

**SKRINING BAKTERI ENDOFIT PERAKARAN PISANG SECARA
IN VITRO SEBAGAI AGEN PENGENDALI HAYATI
TERHADAP PENYAKIT LAYU BAKTERI
(*Ralstonia solanacearum*) PADA TANAMAN PISANG**

**(Screening of Bacteria Endophytic Rooting Bananas in Vitro for
Biological Control Agents against Bacterial Wilt Diseases
(*Ralstonia solanacearum*) in Banana Plant**

Dewi Hastuti¹, Andree Saylendra¹ dan Eman Saeful Rohman²

**¹Staf Pengajar Jurusan Agroteknologi Fakultas Perikanan
Universitas Sultan Ageng Tirtayasa**

**²Alumni Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian
Universitas Sultan Ageng Tirtayasa**

Jl. Raya Jakarta Km 4 Pakupantan Serang Banten

Telp. 0254-280330, Fax. 0254-281254, e-mail:dewihastuti.untirta@gmail.com

ABSTRACT

This research aimed to find and identify isolates of endophytic bacteria in banana plants root to suppress bacterial wilt disease in banana plants (*Musa paradisiaca*). This research has been carried out in the Laboratory of Agroecology Department Faculty of Agriculture, Sultan Ageng Tirtayasa University from December 2012 to April 2013. This research used a completely randomized design consisting of a single factor that endophytic bacteria consisting of 10 levels: control (without bacteria), bacterial endophyte 1, bacterial endophyte 2, bacterial endophyte 3, bacterial endophyte 4, bacterial endophyte 5, bacterial endophyte 6, bacterial endophyte 7, bacterial endophyte 8, bacterial endophyte 9. The treatment repeated 4 times. The parameters done are the percentage of inhibition, antagonism between endophytic bacteria test, test bacterial gram on endophytic bacteria, and bacterial morphology. This research indicated that all bacteria had a potential antagonist to inhibit *Ralstonia solanacearum*. Of the 60 isolates, 30 isolates showed the ability to inhibit the growth of *Ralstonia solanacearum* in vitro. Totally of 9 isolates were selected as candidates obtained antagonist belonging to *Bacillus* sp. Three isolates that had the best inhibitory ability against *Ralstonia solanacearum* were BE 10-812, 10-8 BE 13, and BE 10-8 29. These three isolates were identified as *Bacillus* sp.

Key words: Bacteria endophytic rooting bananas, Biological control agents,

PENDAHULUAN

Salah satu masalah utama dalam budidaya tanaman pisang di Indonesia adalah serangan *Ralstonia solanacearum*, yang menyebabkan penyakit layu bakteri. Sejak penyakit ini ditemukan pertama kali oleh Ernst-Gaumann di Sulawesi tahun 1906 (Fegan, 2005), produksi tanaman pisang di Indonesia terus menerus menurun dengan sangat tajam. Kehilangan hasil akibat penyakit ini dapat mencapai 10-42 % bahkan sampai 93,1 % pada serangan yang berat (Rukmana, 1997). Supriyadi (2005) melaporkan bahwa penyakit ini menyebabkan sekitar 963.360 tanaman pisang di Lampung selatan dan 1.101.000 tanaman pisang di Lampung utara mati. Sampai saat ini, penyakit layu bakteri masih menjadi masalah karena belum dapat dikendalikan. Hal ini menunjukkan bahwa penyakit layu bakteri mempunyai potensi untuk terus berkembang dan menjadi salah satu kendala yang harus dipertimbangkan dalam rangka pengembangan pisang secara besar-besaran. Sebagai penghuni tanah, patogen ini dapat bertahan dalam berbagai tanah untuk puluhan tahun walaupun tanpa tanaman inang.

Salah satu upaya untuk mengendalikan penyakit layu bakteri pada tanaman pisang adalah dengan pengendalian hayati menggunakan mikroorganisme antagonis yang relatif aman serta ramah lingkungan dibandingkan dengan penggunaan fungisida yang memberikan ancaman terhadap kualitas lingkungan, keseimbangan ekosistem maupun kesehatan manusia.

Menurut Baker dan Cook (1983), usaha penanggulangan penyakit tanaman dengan cara

biologis mempunyai peluang yang cukup cerah karena organismenya telah tersedia di alam dan aktivitasnya dapat distimulasi dengan memodifikasi lingkungan, seperti penggunaan bakteri endofit.

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa merugikan bahkan memberikan banyak manfaat bagi tanaman inangnya. Bakteri endofit melakukan kolonisasi pada relung ekologi yang sama dengan patogen tanaman. Sehingga bakteri ini lebih cocok sebagai kandidat agens pengendali hayati. Hadiwiyono (2010), menemukan perbedaan struktur komunitas bakteri endofit pada tanaman pisang terinfeksi *Blood Disease Bacterium* (BDB) yang bergejala penyakit darah dengan pisang yang tidak bergejala. Dilaporkan ada bakteri endofit tertentu pada pisang yang tidak bergejala penyakit darah, tetapi bakteri tersebut tidak dijumpai pada pisang yang bergejala penyakit darah. Bakteri endofit ini diduga terlibat dalam menghambat infeksi BDB pada tanaman pisang.

Berdasarkan informasi di atas maka perlu dilakukan penelitian tentang 'skrining bakteri endofit perakaran pisang secara *in vitro* sebagai agen pengendali hayati terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca*).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Agroekologi Jurusan Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa pada bulan Desember 2012 sampai April 2013.

Bahan-bahan yang digunakan adalah bakteri *Ralstonia solanacearum* yang telah diisolasi dari akar tanaman pisang sakit dan bakteri endofit yang telah diisolasi dari akar tanaman pisang sehat yang berasal dari Kampung Pareundeuhan, Desa Waringin, Kecamatan Mancak, Kabupaten Serang, Banten, KOH 3 % TSA (*tripic soy agar*), aquades, SPA (*sukrosapepton agar*), etanol, natriumphipoklorit, deterjen dan agar.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas satu faktor yaitu Bakteri endofit yang terdiri dari 10 taraf yaitu:

BE0 = kontrol (tanpabakteri)

BE1 = Bakteri Endofit Pisang 1

BE2 = Bakteri Endofit Pisang 2

BE3 = Bakteri Endofit Pisang 3

BE4 = Bakteri Endofit Pisang 4

BE5 = Bakteri Endofit Pisang 5

BE6 = Bakteri Endofit Pisang 6

BE7 = Bakteri Endofit Pisang 7

BE8 = Bakteri Endofit Pisang 8

BE9 = Bakteri Endofit Pisang 9

Apabila dari skrining 1 diperoleh lebih dari 9 isolat yang menunjukkan daya hambat tinggi terhadap pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* maka jumlah isolat terpilih menyesuaikan. Dari data tersebut kemudian didapat 10 isolat bakteri antagonis. Perlakuan diulang sebanyak 4 kali sehingga menghasilkan 40 satuan percobaan. Jika hasil anova menunjukkan nilai yang berbeda nyata maka dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5 %. Pengamatan morfologi bakteri endofit bersifat deskriptif.

Skrining I Isolat secara In vitro

Isolat murni dari bakteri *Ralstonia solanacearum* diambil

dengan menggunakan jarum ose. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi air steril sebanyak 10 ml dan dilakukan pengenceran 10^{-1} - 10^{-4} , setelah itu suspensi dari 10^{-4} diambil sebanyak 0,1 ml dengan menggunakan pipet tetes dan diteteskan kedalam media TSA kemudiandiratakan dengan spatula. Selanjutnya isolat murni bakteri antagonis diambil dengan menggunakan jarum ose dan diletakkan di tengah petridish. Uji pendahuluan dilakukan untuk memilih beberapa isolat yang diduga memiliki potensi agen antagonis sebagai agen pengendali hayati layu bakteri. Penapisan agen hayati dilakukan berdasarkan mekanisme antagonis, seperti yang dikemukakan Cook dan Baker dalam Maria dan Widodo (2004) yaitu produksi antibiotik. Selanjutnya diamati perkembangan pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* setelah 24 jam untuk melihat ada tidaknya zona hambatan (zona bening) di antara koloni bakteri dan *Ralstonia solanacearum*. Isolat bakteri endofit yang menunjukkan kriteria +, ++, dan +++ selanjutnya akan diuji kembali pada tahap skrining II.

Skrining II (Uji Agen Antagonis Secara in vitro)

Pada skrining II bakteri agens antagonis yang memiliki zona bening dengan kriteria +++ diuji kembali untuk menghitung persentase daya hambat. Uji lanjut ini dilakukan dengan cara menumbuhkan koloni patogen pada media TSA suspensi dari 10^{-4} diambil sebanyak 0,1 ml dan diteteskan kedalam media TSA. Isolat murni bakteri antagonis kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri dengan cara digoreskan dengan ukuran 1 cm dan diinkubasi

pada suhu ruang selama tujuh hari. Persentase penghambatan pertumbuhan koloni patogen dihitung berdasarkan modifikasi rumus Maria dan Widodo (2004) dengan mengukur jari-jari koloni patogen pada kontrol (R_1) dan koloni jari-jari patogen yang berhadapan dengan goresan bakteri endofit (R_2). Persentase daya hambat bakteri endofit dihitung dengan rumus $= \left(\frac{R_1}{R_2} \times 100 \right) \%$. Jika nilai rata-rata hambatan menunjukkan berbeda nyata maka akan diuji lanjut dengan uji jarak berganda Duncan pada selang kepercayaan 5 %.

Morfologi Koloni Bakteri Endofit (Bentuk, Tepi, Elevasi, dan Warna)

Setelah mendapatkan kultur murni maka biakan yang diinginkan ditumbuhkan ke dalam media untuk dikenali ciri koloninya. Ciri koloni didasarkan pada ukuran koloni,

bentuk koloni, bentuk pinggiran koloni, permukaan koloni, dan warna koloni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman pisang yang terinfeksi patogen layu bakteri ditunjukkan dengan menguningnya daun ke 3 atau ke 4 (Gambar 1a). Apabila dibuat potongan melintang bagian batang, maka akan terlihat perubahan warna kecoklat-coklatan pada batang (Gambar 1b) dan setelah beberapa saat akan muncul eksudat bakteri berwarna putih kotor atau coklat kehitaman pada permukaan irisan. Gejala tersebut sama dengan deskripsi gejala layu bakteri pada pisang yang dikemukakan oleh Supriyadi (1999). Isolasi dilakukan di Laboratorium Agroekologi Fakultas Pertanian UNTIRTA yang bersuhu harian rata-rata 28 °C.



Gambar. Gejala serangan *Ralstonia solanacearum* pada tanaman pisang (b), batang terserang dan batang sehat (a)

Hasil identitas skrining awal isolat bakteri yang berpotensi sebagai agen antagonis yang didapatkan disajikan pada (Tabel 1).

Tabel 1. Skrining I aktivitas antibiotik bakteri endofit pada tanaman pisang pengenceran 10^{-5}

No	Jenis Bakteri Endofit	Aktivitas Antibiotik
1	BE 10^{-5} 41	-
2	BE 10^{-5} 42	-
3	BE 10^{-5} 43	-
4	BE 10^{-5} 44	+++
5	BE 10^{-5} 45	+++
6	BE 10^{-5} 46	++
7	BE 10^{-5} 47	+++
8	BE 10^{-5} 48	+
9	BE 10^{-5} 49	-
10	BE 10^{-5} 50	++
11	BE 10^{-5} 51	++
12	BE 10^{-5} 52	+++
13	BE 10^{-5} 53	-
14	BE 10^{-5} 54	-
15	BE 10^{-5} 55	-
16	BE 10^{-5} 56	+
17	BE 10^{-5} 57	-
18	BE 10^{-5} 58	-
19	BE 10^{-5} 59	-
20	BE 10^{-5} 60	-

Keterangan: +++ = aktivitas antibiotik tinggi, ++ = aktivitas antibiotik sedang, + = aktivitas antibiotik rendah, - = tidak ada aktivitas antibiotik

Dari skrining 1 terdapat 30 isolat bakteri endofit menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan layu bakteri pada pisang. Rata-rata zona penghambatan terbentuk pada 24 jam setelah inokulasi, tetapi ada juga beberapa isolat bakteri antagonis yang membentuk zona bening pada 48 jam setelah inokulasi. Adanya perbedaan waktu dalam pembentukan zona penghambatan ini diduga karena kemampuan isolat antagonis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* yang berbeda-beda. Dari skrining pertama kemudian diambil Sembilan isolat terpilih yang mempunyai aktivitas

antibiotik tinggi dan dari besarnya zona bening yang terbentuk untuk kemudian di uji kembali daya hambatnya.

Daya Hambat Bakteri Endofit

Tabel 2 memperlihatkan kemampuan daya hambat ke 9 isolat bakteri endofit yang diuji terhadap *Ralstonia solanacearum*, ke 9 isolat memberikan pengaruh sangat nyata pada parameter daya hambat. Untuk perlakuan kontrol dan BE 10^{-5} 44 berbeda tidak nyata namun berbeda nyata dengan BE 10^{-5} 47, BE 10^{-5} 45, BE 10^{-3} 40, BE 10^{-8} 12, BE 10^{-8} 13, BE 10^{-8} 10, dan BE 10^{-8} 29 pada 7 HSI. Isolat-isolat bakteri antagonis yang

diuji menunjukkan kemampuan yang sangat nyata, artinya isolat-isolat bakteri antagonis yang diuji tersebut mempunyai kemampuan yang relatif

sama dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* secara *in Vitro*.

Tabel 2 .Kemampuan daya hambat bakteri endofit terhadap pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* pada pengamatan setelah inkubasi (HSI) pada skrining II

Perlakuan	Daya Penghambatan Rerata (%)						
	1HSI	2HSI	3HSI	4HSI	5HSI	6HSI	7HSI
BE 10 ⁻⁵ 47	2.50 b	2.77 ab	2.78 ab	2.80 ab	2.80 ab	2.81 ab	2.81 ab
BE 10 ⁻⁵ 44	2.50 b	2.50 c	2.50 b	2.50 b	2.51 b	2.51 b	2.51 b
BE 10 ⁻⁸ 10	2.54 b	2.90 a	2.98 a	3.01 a	3.02 a	3.05 a	3.09 a
BE 10 ⁻⁸ 29	2.79 a	2.85 ab	2.88 ab	2.9 a	2.93 a	2.94 a	2.96 a
BE 10 ⁻⁸ 13	2.66 a	2.80 ab	2.9 ab	2.94 a	2.88 a	2.94 a	2.97 a
BE 10 ⁻⁵ 45	2.50 b	2.50 c	2.67 ab	2.77 ab	2.79 ab	2.8 ab	2.81 ab
BE 10 ⁻⁸ 12	2.68 a	2.91 a	3.02 a	3.03 a	3.08 a	3.13 a	3.14 a
BE 10 ⁻⁸ 20	2.50 b	2.72 abc	2.85 ab	2.85 a	2.87 a	2.19 a	2.94 a
BE 10 ⁻³ 40	2.51 b	2.63 bc	2.72 ab	2.75 ab	2.78 ab	2.79 ab	2.75 ab
Kontrol	2.5 b	2.5 c	2.5 b	2.5 b	2.5 b	2.5 b	2.5 b

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf yang sama berbeda nyata pada uji jarak berganda Duncan ($\alpha = 95\%$) pada kolom yang sama

Bakteri endofit yang mempunyai kemampuan daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *Ralstonia solanacearum* terdapat pada BE 10⁻⁸ 12, BE 10⁻⁸ 29, BE 10⁻⁸ 13, karena memiliki daya antagonis yang terbaik dari 1-7 hari setelah inkubasi (HSI). Hal ini disebabkan karena bakteri endofit dilaporkan mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman, menguraikan dinding sel patogen, dan menghambat pertumbuhan patogen dengan menghasilkan seyawa anti mikroba seperti siderofor (Chandrasekhara dkk., 2007). Siderofor adalah seyawa organik selain antibiotik yang dapat berperan dalam pengendalian hayati penyakit tumbuhan (Fravel, 1988 dalam Diniyah, 2010). Hallman

(2001) menyatakan bakteri endofit mempunyai kemampuan untuk melindungi tanaman dari patogen tular tanah. Kemampuannya ialah untuk mengkolonisasi jaringan korteks akar dan memproduksi metabolit yang menekan patogen untuk menginduksi ketahanan tanaman. Seyawa antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri antagonis dapat berperan langsung sebagai bakterisida terhadap bakteri patogen dan agen penginduksi (elicitor) ketahanan tanaman terhadap penyakit (Lyon, 2007).

Morfologi Bakteri Endofit

Uji ini dilakukan dengan menumbuhkan bakteri endofit ke beberapa media agar TSA yaitu media cawan petri, media agar miring, dan media agar tegak.

Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar. Berdasarkan pengamatan koloni bakteri endofit pada Tabel 3, pada media cawan petri menunjukkan perbedaan morfologi koloni bakteri. Bakteri BE 12 yang memiliki elevasi, ukuran, bentuk, dan permukaan yang sama dengan BE 13 akan tetapi berbeda pada karakteristik optik dan margin. Secara keseluruhan semua koloni

endofit yang diuji pada media cawan petri memiliki elevasi yang sama. Perbedaan bentuk koloni disebabkan oleh masa inkubasi (Corbin, 2004). Hasil dari pengujian menunjukkan bahwa ke 9 isolat bakteri uji memiliki karakteristik morfologi yang hampir sama berbentuk bulat beraturan pada media cawan petri.

Tabel 3. Morfologi bakteri pada beberapa media

Hasil Pengamatan						
Cawan Petri	Elevasi	Ukuran	Karakteristik optik	Bentuk	Permukaan	Margin
BE 12	Convex	Large	Opaque	Circular	Berkerut	Lobate
BE 13	Convex	Large	Translucent	Circular	Berkerut	Entire
BE 29	Convex	Large	Translucent	Iragular	Kasar	Curled
BE 20	Convex	Large	Opaque	Circular	Halus	Entire
BE 40	Convex	Large	Translucent	Circular	Halus	Entire
BE 47	Convex	Large	Opaque	Circular	Berkerut	Entire
BE 45	Convex	Small	Opaque	Iragular	Kering seperti bubuk	Lobate
BE 44	Convex	Moder	Opaque	Felamenous	Kasar	Felamenous
BE 10	Convex	Large	Translucent	Circular	Halus	Entire

Beberapa pengujian dilakukan untuk melihat karakteristik morfologi dari ke sembilan isolat bakteri endofit yang di uji. Hasil dari

pengujian menunjukkan bahwa ke Sembilan isolat bakteri uji memiliki karakteristik morfologi yang sama.

Tabel 4. Uji biokimia

Isolat bakteri	Uji gram KOH 3%	Tahan panas	Warna koloni
BE 10 ⁻⁵ 47	+	+	Putih
BE 10 ⁻⁵ 44	+	+	Putih
BE 10 ⁻⁸ 10	+	+	Putih
BE 10 ⁻⁸ 29	+	+	Putih
BE 10 ⁻⁸ 13	+	+	Putih
BE 10 ⁻⁵ 45	+	+	Putih
BE 10 ⁻⁸ 12	+	+	Putih
BE 10 ⁻⁸ 20	+	+	Putih
BE 10 ⁻³ 40	+	+	Putih

Berdasarkan Tabel 4, diketahui bahwa isolat bakteri endofit dari sembilan isolat memiliki karakteristik morfologi yang sama.

Sembilan isolat bakteri endofit tersebut menunjukkan koloni yang berwarna putih pada media TSA, memiliki gram positif berdasarkan

pengujian reaksi dengan KOH 3 %. Dari hasil identifikasi bakteri antagonis yang digunakan merupakan genus *Bacillus* sp. Menurut Corbin (2004) koloni *Bacillus* sp. memiliki karakteristik umum memiliki warna krem keputihan serta berbentuk bulat dan tidak beraturan pada masa inkubasi 24-48 jam. Bakteri golongan *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang berbentuk batang dan tergolong bakteri gram positif pada kultur muda, memproduksi spora yang biasanya resisten pada panas (Cowan, 1974).

SIMPULAN

Berdasarkan uraian hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Dari 60 isolat bakteri yang diperoleh, 30 isolat bakteri menunjukkan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* secara *in vitro*, terdapat 9 isolat yang memiliki zona bening terbesar sebagai kandidat agen antagonis.
2. Tiga isolat dari uji antagonis yang mempunyai kemampuan penghambatan terbaik terhadap *Ralstonia solanacearum* dari hari pertama sampai hari ke 7 adalah BE 10^{-8} 12, BE 10^{-8} 13, dan BE 10^{-8} 29. Dari uji sifat gram (+), tahan panas, dan koloni bakteri berwarna putih. Ketiga isolate bakteri ini diidentifikasi sebagai *Bacillus* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. 2002. Produksi Tanaman Sayuran dan Buah-Buahan. Jakarta.
- Balitbang. 2007. Prospek dan pengembangan agribisnis: pisang. Jakarta: IAARD online. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian – IAARD online\Balitbang pisang. Htm. Diakses 1 Juni 2008.
- Baker, K.F., and Cook R.J. 1983. Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. Minnesota: The American Phytopathology Society Press.
- Chandrashekhara. 2007. Endophytic Bacteria from Different Plant Origin Enhance Growth and Induce Downy Mildew Resistance in Pearl Millet. <http://www.scialert.net/qredirect.php?doi=ajppaj.2007.1.11&linkid=pdf-similarby-SN-Chandrashekhara-2007>.
- Corbin, B.D. 2004. Identification and Characterization *Bacillus thuringiensis*. J. Bacteriol. 186:7736–7744.
- Cowan, S.T. 1974. Manual for Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press. Cambridge
- Diniyah, S. 2010. Potensi Isolat Bakteri Endofit sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) dan Jamur (*Fusarium* sp., dan *Phytophthora infestans*) Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi. Malang: UIN (Tidak dipublikasi).
- Fegan, M. 2005. Bacterial Wilt Disease of Banana in: In: C.

- Allen, P. Prior, A.C. Hayward. Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. American Phytopathological Society Press, Minnesota.
- Hadiwiyono, S. Subandiyah, C. Sumardijono, J. Widada, & M. Fegan. 2006. Detection of Blood Disease Bacterium Using Polymerase Chain Reaction with Microlysis Kit for DNA Template Preparation. Makalah Seminar Nasional Hasil Pertanian. UGM. Yogyakarta.
- Hallmann, J., 2001. Plant Interaction With Endophytic Bakteria. In: Jeger, M.J. And spence, N.J., editor. Biotic Interaction in Plant-Pathogen Associations. CAB Internasional. P. 87-119.
- Lyon, G. 2007. Agents that Can Elicit Induced Resistance. In: Walters, D., Newton, A., Lyon, G. Editor. Induced Resistance for Plant Defence: Sustainable Approach to Crop Protection. Blackwell Publishing. pp.9-30.
- Marya dan Widodo. 2004. Potensi Bakteri Rizosfer dan Endofit pada Akar Pisang dalam Pengendalian Penyakit Layu Fusarium. Hal. 67-72.
- Rukmana, R. 1997. Kentang Budidaya dan Pascapanen. Yogyakarta: Kanisius.
- Supriyadi. 1999. Karakteristik Kultur dan Patogenesisitas Isolat *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Darah pada Tanaman Pisang. Jurnal Holtikultura 9(2) : 129-136.
- Supriyadi. 2005. Present Status of Blood Disease in Indonesia. In: C. Allen, P. Prior, A.C. Hayward. Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. American Phytopathological Society Press, Minnesota.