

Seleksi dan Karakterisasi Patogen Tanaman

M. Machmud, M. Ace Suhendar, Yadi Suryadi, Jumanto, dan M. Sudjadi

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Kegiatan penelitian telah dilakukan pada tahun anggaran 2002 untuk koleksi dan karakterisasi jamur dan bakteri patogen tanaman pangan dari beberapa wilayah di Jawa Barat. Sejumlah 201 isolat yang terdiri dari 39 isolat jamur dan 162 isolat bakteri patogen utama telah dikoleksi, diidentifikasi ciri-cirinya, dan disimpan dalam keadaan kering beku pada suhu 4°C. Khusus untuk koleksi *Ralstonia solanacearum* juga disimpan dalam akuades steril pada suhu ruang. Isolat jamur patogen disimpan pada media agar yang ditutup dengan minyak mineral steril pada suhu ruang. Tiap koleksi patogen disimpan rangkap lima. Lima puluh tiga isolat patogen tanaman, terdiri atas 8 virus dan 45 bakteri, hasil koleksi tahun 2001 telah diperiksa kembali viabilitasnya setelah disimpan selama satu tahun. Seluruh isolat yang diuji masih hidup dan tumbuh baik serta tidak mengalami perubahan ciri-cirinya.

Kata kunci: Seleksi dan karakterisasi, preservasi, patogen tumbuhan

ABSTRACT

Selection and characterization of plant pathogens. Research activities were done in the fiscal year of 2002 to collect, characterize, and preserve isolates of major fungal and bacterial pathogens of food crops from West Java. A number of 201 plant pathogens comprising of 39 fungi and 162 bacteria were collected and identified for their characteristics. The bacterial isolates were preserved in ampoules under freeze-dried conditions at 4°C. Isolates of *Ralstonia solanacearum* were also preserved in sterile distilled water at room temperature. The fungal pathogens were preserved on agar medium covered with mineral oil at room temperature. Each collection was preserved in five replicates. Fifty three isolates of plant pathogens including 8 viruses and 45 bacteria which were collected in 2001, were tested for their viabilities. All the isolates were still viable without any changes in their characteristics after one year of storage.

Key words: Selection and characterization, preservation, plant pathogens

PENDAHULUAN

Indonesia yang terletak di daerah tropik mempunyai biodiversitas mikro-organisme yang sangat luas, termasuk mikroba patogen yang merugikan pada berbagai tanaman pertanian. Dalam melaksanakan kegiatan ilmiah, para ilmuwan mikrobiologi dan ilmuwan yang terkait seperti peneliti fitopatologi dan entomologi memerlukan koleksi biakan mikroba patogen sebagai bahan utama penelitian mereka. Misalnya, dalam mempelajari berbagai ciri-ciri biologi dan ekologi mikroba patogen yang berkaitan dengan epifitologi dan pengendalian penyakit tanaman pertanian, inventarisasi dan

pembuatan koleksi mikroba patogen perlu dilakukan. Koleksi mikroba berfungsi sebagai (1) wahana penyimpan isolat mikroba, (2) pusat informasi tentang mikroorganisme dan cara penyimpanannya, dan (3) pusat kegiatan penelitian dan pelatihan tentang identifikasi dan sistematika mikroba (Sly, 1983; Klement *et al.*, 1990; Lapage *et al.* 1970). Oleh karena itu, di dalam koleksi biakan juga dilengkapi dengan bank data informasi tentang berbagai gatra mikroba yang ada di koleksi.

Para peneliti fitopatologi di Indonesia umumnya dan peneliti Balitbiogen khususnya mempunyai koleksi isolat patogen yang diperlukan untuk kegiatan penelitian sesuai dengan bidang keahliannya. Jumlah isolat patogen yang dikoleksi biasanya terbatas, karena kendala penyimpanannya. Oleh karena itu, upaya pelestarian patogen melalui suatu sistem koleksi dan preservasi yang baik perlu dilakukan untuk menjamin kelestarian koleksi mikroba sebagai sumber acuan dan bahan penelitian bagi para penggunanya.

Sejak tahun 2001, Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian mempunyai mandat untuk melakukan koleksi dan pelestarian plasma nutfah pertanian termasuk plasma nutfah mikroba patogen tanaman pertanian. Saat ini, koleksi patogen tanaman yang ada di Balitbiogen yang meliputi isolat virus, bakteri, jamur, dan nematoda berjumlah sekitar 250 isolat yang diperoleh dari hasil seleksi dan karakterisasi kembali koleksi isolat yang dimiliki oleh para peneliti Balitbiogen yang dilakukan pada tahun anggaran 2001. Koleksi isolat yang telah dimiliki perlu dipelihara dan diperiksa kelestarian (viabilitasnya) secara rutin. Di samping itu, koleksi isolat patogen baru dan karakterisasi ciri-cirinya juga perlu terus dilakukan untuk menambah jumlah koleksi.

Makalah ini merupakan laporan hasil kegiatan penelitian yang telah dilaksanakan pada tahun anggaran 2002 dengan tujuan untuk mengkoleksi dan mengidentifikasi isolat patogen baru dari lapang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada tahun 2001 dengan tahapan kegiatan penelitian yang meliputi (1) koleksi contoh tanaman sakit dari lapang, (2) isolasi dan identifikasi patogen, (3) penyimpanan isolat patogen, dan (4) uji viabilitas isolat dari koleksi sebelum tahun 2001.

Koleksi Contoh Tanaman Sakit dari Lapang

Contoh tanah dan bagian tanaman yang menunjukkan gejala penyakit utama dikoleksi dari beberapa lokasi di Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur. Pengambilan contoh dilakukan secara acak purposif, berdasarkan peluang ditemukannya jenis tanaman dan patogen yang dilapang. Komoditas tanaman yang diamati dan diambil contohnya adalah padi, kedelai, kacang tanah, ubi jalar, talas, kentang, tomat, kubis, bawang, dan sayuran lain.

Isolasi dan Identifikasi Patogen

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen

Isolasi bakteri patogen dilakukan pada medium Nutrien Dekstrose Agar (NDA), King's B Agar (KBA), Tetrazolium Chloride Agar (TZCA), Nutrien Starch Calcium Carbonate Agar (NSCA) yang dibuat menurut resep yang ditulis Sly (1983). Isolasi bakteri patogen dilakukan dengan metode pengenceran ekstrak tanah atau tanaman contoh (Klement *et al.*, 1990). Biakan murni patogen hasil isolasi di-karakterisasi ciri-cirinya, termasuk ciri-ciri morfologi, fisiologi, biokimia, dan kisaran inangnnya guna mengidentifikasi jenis patogennya. Identifikasi patogen dilakukan menurut teknik yang diuraikan oleh Lelliot dan Stead (1987). Uji patogenisitas isolat dilakukan dengan menginfeksi pada tanaman inang asalnya menggunakan teknik yang sesuai (Klement *et al.*, 1990). Ciri-ciri patogen dicocokkan dengan pustaka acuan (Bradbury, 1986; Krieg dan Holt, 1984).

Isolasi dan Identifikasi Jamur Patogen

Isolasi jamur patogen dilakukan dengan menumbuhkan bagian tanaman bergejala penyakit yang telah didesinfeksi menggunakan larutan 0,5% Na-hipoklorit pada medium PDA, Agar Czapek atau V-8 Juice Agar (Ashwood-Smith dan Farrant, 1980; McGinnis *et al.*, 1974). Isolat patogen yang diperoleh dimurnikan pada medium yang sesuai. Identifikasi patogen dilakukan dengan mengamati ciri-ciri morfologi secara mikroskopi dan uji patogenisitas isolat pada tanaman inangnnya. Ciri-ciri patogen dicocokkan dengan pustaka acuan (Barnett, 1960; Alexopoulos, 1962).

Penyimpanan Patogen

Isolat patogen hasil koleksi dipreservasi dengan teknik yang sesuai untuk masing-masing jenis patogen (Skerman, 1973; Lapage *et al.*, 1970; Sly, 1983). Isolat bakteri disimpan dalam ampul (1 ml) dan dikeringbekukan dengan *freeze drier* Sanyo. Tiap ampul berisi 0,3 ml suspensi biakan bakteri umur 48 jam dalam larutan 0,1% pepton dengan kepekatan 10^6 - 10^8 CFU/ml. Khusus isolat bakteri *R. solanace-arum* disimpan dengan dua cara, yaitu dalam ampul secara kering beku pada suhu kulkas (4°C) dan dalam tabung eppendorf pada suhu ruang. Setiap tabung eppendorf ukuran 1,5 ml diisi 0,5 ml suspensi bakteri umur 48 jam dalam akuades steril dengan kepekatan 10^6 - 10^8 CFU/ml. Isolat jamur patogen disimpan dalam tabung reaksi berisi media PDA miring yang diberi minyak mineral steril. Setiap isolat disimpan rangkap lima. Ciri-ciri masing-masing patogen dikarakterisasi dan disesuaikan dengan pustaka acuan (Bradbury, 1986; Krieg dan Holtz, 1984; Lelliot dan Stead 1987; Seal dan Elphinstone, 1994). Informasi tentang ciri-ciri isolat yang telah

dikoleksi dan dikarakterisasi disusun dalam basis data pada kegiatan penelitian lain.

Uji Viabilitas Isolat

Uji viabilitas isolat yang disimpan di tempat penyimpanan koleksi isolat dilakukan dengan beberapa cara, tergantung pada jenis patogen dan teknik penyimpanannya. Isolat bakteri patogen yang disimpan dalam ampul, uji viabilitas dilakukan dengan membuka ampul dengan alat kikir dan menambahkan akuades steril ke dalam ampul untuk mensuspensikan bakteri yang ada didalamnya, dilanjutkan dengan menggoreskan sebagian suspensi tersebut menggunakan jarum ose pada medium agar yang sesuai (Sly, 1983). Biakan patogen diinkubasikan pada suhu ruang untuk melihat pertumbuhannya. Bakteri patogen yang disimpan dalam bentuk suspensi dalam air steril, viabilitasnya diuji dengan menggoreskan suspensi patogen yang sebelumnya telah dikocok dahulu pada medium agar yang sesuai, misalnya isolat bakteri *R. solanacearum* digoreskan pada medium TTZ (Sly, 1983). Viabilitas virus yang disimpan dalam bentuk bahan tanaman diinokulasikan pada tanaman inang asalnya atau dengan teknik *Indirect Double Antibody Sandwiched-ELISA* (IDAS-ELISA), sedangkan virus yang dilestarikan secara *in vivo* pada tanaman inangnya hanya dideteksi menggunakan teknik ELISA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Koleksi Contoh Tanaman Sakit dari Lapang

Koleksi contoh tanaman yang menunjukkan gejala penyakit telah dilakukan secara rutin dan periodik dari beberapa lokasi di Jawa Barat (Bogor, Cianjur, Bandung, dan Subang). Jenis tanaman yang dikoleksi meliputi padi, kedelai, kacang tanah, ubi jalar, kentang, tomat, kubis, kubis bunga, dan bawang daun. Contoh tanaman kedelai diperoleh dari daerah Jember (Jawa Timur) dan contoh tanaman kacang tanah diperoleh dari Pati dan Kudus (Jawa Tengah). Contoh tanah, terutama diambil untuk mengisolasi jamur patogen tular tanah. Pada tahun 2002 telah dikoleksi 486 contoh tanaman dan tanah yang terdiri dari 302 tanaman padi, 88 tanaman kedelai, 24 tanaman kacang tanah, 22 tanaman pisang, 10 tomat, 16 kentang, 12 kubis, 8 bawang daun, 6 ubi jalar, 4 tanaman talas, dan 4 contoh tanah.

Isolasi dan Identifikasi Patogen

Pada tahun 2002 diperoleh sebanyak 201 isolat patogen dari berbagai daerah di Jawa Barat yang terdiri atas 162 isolat bakteri dan 39 isolat jamur patogen. Isolat bakteri yang diperoleh terdiri atas dua isolat *Erwinia*

carotovora pv. *carotovora*, 16 isolat *Ralstonia solanacearum*, enam isolat *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*, 10 isolat *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, enam isolat *X. campestris* pv. *glycines*, dan 122 isolat *X. oryzae* pv. *Oryzae* (Tabel 1, 2, dan 3). Dua isolat *E. carotovora* pv. *carotovora* diperoleh dari tanaman kubis asal Pacet, Cianjur. Isolat *P. syringae* pv. *glycinea* diperoleh dari kedelai varietas Wilis asal Jember. Enam belas isolat *R. solanacearum* yang diperoleh berasal dari Bogor, Cianjur, Lembang, Pangalengan, Pati, dan Kudus. Isolat-isolat tersebut terdiri atas empat isolat Ras 2 Biovar 1 yang diperoleh dari tanaman pisang asal Bogor; enam isolat Ras 3 Biovar 2 dari tanaman kentang dan tomat yang ditanam di dataran tinggi (Cianjur, Lembang, Margahayu, dan Pangalengan), dan enam isolat Ras 1 Biovar 3 dari tomat, cabai, dan kacang tanah asal Lembang (Jawa Barat) serta Pati dan Kudus (Jawa Tengah). Isolat-isolat *X. campestris* pv. *campestris* yang dikoleksi terdiri atas empat isolat dari kubis asal Pacet (Cianjur), tiga isolat dari kubis bunga asal Puncak (Bogor), dan tiga isolat dari kubis asal Lembang. Sepuluh isolat *X. campestris* pv. *glycines* diperoleh dari contoh tanaman kedelai asal Jember, Jawa Timur. Isolat-isolat *X. oryzae* pv. *oryzae* (122 isolat) diperoleh dari contoh tanaman padi, termasuk lima isolat asal Bogor, enam isolat asal Purwakarta, tujuh isolat asal Subang, dan 104 isolat asal Sukamandi, Subang.

Koleksi jamur patogen memperoleh 39 isolat terdiri atas dua isolat *Alternaria colocasiae*, enam isolat *Alternaria porri*, dua isolat *Cercospora*

Tabel 1. Jenis dan jumlah isolat bakteri dan jamur patogen tanaman pangan yang telah dikoleksi dan dikarakterisasi pada tahun 2002

Jenis patogen	Jumlah isolat
Bakteri:	
<i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>carotovora</i>	2
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>glycinea</i>	2
<i>Ralstonia solanacearum</i>	16
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	10
<i>X. campestris</i> pv. <i>glycines</i>	10
<i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	122
	162
Jamur:	
<i>Alternaria colocasiae</i>	2
<i>A. porri</i>	6
<i>Cercospora bataticola</i>	2
<i>Elsinoe ivatae</i>	5
<i>Fusarium oxysporum</i> var. <i>cubensis</i>	2
<i>F. oxysporum</i>	2
<i>F. solani</i>	2
<i>Rhizoctonia solani</i>	18
	39
Total	201

bataticola, lima isolat *Elsinoe iwatae*, dua isolat *Fusarium oxysporum* var. *cubensis*, dua isolat *F. oxysporum*, dua isolat *F. solani*, dan 18 isolat *Rhizoctonia solani* (Tabel 1 dan 4). Isolat *A. colocasiae* diperoleh dari tanaman talas asal Pacet, Cianjur. Isolat *A. porri* diperoleh dari tanaman bawang daun asal Pacet dan Segunung, Cianjur. Isolat *C. bataticola* dan *E. iwatae* diperoleh dari ubi jalar asal Pacet, Cianjur. Isolat *F. oxysporum* var. *cubensis* diperoleh dari tanaman pisang asal Bogor, sedangkan isolat *F. oxysporum* dan *F. solani* diperoleh dari tanaman kentang asal Cipanas, Cianjur. Isolat *R. solani* diperoleh dari tanaman padi, kacang tanah, dan kedelai serta dari tanah asal Bogor, Pacet, Cianjur, Subang, dan Sukamandi.

Tabel 2. Daftar isolat bakteri *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *X. campestris* pv. *glycines*, hasil koleksi tahun 2002. Bogor, 2003

No.	Nomor isolat baru	Asal isolat	
		Lokasi	Inang
1	Ecc2002-1	Pacet, Cianjur	Kubis
2	Ecc2002-2	Pacet, Cianjur	Kubis
1	Psg 2002-01	Jember	Kedelai
2	Psg 2002-02	Jember	Kedelai
1	Rs2002-1	Bogor	Pisang
2	Rs2002-2	Bogor	Pisang
3	Rs2002-3	Bogor	Pisang
4	Rs2002-4	Bogor	Pisang
5	Rs2002-5	Cianjur	Tomat
6	Rs2002-6	Cianjur	Kentang
7	Rs2002-7	Lembang	Cabai
8	Rs2002-8	Lembang	Tomat
9	Rs2002-9	Margahayu	Kentang
10	Rs2002-10	Margahayu	Kentang
11	Rs2002-11	Pangalengan	Kentang
12	Rs2002-12	Pangalengan	Kentang
13	Rs2002-13	Pati	Kacang tanah
14	Rs2002-14	Pati	Kacang tanah
15	Rs2002-15	Kudus	Kacang tanah
16	Rs2002-16	Kudus	Kacang tanah
1	Xcc 2002-01	Pacet, Cianjur	Kubis
2	Xcc 2002-02	Pacet, Cianjur	Kubis
3	Xcc 2002-03	Pacet, Cianjur	Kubis
4	Xcc 2002-04	Pacet, Cianjur	Kubis
5	Xcc 2002-05	Puncak, Bogor	Kubis bunga
6	Xcc 2002-06	Puncak, Bogor	Kubis bunga
7	Xcc 2002-07	Puncak, Bogor	Kubis bunga
8	Xcc 2002-08	Lembang	Kubis
9	Xcc 2002-09	Lembang	Kubis
10	Xcc 2002-10	Lembang	Kubis
1	Xcg 2002-01	Jember	Kedelai
2	Xcg 2002-02	Jember	Kedelai
3	Xcg 2002-03	Jember	Kedelai
4	Xcg 2002-04	Jember	Kedelai

5	Xcg 2002-05	Jember	Kedelai
6	Xcg 2002-06	Jember	Kedelai
7	Xcg 2002-07	Jember	Kedelai
8	Xcg 2002-08	Jember	Kedelai
9	Xcg 2002-09	Jember	Kedelai
10	Xcg 2002-10	Jember	Kedelai

Tabel 3. Daftar isolat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* hasil koleksi tahun 2002

No.	Nomor kode isolat	Asal isolat		No.	Nomor kode isolat	Asal isolat	
		Lokasi	Inang			Lokasi	Inang
1	XOO 2002-01	Bogor	Padi	55	XOO 2002-54	Sukamandi	Padi
2	XOO 2002-02	Bogor	Padi	56	XOO 2002-55	Sukamandi	Padi
3	XOO 2002-03	Bogor	Padi	57	XOO 2002-56	Sukamandi	Padi
4	XOO 2002-04	Bogor	Padi	58	XOO 2002-57	Sukamandi	Padi
5	XOO 2002-05	Bogor	Padi	59	XOO 2002-58	Sukamandi	Padi
6	XOO 2002-06	Sukamandi	Padi	60	XOO 2002-59	Sukamandi	Padi
7	XOO 2002-07	Purwakarta	Padi	61	XOO 2002-60	Sukamandi	Padi
8	XOO 2002-08	Purwakarta	Padi	62	XOO 2002-61	Sukamandi	Padi
9	XOO 2002-09	Purwakarta	Padi	63	XOO 2002-62	Sukamandi	Padi
10	XOO 2002-10	Purwakarta	Padi	64	XOO 2002-63	Sukamandi	Padi
11	XOO 2002-11	Purwakarta	Padi	65	XOO 2002-64	Sukamandi	Padi
12	XOO 2002-12	Purwakarta	Padi	66	XOO 2002-65	Sukamandi	Padi
13	XOO 2002-13	Purwakarta	Padi	67	XOO 2002-66	Sukamandi	Padi
14	XOO 2002-14	Purwakarta	Padi	68	XOO 2002-67	Sukamandi	Padi
15	XOO 2002-15	Purwakarta	Padi	69	XOO 2002-68	Sukamandi	Padi
16	XOO 2002-16	Purwakarta	Padi	70	XOO 2002-69	Sukamandi	Padi
17	XOO 2002-17	Purwakarta	Padi	71	XOO 2002-70	Sukamandi	Padi
18	XOO 2002-18	Subang	Padi	72	XOO 2002-71	Sukamandi	Padi
19	XOO 2002-19	Subang	Padi	73	XOO 2002-72	Sukamandi	Padi
20	XOO 2002-20	Subang	Padi	74	XOO 2002-73	Sukamandi	Padi
21	XOO 2002-21	Subang	Padi	75	XOO 2002-74	Sukamandi	Padi
22	XOO 2002-22	Subang	Padi	76	XOO 2002-75	Sukamandi	Padi
23	XOO 2002-23	Subang	Padi	77	XOO 2002-76	Sukamandi	Padi
24	XOO 2002-24	Subang	Padi	78	XOO 2002-78	Sukamandi	Padi
25	XOO 2002-25	Subang	Padi	79	XOO 2002-79	Sukamandi	Padi
26	XOO 2002-26	Sukamandi	Padi	80	XOO 2002-80	Sukamandi	Padi
27	XOO 2002-27	Sukamandi	Padi	81	XOO 2002-81	Sukamandi	Padi
28	XOO 2002-28	Sukamandi	Padi	82	XOO 2002-82	Sukamandi	Padi
29	XOO 2002-29	Sukamandi	Padi	83	XOO 2002-83	Sukamandi	Padi
30	XOO 2002-30	Sukamandi	Padi	84	XOO 2002-84	Sukamandi	Padi
31	XOO 2002-31	Sukamandi	Padi	85	XOO 2002-85	Sukamandi	Padi
32	XOO 2002-32	Sukamandi	Padi	86	XOO 2002-86	Sukamandi	Padi
33	XOO 2002-33	Sukamandi	Padi	87	XOO 2002-87	Sukamandi	Padi
34	XOO 2002-34	Sukamandi	Padi	88	XOO 2002-88	Sukamandi	Padi
35	XOO 2002-35	Sukamandi	Padi	89	XOO 2002-89	Sukamandi	Padi
36	XOO 2002-36	Sukamandi	Padi	90	XOO 2002-90	Sukamandi	Padi
37	XOO 2002-37	Sukamandi	Padi	91	XOO 2002-91	Sukamandi	Padi
38	XOO 2002-38	Sukamandi	Padi	92	XOO 2002-92	Sukamandi	Padi

39	XOO 2002-39	Sukamandi	Padi	93	XOO 2002-93	Sukamandi	Padi
40	XOO 2002-40	Sukamandi	Padi	94	XOO 2002-94	Sukamandi	Padi
41	XOO 2002-41	Sukamandi	Padi	95	XOO 2002-95	Sukamandi	Padi
42	XOO 2002-42	Sukamandi	Padi	96	XOO 2002-96	Sukamandi	Padi
43	XOO 2002-43	Sukamandi	Padi	97	XOO 2002-97	Sukamandi	Padi
44	XOO 2002-44	Sukamandi	Padi	98	XOO 2002-98	Sukamandi	Padi
45	XOO 2002-45	Sukamandi	Padi	99	XOO 2002-99	Sukamandi	Padi
46	XOO 2002-46	Sukamandi	Padi	100	XOO 2002-100	Sukamandi	Padi
47	XOO 2002-47	Sukamandi	Padi	101	XOO 2002-101	Sukamandi	Padi
48	XOO 2002-48	Sukamandi	Padi	102	XOO 2002-102	Sukamandi	Padi
49	XOO 2002-49	Sukamandi	Padi	103	XOO 2002-103	Sukamandi	Padi
50	XOO 2002-50	Sukamandi	Padi	104	XOO 2002-104	Sukamandi	Padi
51	XOO 2002-51	Sukamandi	Padi	105	XOO 2002-105	Sukamandi	Padi
53	XOO 2002-52	Sukamandi	Padi	106	XOO 2002-106	Sukamandi	Padi
54	XOO 2002-53	Sukamandi	Padi	107	XOO 2002-107	Sukamandi	Padi

Tabel 3. Lanjutan

No.	Nomor kode isolat	Asal isolat		No.	Nomor kode isolat	Asal isolat	
		Lokasi	Inang			Lokasi	Inang
108	XOO 2002-108	Sukamandi	Padi	116	XOO 2002-116	Sukamandi	Padi
109	XOO 2002-109	Sukamandi	Padi	117	XOO 2002-117	Sukamandi	Padi
110	XOO 2002-110	Sukamandi	Padi	118	XOO 2002-118	Sukamandi	Padi
111	XOO 2002-111	Sukamandi	Padi	119	XOO 2002-119	Sukamandi	Padi
112	XOO 2002-112	Sukamandi	Padi	120	XOO 2002-120	Sukamandi	Padi
113	XOO 2002-113	Sukamandi	Padi	121	XOO 2002-121	Sukamandi	Padi
114	XOO 2002-114	Sukamandi	Padi	122	XOO 2002-122	Sukamandi	Padi
115	XOO 2002-115	Sukamandi	Padi				

Tabel 4. Daftar isolat jamur *Alternaria colocaciae*, *A. porri*, *Cercospora bataticola*, *Elsinoe iwatae*, *Fusarium* spp., dan *Rhizoctonia solani* hasil koleksi tahun 2001

Nomor urut	Nomor isolat	Asal isolat	
		Lokasi	Inang
<i>A. colocaciae</i>			
1	AC 2002-01	Pacet, Cianjur	Talas
2	AC 2002-02	Pacet, Cianjur	Talas
<i>A. porri</i>			
1	AP 2002-01	Pacet, Cianjur	Bawang daun
2	AP 2002-02	Pacet, Cianjur	Bawang daun
3	AP 2002-03	Pacet, Cianjur	Bawang daun
4	AP 2002-04	Segunung, Cianjur	Bawang daun
5	AP 2002-05	Segunung, Cianjur	Bawang daun
6	AP 2002-06	Segunung, Cianjur	Bawang daun
<i>C. bataticola</i>			
1	CB 2002-01	Pacet, Cianjur	Ubi jalar
2	CB 2002-02	Pacet, Cianjur	Ubi jalar
<i>E. ivatae</i>			
1	EI 2002-01	Pacet, Cianjur	Ubi jalar
2	EI 2002-02	Pacet, Cianjur	Ubi jalar
3	EI 2002-03	Pacet, Cianjur	Ubi jalar
4	EI 2002-04	Pacet, Cianjur	Ubi jalar
5	EI 2002-05	Pacet, Cianjur	Ubi jalar

<i>Fusarium</i> spp.			
1	FOC 2002-01	Bogor	Pisang
2	FOC 2002-02	Bogor	Pisang
3	FOO 2002-01	Cianjur	Kentang
4	FOO 2002-02	Cianjur	Kentang
5	FS 2002-01	Cianjur	Kentang
6	FS 2002-02	Cianjur	Kentang
<i>R. solani</i>			
1	RhS 2002-01	Bogor	Tanah
2	RhS 2002-02	Bogor	Tanah
3	RhS 2002-03	Bogor	Tanah
4	RhS 2002-04	Bogor	Tanah
5	RhS 2002-05	Pacet	Padi
6	RhS 2002-06	Pacet	Padi

Uji Viabilitas

Pada kegiatan ini, seluruh isolat patogen yang telah dipreservasi sejak tahun 2001 belum selesai diuji viabilitasnya, tetapi secara rutin uji viabilitas ini terus dilakukan untuk pemeliharaan koleksi. Sejumlah 53 isolat patogen yang terdiri atas 8 isolat virus dan 45 isolat bakteri sudah diuji viabilitasnya. Isolat yang telah disimpan selama setahun dalam ampul yang dikeringbekukan dan dalam akuades steril (*R. solanacearum*) masih hidup dan viabilitasnya masih baik (Tabel 5 dan 6). Viabilitas yang baik artinya isolat bakteri masih dapat ditumbuhkan kembali dengan baik pada medium agar NDA, tanpa mengalami perubahan ciri-cirinya, termasuk patogenitasnya pada tanaman inang asalnya. Hal ini menunjukkan bahwa teknik preservasi dan cara penyimpanan yang digunakan cukup baik.

Tabel 4. Lanjutan

Nomor urut	Nomor isolat	Asal isolat	
		Lokasi	Inang
7	RhS 2002-07	Pacet	Padi
8	RhS 2002-08	Pacet	Padi
9	RhS 2002-09	Subang	Padi
10	RhS 2002-10	Subang	Padi
11	RhS 2002-11	Subang	Padi
12	RhS 2002-12	Subang	Padi
13	RhS 2002-13	Sukamandi	Padi
14	RhS 2002-14	Sukamandi	Padi
15	RhS 2002-15	Sukamandi	Padi
16	RhS 2002-16	Sukamandi	Padi
17	RhS 2002-17	Subang	Kacang tanah
18	RhS 2002-18	Subang	Kedelai

FOC = *Fusarium oxysporum* var. *cubense*; FOO = *F. oxysporum* var. *oxysporum*; FS = *F. solani*

Tabel 5. Jenis, jumlah, dan viabilitas virus dan bakteri patogen yang dikoleksi sebelum tahun 2002 yang telah diuji viabilitasnya. Bogor, 2002

Jenis patogen	Jumlah isolat	Viabilitas
Virus:		
Virus Tungro Padi (RTV)	2	Baik
Virus Kerdil Hampa Padi (RRSV)	1	Baik
Virus Kerdil Rumpuk Padi (RGSV)	1	Baik
Virus Bilur Kacang Tanah (PSTV)	2	Baik
Virus Kerdil Kedelai (SSV)	2	Baik
Bakteri:		
<i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>carotovora</i> (ECC)	5	Baik
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>glycinea</i> (PSG)	5	Baik
<i>Ralstonia solanacearum</i> (RS)	25	Baik
<i>X. campestris</i> pv. <i>glycines</i> (XCG)	10	Baik

Tabel 6. Daftar dan kondisi virus patogen serta bakteri *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*, *Xanthomonas campestris* pv. *glycinea*, dan *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* koleksi tahun 2001 yang telah diuji viabilitasnya. Bogor 2002

No.	Nomor isolat	Viabilitas	No.	Nomor isolat	Viabilitas
<i>Virus patogen</i>					
1	PStV 01-1	Baik	5	SSV 01-1	Baik
2	PStV 01-2	Baik	6	SSV 01-2	Baik
3	RTV 01-1	Baik	7	RGSV 01-1	Baik
4	RTV 01-2	Baik	8	RRSV 01-1	Baik
<i>R. solanacearum</i> (RS)					
1	RS9601	Baik	26	RS9701	Baik
2	RS9602	Baik	27	RS9702	Baik

3	RS9603	Baik	28	RS9703	Baik
4	RS9604	Baik	29	RS9704	Baik
5	RS9605	Baik	30	RS9705	Baik
6	RS9606	Baik	31	RS9706	Baik
7	RS9607	Baik	32	RS9707	Baik
8	RS9608	Baik	33	RS9708	Baik
9	RS9609	Baik	34	RS9709	Baik
10	RS9610	Baik	35	RS9710	Baik
11	RS9611	Baik	36	RS9711	Baik
12	RS9612	Baik	37	RS9712	Baik
13	RS9613	Baik	38	RS9713	Baik
14	RS9614	Baik	39	RS9714	Baik
15	RS9615	Baik	40	RS9715	Baik
16	RS9616	Baik	41	RS9716	Baik
17	RS9617	Baik	42	RS9717	Baik
18	RS9618	Baik	43	RS9718	Baik
19	RS9619	Baik	44	RS9719	Baik
20	RS9620	Baik	45	RS9720	Baik
21	RS9621	Baik	46	RS9721	Baik
22	RS9622	Baik	47	RS9801	Baik
23	RS9623	Baik	48	RS9802	Baik
24	RS9624	Baik	49	RS9803	Baik
25	RS9625	Baik	50	RS9804	Baik
<i>P. syringae</i> pv. <i>glycinea</i> (PSG)			<i>X. campestris</i> pv. <i>glycines</i> (XCG)		
1	PSG 01-01	Baik	1	XCG 01-01	Baik
2	PSG 01-02	Baik	2	XCG 01-02	Baik
3	PGg 01-03	Baik	3	XCG 01-03	Baik
4	PSG 01-04	Baik	4	XCG 01-04	Baik
5	PSG 01-05	Baik	5	XCG 01-05	Baik
<i>E. carotovora</i> pv. <i>carotovora</i> (ECC)					
1	ECC 01-01	Baik	6	XCG 01-06	Baik
2	ECC 01-02	Baik	7	XCG 01-07	Baik
3	ECC 01-03	Baik	8	XCG 01-08	Baik
4	ECC 01-04	Baik	9	XCG 01-09	Baik
5	ECC 01-05	Baik	10	XCG 01-10	Baik

PSIV = peanut stripe virus; RTV = rice tungro virus; SSV = soybean stunt virus;
RGSV = rice grassy stunt virus

KESIMPULAN DAN SARAN

Pada tahun 2002 telah dikoleksi dan dikarakterisasi 201 isolat patogen yang terdiri atas 162 isolat bakteri dan 39 isolat jamur. Isolat bakteri dipreservasi dalam ampul dengan teknik kering beku dan disimpan pada suhu -20°C, tetapi isolat *R. solanacearum* juga disimpan dalam akuades steril pada suhu ruang. Isolat jamur patogen disimpan pada agar miring dengan minyak mineral. Isolat patogen koleksi tahun 2001 yang telah disimpan selama setahun masih menunjukkan viabilitas.

Koleksi dan preservasi mikroba patogen perlu dilanjutkan untuk menunjang program konservasi plasma nutfah mikroba pertanian.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulous, C.J. 1962.** Introductory to Mycology, 2nd ed. J. Wiley & Sons, New York, 613 p.
- Ashwood-Smith, M.J. and Farrant, J. 1980.** Low temperature preservation in medicine and biology. Pitman, Tunbridge Wells, U.K.
- Barnett, H.L. 1960.** Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess Publishing, Minneapolis. 225 p.
- Bradbury, J.F. 1986.** Guide to plant pathogenic bacteria. CAB Internat'l. Mycol. Inst., Slough, UK. 332 p.
- Klement, Z., K. Rudolph, and D.C. Sands. 1990.** Methods in phytobacteriology. Vol I. Akademiai Kiado, Budapest.
- Krieg, N.R. dan J.G. Holt. 1984.** Bergey's manual of determinative bacteriology. MacMillan, Baltimore. 785 hlm.
- Lapage, S.P., J.E. Shelton, T.G. Mitchell, and A.R. Mackenzie. 1970.** Culture collections and preservation of bacteria. *In* J.R. Norris and D.W. Ribbons (*Eds.*). Methods in Microbiology. Vol. 3A. Academic Press, London. p. 135-227.
- Lelliot and Stead 1987.** Identification of plant pathogenic bacteria. Academic Press, London.
- McGinnis, M.R., A.A. Padhye, and L. Ajello. 1974.** Storage of stock culture of filamentous fungi, yeast and some aerobic actinomycetes in sterile distilled water. *Applied Microbiology* 28:218-222.
- Seal, S. and J.G. Elphinstone. 1994.** Advances in identification and detection of *P. solanacearum*. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (*Eds.*). Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative Agent, *P. solanacearum*. CAB International, Wallingford. p. 35-58.
- Skerman, V.B.D. 1973.** The organization of a small general culture collection. *In* A.F. Pestana de Castro, E.J. Da Silva, V.B.D. Skerman, and W.W. Leveritt (*Eds.*). Proc. 2nd Internat'l Conf. on Culture Collections. Unesco/UNEP/ICRO/WFCC/ World Data Center for Microorganisms, Brisbane, Australia.
- Sly, L.I. 1983.** Preservation of microbial cultures. *In* P.C. Fahy and G.J. Persley (*Eds.*). Plant Bacterial Diseases. A Diagnostic Guide. Academic Press, Sidney. p. 275-298.
- Weber, G.F. 1973.** Bacterial and fungal diseases of plants in the tropics. Univ. Florida Press, Gainesville, USA. 673 p.