

**PENGENDALIAN HAYATI PENYAKIT LAYU BAKTERI TEMBAKAU :  
2. PERCOBAAN DI RUMAH KACA**

**BIOLOGICAL CONTROL OF TOBACCO BACTERIAL WILT:  
2. GREENHOUSE EXPERIMENTS**

Triwidodo Arwiyanto  
Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada  
I. Hartana  
Asosiasi Penelitian Perkebunan Indonesia

**ABSTRACT**

*Tobacco bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* has been controlled biologically in the greenhouse by the use of rhizosphere microorganisms, i.e. fluorescent pseudomonads and *Bacillus* spp. Root dipping for 30 minutes in the antagonist suspension ( $10^8$  cfu/ml) suppressed bacterial wilt development. The best results were obtained with fluorescent pseudomonads Pf-20 and *Bacillus* sp. Ba-118 isolates but the repression was annulled with the use of its combination. Disease severity were higher when the plants were treated with the combination between fluorescent pseudomonads. Treatment combinations between Pf-28, Pf-31, Pf-33 and Ba-118 could reduce the disease index.*

*Key words : tobacco; bacterial wilt, biological control.*

**INTISARI**

Penyakit layu bakteri tembakau yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* dikendalikan secara hayati di rumah kaca dengan mikroorganisme risosfer yaitu pseudomonad fluoresen dan *Bacillus* spp. Perendaman akar selama 30 menit dalam suspensi antagonis ( $10^8$  cfu/ml) mampu menekan perkembangan penyakit layu. Penekanan penyakit yang terbaik diperoleh dengan isolat pseudomonad fluoresen Pf-20 atau *Bacillus* sp. isolat Ba-118 namun bukan dengan kombinasinya. Kombinasi perlakuan dengan campuran suspensi antar-isolat pseudomonad fluoresen memperparah munculnya penyakit, sedangkan kombinasi antara Pf-28, Pf-31, Pf-33 dengan Ba-118 dapat menurunkan indeks penyakit.

Kata kunci : tembakau, layu bakteri, pengendalian hayati

**PENGANTAR**

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* (dahulu *Pseudomonas solanacearum*) merupakan kendala biologi yang sangat penting pada budidaya tembakau cerutu yang diusahakan oleh PTPN-II di Medan (Hartana, 1978). Kerugian yang ditimbulkan sangat besar, persentase kelayuan tanaman di lapangan mencapai 50% pada tahun 1994 (Arwiyanto, 1995). Berbagai usaha pengendalian telah dilakukan namun penyakit layu masih banyak ditemukan. Para ahli Belanda

sebelum Perang Dunia II menganjurkan rotasi dengan tanaman hutan selama delapan tahun (Kelman, 1953). Cara ini terbukti dapat menekan penyakit, namun memerlukan waktu yang sangat panjang.

Untuk lebih mengoptimalkan penggunaan lahan maka PTPN-II melakukan rotasi dengan tebu selama tiga tahun, kemudian lahan ditanami *Mimosa invisa* selama enam bulan sebelum ditanami kembali dengan tembakau. Perubahan rotasi tanaman ini menyebabkan kemunculan penyakit layu yang cukup tinggi. Pengendalian hayati berdasarkan antago-

nisme antara mikroorganisme dalam tanah dengan patogen kemudian dikembangkan untuk menekan penyakit layu tersebut. Isolasi dari risosfer *M. invisa* menghasilkan ratusan isolat pseudomonad fluoresen dan *Bacillus* spp. yang mampu menekan perkembangan patogen di laboratorium (Arwiyanto, 1997).

Bakteri risosfer seperti pseudomonad fluoresen dan *Bacillus* spp. telah banyak digunakan sebagai agensi pengendalian hayati patogen tumbuhan (Cook & Baker, 1983; Weller, 1985). Hasil yang diperoleh sangat bervariasi tergantung isolat antagonis, patogen, dan lingkungannya.

Tulisan berikut melaporkan bahwa beberapa di antara isolat yang diperoleh di laboratorium mampu menekan perkembangan penyakit layu bakteri tembakau di rumah kaca.

## BAHAN DAN METODE

**Tanaman.** Tanaman tembakau varietas Deli-4 digunakan dalam percobaan ini. Tanaman disemai pada pot plastik sampai berumur 40 hari.

**Bakteri dan kondisi kultur.** Bakteri antagonis yang digunakan adalah 10 isolat pseudomonad fluoresen dan 10 isolat *Bacillus* spp. hasil isolasi dari risosfer *M. invisa* (Arwiyanto, 1997). Pseudomonad fluoresen ditumbuhkan pada medium King's B sedangkan *Bacillus* spp. pada medium Tryptic Soy Agar pada suhu kamar selama 48 jam. Koloni tunggal diambil dan ditumbuhkan pada medium agar miring yang sesuai. *Ralstonia solanacearum* isolat Ps-47 digunakan sebagai patogen layu; ditumbuhkan pada medium CPG (casamino acid peptone glucose) selama 48 jam. Koloni virulen ditumbuhkan kembali pada medium agar miring CPG selama 24 jam pada suhu kamar.

**Persiapan inokulum bakteri.** Bakteri antagonis ditumbuhkan pada medium agar miring yang sesuai selama 48 jam pada

suhu kamar. Setelah masa inkubasi sel bakteri disuspensi dalam air steril sampai pada kerapatan  $10^8$  dan  $10^7$  cfu/ml. *R. solanacearum* ditumbuhkan pada medium CPG cair pada suhu kamar selama 48 jam. Sel bakteri dipisahkan dari mediumnya dengan sentrifugasi pada 6000xg selama 30 menit kemudian disuspensi dalam air steril sampai pada kerapatan  $10^8$  dan  $10^7$  cfu/ml.

**Metode inokulasi.** Inokulasi dilakukan dengan modifikasi metode Arwiyanto *et al.* (1994) sebagai berikut:

**1. Pengendalian dengan antagonis tunggal.** Akar tanaman tembakau dibersihkan dari tanah yang melekat kemudian direndam dalam suspensi bakteri antagonis selama 30 menit. Selama menunggu perendaman, pada tanah steril dalam pot plastik dibuat enam lubang, kemudian di setiap lubang dituangi dengan 10 ml suspensi *R. solanacearum*. Tanaman yang telah direndam akarnya kemudian ditanam pada pot-pot plastik tersebut. Sebagai kontrol negatif, akar tanaman dicelup dalam air steril selama 30 menit kemudian ditanam pada pot plastik berisi tanah steril. Kontrol positif terdiri atas tanaman yang sistem perakarannya direndam dalam air steril selama 30 menit, kemudian ditanam pada pot berisi tanah yang sudah diinvestasi dengan *R. solanacearum*.

**2. Pengendalian dengan kombinasi antagonis.** Dari tiap-tiap antagonis yang berhasil menekan perkembangan penyakit layu pada percobaan tunggal di atas dilakukan percobaan dengan kombinasi dari antagonis tersebut. Prosedur pelaksanaannya sama seperti tersebut di atas, hanya suspensi bakteri antagonis merupakan campuran antara suspensi pseudomonad fluoresen dengan *Bacillus* spp. Konsentrasi tiap-tiap bakteri antagonis adalah  $10^8$  cfu/ml. Rasio volume dari pseudomonad fluoresen dengan *Bacillus* sp. tersebut adalah 1:1, 1:3, 1:4, 3:1, dan 4:1 (Tabel 1)

Tabel 1. Antagonis yang dipakai pada tiap perlakuan

No. Perl.	Perbandingan volume					
	Ba- 118	Pf- 28	Pf- 31	Pf- 33	Pf- 20	Pf- 15
1. A	1	1	-	-	-	-
2. B	1	4	-	-	-	-
3. C	4	1	-	-	-	-
4. D	1	3	-	-	-	-
5. E	3	1	-	-	-	-
6. F	1	-	-	-	-	-
7. G	-	1	-	-	-	-
8. H	1	-	1	-	-	-
9. I	1	-	4	-	-	-
10. J	4	-	1	-	-	-
11. K	1	-	3	-	-	-
12. L	3	-	1	-	-	-
13. M	-	-	1	-	-	-
14. N	1	-	-	1	-	-
15. O	1	-	-	4	-	-
16. P	4	-	-	1	-	-
17. Q	1	-	-	3	-	-
18. R	3	-	-	1	-	-
19. S	-	-	-	1	-	-
20. T	1	-	-	-	1	-
21. U	1	-	-	-	4	-
22. V	4	-	-	-	1	-
23. W	1	-	-	-	3	-
24. X	3	-	-	-	1	-
25. Y	-	-	-	-	1	-
26. Z	1	-	-	-	-	1
27. AA	1	-	-	-	-	4
28. AB	4	-	-	-	-	1
29. AC	1	-	-	-	-	3
30. AD	3	-	-	-	-	1
31. AE	-	-	-	-	-	1
32. AF	-	1	1	-	-	-
33. AG	-	1	-	1	-	-
34. AH	-	1	-	-	1	-
35. AI	-	1	-	-	-	1
36. AJ	-	-	1	1	-	-
37. AK	-	-	1	-	1	-
38. AL	-	-	1	-	-	1
39. AM	-	-	-	1	1	-
40. AN	-	-	-	1	-	1
41. AO	-	-	-	-	1	1
42. AP	-	-	-	-	-	-
43. AQ	-	-	-	-	-	-

**Pengamatan penyakit.** Gejala penyakit diamati setiap dua hari setelah perlakuan. Keparahan penyakit dinilai dengan skala sebagai berikut :

- 0 tidak ada gejala
- 1 1-10% daun layu
- 2 11-30% daun layu
- 3 31-60 dan layu
- 4 > 60% - < 100% daun layu
- 5 semua daun layu

Indeks penyakit dihitung dengan formula (Arwiyanto *et al.*, 1994):

$$\text{Indeks Penyakit} = \frac{\sum_{i=1}^k k \cdot N_k}{Z \times N} \times 100\%$$

$N_k$  = jumlah tanaman dengan skala keparahan penyakit  $k$   
( $k = 0, 1, 2, 3, 4, 5$ )

$N$  = jumlah tanaman yang digunakan dalam percobaan

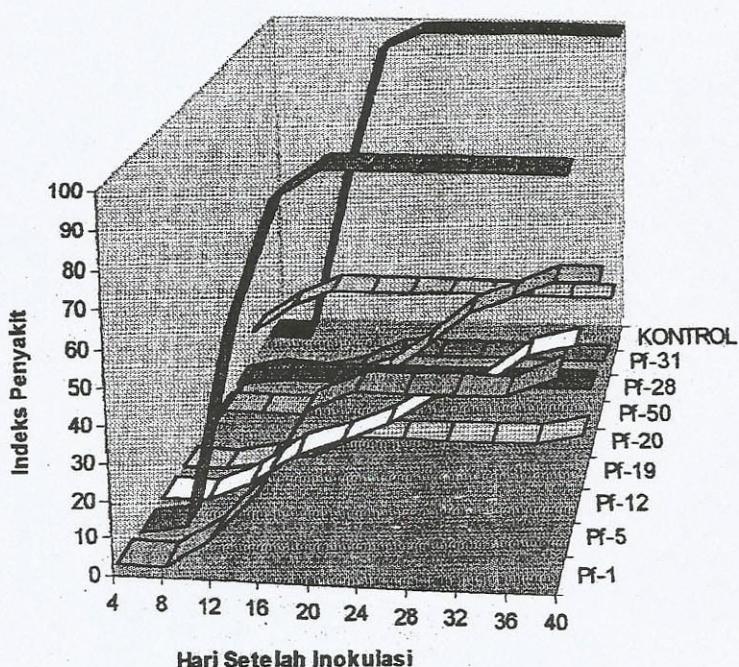
$Z$  = skala keparahan tertinggi

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**1. Pengendalian dengan antagonis tunggal.** *Pengendalian dengan pseudomonad fluoresen.* Tiap isolat yang digunakan dalam percobaan ini mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum*. Isolat Pf-20 menunjukkan kemampuan yang paling tinggi. Pada akhir percobaan tidak ada satupun tanaman yang bergejala penyakit layu. Setelah diulang sekali lagi isolat ini menunjukkan kemampuan yang sama.

Pada plot yang diperlakukan dengan isolat Pf-28, gejala awal baru muncul pada hari ke-16 setelah inokulasi dengan indeks penyakit 6,67, sedangkan pada plot kontrol indeks penyakit telah mencapai 88,9 (Gambar 1). Pada akhir pengamatan, indeks penyakit pada plot yang diperlakukan dengan isolat Pf-28 hanya mencapai 11,1 dengan jumlah tanaman tanpa gejala sebanyak 90%.

Kemampuan yang lain ditunjukkan oleh isolat Pf-12. Gejala awal baru muncul pada hari ke-12 dengan indeks penyakit pada akhir pengamatan sebesar 35,3 (33% tanaman mati).



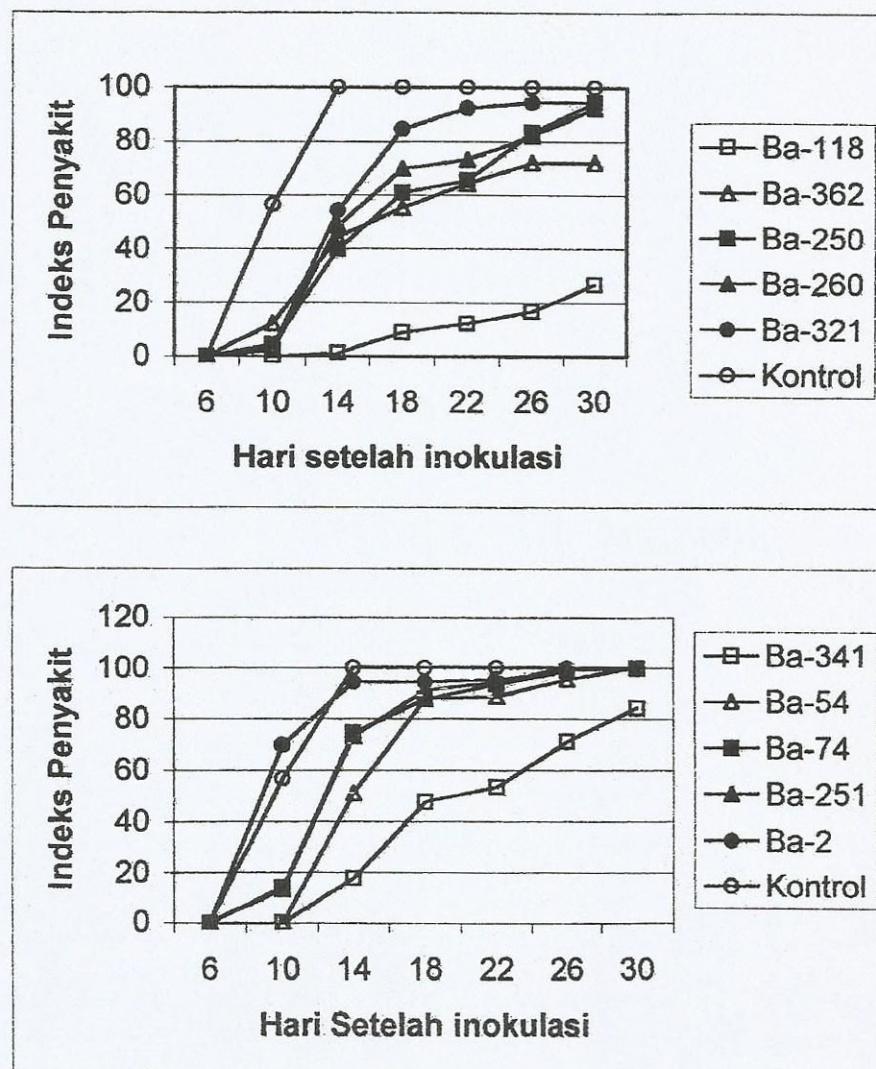
Gambar 1. Perkembangan penyakit layu bakteri pada tembakau di rumah kaca yang diperlakukan dengan pseudomonad fluoresen.

Meskipun isolat yang dicoba dalam penelitian ini semua dapat menghambat pertumbuhan patogen di laboratorium (Diany & Arwiyanto, 1996), hanya beberapa isolat saja yang mampu menekan perkembangan penyakit di rumah kaca. Beberapa peneliti lain melaporkan hal yang sama mengenai adanya kemampuan beberapa isolat antagonis yang berbeda di laboratorium dan rumah kaca (Cook & Baker, 1983; Campbell, 1989; Fravel, 1988). Pada kondisi laboratorium, antagonis hanya berhadapan dengan patogen saja dan berada pada lingkungan yang kaya nutrisi, sehingga mampu mengekspresikan kemampuan penghambatannya. Sedangkan di rumah kaca antagonis dihadapkan pada kondisi lingkungan biotik dan abiotik yang lebih kompleks. Proses seleksi di laboratorium yang hanya didasarkan pada fenomena antibiosis memunculkan isolat-isolat yang tidak konsisten menghambat patogen, meskipun cara ini sangat efisien dalam seleksi pertama terhadap isolat antagonis. Dengan demikian metode ini tidak mungkin

menghasilkan agensia hayati dengan mekanisme lain seperti kompetisi antara agensia hayati dan patogen, atau sinergisme antara mikroorganisme dengan patogen. Hal yang terakhir ini (sinergisme) merupakan suatu mekanisme yang belum pernah diteliti oleh para ahli. Di Jepang dilaporkan bahwa keberadaan ganggang biru-hijau meningkatkan viabilitas dan daya tahan bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*, penyebab penyakit hawar daun bakteri padi, pada saluran irigasi (Goto, 1992). Dengan mengendalikan ganggang tersebut maka penyakit hawar daun dapat ditekan. *Agrobacterium tumefaciens* dapat tumbuh di dalam tanah dengan memanfaatkan Fe<sup>3+</sup> yang dilarutkan oleh organisme lain, sehingga pengendalian bakteri pelarut besi berakibat menurunnya daya bertahan patogen tersebut (Goto, 1992). Kebanyakan agensia hayati yang sudah dikembangkan dan diformulasikan diperoleh dengan mekanisme antibiosis (Fravel & Larkin, 1996) seperti halnya yang digunakan dalam penelitian ini.

**Pengendalian dengan *Bacillus* spp..** Berbeda dengan pseudomonad fluoresen, dari 10 isolat *Bacillus* spp. yang diuji hanya ada satu isolat yang mampu menekan perkembangan penyakit layu di rumah kaca. Isolat Ba-118 mampu menunda kemunculan gejala selama 14 hari yang pada waktu itu pada plot kontrol semua tanaman yang diuji sudah layu. Pada akhir pengamatan, isolat Ba-118 mampu menekan penyakit dengan indeks sebesar 26,7 (Gambar 2). Hal yang sama terjadi pada kesembilan isolat yang diuji yang

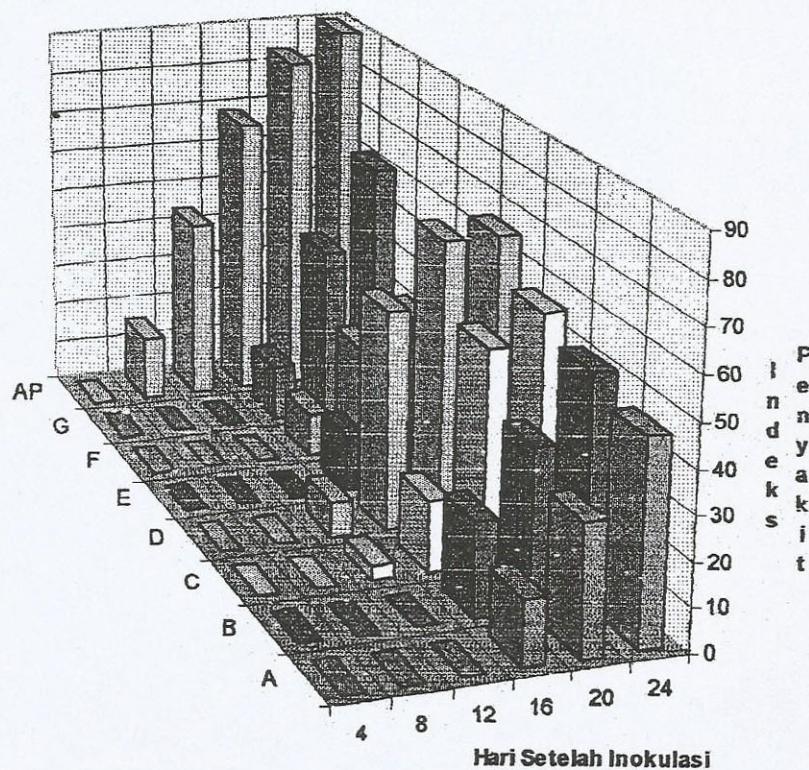
juga mampu menekan pertumbuhan patogen di laboratorium (Risamena & Arwiyanto, 1996), ternyata tidak mampu menekan perkembangan penyakit di rumah kaca. Rendahnya persentase isolat *Bacillus* spp. dalam menekan perkembangan penyakit (satu dari 10 isolat yang diuji) dibandingkan dengan pseudomonad fluoresen (empat dari 10 isolat yang diuji) mungkin karena kebutuhan nutrisinya jauh lebih kompleks, dan kemampuannya untuk mengkoloni akar lebih rendah dibandingkan dengan pseudomonad fluoresen.



Gambar 2. Perkembangan penyakit layu bakteri pada tembakau di rumah kaca yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp.

Beberapa pustaka menyebutkan bahwa pseudomonad fluoresen merupakan kelompok bakteri yang kebutuhan nutrisinya sangat mudah (*nutritionally versatile*), karena mampu memanfaatkan banyak sekali sumber karbon (Stolp & Gadkari, 1991; Suslow, 1982; Weller, 1988). Dengan kemampuannya itu, pseudomonad fluoresen merupakan pengkoloni akar yang efektif (Kloepper *et al.*, 1980) serta mampu menghasilkan berbagai senyawa penghambat pertumbuhan mikroba (Defago *et al.*, 1990) di samping juga mengeluarkan senyawa pemacu pertumbuhan tanaman (Kloepper, 1993; Arshad & Frankenberger, 1993).

**2. Pengendalian dengan kombinasi antagonis.** Kombinasi Ba-118 dan Pf-28 dengan berbagai perbandingan volume menunjukkan bahwa kesemuanya dapat menekan perkembangan penyakit di rumah kaca dengan indeks penyakit yang berbeda-beda. Meskipun demikian, Ba-118 menunjukkan kemampuan lebih baik dalam menekan perkembangan penyakit apabila digunakan sendirian tanpa kombinasi dengan Pf-28 dalam perbandingan volume yang manapun (Gambar 3). Hal ini terlihat dari nilai indeks penyakit pada 24 hari setelah inokulasi yang hanya mencapai 31,65, sedangkan pada kontrol mencapai 90. Dengan demikian Ba-118 dapat menekan penyakit sampai 60%.



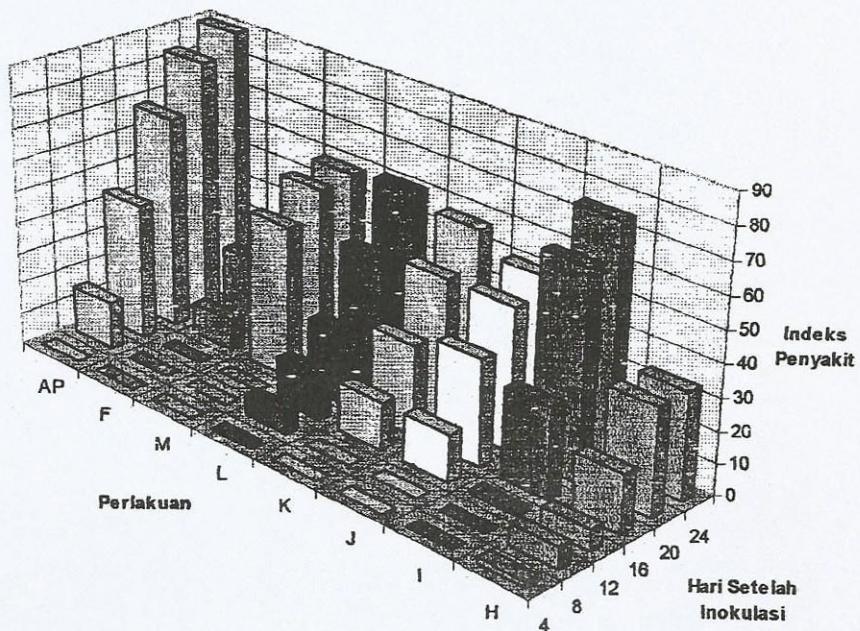
Gambar 3. Perkembangan penyakit layu bakteri tembakau di rumah kaca yang diperlakukan dengan Ba-118 dan kombinasinya dengan Pf-28 (lihat Tabel 1).

Ketika Ba-118 dikombinasikan dengan Pf-31 dengan perbandingan volume 1:1, kemampuan menekan penyakitnya tidak jauh berbeda dengan Ba-118 sendirian, tetapi jauh lebih baik dibandingkan dengan perlakuan Pf-31 sendirian (perlakuan M). Pada akhir pengamatan, plot yang diperlakukan dengan kombinasi Ba-118 + Pf-31 dengan perbandingan volume 1:1 (H) menunjukkan indeks penyakit sebesar 33,3 (Gambar 4). Demikian pula kombinasi antara Ba-118 dengan Pf-33 menunjukkan hasil yang bervariasi (Gambar 5). Indeks penyakit dari kesemua kombinasi antara Ba-118 dengan Pf-33 pada akhir pengamatan menunjukkan angka di atas 50, dan yang tertinggi adalah plot yang diperlakukan dengan strain Pf-33 sendiri (perlakuan S), sedangkan kombinasi antara Ba-118 dengan Pf-15 kesemuanya tidak dapat menekan perkembangan penyakit (Gambar 5).

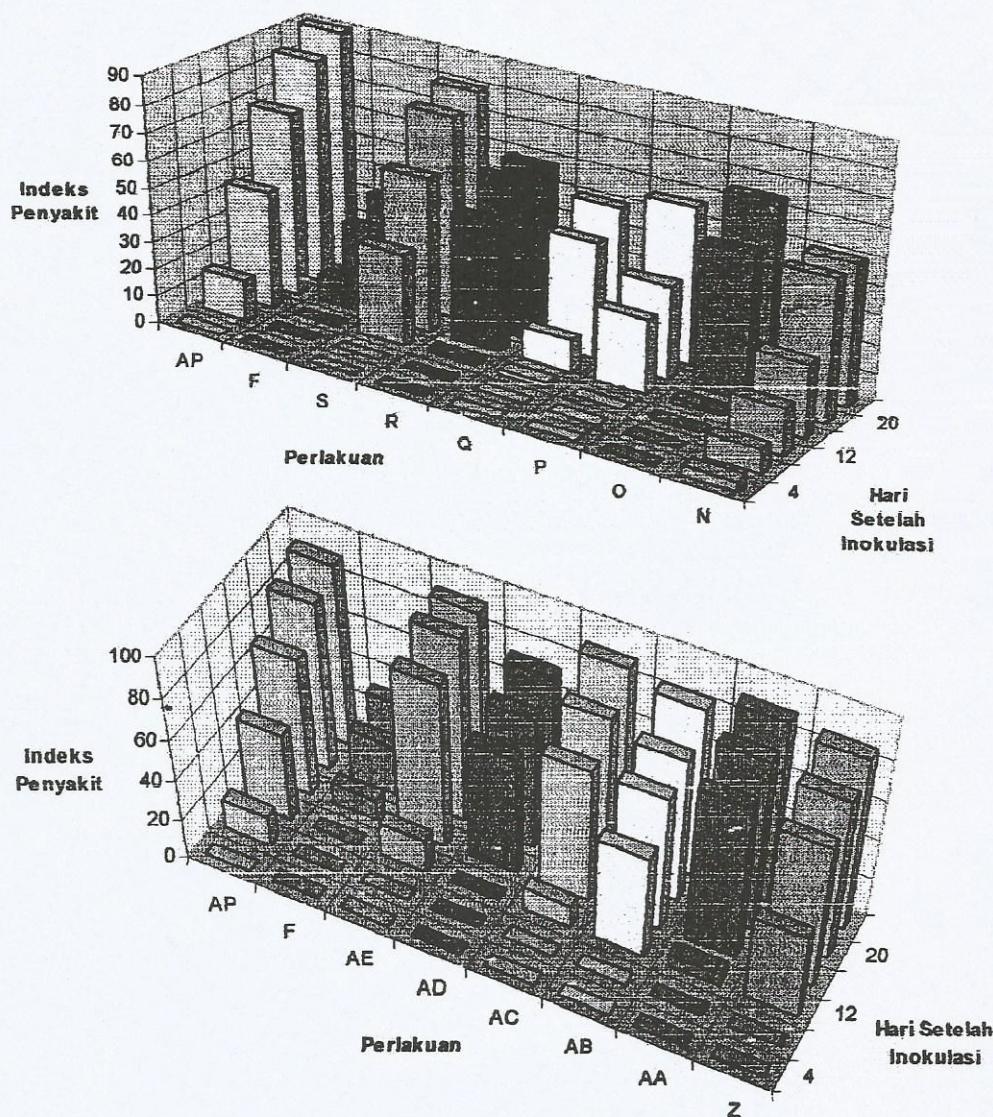
Pada gambar 6 dapat dilihat bahwa campuran antara Ba-118 dan Pf-20 tidak dapat memberikan perlindungan terhadap

penyakit layu sedangkan apabila bakteri-bakteri tersebut diinokulasikan sendirian mampu menekan perkembangan penyakit yang sangat nyata (gambar 1 dan 2).

Tingginya indeks penyakit pada perlakuan kombinasi mungkin karena Ba-118 mempunyai efek penghambatan pertumbuhan terhadap pseudomonad fluoresen yang diuji secara *in vitro* (data tidak ditunjukkan), meskipun secara *in situ* belum diketahui apakah terjadi antagonisme dengan mekanisme antibiosis. Meskipun demikian, penghambatan pseudomonad fluoresen oleh Ba-118 dalam suspensi kombinasi antagonis sepertinya tidak terjadi karena lamanya perendaman tanaman hanya 30 menit. Sebaliknya, pseudomonad fluoresen yang diuji tersebut di atas tidak menghambat pertumbuhan Ba-118 secara *in vitro* (data tidak ditunjukkan). Dengan demikian rendahnya kemampuan kombinasi antara kedua jenis bakteri antagonis tersebut dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri tembakau memerlukan penelitian lebih lanjut.



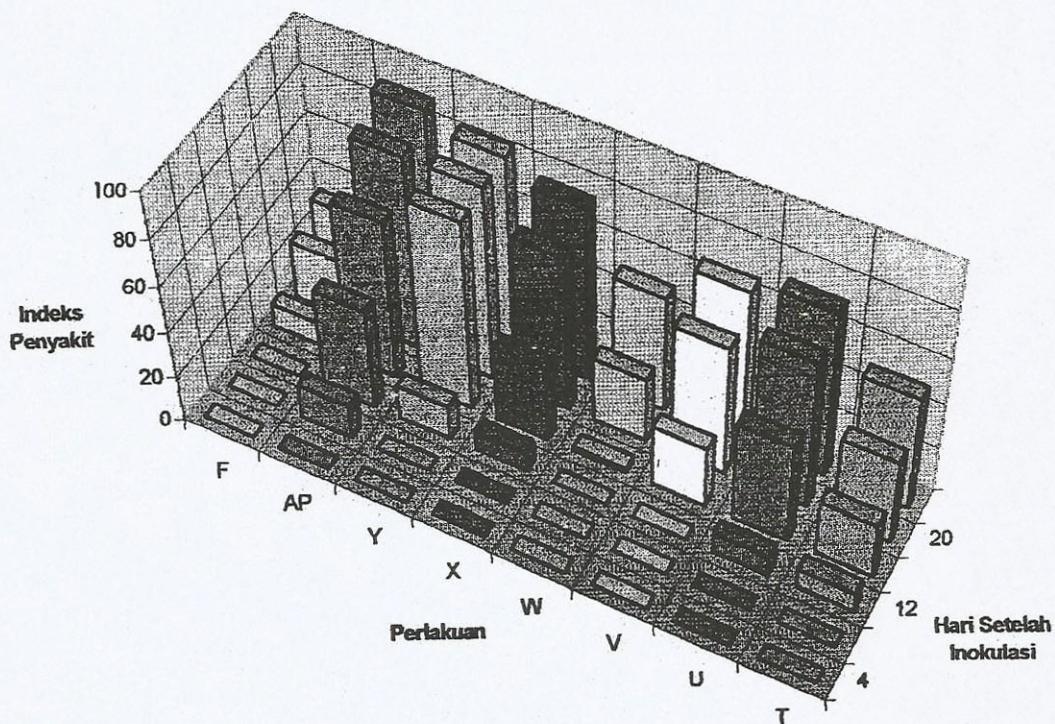
Gambar 4. Perkembangan penyakit layu bakteri tembakau di rumah kaca yang diperlakukan dengan Ba-118 dan kombinasinya dengan Pf-31 (lihat Tabel 1).



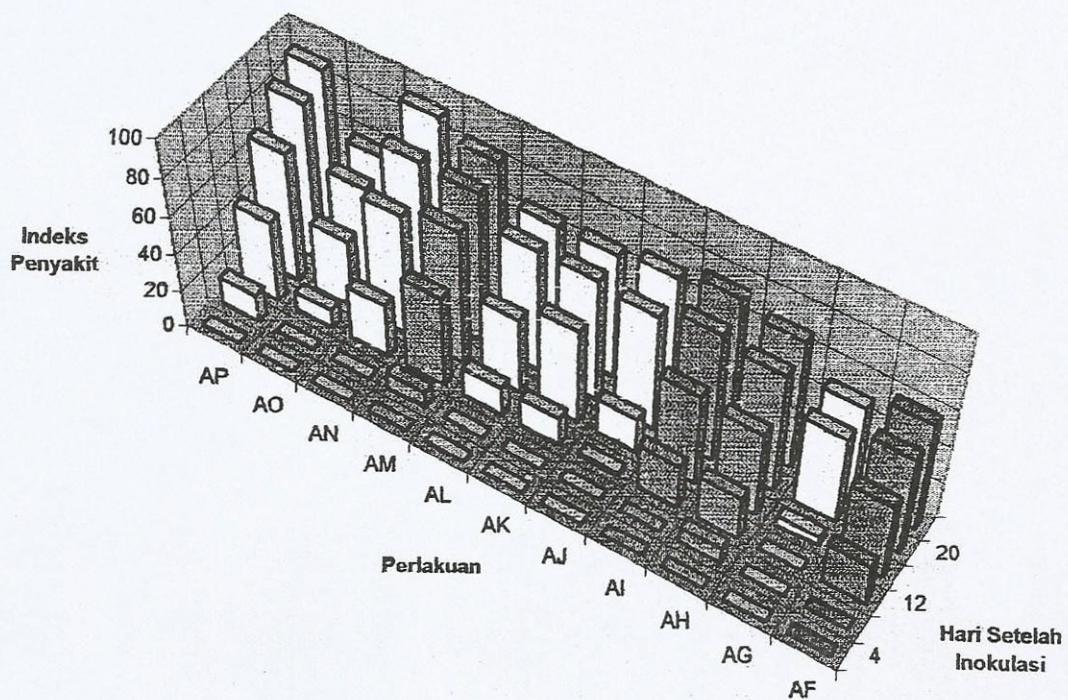
Gambar 5. Perkembangan penyakit layu bakteri tembakau di rumah kaca yang diperlakukan dengan Ba-118 dan kombinasinya dengan Pf-33 (atas) dan Pf-15 (bawah) (lihat Tabel 1).

Kombinasi antar-pseudomonad fluoresen juga tidak memberikan hasil yang menggembirakan (Gambar 7). Kesemua kombinasi menunjukkan indeks penyakit yang tinggi di atas 50, bahkan kombinasi antara Pf-33 dan Pf-15 memperparah penyakit. Pada plot kontrol yang tidak diperlakukan dengan antagonis, indeks penyakit pada akhir pengamatan menunjukkan angka 90 tetapi pada

kombinasi antara Pf-33 dan Pf-15 indeks tersebut sebesar 93,35. Kompetisi nutrisi dan ruang fisik maupun ruang biologi antar-pseudomonad fluoresen mungkin menyebabkan turunnya kemampuan dalam menekan penyakit. Antagonisme yang berupa antibiosis kecil kemungkinannya, karena secara *in vitro* isolat pseudomonad fluoresen tersebut tidak saling menghambat.



Gambar 6. Perkembangan penyakit layu bakteri tembakau di rumah kaca yang diperlakukan dengan Ba-118 dan kombinasinya dengan Pf-20 (lihat Tabel 1).



Gambar 7. Perkembangan penyakit layu bakteri tembakau di rumah kaca yang diperlakukan dengan kombinasi pseudomonad fluorescen (lihat Tabel 1).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini merupakan sebagian dari hasil penelitian RUT-IV yang dibiayai oleh Bappenas melalui Dewan Riset Nasional dengan nomor kontrak 85/SP/RUT/BPPT/IV/97. Penulis mengucapkan banyak terima kasih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arshad, M. & W.T. Frankenberger Jr. 1993. Microbial Production of Plant Growth Regulators. pp. 307-348. In : J.B. Metting Jr. (ed.) *Soil Microbial Ecology. Application in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Arwiyanto, T.; M. Goto; S. Tsuyumu & Y. Takikawa. 1994. Biological Control of Tomato Bacterial Wilt with the use of Avirulent Strain of *Pseudomonas solanacearum* Isolated from *Strelitzia reginae*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 60:421-430
- Arwiyanto, T. 1995. Strategi Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Tembakau Cerutu di Sumatera Utara Secara Terpadu. *Ekspos Hasil Penel. Tembakau 1995*, Medan. 34 p.
- Arwiyanto, T. 1997. Pengendalian Hayati Penyakit Layu Bakteri Tembakau. 1. Isolasi Bakteri Antagonis. *J. Perlind. Tan. Indon.* 3 : 44-60
- Cook, R.J. & Baker, K.F. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 539 p.
- Campbell, R. 1989. *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Defago, G; C.H. Berling; U. Burger; D. Haas; G. Kahr; C. Keel; C. Voistard; P. Wirthner; & B. Wurthrich. 1990. Suppression of Black Root of Tobacco and other Root Diseases by Strains of *Pseudomonas fluorescens*: Potential Applications and Mechanisms. p. 75-81. In: D. Hornby (ed.) *Biological Control of Soilborne Plant Pathogens*, CAB Internat. Wallingford.
- Diany, V. & Arwiyanto, T. 1996. Pengendalian Hayati Penyakit Layu Bakteri Tembakau dengan pseudomonad fluoresen. 1. Isolasi Bakteri Antagonis. Sem. Reg. III PFI Komda Jawa Tengah dan DIY, Salatiga.
- Fravel, D.R. 1988. Role of Antibiosis in the Biocontrol of Plant Diseases. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26: 75-91
- Fravel, D.R. & R.P. Larkin. 1996. Availability and Application of Biocontrol Products. *Biol. Cult. / Tests for Control of Plant Dis.* 11: 1-7
- Goto, M. 1992. *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. Acad. Press. San Diego. 342p.
- Hartana, I. 1978. *Budidaya Tembakau Cerutu I. Masa Pra-Panen*. Balai Penelit. Perkeb. Jember. 107 p.
- Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *North Carolina Agric. Exp. Sta. Tech. Bull.* 99.
- Kloepper, J.W. 1993. Plant Growth -Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents. pp. 255-274. In : J.B. Metting Jr. (ed.) *Soil Microbial Ecology. Application in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Kloepper, J.W., M.N. Schroth & T.D. Miller. 1980. Effect of Rhizosphere Colonization by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Potato Plant development and Yield. *Phytopathology* 70: 1078-1082.
- Risamena, J. & Arwiyanto, T. 1996. Pengendalian Hayati Penyakit Layu Bakteri Tembakau dengan *Bacillus* spp.. 1. Isolasi Bakteri Antagonis. Sem. Reg. PFI Komda Jawa Tengah dan DIY, Salatiga.
- Stolp, H. & Gadkari. 1991. Nonpathogenic Members of the Genus *Pseudomonas*. p. 719-741. In: M.P. Starr, H. Stolp, H.G. Truper, A. Balows, and H.G. Schlegel (eds.) *The Prokaryotes; A handbook on Habitats, Isolation, and Identification of Bacteria*. Vol 1. Springer-Verlag Berlin.
- Suslow, T.V. 1982. Role of Root-Colonizing Bacteria in Plant Growth. In: M.S. Mount and G.H. Lacy (eds.), *Phytopathogenic Prokaryotes*. p. 187-223. Vol 1. Academic Press. New York.
- Weller, D.M. 1985. Application of Fluorescent Pseudomonads to Control Root Diseases. pp. 137-140. In: C.A. Parker, A.D. Rovira, K.J. Moore, and P.T.W. Wong (eds.), *Ecology and Management of Soilborne Plant Pathogens*. Proc. Fourth Internat. Congr. of Plant Pathol. Section 5. Amer. Phytopath. Soc. St Paul, Minnesota.
- Weller, D.M. 1988. Biological Control of Soilborne Plant Pathogens in the Rhizosphere with Bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 28: 379-407