

Pengaruh Kombinasi *Pseudomonad* Fluoresen Dan Em4 Dalam Menghambat Pertumbuhan *Blood Disease Bacteria* (Bdb) Penyebab Penyakit Darah Tanaman Pisang Secara *In Vitro*

Maemunah¹, Azwir Anhar¹, Linda Advinda¹

¹Program Studi Biologi, FMIPA UNP

email: Maemunah1201382@gmail.com

Abstract

Blood Disease Bacteria is one obstacle in cultivation of bananas. BDB can be controlled using biological agents. Biological agents that can be used to control of blood diseases are *Pseudomonad fluorescent* and microorganisms in EM4. *Pseudomonad fluorescent* used as biological agents because of its ability to produce antimicrobial compounds such as siderophores, antibiotics, volatile and cyanide. other than that, the EM4 microorganisms can produce antimicrobial against several bacterial pathogens. This study aims to determine the effect of combination *Pseudomonad fluorescent* and EM4 to inhibit the growth of BDB in vitro. This research was conducted in January 2016 in the Laboratory of Microbiology Department of Biology FMIPA UNP. Research using a completely randomized design (RAL) with 6 treatments and 3 replications. The study treatment is a combination of *Pseudomonads fluorescent* and EM4. The observation was done by measuring the clear zone formed around the paper disc. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and the test of Duncan New Multiple Range Test (DNMRT) at 5% level. The research proves that the combination resulted in inhibition zone around the paper disc. Inhibition zone shows that the combination inhibits the growth of BDB in vitro. Inhibition zone is formed as fluorescent *Pseudomonads* and microbes on EM4 produce secondary metabolites that can inhibit the growth of BDB.

Key Word: *Pseudomonad flourecent*, BDB, EM4

I. PENDAHULUAN

Pisang merupakan komoditas buah-buahan penting yang ada di Indonesia yang sangat mendukung ekonomi dan aktifitas budaya. Habitat pisang tersebar di dataran rendah dan dataran tinggi. Budidaya tanaman pisang memiliki beberapa kendala, salah satunya adalah penyakit layu pisang.^[1]

Sumatera Barat merupakan provinsi paling parah terkena serangan penyakit layu pisang. Diperkirakan lebih dari 60% areal pertanaman pisang tradisional di Sumatera Barat

sudah rusak oleh penyakit ini. Penyakit layu pisang disebabkan oleh dua patogen yaitu jamur *Fusarium oxysporum cubense* dan *Blood Disease Bacteria*.^[2]

Penyakit pisang yang disebabkan oleh *Blood Disease Bacteria* (BDB) disebut juga dengan penyakit darah atau penyakit layu bakteri. Gejala penyakit darah adalah tanaman layu total. Pada buah pisang yang terserang, bagian yang seharusnya berisi daging buah menjadi berisi cairan kental yang berwarna merah kecoklatan.^[3]

Penyakit darah menjadi kendala utama pada produksi pisang di beberapa daerah, di Indonesia. Kerusakan tanaman pisang yang disebabkan oleh penyakit tersebut berkisar antara 27 – 80%.^[4] Penyakit darah dapat dikendalikan dengan menggunakan pestisida kimia. *Cupravit* dan *agrimycin* yang dapat menghambat pertumbuhan koloni BDB pada media agar. Bahan kimia *cupravit* mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan koloni BDB lebih besar dari pada *agrimycin*. Kemampuan *cupravit* dalam menekan pertumbuhan koloni BDB pada konsentrasi 250 ppm, sedangkan *agrimycin* pada konsentrasi 500 ppm.^[3] Namun, penggunaan pestisida kimia sulit didegradasi secara alami sehingga dapat menimbulkan masalah pencemaran lingkungan. Salah satu alternatif pengendalian yang ramah lingkungan untuk mengelola penyakit ini ialah dengan memanfaatkan agens biokontrol. Agens biokontrol adalah makhluk hidup yang berperan sebagai penekan perkembangan patogen dengan cara menghambat pertumbuhan dan perkembangan patogen tersebut. Agens biokontrol dikenal dengan pengendalian hayati.^[5] Salah satu agen hayati untuk penyakit darah pada pisang adalah *Pseudomonad fluorens*.^[6]

Pseudomonad fluorens merupakan kelompok bakteri yang banyak digunakan sebagai agensia pengendali hayati dan dikenal pula sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR).^[7] Pemanfaatan *Pseudomonad fluorens* sebagai agensia pengendali hayati telah banyak dilakukan karena kemampuannya dalam menghasilkan senyawa

antimikrobia seperti *siderofor*, antibiotik, senyawa *volatil*, dan asam *sianida*.^[8] Advinda^[9] melaporkan bahwa isolat *Pseudomonad fluorens* yang berasal dari *rizosfir* pisang jantan mampu menekan serangan *Blood Disease Bacteria* (BDB) pada bibit pisang Barangan melalui peningkatan aktivitas enzim fenilalanina amonia liase (FAL) dan peroksidase (PO).

Pseudomonas sp. mampu menghambat *Xanthomonas campestris* secara *in vitro* dengan persentase keberhasilan sebesar $30.92 \pm 3.17\%$,^[10] mengendalikan penyakit patik (*Cercospora nicotianae*) pada tembakau (ADDY, 2008), dan dapat mengendalikan *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* pada tanaman tomat.^[11] *Pseudomonad fluorens* juga memiliki kemampuan dalam mengendalikan penyakit BDB (*Blood Disease Bacteria*) yang menyerang tanaman pisang secara *in vitro*.^[6] Baharudin^[12] melaporkan bahwa penggunaan *Pseudomonas floresens* dan *Basilus subtilis* yang ditambah dengan EM4 lebih efektif dalam mengendalikan penyakit layu bakteri pada tanaman kentang (*Solanum tuberosum*) dibandingkan *Pseudomonas floresens* dan *Basilus subtilis* yang tidak ditambah EM4.

Penggunaan mikroorganisme efektif (EM4) merupakan salah satu teknologi yang dapat digunakan dalam usaha pengelolaan pertanian yang mampu mengurangi pengaruh negatif terhadap lingkungan.^[13] Komposisi EM4 adalah beberapa mikroorganisme dan unsur hara. Mikroorganisme yang terdapat pada EM4 adalah total plate count: $2,8 \times 10^6$, bakteri pelarut fosfat : $3,4 \times 10^5$, *Lactobacillus* $3,0 \times 10^5$,

yeast $1,95 \times 10^3$, *Actinomycetes*, dan bakteri fotosintesis.

Bakteri pelarut fosfat memiliki kemampuan antagonis terhadap *Ralstonia solanacearum*.^[14] *Lactobacillus* mampu menghambat berbagai jenis bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Vibrio*, *Listeria*, *Shigella*, *Staphylococcus* secara *in vitro*. Sejumlah *Lactobacillus* mampu menghasilkan komponen antimikroba yang disebut *bakteriosin* misalnya *asidolin*, *asidofilin*, *laktosidin*.^[15]

II. METODE PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen.

B. Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Januari tahun 2016 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

C. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoclave, gelas piala, gelas ukur, Erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, pipet volume, pisau cutter, batang pengaduk, lampu spiritus, kamera, jangka sorong, dan pensil.

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah bakteri BDB yang diperoleh dari pisang yang terinfeksi BDB, *Pseudomonad fluoresen* hasil penapisan Advinda^[6] EM4 yang di produksi oleh PT. Songgolangit Persada, medium Triphenyl Tetrazolium Salt (TTC) (pepton, casein, Hydrolysate, glukosa, agar oxiid, dan TTC), medium King's B padat, medium NA, aquadest, BaCl_2 , H_2SO_4 , alkohol 70 %, aluminium foil,

wraiping, kertas cakram, kertas label dan tisu.

D. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah kombinasi *Pseudomonad fluoresen* dan EM4.

- Perlakuan A = *Pseudomonad fluoresen* kerapatan 3×10^8 sel/mL + EM4 0,5 %
- Perlakuan B = *Pseudomonad fluoresen* kerapatan 3×10^8 sel/mL + EM4 konsentrasi 1 %
- Perlakuan C = *Pseudomonad fluoresen* kerapatan 3×10^8 sel/mL + EM4 konsentrasi 1,5 %
- Perlakuan D = *Pseudomonad fluoresen* kerapatan 6×10^8 sel/mL + EM4 konsentrasi 0,5 %
- Perlakuan E = *Pseudomonad fluoresen* kerapatan 6×10^8 sel/mL + EM4 konsentrasi 1 %
- Perlakuan F = *Pseudomonad fluoresen* kerapatan 6×10^8 sel/mL + EM4 konsentrasi 1,5 %

E. Prosedur Penelitian

1) Persiapan penelitian

a) Sterilisasi alat

Alat yang terbuat dari kaca dicuci bersih dan dikeringkan, dibungkus dengan menggunakan kertas dan dimasukkan kedalam plastik kemudian disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 15 per square inch (psi) selama 15 menit. Pinset dan jarum ose disterilisasi dengan pemijaran spiritus. Alat yang tidak tahan panas tinggi disterilisasi dengan alkohol 70 %.

b) Pembuatan medium King's B padat

Ditimbang protease pepton sebanyak 4 g, K_2HPO_4 sebanyak 0,375 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ sebanyak 0,375 g, agar okzoid sebanyak 3,75 g gliserol sebanyak 3,75 mL, lalu bahan tersebut dimasukkan beaker glass dan ditambahkan akuades sampai volume 250 mL. Larutan ini dipanaskan sampai mendidih, lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup rapat dengan aluminium foil. Sterilisasi di dalam autoclave pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

c) Pembuatan medium NA

Media NA ditimbang sebanyak 20 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 mL, kemudian tambahkan akuades sampai volume 1000 mL. Medium dipanaskan sampai mendidih dan setelah dingin ditutup rapat dengan menggunakan kapas dibalut dengan aluminium foil kemudian sterilisasi dalam autoclave pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

d) Pembuatan kertas cakram

Kertas cakram dibuat dengan 4 lembar kertas saring yang dilubangi dengan pelubang kertas berdiameter 5 mm, kemudian kertas cakram dimasukkan ke dalam cawan petri dan disterilisasi dengan menggunakan autoclave dengan temperatur $121^\circ C$ pada tekanan 15 psi selama 15 menit.

2) Pelaksanaan penelitian

a) Penyediaan suspensi Pseudomonad fluoresen

Pseudomonad fluoresen yang digunakan adalah isolat PfPj1 hasil

penapisan Advinda^[6]. Isolat Pseudomonad fluoresen diremajakan dalam cawan petri pada medium King's B padat dengan metode gores dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Kemudian Pseudomonad fluoresen disuspensikan ke dalam aquades steril sampai kekeruhannya sama dengan standar larutan Mc Farland's (108 sel /mL. Skala Mc Farland's dibuat dengan mencampurkan larutan $BaCl_2$ 1 % dan larutan H_2SO_4 1 %

b) Penyediaan inokulum Blood Disease Bacteria (BDB)

Blood Disease Bacteria (BDB) didapatkan dari buah pisang yang terserang BDB yang diambil dari daerah Lubuk Minturun. Buah pisang dikupas kulit luarnya dan dipotong-potong sebesar 0,5 X 0,5 x 0,5 cm (terbawa jaringan yang sakit). Kemudian diambil 5 potongan jaringan buah pisang dan direndam dalam alkohol 70% selama 2 menit. kemudian potongan jaringan tersebut dibilas dengan akuades steril. Selanjutnya potongan jaringan tersebut digerus dalam lumpang alu dan disaring dengan kain kasa, dan memasukan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL aquades steril. 1 mL dan ditanam pada medium *Triphenyl Tetrazolium Chloride* (TTC). Selanjutnya diinkubasi selama 48 jam. Bakteri Blood Disease Bacteria (BDB) yang tumbuh dapat ditandai dengan adanya warna kemerahan pada medium TTC.

c) Pembuatan kombinasi Pseudomonad fluoresen dan EM4

Pembuatan larutan Pseudomonad fluoresen dan EM4 dengan kombinasi sebagai berikut :

- Perlakuan A = Pseudomonad fluoresen kerapatan 3×10^8 sel/mL + EM4 0,5 %
- Perlakuan B = Pseudomonad fluoresen kerapatan 3×10^8 sel/mL + EM4 konsentrasi 1 %
- Perlakuan C = Pseudomonad fluoresen kerapatan 3×10^8 sel/mL + EM4 konsentrasi 1,5 %
- Perlakuan D = Pseudomonad fluoresen kerapatan 6×10^8 sel/mL + EM4 konsentrasi 0,5 %
- Perlakuan E = Pseudomonad fluoresen kerapatan 6×10^8 sel/mL + EM4 konsentrasi 1 %
- Perlakuan F = Pseudomonad fluoresen kerapatan 6×10^8 sel/mL + EM4 konsentrasi 1,5 %

d) Uji potensi kombinasi Pseudomonad fluoresen dan EM4 dalam mengendalikan BDB secara in vitro.

Sebanyak 0,1 mL suspensi Blood Disease Bacteria (kepadatan 3×10^8 sel/mL berdasarkan skala 1 Mc Farland's) diinokulasi pada medium NA dalam cawan petri menggunakan metode tuang. Kemudian suspensi diratakan dengan drill glass. Diambil 1 kertas cakram, kemudian dicelupkan dengan menggunakan pinset ke suspensi Pseudomonad fluoresen dan EM4 sesuai perlakuan, difiksasi di udara selama 1 menit sampai kertas cakram mengering. Kertas

cakram tersebut diletakkan di medium NA yang telah diinokulasi suspensi *Blood Disease Bacteria* (BDB). Kegiatan dilakukan secara aseptis dengan selalu menyalakan Bunsen. Biakan diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar.^[6]

3) Pengamatan penelitian

Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk pada kertas cakram. Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Kemudian zona hambat yang telah diukur dirata-ratakan untuk mendapatkan nilai rata-rata zona hambat.

F. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Analisis of Varians* (ANOVA). Jika terdapat perbedaan maka dilakukan uji lanjut *Duncan New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf nyata 5%.^[16]

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi Pseudomonad fluoresen dan EM4 dapat menghasilkan zona hambat terhadap BDB (dapat dilihat pada Tabel 1.).

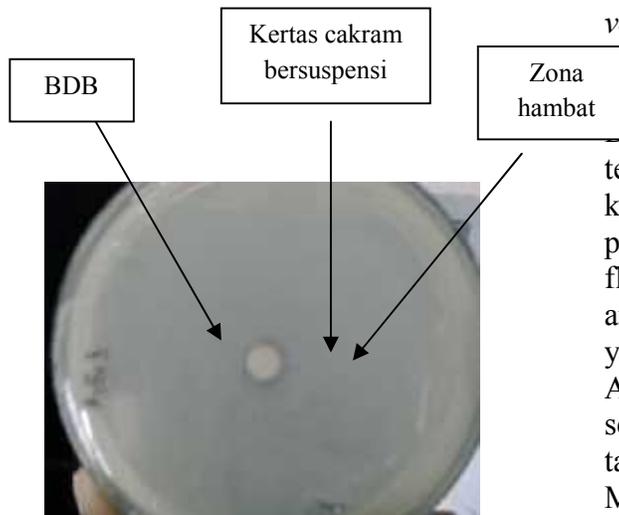
Pada tabel 1. terlihat perlakuan D memperlihatkan rerata zona hambat terbesar yaitu 11,02 mm. Sedangkan rerata zona hambat terkecil terdapat pada perlakuan A yaitu 10,16 mm.

Kombinasi Pseudomonad fluoresen dan EM4 yang diberikan berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan BDB secara in vitro. Kemampuan ini dapat dilihat dari zona hambat terbentuk di sekitar kertas cakram yang sebelumnya telah dicelupkan dengan suspensi (dapat dilihat pada gambar). Tetapi,

antar kombinasi memberikan pengaruh yang tidak nyata dalam menghambat pertumbuhan BDB secara *in vitro*. Hal ini dapat dilihat dari F hitung (0,39) yang lebih kecil dari F Tabel 1. (3,11) (dapat dilihat pada lampiran 3), oleh karena itu tidak dilakukan uji lanjut.

Tabel 1. Rerata zona hambat kombinasi *Pseudomonad fluorensen* dan EM4 terhadap pertumbuhan BDB (mm)

Perlakuan	Rerata
A	10,16
B	10,61
C	10,84
D	11,02
E	10,70
F	10,60



Gambar 1. Diameter zona hambat kombinasi *Pseudomonad fluorensen* dan EM4 terhadap pertumbuhan BDB

Pseudomonad fluorensen dan EM4 dapat mengendalikan BDB secara *in vitro*. Hal ini dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang berisi suspensi. Zona hambat terbentuk akibat difusi senyawa penghambat yang dihasilkan *Pseudomonad fluorensen* maupun

mikroba pada EM4 (bakteri pelarut Fosfat, *Lactobacillus*, *Yeast*, *Actinomycetes*, dan bakteri fotosintesis). Senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan BDB keluar dari cakram yang mengandung suspensi *Pseudomonad fluorensen* dan EM4 ke dalam media. Zona hambat mengakibatkan terbentuknya cincin hambatan pada pertumbuhan BDB. Semakin besar zona hambat yang terbentuk terhadap pertumbuhan BDB menandakan suspensi mempunyai aktivitas yang semakin baik dalam mengendalikan BDB.

Pseudomonad fluorensen dapat mengendalikan BDB karena menghasilkan metabolit sekunder berupa siderofor, antibiotik, senyawa volatil dan asam sianida.^[8] Siderofor dapat mengikat Fe pada lingkungan sehingga lingkungan defisiensi Fe. Defisiensi Fe dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan patogen, karena Fe menjadi tidak tersedia bagi patogen. Selain itu, *Pseudomonad fluorensen* juga menghasilkan 2 antibiotik *Chlorinated phenylpyrol* yaitu *Pyroluteorin* dan *Pyrolnitrin*. Antibiotik *Pyrolnitrin* dapat bertahan selama 30 hari didalam tanah lembab tanpa kehilangan aktivitasnya.^[6] Metabolit sekunder yang dihasilkan ini berperan dalam menghambat pertumbuhan BDB.

Semakin besar zona hambat yang dibentuk menandakan metabolit sekunder yang dihasilkan *Pseudomonad fluorensen* seperti siderofor, volatil, asam sianida maupun antibiotik yang berperan untuk menghambat BDB semakin banyak jumlahnya. Semakin banyak jumlah metabolit sekunder yang

dihasilkan semakin menghambat pertumbuhan BDB.

Hasil penelitian ini memperlihatkan kombinasi Pseudomonad fluoresen dan EM4 dapat membentuk zona hambat terhadap BDB. Hal ini dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram yang berisi suspensi Pseudomonad fluoresen dan EM4. Kombinasi Pseudomonad fluoresen dan EM4 membentuk zona hambat karena adanya metabolit sekunder yang dihasilkannya.

Mikroorganisme yang terdapat pada EM4 mampu meningkatkan dekomposisi senyawa organik. Selain itu, EM4 mikroorganisme yang terdapat pada EM4 juga dapat dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan patogen. Mikroorganisme yang terdapat pada EM4 adalah *total plate count*: $2,8 \times 10^6$, bakteri pelarut fosfat : $3,4 \times 10^5$, *Lactobacillus* $3,0 \times 10^5$, *yeast* $1,95 \times 10^3$, *Actinomycetes*, dan bakteri fotosintesis.

Actinomycetes memiliki kemampuan parasitisme terhadap patogen tanaman.^[8] Salah satu genus dari *actinomycetes* adalah *Streptomyces*. *Streptomyces* menghasilkan beberapa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan BDB. Antibiotik yang dihasilkan *Streptomyces* adalah *Erythromycin*, *Kanamycin*, *Neomycin*, *Nystatin*, *Rifampin*, *Streptomycin*, *Tetracyclines*, *Vancomycin*, *Aminoglycosides*, *Macrolide*, *Daptomycin* dan *Platensimycin*.^{[17], [18]} Antibiotik ini menghambat pertumbuhan BDB dan membentuk zona hambat disekitar kertas cakram. Selain itu, EM4 menghambat pertumbuhan BDB dalam

bentuk zona hambat karena EM4 mengandung bakteri pelarut fosfat.

Bakteri pelarut fosfat memproduksi antibiotik *iturin* dan *surfactin*.^[14] Senyawa *iturin* terdiri dari beberapa komponen, antara lain *D residu asparigin*, *L asparigin*, *L-glutanin*, *L-prolin*, *L-serin*, dan *D tirosin*. Senyawa *iturin* tersebut bersifat antibiotik berspektrum luas, antibakteri dan cendawan potogenik baik pada hewan maupun pada tumbuhan.^[19] Kemampuan bakteri pelarut fosfat dalam menghasilkan antibiotik dapat dimanfaatkan sebagai biokontrol terhadap BDB. Selain itu, Bakteri Pelarut Fosfat dapat dijadikan biokontrol karena menghasilkan antibiotika *tetracycline*, *oksitetra*, dan *cycline*. Penggunaan Bakteri pelarut fosfat sebagai agen untuk mengurangi serangan BDB dengan produksi asam organik serta enzim *fosfatase*.^[14] Selain Bakteri Pelarut Fosfat, zona hambat juga di sebabkan oleh adanya *Lactobacillus*.

Lactobacillus mampu menghambat berbagai jenis bakteri patogen. sejumlah *Lactobacillus* mampu menghasilkan komponen antimikroba yang disebut *bakteriosin* seperti *asidolin*, *asidofilin* maupun *laktosidin*.^[15] *Lactobacillus* menghasilkan senyawa asam organik terutama asam laktat sebagai hasil metabolit yang bersifat antimikroba terhadap bakteri BDB. Komponen inilah yang mampu menekan perkembangan BDB dalam bentuk zona hambat.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kombinasi *Pseudomonas fluorescens* dan EM4 dapat menghambat pertumbuhan BDB secara *in vitro*, hal ini dibuktikan dengan zona hambat disekitar cakram bersuspensi.

B. Saran

Disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kombinasi *pseudomonas fluorescens* dengan EM4 secara *in planta* sehingga dapat di terapkan oleh petani pisang dalam menangani penyakit BDB yang menyerang tanaman pisang.

REFERENSI

1. Suswati, Nasir N., dan Azwana. 2013. Peningkatan Ketahanan Tanaman Pisang Barangan Terhadap *Blood Disease Bacterium* (BDB) dengan Aplikasi *Fungi Mikoriza Arbuskular Indigenus*. *Jurnal. HPT Tropika*. Vol. 13(1): 96 – 104.
2. Nasir, N., Jumjunidang dan Riska. 2005. Distribusi Penyakit *Fusarium* dan Layu Bakteri *Rolstania* pada Lokasi Sumber Bibit dan Sekolah Lapangan Pengendalian Hama Terpadu Pisang di Sumatera Barat. *Jurnal Hort*. Vol. 15 (3): 225-222.
3. Asrul. 2008. Uji Sensitivitas Koloni BDB Terhadap Pemberian Bahan Kimia Secara *In Vitro*. *Jurnal Agroland*. Vol. 13 (3): 198-203.
4. Hermanto, C., Harlion, Subhana, Mujiman K. dan Mukminin, 2001. Identifikasi Komponen Penduga Perkembangan Penyakit Layu Bakteri Pisang. *Jurnal Hortikultura* Vol. 11 (4): 254 – 259.
5. Nawangsih, A. A dan Fitri F. W. 2014. Interaksi antara Bakteri Endofit dan Bakteri Perakaran Pemacu Pertumbuhan Tanaman dalam Menekan Penyakit Layu Bakteri pada Tomat. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. Vol. 10 (5): 145–152.
6. Advinda, L., Mades F. dan Yossi R. 2014. Potensi *Pseudomonas fluorescens* Isolat CAS3 pada Beberapa Formula dengan Penambahan Stabilizer Gliserol dalam Mengendalikan *Blood Disease Bacterium* (BDB) Secara *In Vitro*. *Jurnal Sainstek*. Vol. 6 (2): 102-109.
7. Sige, D. C. 2005. *Bacterial Plant Pathology Cell and Molecular Aspects*. London: Cambridge University
8. Whipps, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 52(1): 487-511.
9. Advinda, L. 2007. Seleksi Isolat *Pseudomonas fluorescens* dalam Menginduksi Ketahanan Bibit Pisang Terhadap Penyakit Darah: *Jurnal Sainstek*. Vol 10(1).
10. Wulansari, N., T. 2015. Upaya Pengendalian Penyebab Penyakit Busuk Hitam pada Tanaman Brokoli (*Brassica Oleracea Var. Italica*) dengan Antagonisnya. *Tesis*. Denpasar: Program Pascasarjana Universitas Udayana.

11. Soesanto L., Endang M, dan Ruth F. R. 2010. Kajian Mekanisme Antagonis *Pseudomonas flouresen* P60 Terhadap *Fusarium oxysporum* F. *Sp. Lycopersici* pada Tanaman Tomat *In Vivo*. *Jurnal HPT Tropika*. Vol. 10(2): 108-115.
12. Baharuddin, Amin N. dan Kohar S. 2003. Keefektifan Bakteri Antagonis *Pseudomonas flouresen* dan *Bacillus subtilis* yang Dikombinasikan dengan EM4 dan Bokhasi dalam Mengendalikan Penyakit Layu Bakteri *Rolstania solanacearum* E. F. Smith (*Yabuuchi*) pada Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*). *Indonesian Journal of Phytomedicine*. Vol. 5 (1): 24-27.
13. Syafruddin dan Safrizal H. D. 2013. Pengaruh Kosentrasi dan Waktu Aplikasi EM4 Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Cabai (*Capsicum annum*) pada Tanah Ensitol. *Jurnal Agrista*. Vol. 17(2): 71-77.
14. Setiawati, T. C. dan Paniman, A. M. 2008. Identifikasi dan Kuantifikasi Metabolit Bakteri Pelarut Fosfat dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas *Rhizoctonia solani* pada Tanaman Kedelai. *Jurnal Tanah Trop*. Vol. 13, (3): 233-240.
15. Sunaryanto, R., Efrida M., dan Bambang M. 2014. Uji Kemampuan *Lactobacillus Casei* Sebagai Agensia Probiotik. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains*. Vol 01 (1): 9-15.
16. Hanafiah, K. A. 1997. *Rancangan Percobaan*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
17. Madigan, M. T., John M. M., David A. S., dan David P. C., 2012. *Biology of Microorganisms*. San Francisco: Benjamin Cummings publishing
18. Prescott, L. M., John P. H. dan Donald A. K. 2002. *Microbiology*. New York: The McGraw-Hill Companies
19. Suryaningsih, E. 2008. Pengendalian Penyakit Sayuran yang Ditanam dengan Sistem Budidaya Mosaik pada Pertanian Periurban. *Jurnal Hort*. Vol 18(2):200-211