

Pelita Perkebunan 29(1) 2013, 44-52

Penghambatan Pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*

Growth Inhibition of Colletotrichum gloeosporioides by Trichoderma harzianum, Trichoderma koningii, Bacillus subtilis and Pseudomonas fluorescens

Febrilia Nur 'Aini^{1*}, Sri-Sukanto¹, Dwi Wahyuni², Risma Galuh Suhesti², dan Qurrotun Ayunin²

¹Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jl. PB. Sudirman No. 90, Jember, Indonesia

²Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember, Jl. Kalimantan 37 Tegal Boto, Jember, Indonesia

*Alamat penulis (*corresponding author*): febrilia.ifeb@yahoo.com

Naskah diterima (*received*) 14 Februari 2012, disetujui (*accepted*) 25 Maret 2013

Abstrak

Colletotrichum gloeosporioides adalah salah satu penyakit yang mampu menyebabkan kehilangan hasil kakao yang cukup besar. Penelitian ini bertujuan untuk meneliti kemampuan mikroba antagonis *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* dalam mengendalikan *gloeosporioides* secara hayati di laboratorium. Penelitian dilakukan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jamur antagonis, *T. harzianum*, *T. koningii*, lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan *C. gloeosporioides* sekitar 83% dibandingkan kemampuan bakteri antagonis, *B. subtilis* dan *P. fluorescens*, yang hanya sebesar 49%.

Kata kunci: Penghambatan pertumbuhan, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*.

Abstract

Colletotrichum gloeosporioides is a disease which can cause significant yield loss of cocoa. The objective of this research is to investigate the ability of antagonist microbes, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* in controlling *gloeosporioides* biologically in laboratory condition. The experiment was carried out in Crop Protection Laboratory, Indonesian Coffee and Cocoa Research Institute. Results of this research showed that antagonist fungi, *T. harzianum*, *T. koningii*, had a stronger ability in inhibiting growth of *C. gloeosporioides* about 83% compared to the ability of antagonist bacteria, *B. subtilis* and *P. fluorescens*, only about 49%.

Key words: Growth inhibition, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*.

PENDAHULUAN

Salah satu penyakit penting pada tanaman kakao di Indonesia adalah antraknosa *colletotricum* yang disebabkan oleh jamur *Colletotrichum gloeosporioides* (Sri-Sukanto *et al.*, 2008). Serangan jamur *C. gloeosporioides* dapat menimbulkan kerusakan pada tanaman kakao yang besarnya tergantung pada intensitas serangan penyakit. Infeksi pada buah-buah muda ikut menurunkan produksi kakao, karena buah-buah tersebut akan layu dan mengering. Dari hasil pengamatan yang dilakukan di Jawa Timur, diketahui bahwa serangan pada buah muda dari klon rentan adalah sebesar 73% dan kehilangan hasil diduga bisa mencapai 75%. Pada tanaman yang terserang berat, jumlah daun dan buah hanya sedikit sehingga produksi sangat rendah (Sri-Sukanto *et al.*, 2008).

Selain di Indonesia, penyakit ini telah ditemukan di Malaysia, Brunei, Filipina, Sri Lanka, dan India Selatan. Pada tahun 1980-an di Jawa Timur serangan jamur *C. gloeosporioides* pada kakao tampak meningkat, sehingga menarik cukup banyak perhatian (Sri-Sukanto & Junianto, 1987).

Saat ini perhatian pada pengendalian alternatif yang lebih ramah lingkungan semakin besar untuk menurunkan penggunaan pestisida sintesis yang marak digunakan, dan salah satunya adalah pengendalian hayati (Sulistiyowati *et al.*, 2009). Pengendalian hayati terhadap patogen pada umumnya dapat melalui antibiosis dan kompetisi, kadang-kadang melalui hiperparasitisme (Sitepu, 1993). Usaha pengendalian penyakit antraknosa secara biologi dapat dengan mikroorganisme antagonis (Stirling & Stirling, 1997). Aktivitas biologi tersebut berkaitan erat dengan sifat antagonisme mikrobial, baik secara langsung melalui kompetisi atau antibiosis, maupun secara tidak langsung

melalui induksi resistensi tanaman inang (Trigalet *et al.*, 1994).

Pemanfaatan jamur dan bakteri rizosfer sebagai agensia pengendali hayati untuk patogen tanaman telah banyak dilakukan karena dapat tumbuh dengan cepat dan mampu menggunakan berbagai substrat di bawah kondisi lingkungan yang berbeda (Cook & Baker, 1983). Beberapa jenis bakteri merupakan penghasil antibiotik sedangkan yang lain merupakan pengkoloni akar yang efektif dan dapat tumbuh dengan cepat pada rizosfer tanaman (O'Sullivan & O'Gara, 1992).

Trichoderma merupakan jamur yang umum terdapat dalam tanah dan telah dilaporkan secara luas sebagai agensia hayati yang mampu menghambat pertumbuhan beberapa jenis patogen (Harman *et al.*, 2004). Mekanisme penghambatan *Trichoderma* terhadap patogen antara lain melalui proses kompetisi, parasitisme dan antibiosis (Bailey *et al.*, 2008). Hifa *Trichoderma* mampu melilit hifa patogen sehingga pertumbuhan patogen terhambat, selain itu juga mampu mengeluarkan enzim kitinase dan β -1,3 glukonase yang mampu merombak dinding sel patogen. Selain itu, *Trichoderma* mampu menghasilkan antibiotik 3-2-hydroxyprophyl-4-2-hexadienyl)-2-5(5H)-furanon yang mampu menghambat pertumbuhan spora dan hifa mikroba patogen.

Bacillus subtilis merupakan bakteri gram positif yang mampu menghasilkan antibiotik streptovidin, basitirin, surfaktin, iturin A, polimiksin, difisidin, subtilin, subtilosin dan mikobasilin yang mampu menghambat pembentukan dinding sel jamur patogen (Soesanto, 2008). Bakteri lain adalah *Pseudomonas fluorescens* yang merupakan bakteri pengkoloni akar, agresif dengan waktu generasi yang cepat dalam zona perakaran (Campbell, 1989; Arwiyanto, 1997). Bakteri ini dikenal juga mampu meningkatkan

pertumbuhan tanaman secara tidak langsung dengan mengendalikan mikroorganisme pengganggu tanaman (Howell & Stipanovic, 1979). Banyak strain *P. fluorescens* telah menunjukkan penekanan pada bermacam-macam penyakit tanaman yang disebabkan oleh patogen tular tanah termasuk mikroorganisme beracun (Weller, 1988). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji keefektifan jamur dan bakteri antagonis dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Persiapan Isolat

Isolat *C. gloeosporioides* diperoleh melalui isolasi dari buah kakao yang terserang penyakit antraknosa. Isolasi dilaksanakan dengan cara mengambil kulit buah kakao yang terserang antraknose dengan ukuran 0,5 cm x 0,5 cm kemudian dicelupkan ke dalam larutan alkohol 70% selama 3 menit dan dibilas dengan aquades steril selama 3 menit. Potongan kulit buah tersebut dipindahkan pada kertas saring, diletakkan secara aseptik di atas permukaan media PDA pada cawan petri yang telah diberi satu tetes asam laktat 20%, kemudian diinkubasi dalam kondisi gelap dengan suhu 26°C selama 3 hari. Koloni yang tumbuh diidentifikasi

berdasarkan ciri-ciri morfologinya menurut Barnett & Hunter (1972).

Isolat jamur *T. harzianum* dan *T. koningii* masing-masing dibiakkan dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA) di dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 26°C hingga biakan murni tumbuh sampai tepi cawan petri. Isolat *B. subtilis* dan *P. fluorescens* terlebih dahulu dikarakterisasi meliputi pewarnaan gram, uji katalase, hidrolisis gelatin, produksi indol dan pati. Isolat *B. subtilis* dibiakkan dalam media *Natrium Agar* sedangkan *P. fluorescens* dibiakkan dalam media King's B dan diinkubasi pada suhu kamar.

Uji Antagonis Secara *In Vitro*

Uji *in-vitro* dilakukan dengan cara melakukan uji antagonis tunggal setiap isolat jamur dan bakteri antagonis terhadap *C. gloeosporioides*. Masing-masing isolat *T. harzianum*, *T. koningii*, *B. subtilis*, *P. fluorescens* dan *C. gloeosporioides* diambil dengan menggunakan bor gabus yang berdiameter 0,3 cm. Setiap isolat antagonis diuji dengan *C. gloeosporioides* secara simultan dalam cawan petri yang berdiameter 9 cm. Isolat jamur dan bakteri antagonis diletakkan pada sisi yang berlawanan dengan jamur patogen, jarak antarisolat antagonis dan patogen adalah 3 cm sedangkan jarak setiap isolat dari tepi

Tabel 1. Sumber isolat jamur dan bakteri yang digunakan dalam penelitian

Table 1. Sources of fungal and bacterial isolates used in this research

Isolat Isolates	Asal Sources
<i>T. harzianum</i>	Koleksi Laboratorium Proteksi Tanaman Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia <i>Collection of Crop Protection Laboratory, ICCRI</i>
<i>T. koningii</i>	Koleksi Laboratorium Proteksi Tanaman Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia <i>Collection of Crop Protection Laboratory, ICCRI</i>
<i>B. subtilis</i>	Koleksi Laboratorium FMIPA Universitas Jember <i>Collection of Laboratory of Science Faculty, University of Jember</i>
<i>P. fluorescens</i>	Koleksi Laboratorium FMIPA Universitas Jember <i>Collection of Laboratory of Science Faculty, University of Jember</i>
<i>C. gloeosporioides</i>	Isolasi dari buah kakao di Kebun Percobaan Kaliwining Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia <i>Isolate of cocoa pod from Kaliwining Experimental Station, ICCRI</i>

cawan petri adalah 3 cm. Sebagai kontrol, ditumbuhkan jamur *C. gloeosporioides* pada media PDA tanpa jamur antagonis. Inkubasi dilakukan dalam kondisi gelap pada suhu 26°C selama tujuh hari.

Pengukuran Daya Hambat

Pengukuran jari-jari penghambatan jamur dan bakteri antagonis terhadap *C. gloeosporioides* dilakukan setelah miselium *C. gloeosporioides* pada kontrol telah mencapai pinggir cawan petri. Persentase penghambatan jamur dan bakteri antagonis terhadap pertumbuhan *C. gloeosporioides* dihitung berdasarkan Fokkema & Van der Meulen (1976), dengan mengukur jari-jari koloni *C. gloeosporioides* pada kontrol (r_1) dan jari-jari koloni *C. gloeosporioides* yang berhadapan dengan jamur antagonis (r_2). Persentase penghambatan koloni *C. gloeosporioides* dihitung menggunakan rumus:

$$I = \frac{r_1 - r_2}{r_1} \times 100\%$$

I = persentase penghambatan

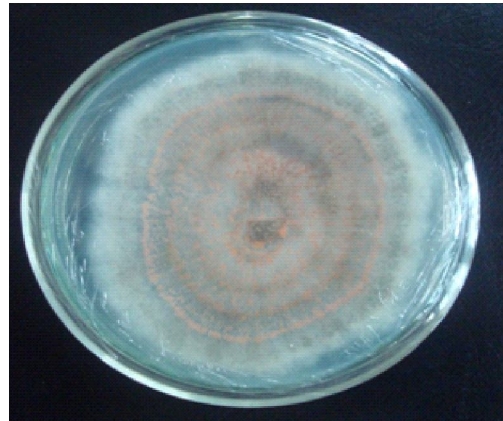
r_1 = jari-jari koloni jamur pada kontrol

r_2 = jari-jari koloni jamur pada perlakuan

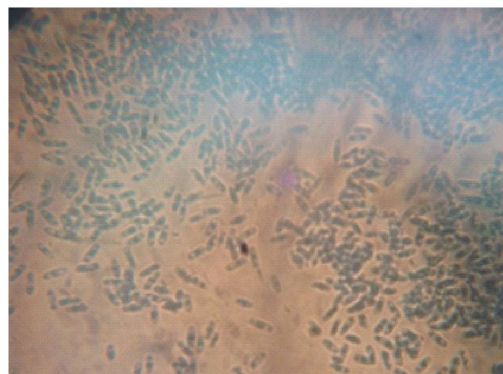
HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi jamur *C. gloeosporioides* diamati secara visual dan mikroskopis. Hasil isolasi dari buah kakao yang terserang antraknosa menunjukkan bahwa miselium *C. gloeosporioides* yang berumur muda berwarna putih dan kemudian berangsur-angsur berubah menjadi orange dan keabu-abuan saat sudah tua (Gambar 1). Secara mikroskopis, *C. gloeosporioides*

menunjukkan karakteristik konidia hialin, berbentuk bulat lonjong, bersel 1 (Barnett, & Hunter, 1972), terbentuk pada ujung konidiofor yang sederhana (Semangun, 1988).



a



b

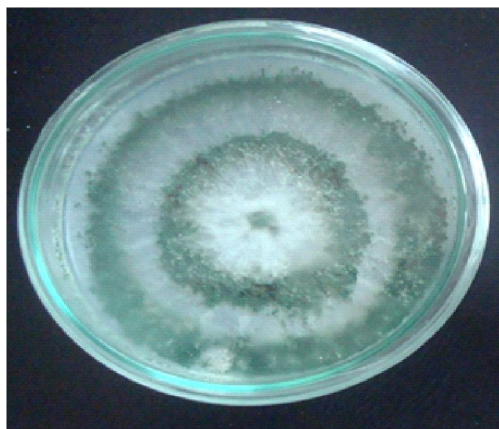
Gambar 1. Miselium jamur *C. gloeosporioides* (a). Spora jamur *C. gloeosporioides* pada perbesaran 400x (b).

Figure 1. Mycelium of *C. gloeosporioides* fungus (a). Spores of *C. gloeosporioides* fungus at 400x magnification (b).

Pengamatan morfologi terhadap *T. koningii* dan *T. harzianum* menunjukkan bahwa warna koloni pada *T. harzianum* berwarna hijau tua sedangkan *T. koningii* menunjukkan warna hijau muda kekuning-

kuningan, tekstur miselium pada *T. koningii* lebih halus dan pertumbuhannya sedikit lebih lambat jika dibandingkan dengan *T. harzianum* (Gambar 2).

Hasil uji pewarnaan gram menunjukkan bahwa *B. subtilis* merupakan bakteri gram positif karena menghasilkan warna ungu saat ditetesi dengan larutan KOH. Warna ungu yang muncul pada pewarnaan gram tersebut dikarenakan dinding sel *B. subtilis* mampu mempertahankan zat warna kristal violet.



a



b

Gambar 2. Miselium *T. harzianum* (a) dan *T. koningii* (b).

Figure 2. Mycelium of *T. harzianum* (a) and *T. koningii* (b).

Pada hasil pewarnaan gram menunjukkan *P. fluorescens* termasuk golongan bakteri gram negatif karena hasil pewarnaan menunjukkan warna merah yang disebabkan karena bakteri tersebut mampu melunturkan zat warna ungu kristal violet dan mengikat safranin (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji biokimia *B. subtilis* dan *P. fluorescens*
Table 2. The results of biochemical tests of *B. subtilis* and *P. fluorescens*

Uji (Tests)	Reaksi (Reaction)	
	<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluorescens</i>
Gram		
Gram	+	-
Katalase	+	+
Catalase		
Hidrolisis gelatin	+	+
Gelatin hydrolysis		
Produksi indol	-	+
Indol production		
Hidrolisis pati	+	+
Starch hydrolysis		

Uji biokimia yang dilakukan pada dasarnya adalah sebagai konfirmasi isolat yang digunakan agar tidak terjadi kesalahan. Uji biokimia didasarkan pada Leary & Chun (1988). Pada uji katalase, baik *B. subtilis* maupun *P. fluorescens* menghasilkan gelembung kecil setelah ditetesi larutan hidrogen peroksida 3%, hal ini menunjukkan bahwa kedua bakteri tersebut mengandung antimetabolit yang dihasilkan oleh enzim katalase yang dapat mengubah H₂O₂ menjadi O₂ dan H₂. Hasil uji hidrolisis gelatin juga menunjukkan hasil yang sama pada kedua bakteri tersebut yaitu mampu menghidrolisis gelatin yang ditunjukkan oleh mencairnya medium gelatin setelah diinokulasikan oleh bakteri tersebut. Pada uji produksi indol, *B. subtilis* menunjukkan hasil negatif sedangkan *P. fluorescens* menunjukkan reaksi positif yang berarti mampu memproduksi indol. Uji hidrolisis pati menunjukkan hasil positif dari kedua bakteri, hal tersebut menandakan bahwa baik *B. subtilis* maupun

P. fluorescens mampu menghasilkan enzim amilase yang dapat menghidrolisis pati menjadi molekul-molekul maltosa, glukosa dan dekstrin.

Penghambatan oleh *T. harzianum* dan *T. koningii*

Berdasarkan Tabel 3. dapat diketahui bahwa pertumbuhan miselium *C. gloeosporioides* pada hari pertama baik pada kontrol maupun pada perlakuan memiliki ukuran jari-jari yang sama yaitu sebesar 0,3 cm. Uji antagonis dengan menggunakan *T. harzianum* pada hari kedua telah terjadi proses penghambatan pertumbuhan, hal tersebut dapat diketahui dari pertumbuhan miselium *C. gloeosporioides* yang mengalami stagnasi sampai dengan akhir pengamatan dengan jari-jari miselium sebesar 0,5 cm.

Sedangkan pada uji antagonis dengan menggunakan *T. koningii*, proses penghambatan pertumbuhan *C. gloeosporioides* mulai terjadi pada hari ketiga dan juga terjadi proses stagnasi pada pertumbuhan miselium. Pada perlakuan kontrol, terlihat bahwa pertumbuhan miselium *C. gloeosporioides* tetap tumbuh sampai dengan akhir pengamatan. Hal ini berarti bahwa *C. gloeo-*

sporioides tumbuh dengan optimal tanpa adanya jamur antagonis.

Pada hari pertama sampai dengan hari keenam terlihat tidak ada perbedaan yang signifikan di antara kedua antagonis dalam menghambat *C. gloeosporioides*, tetapi setelah pengamatan hari ketujuh terlihat bahwa *T. harzianum* memiliki daya hambat lebih besar dibandingkan *T. koningii* (Tabel 3). Pada hari ketujuh pengamatan, daya hambat *T. harzianum* terhadap *C. gloeosporioides* mencapai 84,65% sedangkan *T. koningii* mencapai 80,94% (Tabel 3) yang berarti bahwa masing-masing jamur antagonis tersebut memiliki kemampuan yang baik dalam menghambat patogen. Interaksi *C. gloeosporioides* dengan jamur *T. harzianum* dan *T. koningii* adalah melalui mekanisme antagonisme langsung (Jeffries & Young, 1994). Hal ini sejalan dengan Bailey *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa *Trichoderma* merupakan agensia antagonis yang sangat agresif dalam mekanisme mikoparasit, antibiosis dan kolonisasi terhadap patogen tumbuhan. Proses antagonis yang terjadi juga melalui interferensi hifa (Sri-Sukanto *et al.*, 1997), yaitu suatu bentuk antagonisme yang berlangsung bila dua buah hifa yang bersifat antagonistik

Tabel 3. Pertumbuhan miselium jamur dan persentase penghambatan pertumbuhan *C. gloeosporioides* pada uji antagonis menggunakan *T. harzianum* dan *T. koningii*

Table 3. Growth of fungal mycelium and the mean percentage growth inhibition of *C. gloeosporioides* on antagonism test using *T. harzianum* and *T. koningii*

Hari Day	Pertumbuhan miselium <i>C. gloeosporioides</i> , cm Growth of mycelium of <i>C. gloeosporioides</i> , cm			Rerata persentase penghambatan ^{*)} Mean inhibition percentage	
	Kontrol Control	Perlakuan Treatments		<i>T. harzianum</i>	<i>T. koningii</i>
		<i>T. harzianum</i>	<i>T. koningii</i>		
1	0.3	0.3	0.3	0 ± 0	0 ± 0
2	0.8	0.5	0.5	35.6 ± 9.8	31.9 ± 6.4
3	1.5	0.5	0.7	60.8 ± 6.0	51.3 ± 2.2
4	2.2	0.5	0.7	74.9 ± 3.1	68.8 ± 2.4
5	2.6	0.5	0.7	78.9 ± 2.6	73.7 ± 2.1
6	3.3	0.5	0.7	82.9 ± 2.6	77.6 ± 1.1
7	3.7	0.5	0.7	84.7 ± 2.6	80.9 ± 1.3

Catatan (Note): ^{*)} Rerata ± SD (Mean ± SD).

secara kontak atau berdekatan. Akibat utama interferensi hifa ini adalah terjadinya penambahan permeabilitas sel yang berakhir dengan kematian hifa.

Penghambatan oleh *B. subtilis* dan *P. fluorescens*

Tabel 4 menunjukkan bahwa *C. gloeosporioides* mulai terhambat pertumbuhannya oleh *B. subtilis* dan *P. fluorescens* pada hari ketiga setelah aplikasi. Pertumbuhan *C. gloeosporioides* pada uji antagonis dengan *B. subtilis* mulai berhenti pada hari kelima, sedangkan pada perlakuan uji antagonis dengan *P. fluorescens*, pertumbuhan *C. gloeosporioides* mulai berhenti pada hari keenam. Hal tersebut menunjukkan bahwa *B. subtilis* mempunyai daya hambat lebih tinggi dibandingkan *P. fluorescens*.

B. subtilis menghasilkan antibiotika yang bersifat racun terhadap mikroba lain. Antibiotika yang dihasilkan antara lain streptovidin, basitrasin, surfaktin, fengisin, iturin A, polimiksin, difisidin, subtilin, subtilosin, dan mikobasilin. Subtilosin merupakan antimikroba berbentuk protein, sedangkan subtilin merupakan senyawa peptida, dan surfaktin, fengisin, serta

iturin A merupakan lipoprotein. Basitrasin merupakan polipeptida yang efektif terhadap bakteri gram positif dan bekerja menghambat pembentukan dinding sel jamur patogen (Soesanto, 2008).

Berdasarkan hasil yang disajikan dalam Tabel 4, dapat diketahui bahwa persentase penghambatan pertumbuhan *C. gloeosporioides* oleh *B. subtilis* sampai pengamatan hari ketujuh lebih besar dibandingkan penghambatan oleh *P. fluorescens*. Persentase penghambatan oleh *B. subtilis* sebesar 52,23% sedangkan persentase penghambatan oleh *P. fluorescens* sebesar 45,10%. *B. subtilis* mampu menghasilkan enzim degradatif makromolekul yang bisa menghancurkan dinding sel jamur, seperti protease (intraseluler) dan beberapa enzim yang disekresikan pada medium seperti levansukrase, β -glukanase, α -amilase, xilanase, kitinase dan protease (Kunst & Rapoport, 1995). Terhambatnya pertumbuhan *C. gloeosporioides* oleh *P. fluorescens* disebabkan oleh adanya antibiotik seperti agrocin, herbicolin, oomycin A, phenazine, pyoluteorin yang diproduksi oleh *Pseudomonas* (Latupapua & Nurhidayat, 2003). Mekanisme lain yang ditunjukkan oleh *P. fluorescens* adalah dengan mensekresi-

Tabel 4. Pertumbuhan miselium jamur dan persentase penghambatan pertumbuhan *C. gloeosporioides* pada uji antagonis menggunakan *B. subtilis* dan *P. fluorescens*.

Table 4. Growth of fungal mycelium and the percentage growth inhibition of *C. gloeosporioides* on antagonism test using *B. subtilis* and *P. fluorescens*.

Hari Day	Pertumbuhan miselium <i>C. gloeosporioides</i> , cm Growth of mycelium of <i>C. gloeosporioides</i> , cm			Rerata persentase penghambatan ^{*)} The mean inhibition percentage	
	Kontrol Control	Perlakuan Treatments		<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluorescens</i>
		<i>B. subtilis</i>	<i>P. fluorescens</i>		
1	0.2	0.2	0.2	0 ± 0	0 ± 0
2	0.8	0.8	0.8	11.0 ± 0	11.0 ± 0
3	1.5	1.4	1.3	14.9 ± 3.4	12.8 ± 0.5
4	2.1	1.7	1.6	19.5 ± 6.2	21.3 ± 7.5
5	2.7	1.9	1.9	34.4 ± 7.4	27.7 ± 8.3
6	3.2	1.9	2.0	46.4 ± 4.3	38.6 ± 2.9
7	3.9	1.9	2.0	52.2 ± 0.7	45.1 ± 3.5

Catatan (Note): ^{*)} Rerata ± SD (Mean ± SD).

kan suatu siderofor pseudobactin yang diproduksi dalam keadaan ion ferric yang terbatas (Hu & Boyer, 1996).

KESIMPULAN

Agensia hayati *T. harzianum*, *T. koningii*, *B. subtilis* dan *P. fluorescens* efektif menghambat pertumbuhan jamur *Colletotrichum gloeosporioides* penyebab penyakit antraknosa pada kakao. Persentase penghambatan pertumbuhan *T. harzianum* sebesar 84,6%, *T. koningii* sebesar 80,9%, *B. subtilis* sebesar 52,2% dan *P. fluorescens* sebesar 45,1%.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto, T. (1997). Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau: 1. Isolasi bakteri antagonis. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 1, 54-60
- Barnett, H.L. & B.B. Hunter (1972). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company, Minnesota, USA.
- Bailey, B.A.; H. Bae; M.D. Strem; J. Crozier; S.E. Thomas; G.J. Samuels; B.T. Vinyard & K.A. Holmes (2008). Antibiosis, mycoparasitism, and colonization for endophytic Tricoderma isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control*, 46, 24-35.
- Campbell, R. (1989). *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge University Press. New York.
- Cook, R.J. & K.F. Baker (1983). *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Fokkema, N.J. & F. van der Meulen (1976). Antagonism of yeast-like phyllosphere fungi against *Septoria nodorum* on wheat leaves. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 82, 13-16.
- Harman, G.E.; C.R. Howell; A. Viterbo & I. Chet (2004). Trichoderma spp. –opportunistic avirulent plant symbionts. *Nature Reviews*, 2, 43-56.
- Howell, C.R. & R.D. Stipanovic (1979). Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedling with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotik produced by the bacterium. *Phytopathology*, 69, 480-482.
- Hu, X. & G.L. Boyer (1996). Siderophore mediated aluminium uptake by *Bacillus megetarium*. *Microbiology Review*, 56, 4044-4048.
- Jeffries, P. & T.W.K. Young (1994). *Interfungal Parasitic Relationship*. CAB International Mycological Institute, Wallingford, United Kingdom.
- Kunst, F. & G. Rapoport (1995). Salt stress is an environmental signal affecting degradative enzyme synthesis in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 177, 2403-2407.
- Latupapua, H.J.D. & N. Nurhidayat (2003). Isolasi dan identifikasi *Pseudomonas* dari tanah kebun biologi Wamena dan uji awal sebagai agen biokontrol Fusarium. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*, 6, 649-653.
- Leary, J.W. & W.W.C. Chun (1988). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- O'Sullivan, D.C. & F. O'Gara (1992). Traits of *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant roots pathogen. *Microbiological Review*, 56, 662-676.
- Semangun, H. (1988). *Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sitepu, D. (1993). Konsep pengendalian hayati pada penyakit tanaman. *Kumpulan Makalah Simposium Pendidikan Fitopatologi dan Pengendalian Hayati*. Yogyakarta. p. 69-79.

- Soesanto, L. (2008). *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. PT. Raja Grafindo Persada, Malang.
- Sri-Sukamto (2008). Pengendalian penyakit. p. 154-169. **In:** T. Wahyudi; R. Panggabean & Pujiyanto (Eds.). *Panduan Lengkap Kakao: Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Sri-Sukamto; H. Semangun & A. Harsoyo (1997). Identifikasi beberapa isolat jamur dan sifat antagonismenya terhadap *Phytophthora palmivora* pada kakao. *Pelita Perkebunan*, 13, 156-157.
- Sri-Sukamto & Y.D. Junianto (1987). Penyakit-penyakit penting pada tanaman kakao di Jawa Timur dan usaha pengedaliannya. Kongres Nasional IX PFI, Surabaya. 16 p.
- Stirling, M. & G. Stirling (1997). Disease management: Biological control in plant pathogens and plant diseases. p. 427-439. **In:** J.F. Brown & H.J. Ogle (Eds.). *Australian Plant Pathology Society*, Armidale.
- Sulistyowati, E.; Sri-Sukamto & A. Purwantara (2009). *Pedoman Teknis Hama dan Penyakit Utama Tanaman Kakao*. Puslitkoka, Jember.
- Tjahjono, B. (2000). Bakteri untuk pengendalian hayati penyakit tanaman. *Makalah Seminar Sehari Fitopatologi Indonesia*, Malang.
- Trigalet, A.; P. Frey & D.T. Demery (1994). Biological control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. p. 225-233. **In:** A.C. Hayward & G.L. Hartman (Eds.). *Bacterial Wilt the Disease and Its Causative Agent, Pseudomonas solanacearum*. Wallingford, UK: CAB Internasional.
- Weller, D.M. (1988). Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosfer with bacteria. *Annual Review Phytopathology*, 26, 376-407.
- *****.