pada waktu 48 jam setelah inokulasi menunjukkan bahwa sekitar 82% konidia telah berkecambah di mana tabung kecambah telah tumbuh memanjang dan membentuk hifa yang bercabang-cabang (Gambar 1B).

Setelah 72 jam inokulasi menunjukkan telah terjadi percabangan yang intensif pada tabung kecambah di seluruh permukaan daun (Gambar 1C). Tampak pada pengamatan ini bahwa hifa tumbuh dan berkembang melalui permukaan stomata, akan tetapi tidak menunjukkan telah terjadi penetrasi atau infeksi pada daun tersebut.

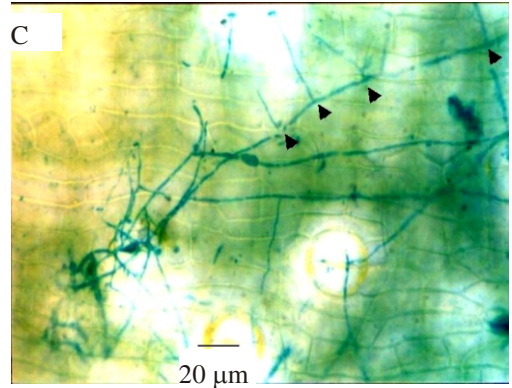
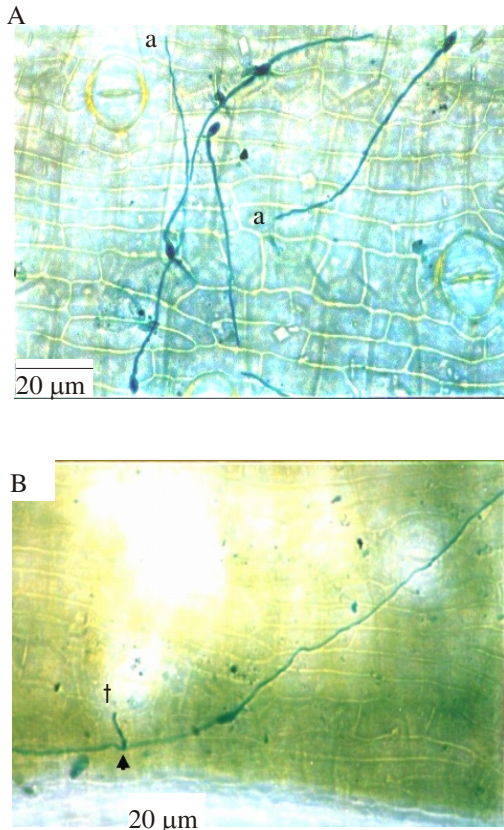
Pengamatan 196 jam setelah inokulasi menunjukkan adanya konidiofor yang tumbuh di atas permukaan daun (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa cendawan telah tumbuh dan telah memasuki fase reproduktif dalam siklus hidupnya. Meskipun demikian, tidak tampak adanya nekrosis pada permukaan daun sebagai indikator bahwa cendawan telah berhasil menginfeksi daun. Pengamatan yang dilakukan sampai dengan 3 minggu setelah inokulasi juga tidak menampakkan adanya gejala penyakit pada permukaan daun bibit pisang tersebut. Meskipun inokulasi ini diulang sampai lima kali, masih tetap diperoleh hasil yang sama.

Inokulasi dengan menggunakan konidia *C. musae* pada daun bibit pisang belum berhasil

menampakkan gejala penyakit *speckle* daun. Hal ini diduga karena daun yang digunakan berasal dari bibit pisang. Umur bibit yang digunakan dalam pengujian ini kira-kira berumur 4 bulan. Di lapang, gejala penyakit *speckle* daun pisang hanya terjadi pada pertanaman pisang yang telah dewasa. Selain itu, kerusakan yang parah pada daun hanya terjadi pada daun-daun tanaman pisang yang telah dewasa dan tidak pernah terjadi dan dijumpai pada daun-daun anakan. Selain itu juga tidak pernah dijumpai penyakit *speckle* daun ini menyerang daun-daun bibit pisang yang ada di pembibitan. Oleh karena itu, kemungkinan besar adalah hanya pertanaman pisang dewasa saja yang peka terhadap serangan *C. musae*. Kaitannya dengan hal ini, perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan kebenaran hipotesis ini. Sebagai contoh, jaringan daun tanaman muda dengan tanaman dewasa dibandingkan dan diuji kandungan kimianya yang kemungkinan besar berpengaruh terhadap kepekaan tanaman terhadap penyakit *speckle* daun ini. Kebalikan dari hipotesis ini adalah adanya fakta yang menunjukkan bahwa pada tanaman lain seperti *pecan* (*Carya illinoensis* Koch), kepekaan daun terhadap penyakit *scab* yang disebabkan oleh *C. caryigenum* (Ell. et Lang) Gottwald, comb. nov. diketahui berkurang secara cepat sejalan dengan bertambahnya umur daun-daun tersebut (Gottwald 1985). Penelitian sebelumnya yaitu dengan membandingkan lapisan lilin pada permukaan daun pisang (Freeman & Turner 1985; Zakaria & Razak 1999) diharapkan dapat lebih membantu memahami faktor-faktor ketahanan yang ada pada daun pisang.

Tampaknya kondisi lingkungan di dalam rumah kaca pada saat inokulasi dilakukan dan selama waktu inkubasi tidak kondusif untuk pertumbuhan dan perkembangan penyakit. Hal ini dicerminkan oleh tingginya rata-rata suhu harian di dalam rumah kaca yang berkisar antara 26°C pada pagi hari dan mencapai puncaknya 36°C pada siang hari. Kondisi suhu yang demikian terlalu tinggi jika dibandingkan dengan data hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa suhu optimum untuk perkecambahan konidia *C. musae* adalah suhu yang lebih rendah yaitu berkisar antara 22-26°C (Sahlan 2003). Meskipun beberapa usaha telah dilakukan untuk mempertahankan kelembaban relatif udara di

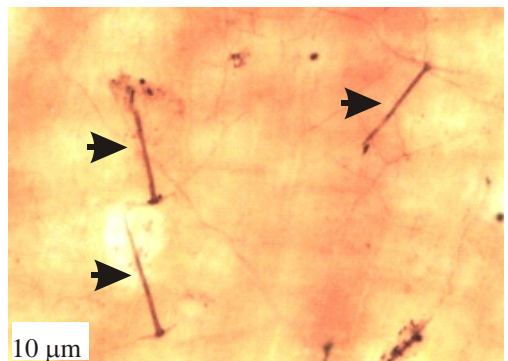




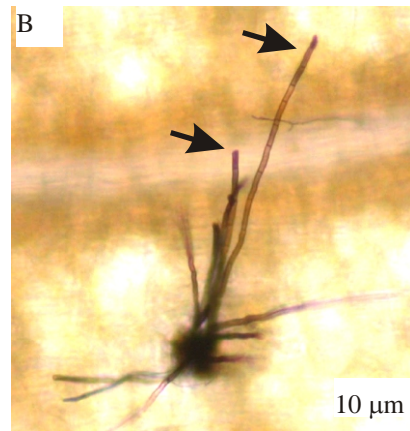
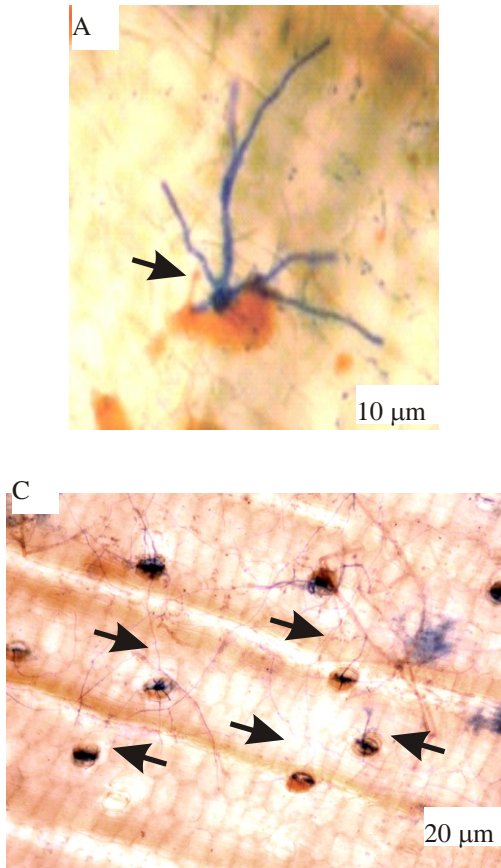
Gambar 1. Perkecambahan konidia *C. musae* di atas permukaan daun tanaman pisang barangan A. Konidia dan tabung kecambah, 24 jam setelah inoculasi. B. Percabangan hifa yang berasal dari tabung kecambah (anak panah), 48 jam setelah inoculasi, C. Hifa yang telah tumbuh dan bercabang secara intensif, 72 jam setelah inoculasi. a=apressorium. (*Conidial germination of C. musae on leaf surface of barangan banana. A. Conidium and germ tube at 24 hours after inoculation, B. Hyphal branch developing from germ tube extension (arrow) at 48 hours after inoculation, and C. Extensive branching of hypha observed at 72 hours after inoculation (arrows). a= appressorium.*)

atas 95% selama 3 hari pascainokulasi, namun demikian yang sangat sukar dilakukan untuk mengendalikan suhu yang tinggi ( $>26^{\circ}\text{C}$ ) di dalam rumah kaca selama penelitian ini berlangsung.

Hasil penelitian sebelumnya mendapatkan bahwa suhu yang lebih rendah ( $15 - 25^{\circ}\text{C}$ ) sangat mendukung untuk berlangsungnya proses infeksi daun tanaman *pecan* kultivar *wichita* dan *summers* oleh *C. caryigenum* (Turechek & Stevenson 1998). Sementara Latham & Rushing (1988) menemukan bahwa perkembangan infeksi secara maksimum pada daun tanaman *pecan* kultivar *schley* selama 48 jam periode infeksi terjadi pada suhu antara  $22-25^{\circ}\text{C}$ . Gottwald (1984; 1985) melaporkan bahwa suhu  $20-25^{\circ}\text{C}$  merupakan suhu optimum untuk terjadinya infeksi daun tanaman *pecan* oleh *C. caryigenum*. Traper-Casas & Kaiser (1992) menekankan bahwa kondisi pascainokulasi merupakan suatu hal yang sangat penting untuk perkembangan penyakit di dalam suatu *pathosystems*.



Gambar 2. Tampak adanya konidiofor di atas permukaan daun, 196 jam setelah inoculasi (anak panah). (*Presence of conidiophores on the leaf surface at 196 hours after inoculation (arrow)*).



Gambar 3. Foto permukaan potongan daun pisang yang diinokulasi dengan *C. musae*. A. Jaringan yang mengalami nekrotik di sekitar stomata, 14 hari setelah inokulasi (anak panah). B. Terjadinya perkembangan konidiofor, 21 hari setelah inokulasi (anak panah). C. Sel-sel yang mengalami nekrosis di sekitar stomata, 21 hari setelah inokulasi (anak panah). (Photomicrographs of surface of detached banana leaves inoculated with *C. musae*. A. Necrotic tissues around the stomata at 14 days after inoculations (arrow). B. Development of conidiophores at 21 days after inoculation (arrows); C: Necroses of the stomata at 21 days after inoculation (arrows)).

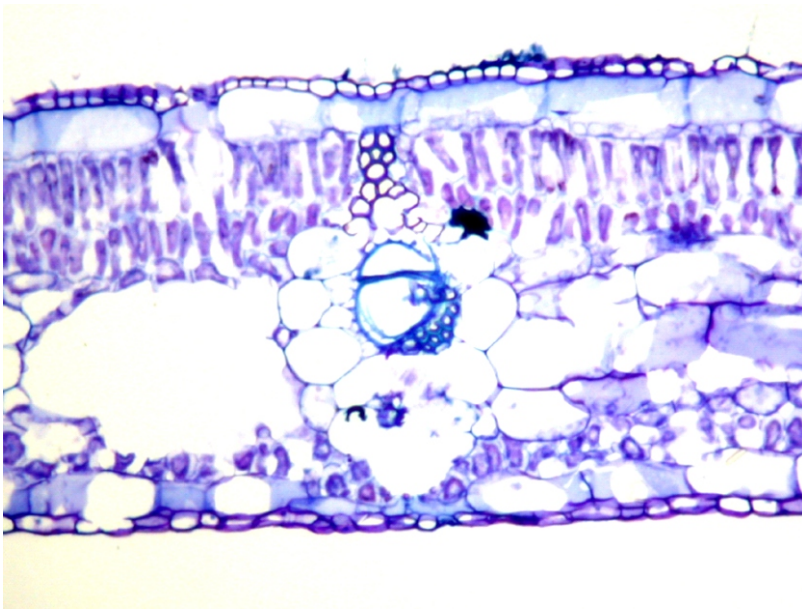
### Patogenisitas pada potongan daun

Pengamatan perkembangan penyakit menggunakan potongan daun yang telah diinokulasi menunjukkan bahwa perilaku perkecambahan konidia *C. musae* baik pada daun bibit tanaman pisang maupun potongan daun mempunyai ciri-ciri yang sama. Bentuk konidia tetap tidak berubah selama perkecambahan. Namun demikian, kecepatan perkecambahannya tampak lebih lambat jika dibandingkan dengan di atas permukaan daun bibit tanaman pisang. Pengamatan yang dilakukan 24 jam setelah inokulasi menunjukkan rataan jumlah konidia yang telah berkecambah hanya mencapai 48%. Rataan jumlah konidia yang berkecambah meningkat mencapai 64% setelah 48 jam inokulasi.

Pengamatan secara mikroskopik terhadap contoh potongan daun 14 hari setelah inokulasi menunjukkan telah terjadi infeksi oleh *C. musae*.

Hal ini ditunjukkan oleh adanya sel-sel yang mengalami nekrosis di sekitar stomata daun (Gambar 3A). Selain itu tampak bahwa penetrasi tabung kecambah ke dalam jaringan daun melalui stomata. Cara penetrasi yang sama juga dilaporkan oleh Hall & Kavanagh (1985) pada daun bawang yang diinokulasi dengan *Cladosporium alli-cepae*. Pengamatan yang dilakukan pada hari ke-21 setelah inokulasi menunjukkan telah terjadinya perkembangan konidiofor di atas permukaan daun (Gambar 3B). Bersamaan itu juga ditemukan adanya nekrosis yang sebagian besar terjadi di sekitar stomata daun yang diinokulasi tersebut (Gambar 3C), dan potongan daun pisang yang tidak diinokulasi menunjukkan keadaan sel-selnya masih normal (Gambar 4) (McGahan & Fulton 1963).

Hasil pengujian secara histologi jaringan daun yang diinokulasi pada penelitian ini didapatkan



Gambar 4. Foto potongan daun pisang yang sehat (umur 4 bulan). Catatan: EA= epidermis atas; HA= hipodermis atas; PM= palisade mesofil; CM= berkas komisural; SM= mesofil spon; AV= sekat avascular; IC= ruang interkostal; HB= hipodermis bawah; EB= epidermis bawah; ST= stomata (perbesaran 400 kali) (Photomicrograph of a healthy banana leaf section (4-month old). Note: EA= adaxial epidermis; HA= adaxial hypodermis; PM= palisade mesophyll; CM= commissural bundle; SM= spongy mesophyll; AV= avascular septum; IC= intercostals space; HB= abaxial hypodermis; EB= abaxial epidermis; ST: stomata.) (McGahan & Fulton, 1963) (X400 magnification).

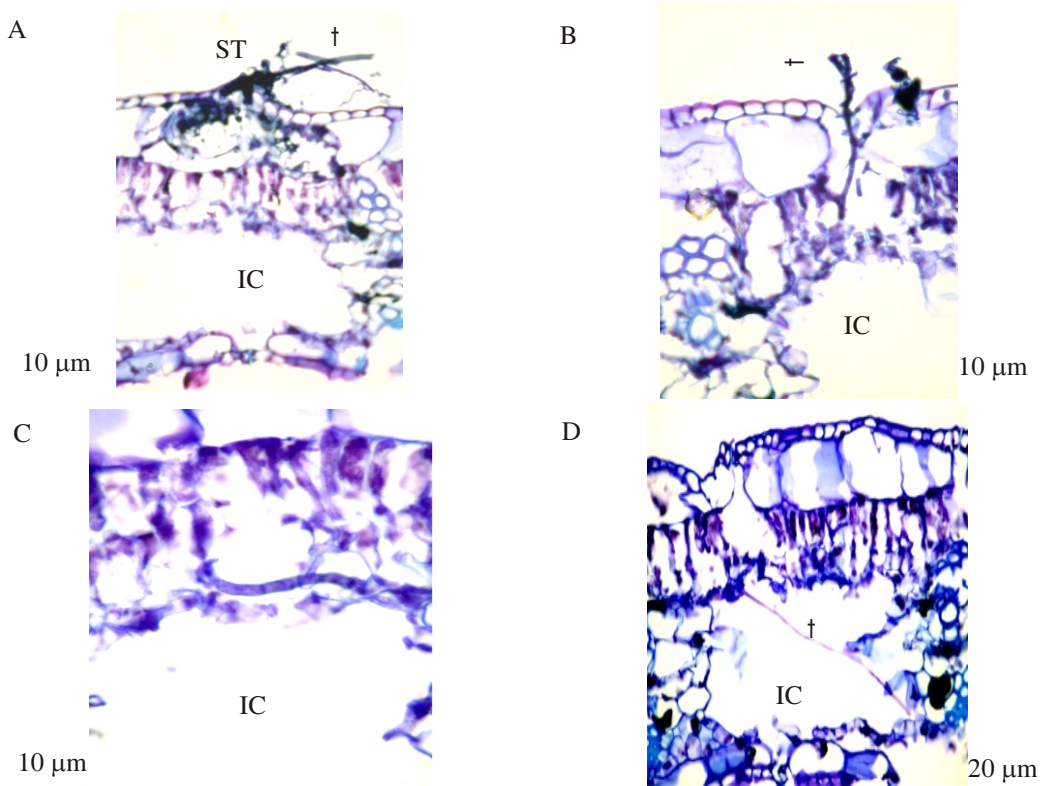
bahwa infeksi cendawan hanya terjadi melalui stomata. Selain itu didapatkan juga bahwa meskipun banyak terdapat hifa yang tumbuh secara intensif di atas permukaan daun, namun tidak menunjukkan telah terjadinya infeksi. Gambar 5A menunjukkan bahwa konidiofor tumbuh keluar melalui stomata daun. Tampak juga hifa di dalam jaringan stomata telah mengkolonisasi sel-sel palisade dan mesofil jaringan daun, baik secara intersel maupun intrasel. Gambar 5B menunjukkan konidiofor muncul atau keluar dari suatu hifa *C. musae* yang tumbuh di dalam lapisan mesofil menembus lapisan epidermis. Selain itu juga terlihat hifa yang tumbuh memanjang di dalam hipodermis daun (Gambar 5C) yang tumbuh dari sel ke sel di dalam ruang *intercostals* (Gambar 5C) jaringan daun.

Pengamatan terhadap cara penetrasi *C. musae* yang terjadi melalui stomata daun menunjukkan kesamaan dengan terjadinya proses infeksi cladosporiorides dan herbarum pada *Phaseolus* sp. (O'Donnell & Dickinson 1980). Terjadinya retakan-retakan pada sel-sel epidermis dan rusaknya jaringan di dalam sel-sel daun juga menunjukkan kesamaan dengan yang terjadi

pada daun tanaman bawang yang disebabkan oleh infeksi *C. allii-cepae* (Hall & Kavanagh 1985). Selain itu adanya rongga-rongga di dalam jaringan daun yang dilapisi oleh lapisan kutikula sel-sel epidermis yang rusak dan runtuh merupakan hal yang umum terjadi pada daun bawang yang terserang oleh *C. allii-cepae*.

Dengan menggunakan potongan daun pada penelitian ini dimungkinkan digunakan untuk mendeteksi proses terjadinya infeksi *C. musae* di mana ditemukan pada hari ke-14 pascainokulasi yang ditandai oleh adanya jaringan nekrosis di sekitar stomata daun. Penelitian yang sama yang telah dilakukan sebelumnya oleh Gottwald (1985) serta Latham & Rushing (1988) pada daun tanaman *pecan* yang diinokulasi dengan *C. caryigenum* didapatkan bahwa infeksi mulai terjadi pada hari ke-7 sampai ke-10 setelah inokulasi. Meskipun demikian, salah satu kendala yang dihadapi pada penelitian ini (inokulasi menggunakan potongan daun) adalah pada hari ke-21, proses senescence atau penguningan daun mulai terjadi. Oleh karena itu,





Gambar 5. Potongan jaringan daun pisang yang diambil dari potongan daun yang diinokulasi dengan *C. musae* umur 4 bulan (*Photomicrographs of detached banana leaf tissues at 4-month old inoculated with C. musae*).

- A. Konidiofor muncul dari stomata (anak panah) (*Emergence of conidiophore (arrow) from a leaf stomata*) (ST);
- B. Konidiofor (anak panah) asal dari hifa intrasel di dalam sel-sel mesofil yang menembus keluar epidermis (*Conidiophore (arrow) arising from an intra-cellular hyphal growth in the mesophyll cells via a ruptured epidermis*).
- C. Hifa tumbuh di dalam hipodermis daun (*Hyphal growth in the leaf hypodermis*).
- D. Hifa intrasel tumbuh memanjang dari sel ke sel melalui ruang *intercostals* (*Intracellular hyphal growth extending from cell to cell via the intercostals space*) (IC).

adalah suatu hal yang tidak mungkin untuk meneruskan pengamatan terhadap proses patogenisitas setelah periode ini kecuali telah tersedia teknik memperpanjang atau cara mempertahankan kesegaran daun yang diinokulasi tersebut di dalam laboratorium. Pada penelitian ini menggunakan potongan daun yang diinkubasikan pada suhu 22oC dan kelembaban relatif yang mendekati titik jenuh, telah berhasil menunjukkan suatu bukti patogenisitas *C. musae*. Namun demikian perlu dicatat bahwa

kondisi seperti yang dilakukan pada penelitian ini mungkin saja tidak optimal berdasarkan atas hasil pengamatan yang telah dilaporkan sebelumnya (Sahlan 2003). Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut menggunakan metodologi yang sama tetapi di bawah kondisi yang lebih kondusif untuk perkembangan penyakit. Hal ini sangat penting agar dapat diperoleh pemahaman yang lebih baik terhadap patogenisitas penyakit speckle daun pisang.



## KESIMPULAN

Inokulasi dengan  $10^6$  konidia *C. musae* per ml pada potongan daun bibit pisang barangan yang berumur 4 bulan yang dilakukan di laboratorium telah berhasil mendapatkan bukti patogenisitas *C. musae*. Pengujian secara mikroskopis menunjukkan bahwa infeksi penyakit terjadi melalui stomata, dengan terjadinya nekrosis pada sel-sel di sekitar stomata. Pengujian secara histologis juga menunjukkan bahwa di dalam sel-sel daun, hifa *C. musae* tumbuh dan berkembang baik secara intrasel maupun antarsel. Selain itu dari inokulasi ini juga telah berhasil mereisolasi *C. musae* dari permukaan daun yang diinokulasi.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada *Participatory Development of Agricultural Technology Project/ PAATP* (ADB Loan No. 1526-INO), Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian yang telah membiayai penelitian ini. Penulis juga mengucapkan banyak terimakasih kepada Dr. Gurmit Singh, *Research Director of United Plantations Bhd.* atas bantuan dan kerjasamanya dalam penelitian ini.

## PUSTAKA

- David, J. C. 1988. *Cladosporium musae*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria, No. 958. *Mycopathol* 103:119-120.
- Freeman, B. and Turner, D. W. 1985. The epicular waxes on the organs of different varieties of banana (*Musa* spp.) differ in form, chemistry and concentration. *Aust. J. Bot.* 33:393-408.
- Frossard, P. 1963. Une cladosporiose du bananier en Cote d'Ivoire. *Fruits* 18:443-453.
- Gottwald, T. R. 1984. Effect of temperature, post inoculation leaf wetness, inoculum concentration and leaf age on infection of pecan by *Cladosporium caryigenum*. (Abstr.). *Phytopathol.* 74: 628.
- . 1985. Influence of temperature, leaf wetness period, leaf age, and spore concentration on infection of pecan leaves by conidia of *Cladosporium caryigenum*. *Phytopathol.* 75:190-194.
- Hahn, S., Vuylsteke, D., and Swennen, R. 1989. First reactions to ABB cooking bananas distributed in southeastern Nigeria In: *Sigatoka leaf spot diseases of bananas*. (Fullerton, R. A. and Stover, R. H., eds.). Proceedings of an international workshop held in San Jose, Costa Rica, 28 March-1 April 1989. Montpellier, France. INIBAP, pp 306-315.
- Hall, K. and Kavanagh, J. A. 1985. Light and scanning electron microscope studies of leaf blotch of onion caused by *Cladosporium allii-cepae*. *Plant Pathol.* 34:1-4.
- Jones, D. R. 2000. Diseases of banana, abaca and enset. CABI Publishing, 544 pp.
- Latham, A. J. and Rushing, A. E. 1988. Development of *Cladosporium caryigenum* in pecan leaves. *Phytopathol.* 78:1104-1108.
- Martyn, E. B. 1945. A note on banana leaf speckle in Jamaica and some associated fungi. *Mycological papers* 13: 1-5.
- McGahan, M. W. and Fulton, R. H. 1963. Leaf spot of bananas caused by *Mycosphaerella musicola*: A comparative anatomical study of juvenile and adult leaves in relation to lesion morphology. *Phytopathol.* 55:1179-1182.
- O'Brien, T. P. and McCully, M. E. 1981. The study of plant structure: Principles and selected methods. Termarcarphi, Melbourne. 357 pp.
- O'Donnell, J. and Dickinson, C. H. 1980. Pathogenicity of *Alternaria* and *Cladosporium* isolates on *Phaseolus*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 74(2):335-342.
- Reynolds, K. L., Brennen, T. B., and Bertrand, P. F. 1997. Sensitivity of *Cladosporium caryigenum* to propiconazole and fenbuconazole. *Plant Disease* 81:163-166.
- Sahlan. 2003. Pengaruh suhu dan kelembaban relatif terhadap perkecambah dan perkembangan tabung kecambah konidia *Cladosporium musae* Mason. *J. Hort.* 13(3):197-204
- Siboe, G. M. 1994. Taxonomy of the fungus causing speckling disease of bananas (*Musa* sp.) in Kenya. *The African J. Mycol. and Biotechnol.* 2:1-6.
- Stover, R. H. 1972. Banana, Plantain and Abaca disease. Commonwealth Mycol. Institute, Kew, Surrey, England. 316 pp.
- Trapero-Casas, A., and Kaiser W, J. 1992. Influence of temperature, wetness period, plant age, and inoculum concentration on infection and development of *Ascochyta* blight of chickpea. *Phytopathol.* 82: 589-596.
- Turechek, W. W. and Stevenson, K. L. 1998. Effects of host resistance, temperature, leaf wetness, and leaf age on infection and lesion development of pecan scab. *Phytopathol.* 88:1294-1301.
- Tushemereirwe, W. K. and Bagabe, M. 1998. Review of disease distribution and pest status in Africa. In: *Mobilizing IPM for sustainable banana production in Africa* (Frison, E. A., Gold, C. S., Karamura, E. B., and Sikora, R. A. Eds.). *Proceedings of a workshop on banana IPM held in Nelspruit, South Africa, 23-28 November 1998*, pp 139 -147.

21. Vuylsteke, D., Swennen, R., and Ortiz, R. 1993. Registration of 14 improved tropical *Musa* plantain hybrids with black Sigatoka resistance. *HortSci.* 28(9):957-959.
22. Zakaria, W. and Razak, A. R. 1999. SEM study of the morphology of leaves of four dessert banana cultivars (*Musa* spp. cv. 'Intan', 'Jari Buaya', 'Novaria' and 'Raja Udang Merah') in Malaysia. *J. Trop. Agric. and Food. Sci.* 27(2):151-158