



Isolasi *Pseudomonas* sp. untuk Pengendalian Biologi terhadap Layu Bakteri

The Isolation of *Pseudomonas* sp. for Biological Control of Bacterial Wilt

Resti Fajarfika^{1)*}, Taufiq Hilmany¹⁾, Hanny Hidayati Nafi'ah¹⁾, Novriza Sativa¹⁾, Jajang Supriatna²⁾

¹⁾Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Garut
Jl. Raya Samarang No. 52A, Garut, Jawa Barat 44151

²⁾Program Studi Agroteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati
Jl. A.H. Nasution No.105, Cipadung, Cibiru, Bandung, Jawa Barat 40614

*E-mail: fajarfikaresti@gmail.com

Abstrak

Penyakit layu yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* merupakan patogen tular tanah yang banyak menyerang tanaman penting dan menyebabkan kehilangan hasil. Pengendalian secara biologi yang ramah lingkungan masih terus dikembangkan baik secara *in vitro*, *in vivo*, maupun di lapangan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Pertanian, Universitas Garut. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan *Pseudomonas* sp. dari beberapa rizosfer tanaman dan potensinya dalam mengendalikan bakteri patogen. Kandidat bakteri antagonis diperoleh dari tanaman putri malu, ubi jalar, tomat, tembakau, dan sawi yang ditumbuhkan pada media selektif *Pseudomonas Agar Base*. Bakteri patogen diperoleh dari tanaman tomat yang terinfeksi layu bakteri. Bakteri *Pseudomonas* sp. yang diperoleh, selanjutnya di uji reaksi gram, hipersensitif, dan daya hambat secara *in vitro*. Hasil penelitian diperoleh delapan isolat *Pseudomonas* sp. yang termasuk reaksi gram negatif, satu isolat menunjukkan reaksi hipersensitif, dan tidak terbentuk zona hambat pada medium *Nutient Agar*.

Kata Kunci : Layu bakteri, penyakit, patogen, *Pseudomonas* sp

Abstract

Wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* is a soil-borne pathogen that attacks many important crops and causes yield loss. Environmentally friendly biological control is still being developed both *in vitro*, *in vivo* and in the field. The research was conducted at the Integrated Laboratory of the Faculty of Agriculture, University of Garut. This study aims to obtain *Pseudomonas* sp. of some plant rhizospheres and their potential in controlling bacterial pathogens. Candidate antagonist bacteria were obtained from *Mimosa* sp., sweet potato, tomato, tobacco, and mustard plants grown on *Pseudomonas Agar Base* selective media. Pathogenic bacteria were obtained from tomato plants infected with bacterial wilt. *Pseudomonas* sp. was obtained, and then tested for gram reaction, hypersensitivity, and inhibition *in vitro*. The results obtained eight isolates of *Pseudomonas* sp. which included a gram-negative reaction, one isolate showed a hypersensitivity reaction, and isolates could

inhibit R. solanacearum with different zones of inhibition, no inhibition zone was formed on Nutrient Agar medium.

Keywords: Bacterial wilt, disease, pathogen, Pseudomonas sp

1. Pendahuluan

Ralstonia solanacearum penyebab layu bakteri, salah satu penyakit yang paling merusak di seluruh dunia (Gabriel *et al.*, 2006). Gejala awal yang ditimbulkan oleh serangan bakteri *R. solanacearum* pada tanaman tomat yaitu layu pada beberapa daun muda, daun-daun tua menguning, dan batang tanaman sakit cenderung lebih banyak membentuk akar adventif sampai setinggi bunga (Semangun, 2007).

Bakteri tular tanah ini mempunyai kisaran inang yang luas lebih dari 50 famili yang berbeda (Hayward, 1991), diantaranya tomat, tembakau, cabai, kacang tanah, jahe, pisang, eukaliptus, dan kentang (Prior *et al.*, 1998). Kejadian penyakit dapat mencapai 15-55% pada tanaman tomat di Taiwan yang menyebabkan kehilangan lebih dari 12 miliar US dolar per tahunnya (Hartman *et al.*, 1991). Di Hawaii, telah dilaporkan produksi jahe mengalami kerugian lebih dari 50% selama tahun 1998-1999 (Yu *et al.*, 2003). Di Indonesia, layu bakteri dikenal sebagai penyakit yang paling merugikan tanaman cabai dan tomat yang dilaporkan pada tahun 1921 dan 1922 di Madiun dan Kediri (Semangun, 2004). Kerugian mencapai 80% pada pertanaman jahe atau bahkan dapat menggagalkan panen (Aeny, 2006). Jenis kentang yang rentan terhadap penyakit layu dapat menyebabkan kerugian sampai 40% (Semangun, 2002). Besarnya nilai kerugian hasil tersebut dipengaruhi beberapa faktor meliputi faktor lingkungan seperti iklim lokal, tipe tanah, teknis budidaya, jenis varietas yang ditanam, dan virulensi atau tingkat keganasan strain *R. solanacearum* (Elphinstones, 2005).

Layu bakteri sulit dikendalikan dengan bahan kimia dan kultur budidaya (Grimault *et al.*, 1993). Oleh karena itu, pengendalian biologi memiliki peranan penting dalam mengelola penyakit layu bakteri (Akiew *et al.*, 1993). Strategi pengendalian biologi atau hayati dapat membantu dalam tindakan pengembangan manajemen alternatif atau diintegrasikan dengan praktik lain untuk manajemen penyakit yang efektif di tingkat lapangan. Pengendalian biologi tidak hanya menekan penyakit dan meningkatkan hasil panen tetapi akan menjadi penting dalam mencegah pencemaran lingkungan karena pestisida (Lwin & Ranamukhaarachchi, 2006).

Beberapa mikroba antagonis yang telah banyak diteliti adalah *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, dan *Trichoderma harzianum*. Ketiga isolat mikroba tersebut dapat mengendalikan penyakit *R. solanacearum* dan penyakit lain pada tanaman tomat, tembakau, kacang, nilam, jahe dan krisan. *Bacillus subtilis*, *P. fluorescens* dan *T. harzianum* mampu menurunkan intensitas penyakit yang disebabkan *R. solanacearum* pada jahe sebesar 4% (Bustaman, 2006).

Pseudomonas yang termasuk dalam kelompok *fluorescens* merupakan bakteri pengkoloni akar yang agresif, bakteri ini mampu memproduksi hormon pertumbuhan tanaman, dan berfungsi sebagai agens pengendali hayati melalui mekanisme kompetisi dan induksi ketahanan tanaman (Haas & Defago, 2005). Selain itu, *P. fluorescens* memiliki kemampuan sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) yang membantu pertumbuhan tanaman sehingga tanaman mampu tumbuh lebih baik dan sehat. *P. fluorescens* juga mempunyai kemampuan sebagai antagonis terhadap patogen tular tanah karena mampu menghasilkan siderofor (Danya & Potty, 2007). Upaya pencarian agensia

hayati untuk mengendalikan patogen *R. solanacearum* telah dilaporkan dengan hasil yang masih bervariasi dalam hal efektifitasnya. Maka dari itu, perlu dilakukan eksplorasi dalam upaya menemukan bakteri *P. fluorescens* yang memiliki kemampuan sangat baik dan efektif dalam mengendalikan penyakit layu bakteri di lapangan.

2. Metodologi

Isolasi *Pseudomonas* sp.

Isolasi *Pseudomonas* sp. dilakukan menurut metode Naik *et al.* (2008). Sampel tanah diperoleh dari daerah rizosfer tanaman putri malu, ubi jalar, tomat, sawi dan tembakau. Selanjutnya ditimbang 1 gram tanah dan dibuat seri pengenceran sampai 10^{-5} . Masing-masing pengenceran dituangkan ke dalam cawan petri yang berisi medium selektif *Pseudomonas Agar Base* (PAB) dan diinkubasi selama 24-48 jam.

Pembuatan medium *Pseudomonas Agar Base* (PAB)

Medium ini dibuat dengan cara menyiapkan air 500 ml, kemudian dipanaskan dan ditambahkan 24,2 g media PAB dan 5 ml gliserol, diaduk supaya homogen, selanjutnya dimasukan ke dalam Erlenmeyer dan disterilisasi pada *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C . Selanjutnya dibiarkan sampai suhunya turun mencapai 50°C kemudian ditambahkan 1 botol *Pseudomonas C-N Supplement* dan diaduk sampai tercampur, media dituangkan ke dalam cawan Petri steril.

Isolasi Bakteri Patogen

Isolat patogen layu bakteri diperoleh dari tanaman tomat yang sakit. Sampel akar sakit dicuci dan disinfektan menggunakan alkohol 70%. Selanjutnya dipotong-potong hingga berukuran 5 mm×5 mm, dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml akuades steril. Suspensi bakteri yang ada pada tabung reaksi diambil sebanyak 0.1 ml kemudian dipindahkan ke dalam cawan Petri yang berisi medium *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasikan selama 48 jam.

Uji Reaksi Gram

Uji KOH 3% dilakukan dengan cara mencampur satu ose isolat bakteri dengan satu tetes KOH 3%, apabila terdapat lendir artinya bakteri tersebut bersifat gram negatif, dan apabila tidak berlendir bakteri tersebut bersifat gram positif.

Uji Hipersensitif

Pengujian hipersensitivitas dilakukan dengan cara menyuntikkan suspensi isolat baik *Pseudomonas* sp. maupun bakteri patogen ke dalam daun tembakau (Arwiyanto *et al.*, 2007). Reaksi yang muncul diamati setiap hari setelah perlakuan selama satu minggu.

Uji Daya Hambat

Uji daya hambat *Pseudomonas* sp. terhadap *R. Solanacearum* (bakteri patogen) dilakukan dengan cara mencampurkan 5 ml suspensi biakan murni bakteri patogen (dua ose dalam 5 ml air steril) ke dalam 100 ml medium NA, dihomogenkan, selanjutnya dimasukan ke dalam cawan Petri masing-masing sebanyak 10 ml dan dibiarkan padat. Langkah selanjutnya potongan cakram kertas saring berdiameter 1 cm dicelupkan ke dalam suspensi *Pseudomonas* sp., dikeringanginkan, dan diletakkan di tengah cawan Petri tersebut. Inkubasi dilakukan selama 72 jam pada suhu 37°C , kemudian diamati dan diukur zona

bening di sekeliling *Pseudomonas* sp. (Suryadi, 2009). Terdapat delapan *Pseudomonas* sp. yang diuji, setiap perlakuan diulang lima kali sehingga terdapat 40 satuan percobaan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

3. Hasil dan Pembahasan

Isolasi bakteri Antagonis

Hasil eksplorasi bakteri antagonis dari rizosfer tanaman tomat, sawi (912 m dpl) tembakau, ubi jalar, dan putri malu (760 m dpl) di Kecamatan Samarang, Kabupaten Garut (Gambar 1) diperoleh delapan isolat *Pseudomonas* sp. pada pengenceran yang berbeda (Tabel 1).



Gambar 1. Tempat pengambilan sampel tanah rizosfer

Tabel 1. Koloni *Pseudomonas* sp.

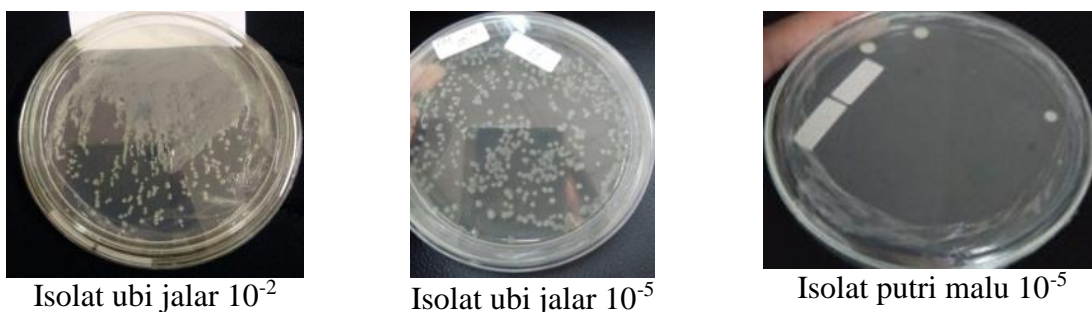
No	Isolat Bakteri	Morfologi Koloni				Jumlah Koloni
		Bentuk	Tepi	Warna	Permukaan	
1	A: putri malu 10^{-2}	Bulat	Rata	Putih susu	Rata	6
2	B: putri malu 10^{-4}	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	17
3	C: putrimalu 10^{-5}	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	3
4	D: ubi jalar 10^{-2}	Bulat	Rata	Putih susu	Rata kering	57
5	E: ubi jalar 10^{-5}	Bulat	Rata	Putih susu	Cembung	317
6	F: tomat 10^{-2}	Bulat	Rata	Putih kekuningan	Rata kering	44
7	G: sawi 10^{-3}	Bulat	Rata	Putih kekuningan	Cembung	81
8	H: tembakau 10^{-2}	Bulat	Rata	Putih agak bening	Rata kering	11

Keterangan: A, B, C, D, E, F, G, H adalah isolat *Pseudomonas* sp. dan I adalah *Ralstonia solanacearum*

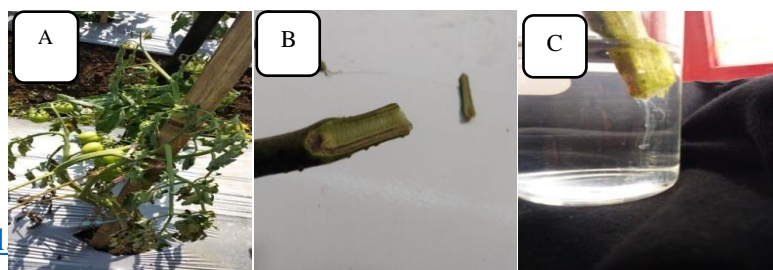
Delapan isolat bakteri yang diperoleh memiliki ciri koloni bentuknya bulat, tepinya rata tetapi warna, permukaan, dan jumlahnya berbeda. Warnanya kebanyakan putih susu kecuali pada cawan petri dengan kode isolat F dan G warnanya putih kekuningan, sedangkan kode isolat H warnanya putih agak bening. Permukaannya ada 4 cawan petri yang permukaannya rata yaitu kode isolat A, D, F, H dan 4 cawan petri lain permukaannya cembung yaitu dengan kode isolat B,C,E,G. Jumlah koloni bakteri bervariasi, yang terendah pada isolat C yaitu 3 dan tertinggi pada isolat E sebanyak 317. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Suyono & Farid (2011) bahwa bakteri *Pseudomonas* memiliki karakteristik seperti, koloni berwarna putih, bersifat gram negatif, berbentuk batang (*rods*) atau kokus (*coccus*), *aerob obligat*, motil mempunyai flagel polar. Bakteri ini, oksidase positif, katalase positif, nonfermenter dan tumbuh dengan baik pada suhu 4°C atau dibawah 43°C. Beberapa hasil pengamatan koloni bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.

Bakteri *R. solanacearum* didapat dari daerah Rancabango pada ketinggian 760 m dpl. Bakteri tersebut diisolasi dari jaringan batang tanaman tomat yang memperlihatkan ciri-ciri gejala layu, akar adventif tumbuh sampai batang bunga paling bawah, apabila dipotong terdapat lendir warna coklat dan potongan batang apabila dicelupkan pada air jernih akan turun bakterinya seperti asap putih (Gambar 3). Menurut Zuluaga *et al.* (2013) bahwa lendir dalam jaringan pembuluh tanaman mengandung gula, asam amino, dan asam organik yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri.

Kersten *et.al.* (2001) menyatakan bahwa *Ralstonia solanacearum* merupakan patogen tular tanah yang menginfeksi pada bagian akar, bergerak secara sistemik melalui *xylem*, bersifat nonmotil pada tanaman, namun pada media pertumbuhan bersifat motil dan menyebabkan gejala layu yang seringkali berlanjut pada kematian tanaman (Denny & Hayward, 2001). Stadium penyakit yang lanjut, bila batang dipotong, dari bekas pembuluh akan keluar masa bakteri seperti lendir berwarna putih susu. Lendir akan lebih banyak keluar bila potongan batang disimpan di tempat yang lembab. Jika potongan batang sakit dimasukkan ke dalam gelas yang berisi air jernih, setelah ditunggu beberapa menit akan terlihat benang-benang putih halus, yang akan putus bila gelas digoyang. Benang putih tersebut adalah masa bakteri. Adanya massa bakteri ini dapat dipakai untuk membedakan penyakit layu bakteri dengan layu fusarium (Semangun, 2004).



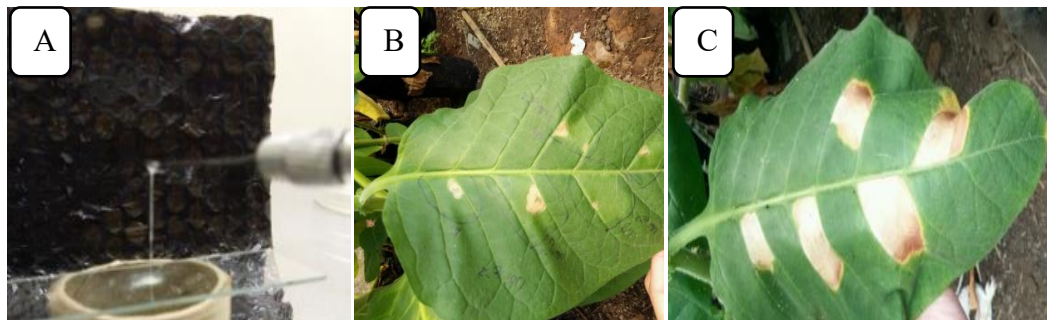
Gambar 2. Koloni bakteri pada medium PAB



Gambar 3. Tanaman tomat yang terinfeksi layu bakteri. A: tanaman tomat sakit, B: batang tanaman tomat sakit, C: masa bakteri.

Uji Reaksi Gram

Uji KOH 3% dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui sifat gram bakteri, Gram negatif dicirikan dengan adanya lendir dan Gram positif tidak berlendir setelah dicampur dengan KOH 3%. Gambar 4A menunjukkan hasil uji KOH 3% dengan hasil semua isolat bersifat gram negatif. Menurut Chandra & Mani (2011) bahwa bakteri Gram negatif memiliki lemak tebal dan berding sel tipis yang berada di ruang periplasma, sedangkan bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan lemak yang tipis, kemudian KOH akan menyerang lemak (*bilayer lipid*) dan membuat sel bakteri Gram negatif pecah sehingga berlendir sedangkan Gram positif tidak terpengaruh.



Gambar 4. Hasil pengujian reaksi gram dan hipersensitif . A: Adanya lendir pada hasil uji reaksi gram, B: gejala nekrotik isolat ubi jalar 10^{-2} hari pertama pada uji hipersensitif, C: gejala nekrotik pada hari ke-5.

Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif dilakukan pada tembakau, hal ini dikarenakan tembakau merupakan tanaman yang sensitif terhadap hama dan penyakit (Yulianti, 2009). Menurut Danaatmadja *et.al.*, (2009) bahwa hipersensitif merupakan mekanisme pertahanan yang menghasilkan penghambatan dari serbuan mikroorganisme. Secara karakteristik, peningkatan permeabilitas, kekurangan, dan kematian sel inang terjadi pada sel terinfeksi. Isolat yang tidak menimbulkan gejala nekrosis menandakan reaksi negatif atau non patogen dan sebaliknya apabila isolat yang menimbulkan gejala nekrosis menandakan reaksi positif atau patogen bagi tanaman.

Reaksi hipersensitif adalah proses kematian sel yang cepat dan terlokalisasi. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan patogen yang merupakan usaha untuk menghambat pertumbuhan patogen (Zuraidah, 2013). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi reaksi positif pada bakteri asal isolat ubi jalar 10^{-2} dan *Ralstonia solanacearum*. Bagian daun tembakau yang disuntikkan dengan isolat asal ubi jalar 10^{-2} mengalami perubahan warna menjadi kuning, perubahan tersebut terjadi dari hari pertama (Gambar 4B dan 4C), sedangkan yang disuntikkan dengan *R. solanacearum* perubahannya terjadi pada hari kedua. Hal ini mengindikasikan bahwa bakteri isolat asal tanaman ubi jalar 10^{-2} adalah

bakteri patogen tanaman. Berbeda dengan tujuh isolat bakteri rizosfer lainnya tidak menimbulkan gejala apapun setelah diaplikasikan (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Uji Hipersensitif

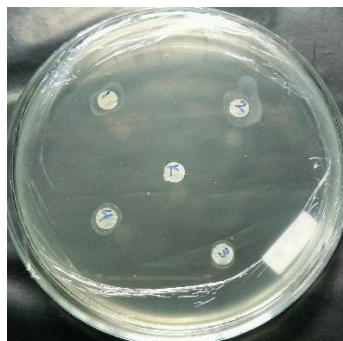
No	Nama Isolat	Pengamatan Hari ke-					No	Nama Isolat	Pengamatan Hari ke-				
		1	2	3	4	5			1	2	3	4	5
1	aU ₁	-	-	-	-	-	24	eU ₄	-	-	-	-	-
2	aU ₂	-	-	-	-	-	25	eU ₅	-	-	-	-	-
3	aU ₃	-	-	-	-	-	26	fU ₁	-	-	-	-	-
4	aU ₄	-	-	-	-	-	27	fU ₂	-	-	-	-	-
5	aU ₅	-	-	-	-	-	28	fU ₃	-	-	-	-	-
6	bU ₁	-	-	-	-	-	29	fU ₄	-	-	-	-	-
7	bU ₂	-	-	-	-	-	30	fU ₅	-	-	-	-	-
8	bU ₃	-	-	-	-	-	31	gU ₁	-	-	-	-	-
9	bU ₄	-	-	-	-	-	32	gU ₂	-	-	-	-	-
10	bU ₅	-	-	-	-	-	33	gU ₃	-	-	-	-	-
11	cU ₁	-	-	-	-	-	34	gU ₄	-	-	-	-	-
12	cU ₂	-	-	-	-	-	35	gU ₅	-	-	-	-	-
13	cU ₃	-	-	-	-	-	36	hU ₁	-	-	-	-	-
14	cU ₄	-	-	-	-	-	37	hU ₂	-	-	-	-	-
15	cU ₅	-	-	-	-	-	38	hU ₃	-	-	-	-	-
16	dU ₁	+	+	+	+	+	39	hU ₄	-	-	-	-	-
17	dU ₂	+	+	+	+	+	40	hU ₅	-	-	-	-	-
18	dU ₃	-	+	+	+	+	41	Rs U1	-	+	+	+	+
19	dU ₄	+	+	+	+	+	42	Rs U2	-	+	+	+	+
20	dU ₅	+	+	+	+	+	43	Rs U3	-	+	+	+	+
21	eU ₁	-	-	-	-	-	44	Rs U4	-	+	+	+	+
22	eU ₂	-	-	-	-	-	45	Rs U5	-	+	+	+	+
23	eU ₃	-	-	-	-	-							

Keterangan : (+) : terjadi Nekrosis (-) : tidak terjadi nekrosis (a: putri malu 10⁻², b: putri malu 10⁻⁴, c: putri malu 10⁻⁵, d: ubi jalar 10⁻², e: ubi jalar 10⁻⁵, f: tomat 10⁻², g: sawi 10⁻³, h: tembakau 10⁻², Rs: *Ralstonia solanacearum*, U: ulangan).

Uji Daya Hambat

Uji daya hambat dapat diketahui dengan ada tidaknya zona hambat atau zona bening. Zona hambatan terbentuk karena adanya suatu ekskresi yang dihasilkan *Pseudomonas* sp. dan diresapkan ke dalam media yang efeknya menghambat patogen. Hasil pengujian menunjukkan tidak jelas ada tidaknya zona hambat, sehingga dianggap tidak terbentuk zona hambat pada medium NA. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Nurcahyanti *et al.* (2013) bahwa pengujian daya hambat *Pseudomonas fluorescens* terhadap *Ralstonia solanacearum*

tidak menunjukkan zona hambat pada media NA, YPGA, dan CPG tetapi hanya dapat menghambat pada media King's B.



Gambar 5. Hasil pengujian daya hambat isolat B pada media NA

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa diperoleh tujuh kandidat *Pseudomonas* sp. dari hasil eksplorasi yang termasuk bakteri gram negatif, negatif hipersensitif, dan tidak terbentuk zona hambat pada medium NA pada pengujian daya hambat, sehingga perlu dilakukan pengujian kembali pada medium King's B.

5. Daftar Pustaka

- Aeny, T. N. 2006. Pengaruh perlakuan bibit terhadap perkembangan penyakit layu bakteri (*Pseudomonas solanacearum*) pada jahe (*Zingiber officinale*). <http://digilib.itb.ac.id/gdl>. [diakses: 1 Mei 2022].
- Akiew, E., P.R. Trevorrow and P.E. Tonello, 1993. Management of bacterial wilt of tobacco. In: Hartman, G.L. & A.C. Hayward (eds.), Bacterial Wilt. Pp: 270–5. ACIAR Proceedings, No. 45: Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- Arwiyanto, T., Yuniarsih, F., Martoredjo, T. & Dalmadiyo, G. 2007. Seleksi *Pseudomonad fluoresen* secara Langsung di Lapangan untuk Pengendalian Penyakit Lincat pada Tembakau. *Jurnal Hama Penyakit Tumbuhan Tropika*, Vol. 8 (2): 62-68.
- Chandra, T. J & Mani, S. 2011. A study of 2 rapid tests to differentiate Gram positive and Gram negative aerobic bacteria. *Journal Medicine Allied Science*. Vol. 1 (2): 84-85.
- Danaatmadja, Y. Siti, S. Tri, J & Cavrina, U.S. 2009. Isolasi Dan Karakterisasi *Ralstonia Syzygii* Isolation And Characterization Of *Ralstonia Syzygii*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. Vol. 15 (1): 7–12.
- Denny, T. P & Hayward, A. C. 2001. *Gram negative bacteria*. In : Schaad NW, Jones JB, Chun W, editor. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria Third Edition. Minnesota : APS Press.
- Elphinstone, J. G. 2005. *The current bacterial wilt situation: a global overview*. In: Allen C, P. Prior, and A.C. Hayward. (eds.). *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. St. Paul Minnesota. APS Press. 9pp.

- Gabriel, D.W., Allen, I.C., Schell, M., Denny, T.P., Greenberg, J.T., Duan, Y.P., Cruz, Z. F., Huang, Q., Clifford, J. M., Presting, G., González, E.T., Reddy, J., Elphinstone, J., Swanson, J., Yao, J., Mulholland, V., Liu, L., Farmerie, W., Patnaikuni, M., Balogh, B., Norman, I.D., Alvarez, A., Castillo, J.A., Jones, J., Saddler, G., Walunas, T., Zhukov, A., Mikhailova, N. 2006. Identification of Open Reading Frames Unique to a Select Agent: *Ralstonia solanacearum* Race 3 Biovar 2. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19 (1): 69-79.
- Hartman, G.I., Hong, W.F. & Wang, T.C. 1991. Survey of bacterial wilt on fresh market hybrid tomatoes in Taiwan. *Plant Prot.Bull.*, 33:197-203.
- Hayward, A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29:65-87.
- Kersten, J. T, H. Huang & C. Allen. 2001. *Ralstonia solanacearum* Needs Motility for Invasive Virulence on Tomato. Department of Plant Pathology University of Wisconsin, Madison.
- Lwin, M. & Ranamukhaarachchi, S.L. 2006. Development of Biological Control of *Ralstonia solanacearum* Through Antagonistic Microbial Populations. *International Journal of Agriculture & Biology*, Vol.8 (5): 657-660.
- Naik, P. R., Raman, G., Narayanan, K. B & Saknivel, N. 2008. Assessment of Genetic and Functional Diversity of Phosphate Solubilizing *Fluorescent Pseudomonads*. *Biomedical Central Microbiology*. Vol. 8 (230): 1-14.
- Nurcahyanti, S.D., Arwiyanto, T., Indradewa, D., Widada, J. 2013. Isolasi dan Seleksi *Pseudomonas Fluorescens* pada Risosfer Penyambungan Tomat. *Berkala Ilmiah Pertanian*, Vol. 1(1): 15-18.
- Prior, P., Allen, C., & Elphinstone, J. 1998. *Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects*. Springer Verlag, Berlin.
- Semangun, H. 2004. *Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. UGM Press, Yogyakarta.
- Semangun, H. 2007. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura Di Indonesia*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Suryadi, Y. 2009. Efektivitas *Pseudomonas fluorescens* Terhadap Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Pada Tanaman Kacang Tanah. *Jurnal Hama Penyakit Tanaman Tropika*. Vol. 9 (2): 174-180.
- Suyono, Y & Farid, S. 2011. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri *Pseudomonas* pada Tanah Yang Terindikasi Terkontaminasi Logam. *Jurnal Biopropal Industri*. Vol. 2 (1): 8-13.
- Yu, Q., Alvarez, A.M., Moore, P.H., Zee, F. & Kim et al. 2003. Molecular diversity of *Ralstonia solanacearum* isolated from ginger in Hawaii. *Phytopathology*, 93:1124-1130.
- Yulianti, T. 2009. Pengelolaan Patogen Tular Tanah Untuk Mengembalikan Kejayaan Tembakau Temanggung di Kabupaten Temanggung. *Jurnal Perspektif*. Vol. 8 (1): I-16.
- Zuluaga Cruz, A. P., Puigvert, M. & Valls, M. 2013. Novel plant inputs influencing *Ralstonia solanacearum* during infection. *Frontiers in microbiology*, 4, 349.
- Zuraidah. 2013. Pengujian Beberapa Bakteri Penghambat Pertumbuhan *Xanthomonas oryzae P.v. oryzae* pada Tanaman Padi. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. Vol. 5 (1): 18-24.