

Kemampuan Antagonistik Beberapa Isolat *Pseudomonad* Fluoresen Terhadap Bakteri *Ralstonia Solanacearum* Penyebab Penyakit Layu Pada Tanaman Tomat

Yenny WURYANDARI¹, Arika PURNAWATI¹, Triwidodo ARWIYANTO², Bambang HADISUTRISNO²

¹Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Surabaya

²Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta

ABSTRACT. Bacterial Wilt disease (*Ralstonia solanacearum*) is a main problem in tomato plant. Controls of it have been optimum success yet. Control of it using certainly pseudomonad fluorescent strain can pressure plant disease developments which cause soil pathogen. The aim of the research, get pseudomonad fluorescent from tomato rizosfer which can inhibit of wilt bacteria disease *Ralstonia solanacearum*. Research methods are isolation and identification of pathogen bacteria and antagonistic bacteria. Biological control agents candidate selection was done with antagonistic in vitro and inhibit mechanism test. The Research show; there is wilt symptom in tomato areal at Wajak Malang. From isolation get *Ralstonia solanacearum* bacteria with identity white coloni, fluidal, irregular shape in YPGA media and high virulensi. From tomato rizosfer soil isolation in the same areal get 130 isolate of pseudomonad fluorescent in King's B media. Antagonistec test in vitro to it isn't of all bacteria can inhibit *Ralstonia solanacearum* growing. From them which was tested, get variation of inhibit zona from 4 mm until more than 30 mm. More of inhibit mechanism is bacteriostatic and only many is bacterisida.

Key word: Pseudomonad fluorescent, *Ralstonia solanacearum*

PENDAHULUAN

Tomat merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura penting sebagai sumber pendapatan petani Indonesia. Hasil buah ini perlu ditingkatkan terus untuk memenuhi konsumsi dan nutrisi masyarakat mengingat buah-buahan ini kaya akan vitamin A dan C. Pengusahaan tomat di Indonesia dibatasi antara lain oleh berkembangnya penyakit layu bakteri.

Layu bakteri merupakan penyakit serius, pada tanaman tomat di wilayah dengan temperatur hangat negara-negara subtropis dan tropis di dunia (Jones *et al.*, 1991; Michel *et al.* 1996). Penyakit layu bakteri pada tanaman tomat ini biasa menyerang tanaman Solanaceae lainnya sehingga disebut juga penyakit layu solanaceae. Kerugian yang ditimbulkan oleh penyakit ini sangat besar. Di Afrika, India, dan Indonesia kerugian dapat mencapai 50-100% terutama untuk tanaman kentang, tomat, terung dan pisang (Garrett, 1982). Di Indonesia penyakit ini menyebabkan kerugian yang sangat besar dan intensitas penyakit dapat mencapai 75% (Suhardi, 1988 dalam Semangun, 1994).

Kemampuan *R. solanacearum* untuk dapat bertahan hidup tanpa menunjukkan gejala infeksi pada akar gulma sebagai inang alternatif, atau pada tanaman yang diperkirakan bukan inang serta luasnya kisaran inang mengakibatkan sulitnya pengendalian penyakit dengan rotasi tanaman (Persley, 1985). Rotasi dengan tumbuhan yang diperkirakan bukan inang sering gagal karena tumbuhan berperan sebagai pembawa atau dapat juga secara nyata menjadi tempat berkembangbiak dan pemeliharaan inokulum dalam tanah (Sequiera, 1993).

Pengendalian biologi menggunakan mikroorganisme antagonis untuk meminimalkan penggunaan bahan kimia dalam sistem pengendalian terpadu penyakit tanaman, menjadi lebih penting akhir-akhir ini (Mao *et al.*, 1997; Papavizas *et al.*, 1984). Di antara *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR), pseudomonad fluoresen mendapat banyak perhatian. Strain dari pseudomonad fluoresen tertentu menunjukkan kemampuannya dalam menekan perkembangan beberapa penyakit tumbuhan yang disebabkan oleh patogen terbawa tanah (Fukui *et al.*, 1994; Raaijmakers *et al.*, 1995; Schippers, 1992). Penggunaan pseudomonad fluoresen untuk mengendalikan penyakit terbawa tanah semakin meningkat, hal itu antara lain karena bakteri tersebut mudah diisolasi, diidentifikasi, dan ditumbuhkan (Campbell, 1989; Weller, 1983). Berdasarkan pemikiran tersebut di atas, maka perlu upaya pengendalian yang berwawasan lingkungan terhadap penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum*. Salah satunya yaitu cara pengendalian biologi dengan menggunakan agensia pengendali biologi. Salah satu agensia pengendali biologi yang mempunyai kemampuan baik dalam pengendalian patogen terbawa tanah adalah pseudomonad fluoresen. Kelompok bakteri ini mempunyai banyak kelebihan sebagai agensia biologi, diantaranya adalah kebutuhan nutrisinya mudah, pengkolon akar yang efektif, menghasilkan berbagai senyawa penghambat, dan dapat mengimbas ketahanan tanaman. Oleh karena itu perlu dilakukan eksplorasi kelompok bakteri pseudomonad fluoresen dari daerah pertanian tomat yang mempunyai kemampuan baik sebagai agensia antagonis dan stabil.

BAHAN DAN METODE

Isolasi *R. solanacearum*. Batang atau akar tanaman tomat bergejala layu bakteri pada permukaannya didisinfeksi dengan alcohol 70%. Batang atau akar tersebut kemudian dipotong kecil-kecil dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi air steril. Air steril dalam tabung reaksi setelah keruh, kemudian dengan menggunakan jarum ose steril, suspensi bakteri tersebut digoreskan pada permukaan medium YPA. Setelah inkubasi 48 jam, dipilih koloni tunggal dan ditumbuhkan pada medium YPA lagi, lalu diuji sifat-sifatnya, antara lain uji Gram dengan KOH 3%, uji katalase, uji oksidase, HR test, dan patogenisitas. Koloni tidak teratur, fluidal, Gram negatif, katalase positif, oksidase positif menunjukkan bahwa bakteri yang diisolasi adalah *R. solanacearum*.

Isolasi pseudomonad fluoresen. Sebanyak 10 gram tanah rizosfer beserta akar tomat sehat dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml yang berisi 90 ml 0,1 M buffer fosfat pH 7,0 + 0,1 % pepton. Erlenmeyer tersebut kemudian digojok selama 30 menit. Setelah penggojokan, didiamkan selama 10 menit kemudian dilakukan seri pengenceran per sepuluh kali dengan buffer yang sama. Pada pengenceran ke- 10^3 dan 10^4 diambil 0,1 ml kemudian ditumbuhkan pada medium King's B + 100 ppm sikloheksimid. Setelah masa inkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C , koloni tunggal yang berpendar diambil dengan tusuk gigi steril dan ditumbuhkan pada cawan Petri berisi medium yang sama tanpa sikloheksimid sebanyak 10 strain per cawan Petri. Bakteri kemudian diinkubasikan lagi selama 24 jam pada suhu 30°C .

Seleksi kandidat agensia pengendali.

Uji antagonisme secara in vitro. Pseudomonad fluoresen ditumbuhkan pada cawan Petri berisi medium King's B sebanyak tiga strain per cawan Petri. Setelah masa inkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C cawan petri dibalik dan pada tutupnya dituangi dengan 1 ml kloroform. Dua jam kemudian cawan Petri dibalik kembali pada posisi semula. Pada permukaan medium tersebut dituangkan suspensi *R. solanacearum* (0,2 ml suspensi air steril *R. solanacearum* dalam 4 ml 0,6% agar air pada suhu 30°C). Biakan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 30°C kemudian zona hambatan yang terbentuk diukur. Strain yang mampu menghambat diuji sebanyak dua kali lagi dengan medium dan metode yang sama. Strain-strain yang konsisten menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* secara in vitro kemudian disimpan.

Deteksi Mekanisme penghambatan. Agar yang berada dalam zona hambatan diambil secara aseptis dengan scalpel atau jarum ose steril. Agar tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml air steril dan dihancurkan dengan jarum ose. Air steril berisi agar kemudian digojok selama 10 menit dalam ruang steril. Air steril yang menjadi keruh setelah 10 menit digojok, diambil satu ose ditumbuhkan pada cawan petri berisi

media YPGA. Perlakuan diinkubasikan selama 5 hari pada suhu kamar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Patogen (*Ralstonia solanacearum*).

Pengamatan gejala penyakit layu bakteri pada tanaman tomat dilakukan di Desa Wajak dan Turen, Malang. Pada lahan tomat yang telah berumur 2 bulan menunjukkan adanya gejala layu. Kadang-kadang gejala hanya setengah bagian daun yang layu sedangkan setengah lainnya belum.

Pada gejala dalam ada perubahan warna coklat pada jaringan pembuluh. Apabila tanaman tomat yang layu batangnya dipotong membujur, akan terlihat berkas-berkas pembuluhnya berwarna coklat. Timbulnya gangguan tersebut mungkin karena terjadi degradasi selulosa di dalam dinding sel atau penyumbatan yang menyebabkan gangguan translokasi air dari akar ke bagian atas tanaman sehingga menimbulkan kelayuan. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Goto (1992), bahwa kelayuan pada daun terjadi karena pembuluh tersumbat oleh massa bakteri sehingga menghambat pengangkutan air. Pada serangan lanjut bila batang atau akar tomat dipotong dan ditekan akan keluar massa bakteri berwarna putih kotor. Kedua ciri, yakni jaringan pembuluh berwarna coklat dan adanya aliran bakteri tersebut merupakan ciri penting untuk membedakan gejala penyakit layu karena penyebab lain.

Tanaman tomat dengan gejala seperti tersebut di atas selanjutnya diisolasi. Hasil isolasi dari tanaman tomat di lapangan diperoleh bakteri *R. solanacearum*. Adapun ciri-ciri bakteri *R. solanacearum* sebagai adalah sebagai berikut : koloni berwarna putih, fluidal dan berbentuk tidak teratur bila ditumbuhkan pada media Yeast Peptone Glukose Agar (YPGA). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Wuyandari & Arwiyanto, 1999, bahwa koloni bakteri *R. solanacearum* adalah berwarna putih, fluidal dan berbentuk tidak teratur bila ditumbuhkan pada media YPGA. Sifat-sifat bakteri dari isolat yang diperoleh adalah Gram negatif dan bereaksi positif terhadap katalase dan Kovac's oksidase. Hasil uji reaksi hipersensitif pada daun tembakau, isolat *R. solanacearum* menunjukkan gejala nekrosis pada daerah suntikan dalam waktu 18 sampai 24 jam. Gejala nekrosis selanjutnya diikuti dengan meluasnya gejala pada daun dan mejadi layu dalam waktu satu minggu. Hal tersebut menunjukkan bahwa patogen yang diinokulasikan ke daun tembakau menimbulkan reaksi kompatibel. Hasil tersebut artinya tembakau merupakan salah satu tanaman inangnya, sehingga isolat *Ralstonia solanacearum* yang diperoleh termasuk dalam ras 1. Hal itu sesuai dengan pendapat Klement *et al.*, (1990) bahwa uji reaksi hipersensitif dengan *Ralstonia solanacearum* ras 1 akan mengakibatkan klorosis setelah 2 hari diikuti kelayuan daun setelah satu minggu. Pada uji patogenisitas terhadap isolat bakteri *R. solanacearum* dilakukan pada tanaman tomat. Bakteri dapat menimbulkan gejala yang

sama dengan gejala di lapangan yaitu layu setelah patogen tersebut diinokulasikan pada tanaman tomat. Dari uji patogenesis menunjukkan masa inkubasi 6 hari dan indeks penyakit mencapai 100% pada hari ke-9. Apabila dilihat dari masa inkubasinya yaitu 6 hari dan indeks penyakit mencapai 100% setelah 9 hari maka bakteri patogen *R. solanacearum* yang diperoleh termasuk mempunyai virulensi yang cukup tinggi.

Isolasi bakteri Antagonis.

Hasil isolasi tanah rizosfer dari daerah Wajak dan Turen, Malang dengan menggunakan media King'B, diperoleh sebanyak 130 isolat kelompok pseudomonad fluoresen. Bakteri pseudomonad fluoresen merupakan bakteri pengkoloni akar yang baik. Bakteri ini sangat berlimpah di daerah rizosfer dan mudah diisolasi karena mungkin hal itu disebabkan kebutuhan nutrisinya yang sangat gampang karena mampu menggunakan berbagai macam sumber karbon (Palleroni, 1984). Selain itu mungkin bakteri ini mampu berkompetisi untuk mendapatkan nutrisi dan ruang dengan menyisihkan bakteri atau mikroorganisme yang lain. Seperti pendapat Defago *et al.* (1990) bahwa bakteri pseudomonad fluoresen mampu membentuk berbagai senyawa penghambat pertumbuhan seperti HCN, monoaetyl phloroglucinol, siderofor, 2,4-diacetylphloroglucinol, puoluserin, asam salisilat. Diantara bakteri-bakteri Gram negatif yang telah diisolasi dari rizosfer, pseudomonad selalu merupakan kelompok yang dominan (Stolp & Godkari, 1981).

Sebagian besar genus pseudomonad hanya memerlukan nutrisi yang sederhana untuk keperluan hidupnya, lebih bersifat netral dan dapat tumbuh pada kondisi di bawah normal bersama-sama dengan mikroorganisme lain serta mempunyai kisaran temperatur mesophilik. Pertumbuhan pseudomonad fluoresen selalu menonjol dibandingkan mikroorganisme lain yang diisolasi dengan menggunakan medium selektif maupun menggunakan medium yang sesuai lainnya (Palleroni, 1981).

Banyak dilaporkan bahwa bakteri rizosfer yang termasuk dalam kelompok pseudomonad fluoresen dapat menekan pertumbuhan patogen tumbuhan baik jamur maupun bakteri (Fukui *et al.*, 1994; Trigalet *et al.*, 1994). Koloni bakteri ini mudah dikenal dan cepat tumbuh dalam waktu yang relatif singkat pada medium buatan (King'B). Hasil isolasi dari tanah rizosfer diperoleh koloni bulat, tepi rata dan berpendar hijau kekuningan. Bakteri kelompok pseudomonad fluoresen bersifat Gram negatif, katalase positif dan oksidase positif. Hasil penelitian di atas sesuai pendapat beberapa peneliti di bawah ini, bahwa pseudomonad fluoresen menghasilkan pigmen fluoresen yang berwarna kuning-hijau terlarut dalam air dan dapat terdifusi (Stolp & Godkari, 1981). Pada medium King's B agar yang kandungan ion besinya rendah (Palleroni, 1981), bakteri menghasilkan pigmen fluoresen yang disebut sebagai proverdine. Koloni berbentuk bulat, bertepi rata dan berpendar hijau kekuningan, beberapa strain menunjukkan pertumbuhan rizoid, bersifat Gram negatif, katalase positif serta oksidase positif (Kloeppen, 1993; Arwiyanto, 1997).

Seleksi Kandidat Agensia Pengendalian

Uji Antagonisme Secara *In Vitro* Dari hasil uji penghambatan pertumbuhan *R. solanacearum* oleh beberapa isolat *Pseudomonad fluoresen* yang dilakukan secara *in vitro* atau di dalam medium King's B, diperoleh hasil adanya zone penghambatan pertumbuhan *R. solanacearum* pada media oleh *Pseudomonad fluoresen*. Adanya suatu penghambatan oleh *Pseudomonad fluoresen* terhadap *R. solanacearum* mungkin disebabkan karena terdapat suatu senyawa yang dikeluarkan oleh *Pseudomonad fluoresen*.

Dengan menggunakan metode ini berarti proses penghambatan buka dikarenakan proses kompetisi. Kemungkinan yang terjadi adalah proses antibiosis atau proses penghambatan *Pseudomonad fluoresen* terhadap *R. solanacearum* karena senyawa penghambat. Hal ini juga dikemukakan oleh Arwiyanto (1997), bahwa bakteri antagonis *Pseudomonad fluoresen* diperoleh dengan metode yang didasarkan pada antibiosis di laboratorium sehingga hanya bakteri yang mampu mengeluarkan senyawa penghambat pertumbuhan saja yang dapat terdeteksi. Senyawa penghambat pertumbuhan *R. solanacearum* itu misalnya seperti HCN, monoacetylphloroglucinol, siderofor, puoluterin, asam salisilat, altericidins, dan cepacin (Arwiyanto, 1995; Nawangsih, 2001; Ernawati, 2003). Hasil uji antagonisme secara *in vitro* terhadap 130 isolat *Pseudomonad fluoresen*, menunjukkan bahwa tidak semua bakteri *Pseudomonad fluoresen* mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum*. Dari 130 isolat yang diuji, zona penghambatan yang dihasilkan sangat bervariasi mulai dari 4 mm sampai lebih dari 30 mm (Tabel 1).

Tabel 1. Zona Hambatan Pertumbuhan *R. solanacearum* oleh *Pseudomonad fluoresen*

Zona Hambatan (mm)	Jumlah Isolat <i>Pseudomonad fluoresen</i> yg Menghambat	Mekanisme Penghambatan
< 5	44	Bakterisida/bakteriostatik
5-15	18	Bakterisida/bakteriostatik
15-30	31	Bakterisida/bakteriostatik
> 30	37	Bakterisida/bakteriostatik
Jumlah Isolat	130	Bakterisida/bakteriostatik

Beberapa *Pseudomonad fluoresen* dengan zone terbesar masih perlu diuji daya hambatnya di rumah kaca, karena kondisi di rumah kaca dipengaruhi oleh banyak faktor sehingga hal tersebut kemungkinan dapat mempengaruhi daya hambat isolat *Pseudomonad fluoresen* terhadap *R. solanacearum*. Faktor-faktor lingkungan di rumah kaca termasuk faktor tanah yang kompleks sangat memungkinkan untuk mempengaruhi hasil penghambatan *Pseudomonad fluoresen* terhadap *R. solanacearum*, misalnya faktor mikroorganisme dalam tanah, nutrisi, kelembapan, dan suhu yang semuanya

mungkin dapat mempengaruhi sifat antagonistik *Pseudomonad fluoresen*. Tidak selalu ada korelasi positif antara penghambatan di laboratorium dengan penekanan penyakit di rumah kaca, lapangan (Cook&Baker, 1983).

Bakteri *Pseudomonad fluoresen* terpilih atau zone terbesar akan lebih memberi harapan yang baik sebagai agensia hayati untuk mengendalikan penyakit layu bakteri *R. solanacearum*. Untuk lebih memberi hasil yang lebih baik, dari semua isolat yang potensial selanjutnya diuji lagi kemampuannya dalam menghambat perkembangan penyakit yang disebabkan oleh *R. solanacearum* pada tanaman tomat di rumah kaca.

Mekanisme Penghambatan *Pseudomonad fluoresen* terhadap *R. solanacearum* Mekanisme penghambatan bakteri *Pseudomonad fluoresen* terhadap *R. solanacearum* sebagian besar bersifat bakteriostatik dan hanya beberapa yang bersifat bakterisida (Tabel 2).

Tabel 2. Mekanisme Penghambatan pertumbuhan *R. solanacearum* oleh *Pseudomonad fluoresen*

No isolat	Mekanisme penghambatan	No. isolat	Mekanisme penghambatan
1. Pfw15	bakteriostatik	21 Pfw116	bakteriostatik
2. Pfw17	bakteriostatik	22 Pfw118	bakteriostatik
3. Pfw37	bakterisida	23 Pfw122	bakteriostatik
4. Pfw39	bakteriostatik	24 Pfw142	bakterisida
5. Pfw40	bakteriostatik	25 Pfw143	bakteriostatik
6. Pfw42	bakterisida	26 Pfw144	bakterisida
7. Pfw51	bakterisida	27 Pfw146	bakteriostatik
8. Pfw52	bakteriostatik	28 Pfw150	bakterisida
9. Pfw64	bakterisida	29 Pfw152	bakteriostatik
10 Pfw70	bakteriostatik	30 Pfw153	bakteriostatik
11 Pfw81	bakterisida	31 Pfw154	bakteriostatik
12 Pfw92	bakteriostatik	32 Pfw155	bakteriostatik
13 Pfw103	bakteriostatik	33 Pfw156	bakterisida
14 Pfw104	bakterisida	34 Pfw157	bakteriostatik
15 Pfw105	Bakterisida	35 Pfw158	bakteriostatik
16 Pfw106	Bakterisida	36 Pfw159	bakteriostatik
17 Pfw108	Bakterisida	37 Pfw160	bakteriostatik
18 Pfw112	bakterisida		
19 Pfw114	bakteriostatik		
20 Pfw115	bakteriostatik		

Pada kasus 37 isolat dengan zona terbesar, ternyata terdapat 14 isolat *Pseudomonad fluoresen* yang mekanisme penghambatannya bersifat bakterisida yaitu senyawa yang dikeluarkan oleh *Pseudomonad fluoresen* bersifat membunuh *R. solanacearum*, karena setelah inkubasi 5 hari tetap tidak ada pertumbuhan *R. solanacearum*. Adapun 23 isolat lainnya, mekanisme penghambatannya bersifat bakteriostatik karena setelah 5 hari inkubasi masih ada pertumbuhan *R. solanacearum* artinya senyawa yang dikeluarkan *Pseudomonad fluoresen* hanya menghambat saja. Isolat *Pseudomonad fluoresen* yang mempunyai kemampuan menghambat dengan mekanisme penghambatan bakterisida kemungkinan akan lebih berpotensi sebagai agensia hayati dari pada yang bersifat bakteriostatik. Untuk

membuktikan apakah kemampuan *Pseudomonad fluoresen* dalam membunuh *R. solanacearum* di media dengan kondisi nutrisi yang cukup dan faktor lingkungan yang stabil, akan terbukti di lapangan, hal tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut di rumah kaca.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat diambil kesimpulan bahwa isolat *Ralstonia solanacearum* hasil isolasi di daerah Malang mempunyai virulensi yang tinggi. Hasil eksplorasi agensia hayati bakteri *Pseudomonad fluoresen* diperoleh 130 isolat. Dari 130 isolat tidak semua mampu menghambat bakteri *Ralstonia solanacearum*. Ada 37 isolat yang berpotensi sebagai agensia hayati terpilih dengan zona hambatan terbesar dengan mekanisme beragam yaitu bakteriostatik dan bakterisida.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto, T. 1997. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau: 1. isolasi bakteri antagonis. *J. Perlind. Tan. Indonesia*. 3(1):54-60.
- Campbell, R. 1989. *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge University Press. Cambridge. 218 p.
- Cook, R.J & Baker 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogen*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 539 p.
- Defago, G; C.H. Berling; U. Burger; D. Haas; G. Kahr; C. Keel; C. Vostard; P. Wirthner; & B. Wurthrich. 1990. Suppression of Black root of Tobacco and Other Root Disease by Strain *Pseudomonas fluorescens*: Potensial Application and Mechanisms. p. 75-81. In : D. Hornby (ed.). *Biological Control of Soilborne Plant pathogens*. CAB international Wallingford.
- Fravel, D.R. & Larkin, R.P. 1996. Availability and application of biocontrol products. *Biol. Cult. L Tests For Control of Plant Disease*. 11: 1-7.
- Fukui, R., Schroth, M.N., Henderson, M. & Hancock, J.G. 1994. Interaction between strain of *Pseudomonas* in sugar beet spermosphere and their relationship to pericarp colonization by *P ultimum* in soil. *Phytopathology* 84:1330- 1332.
- Garrett, C.M.E. 1982. Bacterial Diseases of Food Plant an Overview. In : Rhodes-Robert, M.E, and Skinner, F.A. *Bacterial and Plants*. Academic Press. London-New York. pp. 115-130.
- Goto, M. 1992. *Fundamental of Bacterial Plant Pathology*. Academic Press.Tokyo. 342 p.
- Gutterson,N. 1990 Microbial fungicides:recent approach to elucidating mechanism. *Crit.Rev. Biotechnol.* 10: 69-91.
- Homma, Y., Z. Sato; F. Hirayama, K.Kohno, H.Shirahama and T. Suzui. 1989. Production of antibiotic by *Pseudomonas cepacia* as an agent for biologic control of soilborne plant pathogens. *Soil Biol.Biochem.* 21. 723 - 728.
- Jones, J.B.: Jones, J.P.. Stall, R.E.. and Zitter, T.A. 1991, *Compendium Of Tomato Diseases*. APS Press. 100h.

- Klement, Z.; Mavridis, A.; Rudolph, K.; and Vivader, A. 1990. Inoculation of Plant Tissues. In : Z. Klement, K. Rudolph & D.C. Sands (eds.). *Methods in Phytobacteriology*. Akademiai Kiado. Budapest. 101-102.
- Kloepper, J. W., 1993. Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents. In : F. B. Metting (eds.). *Soil Microbial Ecology. Applications in Agricultural and Environmental Management*. Jr. Marcel Dekker. New York. 255-268.
- Loper, J. F. 1980. Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* Strain. *Phytopathology* 78:166–
- Michel, V.V., Hartman, G.L., and Midmore, D.J. 1996. Effect of previous crop on soil populations of *Burkholderia solanacearum*, bacterial wilt, and yield of tomatoes in Taiwan. *Plant Dis.* 80:1367-1372.
- Mulya, K. 1997. Penekanan perkembangan penyakit layu bakteri tomat oleh *Pseudomonas fluorescens* PfG 32. *Journal Hortikultura* 7 (2); 685-691.
- Palleroni, N.J. 1981. Introduction to the Family Pseudomonadaceae. In: M. P. Starr (eds.). *The Prokaryotes A Hand Book on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria: Phytopathogenic Bacteria*. University of California. New York. 655-660.
- Palleroni, N.J. 1984. Pseudomonad. p. 141-199. In: Krieg, N.R. & Holt, J.G. (eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. I. Williams & Wilkins. Baltimore.
- Raaijmakers, J.M., Leeman, M., Van Oorschot, M.M.P., Van der Sluis, I., Schipper, B., & Bakker, P.A.H.M. 1995. Dose-response relationships in biological control of fusarium wilt of radish by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 85: 1075-1081.
- Schippers, B. 1992. Prospects for management of natural suppressiveness to control soilborne pathogens. p.21-34. In: Tjamos, E.C., Papaviras, G.C. & Cook, R.L. (eds.). *Biological control of plant diseases. Progress and challenges for the future*. Plenum Press, New York & London.
- Stolp, H & Gadkari, D. 1981. Nonpathogenic Members of The Genus *Pseudomonas*. p. 723-729. In: Starr, M.P. (eds.). *The Prokaryotes A Handbook On Habitats, Isolation and Identification of Bacteria: Phytopathogenic Bacteria*. University of California, New York.
- Trigalet, A., P. Frey & D. Trigalet-Demery. 1994. Biological Control of Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas solanacearum* : State of the Art and Understanding. P. 225-233. In : Bacterial Wilt. The Disease and Its Causative Agent *Pseudomonas solanacearum*. CAB. International. Wallingford. UIC.
- Weller, D.M. 1983. Colonization of wheat roots by a fluorescent pseudomonad suppressive to take-all. *Phytopathology* 73: 1548 – 1553.
- Wuryandari, Y. dan Arwiyanto, T., 1999. Karakteristik *Ralstonia solanacearum* dari beberapa inang Solanaceae di Yogyakarta. Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta. hal 387-393.