

**PEDOMAN DIAGNOSIS
ORGANISME PENGGANGGU TUMBUHAN KARANTINA
GOLONGAN CENDAWAN**



**PUSAT KARANTINA TUMBUHAN
BADAN KARANTINA PERTANIAN**

2007

**PEDOMAN DIAGNOSIS
ORGANISME PENGGANGGU TUMBUHAN KARANTINA
GOLONGAN CENDAWAN**



**PUSAT KARANTINA TUMBUHAN
BADAN KARANTINA PERTANIAN
2007**

KATA PENGANTAR

Sejalan dengan tuntutan pekerjaan yang mengharuskan hasil yang cepat, tepat dan akurat terutama dalam hal identifikasi Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT) terutama OPT Karantina (OPTK) Golongan Cendawan, maka disusun Pedoman Diagnosis OPTK Golongan Cendawan ini.

Pedoman ini disusun berdasarkan *International Standards for Phytosanitary Measure* (ISPM) nomor 27 tentang *Diagnose Protocol for Regulated Pest*. Pedoman ini memuat sistematika pelaksanaan dalam pengujian OPTK golongan cendawan yang disusun berdasarkan jenis OPTK Golongan cendawan sesuai dengan Keputusan Menteri Pertanian No. 38/Kpts/HK.060/1/2006. Adapun metode yang digunakan disesuaikan dengan jenis atau golongan cendawan yang akan diuji.

Dengan adanya manual ini diharapkan Pengendali Organisme Pengganggu Tumbuhan (POPT) yang ada di Unit Pelaksana Teknis Karantina Tumbuhan yang ada didaerah diseluruh Indonesia, khususnya yang bekerja dilaboratorium dapat melakukan deteksi dan identifikasi cendawan secara cepat, tepat dan akurat.

Akhirnya, kami mengucapkan terima kasih kepada Tim Penyusun yaitu Budiman, Endang Saptorini, Umi Hidayatul H. dan Artati Kuswulandani serta semua pihak yang telah membantu baik langsung maupun tidak langsung dalam penyempurnaan Pedoman Diagnosis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina Golongan Cendawan,

Jakarta, Nopember 2007
Kepala Pusat Karantina Tumbuhan

Drs. Suwanda ZA, MSc
NIP. 080 020 489

DAFTAR ISI

	Hal
Kata Pengantar	i
Daftar Isi	ii
Bab I Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	1
1.3 Ruang Lingkup	1
1.4 Pengertian Umum	2
1.5 Dasar Hukum	2
Bab II Prosedur Preparasi Sampel Media Pembawa	3
Prosedur Preparasi	4
1. Preparasi Sampel Bentuk Biji	4
2. Preparasi Sampel Bentuk Umbi	4
3. Preparasi Sampel Bentuk Tanaman/Bibit/Plantlet	5
4. Preparasi Sampel Bentuk Akar	5
5. Preparasi Sampel Bentuk Daun	6
6. Preparasi Sampel Bentuk Batang	6
7. Preparasi Sampel Bentuk Embrio	6
8. Preparasi Sampel Bentuk Bunga Potong	7
9. Preparasi Sampel Bentuk Serbuk Sari (Pollen).....	7
Bab III Metode Diagnosis OPT/K Cendawan	8
3.1 Metode Pemeriksaan Langsung	8
3.1.1 Pemeriksaan Biji Kering / Bagian Tanaman Bergejala Penyakit	8
3.1.2 Metode Pencucian (MP)	9
3.2 Metode Identifikasi Tidak Langsung	10
3.2.1 Metode Uji Kertas Saring (Blotter test) atau Modifikasinya (MB)	10
3.2.2 Metode Agar-agar Cawan (MAC)	13
3.2.3 Metode Pemeriksaan Embrio (MPE)	16
3.2.4 Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK)	18
3.2.5 Metode Serologi (ELISA)	20
3.2.6 Metode <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	20
Bab IV Matrikulasi Metode Diagnosis	25
4.1 Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina Kategori A1	25
4.2 Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina Kategori A2	47
Bab V Daftar Pustaka	52
Lampiran I. Media Penanaman Dan Sporulasi Cendawan	53
II. Media Selektif Dan Semi Selektif Untuk Isolasi Cendawan Pathogen	88

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemeriksaan organisme pengganggu tumbuhan (OPT) secara mikroskopis di laboratorium di seluruh unit Pelaksana Teknis lingkup Badan Karantina Pertanian dituntut dapat bekerja secara cepat, tepat dan akurat, agar salah satu fungsi Karantina Tumbuhan dalam hal pelayanan publik dapat terlaksana dengan baik. Dengan demikian arus lalu lintas komoditi pertanian baik yang masuk dari luar negeri (impor) ataupun yang keluar negeri (ekspor) dan juga antar pulau (domestik) dapat berjalan lancar tanpa hambatan.

Unit Pelaksana Teknis lingkup Badan Karantina Pertanian dalam melaksanakan pemeriksaan OPT khususnya cendawan menggunakan berbagai metode pengujian yang tidak berorientasi pada target organisme pengganggu tumbuhan karantina (OPTK) sasaran, sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama dalam pengambilan keputusan. Hal ini disebabkan belum adanya satu panduan yang dapat digunakan dalam mendeteksi OPTK cendawan secara tepat dan akurat sesuai target OPTK

International Standards for Phytosanitary Measure (ISPM) No.27 tentang *Diagnosis Protocol for regulated Pests*, yang menjadi acuan dalam penyusunan Pedoman Diagnosis OPTK golongan Cendawan, sehingga dapat menjadi pedoman dalam Diagnosis OPTK golongan cendawan di Unit Pelaksana Teknis di seluruh Indonesia.

Diagnosis OPTK golongan cendawan ini disusun berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian No.38 /Kpts/HK.060/1/2006 tentang Jenis-jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina(OPTK) golongan A1 dan golongan A2. Jenis OPTK golongan cendawan A1 berjumlah 102, dan OPTK A2 28 jenis.

1.2 Tujuan

- a. Penyusunan Diagnosis OPTK golongan Cendawan agar dapat dijadikan sebagai dasar ilmiah dalam pelaksanaan terhadap tindakan Karantina Tumbuhan pemeriksaan di laboratorium terhadap organisme pengganggu tumbuhan Karantina yang disebabkan oleh cendawan di seluruh unit pelaksana teknis (UPT)
- b. Menyeragamkan pelaksanaan tindakan Karantina Tumbuhan pemeriksaan di laboratorium yang berorientasi pada target organisme pengganggu tumbuhan karantina (OPTK golongan Cendawan).

1.3 Ruang Lingkup

Pedoman Diagnosis OPTK golongan Cendawan ini memuat metode-metode diagnosis yang harus digunakan dalam melakukan deteksi dan identifikasi golongan cendawan OPTK yang mungkin terbawa, baik pada media pembawa yang dilalu lintaskan, maupun di laboratorium.

1.4. Pengertian Umum

- a) Tumbuhan adalah semua jenis sumber daya alam nabati dalam keadaan hidup dan mati, baik sebelum maupun telah proses primer
- b) Karantina Tumbuhan adalah tindakan yang merupakan upaya pencegahan masuk dan tersebarnya Organisme Pengganggu Tumbuhan dari luar negeri dan suatu area ke area lain di dalam negeri atau keluarnya dari dalam wilayah Negara Republik Indonesia
- c) Organisme Pengganggu Tumbuhan adalah semua organisme yang dapat merusak, mengganggu kehidupan, menyebabkan kehilangan hasil atau menyebabkan kematian tumbuhan.
- d) Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina adalah semua Organisme Pengganggu Tumbuhan yang ditetapkan oleh Menteri untuk dicegah masuknya ke dalam dan tersebarnya di dalam wilayah Republik Indonesia
- e) Organisme Pengganggu Tumbuhan Golongan I adalah Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina yang tidak dapat dibebaskan dari Media Pembawanya dengan cara perlakuan;
- f) Organisme Pengganggu Tumbuhan Golongan II adalah Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina yang dapat dibebaskan dari Media Pembawanya dengan cara perlakuan;
- g) Organisme Pengganggu Tumbuhan Penting adalah Organisme Pengganggu Tumbuhan selain organisme pengganggu tumbuhan karantina, yang keberadaannya pada benih tanaman yang dilalulintaskan dapat menimbulkan pengaruh yang merugikan secara ekonomi terhadap tujuan penggunaan benih tanaman tersebut dan ditetapkan oleh Menteri untuk dikenai tindakan karantina tumbuhan.
- h) Media Pembawa Organisme Pengganggu Tumbuhan yang selanjutnya disebut media pembawa adalah tumbuhan dan bagian-bagiannya dan atau benda lain yang dapat membawa organisme pengganggu tumbuhan.
- i) Benih adalah biji tanaman yang digunakan untuk keperluan dan pengembangan usaha tani, memiliki fungsi agronomis atau merupakan komponen agronomi.
- j) Propagula adalah bagian organisme yang dapat digunakan dalam propagasi.
- k) Propagasi adalah 1. perbanyakan dengan cara generatif, vegetatif, atau kultur *in vitro*; 2. perbanyakan dengan cara seksual atau aseksual.

1.5. Dasar Hukum

- a) Undang-undang nomor 12 tahun 1992 tentang Karantina Hewan, Ikan dan Tumbuhan
- b) Peraturan Pemerintah nomor 14 tahun 2002 tentang Karantina Tumbuhan
- c) Keputusan Menteri Pertanian Nomor 38/KPTS/HK.060/1/2006 tentang Jenis-jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina (OPTK) Golongan I dan Golongan II Kategori A1 Kategori A2
- d) *Diagnostic Protocols for Regulated Pest*, ISPM no. 27 tahun 2006

BAB II

PROSEDUR PREPARASI SAMPEL MEDIA PEMBAWA

Sampel bahan uji disiapkan dengan mengambil sampel kerja yang memenuhi syarat. Untuk pengujian benih dalam bentuk biji merujuk pada Pedoman Pengambilan Sampel Biji-bijian untuk Benih, Badan Karantina Pertanian.

Preparasi sampel dilakukan berdasarkan sifat cendawan parasit atau patogenik tumbuhan. Berdasarkan sifat hidupnya cendawan patogenik dibedakan menjadi tiga golongan yaitu : cendawan parasit, cendawan saprofit fakultatif dan cendawan parasit obligat. Ketiga golongan cendawan tersebut bila mampu menyerang tumbuhan akan mengganggu proses fisiologi tumbuhan dan menimbulkan gejala penyakit disebut sebagai cendawan patogenik. Cendawan parasit fakultatif dan saprofit fakultatif, dapat dibiakkan pada media buatan, sedangkan cendawan parasit obligat adalah cendawan yang tidak dapat dibiakkan pada media buatan karena memerlukan inang untuk hidupnya. Pemeriksaan cendawan parasit fakultatif, saprofit fakultatif dan obligat dapat dilakukan dengan menggunakan metode pemeriksaan antara lain :

(a) Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), (b) Metode Pencucian (MP), (c) Metode *Blotter* (MB), (d) Metode Agar-agar Cawan (MAC), (e) Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), (f) Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), (g) *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), (h) Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

- a. sodium hipoklorit (NaOCl) 1%
- b. akuades
- c. kertas saring / *tissue*
- d. kapas
- e. label

2. Alat

- a. gelas piala (*beaker glass*)
- b. cawan Petri
- c. batang pengaduk kaca
- d. gelas ukur
- e. pinset
- f. kuas
- g. palu/ pemecah biji
- h. saringan
- i. pisau / *blade* / *cutter*
- j. gunting
- k. pembakar Bunsen

Prosedur Preparasi

Sebelum melakukan preparasi petugas laboratorium memakai kelengkapan laboratorium dan mengikuti prosedur laboratorium guna menghindari kontaminasi.

Sampel kerja dapat berupa tanaman atau bagian-bagiannya. Adapun preparasinya adalah sebagai berikut :

1. Preparasi Sampel Bentuk Biji

- a. Mengambil 400 biji sampel kerja dengan 3 ulangan Pengambilan biji dilakukan secara acak dengan memperhatikan letak patogen target pada biji yang akan diuji dari sampel kerja yang telah dihomogenkan sebagai sampel uji (contoh : biji padi, jagung, kedelai, kacang tanah, gandum, kacang hijau).
- b. Untuk pemeriksaan tidak langsung dilakukan desinfeksi biji dalam sodium hipoklorit (NaOCl_3) 1% selama 1-10 menit tergantung ketebalan perikarp biji yang diuji dan dibilas 2 kali dengan akuades. Kemudian biji ditiriskan menggunakan kertas saring/ kertas *tissue*
- c. Sedangkan untuk pemeriksaan langsung tidak melalui tahap desinfeksi dengan sodium hipoklorit (NaOCl_3)1%
- d. Memberi label sampel mengenai identitas sampel yang akan diuji yaitu meliputi nomor sampel, tanggal, nama sampel, nama ilmiah, daerah asal (dengan kode). Pelabelan tersebut juga berlaku untuk preparasi bentuk umbi, tanaman/bibit/plantlet, akar, daun, batang, embrio, bunga potong, pollen.

Preparasi sampel dalam bentuk biji untuk beberapa metode pengujian :

- a. Preparasi desinfeksi (*Washing test*)
Dari 400 biji sampel kerja dibagi menjadi 4 sub sampel, setiap sub sampel diambil 100 biji (4X25 biji) (untuk biji sereal seperti : padi, gandum, sorgum)
- b. Metode *blotter test* :
Dari 400 biji sampel kerja dibagi menjadi 4 sub sampel. Setiap sub sampel diambil 25 untuk biji sayuran, 10 biji sereal seperti biji padi, gandum, sorgum dan 5 biji untuk jenis kacang-kacangan per cawan Petri.
- c. Metode agar-agar cawan :
Dari 400 biji sampel kerja dibagi menjadi 4 sub sampel. Setiap sub sampel diambil 25 untuk biji sayuran, 10 biji sereal seperti biji padi, gandum, sorgum dan 5 biji untuk jenis kacang-kacangan per cawan Petri.

2. Preparasi Sampel Bentuk Umbi

- a. Mengambil umbi / bagian umbi yang bergejala (mengambil jaringan antara bagian yang sehat dan sakit). Apabila sampel tidak memperlihatkan gejala, seluruh sampel kerja diperiksa dengan memperhatikan sifat dan lokasi serangan patogen target yang akan diuji. Untuk mengetahui gejala serangan dapat melihat nama penyakit

- pada matrikulasi diagnosis kolom 2.
- Untuk pemeriksaan tidak langsung dilakukan desinfeksi umbi dengan mengusapkan kapas yang dicelupkan pada larutan NaOCl_3 1% atau etanol 70% pada permukaan umbi dan dibilas 2 kali dengan akuades, kemudian dipotong-potong menjadi bagian kecil dengan ukuran $0,5 \times 0,5 \times 0,5 \text{ cm}^3$ agar dapat dimasukkan ke dalam cawan Petri.
 - Sedangkan untuk pemeriksian langsung tidak perlu melalui tahap desinfeksi dengan NaOCl_3 1%, cukup membersihkan umbi dari tanah dan kotoran yang melekat dengan menggunakan kuas halus.

3. Preparasi Sampel Bentuk Tanaman / Bibit / Plantlet

Preparasi secara umum adalah sebagai berikut :

- Mengambil tanaman / bibit / *plantlet* yang bergejala (mengambil dari jaringan antara bagian yang sehat dan sakit) Apabila sampel tidak memperlihatkan gejala, sampel diambil secara acak dengan memperhatikan letak patogen target yang akan diuji. Untuk mengetahui gejala serangan dapat melihat nama penyakit pada matrikulasi diagnosis kolom 2.
- Untuk pemeriksaan tidak langsung dilakukan desinfeksi jaringan tanaman/ bibit/ *plantlet* dengan mengusap permukaan jaringan menggunakan sodium hipoklorit (NaOCl 1%) atau etanol 70% dengan bantuan kapas/ *tissue* dan dibilas 2 kali dengan akuades, kemudian diiris menjadi bagian yang lebih kecil dengan ukuran 0,5 - 2 cm agar dapat masuk ke dalam cawan Petri
- Sedangkan untuk pemeriksian langsung tidak perlu melalui tahap desinfeksi dengan NaOCl 1% atau etanol 70%, cukup membersihkan jaringan tanaman/ bibit/ *plantlet* dari tanah dan kotoran yang melekat dengan menggunakan kuas halus.

Salah satu contoh preparasi pada bibit serealia yang terserang *Septoria nodorum* adalah sebagai berikut :

- Menyiapkan media agar-agar air (*water agar*)
- Memasukkan 400 bibit sampel kerja ke dalam tabung reaksi. Setiap tabung reaksi berisi 10 ml media agar-agar air dan setiap tabung reaksi berisi satu bibit. Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil dan diletakkan pada rak.
- Tabung reaksi tersebut diinkubasikan pada suhu 20°C selama 14 hari dengan kondisi 12 jam terang dan 12 jam gelap.
- Setelah tahap ini siap dilakukan pengujian selanjutnya.

4. Preparasi Sampel Bentuk Akar

- Mengambil akar yang bergejala (mengambil jaringan antara bagian yang sehat dan sakit) Apabila sampel tidak memperlihatkan gejala, sampel diambil secara acak dengan memperhatikan letak patogen target yang akan diuji. Untuk mengetahui gejala serangan dapat melihat nama penyakit pada matrikulasi diagnosis kolom 2
- Untuk pemeriksaan tidak langsung dilakukan desinfeksi jaringan akar dengan mengusapkan kapas yang dicelupkan dalam larutan NaOCl_3

1% atau etanol 70% pada permukaan jaringan kemudian dibilas 2 kali dengan akuades, kemudian diiris menjadi bagian yang lebih kecil dengan ukuran 0,5 - 2 cm agar dapat masuk ke dalam cawan Petri

- c. Sedangkan untuk pemeriksaan langsung tidak perlu melalui tahap desinfeksi dengan NaOCl 1% atau etanol 70%, cukup membersihkan jaringan akar dari tanah dan kotoran yang melekat dengan menggunakan kuas halus.

5. Preparasi Sampel Bentuk Daun

- a. Mengambil daun yang bergejala (mengambil jaringan yang menunjukkan kondisi sehat dan sakit) Apabila sampel tidak memperlihatkan gejala, sampel diambil secara acak dengan memperhatikan letak patogen target yang akan diuji. Untuk mengetahui gejala serangan dapat melihat nama penyakit pada matrikulasi diagnosis kolom 2
- b. Untuk pemeriksaan tidak langsung dilakukan desinfeksi jaringan akar dengan mengusap permukaan jaringan menggunakan sodium hipoklorit (NaOCl) 1% atau etanol 70% dengan bantuan kapas/ *tissue* dan dibilas 2 kali dengan akuades, kemudian diiris menjadi bagian yang lebih kecil dengan ukuran 0,5 - 2 cm agar dapat masuk ke dalam cawan Petri
- c. Sedangkan untuk pemeriksaan langsung tidak perlu melalui tahap desinfeksi dengan NaOCl 1% atau etanol 70%, cukup membersihkan jaringan daun dari tanah dan kotoran yang melekat dengan menggunakan kuas halus.

6. Preparasi Sampel Bentuk Batang

- a. Mengambil batang tanaman yang bergejala (mengambil jaringan antara bagian yang sehat dan sakit) Apabila sampel tidak memperlihatkan gejala, sampel diambil secara acak dengan memperhatikan letak patogen target yang akan diuji. Untuk mengetahui gejala serangan dapat melihat nama penyakit pada matrikulasi diagnosis kolom 2
- b. Untuk pemeriksaan tidak langsung dilakukan desinfeksi jaringan akar dengan mengusap permukaan jaringan menggunakan sodium hipoklorit (NaOCl) 1% atau etanol 70% dengan bantuan kapas/ *tissue* dan dibilas 2 kali dengan akuades, kemudian diiris menjadi bagian yang lebih kecil dengan ukuran 0,5 - 2 cm agar dapat masuk ke dalam cawan Petri
- c. Sedangkan untuk pemeriksaan langsung tidak perlu melalui tahap desinfeksi dengan NaOCl 1% atau etanol 70%, cukup membersihkan jaringan batang tanaman dari tanah dan kotoran yang melekat dengan menggunakan kuas halus.

7. Preparasi Sampel Bentuk Embrio

Jumlah dan preparasi untuk setiap jenis embrio berbeda penanganannya. Sebagai contoh serealia (gandum, padi, sorgum).

Sampel kerja minimal 1050 biji (kurang lebih 100 g) dengan 3 ulangan. Sampel direndam dalam 0,15 gbiru tripan (*trypan blue*) per 1 liter NaOH 5% (20-22 EC atau lebih) pada suhu ruangan selama 22-24 jam (Mathur dan Kongsdal, 2003).

- a. Mengambil biji yang bergejala (mengambil jaringan antara bagian yang sehat dan sakit) Apabila sampel tidak memperlihatkan gejala, sampel uji embrio diambil secara acak
- b. Menyiapkan sampel biji untuk diambil embrionya dengan memperhatikan sifat OPT/ OPTK yang akan diuji serta mempertimbangkan kemungkinan melakukan pengujian dengan Metode Pemeriksaan Embrio. Metode pengujian ini biasa dilakukan untuk pengujian patogen terbawa benih (*seed borne disease*)
- c. Merendam biji yang akan diambil embrionya dengan akuades sampai embrio dapat dipisahkan dari perikarpnya. Untuk biji tertentu memerlukan perendaman dalam akuades pada suhu dan jangka waktu tertentu
- d. Memotong/ membelah biji, memisahkan antara embrio dengan endosperm, dan mengumpulkan embrio pada cawan Petri untuk selanjutnya dilakukan pengujian

8. Preparasi Sampel Bentuk Bunga Potong

- a. Mengambil bunga potong yang bergejala (mengambil jaringan antara bagian yang sehat dan sakit atau mengambil bunga yang abnormal). Apabila sampel tidak memperlihatkan gejala, sampel diambil secara acak dengan memperhatikan letak patogen target yang akan diuji. Untuk mengetahui gejala serangan dapat melihat nama penyakit pada matrikulasi diagnosis kolom 2.
- b. Untuk pemeriksaan tidak langsung dilakukan desinfeksi dengan mengusap permukaan jaringan menggunakan sodium hipoklorit (NaOCl) 1% atau etanol 70% dengan bantuan kapas/ *tissue* atau merendam 1-10 menit dalam NaOCl 1% dan dibilas 2 kali dengan akuades, kemudian diiris menjadi bagian yang lebih kecil dengan ukuran 0,5 - 2 cm agar dapat masuk ke dalam cawan Petri
- c. Sedangkan untuk pemeriksaan langsung tidak perlu melalui tahap desinfeksi dengan NaOCl 1% atau etanol 70%, cukup membersihkan jaringan bunga potong dari tanah dan kotoran yang melekat dengan menggunakan kuas halus.
Contoh : Bunga krisan

9. Preparasi Sampel Bentuk serbuk sari (*Pollen*)

- a. Mengambil serbuk sari secara acak dari bunga dan misahkan dari, tanah, bagian tanaman dan benda lain.
- b. Mengering anginkan serbuk sari pada cawan Petri dan memasukkan ke dalam tabung reaksi untuk pengujian selanjutnya.
Contoh : Kelapa sawit

BAB III

METODE DIAGNOSIS OPT/K CENDAWAN

3.1 Metode Pemeriksaan Langsung (MPL)

3.1.1 Pemeriksaan Biji Kering/ Bagian Tanaman Bergejala Penyakit

Metode pemeriksaan langsung pada biji kering/bagian tanaman yang menunjukkan gejala penyakit adalah suatu metode untuk mendeteksi ada tidaknya bagian dari cendawan atau propagula yang terdapat pada bagian tersebut. Propagula cendawan yang biasa ditemukan adalah konidium, ascospora, basidiospora, uredospora, teleospora, zoospora, sporangium, spora, klamidospora, aservulus, klestotesium, piknidium, peritesium, sklerotium, konidiofor/ tangkai konidium, basidium, askus.

Alat :

- Pinset
- Jarum
- Mikroskop stereo
- Mikroskop majemuk (*Compound microscope*)
- Kaca obyek dan kaca penutup

Bahan :

- Cawan Petri
- Akuades
- Laktofenol biru

Instruksi Kerja :

- Letakkan biji/ bagian tanaman bergejala penyakit diletakkan di dalam cawan Petri,
- Amati biji/ bagian tanaman tersebut dengan menggunakan mikroskop stereo. Pengamatan ditujukan kepada adanya propagula cendawan,
- Bila ditemukan propagula, maka amati dengan menggunakan mikroskop majemuk,
- Ambil propagula yang ditemukan dengan jarum, kemudian letakkan pada kaca obyek yang telah ditetesi akuades steril atau laktofenol biru, kemudian ditutup dengan kaca penutup,
- Lakukan identifikasi terhadap cendawan yang ditemukan menggunakan ilustrasi genus dan spesies dari Dunia *Fungi*, Filum, Deuteromycota, Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota, Chytridiomycota, dari Dunia Protoetista (Filum Myxomycota, Plasmodiophoromycota), serta dari Dunia Chromista (Filum Oomycota).
- Lakukan pencatatan hasil identifikasi dan dokumentasi dalam bentuk fotomikrograf.

3.1.2 Metode Pencucian (MP)

Metode pencucian hanya dikhususkan untuk pemeriksaan media pembawa dalam bentuk benih/biji.

Alat :

- Alat kocok (*Shaker*)
- Sentrifus (2000 – 2500 rpm) dan tabungnya
- Mikroskop majemuk (*compound microscope*)
- Kaca obyek
- Kaca penutup
- Labu Erlenmeyer

Bahan :

- Pipet
- Biru laktofenol
- Akuades
- Tween 20

Instruksi Kerja :

- Dari 50 biji yang telah disiapkan pada preparasi sampel dibagi menjadi dua kelompok, masing-masing terdiri dari 25 butir, masukkan setiap kelompok benih ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian tambahkan 10 ml akuades, dan 2 tetes Tween 20.
- Pasang kedua labu Erlenmeyer tersebut pada alat kocok selama 10 menit (atau dikocok manual dengan tangan selama 15 menit),
- Masukkan air kocokan dari masing-masing labu Erlenmeyer ke dalam tabung sentrifus,
- Volume air kocokan pada kedua tabung sentrifus harus sama,
- Letakkan kedua tabung sentrifus dalam sentrifus pada posisi yang berlawanan dan tabung yang digunakan harus dari tipe yang sama. Putar air kocokan dengan menggunakan sentrifus pada 2000 – 2500 rpm selama 10-15 menit,
- Buang air kocokan sehingga tertinggal endapan pada tabung, kemudian masukkan 2 ml biru laktofenol ke dalam tabung, aduk dengan baik,
- Ambil suspensi yang diperoleh dari dalam tabung dengan menggunakan pipet steril, lalu teteskan pada kaca obyek dan tutup dengan kaca penutup. Amati di bawah mikroskop majemuk untuk dilakukan identifikasi dengan kunci identifikasi dari berbagai referensi :
- Lakukan pencatatan dan dokumentasi menggunakan fotomikrograf.

3.2 Metode Identifikasi Tidak Langsung

3.2.1 Metode uji kertas saring (*Blotter test*) atau modifikasinya (MB).

Metode kertas saring adalah salah satu metode uji menggunakan kertas saring yang telah dibasahi terlebih dahulu dengan akuades steril. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada suhu 22° C, dengan pengaturan penyinaran selama 12 jam terang dan 12 jam gelap. Setelah masa inkubasi, pertumbuhan cendawan diamati di bawah mikroskop stereo dan diidentifikasi. Identifikasi dilakukan berdasarkan karakter pertumbuhan cendawan pada biji. Sedangkan secara morfologi dari tubuh buah seperti spora, konidium, dia dengan menggunakan mikroskop majemuk.

Identifikasi berdasarkan morfologi menggunakan beberapa referensi diantaranya : *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* oleh Barnet dan Hunter(1998), *Deuteromycetes and More Deuteromycetes* oleh Ellis , *Illustrated Genera of Ascomycetes* oleh Hanlin T, CABI Compendium (2003), dll.

Alat :

- Ruang inkubasi (inkubator)
- Inkubator dilengkapi pengatur suhu, lampu *Near Ultra Violet* (NUV) atau lampu TL biasa (40 W) dan pengatur waktu otomatis
- Kaca mata pelindung sinar NUV
- Mikroskop majemuk
- Mikroskop stereo
- Refrigerator bersuhu -20°C

Bahan :

- Cawan Petri plastik 10 cmx10,5cm
- Kertas saring (Whatmann No. 1)
- Kaca obyek dan kaca penutup
- Kain kasa
- Akuades Pinset
- Jarum

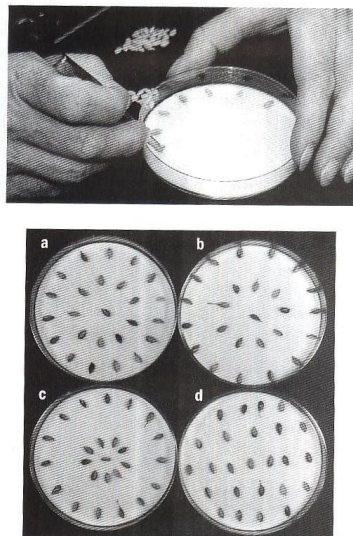
Instruksi Kerja

- Lembabkan 3 (tiga) helai kertas saring dengan cara mencelupkannya ke dalam akuades steril, kemudian letakkan di dalam cawan Petri steril. Atau letakkan 3 helai kertas saring dalam cawan Petri, kemudian tuangkan 10 ml aquades steril, sehingga seluruh kertas saring basah merata, buang kelebihan air.



Gambar 1. Tahap pelembaban kertas saring menggunakan akuades

- Semaikan biji dengan menggunakan pinset di atas kertas saring tadi sebanyak 5,10,25, dan 50 benih ,sesuai dengan ukuran benih (Gambar 1). Untuk biji kakao dan kopi dibutuhkan 5 biji/cawan Petri; untuk semangka, jagung, kedelai, dan padi diperlukan 10 biji/cawan petri untuk cabai dan tomat diperlukan 25 biji/cawan Petri; seledri, benih kubis dan rumput-rumputan diperlukan 50 biji/cawan Petri.



Gambar 2. Cara menanam benih pada cawan Petri sesuai dengan ukuran benih

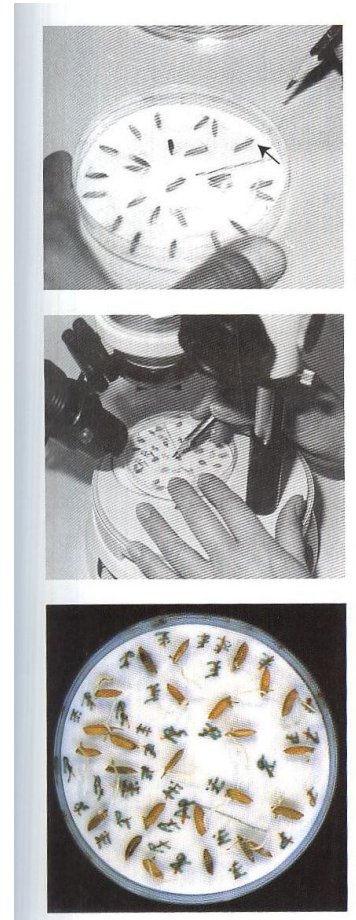
- Letakkan cawan Petri yang diisi biji tadi dalam ruang inkubasi (Gambar 2).
- Inkubasikan cawan Petri selama 7 (tujuh) hari dengan pengaturan 12 jam terang ,12 jam gelap
- Amati dibawah mikroskop stereo pada hari ke 3,5, dan 7 hari setelah inkubasi, pengamatan pada hari ke 3 dan ke 5 ,bila biji atau kecambah sudah busuk harus segera dibuang setelah diamati dan lakukan pencatatan sesuai dengan formulir Laporan Pemeriksaan Metode Kertas Saring (halaman 99, Mathur dan Kongsdal 2003).

Pencatatan termasuk juga persentase benih terserang cendawan temuan menggunakan rumus sebagai berikut :

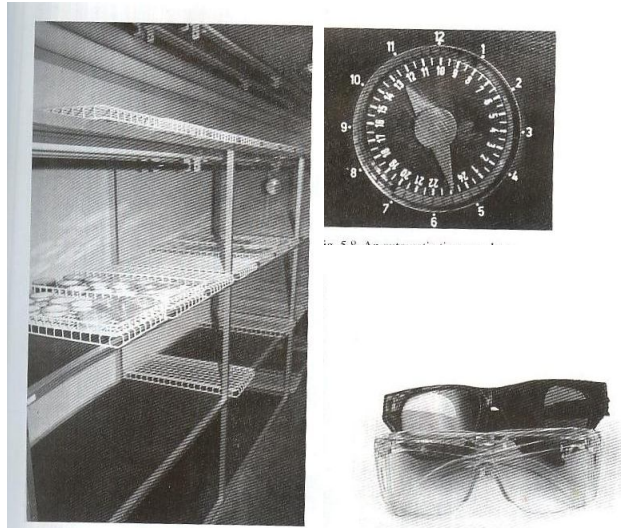
$$\% \text{ Serangan} = \frac{\sum \text{ biji terserang}}{\sum \text{ biji yang disemai}} \times 100$$

- Untuk memudahkan pemeriksaan, beri tanda khusus untuk spesies cendawan temuan, misalnya CI untuk *Curvularia lunata*, Fso untuk *Fusarium solani*, dan Do untuk *Drechslera oryzae* (Gambar 3)

Gambar 3. Tahap pencatatan hasil pengamatan pada kertas saring



- Identifikasi cendawan temuan menggunakan kunci identifikasi yang tersedia.
- Lakukan dokumentasi menggunakan fotomikrograf.



Gambar 4. Ruang inkubasi beserta pengatur waktu otomatis dan kacamata pelindung sinar ultra violet

Catatan :

- Beberapa teknik yang membantu identifikasi cendawan secara morfologi diantaranya : metode selotip dan metode agar-agar blok (Lampiran 1)
- Untuk pemeriksaan cendawan *Tilletia* spp. dapat dilakukan modifikasi yakni pada hari ke-3 masa inkubasi, cawan Petri disimpan di dalam refrigerator bersuhu 4-5°C selama 2 hari, kemudian lakukan pengamatan.
- Untuk pemeriksaan cendawan kontaminan lebih efektif dilakukan apabila pada hari ke-2 masa inkubasi biji dipindahkan ke dalam refrigerator bersuhu -20° C selama 24 jam. Hal ini bertujuan agar biji tidak berkecambah sehingga pengamatan terhadap cendawan pada permukaan biji tersebut lebih mudah.

3.2.2 Metode Agar-agar Cawan (MAC).

Metode agar-agar Cawan adalah metode inkubasi benih atau bagian tanaman bergejala cendawan yang dikulturkan pada permukaan media agar-agar di dalam cawan Petri. Media agar-agar yang digunakan adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Water Agar* (WA) atau media selektif lainnya. Penggunaan Media selektif mengacu pada BAB IV (Matrikulasi Metode Diagnosis Cendawan), sedangkan komposisi bahan yang digunakan pada media selektif terdapat pada Lampiran 1.

Alat :

- Ruang inkubasi (inkubator) dilengkapi pengatur suhu, lampu *Near Ultra Violet* (NUV) atau lampu TL biasa (40 W) dan pengatur waktu otomatis.

- Kaca mata pelindung sinar NUV
- *Laminar air flow*
- Timbangan
- Autoklaf
- Mikroskop majemuk
- Mikroskop stereo

Bahan :

- Cawan Petri
- Media agar-agar
- Kaca obyek dan kaca penutup
- Kain kasa
- Akuades
- Pinset
- Sarung tangan
- Streptomisin sulfat
- Jarum

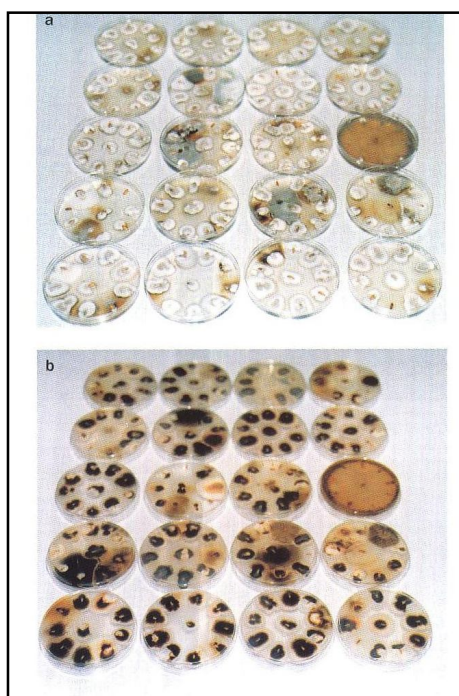
Instruksi Kerja

- Siapkan media agar-agar cawan (PDA,WA, media selektif) yang dibutuhkan sesuai target cendawan yang akan dilakukan pengujian.
- Sterilisasi media agar-agar dalam autoklaf pada suhu 121^o C, tekanan 15 Lbs selama 15-20 menit.
- Sebelum dituang ke dalam cawan Petri, dinginkan terlebih dahulu (suhu $\pm$ 50^o C). Tambahkan antibiotik streptomisin sulfat 0,3 g/ 1000 ml. Untuk menambahkan antibiotik gunakan sarung tangan.
- Tuangkan 15 ml media agar-agar ke dalam cawan petri steril, lakukan tahap tersebut dalam *laminar air flow* (Gambar 5).
- Setelah dilakukan sterilisasi permukaan biji (bagian tanaman) yang bergejala, letakkan biji(bagian tanaman) tersebut ke dalam cawan Petri yang telah diisi media agar-agar. Susun sedemikian rupa sesuai dengan ukuran biji (bagian tanaman) yang bergejala.



Gambar 5. Teknik penuangan media agar-agar dan penanaman biji diatas media.

- Inkubasikan dalam ruang inkubasi dengan suhu 20-25° C selama 7 hari dengan pengaturan lampu NUV 12 jam terang dan 12 jam gelap
- Amati masing-masing koloni dari cendawan pada setiap cawan petri (Gambar 6)
- Lakukan pencatatan dan dokumentasi menggunakan fotomikrograf.



Gambar 6. Hasil pengamatan benih pada metode agar-agar cawan

3.2.3 Metode pemeriksaan embrio (MPE).

Propagul cendawan/endosperma bisa berlokasi secara laten pada embrio biji tanaman, inokulum ini berpotensi untuk menyerang tanaman setelah di pembibitan atau di lapangan.

Oleh karena itu keberadaan patogen yang bersifat laten dapat berlokasi di embrio perlu dicermati dan diperiksa

Alat :

- Mikroskop majemuk
- Mikroskop stereo .
- Timbangan digital.
- Bak pencucian yang ada sumber air panas dan air dingin.
- 3 buah saringan (diameter 22 cm) terdiri dari ukuran mesh 3,5 mm; 2,0 mm; 1,0 mm.
- Penyangga kaki tiga.
- Pembakar Bunsen
- Kuas halus
- Sarung tangan
- Corong kaca (*conical flask*) berkapasitas 2000 ml
- Gelas piala (*beaker glass*) (250 ml)
- Gelas ukur (100 ml, 200 ml)
- Corong kaca (*Boerman Funnel*) diameter 13 cm
- Selang karet
- Penjepit

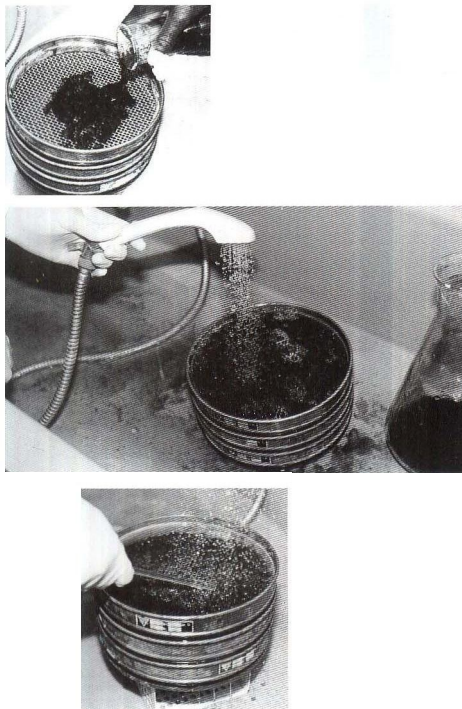
Bahan :

- Cawan Petri (diameter 22 cm)
- Cawan Petri (diameter 9 cm)
- Kaca obyek dan kaca penutup
- Alat penghitung manual (*hand counter*)
- NaOCl (Sodium hipoklorit)
- Biru tripan 85 %
- Asam laktat
- Gliserol
- Etanol 95 %
- *Dissecting set*

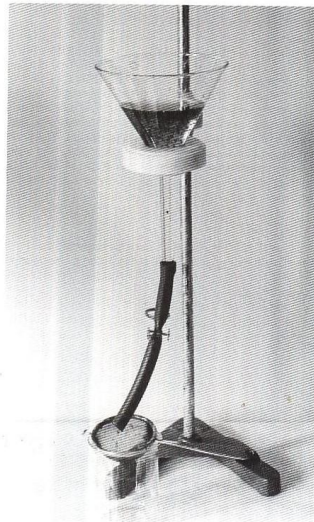
Instruksi Kerja

- Cuci sampel yang telah direndam dengan air dengan menggunakan saringan yang telah disusun. Perendaman akan lebih baik bila menggunakan air hangat di bawah 40 °C yang akan memudahkan embrio lepas dari perikarp.
- Susunan saringan bertingkat, yakni saringan paling atas berukuran 3,5 mm, ke dua 2,0 mm dan paling bawah 1,0 mm. Letakan di bawah keran air yang terus mengalir (Gambar 7).

- Tuangkan biji tadi pada saringan teratas dan disebarakan secara merata pada permukaan saringan.
- Siram dengan air dan aduk dengan pengaduk kaca, seperti tampak pada Gambar 7.
- Seluruh hasil ekstraksi dari embrio yang terkumpul pada saringan terbawah dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam gelas piala.
- Rendam seluruh permukaan embrio dengan etanol 93 % selama 2 menit.
- Saring dengan saringan teh dan hasil saringan dimasukkan kembali ke dalam gelas piala.
- Hubungkan corong kaca dengan selang karet dan ikat dengan penjepit.
- Pindahkan embrio tadi ke dalam corong kaca (corong *Boermann*) yang berisi 200 ml campuran asam laktat, gliserol dan akuades dengan perbandingan 1 : 2 : 1.
- Embrio akan mengapung sedangkan bagian dari biji akan terbawa mengalir mengikuti saluran corong kaca.
- Tampung aliran air yang mengandung bagian dari biji tersebut dengan menggunakan gelas piala.
- Tuang air kembali kedalam corong dan ulangi proses tersebut hingga diperoleh embrio yang bersih.



Gambar 7 Tahapan pencucian biji yang telah direndam



Gambar 8. Corong Boermann untuk membersihkan embrio

- Embrio yang didapat dimasukkan ke dalam gelas piala (volume 200 ml) yang berisi 75 ml larutan campuran asam laktat dan gliserol dengan perbandingan 1 : 2. Panaskan selama 2 menit .
- Proses selesai apabila pada embrio telah terjadi pewarnaan miselium dan siap untuk dilakukan pengujian.
- Amati masing-masing embrio di bawah mikroskop stereo, lakukan identifikasi cendawan yang ditemukan .
- Lakukan pencatatan dan dokumentasi menggunakan fotomikrograf.

3.2.4 Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK)

Metode ini digunakan untuk cendawan-cendawan target yang membutuhkan masa inkubasi tertentu sampai menunjukkan gejala, antara lain *Peronosclerospora sorghi*.

Alat :

- Ruang inkubasi (inkubator)
Inkubator dilengkapi pengatur suhu, lampu *Near Ultra Violet* (NUV) atau lampu TL biasa (40 W) dan pengatur waktu otomatis
- Kaca mata pelindung sinar NUV
- Mikroskop majemuk
- Mikroskop stereo

Bahan :

- Cawan Petri
- Kertas saring (Whatmann No. 1)
- Kaca obyek dan kaca penutup
- Kain kasa
- Akuades

- Pinset
- Plastik tembus cahaya

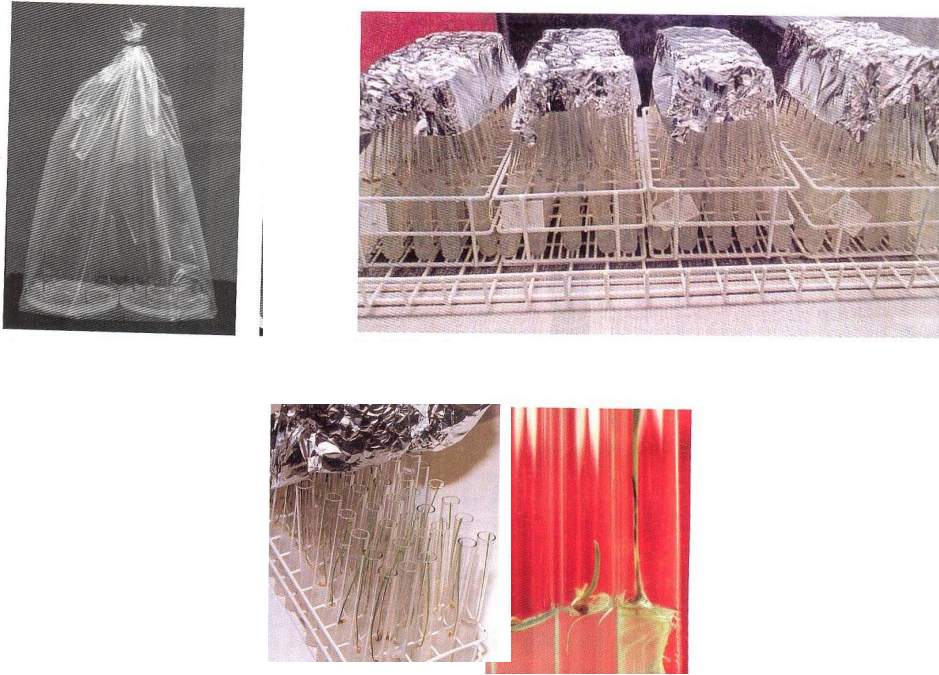
Instruksi Kerja

- Lembabkan 5 (lima) helai kertas saring dengan cara mencelupkannya kedalam akuades, kemudian letakkan ke dalam cawan Petri steril tanpa penutup.
- Semaikan biji dengan menggunakan pinset di atas kertas saring tadi sebanyak 10 atau 25 butir biji, sesuai dengan ukurannya (lihat halaman 92, Mathur dan Kongsdal 2003) misalnya untuk jagung diperlukan 10 biji/cawan Petri, untuk benih padi diperlukan 25 biji/cawan Petri. Masukkan cawan Petri tersebut ke dalam kantong plastik tembus cahaya, kemudian ikat bagian ujung kantong plastik (Gambar 9).
- Cara diatas juga dapat dilakukan dengan cara menanam biji pada tabung reaksi yang telah berisi media agar-agar (Gambar 9)
- Letakkan kantong plastik yang berisi cawan Petri atau tabung reaksi yang telah ditutup rapat ke dalam ruang inkubasi .
- Inkubasikan selama 14 (empat belas) hari dengan pengaturan penyinaran 12 jam terang dan 12 jam gelap.
- Amati gejala yang tampak pada kecambah di bawah mikroskop stereo.
- Lakukan identifikasi dan pencatatan sesuai dengan formulir Laporan Pemeriksaan Metode Pertumbuhan Kecambah (halaman 99).
- Dokumentasikan dengan menggunakan fotomikrograf.

Catatan :

Apabila ditemukan kecambah yang positif bergejala infeksi *Peronosclerospora sorghi* maka dilakukan tahapan lanjutan sebagai berikut:

- Letakan kecambah bergejala di atas cawan Petri yang telah berisi media agar-agar air, tanpa menyentuh permukaan agar-agar air .
- Masukkan ke dalam kantong plastik warna hitam.
- Inkubasikan pada suhu 18 -20 ° C, selama 24 jam.
- Amati spora yang jatuh pada permukaan media agar-agar air.
- Lakukan pengamatan di bawah mikroskop stereo dan lakukan identifikasi.



Gambar 9. Metode perkecambahan biji menggunakan cawan Petri dan tabung reaksi.

3.2.5 Metode Serologi (ELISA)

Reaksi ELISA merupakan reaksi spesifik antara antigen dan antibodi. Reaksi ini dapat diketahui hasilnya melalui perubahan warna yang ditunjukkan pada akhir reaksi. Reaksi perubahan warna yang ditunjukkan secara kualitatif tersebut dapat dikuantitatifkan melalui alat pembaca hasil ELISA (*ELISA reader*). Instruksi kerja pada metode ini sangat bergantung pada produsen kit antisera.

Kit antisera yang tersedia di pasaran masih terbatas pada beberapa spesies cendawan, misalnya *Pythium* sp., *Verticillium* sp., *Septoria nodurum* dan *S. tritici*.

Instruksi kerja dilakukan sesuai dengan protokol yang disediakan oleh produsen antisera (Agdia, Adgen, LCA Biotest, dll).

3.2.6. Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah prosedur yang efektif untuk menggandakan sepotong DNA dengan urutan tertentu dalam jumlah yang besar dengan cara *in vitro* menggunakan sepasang primer spesifik. Penggandaan dengan 30 sampai 40 siklus dapat menghasilkan kopi DNA lebih dari satu juta kali.

Keuntungan menggunakan metode ini adalah cendawan yang akan dideteksi tidak selalu dibiakkan terlebih dahulu, mempunyai sensitifitas tinggi, dan dapat dilakukan dengan cepat. Teknik ini digunakan untuk mendeteksi cendawan terbawa benih, pascapanen, kultur jaringan atau alat propagasi tanaman lainnya.

Beberapa spesies cendawan yang dapat dideteksi dengan menggunakan teknik ini adalah *Gaeumannomyces graminis*, *Stagonospora nodurum*, *Septoria tritici*, *Pythium* spp., *Leptosphaeria maculans*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium* spp dan *Phytophthora* spp.

Pada dasarnya, dalam satu siklus penggandaan DNA melalui tiga tahap. Tahap-tahap dalam PCR adalah :

1. Pemisahan (*Denaturation*). Tahap pertama dalam proses penggandaan adalah pemisahan utas ganda menjadi utas tunggal dengan temperatur tinggi, yaitu 90-95 °C. Lama pemanasan dengan temperatur tinggi biasanya sekitar satu menit. Dalam tabung reaksi, selain sampel DNA juga harus berisi sejumlah besar primer yang terdiri dari sepasang oligonukleotida, DNA polimerase yang stabil pada suhu tinggi (misalnya *Taq* DNA polimerase, yang diisolasi dari bakteri *Thermus aquaticus*), dan 4 macam deoksiribonukleotida.
2. Penempelan primer (*Renaturation/Annealing*). Pada tahap kedua temperatur lebih rendah, yaitu sekitar 55°C. Pada suhu ini primer akan menempel pada komplemen sampel DNA.
3. Sintesa (*Synthesis/Extension*). Pada tahap ini temperatur dinaikkan menjadi sekitar 72°C yang merupakan kondisi optimum untuk proses katalisa *Tag* DNA Polimerase. Sintesa DNA dimulai dari ujung 3'-hidroksi pada tiap primer.

Perubahan suhu dalam proses PCR pada setiap tahap dilakukan secara otomatis dengan mesin PCR (*thermal cycler machine*). Selain itu mesin dapat diprogram pada suhu 4°C setelah proses PCR berakhir, sehingga pengguna tidak harus memindahkan sampel ke refrigerator segera setelah proses penggandaan .

Alat :

- Tip pipet ukuran 1000 ul, 200 ul
- Kotak es
- Peralatan PCR
- Sarung tangan karet
- Tabung Eppendorp 2 ml; 1,5ml; 0,5 ml
- Nitrogen cair
- Tabung sentrifus 15 ml
- Mortar dan pestle
- Ultra Sentrifus 14.000 rpm
- Spektrofotometer UV
- Tray + comb
- Selotape
- Peralatan Elektroforesis (misalnya Mini Protean II)
- Power supply constant volt
- Pemanas
- Transilluminator
- Alat pemotret untuk dokumentasi



Gambar 10. Alat-alat yang diperlukan pada metode molekuler (dari kiri ke kanan) : mesin PCR, satu set elektroforesis, dan alat untuk dokumentasi hasil (Geldoc)
(Foto: Koleksi BBUSKP,2006)

Bahan :

- CTAB (Cetyltrimetil ammonium bromida)
- Mercapto Etanol
- Triz base
- EDTA
- Isopropanol
- Etanol absolut
- Isoamil alkohol
- Kloroform
- NaCl
- Fenol
- Template DNA
- Random primer (misalnya buatan Operon A,B,C)
- dNtp (campuran)
- Buffer untuk PCR
- $MgCl_2$
- TaqPolimerase
- Akuabides
- Minyak mineral
- Agarose
- Buffer TAE IX
- Loading Buffer : 0,25 % Bromophenol Blue, 40% Sukrosa dalam air
- Etidium Bromida : Stock 10 mgr/ml (karsinogenik)

Semua bahan pereaksi seperti tercantum pada lampiran 1.

Instruksi Kerja

1. Isolasi DNA (*Mini Preparation*)

- Timbang 0.1 g sampel, masukkan ke dalam tabung ependorf 1.5 ml, steril, lalu dituangkan buffer ekstrak sebanyak 500 ul. Sampel dihancurkan dengan pengaduk gelas steril.
- Tabung berisi sampel; yang telah hancur, dipanaskan dalam penangas pada suhu 65 °C selama 30 menit, sambil sekali kali digoyang, setelah itu didinginkan.
- Ke dalam tabung sentrifus ditambahkan 500 ul kloroform – isoamilalkohol (24:1) disentrifus pada 10.000 rpm selama 10 menit. Setelah pengerjaan ini diperoleh 3 lapisan (diambil lapisan yang paling atas).
- Lapisan atas dipindahkan dengan pipet steril ke dalam tabung eppendorf yang baru, ditambah 500 ul larutan isopropanol dingin, diperoleh gel yang melayang dalam larutan untuk pemantapan tabung tersebut disimpan di dalam lemari es selama 30 menit (minimum)
- Contoh disentrifus pada 10.000 rpm selama 5 menit. Endapan putih DNA menempel pada dinding tabung, supernatan dibuang.
- Endapan DNA dicuci dengan penambahan 500 ul etanol 70 % dingin, dikocok dan disentrifus lagi pada tabung, supernatan dibuang.
- Endapan yang diperoleh dilarutkan dalam larutan TE atau akuabides.

CATATAN :

1. Untuk pengukuhan kadar DNA, dipipet 50 ul larutan ditambah 4950 ul TE, lalu diukur pada Spektrofotometer UV pada 260 nm dan 280 nm (perbandingan kurang lebih 2)
2. Untuk penyimpanan DNA dalam waktu lama, sebaiknya ditambah etanol dingin sebanyak 2 x volume.

2. Perbanyak DNA dengan Mesin PCR

- a. Siapkan 100 ul pereaksi dalam tabung ependorf, campur dan tetesi dengan 75 ul minyak mineral (tidak perlu bila *thermal cycler* mempunyai blok pemanas dari bawah dan atas). Pereaksi terdiri sampel DNA (target $10^5 - 10^6$ molekul) sebagai templat dan larutan buffer yang dapat membuat DNA stabil) Lampiran 1.
- b. Lakukan 25-35 siklus PCR dengan suhu sebagai berikut :
Pemisahan : 96 °C, 30 detik atau lebih
Penempelan : 55 °C, 1 menit
Sintesis : 72 °C 1.5 menit
- c. Setelah siklus selesai, beri tambahan 72°C selama 5 menit. Reaksi dihentikan dengan mendinginkan sampel pada suhu 4°C dan atau dengan menambahkan EDTA 10 mM.

3. Visualisasi DNA dengan Elektroforesis

Hasil amplifikasi DNA dilakukan Elektroforesis menggunakan gel agarose dengan persentase, arus listrik, dan waktu tertentu, tergantung dari usuran targetnya.

4. Dokumentasi

1. Hasil akhir elektroforesis direndam dalam etidium bromida selama 20 menit;
2. Lakukan dokumentasi gel elektroforesis menggunakan alat yang tersedia (Gel doc).

BAB IV

MATRIKULASI METODE DIAGNOSIS

4.1. Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina Kategori A1

NO.	NAMA ILMIAH/SINONIM/KLAS/ NAMA UMUM/ SCIENTIFIC NAME/SYNONIM/CLASS/COMMON NAME	INANG/ HOST	MEDIA PEMBAWA/ CARRIER	METODE DIAGNOSIS							
				MPL	MP	MB	MA	MPE	MPK	ELISA	PCR
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	<i>Aecidium cantense</i> Arthur; Urediniomycetes; <i>Aecidium potato rust</i> , deforming potato rust , deforming rust , Peruvian rust	(P): <i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato), <i>Lycopersicum esculentum</i> (tomat, tomato), <i>Ullucus</i> <i>tuberosus</i>	tanaman (plant), umbi (tuber)	√** √**	√ √	√ √	- -	- -	- -	- -	√ √
2.	<i>Alternaria cucumerina</i> (Ell. & Ev.) Elliott.; (= <i>Macrosporium cucumerinum</i> = <i>Alternaria</i> <i>brassicae</i> var. <i>nigrescens</i>); Anamorphic fungi; cucumber blight , brown spot of cucumber , alternaria leaf blight	(P): Cucuraceae, <i>Citrullus</i> <i>vulgaris</i> (semangka, watermelon), <i>Cucumis melo</i> (melon, melon)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	- -	- -	√* √	√ 1 √	- -	- -	- -	√ √
3.	<i>Aphanomyces euteiches</i> Drechsler; Oomycetes; Aphanomyces root rot , common root rot , root rot	(P): <i>Vigna</i> spp. (buncis, cowpea), <i>Pisum sativum</i> (kapri, sweet pea), polong- polongan lain (legumes)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	- - -	√ √ √	√ √ √	√ 2 √ √	- - -	- - -	- - -	√ √ √
4.	<i>Ascochyta boltshauseri</i> Sacc. (= <i>Stagonosporopsis hortensis</i> = <i>Stagonospora</i> <i>hortensis</i> = <i>Ascochyta hortensis</i>); Anamorphic fungi; bean blotch , bean leaf spot	(P): <i>Vigna</i> spp. (buncis, cowpea) (S): Fabaceae, Poaceae	biji (seed), buah (fruit), bagian tanaman (part of plant)	√ √ √	√ - -	√ √ √	√ √ √	- - -	- - -	- - -	√ √ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL) Metode Pencucian (MP) Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR), *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus) 1(dengan media khusus) 2(dengan media selektif).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
5.	<i>Ascochyta gossypii</i> (Woronichin) Syd.; Anamorphic fungi; ascochyta blight of cotton, ascochyta leaf spot, ascochyta seedling blight, ashen spot, wet weather blight of cotton	(P): <i>Gossypium barbadens</i> (kapas, cotton) (S): <i>Capsicum annuum</i> (cabai, hot pepper, chilies, red pepper), <i>Abelmoschus moschatus</i> (okra, lady's finger), <i>Solanum melongena</i> (terung, eggplant, aubergine), <i>Nicotiana tabacum</i> (tembakau, tobacco), <i>Glycine max</i> (kedelai, soybean), <i>Vigna unguiculata</i> , <i>Hibiscus</i> spp., <i>Vigna</i> spp. (buncis, cowpea)	biji (seed) buah (fruit) batang (stem) daun (leaf)	√ √ √ √	√ - - -	√ √ √ √	√ √ √ √	- - - -	- - - -	- - - -	√ √ √ √
6.	<i>Botryotinia draytonii</i> (Buddin & Wakefield) Seaver; (= <i>Sclerotinia draytonii</i> Buddin & Wakefield <i>Botrytis gladiolorum</i>); Ascomycetes; corm rot	(P): <i>Gladiolus</i> spp.	umbi (corm), tanaman (plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√
7.	<i>Botryosphaeria ribis</i> Grossend & Duggar; (= <i>Dothiorella gregaria</i> = <i>D. ribis</i> = <i>Fusicoccum aesculi</i> = <i>Fusicoccum tingens</i> = <i>Botryosphaeria berengiana</i> = <i>B. mali</i>); Ascomycetes; cane blight, canker, dieback, fruit rot, gummosis, panicle and shoot blight, batang (stem) blight, tip dieback, white rot	(P): <i>Persea americana</i> (alpokat, avocado), <i>Juglans</i> spp., <i>Malus domesticum</i> (apel, apple), <i>Macadamia</i> sp.	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	- - -	√ √ √	√ √ √	√ √ √	- - -	- - -	√ √ √
8.	<i>Cephalosporium</i> (= <i>Acremonium</i>) <i>gregatum</i> Alling & Chamb; Anamorphic fungi; brown batang (stem) rot	(P): <i>Glycine max</i> (kedelai, soybean)	biji (seed)	- √	√ -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √
9.	<i>Cercospora duddiae</i> Welles; Anamorphic fungi; leaf spot of onion and garlic, withertip onion of and garlic, leaf spot: garlic, leaf spot: onion	(P) <i>Allium ascalonicum</i> (bawang merah, shallot), <i>Allium schoenoprasum</i> (bawang daun/leeks, chives)	tanaman (plant), bagian tanaman vegetatif (part of vegetatif)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL) Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan) ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
10.	<i>Cercospora elaeidis</i> Steyaert; Anamorphic fungi; cercospora leaf spot, freckle of oil palm, leaf spot of oil palm, oil palm leaf spot	(P): <i>Elaeis guineensis</i> (kelapa sawit, oilpalm)	biji (seed), buah (fruit), bagian tanaman (part of plants), bunga (flower) media tanam (planting medium)	√ √* √ √ √	- - - - -	√* √ √ √ √	√ √ √ √ √	- - - - -	- - - - -	- - - - -	√ √ √ √ √
11.	<i>Cercospora epipactidis</i> ; (=C.massal); Anamorphic fungi; leaf spot	(P): Orchidaceae (anggrek, orchids)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√* √*	- -	- -	- -	√ √
12.	<i>Claviceps gigantea</i> (Fuentes), de la Ista, Ullstrup & Rodrigues; (=Sphacelia gigantean); Ascomycetes; ergot of maize, horse's tooth	(P): Zea mays (jagung, corn, maize)	biji (seed), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	√ - -	√* √* √*	√ √ √	- - -	- - -	- - -	√ √ √
13.	<i>Colletotrichum kahawae</i> J.M Waller & Bridge; (=Colletotrichum coffeanum =C.coffeanum 'var. virulans'); Anamorphic fungi; anthracnose of coffee, brown blight of coffee, coffee berry disease	(P): Coffea spp. (kopi, coffee)	bagian tanaman (part of plant)	√	-	√*	√	-	-	-	√
14.	<i>Coniothyrium wernsdorffiae</i> Laubert; (=Coniothyrium cystotricha); Anamorphic fungi; rose brand canker	(P): Rosa spp. (mawar, rose)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	- -	√* √*	- -	- -	- -	√ √
15.	<i>Coryneum myristicae</i> Stein; Anamorphic fungi; nut rot of nutmeg	(P): Myristica fragrans (pala, nutmeg)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	- -	√ √	- -	- -	- -	√ √
16.	<i>Crinipellis crotalariae</i> (CA Loose) Bell & Sobers); Basidiomycetes; black rot	(P): <i>Arachis hypogaea</i> (kacang tanah, groundnut, peanut), <i>Acacia</i> spp., <i>Carica papaya</i> (pepaya, pawpaw), <i>Crotalaria</i> spp., <i>Eucalyptus</i> spp., <i>Glycine max</i> (kedelai, soybean)	biji (seed), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√* √	√ √*	- -	- -	- -	√ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus))

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
17.	<i>Crinipellis perniciosa</i> (Stahel) Singer; (= <i>Marasmius perniciosus</i>); Basidiomycetes; cocoa witches' broom disease	(P): <i>Theobroma cacao</i> (kakao, cocoa), (S): <i>Bixa orellana</i>	bagian tanaman (part of plant)	√	-	√	√*	-	-	-	√
18.	<i>Cryptosporella umbrina</i> (Jenkeins) Jenk. & Wehm (= <i>Diaporthe umbrina</i>); Ascomycetes; brown cancer	(P): <i>Rosa</i> spp. (mawar, rose)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ -	- -	√ √	√* √	- -	- -	- -	√ √
19.	<i>Diaporthe phaseolorum</i> (Cooke & Ellis) Sacc var <i>caulivora</i> Athow & Caldwell; (= <i>Phomopsis phaseoli</i> <i>Phoma subcinnata</i>); Ascomycetes; lima bean pod blight, leaf spot of Lima bean, bean pod blight, bean batang (stem) blight, bean batang (stem) canker	(P): <i>Phaseolus</i> spp., <i>Capsicum annuum</i> (cabai, hot pepper, chilies, red pepper), <i>Glycine max</i> (kedelai, soybean), <i>Helianthus annuus</i> (bunga matahari, sunflower), <i>Vicia faba</i>	biji (seed), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	√ - -	√* √ √	√ √* √	- - -	- - -	- - -	√ √ √
20.	<i>Diaporthe vexans</i> Gratz; (= <i>Phyllosticta hortorum</i> = <i>Phomopsis vexans</i>); Ascomycetes; Phomopsis rot of eggplant, brown spot of eggplant, fruit rot of eggplant, tipover of eggplant	(P): <i>Solanum melongena</i> (terung, eggplant, aubergine)	biji (seed), tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √ √	√ - - -	√* √ √ √	√ √* √* √	- - - -	- - - -	- - - -	√ √ √ √
21.	<i>Didymella bryoniae</i> (Auersw.) Rehm; (= <i>Phoma cucurbitacearum</i> = <i>Mycosphaerella citrullina</i> = <i>M. melonis</i> = <i>Didymosphaeria melonis</i> = <i>D. effusa</i> = <i>Didymella melonis</i> = <i>Ascochyta cucumis</i> = <i>A. melonis</i> = <i>Phyllosticta citrullina</i>); Ascomycetes; gummy batang (stem) blight, leaf spot of cucurbits, cercospora leafspot of squash, cucumber black rot, cucurbits stem blight, cucurbits leaf spot, cucurbits stem-end rot	(P): Cucurbitaceae, <i>Citrullus vulgaris</i> (semangka, watermelon), <i>Cucumis melo</i> (melon, melon), <i>Cucumis sativus</i> (mentimun, cucumber), <i>Cucurbita</i> spp., <i>Momordica charantia</i> (paria, bitter gourd), <i>Sechium edule</i> (labu siam), <i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato)	biji (seed), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	√ - -	√* √ √	√ √* √*	- - -	- - -	- - -	√ √ √
22.	<i>Diplodia laelio-cattleyae</i> Sibilis; Anamorphic fungi; leaf spot	(P): <i>Cattleya</i> sp. (anggrek <i>cattleya</i> , cattleya)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√* √*	- -	- -	- -	- -

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan) ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
23.	<i>Balansia oryzae-sativae</i> Hashioka; (= <i>Balansia oryzae</i> = <i>Ephelis pallida</i> = <i>Ephelis oryzae</i>); Ascomycetes; black choke, black ring, false ergot, incense rod, sterility disease, udbatta, udbatta disease	(P): <i>Oryza sativa</i> (padi, paddy)	biji (grain), tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √ √	√ - -	√* √ √	√ √* √*	- - -	- - -	- - -	√ √ √
24.	<i>Elsinoë brasiliensis</i> bitanc & Jenkins; (= <i>Sphaceloma manihoticola</i> = <i>Elsinoë jatrophae</i>); Ascomycetes; superelongation disease of cassava; cassava root enlargement	(P): <i>Manihot esculenta</i> (ubi kayu, cassava)	bagian tanaman (part of plant), umbi (tuber), akar (root)	√ √ √	- - -	- - -	√* √* √*	- - -	- - -	- - -	√ √ √
25.	<i>Elsinoë mangiferae</i> bitanc & Jenkins; (= <i>Sphaceloma mangiferae</i>); Ascomycetes; mango scab	(P): <i>Mangifera indica</i> (mangga, mango)	bagian tanaman (part of plant), buah (fruit)	√ √	- -	- -	√* √*	- -	- -	- -	√ √
26.	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>elaeidis</i> Toovey; Ascomycetes; fusarium wilt of oil palm, vascular oil palm wilt	(P): <i>Elaeis guineensis</i> (kelapa sawit, oilpalm) (S): <i>Amaranthus spinosus</i> , <i>Chromolaena odorata</i> , <i>Imperata cylindrica</i> (lilang, bedding grass)	biji (seed), buah (fruit), bunga (flower/inflorescence), (pollen), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √ √ √	√ - - - -	√* √ √ √ √	√ √* √* √* √*	- - - - -	- - - - -	- - - - -	√ √ √ √ √
27.	<i>Elsinoë rosa rum</i> Jenk. & bitanc; Ascomycetes; Anthraco	(P): <i>Rosa</i> spp. (mawar, rose)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	- -	√* √*	- -	- -	- -	√ √
28.	<i>Exobasidium reticulatum</i> Ito & Sawada; Basidiomycetes; net blister blight of tea	(P) : <i>Camellia sinensis</i> (teh, tea)	bagian tanaman (part of plant)	√	-	√	√	-	-	-	-
29.	<i>Gibberella xylarioides</i> R. Heim & Saccas; (= <i>Fusarium oxysporum</i> forma <i>xylarioides</i> = <i>F.xylarioides</i> [anamorph]); Ascomycetes; coffee wilt, sudden death of coffee, tracheomycosis of coffee, vascular wilt of coffee	(P): <i>Coffea</i> spp. (kopi, coffee) (S): <i>Gossypium barbadens</i> (kapas, cotton), <i>Lycopersicon esculentum</i> (tomat, tomato), <i>Musa paradisiaca</i> (pisang kepok, plantain)	biji (seed), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	√ - -	√* √ √	√ √* √*	- - -	- - -	- - -	√ √ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan) ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
30.	Gaeumannomyces graminis var. <i>Graminis</i> (Sacc.) Arx & Olivier (= <i>Gaeumannomyces graminis graminis</i> = <i>Ophiobolus oryzae</i>); Ascomycetes; crown sheath rot, crown sheath rot of rice, patch disease of turf, white-heads of grasses	(P): <i>Oryza sativa</i> (padi, paddy), <i>Triticum aestivum</i> (gandum, wheat), <i>Zea mays</i> (jagung, corn, maize), <i>Zizania</i> spp., <i>Avena</i> spp., secale, Poaceae, <i>Cynodon</i> spp., <i>Eremochloa ophiuroides</i> , <i>Pennisetum clandestinum</i> , <i>Stenotaphrum secundatum</i> , <i>Zoysia japonica</i>	bagian tanaman (part of plant)	√	-	√	√*	-	-	-	-
31.	Gloeodes pomigena (Schwein.) Colby (= <i>Dothidea pomigena</i> Schwein. = <i>Phyllachora pomigena</i> = <i>Marssonina mali</i>); Anamorphic fungi; sooty blotch on twig & fruit	(P): <i>Malus domesticum</i> (apel, apple) (S): <i>Citrus</i> spp., <i>Magnolia</i> spp., <i>Vitis vinifera</i> (anggur, grapevine), Orchidaceae (anggrek, orchid), <i>Quercus</i> spp.	Buah (fruit), batang (plant)	√ √	- -	- -	√* √*	- -	- -	- -	- -
32.	Guignardia bidwellii (Ellis) Viala & Ravaz <i>Depazea labruscae</i> Englem. [anamorph]; (= <i>Naemospora ampellicida</i> = <i>Phoma ustulata</i> = <i>P. uvicola</i> = <i>P. uvicola</i> var. <i>Labruscae</i> = <i>Phyllosticta ampellicida</i> = <i>P. ampelopsidis</i> = <i>P. viticola</i> = <i>P. vulpinae</i> = <i>Phyllostictina clemensae</i> = <i>P. uvicola</i> = <i>P. viticola</i> = <i>Sacidium viticolum</i> = <i>Septoria viticola</i> = <i>Botryosphaeria bidwellii</i> = <i>Carlia bidwellii</i> = <i>Laestadia bidwellii</i> = <i>Physalospora bidwellii</i> = <i>Sphaeria bidwellii</i>); Ascomycetes; black rot	(P): <i>Vitis vinifera</i> (anggur, grapevine) (S): <i>Ampelopsis</i> , <i>Cissus</i> , <i>Parthenocissus</i> , <i>Citrus</i> spp.	Bagian tanaman (part of plant)	√	-	√	√*	-	-	-	-
33.	Helicobasidium brebissonii (Desm.) Donk; (= <i>Helicobasidium purpureum</i> = <i>Rhizoctonia crocorum</i> = <i>R. violacea</i> = <i>Sclerotium crocorum</i>); Basidiomycetes; Asparagus offiPR officialis root rot, apple violet root rot, sweet potato violet root rot	(P): <i>Beta vulgaris</i> var <i>saccharifera</i> (bit gula, sugar beetroot) (S): <i>Daucus carota</i> (wortel, carrot), <i>Ipomoea batatas</i> (ubi jalar, sweet potato), <i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato), <i>Morus</i> spp. (murbei, mulberry)	umbi/umbi akar (tuber/tuber-root), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√* √*	- -	- -	- -	√ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
34.	<i>Helminthosporium solani</i> Durieu & Mont; (=Cladosporium abietinum =Spondylocadium atrovirens); Anamorphic fungi; silver scurf	(P): <i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato)	umbi (tuber), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	- √
35.	<i>Hemileia coffeicola</i> Maubl & Roger; (=Uredo coffeicola); Basidiomycetes; grey rust of coffee powdery rust of coffee, coffee rust	(P): <i>Coffea</i> spp. (kopi, coffee)	daun (leaf), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	- -	- -	- -	- -	√ -
36.	<i>Heterosporium allii-cepae</i> Ranojevic (=Mycosphaerella allii-cepae =Cladosporium allii- cepae =Heterosporium allii =Heterosporium allii var. Cepivorum); Ascomycetes; leafspot	(P): <i>Allium ascalonicum</i> (bawang merah, shallot)	bagian tanaman (part of plant),	√	-	√	√*	-	-	-	√
37.	<i>Hypoxyton nummularium</i> Bull ex Fr. Busuk root (Tarry root rot)	(P): <i>Camellia sinensis</i> (teh, tea)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√* √*	- -	- -	- -	- -
38.	<i>Hypoxyton serpens</i> (Pers.: Fr.) Kicks (=Hypoxyton subluteum); Ascomycetes; tea wood rot, tea root rot	(P): <i>Camellia sinensis</i> (teh, tea), <i>Malus domesticum</i> (apel, apple), <i>Pyrus communis</i> (pir, pear) (S): <i>Vitis vinifera</i> (anggur, grapevine)	Batang (plant)	√	-	√	√*	-	-	-	-
39.	<i>Leptosphaeria coniothyrium</i> (Fuckel) Sacc.; (=Coniothyrium fuckelii =Melanomma coniothyrium =Sphaeria coniothyrium =Coniothyrium rosa rum); Ascomycetes; cane blight, rose blight, apple canker, pine needle blight, rose stem canker	(P): <i>Rubus</i> spp., <i>Rosa</i> spp. (mawar, rose). (S): <i>Ribes</i> , <i>Vaccinium</i> , <i>Fragaria</i> , <i>Bambusa</i> , <i>Juniperus</i> , <i>Malus</i> <i>domesticum</i> (apel, apple), <i>Pinus sylvestris</i> , buah batu (stone fruit), <i>Taxus</i> , <i>Thuja</i>	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√* √*	- -	- -	- -	√ √
40.	<i>Leptosphaeria taiwanensis</i> Yen & Chi; (=Cercospora taiwanensis); Ascomycetes; sugar cane leaf blight	(P): <i>Saccharum officinarum</i> (tebu, sugarcane)	bagian tanaman (part of plant)	√	-	√	√*	-	-	-	√
41.	<i>Marasmiellus cocophilus</i> Pegler; Basidiomycetes; basal stem break, lethal bole rot of coconut	(P): <i>Cocos nucifera</i> (kelapa, coconut) (S): <i>Cynodon dactylon</i> , <i>Echinochloa colona</i> , <i>Eleusine</i> <i>indica</i>	buah (fruit), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE),
Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan) *(dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
42.	Marasmiellus inoderma (Berk.) Singer; Basidiomycetes; crown rot of rice, pre-emergence shoot rot, root rot of maize, sheath rot of maize	(P): <i>Oryza sativa</i> (padi, paddy) (S): <i>Zea mays</i> (jagung, corn, maize), <i>Musa</i> spp. (pisang, banana), Orchidaceae (anggrek, orchids)	akar (root), tanaman (plant),	√ -	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √
43.	Microcyclus ulei (Henn.) Arx; (=Fusicladium macrosporum =Dothidella ulei =Melanopsammopsis ulei =Aposphaeria ulei =Passalora heveae); Ascomycetes; South American leaf blight of rubber	(P): <i>Hevea brasiliensis</i> (karet, rubber tree)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant),	√* √*	- -	√* √*	√* √*	- -	- -	√ √	√ √
44.	Microthyriella rubi Petr.; (=Scizothyrium sp.); Ascomycetes; fly speck	(P): <i>Vitis vinifera</i> (anggur, grapevine), <i>Malus domestica</i> (apel, apple), <i>Citrus</i> spp. (jeruk, orange) (S): <i>Dianthus</i> spp. (anyelir, carnation)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√* √*	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	- -
45.	Moniliophthora roreri (Ciferri) H.C. Evans et al.; (=Monilia roreri); Anamorphic fungi; frosty pod rot, monilia pod rot, pod rot of cocoa, quevedo disease, watery pod rot of cocoa	(P): <i>Theobroma cacao</i> (kakao, cocoa)	biji (seed) buah (fruit),	√ √	√ -	√* √*	√ √	- -	- -	- -	√ √
46.	Monilochaetes infuscans Harter; Anamorphic fungi; scurf of sweet potato, manure stain, scurf: sweet potato, tanah (soil)s stain	(P): <i>Ipomoea batatas</i> (ubi jalar, sweet potato)	umbi (tuber) , bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	- - -	√ √ √	√* √* √*	- - -	- - -	- - -	√ √ √
47.	Mycena citricolor (Brek & Curt) Sacc (=Agaricus citricolor =Omphalia flavidum =Stilbum flavidum =Mycena tricolor); Basidiomycetes; American leaf spot of coffee, American: coffee leaf spot, cock's eye spot, iron spot of coffee	(P): <i>Coffea</i> spp. (kopi, coffee), (S): <i>Citrus</i> , <i>Cinchona officinalis</i> (kina, quinine tree) <i>Theobroma cacao</i> (kakao, cocoa)	buah (fruit), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	- -
48.	Mycosphaerella aleuritis (Miyake) Ou (=Pseudo cercospora aleuritis); Ascomycetes; angular leaf spot	(P): <i>Aleurites moluccana</i> (kemiri, candle-nut)	buah (fruit), bagian tanaman (part of plant)	√ √		√* √*	√ 3 √				

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan) ** (dengan Perlakuan khusus) 3 (dengan media selektif)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
49.	<i>Oidium anacardii</i> ; Anamorphic fungi; powdery mildew	(P): <i>Anacardium occidentale</i> (jambu mete, cashew-nut)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	- -	- -	- -	- -	- -	√ √
50.	<i>Oospora pustulans</i> Owen & Wakef; (=Polyscytalum pustulans); Anamorphic fungi; potato skin spot	(P): <i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato) (S): <i>Solanum</i> spp.	umbi (tuber)	√	-	√*	-	-	-	-	-
51.	<i>Pachymetra chaunorhiza</i> Croft & Dick; pachymetra root rot	(P): <i>Saccharum officinarum</i> (tebu, sugarcane), <i>Zea mays</i> (jagung, corn, maize), <i>Sorghum bicolor</i> (sorgum, sorghum)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	- - -	- - -	√ √ √	√ √ √	- - -	- - -	- - -	- - -
52.	<i>Periconia manihoticola</i> (Vincens) Viegas; Anamorphic fungi; Periconia blight	(P): <i>Hevea brasiliensis</i> (karet, rubber tree), <i>Acacia</i> spp., <i>Pisum</i> spp., <i>Manihot esculenta</i> (ubi kayu, cassava)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√* √*	- -	- -	- -	- -
53.	<i>Peronosclerospora sorghi</i> (Weston & Uppal) C.G Shaw.; (=Protomyces graminicola =Sclerospora graminicola =S.sorghi =S.sorghi- vulgaris); Oomycetes; sorghum downy mildew, mildew of maize and sorghum	(P): <i>Sorghum bicolor</i> (sorgum, sorghum), <i>Sorghum</i> spp., <i>Zea mays</i> (jagung, corn, maize) (S): <i>Andropogon sorghi</i> , <i>Panicum trypheron</i> , <i>Pennisetum glaucum</i> , <i>Sorghum halepense</i> , <i>Zea mexicana</i>	bagian tanaman (part of plant)	√	-	-	√	-	√	-	√
54.	<i>Peronospora hyoscyami</i> f.sp. tabacina (D.B. Adam) Skalicky; (=Peronospora tabacina =P.hyoscyami =P.nicotianae); Oomycetes; angular tobacco leaf spot, blue mould of tobacco, downy mildew, tobacco black fire, tobacco blue mould, tobacco wildfire	(P): <i>Nicotiana tabacum</i> (tembakau, tobacco) (S): <i>Capsicum annuum</i> (paprika, bell-pepper), <i>Lycopersicon esculentum</i> (tomat, tomato), <i>Solanum melongena</i> (terung, eggplant, aubergine)	bagian tanaman (part of plant)	√	-	-	√	-	√	-	√
55.	<i>Peronospora sparsa</i> Berk; Oomycetes; downy mildew	(P): <i>Rosa</i> spp. (mawar, rose)	daun (leaf)	√	-	-	√	-	√	-	√

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
56.	Peronospora viciae f.sp pisi (Sydow) Boerema & Verhoeven; Oomycetes; pea downy mildew	(P): <i>Pisum sativum</i> (kapri, sweet pea), <i>Vicia faba</i>	benih (seed), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	- -	√ √	- -	√ √	- -	√ -
57.	Phaeolus manihotis Henn; Basidiomycetes; root rot	(P): <i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato), <i>Lycopersicum esculentum</i> (tomat, tomato)	umbi (tuber), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	- -
58.	Phaeosphaeria nodorum (E.Mull.) Hedjar; (=Phoma hennebergii =Septoria glumarum =S.nodorum =Stagonospora nodorum =Leptosphaeria nodorum); Ascomycetes; glum blotch	(P): <i>Triticum aestivum</i> (gandum, wheat), <i>Secale cereale</i> (rye), <i>Hordeum vulgare</i> (barli, barley) (S): <i>Agropyron</i> , <i>Bromus inermis</i> , <i>Cynodon dactylon</i> , <i>Lolium perenne</i> , <i>Triticale</i>	biji (seed), bagian tanaman (part of plant)	- √	√ -	√ √	√ √	- -	- -	- √	√ √
59.	Phialophora cinerescens (Wollenweb.) JHF Beyma (=Verticillium cinerescens); Anamorphic fungi; phialophora wilt, vascular wilt of carnation, wilt of carnation	(P): <i>Diathus</i> spp. (S): <i>Helianthus annuus</i> (bunga matahari, sunflower), <i>Fragaria</i> spp.	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	√ √ √	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	√ √ √
60.	Phoma exigua var. linicola (Naumov& Vassiljevsky) P.W.T Maas; (=Ascochyta linicola =Phoma exigua f.sp. linicola =P.linicola); Ascomycetes; foot rot of flax	(P): <i>Linum usitatissimum</i> (flax) (S): <i>Vigna</i> spp. (buncis, cowpea)	biji (seed), bagian tanaman (part of plant)	√ √	√ -	√ √	√* √	- -	- -	- -	√ √
61.	Phoma tracheiphila (Petri) Kantachveli & Gikachvili; (=Deuterophoma tracheiphila =Bakerophoma tracheiphila); Ascomycetes; mal secco disease of Citrus, wilt of Citrus, Citrus wilt, Citrus mal secco	(P): <i>Citrus</i> spp. (S): <i>Fortunella</i> , <i>Poncirus</i>	benih (seed), bagian tanaman (part of plant)	√ -	√ -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ -
62.	Phomopsis percae Serova; Ascomycetes; fruit rot	(P): <i>Persea americana</i> (alpokat, avocado)	buah (fruit)	√	-	√	√	-	-	-	√
63.	Phragmidium mucronatum (Pers.) Schlecht; (=Phragmidium disciflorum); Basidiomycetes; rust	(P): <i>Rosa</i> spp. (mawar, rose)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC) Metode Pemeriksaan Embrio (MPE),
Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan) *(dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
64.	<i>Phyllachora huberi</i> Henn; Ascomycetes; black spot/ tar spot	(P): <i>Hevea brasiliensis</i> (karet, rubber tree)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant), daun (leaf)	- - -	- - -	√ √ √	√ √ √	- - -	- - -	- - -	- - -
65.	<i>Phyllosticta phaseolina</i> Sacc.; Anamorphic fungi; leaf spot, fruit blotch, twig canker	(P): <i>Glycine max</i> (kedelai, soybean), <i>Phaseolus</i> spp. (S): <i>Vanilla</i> sp.	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √
66.	<i>Phyllosticta solitaria</i> Ellis & Everh; Anamorphic fungi; apple blotch	(P): <i>Malus domesticum</i> (apel, apple) (S): <i>Crataegus</i> sp., <i>Pyrus coronaria</i>	buah (fruit), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	- -	- -	- -	- -	- -	√** √**
67.	<i>Phyllostictina pyniformis</i> Cash & Watson; Ascomycetes; leaf spot	(P): <i>Orcidaceae</i> (anggrek, orchids)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	- -	- -	- -	- -	- -	√** √**

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC) Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
68.	<i>Phytophthora citrophthora</i> (R.H Sm & E. Sm); (=Pythiacystis citrophthora); Oomycetes; brown rot of Citrus fruit, foot rot of Citrus, cocoa black pod	(P): <i>Citrus</i> spp., <i>Theobroma cacao</i> (kakao, cocoa) (S): <i>Actinidia deliciosa</i> (kiwi), <i>Mandevilla</i> spp., <i>Tabernaemontana coronaria</i> , <i>Euonymus</i> spp., <i>Rhododendron</i> spp., <i>Hevea brasiliensis</i> (karet, rubber tree), <i>Fagus</i> spp., <i>Ribes sanguineum</i> , <i>Juglans</i> spp., <i>Sandoricum koetjape</i> (kecapi, kecaphi) <i>Ficus elastica</i> , <i>Cocos nucifera</i> (kelapa, coconut), <i>Sesamum indicum</i> (wijen, sesame), <i>Piper nigrum</i> (lada, pepper), <i>Pistacia vera</i> , <i>Fragaria</i> spp., <i>Prunus domestica</i> , <i>Rubus idaeus</i> , <i>Coptis japonica</i> , <i>Murraya</i> sp. , <i>Poncirus trifoliata</i> , <i>Capsicum annuum</i> (cabai, hot pepper, chilies, red pepper), <i>Taxus</i> spp., <i>Sequoiadendron giganteum</i> .	buah (fruit), biji (seed), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √ √	- - - -	√* √* √* √*	√ √ √ √	- - - -	- - - -	√** √** √** √**	√** √** √** √**

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan) ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
69.	Phymatotrichopsis omnivora (Duggar) Hennebert; (=Ozonium auricomum =O.omnivorum =Phymatotrichum omnivorum =Hydnum omnivorum); Anamorphic fungi; cotton root rot, Texas root rot of cotton, soft rot of cotton, cotton soft rot, grapevine Texas root rot	(P): Fabaceae, Juglandaceae, Malvaceae, Rosa ceae, Umbelliferae, Abelmoschus moschatus (okra, lady's finger), Arachis hypogaea (kacang tanah, groundnut, peanut), Beta vulgaris var saccharifera (bit gula, sugar beet) Carya illinoensis, Ficus carica (fig), Glycine max (kedelai, soybean), Gossypium barbadens (kapas, cotton), Juglans regia, Malus domesticum (apel, apple), Medicago sativa, Phaseolus, Populus, Prunus spp., Pyrus communis (pir, pear), Salix, Ulmus, Vitis vinifera (anggur, grapevine)	bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √	- -	√* √*	√ √	- -	- -	√** √**	√** √**
70.	Phytophthora megrootya Brasier & M.J Griffin; Oomycetes; black pod of cocoa, seedling blight of cocoa, trunk canker of cocoa	(P): Theobroma cacao (kakao, cocoa)	buah (fruit), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√** √**	- -	- -	√ √	√ √
71.	Phytophthora phaseoli Thaxter; Oomycetes; Phaseolus leaf blight, collar rot of lima bean	(P): Phaseolus lunatus	biji (seed), bagian tanaman (part of plant)	√ √	√ -	√ √	√ √	√ √	- -	√ √	√ √
72.	Phytophthora sojae Kaufm & Gerd.; (=Phytophthora megasperma f.sp. glycinea =P.sojae f.sp. glycinis =P.megasperma var. sojae); Oomycetes; Phytophthora root and batang (stem) rot, root and batang (stem) rot of soybean, root and stem rot of soybean	(P): Glycine max (kedelai, soybean) (S): Lupinus sp.	biji (seed), bagian tanaman (part of plant)	√ √	√ -	√ √	√ √	√ √	- -	√ √	√ √
73.	Plenodomus destruens Harter; foot rot of sweet potato	(P): Ipomoea batatas (ubi jalar, sweet potato)	biji (seed), umbi (tuber)	√ √	√ -	√ √	√ √	- -	- -	√ √	√ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
74.	<i>Puccinia asparagi</i> DC.; Basidiomycetes;, asparagus rust	(P): <i>Asparagus officinalis</i> (asparagus, asparagus)	bagian tanaman (part of plant)	√	-	√	√	-	-	√	√
75.	<i>Pyrenochaeta terrestris</i> (Hans) Gorenz, Walker & Larson; Anamorphic fungi; onion pink root	(P): <i>Allium</i> spp. (S): <i>Asparagus officinalis</i> (asparagus, asparagus), <i>Triticum aestivum</i> (gandum, wheat), <i>Zea mays</i> (jagung, corn, maize)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	- - -	√ √ √	√ √ √	- - -	- - -	- - -	√ √ √
76.	<i>Pythium myriotylum</i> Drechs.; Oomycetes; brown rot of groundnut, cocoyam root rot, groundnut pod breakdown, kernel rot of groundnut, pod rot of groundnut, tannia leaf burning disease, wilt of groundnut	(P): Araceae, <i>Arachis hypogaea</i> (kacang tanah, groundnut, peanut), <i>Colocasia</i> spp., <i>Colocasia esculenta</i> (talas, taro), <i>Xanthosoma</i> spp. (S): <i>Amaranthus hybridus</i> (bayam, spinach), <i>Ananas comosus</i> (nenas, pineapple), <i>Artemisia vulgaris</i> , <i>Brassica oleracea capitata</i> (kubis, cabbage), <i>Carthamus tinctorius</i> , <i>Carica papaya</i> (pepaya, pawpaw), <i>Citrullus vulgaris</i> (semangka, watermelon), <i>Cucumis sativus</i> (mentimun, cucumber), <i>Curcuma domestica</i> (kunyit, tumeric), <i>Coronilla varia</i> , <i>Elaeis guineensis</i> (kelapa sawit, oilpalm) <i>Eucalyptus</i> , <i>Fragaria vesca</i> (arbei, strawberry), <i>Glycine max</i> (kedelai, soybean), <i>Gossypium barbadens</i> (kapas, cotton), <i>Medicago sativa</i> , <i>Nicotiana tabacum</i> (tembakau, tobacco),	bagian tanaman (part of plant)	√	-	√	√	-	-	-	√

		<i>Oryza sativa</i> (padi, paddy), <i>Paulownia</i> , <i>Phaseolus</i> spp., <i>Vigna</i> spp. (buncis, cowpea), <i>Pisum sativum</i> (kapri, sweet pea), <i>Raphanus sativus</i> (lobak, radish), <i>Saccharum officinarum</i> (tebu, sugarcane), <i>Secale cereale</i> (rye), <i>Solanum melongena</i> (terung, eggplant aubergine), <i>Sorghum bicolor</i> (sorgum, sorghum), <i>Spinacia oleracea</i> , <i>Vigna</i> spp., <i>Zea mays</i> (jagung, corn, maize), <i>Zingiber officinale</i> (jahe, ginger), <i>Zantedeschia elliptica</i> , <i>Robinia pseudoacacia</i>									
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
77.	Rhizopus arrhizus A. Fischer; (=Rhizopus oryzae =R.maydis =R.nodosus); Zygomycetes; tobacco barn rot, fruit soft rot, sweet potato soft rot	(P): Artocarpus integrifolius (nangka, jackfruit), Anemone coronaria, Arachys hypogaea (kacang tanah, groundnut , peanut), Beta vulgaris var saccharifera (bit gula, sugar beet), Carica papaya (pepaya, pawpaw), Capsicum annuum (paprika, bell-pepper), Cucumis sativus (mentimun, cucumber), Daucus carota (wortel, carrot), Dioscorea, Gossypium barbadens (kapas, cotton), Helianthus annuus (bunga matahari, sunflower), Ipomoea batatas (ubi jalar, Sweet potato)), Lycopersicum esculentum (tomat, tomato), Mangifera indica (mangga, mango), Achras (Manilkara) zapota (sawo, sapodilla), Nicotiana tabacum (tembakau, tobacco), Prunus persica (persik, peach), Psidium guajava (jambu biji, guava), Solanum melongena (terung, eggplant , aubergine), Zea mays (jagung, corn , maize)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
78.	Rosellinia necatrix Prill. (<i>Dematophora necatrix</i>); Ascomycetes; dematophora root rot, white root rot of trees	(P): <i>Actinidia deliciosa</i> (kiwi, kiwi fruit), <i>Begonia</i> , <i>Boehmeria nivea</i> (rami, ramie), <i>Camellia sinensis</i> (teh, tea), <i>Citrus</i> spp., <i>Cydonia oblonga</i> , <i>Cynara scolymus</i> (artisyok, artichoke), <i>Cyclamen</i> , <i>Dianthus</i> , <i>Eriobotrya japonica</i> , <i>Ficus carica</i> , <i>Fragaria vesca</i> (arbei, strawberry), <i>Jasminum sambac</i> (melati, jasmine), <i>Malus domesticum</i> (apel, apple), <i>Morus</i> , <i>Narcissus</i> , <i>Olea europea</i> sub sp. <i>europea</i> (zaitum, olive), <i>Paeonia</i> , <i>Populus</i> , <i>Prunus cerasus</i> (ceri, cherry), <i>Pyrus communis</i> (pir, pear), <i>Rosa</i> spp. (mawar, rose), <i>Viola</i> , <i>Vitis vinifera</i> (anggur, grapevine) (S): <i>cerealia</i> , <i>Abies alba</i> , <i>Acacia</i> , <i>Acer</i> , <i>Aesculus</i> , <i>Annona</i> , <i>Asparagus officinalis</i> (asparagus, asparagus), <i>Beta vulgaris</i> var <i>saccharifera</i> (bit gula, sugar beet), <i>Berberis</i> , <i>Brassica oleracea capitata</i> (kubis, cabbage), <i>Ceanothus megacarpus</i> , <i>Cedrus atlantica</i> , <i>Coffea</i> spp. (kopi, coffee), <i>Castanea sativa</i> , <i>Cotoneaster</i> , <i>Carya</i> , <i>Corylus avellana</i> , <i>Cyperus esculentus</i> , <i>Daucus carota</i> (wortel, carrot), <i>Diospyros</i> , <i>Eucalyptus</i> , <i>Fagus</i> , <i>Feijoa sellowiana</i> , <i>Fragaria</i> , <i>Gladiolus hybrids</i> , <i>Helianthus annuus</i> (bunga matahari,	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	- - -	√ √ √	√ √ √	- - -	- - -	- - -	√ √ √

		sunflower) , <i>Humulus lupulus</i> , <i>Hyacinthus</i> , <i>Ilex aquifolium</i> , <i>Iris</i> , <i>Juglans</i> , <i>Juglans regia</i> , <i>Ixia</i> , <i>Lavandula</i> , <i>Larix decidua</i> , <i>Ligustrum vulgare</i> , <i>Laurus</i> <i>nobilis</i> , <i>Malus</i> , <i>Manihot</i> <i>esculenta</i> (ubi kayu, cassava), <i>Macadamia</i> , <i>Medicago sativa</i> , <i>Mangifera indica</i> (mangga, mango), <i>Passiflora</i> <i>quadrangularis</i> (markisa, passion- fruit, granadilla), <i>Persea americana</i> (alpokat, avocado), <i>Pelargonium</i> , <i>Phaseolus</i> , <i>Pistacia vera</i> , <i>Picea</i> <i>abies</i> , <i>Piper nigrum</i> (lada, pepper), <i>Pinus merkusii</i> (tusam, pinetree), <i>Platanus</i> , buah batu (stone fruit), <i>Protea</i> , <i>Punica granatum</i> (delima, pomegranate), <i>Pyracantha</i> , <i>Pyrus communis</i> (pir, pear), <i>azalea</i> , <i>Ribes</i> , <i>Rubus</i> spp., <i>Rumex</i> , <i>Salix</i> , <i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato), <i>Sorbus aucuparia</i> , <i>Theobroma cacao</i> (kakao, cocoa), <i>Crocasmia</i> <i>crocsmiiflora</i> , <i>Tulipa</i> , <i>Ulmus</i> , <i>Viburnum</i> , <i>Vicia</i> , <i>Vitis</i> , <i>Zea</i> <i>mays</i> (jagung, corn, maize), <i>Ziziphus jujuba</i> , <i>Zantedeschia</i>									
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
79.	Septoria pisi Westend; Anamorphic fungi; septoria blight/blotch	(P): <i>Pisum sativum</i> (kapri, sweet pea), <i>Vicia faba</i>	biji (seed), bagian tanaman (part of plant)	√ √	√ -	√ √	√ √	√ -	√ -	√ √	√ √
80.	Septoria selenophomoides Cash & Watson; Anamorphic fungi; leaf spot	(P): Orchidaceae	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √
81.	Sphaceloma arachidis bitanc & Jenkins; Anamorphic fungi; groundnut scab, peanut scab scab of groundnut, scab: groundnut	(P): <i>Arachis hypogaea</i> (kacang tanah, groundnut, peanut)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √
82.	Sphacelotheca reiliana (J. G. Kühn) Clinton; (= <i>Cintractia reiliana</i> = <i>Sorosporium holci-sorghii</i> = <i>Sorosporium reilianum</i> = <i>Sphacelotheca holci-sorghii</i> = <i>Sporisorium holci-sorghii</i> = <i>S. reilianum</i> = <i>Ustilago holci-sorghii</i> = <i>Ustilago reiliana</i>); Basidiomycetes; head smut of maize, loose smut	(P): <i>Sorghum Sudanense</i> , <i>Sorghum bicolor</i> (sorgum, sorghum), <i>Zea mays</i> (jagung, corn, maize) (S): <i>Andropogon</i> , <i>Zea mexicana</i>	biji (seed), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	√ - -	√ √ √	- - -	- - -	- - -	- - -	√ √ √
83.	Sphenospora saphena Cummins; Basidiomycetes; rust	(P): <i>Oncidium orchids</i>	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	- -	- -	- -	- -	√ √
84.	Sphenospora kevorkianii Basidiomycetes; rust	(P): Orchidaceae (<i>Cattleya</i> , <i>Epidendrum</i>)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	- -	- -	- -	- -	√ √
85.	Sporisorium cruentum (J.G. Kühn) Vanky; (= <i>Sphacelotheca cruenta</i> = <i>S. holci</i> = <i>Ustilago cruenta</i>); Basidiomycetes; loose kernel smut, loose smut, sorghum loose kernel smut	(P): <i>Sorghum bicolor</i> (sorgum, sorghum) (S): <i>Saccharum officinarum</i> (tebu, sugarcane)	biji (grain), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	√ - -	√ √ √	- - -	- - -	- - -	- - -	√ √ √
86.	Stromatinia gladioli (Drayton) Whetzel; (= <i>Sclerotinia gladioli</i> = <i>Sclerotium gladioli</i>); Ascomycetes; gladiolus dry rot	(P): <i>Gladiolus</i> spp.	bagian tanaman (part of plant)	√	-	√	√	-	-	-	√

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE),
Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
87.	<i>Synchytrium endobioticum</i> (Schilb.) Percival; (=Chrysophlyctis endobiotica =Synchytrium solani); Chytridiomycetes; black wart of potato, potato black scab, potato wart disease, wart disease of potato	(P): <i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato) (S): <i>Solanum nigrum</i> , <i>Solanum dulcamara</i> , <i>Hyoscyamus niger</i> , <i>Nicandra physaloides</i> , <i>Lycopersicum esculentum</i> (tomat, tomato)	umbi (tuber/corn), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√* √* √*	- - -	√ √ √	- - -	- - -	√ - -	√ - -	√ - -
88.	<i>Thecaphora solani</i> (Thiurum & M.J. O'Brien) Mordue; (=Angiosorus solani); Basidiomycetes; potato smut, thecaphora smut	(P): <i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato)	umbi (tuber), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√* √* √*	- - -	√ √ √	- - -	- - -	- - -	- - -	√ √ √
89.	<i>Tilletia indica</i> Mitra; (=Neovossia indica); Basidiomycetes; Kamal bunt of wheat, Indian bunt of wheat, partial bunt of wheat, new bunt	(P): <i>Triticum aestivum</i> (gandum, wheat)	biji (grain), bagian tanaman (part of plant)	- -	√ -	√* √	- -	√ √	- -	- -	- √
90.	<i>Tilletia laevis</i> J. G. Kühn; (=Tilletia foetens =Tilletia foetida =Ustilago foetens); Basidiomycetes; common bunt, complete bunt, covered smut, hill bunt, smooth-spored wheat bunt, stinking bunt, stinking wheat smut	(P): <i>Triticum aestivum</i> (gandum, wheat)	biji (grain), bagian tanaman (part of plant)	- -	√ -	√* √	- -	√ -	- -	- -	√ -
91.	<i>Tilletia tritici</i> (Bjerk.) G. Winter; (=Tilletia caries =Uredo caries); Basidiomycetes; complete bunt, covered smut, hill bunt, rough-spored wheat bunt, stinking smut, wheat bunt, common bunt	(P): <i>Triticum aestivum</i> (gandum, wheat) (S): <i>Agropyron</i> spp., <i>Bromus</i> spp., <i>Elymus</i> spp., <i>Festuca</i> spp., <i>Hordeum</i> spp., <i>Poa</i> spp.	biji (seed), bagian tanaman (part of plant)	- -	√ -	√* √	- -	√ -	- -	- -	√ -
92.	<i>Trachysphaera fructigena</i> Tabor & Bunting; Oomycetes; cigar end rot of banana, berry rot of coffee, fungus rot of banana, mealy pod of cacao, fruit rot of coffee, pod rot of cacao	(P): <i>Theobroma cacao</i> (kakao, cocoa), <i>Musa</i> spp. (S): <i>Pyrus</i> , <i>Prunus</i> , <i>Malus</i> and <i>Citrus</i> , <i>Coffea</i> spp. (kopi, coffee), <i>Persea americana</i> (alpokat, avocado)	buah (fruit)	√	-	√*	√	-	-	-	-

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan) *(dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
93.	Uredo behnickiana Henn; Basidiomycetes; rust	(P): Orchidaceae	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	- -	√ -	- -	- -	√ √
94.	Uredo epidendri Henn.; Basidiomycetes; rust	(P): Orchidaceae	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	- -	- -	- -	- -	√ √
95.	Uredo nigropuncta Henn (=Sphenospora kevorkianii); Basidiomycetes; rust	(P): Orchidaceae	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	- -	- -	- -	- -	√ √
96.	Urocystis agropyri (Preuss) J. Schröt.; (=Tubercinia tritici =Uredo agropyri =Urocystis occulta =Urocystis tritici =Tubercinia agropyri); Basidiomycetes; flag smut, flag smut of wheat, batang (stem) smut, stripe smut	(P): <i>Triticum aestivum</i> (gandum, wheat) (S): <i>Agropyron</i> , <i>Elymus repens</i> , <i>Agropyron smithii</i> , <i>Agrostis stolonifera</i> var. <i>palustris</i> , <i>Agrostis capillaris</i> , <i>Alopecurus</i> , <i>Avena sativa</i> (oat, oats), <i>Bromus carinatus</i> , <i>Bromus marginatus</i> , <i>Carex</i> , <i>Dactylis glomerata</i> , <i>Elymus</i> , <i>Festuca rubra</i> , <i>Lolium</i> , <i>Phleum pratense</i> , <i>Poa</i> spp., <i>Trisetum</i>	Biji (seed)i (seed/grain), bagian tanaman (part of plant)	√ √	√ -	√ √	- -	√ -	- -	- -	√ √
97.	Urocystis cepulae Frost.; (=Tubercinia cepulae =Urocystis colchici var. cepulae =Urocystis magica =Urocystes cepulae); Basidiomycetes; leek smut, onion smut	(P): <i>Allium</i> spp.	umbi (corm), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	- -	- -	- -	- -	√ √
98.	Urocystis gladiolicola Ainsworth; Basidiomycetes; smut	(P): <i>Gladiolus</i> spp.	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	- -	- -	- -	- -	√ √
99.	Ustilago nuda f.sp <i>tritici</i> (Schaffnit); (=Ustilago nuda f.sp. <i>hordei</i>); Basidiomycetes; barley loose smut	(P): <i>Triticum aestivum</i> (gandum, wheat)	biji (seed), bagian tanaman (part of plant)	√ √	√ -	√ √	- -	√ √	- -	- -	√ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
100.	Ustilago violacea (Pers.) Roussel; (=Microbotryum violaceum); Basidiomycetes; Caryophyllaceae anther smut	(P): <i>Silene pratensis</i> , <i>Cerastium</i> , <i>Dyanthus</i> , Caryophyllaceae	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	- -	√ √	- -	- -	- √
101.	Zygophiala jamaicensis Mason (=Schizothyrium pomi = Leptothyrium pomi); Basidiomycetes, greasy blotch, flyspeck	(P): <i>Citrus</i> , <i>Diospyros</i> , <i>Malus domesticum</i> (apel, apple), <i>Pyrus communis</i> (pir, pear)	tanaman (plant), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √
102.	Venturia inaequalis (Cooke) G.Winter; (=Sphaerella cinerascens =Sphaeria cinerascens =Fusicladium pomi =Helminthosporium pirinum =Spilocaea pomi); Ascomycetes; apple scab, apple black spot, apple scab	(P): <i>Malus domesticum</i> (apel, apple) (S): <i>Crataegus laevigata</i> , <i>Cotoneaster</i> , <i>Malus</i> , <i>Pyracantha</i> , <i>Pyrus communis</i> (pir, pear), <i>Sorbus</i> , <i>Viburnum</i>	buah (fruit), bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE),
Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

4.2 Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina Kategori A 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
N O.	NAMA ILMIAH / SINONIM / KLAS / NAMA UMUM / SCIENTIFIC NAME / SYNONIM / CLASS / COMMON NAME	INANG/ HOST	MEDIA PEMBAWA/ CARRIER	MPL	MP	MB	MA	MPE	MPK	ELISA	PCR
1.	<i>Botrytis allii</i> Munn.; Anamorph fungi; Busuk leher batang (Neck rot fungus)	<i>Allium ascalonicum</i> (bawang merah, shallot)	blJl (seed) umbi (bulb)	√ √	- -	√ √	√* √*	- -	- -	- -	√ √
2.	<i>Chalara paradoxa</i> (De Seynes) Sacc; (= <i>Ceratocystis paradoxa</i> = <i>Thielaviopsis</i> <i>paradoxa</i> = <i>Ceratostomella paradoxa</i> = <i>Endoconidium fragrans</i> = <i>Hughesiella euricoi</i> = <i>Ophiostoma paradoxa</i> = <i>Sporoschisma</i> <i>paradoxum</i> = <i>Stilbochalara dimorpha</i> = <i>Thielaviopsis ethacetica</i>); Ascomycetes; black rot , base rot , bitten leaf of coconut , black end of banana , black rot of sugarcane , black scorch of date palm , bleeding stem of coconut , crown decay of date palm , crown rot of banana , dry basal rot of coconut , finger tip rot of banana , head rot of date palm , heart rot of date palm , leaf rot of coconut , pineapple disease , pod rot of cocoa , root rot of coconut , sett rot of sugarcane , stalk rot of banana , stalk rot of pineapple , water blister of pineapple , soft rot , dry basal rot of oil palm , bulb rot , fruit rot , post-harvest rot	(P): <i>Musa</i> spp. (pisang, banana)	akar (root), batang (stem)	√ √	- -	- -	- -	- -	- -	- -	√ √

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE),
Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *(Metode yang direkomendasikan) *(dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	Ceratocystis (= <i>Thielaviopsis</i>) fimbriata ; Ascomycetes; Penyakit layu, atau kanker, atau busuk, hawar (Ceratocystis wilt, cancer, or rot, blight)	<i>Theobroma cacao</i> (kakao, cocoa), <i>Coffea</i> spp. (kopi, coffee), <i>Crotalaria</i> , <i>Hevea</i> , <i>Camellia sinensis</i> (teh, tea), <i>Ipomoea</i>	biji (seed)	√	√	√	√	-	-	-	√
2.	Diaporthe citri F.A. Wolf, (<i>Phomopsis citri</i>); Ascomycetes; Busuk ujung batang (Melanose and stem-end rot)	<i>Citrus</i> spp. (jeruk, orange)	biji (seed)	√	-	-	-	-	-	-	√
3.	Elsinoe phaseoli Jenkins; (<i>Sphaceloma phaseolina</i>); Kudis (Scab)	<i>Vigna</i> spp. (Kacang buncis, kacang merah, common bean), <i>Vigna cylindrica</i> (kacang panjang, kacang tunggak, long bean), <i>Vigna radiata</i> (kacang hijau, mungbean)	biji (seed)	√	-	√	√	-	-	-	√
4.	Fusarium moniliforme f.sp. asparagi Cohen; Ascomycetes; Layu, busuk akar (Wilt, root rot)	<i>Asparagus officinalis</i> (asparaga, asparagus)	biji (seed)	√	-	√	√	-	-	-	√
5.	Fusarium oxysporum var. gladioli (Massey) Snyder & Hansen; Ascomycetes; Busuk akar, layu pembuluh (Corn rot, root rot, vascular-wilt)	<i>Gladiolus</i> spp.	tanaman (plant), umbi (corm), batang (stem) akar (root).	√ √ √ √	- - - -	√ √ √ √	√ √ √ √	- - - -	- - - -	- - - -	√ √ √ -
6.	Fusarium oxysporum f.sp. pisi (Linford) Snyder & Hansen; Ascomycetes; Layu Fusarium (Fusarium wilt)	<i>Pisum sativum</i> (Kapro, sweet bean)	biji (seed)	√	√	√	√	-	-	-	√
7.	Fusarium oxysporum f.sp. passiflorae W.L. Gordon; Ascomycetes; Layu Fusarium (Fusarium wilt)	<i>Passiflora quadrangularis</i> (markisa, granadilla , passion-fruit)	biji (seed)	√	√	√	√	-	-	-	√
8.	Mycosphaerella fijiensis M. Morelet; (<i>Mycosphaerella fijiensis</i> var. <i>difformis</i>); Ascomycetes; Black sigatoka	<i>Musa</i> spp. (pisang, banana)	biji (seed)	√	-	√	√	-	-	-	√

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE), Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA Polymerase Chain Reaction (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	Nectria rigidiuscula Berk. & Broome; Ascomycetes; Decay and rot	<i>Theobroma cacao</i> (kakao, cocoa)	biji (seed) batang (stem)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	√ √
2.	Peronosclerospora sacchari Miyake Shira & Hara; Oomycetes; Embun bulu (Sugarcane downy mildew)	<i>Saccharum officinarum</i> (tebu, sugarcane), <i>Sorghum bicolor</i> (sorgum, sorghum), <i>Zea mays</i> (jagung, corn, maize)	biji (seed)	√	-	-	√	-	√	-	√
3.	Peronospora manshurica (Naum) Syd.; Oomycetes; Downy mildew (embun bulu)	<i>Glycine max</i> (kedele, soybean)	biji (seed)	√	√	√	√	-	-	-	√
4.	Peronosclerospora philippinensis (Weston) C. G. Shaw; (= <i>Sclerospora philippensis</i>); Oomycetes; Philippine downy mildew	(P): <i>Zea mays</i> (jagung, corn , maize) (S): <i>Avena sativa</i> (oats), <i>Saccharum officinarum</i> (tebu, sugarcane), <i>Saccharum</i> <i>spontaneum</i> , <i>Sorghum bicolor</i> (sorgum, sorghum), <i>Sorghum</i> <i>halepense</i>	biji (grain), bagian tanaman (part of plant), media tanam (planting medium)	√ √ √	√ - -	√ √ √	√ √ √	- - -	- - -	- - -	√ √ √
5.	Phakopsora vitis (Thum) Syd.; (<i>Physopella</i> <i>ampelopsidis</i>); Urediniomycetes; Karat (Rust)	<i>Vitis vinifera</i> (anggur, grapevine)	biji (seed) buah (fruit)	√ √	- -	√ √	- -	- -	- -	- -	√ √
6.	Phoma lingam (Tode ex Fr.) Demazieres; Ascomycetes; Pangkal batang hitam (Black leg)	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> (kubis, cabbage)	biji (seed)	-	√	√	√	-	-	-	√
7.	Phyllosticta syzygii ; Cacar daun cengkeh	<i>Syzygium aromaticum</i> (cengkeh, clove)	tanaman bagian tanaman (live plant and part of plant), bunga kering (including dried flower)	√ √ √	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	√ √ √
8.	Phytophthora capsici Leonian, Oomycetes; Busuk polong (<i>Phytophthora</i> pod rot)	<i>Piper nigrum</i> (lada, pepper)	bibit (seedling)	-	√	√	√	√	-	√	√

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE),
Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	Phytophthora fragariae Hickman, Oomycetes; Red core, red stele disease	<i>Fragaria vesca</i> (Arbei, strawberry)	benih (seed)	-	√	√	√	-	-	-	√
2.	Plasmidiophora brassicae Woronin; Plasmidiophoromycetes; Akar gada (Cabbage club rot)	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> (kubis, cabbage) dan Cruciferae lainnya	akar (root) tanah (soil)	√	-	-	-	-	-	-	√
3.	Plasmopara viticola (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & deToni; Oomycetes; Embun tepung (Powdery mildew)	<i>Vitis vinifera</i> (anggur, grapevine)	benih (seed) dan buah (fruit)	√ √	√ -	√ √	- -	- -	- -	- -	√ √
4.	Pseudoperonospora cubensis (Berk. & M.A. Curtis) Rostovtzev; Embun bulu (Downy mildew)	<i>Cucumis sativus</i> (mentimun, cucumber), <i>Cucumis melo</i> (melon, melon), <i>Citrullus</i> <i>lanatus</i> (semangka, watermelon) dan cucurbitaceae lainnya	sisa tanaman (plant debris)	√	-	√	-	-	-	-	√
5.	Septoria lycopersici Speg. var <i>malagutii</i> Ciccar & Boerima; Anamorphic fungi; Bercak daun (Septoria potato leaf spot; angular potato leaf spot)	<i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato), <i>Lycopersicum</i> <i>esculentum</i> (tomat, tomato)	biji (seed), umbi (tuber of) <i>Solanum</i> <i>tuberosum</i> (kentang, potato), daun (leaf)	- - -	√ - -	√ √ √	√ √ √	- - -	- - -	- - -	√ √ √
6.	Spongospora subterranea f.sp. <i>subterranea</i> (Wallr.) Lagerh.; Plasmidiophoromycetes; Slimy rot, powdery scab	<i>Solanum tuberosum</i> (kentang, potato), <i>Lycopersicum</i> <i>esculentum</i> (tomat, tomato)	biji (seed) , umbi (tuber of) <i>Solanum</i> <i>tuberosum</i> (kentang, potato), buah	√ √ √	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	√ √ √
7.	Stagonospora sacchari T.T. Lo & K.C. Ling; Anamorphic fungi; Gosong daun tebu (Sugarcane scorch)	<i>Saccharum officinarum</i> (tebu, sugarcane)	stek batang (stem stoke) bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	√ √	- -	- -	- -	- √

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	<i>Uncinula necator</i> (Schwennerts) Burril; Ascomycetes; Embun tepung (Powdery mildew)	<i>Vitis vinifera</i> (anggur, grapevine)	biji (seed), serasah	√ √	√ -	√ √	- -	- -	- -	- -	√ √
2.	<i>Ustilago scitaminea</i> Syd. (Sydow); Ustilaginomycetes; Sugarcane pecut api (Sugarcane smut)	<i>Saccharum officinarum</i> (tebu, sugarcane)	Tanaman (plant) bagian tanaman (part of plant)	√ √	- -	√ √	- -	- -	- -	√ √	√ √
3.	<i>Verticillium dahliae</i> Kleb. Anamorphic fungi; Penyakit layu (Verticillium wilt)	<i>Anona</i> , <i>Cucumis</i> , <i>Fragaria</i> , <i>Glycine max</i> (kedele, soybean), <i>Gossypium</i> <i>hirsutum</i> (kapas, cotton), <i>Dahlia</i> , <i>Lycopersicum</i> <i>esculentum</i> (tomat, tomato), <i>Persea americana</i> (alpukat, avocado), <i>Rosa</i> , <i>tagetes</i> , <i>Vitis vinifera</i> (anggur, grapevine)	biji (seed)	-	-	√	√	√*	-	-	√

Metode Pemeriksaan Langsung (MPL), Metode Pencucian (MP), Metode Blotter (MB), Metode Agar-agar Cawan (MAC), Metode Pemeriksaan Embrio (MPE),
Metode Pemeriksaan Kecambah (MPK), ELISA *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *(Metode yang direkomendasikan ** (dengan Perlakuan khusus)

BAB V

DAFTAR PUSTAKA

1. Alexopoulos cj, Mims cw, Blackwell M. 1996 *Introductory Mycology*. 4 th ed. New York : John Wiley & Sons
2. [AGDAFF] Australian Government Department Of Agriculture, Fisheries and Forestry. 2005. Management of plant pathogen collections. Canberra : Commonwealth of Australia
3. Barnett HL and Hunter BB. 1998 *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 4 th ed. St. Paul : APS Press
4. Basic Plant Pathology Methods second Edition by Onkar D. Dhingra Ph.D Profesor of Plant Pathology Departemen de Fitopatologia Universidade Vederal de Vicoso Minos Gerais, Brasil and James B Sindair Ph.D Profesor of Plant Pathology Departement of Plant Pathology, College of Agreculture University of Illinois at Urbana-Champaign. Urbana, Illinois.
5. [CABI] Centre in Agricultural and Biological Institute. 2003. Crop Protection Compedium [cd-rom]. London: CABI Pubilsh
6. Dhingra, O. D and Sinclair, J. B 1995. Basic Plant Pathology Methods. 2 nd ed. CRC Press .
7. Ellis MB. 1971. Dematiaceus Hyphomycetes. Kew : Commonwealth Mycological Institute
8. Ellis MB, 1976, More Dematiaceaus Hyphomycetes. Kew : Commonwealth Mycological Institute,
9. Erie Me Kenzie, Landeare Research Privat Bag 92170 Auckland-New Zealand. Mycology Training Manual (Train the Trainers)
10. Hanlin R.T. Illustrated genera of Ascomycotina. 1993.APS Press.St.Paul Minnesota. Vol 1
11. Hanlin R.T. Illustrated genera of Ascomycotina. 1993.APS Press.St.Paul Minnesota. Vol 1
12. International Rule for Seed Testing Annexe to Chapter 7. Seed Health Testing Methods (ISTA) Edition 2005
13. J.D Hut Ching and J.C Reeves. Seed Health Testing Progres Towards the 21st Century
14. Maude. 1996. Ilmu Penyakit Benih dan Penyakit Gudang. Padang Universitas Andalas
15. Mathur SB. & Kongsdal O. 2003. *CommonLaboratory Seed HealthTesting Methods for Detecting Fungi*. Denmark : Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. Denmark
17. Surachmat, Suwanda, Sutakaria J. 1984. Penuntun Kerja Ilmu Penyakit Benih. Jakarta: Balai Karantina Pertanian Jakarta
18. Rifai MA, Ermitati, penyunting 1995. *Glosarium Biologi*. Jakarta : Balai Pustaka.
19. Watanabe. T. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphologies of Cultured Fungi and key to Species. 2 th.Ed. CRC Press. Washington D.C

LAMPIRAN

I. MEDIA PENANAMAN DAN SPORULASI CENDAWAN

1. Extract agar alfalfa. Digunakan untuk sporulasi *Sclerotium graminis*. Campurkan 150 g daun alfalfa dalam 500 ml air dan saring dengan kain katun. Tambahkan 500 ml 1,2 % melt agar yang mengandung 1 % dextrosa pada filtrat.
2. Agar alphacel. Media yang biasanya digunakan untuk perbanyakan cendawan dan sporulasi.

Alphacel (selulosa non nutritive)	20 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	1 g
KH ₂ PO ₄	1,5 g
NaNO ₃	1 g
Coconut milk	50 ml
Agar	12 g
Air	1 L

Filter coconut milk secara terus menerus kain katun dan autoclave. Simpan dalam refrigerator hingga digunakan. Larutan ini dapat digunakan dengan menambah 10 g pasta tomat dan 10 g oatmeal.

3. Media sporulasi alternaria

Sucrose	20 g
CaCO ₃	30 g
Air	1 L
pH	7,4
Agar	20 g

4. Agar Rebusan daun apel. Digunakan untuk sporulasi *Venturia inaequalis*. Kukus 25 gr daun-daun kering selama 30 menit dalam 500 ml air. Saring secara terus menerus dengan menggunakan kain katun, membuat filtrasi dengan volume hingga mencapai 1 l. Larutkan dalam 5 g extract malt dan 17 g agar. Kemudian di autoclave.
5. Larutan extract malt apel juice asam aminoasetik. Digunakan untuk sporulasi *Venturia inaequalis*

Juice aple segar	30 g
Asam aminoasetik	4 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,15 g
Air	1 L
Extract malt	20 g
KH ₂ PO ₄	1,5 g
KNO ₃	0,13 g

6. Agar pektin asam casamino-asparagine. Digunakan untuk penanaman cendawan *Phytophthora infestans*.

Asparagine	1 g
Asam casamino	2 g
Pectin apel	10 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,25 g
Agar	20 g
Yeast Extract	5 g
Glukosa	25 g
KH ₂ PO ₄	0,5 g
Thiamine HCl	0.001 g
Air	1 L

7. Agar Asthana dan Hawker. Digunakan untuk sporulasi *Sordaria destruens* dan penanaman cendawan.

Sukrosa	5 g
KH ₂ PO ₄	1,75 g
Agar	15 g
KNO ₃	3,5 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,75 g
Air	1 L

8. B-R medium. Digunakan untuk **produksi** sclerotia *Sclerotium rolfsii*.

Glucosa	40	g
K ₂ HPO	696	Mg
KCl	149	Mg
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8.3	Mg
Thiamine HCl	0.1	Mg
NH ₄ NO ₃	1	g
MgSO ₄ 7H ₂ O	200	Mg
FeSO ₄ 7H ₂ O	10	Mg
MnSO ₄ H ₂ O	6.2	Mg
Agar	20	g
Air	1	L

9. Media Barley-madu-pepton. Digunakan untuk sporulasi *Cytospora cincta*. Tempatkan 70 g biji barley pearl pada botol ukur yang berukuran 300 ml dan autoclave selama 1 jam. Persiapkan larutan madu 6 % dengan 1 % peptone dan autoclave secara terpisah kemudian campur.

10. Agar kacang buncis. Dikembangkan untuk produksi konidia *Cochliobolus carbonum* dan *C.heterostrophus* dalam skala besar. Benih *Phaseolus lunatus*, *V.angularis*, atau *Vicia faba* dapat digunakan. Giling benih hingga berbentuk seperti bubuk dan simpan dalam wadah yang kedap udara. Masukkan bubuk tersebut kedalam 1 l air yang sudah diionisasi di dalam 2-1 botol ukur. Autoclave selama 1 jam. Kemudian setelah di autoclave, dibiarkan selama sekurang-kurangnya 18 jam atau lebih pada suhu ruangan. Kemudian tuangkan supernatant (cairan kental yang terapung di permukaan larutan). Pindahkan cairan sisanya melalui 4 lapis kain kasa dan kemudian digabungkan dengan supernatant. Sesuaikan volume cairan hingga mencapai 1 L. Tambahkan 15 g agar dan autoclave selama 20 menit.

10.a. Agar juice kacang buncis. Digunakan untuk sporulasi *Colletotrichum lindemuthianum* : Campur 430 ml juice diperoleh dari kacang buncis hijau yang dikalengkan dengan 570 ml 2 % agar molten. Kemudian diautoclave.

11. Media pemisahan Botrytis. Media selektif digunakan untuk membedakan antara *B. Aclada* dan *B. Cinerea*.

KCl	1	g
KH ₂ PO ₄	1.5	g
NaNO ₃	3	g
Casein hydrolysate	5	g
Glyserol	5	g
L-sorbose	2.5	g
Agar	20	g
Yeast extract	3	g
Air	1	L

12. Media sporulasi Botrytis

Yeast extract	2.5	g
Malt extract	7.5	g
Casein hydrolysate	0.25	g
Na nucleate	0.1	g
Larutan stock Microelemen	1	ml
Agar	15	G
Kaldu Czapek- Dox	1	l

Larutan stock Microelemen mengandung/liter :

Fe(NO ₃) ₃ 9 H ₂ O	723.5	Mg
ZnSO ₄ 4H ₂ O	203	Mg
H ₃ BO ₃	2	Mg
H ₂ M _o O ₃	2	Mg

13. Media Brown's. Digunakan untuk sporulasi *Sclerotium rolfsii*.

Glukosa	2	g
K ₂ HPO ₄	1.25	g
Agar	20	g
Asparagine	2	g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.75	g
Air	1	L

14. Agar carnation dextrose. Digunakan untuk penanaman *F.roseum* "Avenaceum". Persiapkan extract air hangat dari 200 g irisan jaringan tanaman **Carnation**, dengan volume hingga mencapai 1 l. Dan tambahkan 20 g dextrose dan 20 g agar. Kemudian autoclave.
15. Agar daun carnation. Media ini lebih disukai untuk sporulasi *Fusarium* dan dipertimbangkan sebagai media terbaik untuk identifikasi species ini. Daun tanaman carnation muda yang bebas dari residu pestisida. Potong daun-daun tersebut masing-masing lembaran daun sepanjang 5 mm² dan keringkan dalam oven selama sekitar 2 jam pada suhu 45 derajat celcius sampai 55 derajat celcius. Daun-daun yang dikeringkan tersebut akan tetap hijau dan renyah (*crispy*) . Warna daun yang kurang hijau mengindikasikan bahwa suhu pengeringan terlalu tinggi. Sterilisasi daun dalam kertas aluminium dengan 2,5 megarade radiasi gama dari sumber cobalt 60. Fumigasi Propylene oxida mungkin digunakan sebagai metode alternatif, tetapi sterilisasi tidak sempurna sehingga membutuhkan fumigasi ulang. Tempatkan beberapa lembar daun dalam cawan petri atau tube dan diapungkan (**float**) pada autoclave dengan 1,5 % sampai 2 % air agar pada 45 derajat celcius. Simpan selama 3 – 4 hari pada suhu ruang selama penggunaan untuk memeriksa kemungkinan adanya kontaminasi dari daun-daun tersebut.
16. Agar wortel. Media yang lemah yang digunakan untuk sporulasi pada kebanyakan cendawan. Rendam 20 g potongan wortel selama 1 jam dalam 1 l air dan kemudian rebus selama 5 menit. Filter dan tambahkan 20 g agar. Lalu di autoclave.
17. Agar juice wortel. Digunakan untuk reproduksi aseksual pada *Gloimerella cingulata*.

Juice agar	125 sampai 750 Ml	
Agar	15	g
Ph	5.1 sampai 5.5	
Streptomycin atau Penicillin	100	Mg
Air	1	L

18. Agar infusi daun wortel. Digunakan untuk sporulasi *Alternaria dauci*. Wortel ditumbuhkan di dalam pot dalam rumah kaca. Daun-daun wortel sebanyak 6 sampai 10 lembar diletakkan pada nampan dan dibiarkan pada kondisi udara kering selama 4 hari, diikuti dengan pengeringan selama 1 hari dalam ruang pengeringan udara pada suhu 50 derajat celcius. Terakhir daun-daun disimpan dalam ruang refrigerator dalam tas plastik sampai saatnya digunakan. Persiapkan media dengan menambahkan 25 g daun kering untuk 1 l air dan stir selama 1 jam. Filter secara terus menerus dengan menggunakan 2 lapis kain katun. Sesuaikan volume filtrasi hingga mencapai 1 L, dan tambahkan 15 g agar dan autoclave.
19. Agar **rebusan** daun wortel. Digunakan untuk sporulasi kebanyakan cendawan *Cercospora* spp. **Giling** dengan baik 300 g daun wortel dan campur dengan 500 ml air suling, kukus selama 1 jam dan saring dengan 2 lapis kain katun. Campur filtrat dengan 500 ml air dalam 12 g agar yang sudah dilarutkan. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 L. Sterilisasi dengan pengukusan selama 1 jam. Sporulasi tidak terjadi jika media disuci hamakan dibawah tekanan yang telah ditentukan.
20. Agar oatmeal daun wortel. Digunakan untuk sporulasi *Cercospora canescens*.

Juice daun wortel	50	ml
Oatmeal	50	g
Agar	20	g
Air	950	ml

Rebus oatmeal selama 5 menit dalam air dan filter. Tambahkan juice daun wortel ke dalam filtrat dan sesuaikan volume hingga mencapai 1 L.

21. ++Media asam casamino. Digunakan untuk *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Glukosa	15	g
Yeast extract	1	g
Trace elements dari Cairan Hoagland's	10	ml
Asam casamino	1.5	g
KH ₂ PO ₄	1.5	g
Air	1	L

22. Agar dextrose ubi kayu. Digunakan pada media PDA. Gosok umbi ubi kayu (*Manihot utilissima*) dan iris tipis-tipis. Keringkan semalam pada suhu 55 derajat celcius dan **giling hingga berukuran 30 mesh**. Bubuk ini disimpan sampai saat digunakan. Rendam 135 g bubuk dalam 500 ml air selama 15 menit pada suhu 60 derajat celcius. (Pada suhu diatas 62 derajat celcius bulir-bulir bubuk akan mengembang/membengkak sehingga tidak akan mungkin terjadi filtrasi). Filter melalui kain katun.

Tambahkan 20 g glukosa dan 12 g agar untuk difiltrasi. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 L dan autoclave.

23. Celery-leaf muck- soil. Digunakan untuk sporulasi *Cercospora apii*. Masukkan tanah liat yang lembab dan pasir ke dalam botol ukur dengan ketebalan 2 cm . Autoclave kemudian tempatkan lembaran daun seledri pada permukaan tanah dan autoclave ulang selama 20 menit.
24. Media penanaman *Ophiostoma ulmi* (*Ceratocystis ulmi*). Digunakan untuk produksi inokulum mycelial dan dalam bentuk cairan akan memproduksi conidia.

Glukosa	6	g
K ₂ HPO ₄	0.5	g
Fe ^{****} (Fe(NO ₄) ₃ .6 H ₂ O)	0.2	Mg
Mn ^{**} (MnSO ₄ .7H ₂ O)	0.1	Mg
Pyridoxin HCl	100	Ug
Air	1	L
L- asparagin	0.4	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5	g
Zn ^{**} (ZnSO ₄ .7H ₂ O)	0.2	Mg
Cu ^{**} (CuSO ₄ .5H ₂ O)	0.02	Mg
Agar	15	g
pH	6.5	

25. Media penanaman *Cercospora rosicola*. Digunakan untuk penanaman *C. Rosicola* untuk produksi asam abscisic.

Glukosa	20	g
MgSO ₄	0.2	g
KCl	0.5	g
CaCl ₂ 2 H ₂ O	0.1	g
KH ₂ PO ₄	0.8	g
Thiamine	0.001	g
Monosodium glutamate	3.0	g
Trace element stock solution	1	
Air	1	
Trace element stock solution		
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0.05	g
MnCl ₂	0.033	g
ZnSO ₂	0.25	g
CuSO ₄ .4H ₂ O	0.4	g
H ₃ BO ₃	0.00005	g
Air	100	ml

26. Media cerelose – nitrate. Digunakan untuk penanaman *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Cerelose	50	g
KH_2PO_4	5	g
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.02	g
KNO_3	10	g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	g
Air	1	ml

27. Media cerelose-nitrate. Digunakan untuk penanaman *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*

Cerelose	30	g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	g
FeSO_4	Trace	
KNO_3	1	g
KCl	0.5	g
Air	1	L

28. Agar chickpea. Digunakan untuk penanaman *Phytophthora infestans* : Cuci 250 g benih chickpea dalam air ledeng selama 1 jam, kemudian rendam dalam air suling semalam. Tuang air **dan mata benih** dengan hati-hati . Tambahkan 1 L air dan kukus selama 1 jam. Filter dengan kain katun. Larutkan 15 g agar dan 20 g sukrosa, kemudian dipisahkan, dan kemudian tambahkan pada filtrate. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 l. Autoclave selama 15 menit pada 110 derajat celcius.

29. Agar benih chickpea. Digunakan untuk isolasi dan memelihara *Phoma rabiei*. Rebus 60 g chickpea selama 30 menit dan filter. Untuk memfiltrasi tambahkan 20 g sukrosa dan 20 g agar. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 l pada suhu 110 derajat celcius dan autoclave.

30. Media CMC- maltose. Digunakan untuk sporulasi *Aureobasidium zeae*.

Carboxyl methyl cellulose	10	g
Peptone	1.5	g
Maltose	5	g
KH_2PO_4	1	g
Air	1	L

31. Media CMC –Yeast extract. Digunakan untuk penanaman dan sporulasi *Fusarium graminearum* dan *Aureobasidium zeae*.

Carboxyl methyl cellulose	15	g
Yeast extract	1	g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5	g
NH ₄ NO ₃	1	g
KH ₂ PO ₄	1	g
Air	1	L

32. Media sporulasi dan pertumbuhan *Cochliobolus heterostrophus* Stock larutan A : 10 % Ca (NO₃)₂ · 4 H₂O Stock larutan B : KH₂PO₄ 2 %; MgSO₄·7H₂O, 2,5 %; NaCl, 1,5 % ; pH 5,3 Stock larutan C : Larutan Microelement dari media 128 Untuk mempersiapkan media minimal menggunakan 10 ml masing-masing stock larutan A dan B, 1 ml stock larutan C, 10 g glucosas dan 20 g agar untuk setiap liter. Media yang lengkap mengandung 1 g Yeast extract, 0,5 g asam hydroliza casein dan 0,5 g enzymically-hydrolyzed casein setiap liter media minimal. Untuk mengurangi ukuran koloni setiap cawan hitung, mengurangi glucosa 2 g/l dalam media minimal dan 0,5 g/l dalam media lengkap dan menambah 20 g/l sorbose.
33. Agar air kelapa. Media ini dalam bentuk cairan mendukung pertumbuhan yang bagus cendawan yang dapat dimakan dan jamur (*mushroom*). Disamping itu dextrose dapat memperkaya pertumbuhan cendawan dan jamur. Jika digabungkan dengan agar, media ini akan memberikan penampilan yang hampir sama seperti PDA dan agar extract Malt yang digunakan untuk penanaman cendawan. Media ini juga dapat meningkatkan sporulasi cendawan. Air kelapa yang diambil dari buah kelapa muda dan buah kelapa tua dapat digunakan untuk pembuatan media ini.
34. Agar daun jagung. Digunakan untuk sporulasi Drechslera, *Cochliobolus heterostrophus*. Autoclave 125 ml daun pada benih jagung yang berkecambah dalam 875 ml air. Saring dengan menggunakan kain katun dan sesuaikan volume hingga mencapai 1 L. **Tambahkan** dengan 30 g sukrosa, 20 g agar, dan autoclave.
35. Agar rebusan daun jagung. Digunakan untuk penanaman dan sporulasi *Cercospora zeae-maydis*. Didihkan selama 20 menit, 120 g daun hijau atau 35 g **senescent** daun yang dikeringkan dalam 1,5 air ledeng. Filter dengan 2 lapis kain katun. Tambahkan 19 g agar dan 4 g CaCO₃, untuk setiap liter filtrat dan kemudian di autoclave.
36. Agar tepung jagung. Digunakan untuk pembiakan banyak cendawan : Tempatkan 40 g jagung dalam 1 l air dan simpan pada 58 derajat celcius (jagan lebih dari 60 derajat celcius) selama 1 jam. Filter dengan kertas saring. Tambahkan 15 g agarke dalam filtrat. Autoclave selama 15 menit pada 115 derajat celcius.

37. Media benih jagung dan minyak bunga matahari. Digunakan untuk sporulasi *Alternaria cuscutacide*. : Persiapkan rebusan benih jagung sebanyak 20 g, kemudian tambahkan 1 g minyak matahari, 0,5 g CaOH dan 20 g sucrosa. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 l dan kemudian di autoclave.
38. Agar Czapek-Dox. Digunakan untuk penanaman banyak cendawan.

NaNO ₃	2	g
K ₂ HPO ₄	1	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5	g
KCl	0.5	g
FeSO ₄	0.01	g
Sucrosa	30	g
Agar	20	g
Air	1	L

Jika menggunakan air suling, tambahkan 1 ml 1% ZnSO₄ dan 0,5 %CuSO₄. Panaskan larutan kimia tanpa sukrosa dalam waterbath selama 15 menit.

39. Agar juice Czapek-Dox V-8.Digunakan untuk sporulasi *Pseudoseptoria (Selenophoma) donacis* dan *Stagonospora (Septoria) nodorum*.

Modified Czapek-Dox Agar (oxoid)	45.4	g
CaCO ₃	3	g
Air	800	ml
V-8 juice	200	ml
Oxoid no.3 agar	10	g

40. Media diet food. Digunakan untuk penanaman cendawan dan bakteri : Tambahkan 50 ml diet food untuk 1 l air mengandung 1,5 sampai 2 % agar dan kemudian di autoclave. Jika media transparan membutuhkan 50 ml diet food pada 200 ml air dan kemudian di sentrifuse. **Buang** pellet atau filter suspensi dengan menggunakan 2 lapis kertas filter. Tambahkan filtrat ke dalam 750 ml air yng mengandung sejumlah agar yang diperlukan.

41. Agar Elliot's. Digunakan untuk penanaman berbagai macam cendawan.

KH_2PO_4	1.36	g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	g
Asparagine	1	g
Na_2CO_3	1.06	G
Dextrose	5	G
Agar	15	G
Air	1	L

42. Agar Neal extract daun Elm. Digunakan untuk penanaman *Ophiostroma (Ceratocystis) ulmi* untuk spermatisasi dalam rangka memproduksi perithecia. Giling daun American Elm yang dikeringkan hingga membentuk butiran bubuk berukuran 1 mm dan keringkan selama semalam pada suhu 30 derajat celcius. Rebus 10 g daun dalam 800 ml air. Saring dengan kain katun. Sesuaikan volume hingga mencapai 800 ml dan tambahkan 6 ml asam linoleic dan kemudian diautoclave. Untuk menghindari hydrolysis asam, autoclave secara terpisah 15 g agar dalam 200 ml air yang mengandung 100 ug pyridoxine dan campur dengan extract daun dan didistribusikan ke dalam cawan. Daun elm dapat diganti dengan daun teh hitam. Jika Asam linoleic diganti dengan lauric, myristic, oleic, atau asam palmitic maka akan lebih banyak perithecia yang dibentuk.

43. Extract agar kayu elm. Digunakan untuk penanaman isolasi *Ophiostroma (Ceratocystis) ulmi* untuk spermatisasi dalam rangka memproduksi perithecia. Cabang-cabang tanaman American elm yang berkulit kayu dikeringkan pada suhu udara normal kemudian digiling hingga membentuk butiran bubuk berukuran 4 mm. Kemudian 60 g bubuk kayu tersebut direbus dalam 1 l air selama 30 menit. Saring dengan kain katun dan sesuaikan volume filtrat hingga mencapai 1 l. Tambahkan 15 g agar dan kemudian diautoclave. Pada saat penuangan ke dalam cawan tambahkan 6 ml asam linoleic yang sudah diautoclave. Kocok media sesering mungkin selama pendistribusian ke dalam cawan untuk memelihara keseragaman pendistribusian asam linoleic ke dalam media.

44. Media sporulasi *Cryphonectria (Endothia) parasitica*

Agar	40	g
Biotin	1	Mg
DL- methionine	100	Mg
Air suling dalam botol	1	L

Autoclave selama 15 menit dan kemudian simpan dalam suhu dingin, sebelum digunakan.

45. Media Erwin dan McCormic's. Digunakan untuk meningkatkan produksi oospora pada cendawan *Phytophthora sojae*.

Juice Clarified V-8	200	ml
B- sitosterol	30	Mg
CaCO ₃	3	g
Agar	15	g
Air	800	ml

46. Agar`yeast extract kertas saring. Digunakan untuk sporulasi *Sordaria* : Masukkan 12 g kertas saring ke dalam 1 l air, kemudian di blender, dan tambahkan 4 g yeast extract dan 24 g agar.

47. Agar extract tanah Flentze's. Digunakan untuk sporulasi *Rhizoctonia praticola*.

Sucrose	1	g
KH ₂ PO ₄	0,2	g
Dried Yeast	0,1	g
Extract tanah	1	L
Agar	25	g

48. Media **Fries**. Digunakan untuk penanaman cendawan.

NH ₄ tartrate	5	g
NH ₄ NO ₃	1	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
KH ₂ PO ₄	1,3	g
K ₂ HPO ₄	2,6	g
Sucrose	30	G
Yeast extract	1	G
Trace element stock solution/stock larutan trace element	2	ml
Air	1	L
Trace element stock solution/stock larutan trace element dalam 1 l		
LiCl	167	Mg
CuCl ₂ . H ₂ O	107	Mg
H ₂ Mo O ₄	34	Mg
MnCl ₂ . 4H ₂ O	72	Mg
CoCl ₂ .4H ₂ O	80	Mg

49. Modifikasi Media **Fries**.

NH ₄ tartrate	5	g
KH ₂ PO ₄	1	g
NaCl	0,1	g
Sucrose	10	g
Boron	10	Mg
Mn	20	Mg
Zn	200	Mg
Air	1	L
NH ₄ NO ₃	1	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
CaCl ₂	0,1	g
d-biotin	4	Mg
Copper	100	Mg
Mo	20	Mg
Fe	200	Mg

50. Media **Fries**, dimodifikasi untuk *Septoria glycines*.

NH ₄ tartrate	5	g
KH ₂ PO ₄	1	g
CaCl ₂	0,13	g
Yeast extract	1	g
Agar	15	g
NH ₄ NO ₃	1	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
NaCl ₂	0,1	g
Sucrose	30	g
Air	1	L

200 mg streptomycin dapat ditambahkan untuk menghindari pertumbuhan bakteri.

51. Agar Frozen lima bean. Digunakan untuk penanaman dan meningkatkan produksi oospora pada cendawan *Phytophthora*: Kukus 280 g Frozen lima bean dalam 1 l air. Setelah 30 menit saring dengan kain katun atau kain katun wool. Sesuaikan volume filtrat hingga mencapai 2 l. Tambahkan 20 g agar. Kemudian di autoclave.

52. Media fusarium. Digunakan untuk *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Sucrose atau glucose	2%	
KCl	0,022	M
FeCl ₃ .MnSO ₄ ZnSO ₄ , masing-masing cation	0,2	ug/ml
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,003	M
KH ₂ PO ₄	0,008	M
Ca (NO ₃) ₂	0,0356	M

53. Media garam mineral asparagines glucose. Digunakan untuk pembentukan oospora pada cendawan Phytophthora.

KH ₂ PO ₄	3	g
CaCl ₂	3,4	Mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,8	Mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,4	Mg
Thiamine HCl	1	Mg
Glucose	20	g
Air	1	L
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	G
FeSO ₄ .7H ₂ O	1	Mg
MnSO ₄ .H ₂ O	0,3	Mg
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,3	Mg
L-asparagine	2	G
Ergosterol	30	Mg

Persiapkan semua element minor dan thiamine 1000 X stock solution dan FeSO₄ 7H₂O dalam larutan asam sitrat pada konsentrasi 1,4 mg/ml. Autoclave glucose secara terpisah. Larutkan ergosterol dalam 30 ml dichloromethane dan kemudian tambahkan ke dalam larutan KH₂ PO₄ yang mengandung 0,5 ml Tween 80[@] dan autoclave secara terpisah. Sesuaikan derajat keasaman media kombinasi ini pada pH 6.0 dengan 1 N KOH.

54. Media garam mineral asparagines glucose. Digunakan untuk pembentukan oospora pada cendawan Phytophthora.

Glucose	4,5	g
L-asparagine	0,1	g
KNO ₃	0,15	g
KH ₂ PO ₄	0,1	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
CaCl ₂	0,1	g
Beta sitosterol	30	Mg
Microelement stock solution	1	ml
Air ionisasi	1	L

Microelement stock solution/ 100 ml :		
Na ₂ Mo ₂ O ₇ ·7H ₂ O	41,1	Mg
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	87,8	Mg
CuSO ₄ ·5H ₂ O	7,85	Mg
MnSO ₄ ·H ₂ O	15,4	Mg
Na ₂ B ₄ O ₇	0,5	Mg
Larutan Fe ^{**} harus dipersiapkan secara terpisah : Campur 4,4 mg FeCl ₃ ·6H ₂ O, 2,6 g EDTA dan 1,5 g KOH dalam 100 ml air suling		

Sesuaikan dengan 6 N KOH pada pH 6,2 sebelum diautoclave. Setelah autoclave tambahkan 1 ml filter stock solution thiamine HCl yang sudah disterilisasi untuk memberikan konsentrasi akhir 1 mg/l.

55. Media Asam glucose – glutamic. Digunakan untuk penanaman dan meningkatkan produksi oospora cendawan *Aphanomyces euteiches*.

Glucose	12,5	g
DL- methionine	150	Mg
MgCl ₂ ·6H ₂ O	400	Mg
Zn	0,7	Mg
Mn	0,1	Mg
D-glutamic acid	3,3	g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	110	Mg
Fe	11	Mg
B	0,01	Mg
Mo	0,02	Mg
Air	1	L

Sesuaikan pH media menjadi 6.0 sebelum diautoclave. Buffer media dengan menambah 16 ml 0,33 M KH₂PO₄ dan 4 ml 0,33 M Na₂HPO₄.

56. gar glucose- isoleucine. Digunakan untuk pembentukan sempurna cendawan *Fusarium solani* f.sp.cucurbitae.

Glucose	10	g
KH ₂ PO ₄	1,75	g
Agar	20	g
DL-isoleucine	5	g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,75	g
Air	1	L

Sesuaikan pH menjadi 5,5 sebelum autoclave.

57. Media garam mineral-glucose. Digunakan untuk penanaman verticillium.

Glucose	30	g
K ₂ HPO ₄	1	g

MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
MnSO ₄ .H ₂ O	0,5	Mg
Na ₂ MoO ₄ .7H ₂ O	10	ug
KNO ₃	2	g
K ₂ HPO ₄	0,9	g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,05	Mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,16	Mg
Air	1	L

58. Agar glucose-peptone. Digunakan untuk penanaman *Colletotrichum musae* (*Gloesoporium musarum*).

Glucose	10	g
KH ₂ PO ₄	0,5	g
Agar	15	g
Peptone	2	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Air	1	L

59. Agar glucose-fenilalanin. Digunakan untuk penanaman dan sporulasi *Ceratocystis fagacearum* : Tempatkan maltosa dan asam casamino dari media No.86 dengan 3 g glucose dan 0,5 g fenilalanin.
60. Agar glucose-ubi jalar. Digunakan untuk penanaman *Fusarium oxysporum* f.sp.*batatas* : Tambahkan 18 g agar ke dalam 1 l air, 10 g glucose, dan beberapa akar potongan ubi jalar, tanaman rambat ubi jalar dan umbi kentang.
61. Agar **Green bean**. Digunakan untuk sporulasi *Colletotrichum* (*C.lagenarium*) *orbiculare* : Giling dengan baik 400 g **Green bean** yang dimasak. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 l dengan air dan tambahkan 20 g agar.
62. Agar malt extract – polong **green bean** . Digunakan untuk sporulasi *Diplocarpon earlianum* : Rebus 200 g polong **green bean** dalam 700 ml air. Saring kain katun, kemudian tambahkan 5 g malt extract dan 17 g agar. Larutkan 5 g sucrose dalam 200 ml air. Autoclave secara terpisah dan kemudian campur.

63. Media Haglund dan King's. Digunakan untuk produksi oospora *Aphanomyces eutheiches*.

Dextrose	5	g
L-asparagine	0,75	g
K ₂ HPO ₄	2	g
Mn,Zn dan Fe (sebagai chloride), masing-masing :	5	Mg
MgCl ₂	50	Mg
L-methionine (atau L-cystine)	20	Mg
Air	1	L

64. Agar infusion hay : Digunakan untuk penanaman dan sporulasi banyak cendawan dematiaceous : Autoclave 50 g hay dalam 1 l air selama 30 menit. Filter dan sesuaikan volume filtrate hingga mencapai 1 l. Tambahkan 2 g K₂ HPO₄ dan 15 g agar. Kemudian disterilisasi kembali dengan autoclave (*reautoclave*) selama 10 menit.
65. Agar benih hemp. Digunakan untuk penanaman *Pythium* : Rebus 100 g benih hemp dalam 1 air, filter, ssesuaikan volume hingga mencapai 1 l dan tambahkan 20 g agar. Selama penanaman *P.middletoni* : Giling 20 g benih dalam 1 l air, filter dengan kain muslin, dan kupas kulit benih. Tambahkan 20 g agar, kemudian di autoclave.
66. Agar extract benih hemp - wortel. Digunakan unutm penanaman dan produksi oospora cendawan *Pythium* : rebus 20 g benih hemp yang retak dalam 1 l air ledeng. Tambahkan 20 g agar dan extract dari 100 g wortel.
67. Media Hendrix's. Digunakan untuk pembentukan oospora pada cendawan *Phytophthora*.

Glucose	5,4	g
KH ₂ PO ₄	1	g
Agar	17	g
Air	1	L
NaNO ₃	1,5	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Thiamine HCl	2	Mg
pH	6	

Autoclave selama 10 menit dan tuangkan 25 ml ke dalam masing-masing cawan Petri. Setelah **memadat** , tuang 20 mg sterol dicairkan ke dalam 2 ml ether ke permukaan agar dan sebarkan dengan rata (*spread*). Gunakan setelah beberapa jam.

68. Agar`peptone-honey. Digunakan untuk penanaman banyak cendawan. Media ini menghambat pertumbuhan bakteri. Masukkan 20 g agar ke dalam 1 l air. Tambahkan 60 g madu dan 10 g peptone, kemudian diautoclave.
69. Media Joffe's. Digunakan untuk sporulasi banyak cendawan dari Genus *Fusarium*.

KH ₂ PO ₄		
MgSO ₄ .7H ₂ O		
Starch powder		
Sucrose		
KNO ₃		
KCl		
Glucose		
Agar		
Air		

Setelah autoclave tuang media ke dalam cawan. Tempatkan **strip steril** kertas lens selular diatas permukaan agar sebelum media tersebut memadat.

70. Agar kacang kidney. Digunakan untuk penanaman *Phytophthora fragariae* : Pada 1 l air masukkan 30 g kacang kidney yang sudah digiling dengan baik dan tambahkan agar, kemudian di autoclave.
71. Media King's B. Digunakan untuk penanaman bakteri

Protease peptone	20	g
K ₂ HPO ₄	2,5	g
Glycerol	15	ml
MgSO ₄ .7H ₂ O	6	g
Agar	15	g
Air	1	L

72. Agar Klemmer dan Lenny. Digunakan untuk pembentukan oospora *Phytophthora*

KH ₂ PO ₄	680	Mg
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	1,34	Mg
FeSO ₄ .7H ₂ O	1	Mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,08	Mg
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,07	Mg
L-asparagine	708	Mg
Agar	15	G
MgSO ₄ .7H ₂ O	250	Mg
CaCl ₂ . 2H ₂ O	50	Mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	4,4	Mg
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,05	G
Thiamine HCl	100	Mg
Glucose	15	G

Air	1	L
-----	---	---

Setelah autoclave tambahkan 60 ml lipid yang diperoleh dari minyak gandum (*wheat germ oil*).

73. Agar hydrolysate lactose casein. Digunakan untuk sporulasi cendawan Genus *Drechslera*, terutama *Cochliobolus carbonum* dan *Pyrenophora graminicola*.

Lactose	37,5	G
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	G
Agar	10	G
Casein hydrolysate	3	G
Microelement stock solution	2	MI
Air	1	L

Sesuaikan pH menjadi 6

Microelement stock solution mengandung 439, 8 mg ZnSO₄.7H₂O, 203 mg MnSO₄.4 H₂O, 723,5 mg Fe (NO₃)₃. 9H₂O. Larutkan setiap larutan garam satu demi satu ke dalam 1 l air. Untuk memperoleh larutan yang bersih, tambahkan setetes demi setetes, H₂SO₄, saat larutan di aduk.

74. Media X dan Y East dan Hamley. Kedua media bermanfaat untuk produksi conidia *Botrytis elliptica* dan *B.fabae*.

	Media X		Media Y	
KH ₂ PO ₄	1,52	g	5	G
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,52	g	1	G
FeCl ₂ .6H ₂ O	-	-	0,2	G
KNO ₃	-	-	2,0	G
NaNO ₃	6,0	g	-	-
KCl	0,52	g	-	-
CaCl ₂	-	-	0,01	G
Dextrose	10	g	20	G
Peptone	2	g	5	G
Casein hydrolysate	3	g	-	-
Yeast Nucleic acid	0,5	g	-	-
Agar	20	g	30	G
Air	1 L		1 L	

75. Agar Leonian. Digunakan untuk penanaman dan sporulasi Ascomycotonia dan Coleomycetes.

Peptone (or neopeptone)	0,625	g
Maltose (or glucose)	6,25	g
Malt extract	6,25	g
KH ₂ PO ₄	1,25	G
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,625	G
Agar	20	G
Air	1	L

76. Agar lima bean. Digunakan untuk penanaman Phytophthora : Campur 50 g lima bean, direndam dalam air selama 10 jam dengan 500 ml air yang mengandung 15 g agar yang dicairkan. Sesuaikan volume akhir hingga mencapai 1 L dan kemudian di autoclave.

77. Agar dextrose-lima bean. Digunakan untuk penanaman *Phytophthora infestans*.

Lima bean yang sangat kering	15	G
Yeast extract	2	G
Dextrose	10	G
Agar	10	G
Air	1	1

Suspensikan lima bean bentuk bubuk ke dalam 800 ml air ditempatkan pada wadah yang besar dan kemudian di autoclave selama 45 menit. Tambahkan bahan yang lain dan panaskan hingga agar menjadi larut, sesuaikan volume hingga mencapai 1 L. Tanpa penyaringan, autoclave kembali selama 30 menit. Tempatkan di suatu botol ukur yang berukuran 250 ml.

78. Rebusan kaldu **lima bean**. Digunakan untuk beberapa cendawan Phytophthora : Rebus 100 g lima bean ke dalam 1 L air, saring dengan kain katun , dan tambahkan volume.

79. Media Lutz. Digunakan untuk penanaman **agarics dan boletes** dan sporulasi *Rhizoctonia solani*.

Malt extract	10	g
Ammonium nitrate	1	g
Ammonium phosphate	1	g
Air	1	L
Magnesium sulphate	0,1	g
Ferric sulphate	0,1	g
Manganese sulphate	0,025	g
Agar	25	g

80. Media sporulasi Macrophomina

Glucose	20	g
DL-asparagine	15 atau 30	g
KH ₂ PO ₄	1	g
Peptone	20 atau 40	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Agar	20	g
Air	1	L

Autoclave dan tuang media ke dalam cawan petri/ cawan untuk pembiakan. Extract dari **kacang tanah** atau minyak goreng (campuran minyak kacang **tanah** dan minyak bunga matahari "COVO") digunakan untuk meningkatkan sporulasi *Macrophomina*.

81. Agar extract malt. Digunakan untk penanaman cendawan dan bakteri : Panaskan 20 g extract malt di dalam 1 L air sampai larut, kemudian tambahkan 20 g agar dan panaskan hingga agar mencair. Derajat keasaman atau pH media ini biasanya 3 – 4, dan pH dapat disesuaikan dengan menggunakan NaOH hingga mencapai 6,5. Untuk penanaman *Basidiomycotinia*, gunakan 50 g malt extract dan 5 g asam malic.
82. Agar malt extract-dextrose-peptone. Digunakan untuk penanaman cendawan *Pythiaceus*

KH ₂ PO ₄	1	g
Peptone	1	g
Dextrose	15	g
Agar	15	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Malt extract	5	g
Air	1	L

83. Agar malt extract-dextrose-peptone. Digunakan untuk penanaman cendawan dan bakteri.

Malt extract	20	g
Dextrose	20	g
Peptone	1	g
Agar	20	g
Air	1	L

84. Media malt extract poplar. Digunakan untuk sporulasi *Phellinus ingniarius* var. *populinus* : Untuk media no. 83 tambahkan beberapa potongan irisan kayu Aspen poplar yang sudah diautoclave, setelah media tersebut diautoclave dan setelah dituangkanke dalam cawan.

85. Agar malt dan yeast extract. Digunakan untuk penanaman cendawan.

Malt extract	3	G
KH ₂ PO ₄	0,5	G
Agar	20	G
yeast extract.	2	G
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	G
Air	1	L

86. Agar asam maltose-casamino. Digunakan untuk penanaman dan sporulasi *Ceratocystis fagacearum*.

Maltose	5	g
Asam casamino	1	g
Zn	0,2	Mg
Fe	0,2	Mg
Mn	0,1	Mg
} sebagai sulfate		
KH ₂ PO ₄	1	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Biotin	5	Mg
Agar	20	g
Air	1	L

Sesuaikan pH menjadi 6. Pada kasus tertentu yeast extract dapat sebagai pengganti biotin.

87. Kaldu maltose – peptone. Digunakan untuk penanaman cendawan dan bakteri : untuk 1 L air tambahkan 3 g maltose dan 1 g peptone.
88. Media mannitol. Digunakan untuk **convert** conidia cendawan *Fusarium sulphurum* untuk membentuk **chlamydospores**.

D-mannitol	23,7	G
KH ₂ PO ₄	0,4	G
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,3	G
K ₂ HPO ₄	0,12	G
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,12	G
Air	1	L

Glucose dapat sebagai pengganti mannitol. Sesuaikan derajat keasaman media menjadi 6,8

89. Agar mannitol-orthophosphate. Media ini dikembangkan untuk penanaman *Xanthomonas campestris pv.vignicola* tetapi *Erwinia carotovora* dan *Corynebacterium tritici* juga dapat tumbuh dengan baik pada media ini.

Mannitol	10,642	g
L-histidine	430	Mg
KH ₂ PO ₄	2	g
Air	1	L
NH ₄ H ₂ PO ₄	4,3	g
Ferrous sulphate	2	Mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	200	Mg
pH	7	7

90. Agar marmite-dextrose. Digunakan untuk media pertumbuhan awal untuk sporulasi *Rhizoctonia solani*.

Marmite yeast extract	25	g
Dextrose	12,5	g
pH	5,2	
Air	1	L
Agar	20	g

Media tidak perlu diautoclave dalam waktu lebih dari 15 menit. Media **yang dicairkan kembali** tidak dapat digunakan lagi untuk sporulasi.

91. Agar neopeptone-glucose. Digunakan untuk penanaman dan sporulasi *Colletotrichum lindemuthianum*.

Glucose	2,8	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,23	g
Agar	20	g
Neopeptone	2	g
KH ₂ PO ₄	2,72	g
Air	1	L

92. Nutrient agar. Digunakan untuk penanaman bakteri.

Beef extract	3	g
Glucose	2,5	g
Air	1	L
Peptone	5	G
Agar	15	g

93. Agar Nutrient broth – yeast extract. Digunakan untuk penanaman bakteri.

Beef extract	3	g
K ₂ HPO ₄	2	g
Agar	15	g
Peptone	5	G
KH ₂ PO ₄	0,5	G
aIR	1	L

94. Agar daun oat. Digunakan untuk penanaman *Stagonospora (Septoria)avenae*. : Giling 300 g daun hijau oat yang segar dan campur **pulp** dan juice dengan 1 L air yang mengandung 12 sampai 15 g agar. Rebus campuran tersebut selama 5 menit, saring dengan kain katun dan autoclave filtrate ini.
95. Agar oatmeal. Digunakan untuk penanaman *Phytophthora* : Blender 75 g rolled oat dalam 600 ml air dan kemudian panaskan pada suhu 45 sampai 55 derajat celcius, tambahkan 20 g agar yang dilarutkan ke dalam 400 ml air. Kemudian diautoclave selama 90 menit.
96. Agar oatmeal. Digunakan untuk penanaman cendawan : Media dipersiapkan dalam cara yang sama seperti dengan medium no. 95, tetapi media ini menggunakan 60 g oatmeal dan 12 g agar.
97. Agar oatmeal. Digunakan untuk penanaman *Phytophthora phaseoli* : Rendam 50 g rolled oat selama 10 jam dalam 500 ml air dan kemudian blender. Campur dengan 500 ml air yang mengandung 15 g agar yang dicairkan dan diautoclave.
98. Agar rebusan daun palm- palm wine. Digunakan untuk sporulasi *Cercospora elaeagni* : Mempersiapkan agar rebusan daun palm seperti yang digambarkan pada media No. 19. Kemudian tambahkan 60 ml filter palm wine yang steril ke dalam media yang sudah diautoclave.
99. Agar pea (frozen). Untuk mendukung pertumbuhan mycelial *Phytophthora fragariae*. Blender dengan kecepatan yang tinggi selama 3 menit, 150 g frozen pea. Peras larutan kental tersebut dengan menggunakan 8 sampai 12 lapis kain katun dan kemudian saring melalui kertas saring yang dilapisi dengan 2,5 cm celite 545. Tambahkan 15 g agar filtrate dan cairkan agar dalam pengukus (*steamer*). Sesuaikan volume hingga mencapai 1 L. Tambahkan 0,5 ml agent anti busa (*antifoam*). Sesuaikan pH menjadi 6,5. Autoclave selama 30 menit.
- 99a. Kaldu benih pea. Digunakan untuk penanaman *Phytophthora cinnamoni* : Blender 200 g frozen pea ke dalam 500 ml air yang diionisasi. Sentrifuse campuran selama 10 menit pada 1000 G. Buang supernatant (cairan kental yang mengapung di permukaan) dan sesuaikan volume hingga mencapai 1 L.
100. Media benih pea. Digunakan untuk penanaman *Phytophthora* : Rendam pea kuning yang kering semalam dalam air. Tempatkan 2 sampai 3 cm

lapisan pea dalam botol ukur dan tambahkan air secukupnya. Kemudian di autoclave.

101. Agar peach. Digunakan untuk penanaman *Stigmina carpophila* (*Coryneum carpophilum*) : 200 g buah peach dihomogenisasi (*homogenized*) dan kemudian tambahkan 1 L air dan 40 g agar.

102. Agar daun kacang tanah – oatmeal. Digunakan untuk sporulasi *Cercospora arachidicola* : Blender 50 g daun kacang tanah di dalam 500 ml air selama 10 -15 detik dan saring melalui kain katun. Rebus 15 g oatmeal dalam 500 ml air selama 15 menit dan saring dengan kain katun. Kemudian kombinasi kedua media tersebut di rebus dan tambahkan 20 g agar. Lalu diautoclave.

103. Agar extract **peanut hull**. Digunakan untuk penanaman dan sporulasi *Cercospora arachidicola*, *Phaeosariopsis personata* (*Cercosporidium personatum*) dan *Colletotrichum gloeosporioides*. Blender selama 1 menit, 180 g **peanut hull** ke dalam 17 ml air ledeng. Saring larutan kental tersebut dengan menggunakan kain katun. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 L, dan tambahkan 20 g agar kemudian diautoclave.

104. Media sporulasi *Phymatotrichum*.

KNO ₃	0,0008	M
Ca (NO) ₂ . 4H ₂ O	0,001	M
KCl	0,0087	M
Agar	2,5 %	
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,00015	M
KH ₂ PO ₄	0,00008	M
Glucose	2 %	
Ferric tartrate	1 ug/ml	

105. Agar phytone – dextrose. Digunakan untuk sporulasi *Stemphylium*.

Phyton	15	g
Yeast extract	1	g
Dextrose	15	g
Agar	17	g
Air	1	L

106. Agar benih pigeon pea. Digunakan untuk penanaman *Phytophthora drechsleri* f.sp. *cajani*, sebagai pengganti untuk V-8[®] media juice. Rebus 40 g benih ke dalam 1 L air suling dan saring dengan kain katun. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 L, tambahkan 20 g agar ke dalam filtrate dan kemudian diautoclave. Benih yang berwarna terang lebih mendukung pertumbuhan cendawan daripada benih yang berwarna gelap.

107. Agar peptone-malt extract – antibiotik. Digunakan untuk sporulasi *Gaeumannomyces graminis* var. *Graminis* dan var *tritici*.

Malt extract	10	g
Agar	15	g
pH	5,5 – 6	
Peptone	2,5	g
Air	1	L

Setelah autoclave tambahkan media molten dingin (ca. 60 derajat celcius), 40 mg penicillin G, 50 mg streptomycin sulphate dan 60 mg terramycin.

108. Agar rebusan daun populus. Digunakan untuk produksi ascomata cendawan *Mycosphaerella populorum* (anamorph *Septoria musiva*). Kukus 25 g daun Populus ke dalam 250 ml air selama 30 menit. Buang supernatant dan tambahkan 5 g malt extract, 15 g agar dan sesuaikan volume hingga mencapai 1 L. Kemudian di autoclave.
109. Media Potassium chloride. Media ini bermanfaat untuk pengamatan secara mikroskopik dan identifikasi cendawan Genus *Fusarium* khususnya *Lieseola*. Media ini dipersiapkan dengan menambah 4 sampai 8 g KCl sampai 1,5 % air agar.
110. Agar kentang-wortel. Digunakan untuk sporulasi dan untuk penyimpanan cendawan : Rebus kentang dan wortel (yang sudah dicuci, dikupas dan diiris) masing-masing sebanyak 20 g dalam 1 L air selama 1 jam. Saring dengan ayakan atau kain katun. Tambahkan 20 g agar pada filtrate. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 L dan cairkan agar dengan pemanasan. Kemudian di autoclave.
111. Potato-dextrose Agar (PDA) : Kentang dikupas dan diiris sebanyak 200g, kemudian direbus dalam air 1 L hingga kentang lunak. Saring dengan kain katun dan sesuaikan volume filtrat hingga mencapai 1 L. Tambahkan 10 sampai 20 g dextrose dan 12 hingga 17 g agar. Autoclave. Mengganti dextrose dengan sucrose akan meningkatkan sporulasi pada berbagai cendawan. Media PDA yang terbuat dari 500 g kentang, 10 g dextrose dan 1 g NaCl/L akan meningkatkan sporulasi pada cendawan *Alternaria solani*, *Botrytis*, *Glomerella cingulata* dan *Monilinia fructicola*.
112. PDA (disuling) : Kukus 40 g kentang yang sudah dikupas dan diiris dalam 200 ml air selama 45 menit. Saring rebusan tersebut dengan menggunakan kain katun dan sesuaikan volume hingga mencapai 1 L. Tambahkan 5 g dextrose dan 17 g agar.
113. P(M)DA. Masukkan 15 g instant mashed potato mix, 15 g dextrose dan 23 g agar kedalam 1,5 L air. Kemudian di autoclave.

114. Agar potato-marmite. Digunakan untuk sporulasi *Rhizoctonia solani*.

Kentang	250	g
Marmite yeast extract	1	g
Dextrose	20	g
Agar	20	g
Air	1	L

Rebus kentang yang sudah dikupas dan diiris selama 1 jam dalam air pada suhu 60 derajat celcius. Saring dengan menggunakan kain katun dan tambahkan volume. Kemudian masukkan bahan-bahan lainnya, lalu diautoclave.

115. Agar potato – marmite. Digunakan sebagai media pertumbuhan awal untuk sporulasi *Rhizoctonia solani* pada agar.

Dehydrated potato	15	g
Marmite yeast extract	40	g
Air	1	L
Dextrose	7,5	g
Agar	20	G
pH	5,3	

116. Agar potato-peptone-yeast extract-dextrose. Digunakan untuk sporulasi *Rhizoctonia solani* dengan tehnik soil-on culture.

Kentang	30	g
Yeast extract	5	g
Agar	20	g
Peptone	5	g
Dextrose	0,5	g
Air	1	L

Persiapkan extract kentang dengan merabus kentang dalam sejumlah air yang diperlukan. Buang ampas kentang dan tambahkan bahan lainnya ke dalam extract.

117. Agar kentang-sucrose. Digunakan untuk penanaman cendawan dan sporulasi *Fusarium* : Rebus kentang yang sudah dikupas dan diiris sebanyak 1,8 kg selama 10 menit di dalam 4,5 L air. Saring dengan menggunakan kain katun. Simpan filtrate dalam lemari pendingin (*refrigerator*) untuk penggunaan berikutnya. Persiapkan media campuran antara 500 ml extract kentang dengan 500 ml air. Tambahkan 20 g sucrose dan 20 g agar. Panaskan campuran ini untuk melarutkan agar. Sesuaikan pH hingga mencapai 6,4 dengan menggunakan CaCO_3 . Kemudian di Autoclave.

118. Agar prune. Digunakan untuk penanaman *Nectria cosmariospora* : Tambahkan 40 g potongan prune dan 20 g agar ke dalam 1 L air.

119. Agar prune-lactose-yeast extract. Biasanya digunakan untuk identifikasi *Verticillium albo-atrum* dan *V.dahliae* dan bermanfaat untuk sporulasi *Botrytis*.

Conc.prune extract	100	ml
Agar	30	g
Air	1	L
Yeast extract	1	g
Lactose	5	g
pH	5,8-6	

Konsentrat extract prune dipersiapkan dengan mendidihkan 50 g prune yang sudah dicincang dan dikeringkan dengan 1000 ml air hingga menjadi lunak. Saring dengan menggunakan kain katun dan kemudian filter. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 L. Extract diautoclave, kemudian disimpan dilemari pendingin (*refrigerator*). Penambahan media dengan streptomycin dan erythromycin masing-masing sebanyak 100 ug / ml dapat digunakan untuk sporulasi beberapa species *Botrytis*.

120. Agar makanan kelinci (*Rabbit food*). Digunakan untuk sporulasi *Bipolaris oryzae* (*Helminthosporium oryzae* atau *Drechslera* dalam bentuk *Cochliobolus miyubeanus*). Masukkan 50 g makanan kelinci komersial dalam 500 ml air suling selama 20 menit. Filter dengan menggunakan 2 lapis kain katun. Sesuaikan volume hingga mencapai 1 L dan tambahkan 15 g agar. Sesuaikan pH hingga mencapai 6,5 dan kemudian diautoclave.
121. Agar radish/agar lobak. Digunakan untuk *Aphanomyces raphani* : Rendam 200 g jaringan akar lobak dalam 1 L air dan simpan pada suhu 60 derajat celcius selama 1 jam atau menggunakan 250 g jaringan akar dan simpan selama 45 menit pada suhu 100 derajat celcius. Saring dengan kain katun, tambahkan 20 g agar ke dalam filtrate dan kemudian diautoclave.
122. Agar radish – glucose. Digunakan untuk penanaman *A.raphani* : Untuk media no. 121, tambahkan 10 g glucose.
123. Kaldu radish extract – peptone. Digunakan untuk penanaman media no. 121 tambahkan 0,5 % peptone.
124. Agar benih rape (canola). Digunakan meningkatkan produksi oospora pada cendawan *Phytophthora* : Rebus 100 g benih canol dalam 1 L air selama sekitar 1 jam. Filter rebusan ini. Sesuaikan volume filtrate hingga mencapai 1 L dan tambahkan 200 g agar.
125. Agar Rebusan Rice node (titik tumbuh daun pada batang padi) . Digunakan untuk sporulasi *Pyricularia oryzae*. Kumpulkan batang padi yang sudah masak dari tanaman yang rentan. Potong sepanjang 2-3 cm dengan posisi titik tumbuh daun pada batang (node) terdapat di tengah (*center*). Tempatkan potongan batang tersebut ke dalam botol ukur 150 ml dalam jumlah yang cukup untuk membuat 1 lapis tumpukan potongan batang. Tambahkan 50 ml air, sumbat mulut botol dan autoclave. Setelah

pendinginan, kumpulkan cairan dan tambahkan 1 % dextrose dan 2 % agar. Lalu autoclave kembali.

126. Agar Rice polish. Digunakan untuk sporulasi *Drechslera* dan *Pyricularia oryzae* : Campur 20 g rice polish dengan 500 ml air dan kukus selama 15 menit. Blender suspensi selama beberapa menit dan campur dengan 500 ml air mengandung 17 g agar. Autoclave dan tuangkan ke dalam cawan. Saat penuangan, kocok media untuk mencegah menempelnya rice polish.

127. Agar sach's. Digunakan untuk sporulasi *Cochliobolus sativus*.

CaNO ₃	1	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25	g
FeCl ₃	trace	
K ₂ HPO ₄	0,25	g
CaCO ₃	4	g
Agar	20	g
Air	1	L

128. Media Sanderson & Srb. Digunakan untuk penanaman dan sporulasi *Phoma medicaginis* (Ascochyta imperfecta)

Minimal media :

KH ₂ PO ₄	2	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,6	g
NaCl	0,1	g
Agar	20	g
Air	1	L
NaNO ₃	2,4	g
Sucrose	10	g
CaCl ₂	0,1	g
Trace element stock solution	1	ml

Untuk mempersiapkan media yang lengkap tambahkan 0,75 % malt extract dan 0,25 % yeast extract. Trace element stock solution mengandung : 9 mg H₃BO₃, 58,5 mg CuSO₄.5H₂O, 1,95 mg KI, 9 mg MnSO₄.H₂O, 7,6 mg NaMoO₄, 822 mg ZnSO₄.6H₂O, 139,8 mg FeCl₂.6H₂O dalam 300 ml air.

129. Agar SB

Peptone	5	g
Yeast extract	5	g
Agar	17	g
Glucose	5	g
Asam glutamic	1	g
Air	1	L

130. Media Schmitthenner's. Digunakan untuk meningkatkan pembentukan oospora pada beberapa Pythium.

Sucrose	2,5	g
KH ₂ PO ₄	150	Mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	100	Mg
Thiamine HCl	2	Mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	4,4	Mg
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,07	Mg
Asparagine	270	Mg
K ₂ HPO ₄	150	Mg
CaCl ₂	55	Mg
Cholesterol	10	Mg
FeSO ₄ .7H ₂ O	1	Mg
Air	1	L

131. Media Produksi asam oxalic *Sclerotium rolfsii* . Digunakan untuk penanaman *Sclerotium rolfsii* untuk mempelajari produksi asam oxalic.

NH ₄ H ₂ PO ₄	4,12	g
Carboxyl methyl cellulose	6	g
K ₂ HPO ₄	1,7	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,4	g
MnSO ₄ .H ₂ O	14	Mg
Thiamine HCl	1	Mg
Initial pH	6	
Dextrose	8	g
Na succinate	6	g
KCl	0,15	g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	12	Mg
FeCl ₃ .H ₂ O	14	Mg
Air	1	L

132. Agar sporulasi *Stagonospora (Septoria) nodorum*.

Sumber carbon	20	C
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Zn ^{**}	0,2	Mg
Agar	20	g
Sumber nitrogen	0,425	g N
Fe ^{***}	0,2	Mg
Mn ^{**}	0,1	Mg
Air	1	L

Suatu sumber carbon yang sangat disenangi adalah galactose atau maltose, glucose tambah sucrose (1:1), atau sucrose sendiri. Sumber carbon kurang dapat mempengaruhi sporulasi daripada sumber Nitrogen. Sumber nitrogen yang sangat disenangi adalah glycine. Suatu kombinasi galactose, lactose dan maltose dengan asparagine, glycine atau urea baik untuk sporulasi.

133. Media sporulasi dan pertumbuhan *Stagonospora (Septoria) nodorum*.

Media minimal

Sucrose	30	g
NaNO ₃	2	g
KCl	0,5	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,01	g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01	g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,0025	g
K ₂ HPO ₄	1	g
Agar	15	g
Air	1	L

Bahan tambahan untuk melengkapi media

Asam Bacto casamino	20	g
Peptone	20	g
Yeast extract	20	g
Adenine (dilarutkan dalam 1 N HCl)	3	g
Biotine	0,02	g
Asam Nicotinic	0,02	g
Asam p-aminobenzoic	0,02	g
Pyridoxine	0,02	g
Thiamine	0,02	g
Air	1	L
pH sebelum autoclave	7	

Untuk membuat media menjadi lengkap tambahkan 5 % v/v bahan tambahan dari media minimal.

134. Agar meal soybean. Digunakan untuk menanam dan meningkatkan oospora cendawan *Phytophthora* : giling 15 g kedelai dan tambahkan 1 L air yang mengandung 20 g agar.
135. Kaldu rebusan kedelai (*Soybean*) – sucrose. Digunakan untuk produksi sclerotia *Macrophomina phaseolina* : Rebus 100 g biji kedelai dalam 1 L air ledeng dan saring dengan menggunakan kain katun. Sesuaikan volume filtrate hingga mencapai 1 L dan tambahkan 20 g sucrose.
136. Media SST. Digunakan untuk meningkatkan produksi sclerotia cendawan *Colletotrichum coccodes* : Campur sama bagian (w/w) 2 mm batu pasir, tanah liat yang lembab dan akar tomat dari tanaman tomat yang sudah masak. Autoclave selama 45 menit. Setelah 2 hari, pertahankan kapasitas kelembaban sebesar 80 % dan autoclave kembali selama 15 menit.
137. Media sucrose – asparagine – garam mineral. Digunakan untuk meningkatkan produksi oospora *Phytophthora*.

Sucrose	10	g
L-asparagine	1	g
KH ₂ PO ₄	0,5	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25	g
Thiamine HCl	1	Mg
CaCl ₂ (anhydrous)	0,1	g
Microelement stock solution	1	ml
Air	1	L

Microelement stock solution mengandung per 100 ml :

Na ₂ B ₄ O ₇ .H ₂ O	8,8	Mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	39,3	ug
Fe(SO ₄) ₃ . 9 H ₂ O	91	Mg
MnCl ₂ . 4H ₂ O	7,2	Mg
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	5	Mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	440,3	Mg
EDTA	50	Mg

138. Agar sucrose-peptone. Digunakan untuk penanaman B-strain *Xanthomonas campestris* pv. *Citri*, walau demikian strain A juga dapat tumbuh pada media ini.

Sucrose	1 %
Peptone	0,5 %
K ₂ HPO ₄	0,05 %
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,03 %
Difco purified agar	1,5 %

Agar yang lain dari Difco purified agar tidak dapat mendukung pertumbuhan B strain bakteri.

139. Agar sucrose-peptone. Digunakan untuk sporulasi cendawan *Drechslera* dan *Helminthosporium*

Sucrose	6	g
Proline	2,7	g
K ₂ HPO ₄	1,3	g
KH ₂ PO ₄	1	g
KCl	0,5	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
FeSO ₄	10	mg
ZnSO ₄	2	mg
MnCl ₂	1,6	mg
Agar	20	g
Air	1	L

140. Agar rebusan daun sugarbeet . Digunakan untuk sporulasi cendawan *Cercospora* : Giling dengan baik 300 g daun muda sugarbeet dan tambahkan 1 L air yang mengandung 12 g agar yang dicairkan. Rebus campuran ini selama 5 menit, saring dengan menggunakan kain katun, dan autoclave filtrate selama 15 menit pada suhu 110 – 115 derajat celcius.
141. Agar sugarbeet molasses. Digunakan untuk meningkatkan sporulasi *Cercospora beticola* : Dalam 1 L air tambahkan 150 g sugarbeet molasses dan 15 g agar, kemudian autoclave.
142. Agar teh. Digunakan untuk isolasi, penanaman dan penyimpanan **wood decaying fungi**. Cuci daun the dibawah air ledeng yang mengalir dan simpan dalam keadaan kering. Tambahkan 150 g daun teh kering dan 15 g agar dalam 1 L air ledeng, kemudian di autoclave. Setelah pendinginan, tuang ke dalam cawan Petri untuk isolasi **wood decaying fungi**. Untuk penyimpanan cendawan ini, tambahkan daun teh hingga menjadi 250 g dan distribusikan media ke dalam botol ukur.
143. Agar rebusan daun tembakau. Digunakan untuk meningkatkan sporulasi *Cercospora nicotianae* : Ambil daun berwarna kuning kehijauan dari tempat yang paling rendah tanaman tembakau pada saat pembungaan. Giling 600 g daun dalam 2 L air dan kukus, tanpa tekanan, selama 1 jam. Saring dengan menggunakan kain katun, sesuaikan volume hingga mencapai 2 L dan tambahkan 60 g agar. Kemudian diautoclave.
144. Agar pasta tomat-CaCO₃. Digunakan untuk meningkatkan produksi *Drechslera teres*.

Pasta tomat (30% tomat)	20	g
Agar	13	g
CaCO ₃	3-6	g
Air	1	L

Konsentrasi CaCO₃ yang lebih tinggi akan meningkatkan sporulasi.

145. Agar tryptone – yeast extract. Digunakan untuk penanaman *Xanthomonas campestris* pv. *Citri*

Tryptone	10	g
----------	----	---

K ₂ HPO ₄	5	g
Agar	15	g
Ph	7	g
Yeast extract	10	g
Glucose	5	g
Air	1	L

146. Agar biji gandum – dextrose. Bermanfaat untuk sporulasi *Neovossia indica*.

Biji gandum	200	g
Agar	20	g
Autoclave selama 30 menit		
Dextrose	20	g
Air	1	L

147. Agar juice V-8[®]. Digunakan untuk mendukung pertumbuhan dan meningkatkan sporulasi banyak cendawan : dapat digunakan sebagai ganti PDA. Biasanya formulanya terdiri dari 200 ml juice V-8[®], 3 g CaCO₃ dengan sejumlah agar yang diinginkan dan diencerkan dalam 1 L air dengan pH 7 sampai 7,5, formula ini dapat bervariasi dengan mengganti banyaknya juice atau Ca CO₃ yang digunakan. Juice mengandung jaringan fiber/serat, sehingga media tidak akan tembus cahaya, hal ini dapat diatasi dengan sentrifuge atau filtrasi dengan menggunakan satu atau dua lapis kertas saring.

148. Agar juice V-8[®]- benomyl. Untuk sporulasi *Drechslera graminea*. Sentrifuge 200 ml juice V-8[®], diencerkan dengan 800 ml air yang mengandung 10 mg benomyl. Tambahkan 20 g agar dan autoclave selama tidak lebih dari 10 menit. Derajat keasaman sebelum autoclave 4,5.

149. Agar WFP

Ca (NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0,5	g
Peptone	5	g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,05	g
Na ₂ HPO ₄	0,82	g
Sucrose	20	g
Agar	17	g
Air	1	L

150. Agar wheat straw (jerami gandum). Digunakan untuk pertumbuhan dan sporulasi banyak cendawan : Autoclave 15 g agar dalam air ledeng dan tambahkan beberapa keping wheat straw (jerami gandum) steril.

151. Media pertumbuhan *Xanthomonas campestris* pv. *fragariae*.

Kaldu nutrient	0,8 %	
Yeast extract	0,1%	
FeSO ₄ .H ₂ O	0,001%	

Casein hydrolisate	0,5%	
Glucose	1,0%	
MnSO ₄	0,001%	

152. Agar yam-dextrose. Digunakan sebagai pengganti PDA untuk pekerjaan rutin. Persiapkan bahan seperti mempersiapkan media PDA, tetapi kentang yang biasanya digunakan untuk pembuatan media PDA diganti dengan *Dioscorea dumentorum* atau *D. Rotundata* (yams). Media ini dikatakan siap digunakan, bila terjadi pembentukan warna, dimana warna yang akan terbentuk adalah seperti PDA.

153. Media Yang & Schoultie's. Digunakan untuk meningkatkan produksi zoospora cendawan *Aphanomyces euteiches*.

D-glucose	5,5	g
Glutathionine	0,1	g
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,4	g
K ₂ HPO ₄	0,4	g
DL-asparagine	4	g
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0,02	g
KH ₂ PO ₄	0,7	g
Air	1	L

Sesuaikan pH menjadi 6,4 dengan menggunakan 1 N HCl atau KOH.

154. Agar yeast extract-dextrose.

Yeast extract	7,5	g
Agar	15	g
Dextrose	20	g
Air	1	L

155. Agar Yeast extract-dextrose-Ca CO 3. Digunakan untuk penanaman bakteri.

Yeast extract	10	g
Agar	15	g
Ca CO3	20	g
Air	800	ml

Bahan – bahan diatas di autoclave dan dicampur dengan 200 ml larutan 10 % dextrose yang sudah diautoclave. Dinginkan dalam water bath hingga mencapai suhu 50 derajat celcius. Sebelum penuangan ke dalam cawan Petri, **suspensikan** CaCO 3 ke seluruh media.

156. Agar yeast extract-peptone-glucose. Digunakan untuk penanaman *Phytophthora syringae*.

Yeast extract	1,25	g
Glucose	1,25	g
Agar	20	g
Peptone	1,25	g

CaCl ₂ . H ₂ O	0,0275	g
Air	1	L

Penambahan media dengan 6 ml minyak benih gandum atau 12 ml minyak jagung ditambah 6 ml minyak linseed. Selama pendistribusian ke dalam cawan tetaplah mengocok minyak yang terdapat dalam suspensi tersebut sesering mungkin.

157. Agar yeast extract-potato-peptone-dextrose. Digunakan untuk penanaman *Ustilagoidea virens*. Penambahan PDA dengan 100 mg setiap yeast extract dan peptone.

158. Agar yeast extract-sucrose. Digunakan untuk penanaman *Verticillium agaricum*.

Yeast extract	1	g
Sucrose	20	g
pH	5,8	
Agar	15	g
Air	1	L

159. Media 523. Digunakan untuk penanaman bakteri.

Sucrose	10	g
Yeast extract	4	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,3	g
Casein hydrolysis	8	g
K ₂ HPO ₄	2	g
Air	1	L

MgSO₄ harus dilarutkan secara terpisah dalam 50 ml air dan dicampur dengan media sebelum autoclave. Untuk penanaman *Pseudomonas fluorescent*, tambahkan media yang sudah diautoclave dengan putih telur.

II. MEDIA SELEKTIF DAN SEMI SELEKTIF UNTUK ISOLASI CENDAWAN PATHOGEN

160. Media untuk *Acrocalymna medicaginis*. Media ini bermanfaat sebagai media semi selektif untuk isolasi cendawan dari akar alfalfa. Tambahkan setiap liter PDA yang sudah diautoclave dengan streptomycin dan penicillin masing-masing sebanyak 200 mg, dan polymixin dan triadimerfon masing-masing sebanyak 50 mg.

161. Media selektif I untuk isolasi *Aphanomyces* (MBV). Pada setiap liter air tambahkan 10 g agar Difco Bacto dan 10 g agar Difco tepung jagung. Setelah diautoclave, media didinginkan sebentar hingga masih berbentuk cair (cool molten medium) , lalu tambahkan 30 mg metalaxyl, 5 mg benomyl, dan 200 mg vancomycin sebagai suspensi atau larutan. Media digunakan untuk isolasi *Aphanomyces* dari jaringan tanaman. Media ini mengurangi pertumbuhan *Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* dan beberapa *Pythium* spp. Tetapi beberapa *Pythium* dapat tumbuh. Supaya tidak terjadi kontaminasi *Alternaria*, *Mucor* dan *Rhizopus* maka tambahkan amphotericin B sebanyak 0,5 mg / l.

162. Media selektif II untuk isolasi *Aphanomyces* (MTI). 20 g agar tepung jagung ditambahkan dengan 50 g metalaxyl, 50 mg thiophanate-methyl, 50 mg chloramphenicol dan 5 mg iprodione. Media ini digunakan untuk isolasi *A. Cochlioides* dari bibit sugarbeet, tetapi *A.euteiches* juga dapat tumbuh dengan baik.

163. Media semi selektif untuk isolasi *Armillaria*. Tambahkan malt agar dengan 60 mg/l o – phenylphenol. Media ini bermanfaat untuk mengisolasi cendawan dari akar pohon conifer yang mati. Media ini membatasi kecepatan pertumbuhan Basidiomycotina. Cendawan seperti *Inonotus* (*Polyporus*) *tomentosus* dan *Phellinus* (*Fomus*) pini juga diisolasi pada media ini.

164. Media selektif I untuk isolasi *Aspergillus flavus* (agar sodium chloride-glucose-discloran). Media ini digunakan sebagai media selektif untuk isolasi cendawan dari tanah.

Peptone	5	g
KH ₂ PO ₄	1	g
NaCl	30	g
Glucose	10	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Agar	20	g
Air	1	L

Setelah autoclave dan pendinginan hingga mencapai suhu 50 derajat celsius, tambahkan 50 mg streptomycin, 50 mg chlortetracycline, dan 1 mg dicloran (dilarutkan dalam 2 ml acetone).

165. Media selektif II untuk isolasi *Aspergillus flavus* (agar sucrose-peptone-dicloran). Digunakan untuk isolasi dan **enumerate** *A.flavus* dari tanah.

K ₂ HPO ₄	0,5	g
Peptone	0,5	g
Sucrose	20	g
Streptomycin	50	Mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Yeast extract	0,5	g
Rose Bengal	25	Mg
Agar	17	g
Air	1	L

Setelah autoclave, sesuaikan derajat keasaman menjadi 5,5 dengan menggunakan 1 N HCl atau NaOH. Tambahkan 5 sampai 10 mg dicloran (dilarutkan dalam 3 ml acetone) Tuang ke dalam cawan petri 3-4 hari sebelum digunakan.

166. Media differential *Aspergillus flavus*. Digunakan untuk identifikasi dan **enumeration** *A.flavus* dan beberapa cendawan yang hubungan kekerabatannya dekat. *A.flavus* memproduksi pigment berwarna kuning-orang yang terang, seperti warna kuning pada cadmium. Cendawan tidak dapat bersporulasi pada media ini.

Tryptone	15	g
Ferric chloride	500	Mg
Air	1	L
Yeast extract	10	g
Agar	15	g

Pertumbuhan bakteri dapat diketahui / di cek dengan menambahkan 30 mg/l tetracycline.

167. Media selektif I untuk *Hymenula cerealis* (*Cephalosporium graminearum*) (Agar rebusan daun gandum). Digunakan untuk isolasi cendawan dari tanah. Ambil pelepah daun gandum yang berusia 10 sampai 30 hari. Tempatkan 100 g daun dalam 1 L air , kemudian rebus selama 10 menit dan terkadang diaduk. Filter dengan 2 lapis kain katun (tidak memeras) dan sesuaikan volume hingga mencapai 1 L dengan air. Rebusan bahan-bahan ini dapat digunakan langsung atau disimpan pada suhu – 10° C sebelum digunakan. Tambahkan 20 g/l agar dan autoclave selama 10 menit. Sebelum penuangan media ke dalam cawan petri, tambahkan 0,8 sampai 1,2 g/l CuSO₄.5H₂O. Penambahan 1- 10 mg quitozene tidak diwajibkan.

168. Media selektif II untuk *Hymenula cerealis*. Agar tepung jagung diautoclave dan setelah itu dinginkan hingga mencapai 48 derajat celcius. Sesuaikan derajat keasaman (pH) menjadi 4.0 dengan menggunakan 25 % asam lactic. Tambahkan 0,5 mg dicloran, 1 mg tolclofos-methyl dan 0,5 mg triphenyltin hydroxide per liter media.

169. Media selektif untuk *Phialophara gregata* (*Cephalosporium gregatum*). Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah.

Peptone	5	g
Galactose	5	g
KH ₂ PO ₄	1	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Agar	20	g
Air	1	L
Setelah autoclave sesuaikan pH hingga 5,5 dan tambahkan		
Sodium borate	0,5	G
Quintozene	0,5	G
Sodium cholate	0,5	G
Streptomycin	0,2	G
Tetracycline	0,05	G

170. Media isolasi *Ophiostoma* (*Ceratocystis ulmi*). Media PDA diautoclave kemudian didinginkan sebentar pada pH 4.0, kemudian tambahkan dengan 400 mg/l cycloheximide dan 20 mg/l streptomycin sulfat.

171. Media isolasi *Ophiostoma* (*Ceratocystis ulmi*). Mempersiapkan media PDA dalam 850 ml air. Kemudian diautoclave dan dinginkan hingga mencapai suhu 50 derajat celcius dan tambahkan agen antimicrobial (seperti yang tercantum dibawah ini) yang sudah disuspensikan dalam 150 ml air suling steril. Aduk suspensi selama 30 menit sebelum ditambahkan ke media PDA.

Garam sodium dari asam linoleic	500	Mg
Triphenyltin hydroxide (47,5%WP)	10	Mg
Chloramphenicol	30	Mg
Dicloran (75%WP)	1	Mg
Cycloheximide	200	Mg
Streptomycin	100	Mg

172. Media selektif untuk *Colletotrichum acutatum* f.sp.*pineae*. Digunakan untuk isolasi cendawan dari tanah. Agar tepung jagung (CMA) di autoclave pada pH 5.0, kemudian tambahkan dengan 50 mg/l benomyl, 25 mg/l quintozone, dan chloramphenicol, chlortetracycline HCl dan streptomycin sulfat masing-masing banyaknya 100 mg/l. PDA dapat digunakan sebagai pengganti untuk CMA tetapi jumlah kontaminasi cendawan akan menjadi lebih tinggi.

173. Media isolasi *Colletotrichum coccodes*. Digunakan untuk isolasi dari tanah.

K ₂ HPO ₄	4	G
Extract tanah	25	MI
Agar	17	g
KH ₂ PO ₄	1,5	G
Asam Polygalacturonic	10	G
Air	1	L

Setelah autoclave dan pendinginan medium hingga mencapai suhu 50 derajat celcius, tambahkan benomyl, quintozone, streptomycin sulfat, tetracycline HCl dan chloramphenicol masing-masing sebanyak 100 mg.

174. Media I isolasi *Cylindrocladium*.

Sucrose	10	g
KH ₂ PO ₄	1	g
Oxgall	1	g
Air	1	L
Peptone	15	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Agar	20	g

Setelah media ini diautoclave dan didinginkan, tambahkan media dengan 50 mg streptomycin sulfat, 50 mg chlortetracycline HCl dan 75 mg quintozone.

175 Media II isolasi *Cylindrocladium* (Agar Peptone-dextrose). Digunakan untuk isolasi dari tanah.

Dextrose	20	G
Agar	20	G
Peptone	0,2	G
Air	1	L

Setelah diautoclave, sesuaikan pH menjadi 4.0 dengan menggunakan 20 % asam lactic.

176. Media III selektif *Cylindrocladium*. Digunakan untuk **enumeration** propagule dalam tanah

Glucosa	15	g
KH ₂ PO ₄	1	g
Oxgall	1	g
Extract daun castor	1	L
Yeast extract	0,5	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Agar	15	g

Setelah autoclave tambahkan : 2,4 mg thiabendazol, 112 mg quintozone, 200 mg streptomycin, dan 200 mg chloramphenicol. Untuk mempersiapkan extract daun castor, blender 500 g daun di dalam 1 L air yang mengandung 8,7 g NaCl dan 1,7 asam ascorbic. Saring larutan pekat (slurry) dengan menggunakan kain katun dan sentrifuse filtrat tersebut.

177. Media IV isolasi *Cylindrocladium*. Digunakan sebagai media isolasi cendawan dari jaringan tanaman. Media ini dapat meningkatkan pembentukan sclerotia yang berlebihan, tetapi menekan pembentukan conidia. Cendawan yang paling banyak mengkontaminasi adalah *Aspergillus* dan *Trichoderma*.

Glucosa	100	g
Rose Bengal	0,5	g
Agar Difco Lima bean	23	g
Air	1	L

Setelah autoclave tambahkan aureomycin dan chloramphenicol, masing-masing 0,05 g

178. Media isolasi *Cylindrocladium crotalariae* (Glucose – yeast extract-PNX agar). Digunakan untuk isolasi dari tanah.

Glucosa	15	g
KNO ₃	0,5	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Yeast extract	0,5	g
KH ₂ PO ₄	1	g
Air	1	L

Setelah media di autoclave dan didinginkan hingga mencapai suhu 50 derajat celcius, tambahkan 1 ml Tergitol PNX, 1 g thiabendazole, 100 mg chloramphenicol dan 40 mg chlortetracycline.

179. Media isolasi *Cylindrocladium scoparium* (Agar Czapek-surfactant). Digunakan untuk isolasi dari tanah. Persiapkan media No.38 dengan 25 g/l agar. Kemudian di autoclave dan didinginkan. Sesuaikan pH 3-5 dengan asam lactic dan tambahkan 1 mg/l nonylphenyl polyethyleneglycol ether mengandung 10,5 mol ethylene oxide.

180. Media isolasi I untuk *Drechslera* dalam bentuk *Cochliobolus sativus*. Rebus 25 g kentang yang sudah dikupas dan diiris dalam air hingga lunak. Saring dengan kain katun dan sesuaikan volume hingga mencapai 1 L. Tambahkan 5 g sucrose dan 15 g agar. Kemudian media di autoclave dan setelah pendinginan hingga mencapai 55 derajat celcius, tambahkan 500 mg streptomycin, 300 mg neomycin, 25 g benomyl, 5 mg captan, dan 3 mg dicloran.

181. Media isolasi II untuk *Drechslera* dalam keadaan *Cylindrocladium crotalariae*.

Soluble strach	10	g
K ₂ HPO ₄	1	g
KCl	0,5	g
Agar	15	g
NaNO ₃	3	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
FeSO ₄ .7H ₂ O	50	Mg
Air	1	L

Setelah diautoclave dan didinginkan hingga mencapai suhu 50 derajat celcius, tambahkan 100 mg streptomycin, 20 mg chlortetracycline HCl, 50 mg kanamycin sulfat, 700 mg Rose bengal, 10 mg benomyl, 1mg captafol, dan 3 mg dicloran.

182. Media isolasi *Bipolaris (Drechslera) oryzae*. Agar kentang (PDA tanpa dextrose) diautoclave dan saat media dingin tetapi masih dalam bentuk cair, kemudian tambahkan 15 mg filipin, 200 mg streptomycin sulfat dan 200 mg benomyl pada setiap liter medium.

183. Media deteksi *Bipolaris (Drechslera) oryzae*. Digunakan untuk mendeteksi cendawan ini dan *Trichoconis padwickii* pada benih padi.

Gualacol (o-methoxyphenol)	0,125	G
Agar	5	G
Streptomycin	0,5	G
Air	1	L

184. Media isolasi *Elsinoe fawcettii*. Media PDA diautoclave dan didinginkan sebentar hingga masih berbentuk cair (cool molten medium) , kemudian tambahkan dengan streptomycin sulfat dan tetracycline HCl masing-masing sebanyak 100 mg dan 400 mg dodine.

185. Media I untuk isolasi *Heterobasidion annosum (Fomes annosus)*.

Peptone	5	g
KH ₂ PO ₄	0,5	g
Streptomycin	100	Mg
Ethanol	50	ml
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25	g
Quintozene	190	Mg
Agar	20	g
Air	1	L

Setelah diautoclave dan didinginkan, tambahkan 2 ml dari 50 % asam lactic. Ethanol harus ditambahkan setelah autoclave dan pendinginan.

186. Media II untuk isolasi *Heterobasidion annosum (Fomes annosus)*. Digunakan untuk isolasi cendawan ini dan cendawan pembusuk kayu dari jaringan kayu lainnya. Tambahkan pada setiap liter PDA atau air agar

yang sudah diautoclave, benomyl dan dicloran masing-masing sebanyak 8 mg, dan 50 g phenol. Larutkan phenol pada 50 ml ethanol sebelum ditambahkan ke media. Stok larutan ini dapat disimpan di lemari pendingin (*refrigerator*) selama 2 minggu.

187. Media I untuk isolasi Fusarium (Media filtrat pembiakan Fusarium). Digunakan sebagai media selektif untuk isolasi Fusarium dari tanah.(Pembinaan filtrat dari 1 jenis Fusarium akan menghambat pertumbuhan jenis Fusarium lainnya). Tanam jenis Fusarium yang diuji pada kaldu kentang-dextrose yang sudah diautoclave dan ditumbuhkan pada suhu ruangan. Setelah 2 – 3 minggu, filter biakan dengan menggunakan kain linen. Tambahkan 20 g/l agar dan kemudian diautoclave. Sebelum penuangan ke dalam cawan, tambahkan 300 mg/l streptomycin sulfat.
188. Media selektif II untuk Fusarium. Digunakan sebagai media selektif untuk isolasi dari sisa-sisa tanah, bahan tanaman dan benih.

Glycerine	10	g
L-alanine	0,5	g
Urea	1	g
Quintozene	1	g
Rose bengal	0,5	g
Air	1	L
Agar	15	g

Setelah autoclave tambahkan 500 mg streptomycin.

189. Media selektif III untuk Fusarium. Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** Fusarium dari tanah.

Na NO ₃	2	g
KCl	0,5	g
FeSO ₄	0,01	g
Yeast extract	0,5	g
KH ₂ PO ₄	1	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Sucrosa	30	g
Agar	15	g
Air	1	L

Setelah autoclave, didinginkan hingga media melebur, kemudian tambahkan 60 mg Rose bengal, 100 mg quitozene dan 50 mg streptomycin.

190. Media selektif IV untuk Fusarium. Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** dari tanah.

L-asparagine	2	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
KCl	0,5	g
Air	1	L

D-galactose	20	g
K ₂ HPO ₄	1	g
Fe (EDTA)	5	Mg
Agar	20	g

Setelah diautoclave dan didinginkan hingga mencapai suhu 40 - 50 derajat celcius tambahkan 1 g quintozone, 0, 5 g oxgall, 1 g Na₂B₄O₇. 10H₂O dan 300 mg streptomycin sulfat. Sesuaikan pH menjadi 3,8 – 4.0 dengan asam phosphoric.

191. Media selektif V untuk *Fusarium*. Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** dari tanah.

Peptone	15	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	G
Streptomycin	300	Mg
KH ₂ PO ₄	1	g
Agar	20	g
Quintozone	1	g
Air	1	L

Media tidak perlu diautoclave. Cawan petri yang digunakan untuk pembiakan, dikeringkan pada suhu 100 derajat celcius, tidak perlu disterilisasi. Media dimodifikasi dengan menambahkan 50 mg/l chlortetracycline HCl dan 0,5 g/l oxgall dan mengurangi konsentrasi streptomycin hingga 100 mg/l dan juga quintozone hingga 0,5 g/l.

192. Media selektif mycelium *Fusarium*. Digunakan untuk mendeteksi inokulum mycelial dalam tanah.

NaNO ₃	2	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Fe SO ₄	0,01	g
Agar	20	g
K ₂ HPO ₄	1	g
KCl	0,5	g
Sucrose	30	g
Air	1	L

Setelah autoclave, dinginkan media sebentar, kemudian tambahkan dengan 50 mg malachite green, 50 mg streptomycin sulfat, 50 mg captan, 75 mg dicrystine, 300.000 unit Porcain Penicillin dan 100.000 unit Na Penicillin G.

193. Media isolasi *Fusarium oxysporum*. Digunakan untuk isolasi cendawan dari tanah.

Galactose	10	G
NaNO ₃	2	G
K ₂ S ₂ O ₅	0,3	G
Agar	15	G
KH ₂ PO ₄	1	G

MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	G
Air	1	L
Autoclave selama 20 menit		

194. Media selektif *Fusarium oxysporum* f.sp. *apii* (SBM). Media ini dapat membedakan 4 macam type koloni *Fusarium* pada larutan tanah yang diletakkan di cawan petri setelah masa inkubasi 5 – 6 hari. Koloni *F.oxysporum* f.sp. *apii* race 2 terlihat berwarna cream keputih-putihan, tepi koloni halus (smooth), mycelium padat dan terlihat ramping pada titik tengah. Media ini mempunyai efisiensi 78 sampai 85 %.

L-sorbose	20	G
Bacto agar	20	G
Air	1	L
DL-asparagine	2	G
Chloramphenicol sulfat	0,6	g

Setelah autoclave dan pendinginan hingga mencapai suhu 50 – 55 derajat celcius, tambahkan 120 mg quintozone dan 120 mg dexton.

195. Media untuk **enumeration** *F.oxysporum* f.sp. *cepae*. Media pelengkap no 335, setelah autoclave dan pendinginan hingga mencapai 50 derajat celcius, kemudian ditambahkan 2 mg chlortetracycline HCl, 1 mg thiram, 100 mg dexton dan 100 mg quintozone per liter.

196. Media I untuk **enumeration** *F.oxysporum* f.sp. *melonis*. Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah.

Peptone	15	g
KH ₂ PO ₄	1	g
Rose bengal	35	Mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Agar	25	g
Oxgall	0,5	g
Air	1	L

Setelah autoclave dan pendinginan hingga mencapai 50 derajat celcius, tambahkan 30 mg streptomycin sulfat (dalam larutan) dan 100 tetes larutan aqueous dari Na taurocholate. Sesuaikan pH menjadi 4,7 dengan asam lactic.

197. Media II untuk **enumeration** *F.oxysporum* f.sp. *melonis* (PDA-surfactant). Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah. Tambahkan PDA dengan 500 ug/ml nonyl-phenyl polyethyleneglycol ether, mengandung 10,5 mol ethylene oxide, atau trimethyl nonyl-phenyl polyethyleneglycol ether mengandung 6 mol ethylene oxide.

198. Media *F.oxysporum* f.sp. *pisi*. Digunakan untuk **enumeration** dan isolasi cendawan dari tanah.

Dehydrated trypticase soybroth	30	g
K ₂ HPO ₄	1,5	Mg
Na N ₃	25	Mg
Rose bengal	30	Mg
Agar	15	g
Water	1	L

Sesuaikan pH menjadi 7,6 sebelum autoclave. Setelah autoclave dan pendinginan tambahkan dengan 100 mg quintozone, 30 mg streptomycin sulfat, 100 mg chlortetracycline HCl, dan 100 mg neomycin.

199. Media isolasi *Fusarium solani* var. *Coerulum*. Digunakan untuk isolasi cendawan ini dan *Phoma exigua* var. *Faveata* dari umbi kentang yang sakit.

Sucrose	20	g
KH ₂ HPO ₄	1	g
KCl	0,5	g
Quintozone	0,375	g
Air	1	L
K NO ₃	2	G
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	G
Oxgall	0,5	G
Agar	20	G

Setelah autoclave, tambahkan 70 mg dodine acetate, 600 mg streptomycin dan 50 mg chlortetracycline HCl.

200. Media selektif Laetisaria. Tambahkan pada setiap liter 1, 5 % air agar dengan 100 mg streptomycin, 50 mg chlortetracycline BCl, dan 25 mg thiabendazole dan 5 ml stok larutan yang mengandung 1 g fenol, 320 mg benomyl dan 210 mg dicloran dalam 100 ml (1:1) ethanol dan air.
201. Media selektif I *Macrophomina phaseolina* (PDA-DOPCNB). Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah. Tambahkan setiap liter PDA yang sudah diautoclave dengan 25 mg chlortetracycline HCl, 100 mg streptomycin sulfat, 50 mg dexton, 2 g oxgall dan 100 mg quintozone.
202. Media selektif II *Macrophomina phaseolina* (PDA-DORB). Tambahkan setiap liter PDA yang sudah diautoclave dengan 25 mg chlortetracycline, 100 mg streptomycin sulfat, 50 mg dexton, 1,5 g oxgall, dan 150 mg Rose bengal.
203. Media selektif III *Macrophomina phaseolina* (CCA). Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah dan jaringan tanaman. Panaskan 1 L air hingga mendidih dan tambahkan 10 g rice polish. Rebus selama 5 menit. Filter dengan kain katun. Kemudian pada filtrat tambahkan 20 g

agar dan kemudian di autoclave. Dinginkan media hingga mencapai 50 – 55 derajat celcius dan tambahkan 150 mg chloroneb, 0,25 mg actual mercury dalam bentuk Ceresan Wet[®], 40 mg streptomycin sulfat, dan 60 mg penicillin G. Sesuaikan pH menjadi 6.0.

204. Media selektif IV *Macrophomina phaseolina* (CMRA). : digunakan seperti media diatas. Tambahkan media No.203, dengan 300 mg chloroneb, 7 mg HgCl₂, 90 mg Rose bengal, 40 mg streptomycin dan 60 mg penicillin G. Media ini dimodifikasi dengan menambah konsentrasi chloroneb menjadi 312 mg, HgCl₂ menjadi 8,5 mg, dan Rose bengal menjadi 112 mg. Sesuaikan pH dengan kisaran antara 7,5 – 8. Hasil terbaik diperoleh jika chloroneb dan Rose bengal dilarutkan pertama kali dalam air dingin (*cool water*) yang steril dan HgCl₂ dalam air panas sebelum ditambahkan ke dalam media.
205. Media selektif V *Macrophomina phaseolina* (Media RB). Tambahkan ke dalam media PDA yang sudah diautoclave dan didinginkan sebentar (*cool molten medium*) dengan 100 mg rifampicin, 224 mg metalaxyl, dan 1ml nonxylol (Tergitol NP- 10[®]) per liter.
206. Media selektif Metarhizium. Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah.

Neopeptone	6	g
K ₂ HPO ₄	0,5	g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1	g
Glucosa	10	g
KH ₂ PO ₄	0,5	g
Agar	20	g
Air	1	L

Setelah autoclave tambahkan pada media yang sudah didinginkan sebentar hingga masih berbentuk cair (*cool molten medium*) dengan 200 mg cycloheximide, 200 mg chloramphenicol, 100 mg streptomycin dan 80 mg erythrosin. Sesuaikan pH menjadi 6,5. Hasil yang baik dapat diperoleh jika menggunakan Agar Difco-Bacto[®].

Agar tepung oat ditambahkan dengan 650 mg/l dodine juga merupakan media yang bagus untuk beberapa species Metarhizium.

207. Media selektif untuk *Neovossia indica*

Glucosa	10	G
NaCl	0,05	G
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	G
Glycerine	10	MI
KH ₂ PO ₄	1	G
Yeast extract	5	G

Hematoxylin dapat memperbagus kemampuan selektifitas media ini, tetapi dapat juga tidak perlu digunakan bila hematoxylin tidak tersedia.

Setelah autoclave, tambahkan ke dalam media yang sudah didinginkan sebentar hingga masih berbentuk cair (*cool molten medium*), 5 mg pomaricin, 35 mg quintozone, 10 mg chloramphenicol (dilarutkan dalam 2 ml methanol) dan 50 mg hymexazol.

208. Media selektif untuk *Penicillium digitatum*. Digunakan untuk memperkirakan adanya propagul cendawan pada jeruk yang terdapat dalam keemasan (*citrus packaging plants*). Tambahkan setiap liter PDA dengan neopeptone dan yeast extract masing-masing banyaknya 2 g. Sesuaikan pH menjadi 5,5. Setelah autoclave, tambahkan 100 mg o – phenylanzol, 500 mg quintozone, 100 mg chloramphenicol, dan 100 mg penicillin G. Untuk mendeteksi Strain yang mempunyai daya tahan terhadap fungisida, tambahkan 1 mg carbendazin dan 500 mg sec. butylamine.
209. Media selektif untuk *Phellinus weirii*. Digunakan untuk isolasi cendawan dari jaringan kayu atau akar yang rusak. Tambahkan setiap liter malt agar yang sudah diautoclave dan didinginkan sebentar hingga masih berbentuk cair (*cool molten agar*) dengan 80 mg mycostatin, 100 mg benomyl, 8 mg claforan, dan sesuaikan pH menjadi 2,6 sampai 2,8 dengan menggunakan 1 N HCl.
210. Media selektif untuk *Phoma betae*. Digunakan untuk isolasi *Phoma betae* dari tanah.

K ₂ HPO ₄	4	g
Soil extract	25	ml
Agar	17	g
KH ₂ PO ₄	1,5	g
Sucrose	10	g
Air	1	L

Sesuaikan pH menjadi 7 dengan menggunakan HCl dan kemudian diautoclave. Tambahkan media yang sudah didinginkan sebentar hingga masih dalam bentuk cair dengan 2mg asam boric, streptomycin sulfat, chlortetracycline, dan benomyl masing-masing banyaknya 100 mg.

211. Media semi selektif untuk isolasi *Phoma exigua* var. *Foveolaata*. Digunakan untuk isolasi cendawan dari kentang. Pada setiap liter extract malt agar yang sudah diautoclave dan didinginkan hingga masih berbentuk cair (*cool molten*) (yang terdiri dari 10 g extract malt, 15 g agar, dan 1 L air), tambahkan dengan 10 mg Rose bengal, 40 mg chlorothalonil, 30 mg metalaxyl, 250 mg streptomycin sulfat, 100 mg neomycin sulfat, dan 50 mg tetracycline HCl).
212. Media selektif I untuk isolasi *Phytophthora* (CPARPH) . Digunakan untuk **enumeration** cendawan dari tanah. Tambahkan ke dalam setiap liter agar tepung jagung setelah diautoclave dan didinginkan hingga masih berbentuk cair (*cool molten*) dengan 250 mg ampicillin, 50 mg hymexazol, 100 mg quintozone, 10 mg pimaricin dan 10 mg rifampicin.

213. Media selektif II untuk Phytophthora (CPP Agar). Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah. Tambahkan setiap liter agar tepung jagung dengan 2 mg pimaricin, 100 mg quintozone, 80,000 unit penicillin G dan 370,000 unit polymixin B sulfat. Konsentrasi pimaricin menentukan kualitas media. Sesuaikan pH menjadi 4,6.
214. Media selektif III untuk Phytophthora (P₁₀ VP). Tambahkan ke dalam setiap liter agar tepung jagung setelah diautoclave dan didinginkan hingga masih berbentuk cair (cool molten) dengan 10 mg pimaricin, 200 mg vancomycin, dan 100 mg quintozone. Sesuaikan pH menjadi 6.0 setelah autoclave.
215. Media selektif IV untuk Phytophthora (agar minyak jagung). Media ini fungistatik terhadap Pythium.

KH ₂ PO ₄	1	g
CaSO ₄ .2H ₂ O	0,1	g
Thiamone HCl	0,02	g
Minyak jagung	0,1	ml
Trifon B-1956	0,1	ml
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
DL-threonine	1	g
Sucrose	5	g
Quintozone	0,1	g
Agar	20	g
Air	1	L

Setelah media dasar diautoclave dan didinginkan, tambahkan 2 mg Na pimaricin, 39,200 unit nystatin (larutan pertama dalam dimethyl sulfoxide (DMSO)) untuk konsentrasi akhir 0,5 % DMSO dalam media, 60 mg chloramphenicol, 60 mg Na penicillin, dan 378, 000 unit polymixin sulfat.

216. Media selektif V untuk *Phytophthora* (media Flower & Hendrik's).

Na NO ₃	2	g
KH ₂ PO ₄	1	g
Sucrose	30	g
Asam gallic	425	Mg
Quintozene	25	Mg
Nystatin	100,000	Unit
Air	1	L
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5	g
Yeast extract	0,5	g
Thiamine HCl	2	Mg
Rose bengal	0,5	Mg
Penicillin G	80,000	Unit
Agar	20	G

Stok larutan thiamine HCl (1 mg/ml) disimpan dalam suhu beku (*frozen*). Stok larutan Rose bengal (1mg/ 1 ml), quintozene (12,5 mg/ml) dan penicillin G (40,000 unit/ml) dibuat sebelum digunakan. Larutan Nystatin dibuat dalam dimethylformamide. Sucrose, Na NO₃, Mg SO₄, yeast extract, thiamine HCl, asam gallic dan Rose bengal dilarutkan dalam sejumlah air dan larutan didistribusikan ke dalam botol ukur yang berukuran 500 ml yang mengandung 10 g agar. Autoclave selama 20 menit. Dinginkan hingga mencapai suhu 45 derajat celcius dalam water bath dan tambahkan quintozene, penicillin, dan nystatin. Sesuaikan pH menjadi 4,5. Campur secara seksama dan tuang ke dalam cawan petri steril.

217. Media selektif VI untuk *Phytophthora* (Media Hendrix & Kuhlman's).

Na NO ₃	2	g
Fe SO ₄	0,01	g
KCl	0,5	g
Yeast extract	0,5	g
Rose bengal	60	Mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05	g
KH ₂ PO ₄	1	g
Sucrose	30	g
Agar	15	g
Air	1	L

Setelah autoclave, tambahkan ke media dasar (pada suhu 45 sampai 50 derajat celcius) dengan 100 mg quintozene, 100,000 unit mycostatin, dan 4,8 mg streptomycin sulfat. Sesuaikan pH menjadi 4,8 dengan asam lactic. Media dasar dapat dipersiapkan sebelumnya dan disimpan dalam ruangan gelap pada suhu ruang. Pada saat digunakan, media tersebut harus dicairkan, didinginkan terlebih dahulu.

218. Media selektif VII untuk *Phytophthora* (Agar McIntosh's).

KH_2PO_4	1	g
$\text{CaSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1	g
DL-thiamine	1	g
Sucrose	20	g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1	g
Thiamine HCl	0,02	g
Mycostatin	10	Mg
Agar	20	g
Air	1	L

Thiamine HCl, DL- threonine, dan mycostatin ditambahkan setelah autoclave. Mycostatin pertama dilarutkan dalam dimethyl sulfoxide (DMSO) dan kemudian ditambahkan ke dalam media yang sudah didinginkan hingga masih berbentuk cair (cool molten) untuk memberikan konsentrasi 10 ug / ml mycostatin dan 0, 5 % DMSO. Media dimodifikasi dengan menambahkan 0,2 g Na taurocholate sebelum autoclave. Setelah autoclave, tambahkan 20 mg benomyl yang dilarutkan dalam 5 ml DMSO.

219. Media selektif VIII untuk *Phytophthora* (media McCains). Buatlah media dasar yang mengandung 100 ml juice V-8[®], 900 ml air, dan 40 g agar. Kemudian diautoclave dan didinginkan hingga masih berbentuk cair (cool molten), lalu ke dalam media tersebut ditambahkan 100,000 unit nystatin, 10 mg quintozone dan 100 mg vancomycin.

220. Media selektif IX untuk *Phytophthora* (media PCH). Digunakan khususnya untuk *P. Cinnamoni*.

KH_2PO_4	1	g
KCl	0,5	g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,02	g
Yeast extract	0,3	g
Dextrose	15	g
Air	1	L
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5	g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,01	g
Thiamine HCl	1	Mg
NaNO_3	1	g
Agar	20	g
pH	5,2	

Setelah autoclave tambahkan ke dalam media yang sudah didinginkan hingga masih berbentuk cair (cool molten), 5 mg pimaricin, 35 mg quintozone, 10 mg chloramphenicol (dilarutkan dalam 2 ml methanol) dan 50 mg hymexazol.

221. Media selektif X untuk *Phytophthora* (PCNa), khususnya untuk *P. Citrophthora* dan *P. Nicotianae* var. *Parasitica*. Pada media no 215 tambahkan 25 mg benomyl dan mengurangi konsentrasi quintozene menjadi 30 mg, penicillin menjadi 50 mg, polymixin sulfat menjadi 50 mg, chloramphenicol menjadi 30 mg. Jika tanah mengandung *Rhizopus* tambahkan 30 mg Rose bengal.
222. Media selektif XI untuk *Phytophthora* (PCNb), khususnya untuk *P. Citrophthora* dan *P. Nicotianae* var. *Parasitica*. Media No. 223 dimodifikasi dengan mengurangi konsentrasi agen antimicrobial yaitu benomyl menjadi 25 mg, quintozene menjadi 30 mg, rifampicin menjadi 10 mg, ampicilin menjadi 180 mg, dan hymexazol menjadi 25 mg. Jika tanah mengandung *Rhizopus* tambahkan 30 mg Rose bengal. Agen antimicrobial dapat juga digunakan untuk Media No. 214.
223. Media selektif XII untuk *Phytophthora* (agar - PDA hymexazol). Persiapkan media dengan 1% agar dan autoclave. Untuk PDA yang sudah didinginkan hingga masih berbentuk cair (cool-molten), tambahkan benomyl, nystatin, quintozene, rifampicin, ampicillin, dan hymexazol pada konsentrasi 10,25,25,10,500, dan 25 sampai ug/ml. Larutkan atau suspensikan dengan baik agen antimicrobial dalam 80 % ethanol sebagai stok larutan. Pada saat akan digunakan media dilarutkan dengan air suling steril dalam volume yang sesuai untuk memberikan 10 x konsentrasi dalam media akhir (*final medium*). Nystatin mengandung 2000 unit/mg.
224. Media selektif XIII untuk *Phytophthora*. Tambahkan setiap liter PDA dengan 200 mg benomyl, 20 mg hymexazol, 50,000 unit mycostatin, 20 mg quintozene, 5 mg pimarinic, 200 mg vancomycin, dan 10 mg rifampicin. Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** *P. Drechsleri* f.sp. canjani.
225. Media selektif XIV untuk *Phytophthora* (P₅ VPP-BH). Digunakan untuk media selektif *P.capsici*. Media agar tepung jagung diautoclave dan di kondisikan dalam suasana asam (*acidified*) pada pH 3,8 dengan menggunakan 1 N HCl . Kemudian tambahkan dengan 5 mg pimarinic, 200 mg vancomycin, 100 mg quintozene, 100 mg penicillin G, 2,5 mg benomyl dan 20 mg hymexazol.
226. Media selektif XV untuk *Phytophthora* (PVPH). Tambahkan setiap liter dari media No. 214 dengan 50 mg hymexazol.
227. Media selektif XVI untuk *Phytophthora* (SV-8M). Pada 1 l air tambahkan juice V-8[®], dan 18 g agar. Kemudian diautoclave dan didinginkan hingga mencapai 50 derajat celcius, tambahkan 20 mg pimarinic, 75 mg vancomycin, 150 mg ampicillin, dan 50 mg quintozene.
228. Media selektif XVII untuk *Phytophthora* (VBHPR). Digunakan untuk deteksi *P.cactorum* dengan larutan tanah atau **apple cotyledone baits**. Pada 1 l air tambahkan 10 ml juice V-8[®] (difilter) dan 15 g agar. Kemudian di autoclave dan didinginkan hingga mencapai 50 derajat celcius. Tambahkan 10 mg benomyl, 5 mg hymexazol, 5 mg pimarinic dan 25 mg rifampicin. Kebanyakan koloni *P.cactorum* berasal dari oospora. Media

tidak bermanfaat jika populasi cendawan rendah dan *Pythium* mempunyai daya tahan yang tinggi terhadap hymexazol.

229. Media selektif XVIII untuk *Phytophthora* (VYS/PBNRH). Digunakan untuk isolasi *P. Sojae* dari tanah menggunakan daun kedelai **bait**. Pada 1 l air tambahkan 40 ml juice V-8[@] (difilter dan dinetralisasi dengan 0,6 g Ca CO₃, lalu diautoclave), 0,2 g yeast extract, 1.0 g sucrose, 10 mg cholestrol (dilarutkan dalam 2 ml N, N-dimethylformamide), 27 mg quintozone (75% WP), 20 mg benomyl (50% WP), 120 mg neomycin sulfat, 29 mg hymexazol (70% WP) dan 20 g agar. Setelah autoclave tambahkan 9 mg rifampicin dilarutkan dalam 5 ml ethanol atau 4 ml acetone. Media didistribusikan ke dalam cawan petri, kemudian disimpan dalam ruangan gelap dan digunakan dalam 2 sampai 3 minggu.

230. Media isolasi untuk *Pyrenochaeta*

Na NO ₃	3	G
Sorbose	5	G
Chloramphenicol	250	Mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	1	G
Agar	20	G
Air	1	L

231. Media selektif I untuk *Pythium* (BQSB). Digunakan untuk isolasi *P.ultimum* dari bibit ketimun **bait**. Pada 1 L air tambahkan 30 g malt extract dan 30 g agar. Setelah autoclave tambahkan 5 mg benomyl, 1.0 quintozone, dan 200 mg streptomycin sulfat.
232. Media selektif II untuk *Pythium* (Agar CVP). Digunakan untuk isolasi cendawan dari tanah. Media agar tepung jagung di autoclave dan didinginkan hingga mencapai suhu 50 derajat celcius, tambahkan dalam setiap liter agar tepung jagung tersebut 5 mg pimaricin dan 300 mg vancomycin.
233. Media selektif III untuk *Pythium* (CPRbB). Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** *P.aphanidermatum* dari tanah. Tambahkan setiap liter agar tepung jagung yang sudah diautoclave dan didinginkan hingga masih berbentuk cair (cool molten) dengan 100 mg pimaricin, 200 mg streptomycin, 150 mg Rose bengal, dan 5 mg benomyl.
234. Media selektif IV untuk *Pythium* (Media Etaconazol). Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah. Tambahkan setiap liter 2% Difco[@] PDA, 300 mg sodium ampicilin dan 17 mg etaconazol.

235. Media selektif V untuk *Pythium* (Media mircetich). Digunakan untuk isolasi cendawan.

Agar	23	G
Sucrose	20	G
Cu	0,02	Mg
Mn	0,02	Mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	10	Mg
Thiamine HCl	100	Ug
Pimaricin	5	Mg
Vancomycin	300	Mg
Agar tepung jagung komersial	17	G
Zn	1	mg
Mo	0,02	mg
Fe	0,02	mg
Ca Cl ₂	10	mg
Rose Bengal	10	mg
Quintozene	100	mg
Air	1	L

Pimaricin, vancomycin, quintozene, dan Rose bengal dipersiapkan sebagai stok larutan atau suspensi dan ditambahkan setelah autoclave. CaCl₂ juga ditambahkan setelah autoclave. Media didistribusikan ke dalam cawan petri dan harus disimpan dalam ruang gelap.

236. Media selektif VI untuk *Pythium* (Media MRA). Digunakan untuk isolasi cendawan dari tanah.

KH ₂ PO ₄	30	Mg
MgSO ₄ .7H ₂ O	20	Mg
Mn Cl ₂	2,68	Mg
Fe Cl ₂	0,1	Mg
Sucrose	410	Mg
Thiamine HCl	40	Mg
K ₂ H PO ₄	30	Mg
Ca Cl ₂	0,56	Mg
Zn Cl ₂	1,67	Mg
Garam Disodium dari EDTA	11,6	Mg
L-asparagine	120	Mg
Agar	20	G
Air	1	L

Setelah media diautoclave selama 30 menit, didinginkan hingga masih berbentuk cair (cool molten media), kemudian ditambahkan endomycin dan chloromycetin masing-masing sebanyak 5 mg.

237. Media selektif VII untuk *Pythium*. Digunakan untuk isolasi *P.zingiberum* dari tanah.

KH ₂ PO ₄	1	g
Peptone	5.0	g
Starch	9.0	g
Ph	6.0	
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.5	g
L – asparagin	0.25	g
Air	1	L

Media ini dapat disimpan pada 4 derajat celcius dan digunakan dalam 1 bulan. Pada waktu penggunaan, cairkan media ini 32 kali dan tambahkan 20 ug/ml Rose Bengal dan 2 % agar. Setelah autoclave, dinginkan hingga mencapai 50 derajat celcius, kemudian tambahkan 20 ug benomyl, 80 ug pimarin, 100 ug streptomycin sulphate dan 100 ug vancomycin untuk setiap ml media.

238. Media selektif VIII untuk *Pythium* (Media PVP). Pada 1 l air tambahkan 17 g tepung agar jagung Difco dan kemudian autoclave. Kemudian media didinginkan sebentar hingga masih dalam keadaan cair (cool molten medium). Setelah itu tambahkan 300 mg vancomycin, 130 mg quintozone (75%WP), dan 5 mg pimarin. Vancomycin dapat diganti dengan agrimycin (100 sampai 200 ug/ml).

239. Media IX (semi selektif) untuk *Pythium* (Media SA-PNBC)

Sucrose	2.5	g
KH ₂ PO ₄	0.15	g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.1	g
Thiamine HCl	2	mg
Quintozone (75% WP)	27	mg
Nemomycin sulfat	100	mg
ZnSO ₄ 7H ₂ O	4.4	mg
MnCl ₂ 4H ₂ O	0.07	mg
Agar	20	g
Asparagin	0.27	g
K ₂ HPO ₄	0.15	g
CaCl ₂ 2H ₂ O	80	mg
Asam ascorbic	10	mg
Benomyl (50% WP)	20	mg
Chloromycetin	10	mg
FeSO ₄ 7H ₂ O	1	mg
Cholestrol (dalam N,N dimethyl fornamide)	10	mg
Air	1	L

240. Media selektif X untuk *Pythium* (Media Vaartaza's). Digunakan untuk isolasi cendawan dari tanah.

Sucrose	2	g
K ₂ HPO ₄	0.7	g
CaCO ₃	0.5	g
Yeast extract	0.2	g
KNO ₃	1	g
Agar	20	g
Air	1	L

Setelah autoclave dan pendinginan, tambahkan 120 mg pimaricin, 30 mg streptomycin sulfat dan 70 mg quintozene.

241. Media selektif XI (Media VP 3) untuk *Pythium*. Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah

Agar Tepung jagung (commercial maize)	17	g
CaCl ₂	10	mg
ZnCl ₂	1	mg
MoO ₃	0.02	mg
Fe SO ₄ 7H ₂ O	0.02	mg
Air	990	ml
Sucrose	20	g
MgSO ₄ 7H ₂ O	10	Mg
CuSO ₄ 7H ₂ O	0.02	Mg
MnCl ₂	0.02	Mg
Thiamine HCl	100	Ug
Agar	23	g

Media diletakkan ke dalam botol ukur, kemudian diautoclave selama 30 menit. Campur 75 mg quitozene, 50 mg penicillin, 5 mg pimaricin dan 2,5 mg Rose Bengal dalam 5 ml air steril dan tambahkan ke media dasar. Campur dengan baik. Kemudian dituangkan ke cawan petri lalu harus disimpan di dalam ruangan gelap dan lamanya tidak lebih dari 36 jam.

242. Media selektif I untuk *Rhizoctonia solani*. Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah.

K ₂ HPO ₄	1	g
KCl	0.5	g
NaNO ₂	0.2	g
Agar	20	g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.5	g
FeSO ₄ 7H ₂ O	10	Mg
Asam gallic	0.4	g
Air	1	L

Setelah media diautoclave, tambahkan ke dalam media yang mengandung 90 mg fenaminosulf, 50 mg chloramphenicol, dan 50 mg streptomycetes yang sudah di didinginkan sebentar hingga masih dalam keadaan cair (cool molten medium).

243. Media selektif II untuk *R.solani* (Media K-HP). Tambahkan media No. 242, dengan 5 ug/ml prochloraz untuk meningkatkan pertumbuhan isolasi (Type AG-3)
244. Media selektif III (Media GG) untuk *Rhizoctonia solani*. Tambahkan media No. 242, 250 mg / l fosetyl – A1. Semua penghambat mikrobial, termasuk asam gallic harus ditambahkan ke dalam media setelah autoclave dan dalam bentuk stok larutan. Media ini menghambat pertumbuhan *Macrophomina phaseolina*.
245. Media selektif IV (Media KG) untuk *Rhizoctonia solani*. Tambahkan media No. 244 dengan 2 sampai 5 mg/l imazalil untuk menghambat pertumbuhan *R.cerealis* dan selektif untuk *R.solani*. Tambahkan media yang sama dengan triadimefon, 2,5 sampai 5 mg / l dan pencycuron 25 sampai 50 mg/l dan selektif untuk *R.cerealis* dan menghambat pertumbuhan *R.solani*.
246. Media selektif V untuk *Rhizoctonia solani* (Media Tichelaar). Tambahkan 1 ml stok larutan yang mengandung 66 ug benomyl, 200 ug aureomycin, dan 210 ug $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ per ml air, untuk setiap 10 ml dari 20 % air agar yang mengandung 0,5 % inulin.
247. Media isolasi IV untuk *Rhizoctonia* (agar ethanol-potassium nitrate). Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** *R.solani*- seperti cendawan dari tanah. Pada 947 ml air, tambahkan 0,2 g KNO_3 dan 30 g agar. Autoclave dan didinginkan hingga mencapai suhu 50 derajat celcius. Lalu tambahkan 53 ml ethanol dan setelah mencampur seluruhnya tambahkan 0,38 ml metalaxyl 2 E, 0,02 ml prochloraz 40 EC, 100 mg tobramycin dan 300 mg streptomycin. Media kurang selektif setelah 15 hari, diharap selalu menggunakan media yang baru dibuat.
248. Media selektif untuk *Sclerotium cepivorum* (agar inulin-quintozene) Digunakan untuk isolasi cendawan dari tanah.

Inulin	12	g
K_2HPO_4	1	g
Sodium ferric diethyl netriamine pentacetate	5	Mg Fe
Na NO_3	3	g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	g
Agar	20	G
Air	1	L

249. Media selektif untuk *Sclerotium rolfsii* (Agar potassium oxalate- gallic acid). Digunakan untuk isolasi *S.rolfsii* dari tanah.

KH ₂ PO ₄	1	g
K NO ₃	2	g
Asam gallic	160	Mg
Stok larutan mikroelemen	10	ml
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.5	g
Thiamine HCl	1	g
Potassium oxalate	10	g
Air	250	ml

Stok larutan mikroelemen yang mengandung 0,1 % FeSO₄ 7H₂ O ; 0,1 % ZnSO₄ 7H₂ O dan 0,06 % MnSO₄ H₂ O. Sesuaikan akhir pH larutan menjadi 4,2 dengan HCl, lalu difilter dan sterilisasi. Kemudian autoclave 20 g agar dalam 750 ml air. Lalu campurkan larutan yang difiltrasi dan disterilisasi tersebut dan tuangkan ke dalam cawan petri.

250. Media deteksi Septoria (Agar TCV). Digunakan untuk mendeteksi cendawan dalam benih. Tambahkan ke dalam 1 l PDA yang sudah diautoclave pada suhu 60 derajat celcius dengan 5 ml larutan yang mengandung 0,2 % thiophanate methyl, 0,17 % chloroneb, 0,02 % vancomycin HCl dan tambahkan 4 tetes Tween 20[@]
251. Media selektif *Talaromyces flavus*. Digunakan untuk isolasi dan enumeration cendawan dari tanah. Autoclave media PDA yang mengandung 0,5 g/l oxgall. Setelah pendinginan sekitar 55 derajat celcius tambahkan setiap liter, 2 ml 50% asam lactic, 100 mg streptomycinesulfat, 50 mg chlortetracycline, 50 mg chloramphenicol, 4 mg pimarcin dan 40 mg (4960 unit / mg) nystatin.
252. Media selektif I *Thielaviopsis basicola* (Media RB-M). Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah.

Glucosa	10	g
Yeast extract	0.5	g
KH ₂ PO ₄	0.5	g
Agar	20	g
Peptone	0.5	g
K ₂ HPO ₄	0.5	g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.5	g
Air	1	L

Setelah autoclave, kemudian media didinginkan sebentar hingga masih dalam keadaan cair (cool molten medium), lalu tambahkan 30 mg streptomycin sulfat, 500 mg quitozene, dan 30 mg nystatin. Media dimodifikasi. Media dasar dapat ditambahkan dengan 50 g Rose bengal, 30 mg nystatin, 600 mg quitozene, dan 30 mg streptomycin.

253. Media selektif II untuk *Thielaviopsis basicola* (media VDVY-quintozene). Digunakan untuk isolasi dan **enumeration** cendawan dari tanah.

Juice V-8 [®]	200	ml
Glucose	2	g
Agar	20	g
CaCO ₃	1	g
Yeast extract	2	g
Air	800	ml

Setelah autoclave, kemudian media didinginkan sebentar hingga masih dalam keadaan cair (cool molten medium), lalu tambahkan 0,5 g quintozene, 1 g oxgall, 30 mg nystatin, 100 mg streptomycin sulfat dan 2 mg chlortetracycline HCl.

254. Media selektif III *Thielaviopsis basicola* (media VDVY- quintozene-dimodifikasi).

Juice V-8 [®]	200	ml
Oxgall	1	g
Yeast extract	2	g
Agar	20	g
Air	200	ml

Dalam 30 ml air yang dipanaskan 50 derajat celcius, campur 1 g quintozene, 50 mg nystatin, 250 mg chlorampenicol, dan 60 mg K penicillin G. Tambahkan ini ke dalam media yang sudah diautoclave dan didinginkan sebentar hingga masih dalam keadaan cair (cool molten medium). Rebusan akar wortel (didalam air dengan volume 970 ml), dipersiapkan dengan mengupas dan mengiris wortel sebanyak 200 g dan masukkan ke dalam 1 l air. Kemudian di autoclave. Bahan ini dapat dijadikan sebagai pengganti untuk Juice V-8[®] dan air.

255. Media selektif IV *Thielaviopsis basicola* (Media TB-CEN). Digunakan untuk enumeration dari tanah. Untuk isolasi dari jaringan tanaman, tempatkan media pada permukaan media dan kemudian tutupi dengan lapisan tipis pada media yang sama. Autoclave 1,5% air agar dan kemudian tambahkan 80 ml extract wortel sebanyak 80 ml yang tidak diautoclave, 400 mg etridiazol, 250,000 unit nystatin, 500 mg streptomycin sulfat, 30 mg chlortetracycline HCl dan 1 g CaCO₃, sesuaikan pH menjadi 5,3. Untuk mempersiapkan extract wortel, blender selama 2 menit 100 g wortel yang dikupas dalam 100 ml air dan saring dengan kain katun.

256. Media selektif I untuk Trichoderma

Glucose	3.0	g
KCl	0.15	g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2	g
Air	1	L
NH ₄ NO ₃	1.0	g
K ₂ HPO ₄	0.9	g
Agar	15	g

257. Media selektif II untuk Trichoderma (TME). Tambahkan 20 g agar ke dalam 500 ml air dan didalam botol lainnya tambahkan 200 ml Juice V-8[®] dan 1 g glucose ke dalam 300 ml air. Setelah autoclave campur keduanya. Setelah mencampur dinginkan sampai 50 derajat celcius, kemudian tambahkan neomycin sulfat, bacitracin, penicillin G dan chloroneb masing-masing sebanyak 100 mg, 20 mg nystatin, 25 mg chlortetracycline HCl, 500 mg sodium propionate dan 10 mg quintozene. Untuk memperkirakan strain yang toleran terhadap benomyl tambahkan 10 mg benomyl.

258. Media selektif I untuk Verticillium (media ethanol). Digunakan untuk isolasi dan enumeration V. Dahliae dari **senescent** tanaman yang terinfeksi juga oleh cendawan lain.

Sukrosa	7.5	g
KCl	0.5	g
K ₂ HPO ₄	1.0	g
Agar	20	g
NaNO ₃	2	g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5	g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.01	g
Air	1	L

Setelah autoclave dan sebelum penuangan ke dalam cawan petri tambahkan ethanol 5 ml, 100 mg streptomycin dan 250 mg chloramphenicol.

259. Media selektif II untuk Verticillium (agar pectate). Digunakan untuk isolasi dan enumeration cendawan dari tanah. Tambahkan secara perlahan 0,5 g sodium polygalacturonate, dan 15 g agar pada 900 ml air suling yang sangat panas, aduk dengan air secara **vigorously**. Kemudian larutan diautoclave. Untuk setiap liter larutan ini, persiapkan larutan berikut ini : 85 ml air tambahkan 1 ml Tergitol-NPX[®], 3 ml 1 M guanidine, 7 ml 1 M KH₂ PO₄ dan 1 ml larutan micronutrient (5 m M MnCl₂ · H₂O, 3 m M ZnCl₂, 0,3 m M H₃ BO₄, 0,25 m M CuCl₂ · H₂O, 0,1 m M NaMoO₄ · H₂O, 0,1 m M CoCl₂ · 6 H₂O). Kemudian larutan diautoclave secara terpisah. Setelah larutan ini diautoclave tambahkan 15 ml larutan steril yang mengandung 0,5 dari biotin 1 %, 0,5 ml dari 2 M MgSO₄ · 7H₂O, 200 mg streptomycin sulfat, dan 2 ml dari 17 m M ferrous citrate. Tambahkan larutan garam ini ke dalam agar pectate yang diautoclave sebelum penuangan ke dalam cawan petri.

260. Media selektif III untuk Verticillium (agar extract tanah)

Extract tanah	25	Ml
K ₂ HPO ₄	4.0	g
Air	1	L
KH ₂ PO ₄	1.5	g
Agar	15	g

Setelah autoclave tambahkan streptomycin, chlortetracycline dan chloramphenicol masing-masing sebanyak 50 mg. Untuk mempersiapkan extract tanah, kukus 1 kg tanah yang diambil dari pertanian masukkan ke dalam air selama 30 menit. Buang air dan kemudian di filter. Tambahkan 2 g/l polygalacturonic asam untuk menambah kualitas media.

261. Media selektif IV untuk Verticillium (agar sorbose)

Sorbose	2	g
Streptomycin	0.1	g
Agar	10	g
Air	1	L

262. Media selektif V untuk Verticillium (media sorbose-asparagine)

L-sorbose	2	g
K ₂ HPO ₄	1	g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0.5	g
Quintozene	1	g
NaB ₄ O ₇ . 10 H ₂ O	0.3	g
Air	1	L
L-asparagine	2	g
KCl	0.5	g
Fe-Na-EDTA	0.01	g
Oxgall	0.5	g
Agar	20	g
pH	5.7	

Pembuatan Pereaksi untuk Metode Molekuler (PCR)

1. Larutan stock

NaCl 0,7 M : ditimbang 4,095 g dalam 100 ml air bidest

CTAB 10 % : ditimbang 10 g dalam 100 ml air bidest

Tris 1 M : ditimbang 12,11 g tris base, dilarutkan dalam 80 ml air bidest ditepatkan sampai pH 8.0 dengan HCl pa lalu dihipitkan sampai volume 100 ml

EDTA 0,5 M : Ditimbang 18,61 g EDTA disodium, dilarutkan dalam 0,7 M NaCl sambil dipanaskan pada 65 derajat celcius, ditempatkan dengan NaOH sampai pH 8.0, lalu dihipitkan sampai volume 100 ml.

NaCl 5 M : ditimbang 29,25 g dalam 100 ml air bidest

Larutan Tris, EDTA dan NaCl disterilisasi dengan autoclave.

2. Larutan buffer extract : NaCl 1,4 M; Tris 100 mM; EDTA 20 Mm dan CTAB 2 %

Contoh : untuk membuat buffer ekstrak sebanyak 25 ml

- NaCl 5 M : 7 ml
- Tris 1 M : 2,5 ml
- EDTA 0,5 M : 1 ml
- CTAB 10 % : 5 ml
- H₂O : 9,5 ml

3. Larutan TE : Tris 10 mM dan EDTA 1 mM

4. Larutan stock TAE 50 X untuk 1 liter

- 242 g Tris base
- 57,1 ml Asam asetat glacial
- 100 ml EDTA 0,5 M pH 8.0

- Buffer untuk membuat reaksi stabil (masukan dalam lampiran)

- Tris – HCl (pH 8, 3) 20 Mm
- MgCl₂ 1,5 mM
- KCl 25 mM
- Tween 20 0,05 %
- Bovine serum albumin 100 ug/ml
- dNTP masing-masing 50 UM
- Tag Polimerase 2 unit