

## **Penghambatan Pertumbuhan Jamur Patogen Kakao *Phytophthora palmivora* oleh *Pseudomonas fluorescence* dan *Bacillus subtilis***

### ***Growth Inhibition of Cocoa Pod Rot Fungus Phytophthora palmivora by Pseudomonas fluorescence and Bacillus subtilis bacteria***

Sakti Widyanta Pratama<sup>1\*)</sup>, Sri-Sukamto<sup>1)</sup>, Iis Nur Asyiah<sup>2)</sup>, dan Yeni Vida Ervina<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jl. PB. Sudirman No. 90 Jember, Indonesia.

<sup>2)</sup>Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember, Jl. Kalimantan Tegalboto, Jember, Indonesia

\*)Alamat penulis (*corresponding author*): sakti.pratama@gmail.com

Naskah diterima (*received*) 16 April 2012, disetujui (*accepted*) 2 April 2013

#### **Abstrak**

Penyakit busuk buah yang disebabkan oleh jamur *Phytophthora palmivora* merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman kakao karena menyebabkan kerugian cukup besar. Sampai saat ini jamur patogen penyebab penyakit busuk buah tersebut masih merupakan masalah krusial dan belum ada fungisida yang benar-benar efektif. Salah satu alternatif pengendalian penyakit busuk buah kakao adalah menggunakan agens hayati sebagai biofungisida, diantaranya dengan memanfaatkan bakteri *Pseudomonas fluorescence* dan *Bacillus subtilis*. Penelitian dilakukan dengan mengisolasi jamur *P. palmivora* dari buah terserang di Kebun Percobaan Kaliwining untuk mendapatkan biakan murni dan memperbanyak bakteri *P. fluorescence* dan *B. subtilis*. Uji antagonis dilakukan dengan menginokulasikan *P. palmivora* ke dalam cawan petri berisi medium PDA pada jarak 3 cm dari tepi. Bakteri *P. fluorescence* dan *B. subtilis* diinokulasikan ke cawan petri pada perlakuan tiga hari setelah jamur. Kontrol hanya diinokulasi dengan isolat *P. palmivora*. Pertumbuhan jamur diukur dengan cara menghitung pertambahan jari-jari koloni jamur setiap hari, mulai dari 24 jam setelah inokulasi. Pertumbuhan *Phytophthora palmivora* pada dua perlakuan digunakan untuk menghitung persentase penghambatan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri *P. fluorescence* dan *B. subtilis* mampu menghambat pertumbuhan jamur *P. palmivora* berdasarkan persentase penghambatan. Berdasarkan kriteria keefektifan yang diperoleh menunjukkan bahwa lebar zona bening *B. subtilis* menghasilkan luas area lebih lebar terhadap jamur *P. palmivora* dibandingkan dengan *P. fluorescence*. *B. subtilis* dan *P. fluorescence* efektif digunakan sebagai agens hayati.

**Kata kunci:** Penyakit busuk buah kakao, pengendalian hayati, *Phytophthora palmivora*, *Pseudomonas fluorescence*, *Bacillus subtilis*

#### **Abstract**

*Black pod disease caused by Phytophthora palmivora fungus is one of the important diseases on cocoa crop. Pod rot is the most important disease because it may cause loss of cocoa pod. Until now, the fungal pathogen of cocoa black pod disease is still a crucial problem and there is no fungicide that is really effective against the disease. One alternative to control the cocoa black pod disease is by using biological agents as biofungicide, including utilizing Pseudomonas fluorescence and Bacillus subtilis bacteria. The research was done by isolation*

of *P. palmivora* from infected pods of Kaliwining Experimental Station to obtain pure cultures of fungus and by multiplication of *P. fluorescens* and *B. subtilis*. Antagonist test was performed by inoculating *P. palmivora* into a petri dish in a distance of 3 cm from the edge. *P. fluorescens* and *B. subtilis* were inoculated into petridishes in three days after the fungal treatment. Control was inoculated with isolate of *P. palmivora* only. Fungal growth was measured everyday by measuring radius of fungal colonies first time 24 hours after inoculation. Growth of *Phytophthora palmivora* in the two treatments were used to calculate the percentage of inhibition. The results of this study indicated that *P. fluorescens* and *B. subtilis* were able to inhibit fungal growth of *P. palmivora*. Both bacterial antagonists had the same effectiveness in inhibiting the growth of *P. palmivora* fungus based on the percentage of inhibition and effectiveness criteria. Based on the results of translucent zones indicated that *B. subtilis* was more powerful in inhibiting growth of *P. palmivora* compared to *P. fluorescens*.

**Key words:** Black pod disease of cocoa, biological control, *Phytophthora palmivora*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*

## PENDAHULUAN

Penyakit busuk buah yang disebabkan oleh jamur *Phytophthora palmivora* adalah salah satu penyakit penting pada tanaman kakao. Busuk buah merupakan penyakit paling penting karena menyebabkan kerugian berkisar antara 10 dan 30% di seluruh dunia (McMahon & Purwantara, 2004). Sampai saat ini jamur patogen penyebab penyakit busuk buah kakao tersebut masih merupakan masalah krusial yang belum bisa dituntaskan. Jamur *P. palmivora* merupakan jamur dari kelas Oomycetes yang memiliki ciri-ciri morfologi miselium panjang dan berwarna putih dengan spora berbentuk seperti buah pir (Drenth & Sendall, 2001).

Pengendalian penyakit busuk buah *P. palmivora* secara umum dilakukan dengan tiga cara, yaitu: sanitasi kebun, penanaman klon tahan, dan pengendalian secara kimiawi. Penyakit busuk buah *P. palmivora* sulit dikendalikan secara kuratif. Oleh karena itu, tindakan preventif sangat dianjurkan agar perkembangan penyakit tidak meluas. Salah satu tindakan preventif adalah dengan menggunakan fungisida. Fungisida yang dianjurkan untuk pengendalian penyakit

busuk buah kakao antara lain yang berbahan aktif tembaga. Selain fungisida kimia juga telah dihasilkan biofungisida yaitu jamur antagonis *Trichoderma* spp. yang dapat menekan intensitas serangan penyakit busuk buah kakao (Bagian Proyek Penelitian Kopi dan Kakao, 2001).

Hingga saat ini permintaan akan produk makanan yang memenuhi standar kesehatan semakin meningkat, sehingga penggunaan agens hayati juga semakin meningkat. Penelitian mengenai agens hayati semakin berkembang untuk menemukan alternatif pengendalian penyakit dengan mengurangi penggunaan bahan kimia. Beberapa jenis mikroba yang telah dilaporkan dapat digunakan sebagai agens hayati terhadap aktivitas jamur patogen adalah *Pseudomonas fluorescens*, *Agrobacterium radiobacter*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. amyloliquefaciens*, *Trichoderma virens*, *Burkholderia cepacia*, *Saccharomyces* sp., *Gliocadium* sp. (Suprpta, 2012).

Alternatif agens hayati lain yang dapat dikembangkan sebagai biofungisida pengendali *P. palmivora* adalah bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus*

*subtilis*. *P. fluorescence* dapat menghasilkan beberapa metabolit sekunder berupa zat antibiotik seperti *phenazin*, *pyrrolnitrin*, dan *pseudomonis acid* yang terbukti efektif dalam menghambat mikroba patogen (Oedjijono, 1994). Isolat *B. subtilis* dari tanah juga diketahui dapat menghasilkan antibiotik dan antifungal seperti: *subtilin*, *aterimin*, *basitrasin*, *subtilisin*, *micobacillin*, *subsporin*, *ituirin*, *serexin*, *surfaktin*, *basillomicin*, *bacilisin*, *asam sianida*, *fengimicin*, dan *bacilisocin* (Katz & Demain, 1977).

Bakteri *P. fluorescence* dan *B. subtilis* juga dapat memberikan pengaruh menguntungkan terhadap perkembangan dan pertumbuhan tanaman, yaitu sebagai rizobakteri perangsang pertumbuhan tanaman (*plant growth promoting rhizobacteria*, PGPR). Bakteri tersebut juga menghasilkan antibiotika yang dapat menghambat pertumbuhan patogen, terutama patogen tular tanah dan mempunyai kemampuan mengkoloni akar tanaman (Soesanto, 2008). Mekanisme penghambatan oleh bakteri antagonis adalah melalui produksi antibiotik, siderofor, ketahanan terimbas sistemik, enzim, perangsang pertumbuhan tanaman, persaingan, mikroparasitisme dan toksin (Hasanudin, 2003). Chrisnawati *et al.* (2009) melaporkan bahwa aplikasi *Bacillus* spp. dapat mengendalikan penyakit layu bakteri pada tanaman nilam dan meningkatkan pertumbuhannya.

Menurut Djatmiko *et al.* (2007) isolat bakteri dari genus *Pseudomonas* kelompok fluoresen, *Bacillus* spp., dan *Streptomyces* spp. bersifat antagonis dan mempunyai kemampuan menekan pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* dan *Meloidogyne incognita*.

Berdasarkan keefektifan *P. fluorescence* dan *B. subtilis* sebagai agens hayati, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap penyakit busuk buah yang sampai

saat ini belum diketahui. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh *P. fluorescence* dan *B. subtilis* terhadap pertumbuhan jamur *P. palmivora* penyebab penyakit busuk buah kakao dalam skala laboratorium.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penyakit Tanaman, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia dan Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Jember. Bahan dan peralatan yang digunakan dalam bidang mikrobiologi ini dalam keadaan steril sehingga tidak ada mikroba lain yang akan mengganggu pertumbuhan bakteri yang sedang diteliti (Surawiria, 1997). Sterilisasi alat dilakukan dengan menggunakan otoklaf pada suhu 120°C dan tekanan 1 atm selama 30 menit.

Medium padat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *potato dextrose agar* (PDA) untuk isolasi jamur *P. palmivora*. Pembuatan medium PDA sebanyak 1 L memerlukan bahan dasar kentang 200 g, dekstrose 20 g, agar 20 g, dan air suling untuk membuat volume menjadi 1 L. Cara pembuatan medium PDA yakni terlebih dahulu mengekstrak kentang, kemudian ditambah dengan agar sebanyak 20 g, dan diaduk hingga merata. Setelah merata kemudian ditambahkan dengan dekstrose sebanyak  $\pm 20$  g dan diaduk hingga larutan homogen. Kedalam ekstrak kentang ditambahkan air suling hingga volumenya mencapai 1.000 mL. Setelah larutan media homogen, larutan dipanaskan kemudian dituang ke dalam erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup dan disterilisasi dengan menggunakan otoklaf pada suhu 120°C tekanan 1 atm selama  $\pm 20$  menit. Medium cair dan medium padat digunakan untuk isolasi bakteri antagonis *P. fluorescence* dan *B. subtilis*.

*Phytophthora palmivora* diisolasi dari buah kakao yang terserang penyakit busuk buah. Isolasi dilakukan dengan cara memotong kulit bagian dalam buah batas antara yang sehat dan yang sakit sebesar 0,5 cm x 0,5 cm menggunakan pisau steril dan dicelupkan ke dalam larutan alkohol 70% selama 3 menit. Potongan kulit buah dibilas menggunakan air suling steril, kemudian dipindahkan pada kertas saring dan diletakkan secara aseptik di atas permukaan medium PDA. Isolat diinkubasi dalam kondisi gelap pada ruang kultur bersuhu 26°C selama 5 hari. Koloni yang tumbuh kemudian diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri morfologi dan dimurnikan untuk mendapatkan isolat murni jamur *P. palmivora*.

Perbanyakan isolat bakteri *P. fluorescense* dan *B. subtilis* dilakukan dengan menggunakan medium cair dan padat. Karakterisasi dilakukan dengan pewarnaan gram. Setelah dilakukan karakterisasi bakteri maka sebelum digunakan untuk penelitian, dibuat biakan turunan (sub kultur) dari biakan murni dengan cara mengambil 1 ose biakan isolat *P. fluorescense* dan *B. subtilis* kemudian masing-masing bakteri ditumbuhkan pada medium agar miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### Persentase Penghambatan

Isolat murni *P. palmivora* hasil isolasi setelah mencapai pertumbuhan optimum diinokulasikan ke dalam cawan petri diameter 10 cm pada jarak 3 cm dari tepi. Bakteri *P. fluorescense* dan *B. subtilis* diinokulasikan ke cawan petri pada perlakuan tiga hari setelah jamur. Perlakuan kontrol hanya diinokulasi dengan isolat jamur *P. palmivora*. Pertumbuhan jamur diukur dengan cara menghitung pertambahan jari-jari koloni jamur setiap harinya setelah 24 jam sejak inokulasi. Pertumbuhan jamur

*P. palmivora* digunakan untuk menghitung persentase penghambatan.

Uji antagonisme secara *in vitro* dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri antagonis dan jamur patogen pada satu cawan petri secara berdampingan.

Persentase penghambatan pertumbuhan koloni *P. palmivora* dihitung dengan rumus:

$$I = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100 \%$$

Keterangan :

- I = Persentase penghambatan
- R1 = jari-jari koloni jamur pada kontrol
- R2 = jari-jari koloni jamur pada perlakuan

### Keefektifan Penghambatan

Pengamatan zona bening yang terbentuk di sekitar bakteri *P. fluorescense* dan *B. subtilis* dilakukan untuk menentukan keefektifan dalam menghambat pertumbuhan jamur *P. palmivora*. *Pseudomonas fluorescense* dan *B. subtilis* dapat dikatakan efektif jika koloni jamur patogen tidak mampu melewati koloni bakteri antagonis selama  $\pm 10$  hari dan bakteri antagonis mampu membentuk zona bening. Kurang efektif jika koloni jamur patogen tidak mampu melewati koloni bakteri antagonis selama  $\pm 10$  hari tetapi bakteri antagonis tidak mampu membentuk zona bening. Tidak efektif jika koloni jamur patogen mampu melewati koloni bakteri antagonis selama  $\pm 10$  hari.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Jamur patogen penyebab penyakit busuk buah kakao adalah jamur *P. palmivora* dari kelas Oomycetes yang memiliki ciri-ciri morfologi miselium panjang dan berwarna putih dengan spora berbentuk seperti buah pir (Drenth & Sendall, 2001). Jamur patogen ini umumnya menyerang tanaman kakao pada waktu musim penghujan. Salah satu upaya pengendaliannya yaitu dengan

memanfaatkan agens hayati bakteri antagonis *P. fluorescence* dan *B. subtilis*.

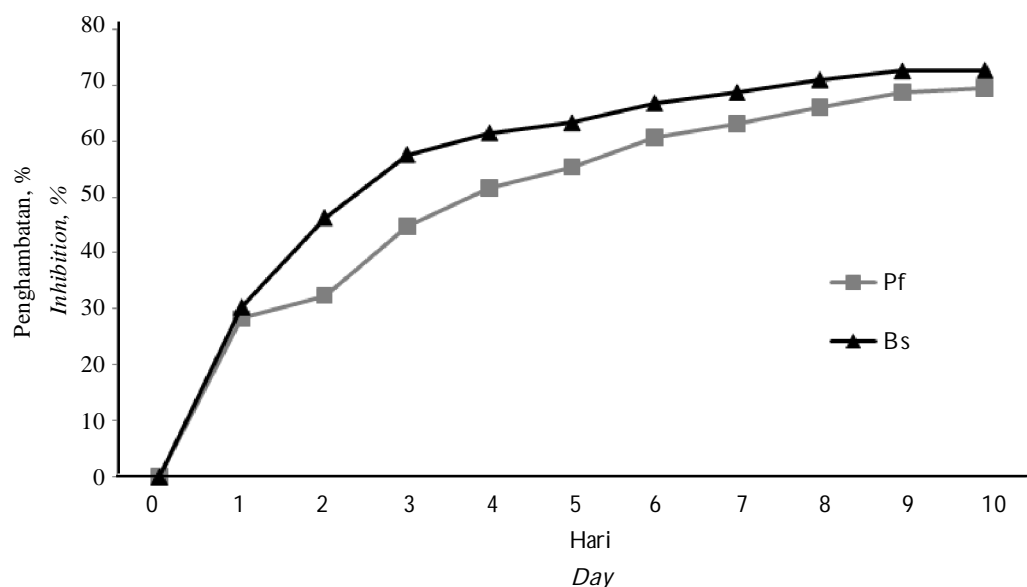
Menurut Soesanto (2008), *P. fluorescence* merupakan bakteri berbentuk batang lurus atau agak lengkung, berukuran (0,5 - 1,0) x (1,5 - 5,0)  $\mu\text{m}$ , tidak spiral, bergerak dengan satu atau beberapa flagellum polar, bersifat gram negatif, hidup secara aerob dan tumbuh pada kisaran suhu 4°C - 41°C. Sementara itu *B. subtilis* dicirikan sebagai bakteri gram positif, berbentuk batang, bersel satu, berukuran (0,5 - 2,5) x (1,0 - 1,2)  $\mu\text{m}$ , bersifat aerob atau anaerob fakultatif, dan bertahan pada suhu 5 - 75°C.

Data hasil penelitian persentase penghambatan bakteri antagonis *P. fluorescence* dan *B. subtilis* terhadap pertumbuhan jamur *P. palmivora* menunjukkan bahwa kedua bakteri tersebut menghambat pertumbuhan jamur *P. palmivora*. Persentase penghambatan oleh *P. fluorescence* dan *B. subtilis* tidak berbeda nyata. Pada

pengamatan hari kesepuluh, besar persentase penghambatan oleh bakteri *P. fluorescence* mencapai 69,5% sedangkan bakteri *B. subtilis* mencapai 72,8% (Gambar 1).

Bakteri *P. fluorescence* dan *B. subtilis* efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *P. palmivora*. Penghambatan dapat diketahui dengan melihat perbandingan antara perlakuan dan kontrol. Perlakuan kontrol tidak menunjukkan adanya penghambatan.

*Pseudomonas fluorescence* mampu menghambat pertumbuhan jamur *P. palmivora* karena bakteri mampu memproduksi antibiotik seperti *tetracyclin*, *oksitetrasilin*, *phenazine 1 carboxylic acid*, *2,4-diphloroglucinol*, *pyrrolnitrin* dan *pseudomonic acid* yang dilaporkan telah terbukti efektif untuk mengendalikan mikroba yang bersifat patogen baik yang menyerang manusia maupun tanaman (Oedjijono, 1994). Selain itu, *P. fluorescence* juga menghasilkan senyawa



Gambar 1. Perkembangan persentase penghambatan jamur *Phytophthora palmivora* oleh bakteri *Pseudomonas fluorescence* (Pf) dan *Bacillus subtilis* (Bs)

Figure 1. Percentage of inhibition of *Phytophthora palmivora* by *Pseudomonas fluorescence* (Pf) and *Bacillus subtilis* (Bs)

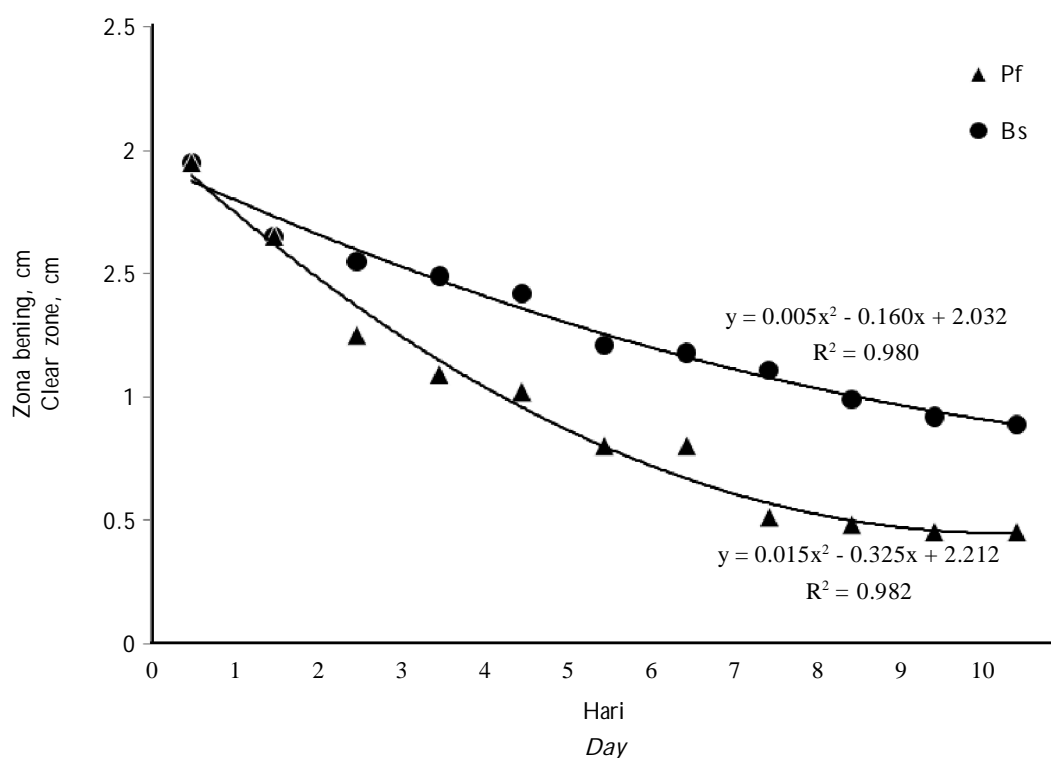
pengikat ion besi (siderofor) seperti *pseudobaktin* dan *piroverdin* yang bersifat fungistatik yaitu hanya mampu bekerja menghambat pertumbuhan jamur (Arwiyanto *et al.*, 2007).

Bakteri *P. fluorescence* juga dikenal sebagai rhizobakteri perangsang pertumbuhan tanaman atau PGPR yang dapat memberikan pengaruh menguntungkan terhadap perkembangan dan pertumbuhan tanaman (Soesanto, 2008). Aplikasi *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. terbukti nyata dalam mengurangi serangan *Meloidogyne incognita* pada tanaman *Vigna mungo*. Perlakuan dengan menggunakan kedua jenis bakteri tersebut pada tanaman *Vigna mungo* nyata meningkatkan tinggi tanaman, panjang akar, kesegaran tunas, dan bobot keringnya, kesegaran akar dan bobot kering akar, dan jumlah bintil pada akar meningkat dibandingkan dengan kontrol (Akhtar *et al.*, 2012).

Kemampuan *Bacillus subtilis* menghambat pertumbuhan jamur *P. palmivora* dikarenakan bakteri ini dapat menghasilkan beberapa peptida yang berperan sebagai antibiotik dan antifungi, seperti: *subtilin*, *aterimin*, *basitrasin*, *subtilosin*, *mikobasillin*, *subsporin*, *ituirin*, *serexin*, *surfaktin*, *basillomicin*, *basillisin*, *asam 10 sianida*, *fengimisin*, dan *basillisosin* (Schaechter, 2004). *Bacillus subtilis* juga menghasilkan enzim degradatif makromolekul yang bisa menghancurkan dinding sel jamur, seperti *protease* (intraseluler) dan beberapa enzim ekstraseluler yang disekresikan pada medium seperti *levansukrase*, *glukanase*, *amilase*, *xilanase*, *kitinase*, dan *protease* (Kunts & Rapoport, 1995; Schaechter, 2004). Adanya *B. subtilis* juga memberikan keuntungan bagi tanaman karena *B. subtilis* merupakan rhizobakteri perangsang pertumbuhan tanaman atau PGPR.

Penggunaan bakteri *P. fluorescence* dan *B. subtilis* apabila diaplikasikan secara bersamaan dapat melindungi tanaman tomat dari penyakit layu fusarium yang disebabkan jamur *Fusarium oxysporum* (Baharuddin *et al.*, 2005). *Bacillus subtilis* juga efektif digunakan untuk mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang (Hanudin *et al.*, 2012).

Zona bening yang terbentuk di sekitar bakteri *P. fluorescence* dan *B. subtilis* masih dapat bertahan pada hari pengamatan kesepuluh. Luas zona bening semakin berkurang hingga pengamatan hari kesepuluh (Gambar 2), karena bakteri mempunyai siklus hidup yang lebih pendek daripada jamur, sehingga apabila digunakan sebagai agens hayati maka harus selalu diperbaharui. Penelitian ini menunjukkan bahwa sebelum hari kesepuluh bakteri agens hayati harus diaplikasikan kembali untuk menjaga tingkat penghambatannya. Zona bening yang dibentuk oleh bakteri *B. subtilis* lebih besar daripada *P. fluorescence*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa bakteri *P. fluorescence* dan *B. subtilis* dapat digunakan sebagai agens hayati untuk mengendalikan penyakit busuk buah pada skala laboratorium. Hal ini menunjukkan bahwa zat antibiotik yang dihasilkan oleh *B. subtilis* lebih banyak dan *Phytophthora palmivora* lebih rentan dibandingkan dengan *Pseudomonas fluorescence*. Menurut Morin & Gormin (1995), *B. subtilis* menghasilkan senyawa antibiotik *aterimin* dan *basitasin* yang lebih efektif terhadap patogen dibandingkan dengan senyawa antibiotik *tetrasilin* dan *oksitetrasilin*. Mekanisme antagonistik *P. fluorescence* terhadap jamur *P. palmivora* lebih cenderung menggunakan kemampuan kolonisasi akar, produksi siderofor, dan asam sianida, di samping antibiotik yang begitu rendah. Sebaliknya, *B. subtilis* cenderung mempunyai mekanisme



Gambar 2. Perkembangan luas zona bening dalam menghambat perkembangan *Phytophthora palmivora* oleh *Pseudomonas fluorescens* (Pf) dan *Bacillus subtilis* (Bs)

Figure 2. Area development of clear zone in inhibiting the development of *Phytophthora palmivora* by *Pseudomonas fluorescens* (Pf) and *Bacillus subtilis* (Bs)

antagonistik yang lebih cenderung pada kemampuan memproduksi antibiotik (Campbell, 1989).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh *P. fluorescens* dan *B. subtilis* terhadap pertumbuhan jamur *P. palmivora* penyebab penyakit busuk buah kakao, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* efektif menghambat pertumbuhan jamur *P. palmivora* penyebab penyakit busuk buah kakao pada kondisi di laboratorium.
2. *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* mempunyai keefektifan yang sama dalam menghambat pertumbuhan jamur

*P. palmivora* berdasarkan kriteria tingkat keefektifan dan persentase penghambatan. Namun berdasarkan luas zona bening *B. subtilis* lebih luas daripada *P. fluorescens*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar, A.; Hisamuddin; Abbasi & R. Sharf (2012). Antagonistic effects of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* on *Meloidogyne incognita* infecting *Vigna mungo* L. *International Journal of Plants, Animal, and Environmental Sciences*, 2, 55 - 63.
- Arwiyanto, T.; Y.M.S. Maryudani & N.N. Azizah (2007). Sifat-sifat *Pseudomonas fluorescens*, agensia pengendalian hayati penyakit lincat

- pada tembakau Temanggung. *Jurnal Biodiversitas*, 8, 147 - 151.
- Bagian Proyek Penelitian Kopi dan Kakao (2001). *Laporan Kegiatan Penelitian Tahun Anggaran 2001*. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember, 60 - 64.
- Baharuddin; Badawi & Z. Masjkur (2005). Uji efektivitas formulasi *seed coating* berbahan aktif bakteri *Pseudomonas fluorescense* dan *Bacillus subtilis* untuk pengendalian penyakit layu fusarium (*Fusarium oxysporum*) pada tanaman tomat. *Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEI dan PFI XVI Komda Sul-Sel*, 186 - 189.
- Campbell, R. (1989). *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Chrisnawati; Nasrun & T. Arwiyanto (2009). Pengendalian penyakit layu bakteri nilam menggunakan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonad fluoresen*. *Jurnal Littri*, 15, 116 - 123.
- Djarmiko H.A.; T. Arwiyanto; B. Hadisutrisno & B.H. Sunarminto (2007). Potensi tiga genus bakteri dari tiga rizosfer tanaman sebagai agensia pengendali hayati penyakit lincat. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia*, 9, 40 - 47.
- Drenth, A. & B. Sendall (2001). *Practical Guide to Detection and Identification of Phytophthora*. Version 1.0. CRC for Tropical Plant Protection, Brisbane, Australia.
- Hanudin; B. Marwoto; Hersanti & A. Muharam (2012). Kompatibilitas *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescense*, dan *Trichoderma harzianum* untuk mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang. *Jurnal Hortikultura*, 22, 173 - 180.
- Hasanuddin (2003). *Peningkatan Peranan Mikroorganisme dalam Sistem Pengendalian Penyakit Tumbuhan Secara Terpadu*. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatra Utara.
- Katz, E. & A.L. Demain (1977). The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions. *ASM Bacteriological Review*, 41, 449 - 474.
- Kunst, F. & G. Rapoport (1995). Salt stress is an environmental signal affecting degradative enzyme synthesis in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 177, 2.403 - 2.407.
- McMahon, P. & A. Purwantara (2004). *Phytophthora* on cocoa. p. 104 - 115. **In:** A. Drenth & D.I. Guest (Eds.). *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia. ACIAR Monograph*. No. 114.
- Morin, R.B. & M. Gormin (1995). *Kimia Biologi Antibiotik β Laktam*, Volume I. Academic Press, London (Terjemahan).
- Oedjijono (1994). *Isolasi dan Deteksi Metabolit Sekunder Pseudomonas fluorescense yang Menghambat Pertumbuhan Mikroba Patogen*. Laporan Hasil Penelitian. Fakultas Biologi, Universitas Jendral Sudirman. Purwokerto.
- Schaechter, M. (2004). *The Desk Encyclopedia of Microbiology*. Elsevier Academic Press. California USA.
- Soesanto, L. (2008). *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. PT. Rajawali Grafindo Persada. Jakarta
- Suprpta, D.N. (2012). Potential of microbial antagonists as biocontrol agents against plant fungal pathogens. *International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences Journal*, 18, 1 - 8.
- Surawiria, U. (1997). *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Angkasa, Bandung.

\*\*\*\*\*.