



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN

Alamat : Jl. Kalimantan No. 37 Jember. Telp. 0331-337818, 339385. Fax. 0331-337818
e-Mail : penelitian.lemlit@unej.ac.id

**Karakterisasi Partikel dan Kajian Potensi Bakteriofag Sebagai Agensia Biokontrol
Patogen Hawar Bakteri Pada Kedelai**

Peneliti : Hardian Susilo Addy^{1,2}, Wiwiek Sri Wahyuni¹
Mahasiswa terlibat : -
Sumber Dana : Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan.

¹ Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Jember.

² Divisi Biologi Molekul dan Bioteknologi, Center for Development of Advanced Sciences and Technology (CDAST). Universitas Jember

ABSTRAK

Upaya pengendalian bakteri patogen hawar pada kedelai terus dikembangkan mengingat pentingnya patogen ini di lapangan. Salah satu alternatifnya adalah dengan pemanfaatan bakteriofag melalui teknik terapi bakteriofag atau yang dikenal dengan *phage therapy*. Namun dalam pemanfaatannya, bakteriofag tidak dapat langsung digunakan sebagai agensia pengendali dikarenakan interaksinya dengan bakteri target dapat berdampak negatif bagi tanaman kedelai. Oleh karena itu perlu diketahui informasi tentang karakterisasi bakteriofag yang akan digunakan sebagai agensia pengendali hayati. Adapun target khusus yang ingin dicapai melalui penelitian ini adalah diperoleh informasi yang mendalam tentang karakteristik molekular bakteriofag beserta interaksinya dengan bakteri inangnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 4 isolat partikel bakteriofag yang mampu menginfeksi bakteri *P. syringae* pv. *glycinea* strain H3 yaitu ϕ SK2a, ϕ SK2b, ϕ SK2c yang merupakan isolat partikel bakteriofag dari sampel tanah kedelai asal Kecamatan Sukorambi, serta ϕ MG1 yang merupakan isolat partikel bakteriofag dari sampel tanah kedelai asal Kecamatan Mangli. Secara umum, propagasi bakteriofag pada strain H3 berkisar 10^{10} - 10^{12} PFU/mL. Hasil isolasi dan penentuan jenis asam nukleat keempat bakteri menggunakan teknik digesti asam nukleat dengan enzim (DNase, RNase dan *Restriction Endonuclease*) menunjukkan bahwa keempat partikel bakteriofag tersebut memiliki jenis asam nukleat yang sama yaitu deoxyribonucleic acid (DNA) untai ganda (*double helix*). Lebih lanjut, analisa pola/profil total protein partikel bakteriofag melalui analisa sodium *dedocyle sulphate-poly acrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE) menunjukkan bahwa keempat isolat partikel bakteriofag tersebut memiliki kemiripan yang tinggi dan diduga merupakan bakteriofah dari family yang sama. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa bakteriofag yang menginfeksi Bakteri *P. syringae* pv. *glycinea* adalah Bakteriofag dari family Siphoviridae yang rentan terhadap UV, dan cenderung stabil hingga pada kisaran pH 4 hingga 9.

Kata kunci: *P. syringae* pv. *glycinea*, patogen hawar, kedelai, bakteriofag.



CERTIFICATE NO : QMS/173



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN

Alamat : Jl. Kalimantan No. 37 Jember. Telp. 0331-337818, 339385. Fax. 0331-337818
e-Mail : penelitian.lemlit@unej.ac.id

**Karakterisasi Partikel dan Kajian Potensi Bakteriofag Sebagai Agensia Biokontrol
Patogen Hawar Bakteri Pada Kedelai**

Peneliti : Hardian Susilo Addy^{1,2}, Wiwiek Sri Wahyuni¹
Mahasiswa terlibat : -
Sumber Dana : Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan.
Kontak email : hsaddy.faperta@unej.ac.id
Diseminasi : International Conference on Food, Agriculture, and Natural Resources (IC-FANRes 2015), Jember, Indonesia (29-30 Oktober 2015)

¹ Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Jember.

² Divisi Biologi Molekul dan Bioteknologi, Center for Development of Advanced Sciences and Technology (CDAST). Universitas Jember

EXECUTIVE SUMMARY

Latar Belakang dan Tujuan Penelitian

Pseudomonas syringae pv. *glycinea* merupakan salah satu bakteri patogen penting yang menyerang tanaman kedelai (Qi *et al.*, 2011). Di Kabupaten Jember, patogen ini dilaporkan telah menyerang kedelai lokal termasuk kedelai edamame yang menyebabkan kerusakan pada bagian batang, daun maupun polong (Masnilah *et al.*, 2013). Menurut Suryadi *et al.* (2009) bahwa kerugian yang disebabkan oleh *P. syringae* berkisar 11% hingga 20%. Semangun (2008) mengatakan bahwa tanaman yang terserang dapat menjadi kerdil dan kemudian mati apabila patogen menyerang pada tanaman muda. Oleh karena itu, keberadaan patogen ini perlu mendapatkan perhatian dalam upaya pengendalian sehingga kualitas dan kuantitas produksi kedelai dapat menjadi lebih baik.

Salah satu teknik pengendalian yang umum dikembangkan adalah penggunaan varietas tahan (Selote & Kachroo, 2010). Namun, teknik pengendalian tersebut dianggap kurang efektif karena bakteri *P. syringae* merupakan bakteri yang mudah beradaptasi terhadap lingkungannya (Farhatullah *et al.*, 2011). Oleh sebab itu diperlukan upaya alternatif pengendalian bakteri *P. syringae* yang dapat menunjang produksi kedelai nasional seperti pemanfaatan bakteriofag melalui teknik terapi bakteriofag atau yang dikenal dengan *phage therapy* (Chan *et al.*, 2013).

Pemanfaatan bakteriofag sebagai pengendali hayati patogen tumbuhan masih belum banyak dilaporkan mengingat pemanfaatan bakteriofag masih terfokus dalam ranah pada patogen hewan dan dalam bidang kesehatan (Sulakvelidze *et al.*, 2001; Abendon *et al.*, 2011; Lu *et al.*, 2011). Baru-baru ini, Susianto *et al.* (2014) berhasil mengisolasi bakteriofag yang mampu menginfeksi *P. syringae*, patogen hawar pada kedelai. Diketahui bakteriofag ini mampu menginfeksi 4 dari 12 isolat bakteri *P. syringae* yang diisolasi dari daerah Jember. Namun pada penelitian tersebut tidak dilakukan karakterisasi terhadap bakteriofag serta interaksinya dengan bakteri inang (Susianto *et al.*, 2014), mengingat karakterisasi bakteriofag sangat penting dilakukan sebelum



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN

Alamat : Jl. Kalimantan No. 37 Jember. Telp. 0331-337818, 339385. Fax. 0331-337818
e-Mail : penelitian.lemlit@unej.ac.id

dimanfaatkan sebagai agensia pengendali hayati (Addy *et al.*, 2012a; Yamada *et al.*, 2012). Menurut Addy *et al.* (2012b; 2012c) bahwa infeksi bakteriofag menyebabkan perubahan yang signifikan pada bakteri inangnya seperti pada kasus filamentous phage ϕ RSM3 dan ϕ RSS1 yang mempengaruhi sifat virulensi bakteri inangnya yaitu *Ralstonia solanacearum*. Hal serupa juga dilaporkan oleh Ahmad *et al.* (2014) bahwa bakteriofag Cp1 dan Cp2 yang dapat mempengaruhi virulensi *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. Addy *et al.* (2012c) mengatakan bahwa tidak semua bakteriofag yang terisolasi dapat secara langsung digunakan pada terapi bakteriofag karena beberapa bakteriofag mampu meningkatkan virulensi bakteri inang menjadi lebih virulen. Seperti yang dilaporkan oleh Davis *et al.* (2000) dan Das *et al.* (2011) bahwa bakteri *Vibrio cholera* akan menjadi sangat virulen jika bakteri ini terinfeksi oleh filamentous phage CTX.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteriofag yang menginfeksi *P. syringae* (patogen hawar bakteri pada kedelai) melalui pendekatan biologi molekular.

Metodologi Penelitian yang digunakan

Isolasi partikel Bakteriofag, Propagasi dan perbanyakan Bakteriofag dan Patogen Hawar Bakteri (P. syringae)

Isolat bakteri *P. syringae* dapat diperoleh dari koleksi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Jember. Isolat bakteri ditumbuhkan pada media King's B (KB) dan diperbanyak pada media *Nutrient Broth* (NB). Partikel bakteriofag ϕ SK diperoleh dari hasil penelitian Susianto *et al.* (2013) Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Perbanyakan partikel bakteriofag ϕ SK yaitu dengan metode *Plaque assay* (Schaad *et al.*, 2001) dan disimpan dalam SM Buffer. Isolasi partikel bakteriofag dilakukan mengikuti Yamada *et al.* (2007) dengan sedikit modifikasi.

Isolasi asam nukleat dan protein bakteriofag yang menginfeksi P. syringae

Isolasi genom bakteriofag dilakukan mengikuti Swanson *et al.* (2012). Sebelum memulai isolasi genom, suspensi bakteriofag terlebih dahulu diperlakukan dengan DNase (Promega) dan RNase (Promega) mengikuti petunjuk penggunaan bahan serta diinkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya genom diekstraksi dengan menggunakan Phenol:Chloroform:Isoamil alcohol/PCI (25:24:1) dan disuspensikan dengan TE buffer 10 mM pH 8 dan disimpan pada suhu 4°C.

Isolasi protein bakteriofag dilakukan seperti halnya isolasi partikel bakteriofag menggunakan buffer fosfat saline (PBS). Untuk mengetahui profil protein penyusun bakteriofag, maka isolate partikel bakteriofag dielektroforesis pada *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel* dengan konsentrasi 15% selama 3-4 jam pada tegangan 50 V dan dicat dengan *Commassie blue*.

Karakteristik asam nukleat bakteriofag yang menginfeksi P. syringae

Untuk mengetahui jenis atau tipe dari asam nukleat genom bakteriofag, maka dilakukan karakterisasi genom dengan cara mendigesti asam nukleat bakteriofag yang telah diisolasi dan dipurifikasi menggunakan beberapa enzim yaitu DNase, RNase dan enzim restriksi pada suhu 37°C selama 2 jam selanjutnya dipurifikasi dan dielektroforesis pada agarose gel 1% dengan tegangan 50 volt selama 1,5 jam kemudian





KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN

Alamat : Jl. Kalimantan No. 37 Jember. Telp. 0331-337818, 339385. Fax. 0331-337818
e-Mail : penelitian.lemlit@unej.ac.id

divisualisasi dengan GelDoc (Mitsubishi). Ukuran pita fragmen asam nukleat diukur menggunakan molecular marker Lamda/*Sty*I.

Morfologi Partikel Bakteriofag yang menginfeksi *P. syringae*

Pengamatan morfologi partikel bakteriofag dilakukan menggunakan elektron mikroskop pada suspensi murni bakteriofag yang ditandai dengan pengecatan negatif menggunakan 2% phosphotungstic acid (pH 7.0) pada *carbon-coated copper grid*. Grid dikeringkan pada kertas filter dan selanjutnya diamati dengan Mikroskop Elektron pada tegangan 80 kVolt.

Pengaruh Faktor Lingkungan terhadap virulensi Bakteriofag

Untuk mengetahui stabilitas bakteriofag maka dilakukan pengujian stabilitas dan viabilitas bakteriofag terhadap beberapa faktor lingkungan seperti suhu, sinar ultraviolet (UV) dan pH (Iriarte *et al.*, 2007). Untuk pengujian pengaruh suhu terhadap stabilitas dan viabilitas bakteriofag dilakukan dengan cara menyimpan atau menginkubasikan bakteriofag dalam SM buffer pada suhu yang berbeda yaitu 4°C, 28°C, 37°C, dan 45°C. Untuk pengujian pengaruh cahaya dilakukan dengan cara menyimpan atau menginkubasikan bakteriofag pada suhu ruang dengan perlakuan cahaya lampu fluorescens, UV, dan kondisi gelap. Sedangkan untuk pengaruh pH, suspensi bakteriofag pada SM buffer di sesuaikan pHnya pada level pH 4, 5, 6, 7, 8, dan 9 yang selanjutnya diinkubasikan pada suhu ruang. Untuk mengetahui viabilitas bakteriofag setelah perlakuan, maka dilakukan perhitungan terhadap populasi bakteriofag mengikuti Balogh *et al.* (2005) dengan pendekatan *plaque assay* setiap 3 hari selama 15 hari setelah inkubasi.

Pemaparan Hasil dan Pembahasan singkat terhadap Hasil Penelitian

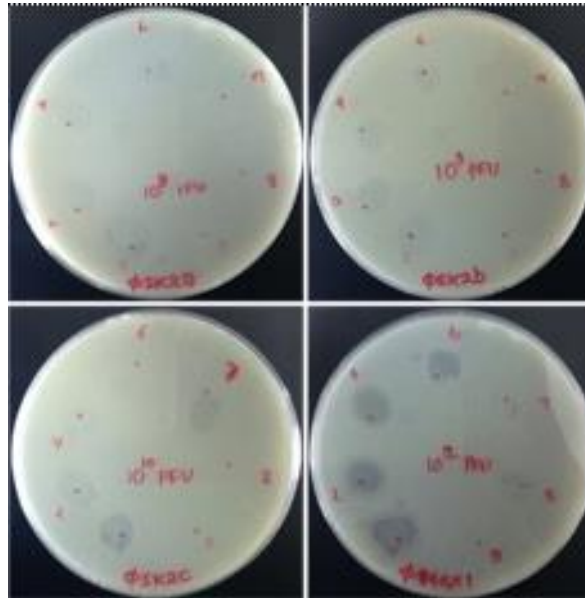
Isolasi dan propagasi bakteriofag pada bakteri uji (*P. syringae* pv. *glycinea*) menghasilkan 4 isolat partikel bakteriofag yang didasarkan pada perbedaan morfologi *plaque* baik kekeruhan dan ukuran *plaque* tunggal. Secara umum, morfologi *plaque* berdiameter berkisar 1-3 mm yang kemudian diberi nama isolat ϕ MGX1 ϕ SK2a, ϕ SK2b, dan ϕ SK2c. Secara umum kemampuan propagasi dari keempat isolat bakteriofag tersebut berbeda-beda pada inang yang sama (*P. syringae* pv. *glycinea* strain H3) (Gambar 1)

Hasil ekstraksi dan isolasi asam nukleat partikel bakteriofag yang dilanjutkan dengan perlakuan dengan enzim digesti menunjukkan bahwa asam nukleat bakteriofag berhasil diperoleh yang ditunjukkan dengan materi berbentuk kapas (Gambar 2a) yang dapat didigesti dengan DNase dan enzim restriksi endonuclease seperti *Eco*RI dan *Hind*III (Gambar 2b). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa asam nukleat bakteriofag adalah double stranded deoxyribonucleic acid (dsDNA) atau yang dikenal dengan DNA untai ganda.

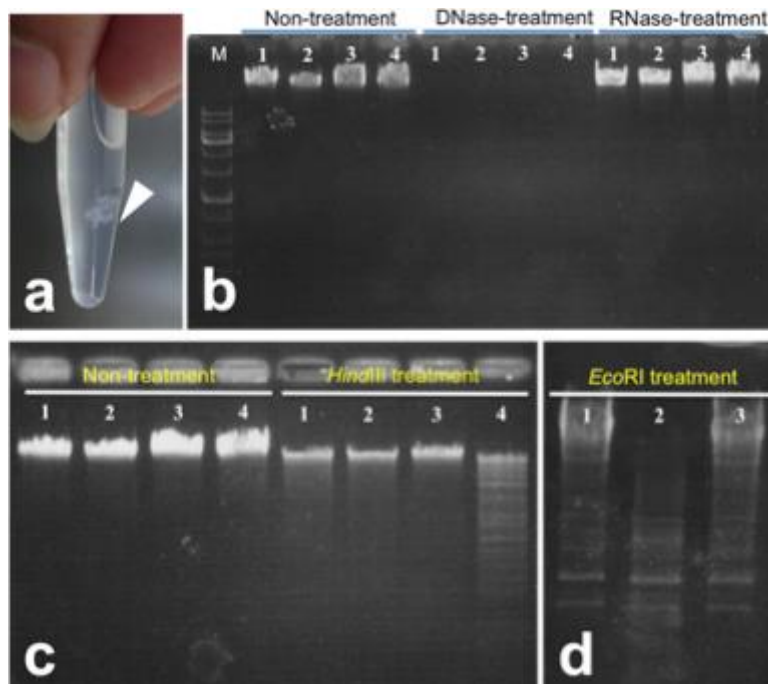


KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN

Alamat : Jl. Kalimantan No. 37 Jember. Telp. 0331-337818, 339385. Fax. 0331-337818
e-Mail : penelitian.lemlit@unej.ac.id



Gambar 1. Plaque bakteriofag pada hampanan bakteri inang strain H3 pada media nutrient agar yang diinkubasikan selama 24 jam.



Gambar 2. Materi berbentuk seperti kapas yang mengindikasikan terpresipitasinya asam nukleat (a). Pola elektroforesis pita asam nukleat bakteriofag ϕ SK2a (1), ϕ SK2b (2), ϕ SK2c (3) dan ϕ MGX1 (4) setelah perlakuan dengan enzim digesti asam nukleat berupa DNase dan RNase (b), serta 2 endonuclease yaitu *HindIII*(c) dan *EcoRI* (d).

Karakter asam nukleat dari bakteriofag seperti yang ditemukan umum dimiliki oleh Bakteriofag yang menginfeksi bakteri patogen tumbuhan yang umumnya dari kelompok Siphoviridae atau Myoviridae. Berdasarkan penelitian Yamada et al. (2007), bahwa

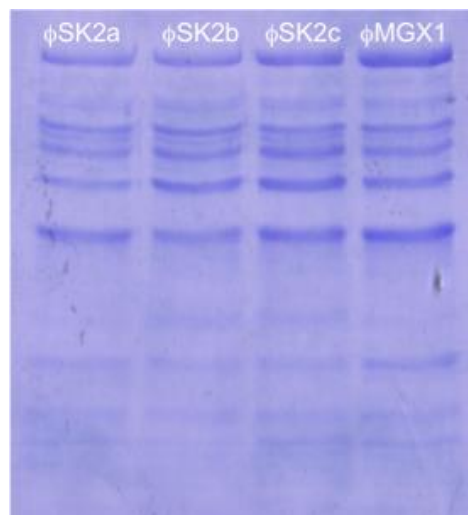


KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN

Alamat : Jl. Kalimantan No. 37 Jember. Telp. 0331-337818, 339385. Fax. 0331-337818
e-Mail : penelitian.lemlit@unej.ac.id

Bakteriofag yang merupakan virus pada bakteri memiliki asam nukleat seperti virus pada umumnya. Kebanyakan bakteriofag dilaporkan memiliki asam nukleat berupa DNA, baik untai tunggal seperti bakteriofag dari family Inoviridae, maupun DNA untai ganda dari family Siphoviridae, dan Myoviridae (Fujiwara et al., 2011).

Lebih lanjut, analisa pola pita protein dengan SDS-PAGE menunjukkan bahwa semua partikel bakteriofag memiliki susunan protein yang sama (Gambar 3), yang mengindikasikan bakteriofag tersebut merupakan bakteriofag yang sama jenisnya. Beberapa fragmen pita protein yang tampak menunjukkan bahwa bakteriofag tersebut tersusun lebih dari satu sub-unit protein yang berdasarkan analisa lebih dari 13 sub-unit protein yang juga tampak memiliki ukuran dan jumlah yang mirip, yang mengindikasikan bahwa Bakteriofag tersebut berasal dari satu family.



Gambar 3. Pola protein partikel bakteriofag yang dianalisa dengan SDS-PAGE

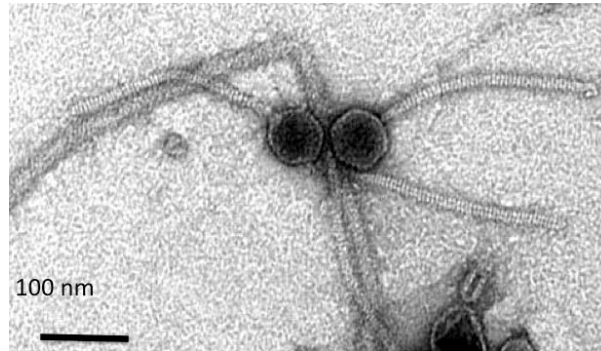
Lebih lanjut, untuk memastikan family dari Bakteriofag ini maka pengamatan morfologi partikel dilakukan dengan bantuan mikroskop electron. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa Bakteriofag tersebut kemungkinan besar merupakan Bakteriofag dari family Siphoviridae. Tampak jelas bahwa partikel Bakteriofag yang diamati memiliki struktur icosahedral dan juga terdapat struktur tail (ekor) yang lentur (Gambar 4). Pengamatan tersebut membuktikan bahwa terdapat struktur *head icosahedral* dengan struktur berupa ekor yang panjang dan lentur yang sangat mirip dengan Siphoviridae.

Pada penelitian ini juga terungkap bahwa semua Bakteriofag yang diperoleh tergolong rentan terhadap sinar UV lebih kurang 30 menit setelah terpapar yang di tunjukkan bahwa rusaknya Bakteriofag dan hilangnya kemampuan menginfeksi Bakteri inangnya (Gambar 5). Selain itu Bakteriofag ini juga tidak begitu terpengaruhi dengan berbagai kondisi pH, baik pada kondisi asam maupun basa, karena infektivitas Bakteriofag masih terjaga meskipun diperlakukan pada berbagai tingkatan pH (Gambar 6).

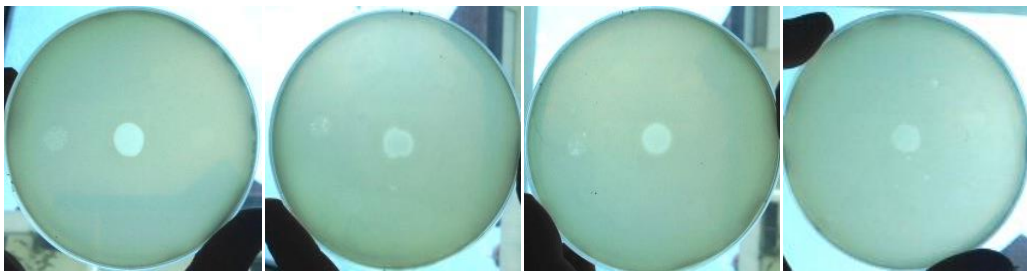
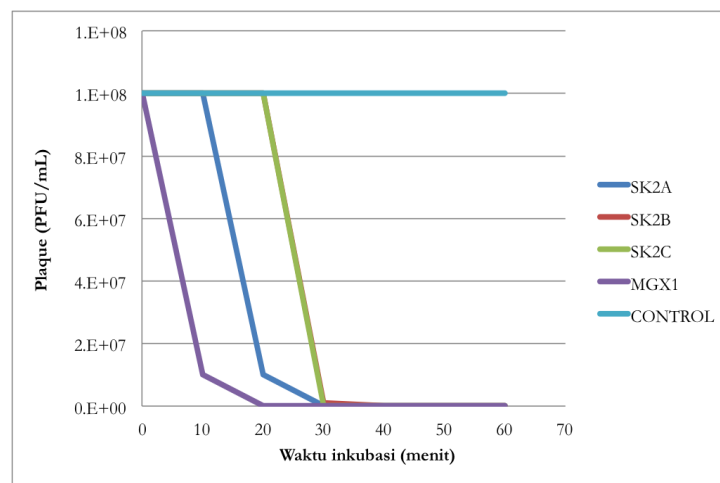


KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN

Alamat : Jl. Kalimantan No. 37 Jember. Telp. 0331-337818, 339385. Fax. 0331-337818
e-Mail : penelitian.lemlit@unej.ac.id



Gambar 4. Morfologi Partikel Bakteriofag ϕ SK2a



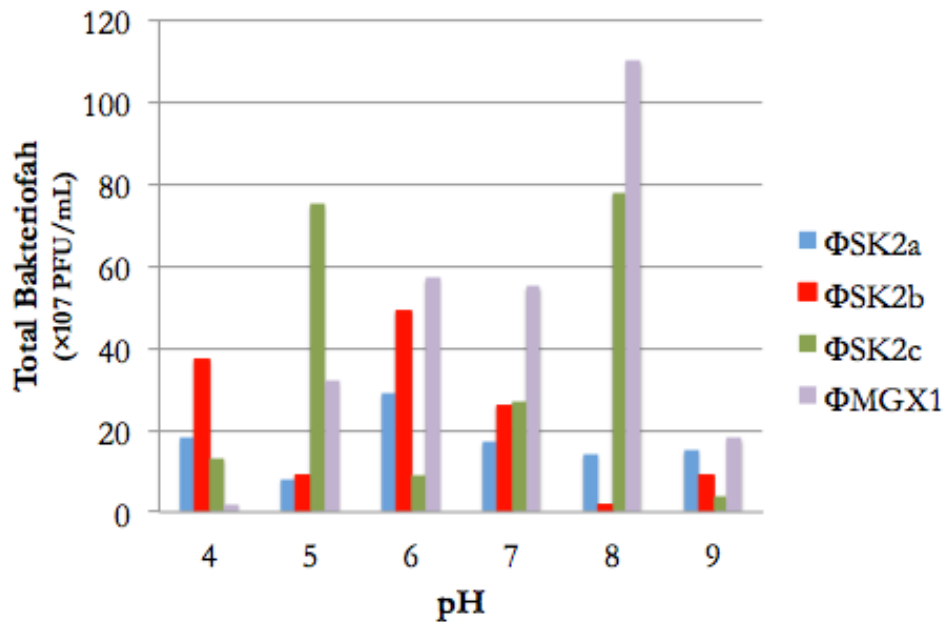
Gambar 5. Pengaruh pemaparan UV (265nm) terhadap infektifitas Bakteriofag yang menginfeksi *P. syringae*

Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa Bakteriofag ini memerlukan perlakuan atau formulasi khusus untuk dapat diaplikasikan guna menjaga viabilitasnya sebagai salah satu syarat formula agensia pengendali hayati berbasis Bakteriofag. Menurut Iriarte et al. (2007), bahwa diperlukan formulasi khusus untuk Bakteriofag (agensia biokontrol) yang rentan terpapar UV dengan menambahkan bahan pelindung partikel Bakteriofag seperti penggunaan susu bubuk (Skim-milk) maupun talk.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN

Alamat : Jl. Kalimantan No. 37 Jember. Telp. 0331-337818, 339385. Fax. 0331-337818
e-Mail : penelitian.lemlit@unej.ac.id



Gambar 6. Pengaruh pemaparan pH terhadap infektifitas Bakteriofag yang menginfeksi *P. syringae*

Simpulan Akhir Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa keempat Bakteriofag yang didapatkan merupakan Bakteriofag dengan struktur asam nukleat berupa DNA untai ganda dan tergolong Bakteriofag dari family Siphoviridae yang rentan terhadap UV, dan cenderung stabil hingga pada kisaran pH 4 hingga 9.

Kutipan Referensi

- Addy HS, Askora A, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. 2012a. Utilization of Filamentous Phage ϕ RSM3 to Control Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum*. *Plant Disease* 96(8): 1204-1209.
- Addy HS, Askora A, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. 2012b. Loss of Virulence of the Phytopathogen *Ralstonia solanacearum* through Infection by ϕ RSM Filamentous Phages. *Phytopathology* 102(5):469-477.
- Addy HS, Askora A, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. 2012c. The filamentous phage ϕ RSS1 enhances virulence of phytopathogenic *Ralstonia solanacearum* on tomato. *Phytopathology* 102(3): 244-251.
- Ahmad AA, Ogawa M, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. 2014. Characterization of bacteriophages Cp1 and Cp2, the strain-typing agents for *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. *Appl Environ Microbiol.* 80(1):77-85.
- Chan BK, Abedon ST, Loc-Carrillo C. 2013. Phage cocktails and the future of phage therapy. *Future Microbiology* 8(6): 769-783.
- Das B, Bischerour J, Barre F-X. 2011. Molecular mechanism of acquisition of the cholera toxin genes. *Indian J. Med. Res.* 133:195-200.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN

Alamat : Jl. Kalimantan No. 37 Jember. Telp. 0331-337818, 339385. Fax. 0331-337818
e-Mail : penelitian.lemlit@unej.ac.id

- Davis BM, Moyer KE, Boyd EF, Waldor MK. 2000. CTX Prophages in Classical Biotype *Vibrio cholerae*: Functional Phage Genes but Dysfunctional Phage Genomes. *J Bacteriol.* 182(24): 6992–6998.
- Farhatullah, Stayton MM, Groose RW, Khan MJ. 2011. Genetic analysis of race specificity of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*. *Pak. J. Bo.* 43(1):7-13.
- Fujiwara A, Fujisawa M, Hamasaki R, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. 2011. Biocontrol of *Ralstonia solanacearum* by treatment with lytic bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.* 77:4155-4162
- Lu TK, Koeris MS. 2011. The next generation of bacteriophage therapy. *Current Opinion in Microbiology* 14:524–531
- Masnilah R, Abadi AL, Astono TH, Aini LQ. 2013. Karakterisasi bakteri penyebab penyakit hawar daun edamame di Jember. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1): 10-14.
- Qi M, Wang D, Bradley CA, Zhao Y. 2011. Genome Sequence Analyses of *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* and Subtractive Hybridization-Based Comparative Genomics with Nine Pseudomonads. *PLoS ONE* 6(1): e16451. doi:10.1371/journal.pone.0016451.
- Selote D, Kachroo A. 2010. RPG1-B-Derived Resistance to *AvrB*-Expressing *Pseudomonas syringae* Requires RIN4-Like Proteins in Soybean. *Plant Physiology* 153(3): 1199-1211.
- Semangun H. 2008. Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG. 2001. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 45(3):649–659.
- Suryadi Y, Manzila I, Machmud M. 2009. Potensi pemanfaatan perangkat diagnostik ELISA serta variannya untuk deteksi patogen tanaman. *Jurnal AgroBiogen* 5(1):39-48.
- Susianto G, Farid MM, Dhany NR, Addy HS. 2014. Host range for bacteriophages that infect bacterial blight pathogen on soybean. *Procedia Environmental Sciences* 20: 760 – 766 (doi: 10.1016/j.proenv.2014.03.091).
- Swanson MM, Reavy B, Makarova KS, Cock PJ, Hopkins DW, et al. (2012) Novel Bacteriophages Containing a Genome of Another Bacteriophage within Their Genomes. *PLoS ONE* 7(7): e40683. doi:10.1371/journal.pone.0040683
- Yamada T. 2012. Bacteriophages of *Ralstonia solanacearum*: their diversity and utilization as biocontrol agents in agriculture. In: *Bacteriophage*. Croatia: InTech-Open Access Publisher.

