Penapisan Beberapa Isolat *Pseudomonas fluorescens, Bacillus subtilis* dan *Trichoderma harzianum* yang bersifat Antagonistik terhadap *Ralstonia solanacearum* pada Tanaman Kentang

Hersanti[1], Rian Triyanti Rupendi[1], Andang Purnama[1], Hanudin[2], Budi Marwoto[2] dan Oni Setiani Gunawan[3]
[1]Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Unpad
Jalan Raya Jatinangor Km. 21 Bandung 40600
[2]Balai Penelitian Tanaman Hias, Jalan Raya Cipanas, Segunung, Cianjur
[3]Balai Penelitian Tanaman sayuran
Jalan Tangkuban Parahu 517 Lembang, Bandung 40391
Korespondensi: hersanti09@gmail.com

ABSTRACT

Screening of some Isolate *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* to have the character antagonistic on *Ralstonia solanacearum* on potato

Bacterial wilt disease caused by *R. solanacearum* is an important soilborne disease on potato. One of the alternative control methods which is environmental-friendly is the use of its antagonist *P. fluorescens*, *B. subtilis*, and *T. harzianum*. The objective of this experiment was to achieve the best isolate antagonist microbial to reduce the attack of bacterial wilt disease on potato. Two experiments were set up using Completely Block Design. The *in vitro* experiment was carried out to verify the inhibitation ability of three isolates *P. Fluorescens*, two isolates *B. subtilis*, one isolat B. *cereus* and three isolates *T. Harzianum* on the growth of *R. solanacearum* in King's B medium, while *in vivo* experiment was performed to find out the capacity of those isolates to supress bacterial wilt disease attack on potatoes. The result showed that isolates of *T. harzianum* 1, *T. harzianum* 2 and *T. harzianum* 3 could depress bacterial wilt disease on potato up to 77.21 %, 77.21 % and 63.57 %, respectively.

Key words: Antagonistic microbes, Bacterial wilt disease, Potato, *Ralstonia solanacearum*.

ABSTRAK

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum* merupakan salah satu penyakit penting yang menyerang tanaman kentang. Salah satu alternatif pengendalian yang ramah lingkungan adalah menggunakan mikroba antagonis seperti *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis,* dan *Trichoderma harzianum.* Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan isolat mikroba antagonis terbaik yang paling menekan penyakit layu bakteri pada tanaman kentang. Dua percobaan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Percobaan *in vitro* menguji daya hambat tiga isolat *P. Fluorescens*, dua isolat *B. subtilis*, satu isolat B. *cereus* dan 3 isolat *T. harzianum* terhadap perkembangan koloni *R. solanacearum* pada media King's B. Percobaan in *vivo* menguji kemampuan seluruh isolat terhadap penekanan serangan penyakit layu pada tanaman kentang. Hasil percobaan menunjukkan bahwa isolat *T. harzianum* 1, *T. harzianum* 2 dan *T. harzianum* 3 mampu menekan penyakit layu bakteri pada tanaman kentang dengan persentase penghambatan berturut-turut 77,21 %, 77,21 %, dan 63,57 %.

Kata kunci: Mikroba antagonis, Penyakit layu bakteri, Kentang, *Ralstonia solanacearum*

PENDAHULUAN

Kentang merupakan salah satu produk tanaman yang berpotensi untuk diversifikasi pangan. Tanaman kentang juga menjadi salah satu komoditas pangan di Indonesia yang sudah diekspor. Produksi kentang Indonesia mengalami pertumbuhan rata-rata 5 % per tahun dan mencapai lebih dari 1 juta ton pada tahun 2006 dengan luas areal tanam 60.000 ha tetapi hanya dapat memenuhi 10 % konsumsi nasional, yaitu 8,9 juta ton per tahun. Di samping produksi yang belum cukup, volume dan nilai ekspor kentang sejak 1998 (31.204 ton atau senilai US$ 5,88 juta) terus mengalami penurunan (Bisnis Indonesia Online, 2008).

Kendala dalam peningkatan produksi kentang di Indonesia adalah antara lain serangan hama dan penyakit tanaman. Salah satu patogen penyebab penyakit yang cukup merugikan dalam pertanaman kentang adalah bakteri *Ralstonia solanacearum* yang menimbulkan gejala layu pada tanaman dan gejala lanjut berupa umbi menjadi busuk. Pada jenis-jenis kentang yang rentan, penyakit layu dapat menyebabkan kerugian sampai 40 % (Semangun, 2002).

Salah satu pengendalian penyakit layu bakteri yang aman bagi lingkungan adalah penggunaan mikroba antagonis. Beberapa mikroba antagonis yang telah banyak diteliti adalah *Bacillus subtilis, Pseudomans fluorescens,* dan *Trichoderma harzianum.* Ketiga isolat mikroba tersebut telah diuji sebelumnya untuk mengendalikan penyakit *R. solanacearum* dan penyakit lain pada tanaman tomat, tembakau, kacang, nilam, jahe, dan krisan. *Basillus subtilis, P. fluorescens* dan *T. harzianum* mampu menurunkan intensitas penyakit yang disebabkan *R. solanacearum* pada jahe sebesar 4 % (Bustamam, 2006). *T. harzianum* juga mampu memberikan hasil terbaik dalam mengendalikan *Sclerotium rolfsii* pada tanaman kacang dengan kapasitas penekanan sebesar 12,07 % (Kuswinanti, 2006). *P. fluorescens* dan *T. harzianum* sangat potensial untuk dikembangkan sebagai agen pengendali patogen tanaman hias, khususnya layu fusarium pada krisan (Wuryaningsih, 2009). *P. fluorescens* secara nyata dan konsisten juga menekan serangan *Fusarium oxysporum* f.sp *tracheiphilum* pada krisan sebanyak 72,51 % (Hanudin *et al.*, 2004).

Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi) mengkoleksi beberapa strain mikroba antagonis yaitu *B. subtilis* yang berasal di antaranya dari rizosfer anyelir, krisan di Segunung dan amarilis di Cibadak, beberapa strain *P. fluorescens* di antaranya berasal dari daun Anthurium serta rizosfer cabai, krisan, anyelir dan tomat, Strain *Trichoderma harzianum* yang juga dikoleksi ITB, UGM dan Segunung. Pada penelitian ini seluruh isolat tersebut akan diuji kemampuannya dalam menekan penyakit layu bakteri yang disebabkan *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang.

METODE PENELITIAN

Percobaan *in vitro* dilaksanakan di laboratorium Bakteriologi dan Mikologi, Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung, Cianjur sedangkan percobaan *in vivo* dilaksanakan di rumah kaca Penyakit Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Lembang. Seluruh percobaan dilaksanakan pada bulan Maret 2009 sampai dengan Juli 2009.

Mikroba

Tiga isolat Pseudomonas yaitu *P. fluorescens* 2, *P. fluorescens* 4 dan *P. fluorescens* 9 disediakan oleh Balithi yang masing-masing diisolasi dari rizosfer krisan, anyelir dan cabe yang tumbuh di Segunung. Isolat *B. subtilis* 14 diperoleh dari Balithi yang diisolasi dari rizosfer Amarilis yang tumbuh di Cibadak, Sukabumi. *Bacillus Subtilis* 12 dan *B. cereus* diperoleh dari Institut Pertanian Bogor. Tiga isolat *Trichoderma* yaitu *T. harzianum* 1 diperoleh dari Universitas Gajah Mada, *T. harzianum* 2 diperoleh dari Balithi dan *T. harzianum* 3 diperoleh dari ITB.

Percobaan *in vitro*

Metode penelitian adalah metode eksperimen yang dirancang dalam Rancangan Acak Lengkap dengan tiga ulangan. Percobaan rumah kaca ini menguji daya antagonis sembilan isolat mikroba dengan kontrol negatif berupa tanpa pemberian mikroba maupun bakterisida.

Media uji yang digunakan adalah 10 mL agar King's B yang ditempatkan pada cawan Petri berdiameter 9 cm. Pada bagian tengah dan sisi media agar ditempatkan cakram kertas saring steril berdiameter 0,5 cm yang telah dicelupkan ke dalam masing-masing suspensi bakteri antagonis. Untuk menumbunkan jamur *T. harzianum,* Susupensi spora *T. harzianum* diambil dengan *loop* dan digoreskan di atas permukaan media agar sepanjang 3 cm. Kultur tersebut kemudian disimpan di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 27 ^{O}C. Kerapatan sel suspensi *P. Fluorescens*, *B. Subtilis* dan *B. cereus* adalah 10^7 cfu mL^{-1} sedangkan

kepadatan spora suspensi *T. harzianum* adalah 10^6 spora mL^{-1}.

Pengujian antagonisme antara mikroba antagonis dan *R. solanacearum* dilakukan dengan cara menyemprotkan suspensi *R. solanacearum* kerapatan 10^9 cfu mL^{-1} dengan menggunakan *sprayer* ke atas permukaan petridish yang berisi biakan mikroba antagonis. Setelah 24 jam inkubasi pada suhu 27 ^{0}C, diamati lebar zona hambatan di sekeliling mikroba antagonis. Areal hambatan terpanjang dari masing-masing isolat merupakan variabel penentu isolat terbaik untuk menseleksi efektivitas antagonis terhadap *R. solanacearum*. Seluruh isolat tersebut kemudian diuji lebih lanjut secara *in vivo* di rumah kaca.

Percobaan *in vivo*

Percobaan ini dirancang dalam Rancangan Acak Kelompok dengan tiga ulangan. Perlakuan yang diuji adalah sembilan isolat mikroba dengan kontrol positif berupa bakterisida dengan bahan aktif streptomisin sulfat 15 % dan oksitetrasiklin 5 %. Kontrol negatif tanpa perlakuan mikroba maupun bakterisida.

Pada percobaan *in vivo*, bibit kentang varietas Granola ditanam dalam polibeg diameter 40 cm yang berisi 5 kg campuran tanah dan pupuk kandang (1:1; v:v) yang telah dipasteurisasi dan telah diinokulasi *R. solanacearum* dengan mengadopsi metode Hanudin (1995). Bakteri *R. solanacearum* yang ditumbuhkan pada media *Tetrazolium Cloride* (TZC) dipanen dengan menambahkan 10 mL aquades steril, dan dikeruk dengan menggunakan tabung kaca L. Suspensi bakteri diperbanyak pada media *Nutrient Broth* sebanyak 500 mL yang ditempatkan di atas pengocok selama 24 Jam. Setiap polibeg diinokulasi dengan suspensi *R. solanacearum* sebanyak 25 mL dengan penambahan 100 ml aquades.

Aplikasi *P. fluorescens*, *B. subtilis*, *B. cereus* dan *T. harzianum* dilakukan dengan merendam bibit kentang selama 10 menit kemudian diikuti dengan menyiramkan suspensi mikroba sebanyak 75 mL. Aplikasi kedua dilakukan 14 hari setelah tanam dengan cara menyiramkan 75 mL suspensi mikroba. Konsentrasi suspensi *P. Fluorescens, B. Subtilis* dan *B. cereus* yang digunakan adalah 10^9 cfu mL^{-1} dan *T. harzianum* adalah 10^7 spora mL^{-1}. Populasi tanaman pada percobaan ini adalah 10 tanaman per perlakuan sehingga seluruhnya terdapat 330 tanaman.

Respons yang diamati pada percobaan *in vivo* meliputi waktu inkubasi dan persentase tanaman terserang bakteri *R. solanacearum.* Waktu inkubasi diamati setiap hari sampai 60 hari setelah tanam (HST). Persentase tanaman terserang yang diukur pada hari ke 36, 42 dan 46 dihitung dengan rumus:

% tanaman terinfeksi =

$$\frac{\text{Jumlah tanaman yang terinfeksi}}{\text{Jumlah tanaman sampel}} \times 100\ \%$$

Analisis Statistik

Data dianalisis dengan analisis ragam menggunakan Uji F pada taraf 5 % dan jika terdapat perbedaan yang nyata pengujian dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pengujian secara *in vitro* didapatkan hasil bahwa isolat-isolat bakteri *P. fluorescens, B. subtilis,* jamur *T. harzianum* mampu menekan perkembangan *R. solanacearum* pada media *King's* B. Panjang areal hambatan masing-masing mikroba antagonis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Panjang areal hambatan mikroba antagonis *Ralstonia solanacearum* pada media *King's* B

Mikroba antagonis	Panjang Areal Hambatan (cm)
P. fluorescens 2 (Pf2)	4,17 d
P. fluorescens 4 (Pf4)	3,00 c
P. fluorescens 9 (Pf9)	3,87 d
B. subtilis 14 (Ba14)	2,13 b
B. subtilis 12 (Bs12)	3,83 d
B. cereus 13 (Bc13)	2,20 b
T. harzianum UGM (Th1)	3,33 c
T. harzianum Segunung (Th2)	3,27 c
T. harzianum ITB (Th3)	2,40 b
Kontrol (K)	0,00 a

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5 %.

Isolat Pf 2 (asal rizosfer krisan), Pf 9 (asal rizosfer cabai) dan Bs 12 (isolat dari IPB) memperlihatkan areal hambatan tertinggi di antara isolat yang diuji. Kemampuan isolat mikroba dalam menekan *R. solanacearum* disebabkan oleh kompetisi ruang seperti yang diperlihatkan pada mikroba *T. harzianum* dan antibiosis pada *P. fluorescens* dan *B. subtilis.*

Tabel 2. Masa inkubasi dan persentase tanaman kentang yang layu akibat serangan bakteri *Ralstonia solanacearum*

Mikroba antagonis	Masa inkubasi (HST)	Tanaman Layu (%)			Hambatan (%)
		36 HST	42 HST	49 HST	
P. fluorescens 2 (Pf2)	38	0 a	3,3 a	40 abc	45,42
P. fluorescens 4 (Pf4)	38	0 a	10 a	50 abc	31,78
P. fluorescens 9 (Pf9)	41	0 a	10 a	33,3 abc	54,57
B. subtilis 4 (Ba14)	41	0 a	3,3 a	30 abc	59,07
B. subtiilis 12 (Bs12)	38	0 a	3,3 a	73,3 c	0,00
B. cereus 13 (Bc13)	38	0 a	3,3 a	30 abc	59,07
T. harzianum UGM (Th1)	38	0 a	3,3 a	16,7 ab	77,21
T. harzianum Segunung (Th2)	38	0 a	3,3 a	16,7 ab	77,21
T. harzianum ITB (Th3)	36	3,3 a	6,7 a	26,7 ab	63,57
Kontrol	38	0 a	6,7 a	73,3 c	0,00
Bakterisida	49	0 a	0,0 a	3,3 a	95,49

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5 %

Kemampuan *P. fluorescens* dalam menghambat *R. solanacearum* didukung oleh hasil penelitian Chet (1987) bahwa *P. fluorescens* menghasilkan antibiotik *pyuloteorin, oomycin, phenazine-1-carbo-xylic acid* atau *2,4-diphloroglucinol* yang efektif menghambat perkembangan bakteri ataupun jamur patogen.

Berdasarkan data pada Tabel 1, diduga *T. harzianum* hanya mampu menghasilkan antibiotik yang sedikit lebih rendah dibandingkan dengan bakteri *P. fluorescens* dan *B. subtilis* untuk mengendalikan patogen bakteri *R. Solanacearum*. Hal ini diduga karena daya hambat *T. harzianum* lebih efektif untuk patogen dari golongan jamur. Kemampuan sifat antibiosis jamur lebih rendah dibandingkan dengan bakteri. Namun penelitian lain menyebutkan bahwa bakteri *T. harzianum* dapat menginduksi sifat resisten tanaman kapas terhadap serangan bakteri (Howell, *et al.* 2000 dikutip Bustaman, 2006). Dengan demikian *T. harzianum* dapat digunakan untuk menambah keefektifan *P. fluorescens* dan *B. subtilis* dalam menekan penyakit layu bakteri.

Periode inkubasi merupakan periode waktu yang dibutuhkan oleh patogen sejak penetrasi hingga timbul infeksi yang diekspresikan melalui gejala yang dapat dilihat pada tanaman atau bagian tanaman. Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa gejala layu tanaman kentang yang paling cepat terjadi pada perlakuan Th3 yaitu 36 hari setelah tanam (HST). Masa inkubasi terlama terdapat pada aplikasi bakterisida yaitu 49 HST sedangkan masa inkubasi terlama pada tanaman kentang yang diberi mikroba antagonis terdapat pada perlakuan Pf9 dan Ba14 yaitu 41 HST. Masa inkubasi penyakit pada perlakuan Pf2, Pf4, Bs12, Bc13, Th1 dan Th2 adalah 38 hari.

Berdasarkan data Tabel 2, diketahui bahwa gejala serangan *R. solanacearum* muncul antara 36–49 HST. Menurut Nur Aeny (2001), masa inkubasi bakteri patogen ini tergantung dari daya virulensinya terhadap masing-masing tanaman inang dengan kisaran masa inkubasi antara 14-39 hari. Masa inkubasi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya tanaman inang, lingkungan, dan patogen. Konsentrasi dan virulensi bakteri patogen, serta ketahanan dari tanaman berperan dalam menentukan berapa lama waktu yang dibutuhkan bakteri untuk menimbulkan gejala awal (Samanhudi, 2001).

Pada umur tanaman kentang umur 36 HST dan 42 HST persentase tanaman layu pada semua perlakuan tidak berbeda nyata (Tabel 2). Persentase tanaman layu bakteri pada kedua pengamatan ini berkisar antara 0 % samapai 10 %. Peningkatan persentase pentakit layu bakteri yang sangat tinggi terjadi pada pengamatan 49 HST. Persentase tanaman layu tertinggi terjadi pada perlakuan Bs12 yaitu 73,3 % yang tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif. Persentase tanaman layu yang terendah terdapat pada tanaman yang diberi bakterisida. Di antara tanaman yang diberi mikroba

antagonis, persentase tanaman layu terendah diperlihatkan oleh perlakuan Th1, Th2 dan Th3 meskipun jika mengabaikan statistik maka persentase tanaman layu pada perlakuan Th3 lebih besar daripada Th1 dan Th2.

Persentase hambatan terhadap penyakit layu bakteri di atas 50 % terdapat pada tanaman kenting yang diberi perlakuan Pf 9, Bs. 4, Bs12, Bc.13, Th1, Th. 2 dan Th. 3 dan bakterisida. Persentase penghambatan layu bakteri tertinggi terdapat pada perlakuan *T. harzianum.* Kemampuan *T. harzianum* dalam menekan penyakit layu bakteri didukung penelitian Maketon (2008) yang membuktikan bahwa aplikasi *T. harzianum* dapat menekan serangan *R. Solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri pada tanaman tembakau sebesar 80 %. Di akhir percobaan, persentase penghambatan total ketiga isolat T. harzianum adalah 77,21, 77,21 dan 63,57 masing-masing untuk isolat Th1, Th2 dan Th3. Persentase penghambatan penyakit layu bakteri pada tanaman kentang oleh *T. harzianum* lebih tinggi daripada oleh mikroba lainnya meskipun pada pengujian *in vivo* zona hambatan Th1 dan Th2 lebih kecil daripada ketiga isolat *P. Fluorescens* dan *B. subtilis 12.*

SIMPULAN

Hasil penapisan beberapa isolat *Pseudomonas fluorescens, Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* dan *Trichoderma harzianum* yang bersifat antagonistik terhadap *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang memberikan simpulan bahwa:

1. Secara *in vitro* isolat *P. fluorescens* 2, *B. subtilis* 12, dan *T. harzianum* 1 merupakan isolat yang terbaik dalam menekan *R. solanacearum*.
2. Isolat *T. harzianum* 1, *T. harzianum* 2, dan *T. harzianum* 3 mampu menekan penyakit layu bakteri pada tanaman kentang dengan persentase penghambatan berturut-turut 77,21 %, 77,21 % dan 63,57 %.

DAFTAR PUSTAKA

Bisnis Indonesia Online. 2008. Harga Benih Kentang Semakin Mahal. http://www.w3.org/TR/html (Diakses 23 April 2009)

Baker, KF and RJ Cook. 1983. The Nature and Practise of Biological Control of Plant pathogens. American phytopathology society. St. Paul. Minnessota. 538 pp.

Chet, I. 1987. Innovative Approaches to Plant Disease Control. Edisi II. The Hebrew University of Jerusalem, Rehovot.

Bustaman. 2006. Seleksi mikroba rhizosfer antagonis terhadap bakteri pada tanaman jahe di lahan tertindas. Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia 8: 12–18.

Choi GJ, JC Kim, EJPark, YH Choi, KS Jang, HK Lim, KY Cho and SW Lee. 2006. Biological Control activity of two isolates *Pseudomonas fluorescens* against rice sheath blight. Plant Pathol. J. 22: 289–294.

Djatmiko, HA, T Arwiyanto, T Hadisutrisno dan BH Sunarminto. 2007. Potensi tiga genus bakteri dari tiga rizosfer tanaman sebagai agensia pengendali hayati penyakit lincat. Jurnal Ilmu–Ilmu Pertanian Indonesia. 9: 40–47.

Gunawan. OS. 1987. Taksiran kehilangan hasil produksi kentang yang disebabkan oleh *Pseudomonas solanacearum* Smith. *Bull.* Penel. Hort. 25: 100–103.

Hanudin, B Marwoto, A Saepuloh, Mulya dan M Machmud. 2004. Formula cair *Pseudomonas fluorescens* untuk pengendalian penyakit layu fusarium pada Anyelir (Abstrak). Jurnal Penelitian Tanaman Hias. http://balithi.litbang.deptan.go.id. (Diakses 4 Mei 2009).

Hanudin, 2009. Mikroba antagonis sebagai agen hayati pengendali penyakit tanaman. Jurnal Penelitian Tanaman Hias. http://balithi.litbang.deptan. Go.id. (Diakses 5 April 2009).

Kuswinanti, T. 2006. Efetivitas *Trichoderma harzianum* dan *Gliocladium virens* dalam menekan pertumbuhan Sclerotium rolfsii penyebab penyakit busuk pangkal batang pada tanaman kacang tanah (Abstrak). Buletin Penelitian vol 9 no.1. http://ijonline.net/index.php/BullPen/article/view/247 (Diakses 5 April 2009).

Maketon, M, A Jirasak and S Chatchai. 2008. Green house evaluation of *Bacillus subtilis* Ap-01 and *Trichoderma harzianum* AP-001 in controlling tobacco diseases. Brazilian J. Microbiol. 39:296–300.

Nur Aeny, T. 2001. Patogenesitas bakteri layu pisang (*Ralstonia* sp.) pada beberapa tanaman. Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika 1: 60–62.

Nuryani. W, Hanudin, E. Silvia, Suhardi dan Muhidin. 2004. Pengendalian hayati penyakit layu *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* pada anyelir. Prosiding Seminar Nasional Florikultura, Puslitbang Hortikultura . Hal. 143–147.

Purwantisari S, A Priyatmojo dan B Raharjo 2008. Produksi biofungisida berbahanbaku mikroba antagonis indigenous untuk penyakit lodoh tanaman kentang di sentra-sentra penanaman kentang di Jawa. http://balitbangjateng.go.id/kegiatan/rud/2008/8-biofungisida.pdf. (Diakses 16 Juni 2009).

Samanhudi. 2009. Skrining ketahanan klon kentang terhadap penyakit layu bakteri. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. http://pertanian.uns.ac.id. (Diakses 16 Juni 2009).

Semangun, H. 2002. Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Gadjah Mada Press. Yogyakarta. 850 hal.

Widarto, HT, 2008. Mendongkrak kinerja mikroorganisme antagonis terhadap patogen tular tanah. http://ditjenbun.deptan.go.id/perlinbun/linbu. (Diakses 4 Mei 2009).

Wuryaningsih, S. 2009. Pemanfaatan *Pseudomonas fluorescens, Gliocladium* dan *Trichoderma* untuk mengendalikan penyakit layu fusarium pada tanaman krisan. Prosiding seminar Nasional Florikultura, Puslitbang Hortikultura. Hal. 271–278.