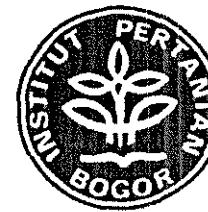


**INVENTARISASI BAKTERI GRAM NEGATIF
YANG TERBAWA BENIH**
DARI BEBERAPA VARIETAS KEDELAI (*Glycine max (L.) Merr.*)

Oleh

JOKO SARWONO

A. 26.1560



**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

1994



RINGKASAN

Joko Sarwono. Inventarisasi Bakteri Gram Negatif yang Terbawa Benih dari Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine max (L.) Merr.*) (dibawah bimbingan Ivonne Oley Sumarauw).

Penelitian ini bertujuan untuk menginventarisasi dan mengidentifikasi bakteri gram negatif yang terbawa benih kedelai melalui isolasi dari beberapa varietas kedelai dan serangkaian pengujian sifat-sifat fisiologisnya.

Isolat bakteri yang didapatkan diuji sifat-sifat fisiologisnya, meliputi uji: gram, pembentukan levan, reaksi oksidase, pembusukan kentang, dehidrolisis arginin, hipersensitivitas, fluoresensi, oksidatif/fermentatif, hidrolisis gelatin, patogenisitas dan virulensi.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa: semua isolat yang dipakai memiliki gram negatif; reaksi positif pada uji pembentukan levan terjadi pada isolat-isolat 2, 5, 7, 18, 20, 23 dan 24; reaksi positif uji fluoresensi terjadi pada isolat-isolat 3, 4 dan 6; reaksi positif uji oksidase terjadi pada isolat-isolat 2, 3, 5, 7, 19, 20, 23 dan 24; semua isolat menunjukkan reaksi negatif pada uji fermentatif; reaksi positif uji pembusukan kentang terjadi pada isolat-isolat 2, 3, 5, 6, 18, 20 dan 23; reaksi positif uji dehidrolisis arginin terjadi pada isolat-isolat 3, 4 dan 5; reaksi hipersensitivitas positif terjadi pada isolat-isolat 4, 5, 6, 7, 18, 19, 20, 23 dan 24; reaksi hidrolisis



gelatin positif terjadi pada semua isolat kecuali isolat 4; reaksi positif uji patogenisitas terjadi pada isolat-isolat 2, 3, 4, 5, 18, 19, 20 23 dan 24; pada uji virulensi, koloni berwarna putih dengan pusat merah terdapat pada isolat-isolat 4, 6, 18, 20, 23 dan 24 sedangkan koloni lain berwarna merah.

Berdasarkan hasil-hasil pengujian sifat-sifat fisiologis, maka bakteri-bakteri yang diduga terbawa benih kedelai adalah: *Pseudomonas fluorescens* biovar IVB, *P. gladioli*, *P. maltophilia*, *P. solanacearum* ras 1, *P. viridiflava* dan *Pseudomonas* sp.



**INVENTARISASI BAKTERI GRAM NEGATIF
YANG TERBAWA BENIH
DARI BERBAGAI VARIETAS KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.)**

@Hek ciptemink ITB University

Oleh

JOKO SARWONO

A 26 1560

Laporan Masalah Khusus sebagai salah satu syarat
untuk mendapat gelar Sarjana Pertanian
pada
Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan
Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

FAKULTAS PERTANIAN

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

1994

IPB University



Judul Laporan : INVENTARISASI BAKTERI GRAM NEGATIF
 YANG TERBAWA BENIH DARI BEBERAPA
 VARIETAS KEDELAI (*Glycine max (L.)*
 Merr.)

Nama Mahasiswa : JOKO SARWONO

Nomor Pokok : A 26 1560

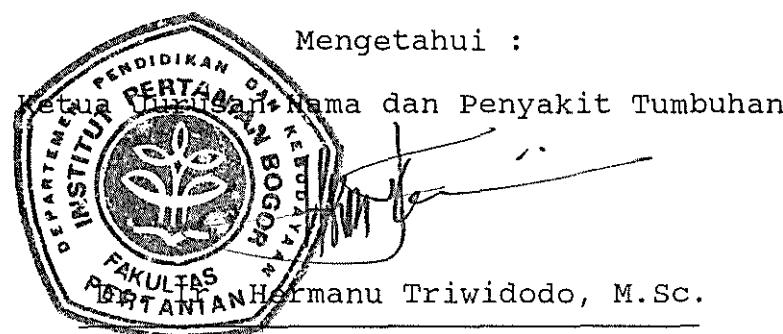
Menyetujui :

Dosen Pembimbing

Ir. Iyonne Oley Sumarauw

NIP. 130533746

Mengetahui :



NIP. 130937091

Tanggal Lulus : 31 Desember 1994

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bogor, Jawa Barat, pada tanggal 17 Maret 1970 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara. Ayah bernama Kodirien Mochamad Kodri dan Ibu Gege Martini.

Penulis lulus dari Sekolah Dasar Negeri III, Dayeuhkolot pada tahun 1983, kemudian lulus dari Sekolah Menengah Pertama Negeri, Baleendah tahun 1986 dan menyelesaikan pendidikan di Sekolah Menengah Atas Negeri V, Bandung tahun 1989.

Pada tahun 1989, penulis diterima sebagai mahasiswa Institut Pertanian Bogor melalui Ujian Masuk Perguruan Tinggi Negeri (UMPTN). Tahun 1990 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian.

Selama menjadi mahasiswa di Institut Pertanian Bogor, penulis pernah menjadi asisten Agama Islam, anggota Badan Perwakilan Mahasiswa (BPM) dan sekertaris bidang umum Senat Mahasiswa Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.



KATA PENGANTAR

Bismillaahirrohmaanirrohiim,

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan kekuatan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan laporan ini.

Laporan berjudul Inventarisasi Bakteri Gram Negatif yang Terbawa Benih dari Berbagai Varietas Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) merupakan hasil penelitian yang telah penulis lakukan.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Ir. Ivonne Oley Sumarauw selaku dosen pembimbing yang telah memberikan banyak pengarahan dan bantuan selama pelaksanaan penelitian sampai penyusunan laporan. Ucapan terima kasih penulis sampaikan pula kepada Dr. M. Machmud, M.Sc., Dr. Ir. Budi Tjahjono, M.Agr., teman-teman serta laboran di Laboratorium Penyakit Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan dan ustaz-us-tadz serta teman-teman santri Ulil Albaab yang telah banyak membantu.

Penulis menyadari tulisan ini masih jauh dari sempurna. Walaupun demikian, mudah-mudahan hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Bogor, Desember 1994

Penulis





DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	4
Tanaman Kedelai	4
Asal dan Penyebaran	4
Benih	4
Beberapa Bakteri Gram negatif Penginfeksi Tumbuhan	6
<i>Xanthomonas campesiris</i> pv. <i>glycines</i> (Nakano) Dye	6
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (Trevisan) Migula	6
<i>Pseudomonas gladioli</i> Severini	6
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	7
<i>Pseudomonas solanacearum</i> (Smith) Smith	7
<i>Pseudomonas syringae</i> van Hill	8
<i>Pseudomonas viridiflava</i>	9
BAHAN DAN METODA	10
Waktu dan Tempat	10
Bahan dan Alat Penelitian	10
Bahan Inokulum	10
Bahan Tanaman	10
Bahan Kimia	11



Alat Penelitian	11
Metoda Penelitian	11
Pengujian Sifat-Sifat Fisiologi	13
Uji Gram	13
Uji Pembentukan Levan	13
Uji Oksidase	13
Uji Pembusukan Kentang	14
Uji Dehidrolisis Arginin	14
Uji Hipersensitivitas	14
Uji Oksidatif/Fermentatif	15
Uji Hidrolisis Gelatin	15
Uji Patogenisitas	15
HASIL DAN PEMBAHASAN	17
Isolasi Bakteri	17
Pengujian Fisiologis Isolat-Isolat Bakteri .	21
Identifikasi Isolat-Isolat Uji	28
KESIMPULAN DAN SARAN	31
Kesimpulan	31
Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	35



DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Hasil Pengujian Fisiologis Isolat-Isolat Bakteri..21	

Halaman dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang memperdagangkan atau memanfaatkan seluruh bagian isi buku tanpa izin penerjemah dan pengarang.
2. Penggunaan buku ini untuk keperluan penelitian, pendidikan, penulisannya harus dengan izin penerjemah dan pengarang.
3. Penggunaan tidak menguntungkan keperluan yang wajar (IPB University).





DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
	Teks
1. Koloni-Koloni Isolat-Isolat Bakteri yang Tumbuh pada SNA. Atas: tampak atas; Bawah: tampak samping	20
2. Reaksi Positif Uji Fluoresensi pada Kings B .	20
3. Hasil Uji Virulensi pada TTC. Atas: tampak atas; Bawah: tampak samping	22
4. Hasil Uji Pembusukan Kentang	23
5. Hasil Uji Hipersensitivitas pada Tembakau . .	23
6. Hasil Uji Arginin Dehidrolisis	25
7. Hasil Uji Oksidatif/Fermentatif (Kondisi anaerob). K= fermentatif; K ⁺ = oksidatif . .	26
8. Hasil Uji Hidrolisis Gelatin . Tabung atas: menghidrolisis gelatin; Tabung bawah: tidak menghidrolisis gelatin	27
9. Hasil Uji Patogenisitas pada Kotiledon Kedelai	28

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) merupakan salah satu tanaman sumber protein yang penting di Indonesia. Sampai saat ini kedelai yang dibudidayakan diduga berasal dari Kedelai liar Cina, Manchuria dan Korea Selatan (Suprapto, 1985).

Biji kedelai di daerah tropika mengandung 30-42% protein dan 18-22% lemak (Hinson dan Hartwig, 1982). Disamping itu kedelai juga mengandung mineral dan beberapa vitamin (B1, B2 dan B6) sehingga cocok sebagai sumber energi dan mineral (Sumarno, 1984).

Kebutuhan akan kedelai dari tahun ke tahun terus meningkat terutama untuk memenuhi kebutuhan industri seperti tahu, tempe, kecap, minyak kedelai dan makanan ternak (Kasryno, Darmawan, Rusastra, Erwidodo dan Rasahan, 1984). Peningkatan kebutuhan tersebut tidak diiringi dengan peningkatan produksi dalam negeri yang seimbang. Untuk mencukupi kekurangannya pemerintah harus mengimpor dari negara lain, yang pada Pelita II telah diimpor rata-rata 82 000 ton kedelai per tahun. Jumlah tersebut pada Pelita III meningkat menjadi rata-rata 322 000 ton per tahun bahkan pada akhir Pelita III, tahun 1983 impor mencapai 503 000 ton (Sihombing, 1984). Tahun 1990 impor meningkat kembali menjadi 541 060 ton (Biro Perencanaan, 1991).

Peningkatan volume impor tersebut disebabkan karena luas panen dan produktivitas yang rendah. Pada tahun 1990 luas panen hanya mencapai 1 334 100 ha dengan produktivitas 1,1 ton/ha (Biro Pusat Statistik, 1992). Produktivitas di negara-negara penghasil kedelai utama seperti Amerika Serikat dan Brasil masing-masing mencapai 2,0 dan 1,8 ton/ha (Kasryno et al., 1984).

Berbagai upaya dilakukan pemerintah untuk meningkatkan produksi kedelai. Dalam usaha meningkatkan produktivitas tersebut tidak sedikit kendala yang harus dihadapi, salah satu diantaranya adalah kehilangan hasil akibat serangan hama dan patogen. Telah diketahui lebih dari 100 macam patogen dapat menimbulkan kerugian secara ekonomis (Sinclair dan Shurtleff, 1982). Kerugian hasil di seluruh dunia dipkirakan mencapai tujuh juta ton pada tahun 1977 (Sudjono, Amir dan Martoatmodjo, 1984).

Di Indonesia beberapa patogen diketahui dapat menyebabkan berbagai bagian tanaman kedelai, sehingga mengakibatkan turunnya kualitas dan kuantitas produksi (Sudjono et al., 1985). Pada tabel lampiran 1 terlihat beberapa penyakit penting pada kedelai.

Hingga saat ini telah dilaporkan tidak kurang dari 10 spesies bakteri patogen pada tanaman kedelai di dunia (Bradbury, 1986). Beberapa diantaranya yang memiliki arti ekonomi penting adalah hawar bakteri (*Pseudomonas syringae*



pv. *glycinea*), pustul bakteri (*Xanthomonas campestris* pv. *glycines*) dan layu (*Pseudomonas solanacearum*). Bakteri dari genus *Pseudomonas* dan *Xanthomonas* seringkali dapat ditularkan oleh benih (seed borne) (Sutakaria, 1985).

Neergaard (1988) mengemukakan bahwa hubungan antara biji dan patogen (termasuk bakteri), dapat berupa: 1) patogen terbawa didalam jaringan benih, 2) patogen terbawa sebagai kontaminan pada permukaan benih dan 3) patogen secara terpisah terbawa bersama benih.

Pemakaian benih sehat merupakan salah satu upaya untuk menekan kerugian yang disebabkan oleh patogen. Karena itu usaha-usaha untuk menghasilkan benih yang sehat (termasuk didalamnya mendeteksi keberadaan patogen-patogen tular benih) perlu terus dikembangkan.

Penelitian ini bertujuan untuk menginventarisasi dan mengidentifikasi bakteri gram negatif yang terbawa dalam benih kedelai.

TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman Kedela

Asal dan Penyebaran

Tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merril) termasuk dalam divisi Spermatophyta, sub divisi Angiospermae, kelas Dikotiledon, ordo Polypetales, famili Leguminosae, sub famili Papilionoideae, genus *Glycine*, sub genus *soja* dan spesies *Glycine max* (Sumarno, 1984). Spesies ini berasal dari kedelai liar (*G. usuriensis* Regel dan Maack) yang ditemukan tumbuh liar di daratan Asia Timur yaitu Cina, Manchuria dan Korea (Sinclair & Shurtleff, 1975; Purseglove, 1979; Hidayat, 1984). Menurut Markley (1950) dari daratan Cina tanaman kedelai menyebar ke Eropa, Asia Tenggara, Afrika dan Amerika Serikat pada tahun 1691. Di Indonesia tanaman kedelai dikenal sekitar tahun 1750 sebagai pakan ternak, pupuk hijau dan pangan manusia.

Benih

Benih bermutu merupakan syarat mutlak untuk keberhasilan usaha tani kedelai. Benih bermutu tinggi, apabila memenuhi persyaratan sebagai berikut: 1) murni dan diketahui nama varietasnya, 2) berdaya kecambah tinggi (minimal 80%), 3) mempunyai vigor yang baik (tumbuh cepat, serempak dan kecambahnya sehat), 4) bersih (tidak tercampur kotoran atau biji tanaman lain), 5) sehat (tidak menularkan

penyakit dan tidak terinfeksi patogen penyebab busuk kecam-bah) dan 6) bernas, tidak keriput, tidak ada bekas gigitan serangga dan telah benar-benar kering (Sumarno dan Widiati, 1984).

Fase benih hingga fase perkecambahan selalu menjadi sasaran serangan berbagai patogen. Hal ini disebabkan karena benih merupakan tempat penyimpanan bahan makanan dan energi yang dapat digunakan oleh berbagai jasad renik untuk keperluan hidupnya (Sutakaria, 1985). Infeksi yang ditimbulkan oleh aktivitas jasad renik, mengakibatkan penurunan mutu bahkan seringkali merusak benih.

Patogen terbawa benih tidak jarang menyebabkan kerugian yang berarti di lapang, contohnya adalah *Xanthomonas phaseoli* pada kacang-kacangan. Patogen ini menginfeksi ke dalam embrio benih (*intraembrio*), dilanjutkan dengan menginfeksi tanaman (yang berasal dari benih tersebut) secara sistemik, selain itu dapat pula menginfeksi di luar embrio (*ekstraembrio*). Pada saat perkecambahan, patogen yang terdapat pada kulit benih atau kotiledon ditularkan ke tanaman muda dengan bantuan angin, percikan air hujan, serangga dan sebagainya serta mengadakan infeksi lokal pada tanaman tersebut (Neergaard, 1988).

Beberapa Bakteri Gram Negatif Penginfeksi Tumbuhan

Xanthomonas campestris pv. *glycines* (Nakano) Dye

Bakteri ini memiliki karakteristik: bergerak dengan satu flagela polar, tunggal dan berukuran $0,5-0,9 \times 1,4-2,3$ um (Sinclair, 1982). Koloni dalam nutrien agar (NA) rata, licin, bulat, kental dan berwarna kuning. Menghidrolisis gelatin, pati dan kasein (Mortensen, 1990).

Inang alaminya adalah *Glycine max*, *Brunnichia cirrhosa* (di Amerika Serikat) dan *Delichos uniflorus* (di India) (Bradbury, 1986).

Pseudomonas fluorescens (Trevisan) Migula

Banyak spesies bakteri yang termasuk dalam *P. fluorescens*. Spesies-spesies bakteri tersebut digolongkan dalam 5 biovar (group), salah satu contohnya adalah *P. fluorescens* biovar IVB dengan karakteristik diperoleh hasil positif pada uji-uji: reaksi oksidase, pembusukan kentang, dehidrolisis arginin dan produksi 2-ketoglukonat; sebaliknya negatif pada uji-uji: pembentukan levan dan hipersensitivitas (Lelliot dan Stead, 1987).

Pseudomonas gladioli Severini

Karakteristik yang dimiliki oleh spesies ini adalah positif untuk reaksi-reaksi: oksidase dan levan, negatif untuk reaksi-reaksi: reduktase nitrat, denitrifikasi dan

dehidrolisis arginin. Tidak menghidroliisis pati tetapi menghidrolisis gelatin, kuning telur dan lipase (Tween 80). Tumbuh pada suhu 4°C dan 41°C (Bradbury, 1986).

Spesies ini mempunyai dua patovar; pertama, *P. gladioli* pv. *alliicola* penyebab busuk hitam pada akar, rizoma atau umbi. Inang alaminya *Allium cepa* dan inang inokulasinya *Daucus carota*, *Iris* sp., *Narcissus tazetta* dan *Tulipa* sp.; kedua, *P. gladioli* pv. *gladioli* penyebab busuk pangkal batang gladioli, bercak daun dan hawar pakis. Inang alami dan inang inokulasinya banyak, diantara inang alaminya adalah *Crocus* sp dan *Freesia hybrida*, sedangkan diantara inang inokulasinya adalah *Gladiolus segetum* dan *Solanum tuberosum* (Bradbury, 1986).

Pseudomonas maltophilia

Ciri-ciri yang dimiliki oleh spesies bakteri ini adalah memiliki lebih dari satu flagela polar, diperoleh hasil negatif pada uji-uji PHB, dehidrolisis arginin, hidrolisis pati, denitrifikasi, inert pada glukosa, asam dari sukrosa dan pemantulan pigmen, sebaliknya diperoleh hasil positif pada uji-uji kovacs oksidase, hidrolisis gelatin, hidrolisis Tween 80 dan oksidatif pada glukosa (Mortensen, 1989).

***Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith**

Karakteristik yang dimiliki spesies ini adalah mengakumulasi PHB, levan tidak dibentuk dari sucrose,



menghidrolisis gelatin, tidak menghidrolisis pati dan aesculin, mereduksi nitrat, menghasilkan banyak gas, tidak tumbuh pada suhu 40C, oksidase positif, tidak menghidrolisis arginin, sedikit atau tidak tumbuh pada kaldu yang mengandung NaCl 2% (Bradbury, 1986).

P. solanacearum merupakan patogen yang penyebarannya cukup luas dan berbahaya bagi pertanaman kedelai di Krasnodar (Rusia) (Podkina, D.V., K.V. Nikitina, K.A. Belekova dan L.T. Andreeva, 1980).

Pseudomonas syringae van Hill

Spesies bakteri ini memiliki sifat-sifat: fluoresen, memiliki lebih dari satu flagela polar, tidak mengakumulasi PHB, mereduksi nitrat menjadi nitrit, tidak menghasilkan pigmen intraseluler dan pikosianin. Menghidrolisis arginin, arbutin, gelatin, lesitin, lipase (Tween 80) dan sebaliknya tidak menghidrolisis pati. Tumbuh pada suhu 4C dan 37C, tidak menghasilkan 2-ketoglukonat dari glukonat, menghasilkan levan dari SNA, menyebabkan reaksi hipersensitivitas pada daun tembakau, diperoleh hasil negatif pada uji uji oksidase dan pembusukan kentang (Bradbury, 1986).

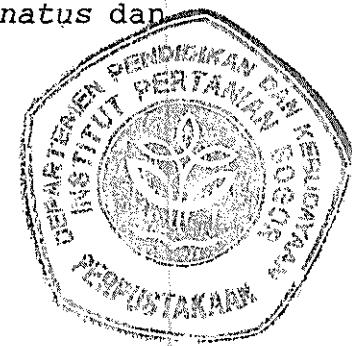
Spesies ini memiliki banyak patovar, diantaranya adalah *P. syringae* pv. *glycinea* dan *P. syringae* pv. *savastanoi*.

P. syringae pv. *glycinea* memiliki sifat-sifat yang sama dengan spesiesnya, namun tidak menghidrolisis gelatin atau arbutin. Gejala penyakit yang ditimbulkan pada daun adalah bercak kecil yang meluas dan menjadi coklat. Gejala semacam ini dapat juga terjadi pada kotiledon, petiola, batang dan polong. Inang alaminya adalah *Glycine max* dan kemungkinan *Phaseolus lunatus* dan inang inokulasinya adalah *Phaseolus* sp., *Vigna angularis* dan *P. vulgaris* (Bradbury, 1986).

***Pseudomonas viridiflava* (Burkholder) Dowson**

Sifat-sifat yang dimiliki spesies ini adalah menghasilkan reaksi positif untuk uji-uji pembentukan kentang dan hipersensitivitas, sebaliknya negatif dalam uji-uji reaksi oksidase, pembentukan levan, dehidrolisis arginin, produksi 2-ketoglukonat, reaksi kuning telur, reduksi nitrat dan produksi asam dari sukrosa (Lelliot dan Stead, 1987); menghidrolisis gelatin dan sebaliknya tidak menghidrolisis pati (Bradbury, 1986).

Patogen ini menyebabkan bercak nekrotik pada ranting dan buah serta busuk pada pangkal batang dan akar. Inang alaminya antara lain: *Capsicum annuum*, *Cucumis sativa*, *Lycopersicon esculentum*, *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum* dan famili Brassiceae; sedangkan untuk inang inokulasinya antara lain *Allium cepa*, *Glycine max*, *Phaseolus lunatus* dan *Zea mays* (Bradbury, 1986).





BAHAN DAN METODA

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan dari bulan Februari 1994 hingga akhir Agustus 1994 di laboratorium bakteri Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan Inokulum

Isolat bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil isolasi dari benih berbagai varietas kedelai yaitu Krakatau, Cikurai, Wilis, Malabar, Lumajang Bewok, Tampomas dan Tidar (berasal dari Balai Penelitian Tanaman Pangan Bogor) serta Orba (berasal dari Balai Penelitian Tanaman Pangan Sukamandi, Subang). Karakteristik masing-masing varietas tersebut terlihat pada lampiran 2.

Bahan Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tembakau yang dipakai untuk uji hipersensitivitas, kotiledon kedelai untuk uji patogenisitas dan umbi kentang untuk uji pembusukan kentang.

Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan sebagai medium untuk mengisolasi, menumbuhkan dan menguji adalah sebagai berikut: medium semiselektif *Xanthomonas phaseoli* (MXP), nutrient agar (NA), sucrose nutrient agar (SNA), kings B, oksidatif/fermentatif, L-arginin, hidrolisis gelatin, dan tripheyl tetrazolium clorida (TTC). Bahan kimia lain yang digunakan adalah larutan KOH 3% dan larutan tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride 1%, NaCl, NaOCl dan lain-lain (Lampiran 3).

Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, timbangan, tabung reaksi, labu takar, labu erlenmeyer, jarum ose, pipet, gelas ukur, alat suntik, mikroskop, autoklaf, pembakar bunsen/spiritus, penangas air, ruang isolasi, kertas pH meter, plastik, mikropipet dan mikrofilter.

Metoda Penelitian

Sebelum dilakukan perendaman, biji kedelai (setiap varietas) sebanyak 5000 butir direndam dalam larutan NaOCl 0,5% selama 10 menit, kemudian larutan NaOCl dibuang dan biji dicuci dengan air steril. Setelah itu biji ditempatkan dalam plastik yang berisi 250 mL air steril dan diinkubasikan selama 24 jam.



Suspensi bakteri (yang berasal dari air rendaman) sebanyak 1,0 mL dipindahkan ke tabung gelas yang berisi 9,0 mL NaCl, selanjutnya dipindahkan lagi dari satu tabung ke tabung lainnya yang merupakan rangkaian pengenceran $1, 10^{-1}$, 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} .

Suspensi bakteri dari tabung pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} masing-masing diambil 0,1 mL, kemudian dituangkan pada cawan petri yang berisi medium MXP (masing-masing dua ulangan). Selanjutnya suspensi tersebut diratakan sampai tidak terasa licin/sampai kering. Penggoresan dilakukan dari pengenceran terendah sehingga tidak perlu mencelupkan batang gelas perata kedalam alkohol berkali-kali. Biakan diinkubasikan pada suhu kamar hingga muncul koloni-koloni bakteri.

Berbagai macam koloni bakteri yang muncul dibiarkan beberapa lama untuk mengetahui bakteri patogenik dan kontaminan. Mortensen (1989) menyebutkan bakteri (misal Pseudomonas) patogen tanaman memiliki karakteristik diantaranya berwarna putih atau kuning dan berbentuk cembung atau rai-sed. Bakteri-bakteri yang diduga patogenik dikelompokkan berdasarkan kesamaan sifat-sifat (terutama warna). Kemandian dari masing-masing sifat dan varietas, diambil satu koloni yang mewakilinya untuk dibiakkan dan dimurnikan pada medium NA, SNA dan kings B.

Untuk mengidentifikasi isolat-isolat bakteri tersebut digunakan uji-uji berikut: gram, pembentukan levan, oksidase, pembusukan kentang, fluoresensi, oksidatif/fermentatif, dehidrolisis arginin, hipersensitivitas, hidrolisis gelatin, pembiakan pada medium TTC dan patogenisitas.

Pengujian Sifat-Sifat Fisiologi

Uji Gram. Biakan bakteri (satu lup inoculasi) dilepaskan diatas gelas objek dan dicampur dengan beberapa tetes larutan KOH 3%, kemudian diaduk (tidak lebih dari 10 detik) hingga merata. Setelah itu lup diangkat beberapa cm dari gelas objek. Apabila campuran tersebut turut terangkat, maka bakteri tersebut adalah gram negatif (Mortensen, 1989).

Uji Pembentukan Levan. Uji dilakukan untuk melihat pembentukan enzim levan sukrase. Bakteri pembentuk enzim levan sukrase akan memperlihatkan ciri-ciri koloni transparan sampai buram, mengkilat, mukoid atau berlendir dan berbentuk cembung. Untuk melihat enzim levan sukrase, bakteri ditumbuhkan pada medium SNA kemudian diinkubasikan selama dua hari (Kerr, 1980; Fahy dan Hayward, 1983).

Uji Oksidase. Inokulum bakteri berumur 24 jam digoreskan pada kertas saring yang sebelumnya dibasahi cairan tetramethyl-p- phenylene diamine dihydrochloride. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu dalam

10 detik, positif lemah bila perubahan terjadi dalam waktu 10-60 detik dan negatif bila tidak terjadi perubahan warna sesudah 60 detik (Schaad, 1988).

Uji Pembusukan Kentang. Umbi kentang bersih didisinfeksi dengan dicelupkan dalam alkohol dan dilewatkan pada nyala api secara singkat, kemudian dipotong-potong secara aseptik, diletakkan pada gelas objek yang dialasi kertas saring steril basah didalam cawan petri. Setelah itu, isolat bakteri (berumur 24 jam) digoreskan pada permukaan atasnya, kemudian diinkubasikan dalam ruangan gelap pada 25°C selama 24 jam. Reaksi positif ditunjukkan dengan busuknya bagian yang digores (Mortensen, 1989).

Uji Dehidrolisis Arginin. Isolat bakteri ditanam pada kultur uji medium Thornley, ditutup dengan minyak mineral atau vaseline steril dan diinkubasikan selama tiga hari pada suhu 27°C. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna medium menjadi merah (Mortensen, 1989).

Uji Hipersensitivitas. Suspensi bakteri (berasal dari kultur murni berumur 24-28 jam) disuntikkan ke bagian mesofil daun sehingga terlihat aliran suspensi membasahi jaringan daun. Reaksi positif terlihat dari jaringan yang diinokulasi layu dengan cepat dan kebasahan (dalam 24 jam), mengering (dalam 48 jam) dan munculnya gejala nekrotik coklat terang (setelah 3 hari) (Mortensen, 1989).

Uji Oksidatif/Fermentatif. Isolat bakteri ditanam pada dua tabung medium oksidatif/fermentatif. Salah satu tabung ditutup dengan parafin dan diinkubasikan selama tiga hari. Reaksi oksidatif ditunjukkan dengan dihasilkannya warna kuning hanya pada tabung yang tidak ditutup parafin, sedangkan apabila pada kedua tabung dihasilkan warna kuning maka reaksinya adalah fermentatif (Lelliot dan Stead, 1987)

Uji Hidrolisis Gelatin. Isolat bakteri ditanam pada kultur uji medium gelatin dan diinkubasikan. Setiap dua sampai tiga hari diperiksa pencairannya dalam medium. Periksa dilakukan dengan memasukkan tabung kultur uji dan kontrolnya kedalam ruangan yang bersuhu 5C selama 30 menit. Reaksi positif ditandai dengan cairnya kultur uji (Mortensen, 1989).

Uji Patogenisitas. Benih kedelai dicuci dengan air bersih, direndam dalam larutan NaOCl 0,5% selama lima menit, setelah itu dicuci dengan air steril, kemudian benih-benih tersebut dikecambahkan dengan meletakkannya didalam gulungan kertas merang yang salah satu ujungnya terendam air. Suspensi bakteri (berasal dari kultur berumur 24-48 jam) disuntikkan ke kotiledon (yang dipetik dari kecambah kedelai) hingga terlihat cairan suspensi meresap dalam jaringan kotiledon. Kotiledon tersebut kemudian diinkubasikan dengan cara meletakkan pada gelas objek yang dialasi kertas saring steril basah didalam cawan petri dan diamati

perubahan-perubahannya. Reaksi positif ditandai dengan gejala klorotik pada kotiledon. Uji ini merupakan modifikasi dari teknik bioesei patogenisitas *Xanthomonas xampestris* pv. *glycines* yang dilakukan oleh I. Hwang, S.M. Lim dan P.D. Shaw (1992) pada kotiledon kedelai. Pengujian Hwang et al. (1992) tersebut menyebabkan kotiledon menguning dan menghasilkan pustul-pustul pada bagian yang dilukai.



HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakter

Semula penelitian ini ditujukan untuk mendeteksi eksistensi bakteri patogen *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* pada berbagai varietas benih kedelai dengan menggunakan medium MXP. Medium MXP ini merupakan medium semiselektif untuk bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Mortensen, 1989). Penggunaan medium MXP (yang didalamnya terkandung pati) memungkinkan bakteri penghidrolisis pati langsung terdeteksi yaitu apabila terdapat area jernih disekitar koloni bakteri yang berwarna kuning. *X. campestris* pv. *glycines* merupakan bakteri penghidrolisis pati (Bradbury, 1986).

Isolasi dengan metoda cawan tuang pada medium MXP tidak diperoleh koloni bakteri dengan area jernih di sekitar lingnya. Hal ini berarti bakteri *X. campestris* pv *glycines* tidak diperoleh, namun tidak berarti pada benih-benih kedelai yang diuji tidak terdapat bakteri patogen tersebut.

Ada dua faktor yang mungkin menjadi penyebab: pertama, di negara asal medium ini dibuat, pemakaian antibiotik untuk menekan pertumbuhan bakteri sudah merupakan hal yang biasa, sehingga dosis antibiotik yang digunakan senantiasa disesuaikan dengan resistensi bakteri. Di Indonesia penggunaan antibiotik untuk bakteri masih jarang, sehingga bilamana aturan dosis antibiotik diterapkan di Indonesia



justru menyebabkan bakteri yang dikehendaki tidak dapat tumbuh; kedua, medium MXP yang digunakan pada penelitian ini merupakan modifikasi dari medium MXP yang sebenarnya. Hal ini terjadi karena tidak ditemukan antibiotik dalam bentuk murni, melainkan dalam bentuk campuran dengan unsur-unsur lain. Kemungkinan unsur-unsur tersebut yang berperan dalam menekan pertumbuhan *X. campestris* pv. *glycine* pada varietas kedelai yang diuji dan menstimulasi pertumbuhan bakteri-bakteri lain. Ketidakberhasilan tersebut ditunjang dengan tidak adanya antibiotik kasugamycin.

Isolasi dan penggoresan pada medium MXP menghasilkan koloni-koloni bakteri yang berwarna putih dan kuning dengan derajat putih dan kuning yang berbeda-beda. *Pseudomonas* patogenik berwarna putih atau kuning dan berbentuk cembung atau *raised* (Mortensen, 1989). Setelah didiamkan beberapa hari terdapat koloni-koloni yang berubah bentuk menjadi datar bahkan ada yang cekung dan warnanya semakin memudar. Bakteri yang memiliki karakteristik demikian dianggap sebagai kontaminan dan tidak disertakan dalam pengujian-pengujian selanjutnya.

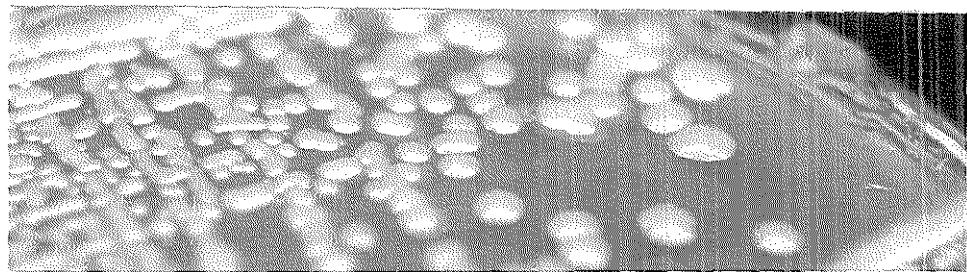
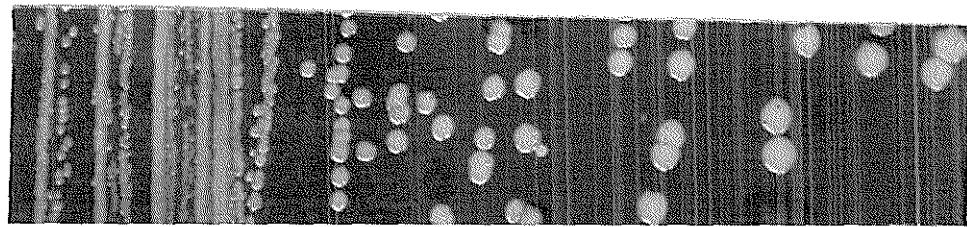
Koloni-koloni bakteri yang diuji adalah yang memiliki karakteristik yang stabil setelah didiamkan beberapa lama. Dari syarat ini diperoleh 24 isolat bakteri. Melalui pemeriksaan reaksi gram dengan KOH 3% menunjukkan bahwa hanya 11 isolat yang bersifat gram negatif, yaitu:



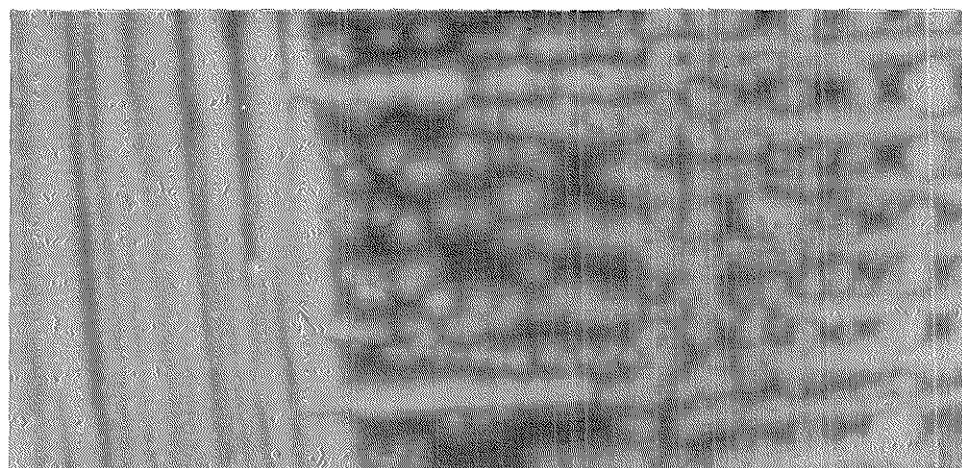
isolat 2 (berasal dari varietas Krakatau)
isolat 3 (berasal dari varietas Cikurai)
isolat 4 (berasal dari varietas Cikurai)
isolat 5 (berasal dari varietas Cikurai)
isolat 6 (berasal dari varietas Wilis)
isolat 7 (berasal dari varietas Wilis)
isolat 18 (berasal dari varietas Lumajang Bewok)
isolat 19 (berasal dari varietas Lumajang Bewok)
isolat 20 (berasal dari varietas Tampomas)
isolat 23 (berasal dari varietas Cikurai)
isolat 24 (berasal dari varietas Cikurai)

Reaksi gram tersebut ditandai dengan terbentuknya slime (campuran kental) yang mengikuti lup inokulasi jika lup inokulasi diangkat-angkat ke atas. Isolat-isolat tersebut dari medium MXP dipindahkan ke medium lain yaitu SNA, NA dan kings B.

Isolat-isolat 2, 3, 7, 18, 20, 23 dan 24 pada medium SNA, NA dan kings B menunjukkan karakter yang sama yaitu cembung, bersinar, berlendir dan berwarna putih (Gambar 1), sedangkan isolat 3, 4, 6 dan 19 pada medium NA dan levan berwarna putih buram, berlendir dan datar sedangkan pada kings B isolat 3, 4 dan 6 berwarna kuning kehijauan, berlendir dan datar (Gambar 2).



Gambar 1. Koloni-Koloni Isolat-Isolat Bakteri yang Tumbuh pada SNA. Atas: tampak atas; Bawah: tampak samping



Gambar 2. Reaksi Positif Uji Fluoresensi pada Kings B



Pengujian Fisiologis Isolat-Isolat Bakteri

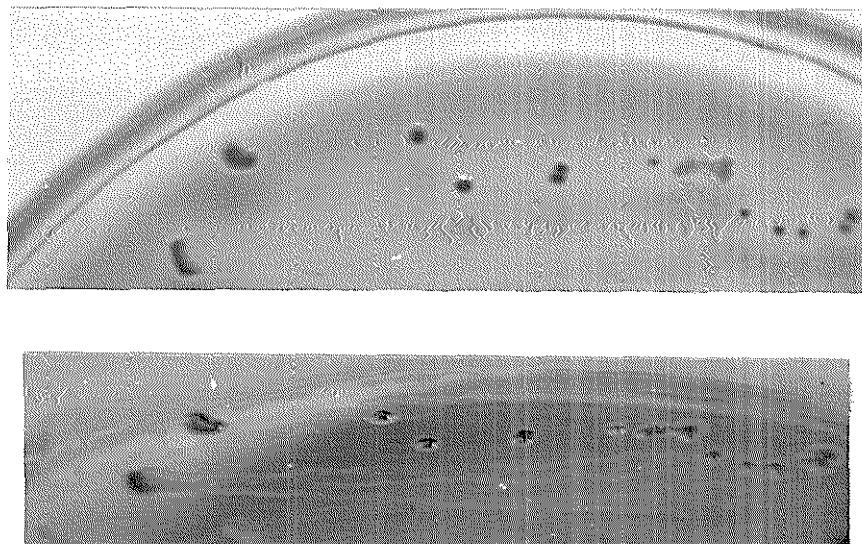
Tabel 1. Hasil Pengujian Fisiologis Isolat-Isolat Bakteri

Isolat Uji	2	3	4	5	6	7	18	19	20	23	24
Gram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Levan	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+
Reaksi Oksidase	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
Pembusukan Kentang	+	++	-	++	++	-	++	-	++	++	-
Dehidrolisis arginin	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Hipersensitivitas	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fluoresensi	-	+	+	-	+	-	-		-	-	-
Oksidatif/Fermentatif (O/F)	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Hidrolisis gelatin	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Patogenitas	+	+	+	+	-	-	+	++	+	++	++
Virulensi (TTC)			+		+		+		+	+	+
Spesies Dugaan	B	A	P	P	E	D	C	D	B	B	D

keterangan: A= *P. fluorescens* biovar IVB; B= *P. gladioli*; C= *P. maltophilia*; D= *P. solanacearum* ras 1; E= *P. viridiflava*; P= *Pseudomonas* sp.

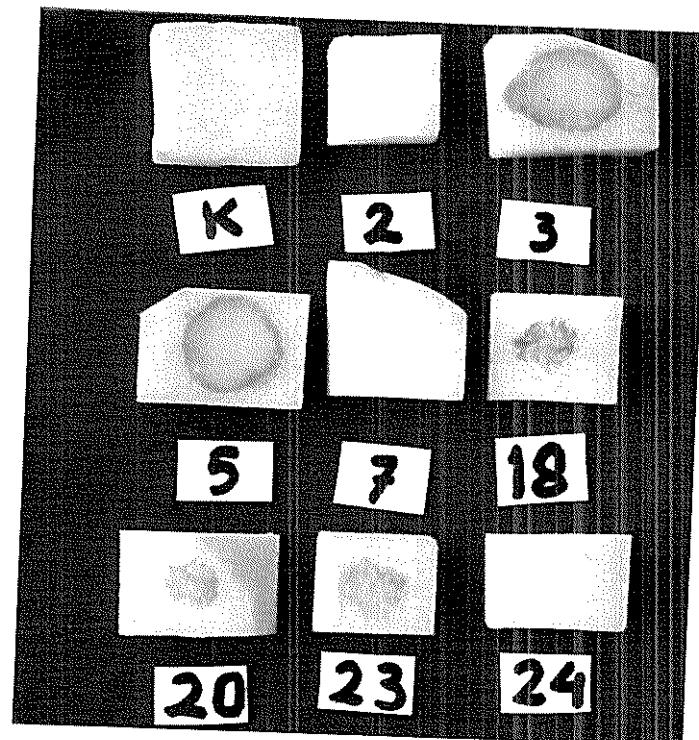
Pada medium TTC, koloni virulen *P. solanacearum* berwarna putih dengan pusat merah sedangkan koloni yang

avirulen berwarna merah datar dengan tepi kebiruan; sebaliknya untuk *P. syringae* pv. *phaseolicola*, koloni virulen berwarna merah dan avirulen berwarna putih (Lelliot dan Stead, 1987). Hasil pengujian pada medium TTC, koloni-koloni isolat-isolat 4, 6, 18, 20, 23 dan 24 berwarna putih dengan pusat merah (gambar 3) dan koloni-koloni lainnya berwarna merah.

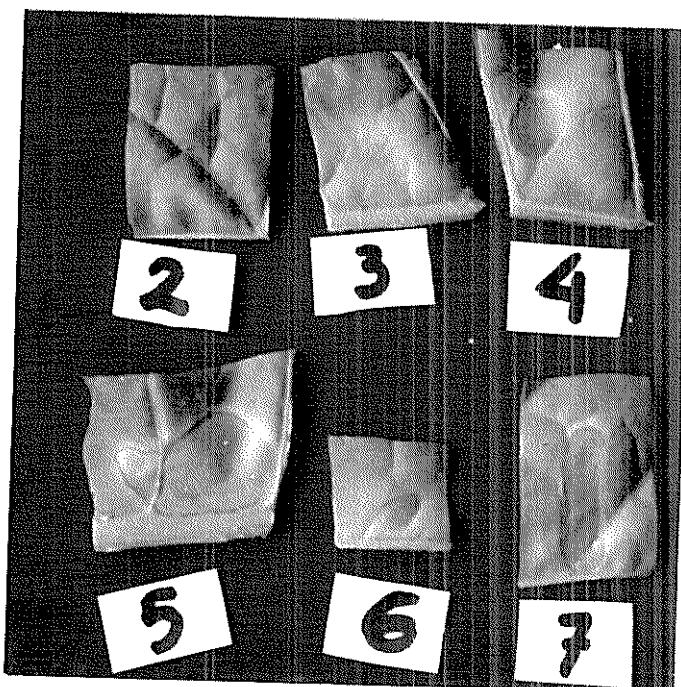


Gambar 3. Hasil Uji Virulensi pada TTC. Atas: tampak atas; Bawah: tampak samping

Inokulasi isolat-isolat pada potongan kentang steril untuk melihat kecepatan pembusukan yang terjadi menunjukkan hasil yang bervariasi mulai dari tidak mengadakan pembusukan (isolat 4, 7 dan 24), lambat (isolat 2), sedang (isolat 6, 18, 20 dan 23) dan cepat (isolat 3 dan 5) (gambar 4)



Gambar 4. Hasil Uji Pembusukan Kentang



Gambar 5. Hasil Uji Hipersensitivitas pada Tembakau

Hasil uji hipersensitivitas (Gambar 5) pada daun tembakau berupa gejala nekrotik terjadi lebih lama dari waktu yang dinyatakan oleh Mortensen (1989). Nekrotik terjadi 4-10 hari setelah penyuntikan. Beberapa faktor yang diduga menyebabkan lebih lamanya gejala hipersensitivitas muncul adalah faktor intern (virulensi) dari isolat yang dinokulasikan, faktor lingkungan (suhu dan kelembaban) dan faktor tanaman.

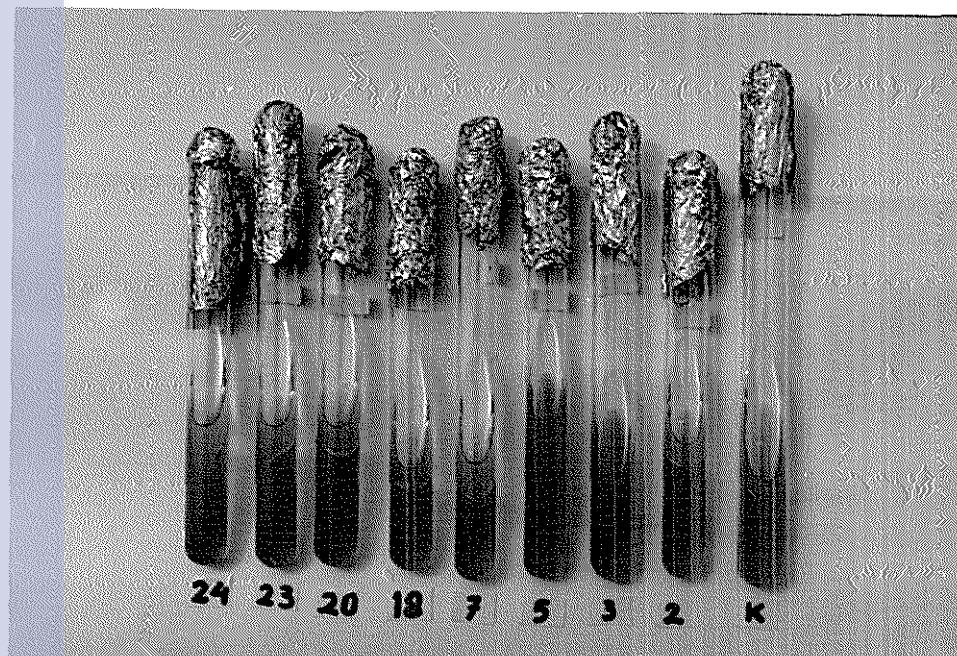
Pengujian fluoresensi (Gambar 2) pada medium kings B, isolat 3, 4 dan 6 menunjukkan reaksi positif yaitu memantulkan warna hijau bila terkena sinar ultra violet. Hal ini disebabkan bakteri yang diuji menghasilkan pigmen fluoresens. Ada beberapa jenis bakteri yang menghasilkan pigmen fluoresens dan mampu memantulkan warna hijau mengkilat apabila terkena sinar ultra violet (Sastrahidayat,-).

Uji pembentukan levan (Gambar 1) menunjukkan hasil positif pada isolat 2, 5, 7, 18, 19, 20, 23 dan 24. Bakteri-bakteri yang ditumbuhkan pada medium SNA dan menghasilkan enzim levan sukrase akan menunjukkan karakter koloni transparan sampai buram, berbahaya, berlendir dengan bentuk cembung jelas pada koloni berumur muda dan kehilangan kecembungan serta mencair jika koloni berumur lanjut (Fahy dan Hayward, 1983). Isolat-isolat yang positif pada uji ini menunjukkan karakter warna putih, cembung, bersinar dan



berlendir. Karakter ini akibat aktivitas enzim levan sukrase yang dihasilkan isolat bakteri.

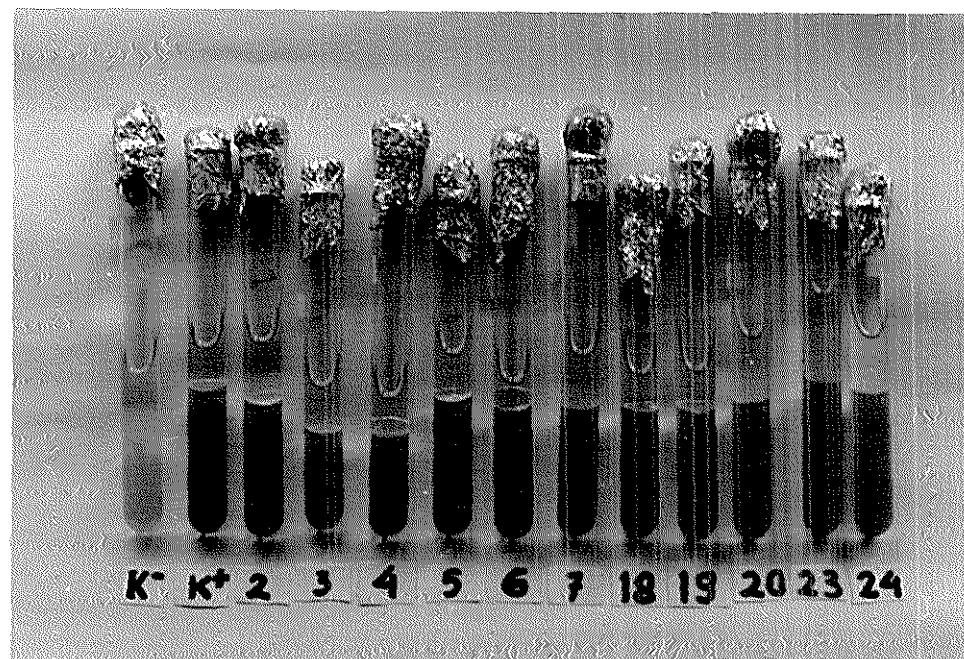
Uji arginin dehidrolisis adalah uji untuk melihat produksi amoniak dari arginin karena aktivitas enzim arginin dehidrolase pada kondisi anaerobik (Damayanti, 1991); terjadi perubahan kondisi menjadi alkalin pada medium uji (perubahan warna medium dari jingga menjadi merah). Hasil pengujian arginin dehidrolisis menunjukkan hasil positif pada isolat 3, 4 dan 5, jadi pada isolat-isolat tersebut amoniak diproduksi pada kondisi anaerob (Gambar 6).



Gambar 6. Hasil Uji Arginin Dehidrolisis



Pada uji oksidatif/fermentatif, semua isolat menunjukkan reaksi positif pada uji oksidatif dan negatif pada fermentatif. Hasil ini menunjukkan bahwa untuk pertumbuhan dan perkembangannya semua isolat bakteri memerlukan oksigen, dengan kata lain semua isolat bakteri tergolong bakteri aerobik (Gambar 7).

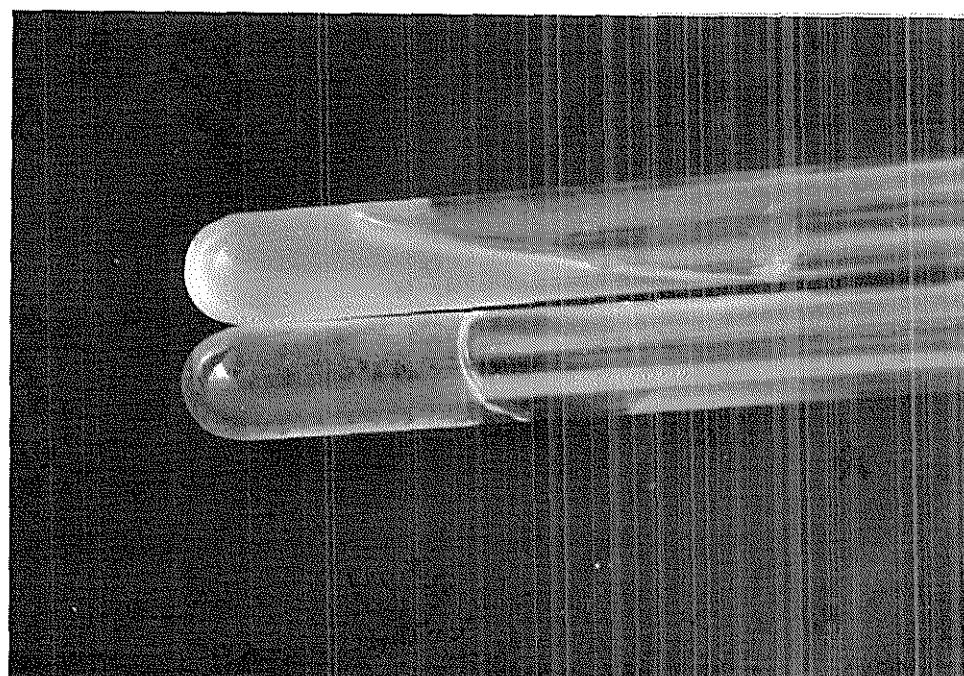


Gambar 7. Hasil Uji Oksidatif/Fermentatif (kondisi anaerob). K^- = fermentatif; K^+ = oksidatif

Uji oksidase positif ditunjukkan oleh isolat 2, 3, 5, 7, 19, 20, 23 dan 24, yaitu dengan terbentuknya warna ungu pada bekas goresan patogen di kertas saring yang sebelumnya ditetesi cairan tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride.

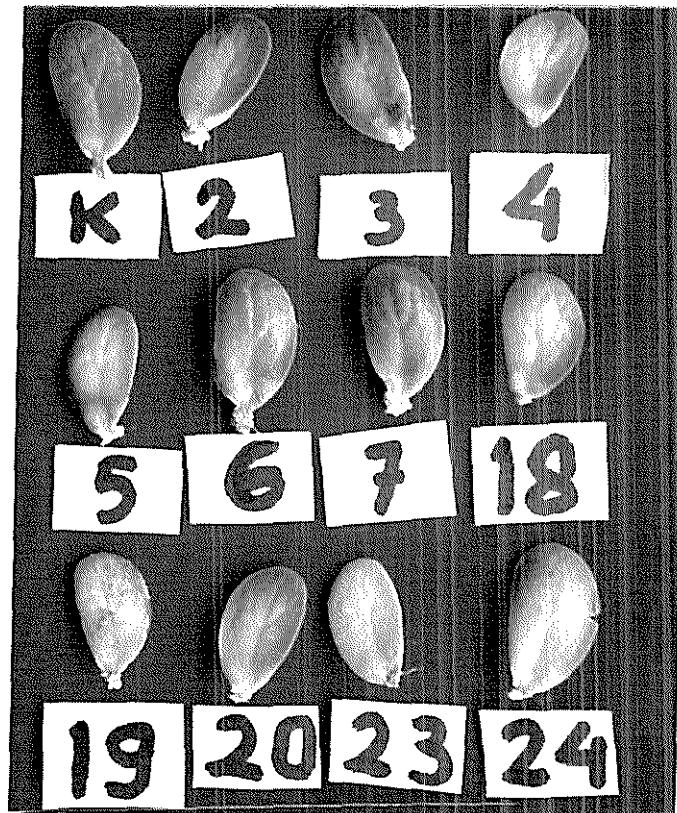


Pada uji hidrolisis gelatin (Gambar 8), semua isolat bakteri menunjukkan reaksi positif kecuali isolat 4. Reaksi positif terlihat ketika setelah isolat-isolat tersebut dimasukkan ke dalam freezer selama 30 menit kemudian dilepaskan, hasilnya isolat 4 dan kontrol membeku dan isolat lain cair.



Gambar 8. Hasil Uji Hidrolisis Gelatin. Tabung atas: menghidrolisis gelatin; Tabung bawah: tidak menghidrolisis gelatin

Pada uji patogenisitas, isolat-isolat 2, ,3, 4, 5, 18, 19, 20, 23 dan 24 menunjukkan reaksi positif yaitu dengan munculnya gejala klorotik (menguning) pada kotiledon 16 hari setelah perlakuan (Gambar 9).



Gambar 9. Hasil Uji Patogenisitas pada Kotiledon Kedelai

Identifikasi Isolat-Isolat Uji

Berikut ini adalah spesies-spesies dugaan dari isolat-isolat uji yang disesuaikan dengan bakteri-bakteri yang menyerang tumbuhan (Lampiran 4), menurut Bradbury (1986), Lelliot dan Stead (1987), Schaad (1988) dan Mortensen (1989):



Isolat 2 diduga adalah *P. gladioli*, karakteristiknya: gram negatif, membentuk levan, membentuk warna ungu pada uji oksidase, tidak menghasilkan enzim arginin dehidrolase pada kondisi anaerob, tidak fluoresen, oksidatif dan menghidrolisis gelatin.

Isolat 3, diduga *P. fluorescens* biovar IVB dengan sifat-sifat: gram negatif, tidak membentuk levan, terbentuk warna ungu pada uji oksidase, membusukkan kentang, menghasilkan enzim arginin dehidrolase pada kondisi anaerob, menimbulkan gejala nekrotik pada daun tembakau, fluoresen, oksidatif dan menghidrolisis gelatin.

Isolat 4 adalah *Pseudomonas* sp., ciri-cirinya: gram negatif, koloni berwarna putih, fluoresen dan oksidatif, menimbulkan gejala nekrotik pada daun tembakau dan tidak membusukkan kentang.

Isolat 5 adalah *Pseudomonas* sp., karakteristiknya: gram negatif, koloni berwarna putih, tidak fluoresen dan oksidatif, menimbulkan gejala nekrotik pada daun tembakau dan membusukkan kentang.

Isolat 6, diduga *P. viridiflava* dengan ciri-ciri: gram negatif, tidak membentuk levan, tidak terbentuk warna ungu pada uji oksidase, membusukkan kentang, tidak menghasilkan enzim arginin dehidrolase pada kondisi anaerob, fluoresen, menimbulkan gejala nekrotik pada daun tembakau dan oksidatif.



Isolat 7, diduga *P. solanacearum* ras 1 dengan sifat-sifat: gram negatif, terbentuk warna ungu pada uji oksidase, tidak menghasilkan enzim arginin dehidrolase pada kondisi anaerob, menimbulkan gejala nekrotik pada daun tembakau, tidak fluoresen, oksidatif dan menghidrolisis gelatin.

Isolat 18, diduga *P. maltophilia* dengan ciri-ciri: gram negatif, tidak membentuk warna ungu pada uji oksidase, tidak membentuk enzim arginin dehidrolase pada kondisi anaerob dan menghidrolisis gelatin.

Isolat 19, diduga *P. solanacearum* ras 1 dengan karakteristik: gram negatif, tidak membentuk levan, tidak terbentuk warna ungu pada uji oksidase, tidak menghasilkan enzim arginin dehidrolase pada kondisi anaerob, menghasilkan gejala nekrotik pada daun tembakau, oksidatif dan menghidrolisis gelatin.

Isolat 20 dan 23, diduga *P. gladioli* dengan ciri-ciri: gram negatif, membentuk levan, terbentuk warna ungu pada uji oksidase, tidak menghasilkan enzim arginin dehidrolase pada kondisi anaerob, oksidatif dan menghidrolisis gelatin.

Isolat 24, diduga *P. solanacearum* ras 1 dengan sifat-sifat: gram negatif, terbentuk warna ungu pada uji oksidase, tidak menghasilkan enzim arginin dehidrolase pada kondisi anaerob, menghasilkan gejala nekrotik pada daun tembakau dan menghidrolisis gelatin.



KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Bakteri-bakteri patogen yang diperoleh dari berbagai varietas kedelai pada penelitian ini diduga: *P. fluorescens* biovar IVB, *P. gladioli*, *P. maltophilia*, *P. solanacearum* ras 1, *P. viridiflava* dan *Pseudomonas* sp.

Uji patogenisitas bakteri dengan teknik bioseleksi kotiledon, dapat juga diterapkan pada bakteri dari genus *Pseudomonas*.

Saran

Untuk lebih meyakinkan bahwa kedelai merupakan inang dari spesies-spesies bakteri yang diperoleh pada penelitian ini, maka perlu penelitian lanjutan tentang inokulasi si lang spesies-spesies bakteri tersebut dari inang asalnya ke kedelai.



DAFTAR PUSTAKA

- Biro Perencanaan. 1991. Statistik Ekspor-Impor Hasil-Hasil Pertanian 1969-1990. Departemen Pertanian. Indonesia. 123 p.
- Biro Pusat Statistik. 1992. Survey Pertanian Produksi Tanaman Padi dan Palawija di Indonesia. Jakarta. 224 p.
- Bradbury, J.F. 1986. Guide to Plant Pathogenic Bacteria. C.A.B. International Mycological Institut. Ferry Lane, Kew, Surrey, England. 332 p.
- Damayanti, T.A. 1991. Identifikasi dan Uji Patogenisitas Bakteri Penyebab Hawar Daun Tanaman Jahe (*Zingiber officinale* ROSC.) Asal Bogor pada Klon Jahe Putih Besar, Jahe Kuning dan Jahe Merah. Skripsi. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. 55 p.
- Fahy, P.C. and Hayward, A.C. 1983. Media and Methods for Isolation and Diagnostic Test. dalam P.C. Fahy and Persley, G.J. 1983. Academic Press. 393 p.
- Hinson, K dan Hartwig. 1982. Soybean Production in The Tropics. Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome. 222 p.
- Hwang, I., S.M. Lim and P.D. Shaw. 1992. Use of Detached Soybean Cotyledons for Testing Pathogenicity of *Xanthomonas campestris* pv. *glycines*. dalam Plant Disease 76 (2): 182-183
- Kasryono, F., D.H. Darmawan, I.W. Rusastro, Erwidodo dan C. Anwar. 1984. Pemasaran Kedelai di Indonesia. dalam S. Somaatmadja, et al. 1993. Kedelai. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor. 509 p.
- Kerr, A. 1980. Media and Method for Plant Bacteriology. dalam Plant Protection. Australian Vice-Chancellors Committee. 438 p.
- Lelliot, R.A. and Stead, D.E. 1987. Methods for The Diagnostic of Bacterial Disease of Plants. Blackwell Scientific Publications. Oxford, London, Edinburgh, Palo Alto, Melbourne. 215 p.

- Markley, K.S. 1950. Soybean and Soybean Production. Interscience Insect. McGraw-Hill Book Inc., New York. 1078 p.
- Mortensen, C.N. 1989. Seed Bacteriology Laboratory Guide. Danish Goverment Institute of Seed Pathology for Developing Countries. Ryvangs Alle 78. DK-2900 Hellerup. Copenhagen. Denmark. 100 p.
- Mortensen, C.N. 1990. Selected Bacterial Diseases of Soybean, Mungbean and Rice and Seed Health Testing Methods. Danish Goverment Institute of Seed Pathology for Developing Countries. Ryvangs Alle 78. DK-2900 Hellerup. Copenhagen. Denmark. 31 p.
- Neergaard, P. 1988. Seed Pathology Volume I. The Macmillan Press Ltd. Hounds Mills, Basingstoke, Hampshire RG 21 2XS and London. 839 p.
- Podkina, D.V., K.V. Nikitina, K.A. Belekova and L.T. Andreeva. 1980. Bacterial Diseases of Soybean in The Krasnodar Region. dalam Soyabean Abstract Dec. 1986 IV (2): 271
- Purseglove, J.W. 1979. Tropical Crops Dicotyledons. Longman. London. 719 p.
- Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. 1993. Deskripsi Varietas Unggul Palawija (Jagung, Sorgum, Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian) 1918-1992. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian. Jakarta. 155 p.
- Sastrahidayat, I.R. Tanpa Tahun. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Usaha Nasional Surabaya. 366 p.
- Schaad, N.W. 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 2nd Edition. APS Press. The American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota. 164 p.
- Sihombing, D.A. 1984. Prospek dan Kendala Pengembangan Kedelai di Indonesia. dalam S. Somaatmadja, et al. 1993. Kedelai. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor. 509 p.



- Sinclair, J.B. and M.C. Shurtleff. 1975. Compendium of Soybean Diseases. The American Phytopathological Society. Inc. 69 p.
- Sudjono, M.S., M. Amir dan R. Martoatmodjo. 1984. Penyakit Kedelai dan Penanggulangannya. dalam S. Somaatmadja, et al. 1993. Kedelai. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor. 509 p.
- Sumarno dan Widiati. 1984. Produksi dan Teknologi Benih Kedelai.
- Sumarno, M. 1984. Kedelai dan Cara Budidayanya. CV Yasa Guna, Jakarta. 45 p.
- Suprapto, H.S. 1985. Bertanam Kedelai. Penebar Swadaya. Jakarta. 74 p.





Hak Cipta diinting. Dilarang melanggar.

1. Dilarang menyebarkan atau memberikan kepada orang lain tanpa menggunakan sumbernya.

2. Penggunaan hanya internal kesatuan penelitian, antarinstansi, penulis dan para ahli, penyebarluasan kepada wewenang kritis atau resmi.

3. Dilarang menggunakan tanpa mendapat izin dari IPB University.

LAMPIRAN



Lampiran 1. Penyakit Kedelai di Indonesia

Tabel 1. Penyakit Kedelai di Indonesia

	Penyakit	Patogen
Cendawan	Antraknosa	<i>Colletotrichum dematium</i>
	Karat	<i>Phakopsora pachyrhizi</i>
	Busuk arang	<i>Macrophomina phaseolina</i>
	Bercak coklat	<i>Septoria glycines</i>
	Busuk akar dan batang	<i>Rhizoctonia solani</i>
	Bercak batang dan polong	<i>Phomopsis sojae</i>
Bakteri	Hawar	<i>P. syringae</i> pv. <i>glycinea</i>
	Pustul	<i>X. campestris</i> pv. <i>glycinus</i>
	Busuk benih	<i>Bacillus subtilis</i>
	Layu	<i>P. solanacearum</i>
Virus	Mosaik	<i>Soybean mosaic virus</i>
	Belang	<i>Peanut mottle virus</i>
	Mosaik kuning	<i>Bean yellow mosaic virus</i>
	Kerdil	<i>Soybean stunt virus</i>
	Katai	<i>Soybean dwarf virus</i>
Nematoda	Puru akar	<i>Meloidogyne</i> spp.

Sumber: Sudjono, Amir dan Martoatmodjo (1984)



Lampiran 2. Karakteristik Varietas Kedelai Yang Digunakan

1. Varietas Orba

Tahun pelepasan	:	1974
Nomor induk	:	1343
Asal	:	Davros x Shakti
Hasil rata-rata	:	1,5 ton/ha
Warna hipokotil	:	ungu
Warna batang	:	hijau
Warna daun	:	hijau tua
Warna bulu	:	coklat
Warna bunga	:	ungu
Warna polong tua	:	coklat muda
Warna kulit biji	:	kuning
Warna hilum	:	coklat
Tipe tumbuh	:	semi determinit
Umur berbunga	:	35 hari
Umur matang	:	85-90 hari
Tinggi tanaman	:	50-60 cm
Bobot 100 biji	:	12-14 g
Kadar protein	:	38,5%
Kadar lemak	:	18,6%
Ketahanan terhadap penyakit:		toleran terhadap karat
Pemulia	:	Sadikin, S. Sumarno, Rodiah dan Sutarto
Sifat-sifat lain	:	polong tua tidak mudah pecah

(Sumber: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 1993)

2. Varietas Wilis

Tanggal pelepasan	:	21 Juli 1983
Nomor induk	:	B 3034
Asal	:	Orba x No. 1682
Hasil rata-rata	:	1,6 ton/ha biji kering
Warna hipokotil	:	ungu
Warna batang	:	hijau
Warna daun	:	hijau-hijau tua
Warna bulu	:	coklat tua
Warna bunga	:	ungu
Warna polong tua	:	coklat tua
Warna kulit biji	:	kuning
Warna hilum	:	coklat tua
Tipe tumbuh	:	determinit
Umur berbunga	:	+39 hari
Umur matang	:	+88hari
Tinggi tanaman	:	40-50 cm
Bobot 100 biji	:	+10g
Kadar protein	:	37%
Kadar lemak	:	18%
Ketahanan terhadap penyakit:	:	agak tahan karat dan virus
Pemulia	:	Sumarno, Darman, M. Arsyad, Rodiah dan O. Sutrisno
Sifat-sifat lain	:	tahan rebah

(Sumber: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 1993)



3. Varietas Tidar

Tahun pelepasan	:	1987
Nomor induk	:	B-3379
Asal	:	mutan B-1682
Hasil rata-rata	:	1,4 ton/ha
Warna hipokotil	:	hijau
Warna epikotil	:	hijau
Warna daun	:	hijau tua
Warna bulu	:	coklat
Warna bunga	:	ungu
Warna polong tua	:	coklat tua
Warna hilum	:	coklat kehitaman
Tipe tumbuh	:	determinit
Umur berbunga	:	35 hari
Umur matang	:	75 hari
Tinggi tanaman	:	40-60 cm
Bobot 100 biji	:	7 g
Kadar protein	:	37%
Kadar lemak	:	20%
Ketahanan terhadap penyakit:		agak tahan karat dan lalat bibit
Pemulia	:	Sumarno, Rodiah, O. Sutrisno, Syukur, Sugito dan Purnomo

(Sumber: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 1993)



4. Varietas Tampomas

Tanggal pelepasan	:	3 Nopember 1992
Nomor galur	:	No. 1612 (Tainung-4)
Asal	:	introduksi dari Taiwan
Hasil rata-rata	:	1,8 ton/ha lahan bukan sawah
Warna hipokotil	:	ungu
Warna epikotil	:	hijau
Warna daun	:	hijau
Warna bulu	:	hijau
Warna bunga	:	coklat
Warna polong tua	:	coklat
Warna biji	:	ungu
Warna hilum	:	coklat
Tipe tumbuh	:	determinit
Umur berbunga	:	35 hari
Umur matang	:	84 hari
Tinggi tanaman	:	65 cm
Bobot 100 biji	:	11 g
Kadar protein	:	34%
Kadar lemak	:	18%
Ketahanan terhadap penyakit:	:	agak tahan karat dan CMMV
Pemulia	:	Darman, Sumarno, Asadi, Rodiah, O. Sutrisno
Sifat-sifat lain	:	daya adaptasi baik, luas dan cocok untuk budidaya intensif

(Sumber: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 1993)



5. Varietas Cikurai

Tanggal pelepasan	:	3 Nopember 1992
Nomor galur	:	630/1343-4-1
Asal	:	No. 630 x No. 1343 (Orba)
Hasil rata-rata	:	1,7 ton/ha
Warna hipokotil	:	ungu
Warna epikotil	:	ungu
Warna daun	:	hujau muda
Warna bulu	:	coklat
Warna bunga	:	ungu
Warna polong tua	:	coklat tua
Warna kulit biji	:	hitam mengkilat
Warna hilum	:	putih
Tipe tumbuh	:	determinit
Umur berbunga	:	35 hari
Umur matang	:	82-85 hari
Tinggi tanaman	:	60-65 cm
Bobot 100 biji	:	11-12 g
Kadar protein	:	35%
Kadar lemak	:	17%
Ketahanan terhadap penyakit:	:	toleran terhadap karat
Pemulia	:	Sumarno, Soegito, Rodiah, Darman dan O. Sutrisno
Sifat-sifat lain	:	polong tidak mudah pecah, adaptasi baik dan luas

(Sumber: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 1993)



6. Varietas Malabar

Tanggal pelepasan	:	3 Nopember 1992
Nomor galur	:	B 8217-11-12-13
Asal	:	No. 1592 x Wilis
Hasil rata-rata	:	1,9 ton/ha
Warna hipokotil	:	ungu
Warna epikotil	:	ungu
Warna daun	:	hijau
Warna bulu	:	coklat
Warna bunga	:	ungu
Warna polong tua	:	coklat
Warna kulit biji	:	kuning mengkilat
Warna hilum	:	coklat
Tipe tumbuh	:	determinit
Umur berbunga	:	31 hari
Umur matang	:	70 hari
Tinggi tanaman	:	57 cm
Bobot 100 biji	:	12 g
Kadar protein	:	37%
Kadar lemak	:	20%
Ketahanan terhadap penyakit:	:	agak tahan karat
Pemulia	:	Darman, Sumarno, Asadi, O. Sutrisno dan Syukur
Sifat-sifat lain	:	daya adaptasi baik dan cukup luas

(Sumber: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 1993)



7. Varietas Krakatau

Tanggal pelepasan	:	3 Nopember 1992
Nomor asal	:	AGS-66
Asal	:	introduksi dari Taiwan
Hasil rata-rata	:	1,9 ton/ha
Warna hipokotil	:	ungu
Warna epikotil	:	ungu
Warna daun	:	hijau
Warna bulu	:	coklat
Warna polong tua	:	kuning jerami
Warna kulit biji	:	kuning
Tipe tumbuh	:	determinit
Umur berbunga	:	35 hari
Umur matang	:	82-85 hari
Tinggi tanaman	:	55-60 cm
Bobot 100 biji	:	8 g
Kadar protein	:	36%
Kadar lemak	:	16%
Ketahanan terhadap penyakit:	:	toleran karat dan CMMV
Pemulia	:	Sumarno, Soegito, Rodiah, Darman, O. Sutrisno
Sifat-sifat lain	:	daya adaptasi luas, cocok untuk sawah dan tegalan

(Sumber: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 1993)

8. Varietas Lumajang Bewok

Tanggal pelepasan	:	1 Nopember 1989
Nomor induk	:	Gm 4424 Si
Asal	:	Lumajang, Jawa Timur
Hasil rata-rata	:	1,52 ton/ha biji kering
Warna hipokotil	:	ungu
Warna epikotil	:	hijau
Warna daun	:	hijau
Warna bulu	:	coklat
Warna bunga	:	ungu
Warna polong tua	:	coklat tua
Warna kulit biji	:	kuning
Warna hilum	:	coklat tua
Tipe tumbuh	:	determinit
Umur berbunga	:	32 hari
Umur matang	:	75-80 hari
Tinggi tanaman	:	40-56 cm
Bobot 100 biji	:	9.63 g
Kadar protein	:	34,54%
Kadar lemak	:	16,72%
Ketahanan terhadap penyakit:		agak tahan karat dan lalat kacang
Pemulia	:	Sedian, Hidayat, Umar
Sifat-sifat lain	:	polong tua mudah pecah

(Sumber: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, 1993)



Lampiran 3: Media Pengujian Sifat-sifat Fisiologi Bakteri

1. Medium Semiselektif *Xanthomonas phaseoli* (MXP)

(Mortensen, 1989 dan Schaad, 1988).

K_2HPO_4	0.8 g
KH_2PO_4	0.6 g
Yeast extract	0.7 g
Soluble Potato Starch	8.0 g
KBr	10.0 g
Glucose	1.0 g
Agar	20.0 g
Aquades	1000.0 mL

pembuatan: bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam tabung, dikocok dan disterilkan dalam otoklaf. Kemudian ditambahkan bahan-bahan berikut:

Chlorotalonil (Daconil 500)	1.0 mL*
Cephalexin	10.0 mL**
Kasugamycin	10.0 mL***
Gentamycin	5.0 mL****
Methyl violet 2 B	30.0 uL*****
Methyl green	60.0 uL*****

- * dari campuran 1.2 mL chlorotalonil dan 38.8 mL aquades
- ** dari campuran 1.0 g cephalexin dan 500 mL etanol 75%
- *** dari campuran 1.0 g kasugamycin dan 500 mL aquades
- **** dari campuran 100 mg gentamycin dan 500 mL etanol 75%
- ***** dari campuran Methyl violet 2 B 1% dan etanol 10%
- ***** dari larutan methyl green 1%

Penambahan dilakukan ketika medium bersuhu 40-50°C, dengan cara menyaring bahan-bahan tambahan tersebut pada mikrofilter steril di ruangan steril.

2. Medium Nutrient Agar (NA) (Mortensen, 1989)

Pepton	5.0 g
Beef Extract	3.0 g
Agar	20.0 g
Aquades	1000.0 mL

pembuatan: seluruh bahan ditempatkan pada gelas piala (satu liter), dimasak hingga mendidih, dipindahkan ke erlenmeyer/labu takar, ditutup dan disterilkan pada otoklaf.

3. Medium Kings B (Mortensen, 1989)

Proteose pepton no. 3	20.0 g
Glycerol	15.0 mL
K ₂ HPO ₄	1.5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1.5 g
Agar	20.0 g
Aquades	1000.0 mL

pembuatan: bahan-bahan ditempatkan pada gelas piala, dimasak hingga mendidih, diatur agar mencapai pH 7.2 dan disterilkan pada otoklaf.

4. Medium Arginin (Thornley's medium 2A) (Lelliot dan Stead, 1987)

Pepton	1.0 g
NaCl	5.0 g
K ₂ HPO ₄	0.3 g
Phenol red	0.01 g
L-Arginin HCl	10.0 g
Agar	3.0 g
Aquades	1000.0 mL

pembuatan: seluruh bahan ditempatkan pada gelas piala, dipanaskan hingga mendidih, kemudian dipindahkan pada



tabung-tabung reaksi, ditutup dan disterilkan di oto-
klaf.

5. *Le cipta mitk Tera Universite*

Medium Oksidatif/Fermentatif (Lellicot dan Stead, 1987)

Pepton	2.0 g
NaCl	5.0 g
K ₂ HPO ₄	0.3 g
Agar	3.0 g
Bromtimol blue	0.03 g*
Aquades	1000.0 mL
*(15 mL dari bromtimol blue 0.25)	

pembuatan: seluruh bahan ditempatkan pada gelas piala, dipanaskan hingga mendidih, kemudian dipindahkan pada tabung-tabung reaksi, ditutup dan disterilkan di oto-klaf (121C selama 15 menit).

Medium Pencairan Gelatin (Lelliot dan Stead, 1987)

Yeast extract	3.0 g
Pepton	5.0 g
Gelatin	120.0 g
Aquades	1000.0 mL

pembuatan: seluruh bahan ditempatkan pada gelas piala, dipanaskan hingga mendidih, kemudian dipindahkan pada tabung-tabung reaksi, ditutup dan disterilkan di oto-klaf.

7.

Medium Nutrient Agar+5% Sucrose (SNA) (Mortensen, 1989)

Pepton	5.0	g
Beef extract	3.0	g
Agar	20.0	g
Sucrose	50.0	g
Aquades	1000.0	mL

pembuatan: bahan-bahan ditempatkan pada gelas piala, dipanaskan hingga mendidih, kemudian dipindahkan pada tabung-tabung erlenmeyer/labu takar, ditutup dan disterilkan di otoklaf.

Medium Triphenyl Tetrazolium Chloride (TTC) (Lelliot dan Stead, 1987)

Pepton	10.0 g
Casein hydrolysate	1.0 g
Glucose	5.0 g
Agar	12.0 g
Aquades	1000.0 mL
2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride (konsentrasi akhir 0.005%)	

pembuatan: bahan-bahan ditempatkan pada gelas piala kecuali TTC, dimasak hingga mendidih, diatur pada pH 7, dipindahkan pada tabung erlenmeyer/labu takar dan disterilkan dalam otoklaf (suhu 121C selama 15 menit).

Penambahan TTC dilakukan sebelum penuangan sebanyak 1.0 mL setiap 100.0 mL medium steril.

Lampiran 4. Karakteristik Bakteri Gram Negatif

Tabel 1. Karakteristik Beberapa Spesies

Bakteri Gram Negatif

Spesies Uji	A	B	C	D	E
Gram	-	-	-	-	-
Pembentukan Levan	-	+	TD	-	-
Fluoresensi	+	-	-	-	+
Reaksi Oksidase	+	+	-	+	-
Oksidatif/Fermentatif (O/F)	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Pembusukan kentang	+	ND	ND	ND	+
Dehidrolisis arginin	+	-	-	-	-
Hipersensitivitas	-	ND	TD	+	+
Hidrolisis gelatin	+	+	+	+	+
Patogenisitas	TD	TD	TD	TD	TD

Sumber: Bradbury (1986), Lellicott dan Stead (1987), Mortensen (1989) dan Schaad (1988)

keterangan: A= *P. fluorescens* biovar IVB

B= *P. gladioli*

C= *P. maltophilia*

D= *P. solanacearum* ras 1

E= *P. viridiflava*

ND= No Detection (tidak terdeteksi)

TD= Tidak ada Data

