

# PENGGUNAAN *Bacillus* ISOLAT LOKAL UNTUK MENEKAN PENYAKIT LINCAT TEMBAKAU TEMANGGUNG

Triwidodo Arwiyanto\*, Rahmad Asfanudin\*, Arif Wibowo\*, Toekidjo Martoredjo\*\*, dan Gembong Dalmadiyo\*\*\*

\* Fakultas Pertanian UGM, Bulaksumur-Yogyakarta 55281

\*\* Fakultas Pertanian Universitas Sarjanawiyata Tamansiswa, Jln Kusumanegara Yogyakarta

\*\*\* Balai Penelitian Tanaman Serat dan Tembakau (In Memoriam) Jln Raya Karangploso, Malang

## ABSTRACT

*Lincat disease of temanggung tobacco could not be controlled effectively. One method of control which could be integrated with other measures is biological control. Bacillus is one of soil microorganisms which was not used widely as a biological control agent of plant disease. This report showed the results of the use of local isolates of Bacillus in controlling lincat disease of temanggung tobacco. As much as 91 isolates of Bacillus were directly tested in the field for their capability in suppressing lincat disease development. Six isolates, Ba-4, Ba-22, Ba-24, Ba-30, Ba-33, and Ba-41, could suppress lincat disease in the field. The result of in vitro test indicated that not all isolates which produced zone of inhibition in vitro could suppress disease development in the field. On the contrary, not all isolates which suppressed lincat disease in the field could inhibit the growth of pathogen in vitro. Isolate Ba-41, could suppressed lincat disease in the field and inhibited the growth of Meloidogyne incognita but not inhibited the growth of Ralstonia solanacearum.*

**Key words:** *Bacillus*, biological control, tobacco, lincat disease

## PENGANTAR

Tembakau temanggung merupakan salah satu komoditas rakyat yang banyak dibutuhkan oleh pabrik rokok kretek dan memberikan pendapatan yang cukup tinggi bagi petani (Djayadi dan Dalmadiyo, 1999). Kebutuhan tembakau jenis ini selalu meningkat setiap tahun namun tidak dapat dipenuhi karena berbagai faktor. Salah satunya adalah adanya gangguan penyakit lincat yang menyebabkan tanaman tembakau mati pada hari ke-30–45 dengan tingkat kematian mencapai lebih dari 50% (Dalmadiyo *et al.*, 2000). Penyakit ini disebabkan oleh kombinasi dua patogen yaitu nematoda *Meloidogyne incognita* dan bakteri *Ralstonia solanacearum* (Dalmadiyo, 2004).

Penyakit lincat sulit dikendalikan dengan cara-cara yang sudah ada (Dalmadiyo *et al.*, 2000) sehingga diperlukan alternatif lain yang kemudian dapat dikombinasikan dengan metode yang sudah tersedia. Salah satu alternatif tersebut adalah pengendalian secara hayati dengan menggunakan mikroorganisme rizosfer sehingga dapat lebih efektif karena kedua patogen penyebab penyakit lincat berada di dalam tanah dan menginfeksi tanaman melalui rizosfer. *Bacillus* merupakan mikroorganisme dalam tanah yang mampu menghasilkan berbagai antibiotik dan senyawa penghambat lainnya (Cook dan Baker, 1983) namun belum banyak diteliti di Indonesia sebagai agensia pengendalian hayati penyakit tumbuhan.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Bakteri dan Kondisi Kultur

#### *Ralstonia solanacearum*

*R. solanacearum* diisolasi dari tanaman sakit yang diperoleh di Temanggung. Akar tanaman yang terinfeksi dicuci bersih dengan air mengalir. Epidermis akar dibuang dengan skalpel secara aseptis kemudian jaringan tanaman diusap permukaannya dengan 70% alkohol. Jaringan dipotong-potong dengan ukuran 5 mm dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi air steril kemudian ditunggu sampai oose atau massa bakteri keluar dari jaringan tanaman. Suspensi bakteri yang terjadi kemudian digoreskan pada permukaan medium *Yeast Pepton Agar* (YPA) dan diinkubasikan selama 48 jam pada suhu kamar (28 °C). Koloni *R. solanacearum* yang tumbuh dimurnikan dan disimpan untuk penelitian selanjutnya.

#### *Bacillus* spp.

*Bacillus* spp. diisolasi dari beberapa rizosfer tanaman Solanaceae yang ada di lahan yang akan ditanami tembakau. Lahan yang dipilih adalah lahan yang pada tahun sebelumnya pertanaman tembakau tidak terserang oleh penyebab penyakit lincat. Tanaman dicabut secara hati-hati dengan menyertakan akarnya kemudian dimasukkan ke dalam cooler dan dibawa ke laboratorium. Tanah rizosfer dipisahkan dari akar kemudian dikeringanginkan, setelah

itu tanah dipanaskan di dalam oven pada suhu 80 °C selama 30 menit. Setelah tanahnya dingin, sebanyak 10 gram tanah tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berisi 90 ml bufer fosfat pH 7,0 + 0,1% pepton. Erlenmeyer digojok selama 15 menit pada suhu kamar kemudian didiamkan selama 5 menit. Suspensi yang terjadi diencerkan per sepuluh kemudian pada tingkat pengenceran tertentu sebanyak 200 µl suspensi dituang ke permukaan medium YPA dan diratakan dengan Drigalski. Setelah inkubasi selama dua hari pada suhu kamar, koloni bakteri yang tumbuh diuji: reaksi Gram dengan KOH 3%, katalase, dan uji oksidatif-fermentatif. Isolat-isolat yang Gram positif, katalase positif, dan oksidatif dipilih untuk digunakan dalam percobaan.

Untuk percobaan di lapangan, *Bacillus* spp. hasil isolasi di atas ditumbuhkan secara terpisah pada medium YPA. Koloni yang tumbuh diperbanyak pada medium YPA miring kemudian disuspensikan dalam air steril sebelum digunakan untuk percobaan di lapangan.

### Pengujian Patogenisitas Isolat *Bacillus* spp.

Secara terpisah semua isolat *Bacillus* spp. ditumbuhkan pada medium YPA miring selama dua hari pada suhu kamar (28 °C). Bakteri kemudian dipanen dan disuspensikan dalam 100 ml air steril. Sebanyak 200 µl suspensi bakteri tersebut diinjeksikan ke dalam ruang antarsel daun tembakau var. klemoko. Tanaman diinkubasikan pada suhu kamar selama satu minggu. Gejala nekrosis serta gejala lain yang mengikuti diamati setiap hari. Secara paralel, tanaman tembakau diinokulasikan melalui akar dengan 10 ml suspensi *Bacillus* spp./tanaman. Tanaman diinkubasikan dan diamati perubahan yang terjadi pada tanaman tersebut. Sebagai kontrol tanaman diinokulasi pada akarnya dengan 10 ml air steril.

### Penekanan Penyakit Lincat di Lapangan

Isolat *Bacillus* ditumbuhkan pada medium YPA selama 2 hari pada suhu kamar kemudian disuspensikan dalam 100 ml air steril. Bibit tembakau varietas klemoko umur 40 hari dicelup akarnya selama 15 menit dalam suspensi bakteri tersebut kemudian ditanam di lahan. Perlakuan sebanyak 92 (91 dengan *Bacillus*, 1 dengan air steril). Setiap perlakuan diulang 3 kali, masing-masing ulangan terdiri atas 10 tanaman. Pengamatan terhadap penyakit lincat dilakukan setiap 10 hari sekali selama 40 hari setelah inokulasi. Percobaan dengan cara yang sama diulang sekali lagi di lahan yang berbeda dengan menggunakan isolat terpilih hasil percobaan sebelumnya. Intensitas serangan dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$IS = A/N \times 100\%$$

Keterangan:

IS = Intensitas serangan

A = Jumlah tanaman yang mati

N = Jumlah tanaman yang diperlakukan

### Penekanan Pertumbuhan Patogen Secara In-vitro

#### Penekanan pertumbuhan *Ralstonia solanacearum*

Metode yang digunakan adalah seperti yang dikembangkan oleh Arwiyanto (1997) sebagai berikut. Sebanyak 4 isolat *Bacillus* ditumbuhkan secara titik pada permukaan medium YPA dalam cawan petri. Setelah inkubasi selama 7 hari pada suhu kamar, cawan petri dibalik dan pada tutupnya dituangi 1 ml chloroform untuk mematikan bakteri dan memfiksasi bakteri pada permukaan medium. Setelah semua chloroform menguap, cawan petri dibalik dan pada permukaan medium dituangi dengan suspensi *R. solanacearum* dalam 0,6% agar air. Biakan diinkubasikan lagi selama 24 jam pada suhu kamar untuk kemudian diamati zona penghambatan yang muncul.

#### Pengaruh supernatan bakteri antagonis terhadap telur *Meloidogyne incognita*

*Bacillus* ditumbuhkan dalam medium *yeast-peptone-glucose* (*yeast extract* 5 g, pepton 10 g, glukosa 10 g, pH 7,0) secara aerob selama 4 hari. Supernatan dipisahkan dari massa bakteri melalui sentrifugasi selama 20 menit. Sebanyak 20–50 massa telur *M. incognita* diletakkan dalam cawan petri diameter 5 cm kemudian dituangi dengan 5 ml supernatan. Jumlah telur sehat dihitung setelah inkubasi selama satu minggu pada suhu kamar.

## HASIL

### Isolat *Bacillus* spp.

Dari ratusan koloni tunggal pada media YPA, diperoleh sebanyak 91 isolat *Bacillus* spp. yang diisolasi dari rizosfer tanaman cabai, terung, dan kacang tanah (Tabel 1). Isolat-isolat tersebut diduga sebagai *Bacillus* melalui tahapan perlakuan sebelum isolasi, uji Gram secara cepat, uji katalase, dan uji oksidatif fermentatif. Sebelum dilakukan pengujian di lapangan, semua isolat *Bacillus* spp. diuji kemampuannya menimbulkan penyakit pada tanaman khususnya pada tembakau. Dari hasil pengujian didapatkan bahwa semua isolat tidak menimbulkan gejala nekrosis pada uji reaksi hipersensitif pada daun tembakau yang menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* spp. tersebut bukan patogen tumbuhan. Pengujian inokulasi pada tembakau

lebih menguatkan hal tersebut karena tidak dijumpai gejala malformasi apa pun pada tanaman tembakau setelah diinokulasi dengan *Bacillus* spp. melalui akar.

**Tabel 1.** *Bacillus* spp. hasil isolasi dari rizosfer tanaman

No	Tanaman	Jumlah Isolat	Tahun Isolasi
1	Cabai	48	2004
2	Terung	25	2004
3	Kacang Tanah	18	2004

### Penekanan Penyakit Lincat di Lapangan Tahap I

Sebaran patogen di lahan sangat beragam sehingga intensitas penyakit berbeda-beda nilainya baik yang diperlakukan dengan *Bacillus* maupun yang tidak (kontrol). Setiap isolat yang diuji menunjukkan kemampuan yang berbeda dalam hal menekan penyakit lincat tembakau di lapangan. Gejala yang muncul berupa kelayuan satu sisi daun yang kemudian berkembang cepat menjadi layunya seluruh daun. Ketika akarnya dicabut terlihat sebagian akarnya busuk berwarna coklat, di mana kedua macam

gejala ini persis sama dengan gejala penyakit lincat di lapangan (Dalmadiyo, 1999). Pada sepuluh hari pertama setelah perlakuan, intensitas penyakit lincat berkisar antara 3,33–30% kemudian menjadi 26,67–90% pada akhir pengamatan (40 hari setelah perlakuan).

Kematian tanaman pada plot yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. masih cukup tinggi (Tabel 2) namun ada beberapa isolat yang menunjukkan kemampuan penekanan terhadap penyakit lincat. Pada plot yang diperlakukan dengan isolat-isolat Ba-4, Ba-22, Ba-24, Ba-30, Ba-33, dan Ba-41 meskipun intensitasnya masih tinggi namun sisa tanaman yang masih hidup menunjukkan *vigor* yang paling baik di antara perlakuan-perlakuan lainnya.

### Penekanan Penyakit Lincat di Lapangan Tahap II

Enam isolat hasil percobaan pertama diuji kembali kemampuannya menekan penyakit lincat dengan variasi konsentrasi suspensi bakteri. Keenam isolat tersebut dipilih berdasarkan kemampuannya menekan penyakit lincat pada percobaan pertama dan pada *vigor* tanaman yang masih hidup. Konsentrasi yang dipakai adalah seperti percobaan

**Tabel 2.** Intensitas serangan penyakit lincat pada tanaman tembakau yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp.

Perlakuan dengan isolat Ba	Intensitas Serangan	Perlakuan dengan isolat Ba	Intensitas Serangan	Perlakuan dengan isolat Ba	Intensitas Serangan	Perlakuan dengan isolat Ba	Intensitas Serangan
1	36,67bcd	25	36,67bcd	49	53,33bcd	73	56,67abcd
2	56,67abcd	26	43,33bcd	50	50,00bcd	74	30,00cd
3	30,00bcd	27	41,67bcd	51	56,67abcd	75	46,67bcd
4	50,00bcd	28	33,33bcd	52	36,67bcd	76	40,00bcd
5	33,33bcd	29	36,67bcd	53	43,33bcd	77	70,00ab
6	33,33bcd	30	40,00bcd	54	30,00cd	78	53,33bcd
7	46,33bcd	31	43,33bcd	55	36,67bcd	79	36,67bcd
8	43,33bcd	32	56,67abcd	56	36,67bcd	80	46,67bcd
9	60,00abcd	33	40,00bcd	57	43,33bcd	81	53,33bcd
10	33,33abcd	34	66,67abc	58	26,67cd	82	60,00abcd
11	63,33abcd	35	30,00cd	59	46,67bcd	83	26,67d
12	56,67abcd	36	53,33bcd	60	50,00bcd	84	40,00bcd
13	43,33bcd	37	50,00bcd	61	63,33abcd	85	53,33bcd
14	33,33bcd	38	56,67abcd	62	26,67d	86	33,33bcd
15	40,00bcd	39	63,33abc	63	33,33bcd	87	56,67abcd
16	90,00a	40	40,00bcd	64	53,33bcd	88	26,67d
17	46,67bcd	41	46,67bcd	65	40,00bcd	89	36,67bcd
18	56,67abcd	42	56,67abcd	66	33,33bcd	90	36,67bcd
19	70,00ab	43	66,67abc	67	33,33bcd	91	43,33bcd
20	33,33bcd	44	43,33bcd	68	56,67abcd	Kontrol	50,00bcd
21	53,33bcd	45	63,33abcd	69	56,67abcd		
22	36,67bcd	46	63,33abcd	70	40,00bcd		
23	46,67bcd	47	43,33bcd	71	46,67bcd		
24	40,00bcd	48	56,67abcd	72	46,67bcd		

Keterangan: Nilai dalam tabel dalam bentuk persen rerata dari tiga ulangan. Untuk keperluan statistik, data ditransformasikan ke Arc Sin Vx.

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT

**Tabel 3.** Intensitas serangan penyakit lincat pada tanaman tembakau yang diperlakukan dengan *Bacillus* spp. pada berbagai konsentrasi

Perlakuan	Konsentrasi	Intensitas Penyakit pada hari setelah inokulasi (%)			
		10	20	30	40
Ba-4	K1	33,33ab	46,67a	50,00ab	56,67ab
	K2	10,00ab	16,67ab	30,00abcd	53,33abc
	K3	20,00ab	33,33ab	46,67abc	73,33a
Ba-22	K1	10,00ab	20,00ab	33,33abcd	46,67abc
	K2	10,00ab	16,67ab	20,00bcd	43,33abc
	K3	6,67ab	20,00ab	36,67abcd	53,33abc
Ba-24	K1	23,33ab	23,33ab	36,67abcd	46,67abc
	K2	10,00ab	16,67ab	30,00abcd	66,67a
	K3	3,33b	13,33ab	30,00abcd	50,00abc
Ba-30	K1	16,67ab	36,67ab	36,67abcd	56,67ab
	K2	3,33b	10,00b	23,33abcd	56,67ab
	K3	6,67ab	13,33ab	20,00bcd	60,00ab
Ba-33	K1	36,67a	43,33a	46,67abc	53,33ab
	K2	16,67ab	23,33ab	26,67abcd	36,67abc
	K3	10,00ab	36,67ab	53,33a	60,00ab
Ba-41	K1	3,33b	13,33ab	13,33d	23,33c
	K2	6,67ab	10,00b	16,67cd	33,33bc
	K3	13,33ab	16,67ab	16,67cd	23,33c
Kontrol	K0	16,67ab	3,33ab	40,00abcd	63,33ab

Keterangan: Nilai dalam tabel dalam bentuk persen rerata dari tiga ulangan. Untuk keperluan statistik, data ditransformasikan ke Arc Sin Vx.

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DMRT

pertama (satu kali konsentrasi), sepersepuluhnya (1/10), dan seperseratusnya (1/100). Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi bakteri antagonis tidak berpengaruh pada penekanan penyakit (Tabel 3), konsentrasi rendah maupun tinggi sama-sama tidak dapat menekan perkembangan penyakit lincat di lapangan. Meskipun demikian ada satu isolat yang konsisten menghambat penyakit lincat di lapangan yaitu isolat Ba-41. Pada berbagai tingkatan konsentrasi, isolat ini mampu menekan penyakit sehingga pada akhir pengamatan intensitas penyakitnya sebesar 23,33% sementara pada kontrol sebesar 63,33%.

#### Penekanan Pertumbuhan *R. solanacearum* *In-vitro*

Tidak semua isolat *Bacillus* mampu menekan pertumbuhan patogen secara *in-vitro* yang ditunjukkan adanya sebanyak 28 isolat yang tidak menghambat pertumbuhan (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa tidak semua isolat *Bacillus* mampu menghasilkan senyawa penghambat pada medium YPA. Kemungkinan isolat-isolat tersebut memerlukan senyawa kimia lain yang lebih spesifik untuk dapat membentuk senyawa penghambat. Isolat yang mampu menghambat pertumbuhan patogen secara *in vitro* sebanyak 66 isolat dengan zona hambatan yang bervariasi mulai dari 0,1 mm sampai lebih dari 20 mm (Tabel 4).

Semua senyawa penghambat yang dihasilkan bersifat bakteriostatik.

**Tabel 4.** Penghambatan pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* oleh *Bacillus* spp.

Zona hambatan (mm)	Jumlah isolat <i>Bacillus</i> yang menghambat	Mekanisme penghambatan
0	28	-
0,1–0,5	33	Bakteriostatik
5,1–10,0	13	Bakteriostatik
10,1–15,0	8	Bakteriostatik
15,1–20,0	10	Bakteriostatik
> 20	2	Bakteriostatik

#### Pengaruh Supernatan Bakteri Antagonis terhadap Telur *Meloidogyne incognita*

Supernatan biakan *Bacillus* spp. mampu menyebabkan terdegradasinya telur nematoda (Tabel 5). Dari enam isolat *Bacillus* yang digunakan, hanya dua isolat yang tidak mampu mendegradasi semua jumlah telur yang diperlakukan. Isolat Ba-4 hanya mampu mendegradasi 16% jumlah telur sementara isolat Ba-22 mampu mendegradasi sebanyak 46%. Yang perlu diperhatikan adalah isolat Ba-41 yang mampu mendegradasi semua telur yang diperlakukan. Isolat

ini mampu menekan perkembangan penyakit di lapangan yang kemungkinan salah satu faktornya adalah kemampuan isolat ini mendegradasi telur nematoda. Dengan demikian intensitas penyakit yang diperlakukan dengan isolat ini menjadi lebih rendah karena salah satu patogennya, yaitu *Meloidogyne incognita*, dapat ditekan pertumbuhannya.

**Tabel 5.** Pengaruh supernatan biakan *Bacillus* spp. terhadap telur *Meloidogyne incognita*

Perlakuan	Jumlah awal telur	Jumlah akhir telur
Ba-4	31,6	26,3
Ba-22	52,3	28
Ba-24	33	0
Ba-30	24,6	0
Ba-33	32,6	0
Ba-41	31	0
Kontrol	37	0

## PEMBAHASAN

*Bacillus* spp. sudah sejak lama dilaporkan mampu menekan sejumlah penyakit tumbuhan (Cook dan Baker, 1983). Meskipun demikian, penggunaan bakteri ini di Indonesia untuk pengendalian hayati masih sangat sedikit dilaporkan. Isolat Ba-118 dilaporkan dapat menekan pertumbuhan patogen di laboratorium (Arwiyanto, 1997), mampu menekan penyakit di rumah kaca (Arwiyanto dan Hartana, 1999) dan mampu mengendalikan penyakit layu bakteri tembakau cerutu di lapangan (Arwiyanto dan Hartana, 2001).

Cara konvensional yang dimulai dengan isolasi calon agensia hayati di laboratorium kemudian pengujian di rumah kaca dan di lapangan akan meniadakan kemungkinan mendapatkan isolat yang mampu menekan penyakit dengan mekanisme selain antibiosis. Penelitian yang dilakukan di Temanggung ini dilakukan dengan memotong langkah pengujian antagonisme di laboratorium. Isolat yang diperoleh langsung diuji di lapangan. Hasilnya menunjukkan bahwa ada satu isolat yaitu Ba-41, yang mampu menekan penyakit di lapangan meskipun tidak dapat menghambat pertumbuhan salah satu patogen di laboratorium. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa tidak semua agensia hayati yang menghasilkan senyawa penghambat secara *in vitro* mampu menekan penyakit di lapangan. Sebaliknya, ada isolat yang tidak menghambat *R. solanacearum* secara *in vitro* namun mampu menekan penyakit di lapangan yaitu isolat Ba-41. Penekanan yang terjadi di lapangan oleh bakteri tersebut kemungkinan melalui mekanisme ketahanan terimbas atau kompetisi nutrisi dan kompetisi ruang (Cook dan Baker, 1983).

Salah satu bakteri agensia pengendalian hayati nematoda adalah *Pasteuria penetrans* (Stirling, 1984). Mulyadi *et al.* (1992) melaporkan bahwa perlakuan tanaman dengan *P. penetrans* dapat menekan kerusakan tanaman karena nematoda puru akar. Tulisan ini menambah daftar bakteri yang dapat digunakan untuk mengendalikan nematoda yaitu *Bacillus* sp. yang masih perlu diteliti spesiesnya.

Dari hasil penelitian tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa tidak semua isolat *Bacillus* spp. yang mampu menekan patogen secara *in-vitro* dapat menekan penyakit lincat di lapangan, sebaliknya ada beberapa isolat *Bacillus* spp yang tidak menunjukkan penghambatan secara *in-vitro* namun dapat menekan perkembangan penyakit di lapangan. Isolat Ba-41 mampu menekan perkembangan penyakit lincat di lapangan tetapi tidak menunjukkan penghambatan pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in-vitro* meskipun dapat menekan pertumbuhan *Meloidogyne incognita*. Diduga kemampuan isolat Ba-41 mendegradasi telur nematoda menyebabkan isolat ini mampu menekan penyakit lincat di lapangan lebih baik dibandingkan dengan isolat yang lainnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Tulisan ini merupakan sebagian dari hasil penelitian Riset Unggulan Terpadu XI yang didanai oleh Kementerian Riset dan Teknologi Republik Indonesia dengan surat perjanjian Nomor: 03/Perc/Dep.III/RUT/PPKI/II/2005 tanggal 1 Februari 2005 kepada penulis pertama. Penulis mengucapkan banyak terima kasih.

## KEPUSTAKAAN

- Arwiyanto T, 1997. Bioclocal Control of Tobacco Bacterial Wilt: 1. Isolation of Antagonistic Bacteria. *Journal of Indonesian Plant Protection* 3: 54–60
- Arwiyanto T, dan Hartana I, 1999. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau (*Ralstonia solanacearum*).2. Percobaan di rumah kaca. *Journal of Indonesian Plant Protection* 5: 50–59.
- Arwiyanto T dan Hartana I, 2001. Percobaan lapangan pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau (*Ralstonia solanacearum*). *Mediagama* 3: 7–14.
- Cook RJ dan Baker KF, 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. APS Press. St. Paul. Minnesota
- Dalmadiyo G, 2004. Kajian Interaksi Infeksi Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne incognita*) dengan Bakteri *Ralstonia solanacearum* pada Tembakau Temanggung. Fakultas Pertanian UGM. Disertasi.

- Dalmadiyo G, Rahayuningsih S, dan Supriyono, 2000. Penyakit Tembakau Temanggung dan Pengendaliannya. Monograf Balittas No. 5. Balai Penelitian Tembakau dan Tanaman Serat, Malang, 108.
- Djajadi dan Dalmadiyo G, 1999. Tembakau Temanggung. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Balai Penelitian Tembakau dan Tanaman Serat, Malang, 13.
- Mulyadi, Triman B, dan Netscher C, 1992. Pemanfaatan bakteri *Pasteuria penetrans* untuk Mengendalikan Nematoda Parasitik Tanaman secara Hayati. Fakultas Pertanian UGM.
- Stirling GR, 1984. Biological Control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. *Phytopathology* 74: 5–60.

Reviewer: **Dr. Ni'matuzahroh**