

PERTANIAN

DAYA HAMBAT FITOTOKSIN BAKTERI PATOGEN PADA GULMA WEWEHAN (Monochoria vaginalis Burm.F. Presi)

Inhibitor Phytotoxin of Pathogenic Bacteria on Wewehan Weed (Monochoria vaginalis Burm. F. Presi)

Hanif Widhikinasih 1, Hardian Susilo Addy 1*, Hartadi 1

¹Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember Jalan Kalimantan 37 Kampus Tegal Boto, Jember 68121 *E-mail: hsaddy.faperta@unej.ac.id

ABSTRACT

Wewehan (*Monochoria vaginalis* Burm.F. Presi) is one of the important weeds growing in rice field. The existence of weeds is become rongidered because it can decrease rice yield. Farmers used to controling the weed by chemical herbicides that have negative impact. The alternative control that is often used is by biological control since it is considered safe, practical, beneficial for the environment for it uses plant pathogens such as bacteria, fungi, or other microorganisms. Microorganisms often used as biological agents are from the class of fungi. Microorganisms such as bacteria also have potential as biological agents and act as bioherbicide because they produce deadly compounds to their host plants as fitotoksin compounds. This research aimed to identify the potential of pathogenic bacteria that can be used as bioherbicide for controlling growth of *M. vaginalis* weed. The research was conducted by exploring bacteria associated with *M. vaginalis* weed. This research was conducted by isolating the weed with necrosis then isolates obtained were tested for virulence, patogenecity and phytotoxin. The research results showed that two bacterial isolates obtained from isolation did not indicate inhibition of *M. vaginalis* weed growth but even significantly enhanced the growth of weeds. Both of these bacterial isolates function as stimulants that could spur the weeds growth instead of as bioherbicides which inhibited the growth of *M. vaginalis* weed.

Keyword: Monochoria vaginalis, Bacteria, Phytotoxin

ABSTRAK

Wewehan (*Monochoria vaginalis* Burm.F. Presi) merupakan salah satu gulma penting yang tumbuh di pertanaman padi. Keberadaan gulma ini sangat merugikan karena dapat menurunkan hasil produksi padi. Pengendalian yang sering digunakan oleh para petani yaitu menggunakan herbisida kimia yang memiliki dampak negatif. Pengendalian alternatif yang sering digunakan yaitu sacara hayati karena dianggap aman, praktis, menguntungkan bagi lingkungan karena menggunakan patogen tanaman seperti bakteri, jamur, atau mikroorganisme lainnya. Mikroorganisme yang sering digunakan sebagai agensia hayati yaitu dari golongan jamur. Mikroorganisme seperti bakteri juga berpotensi sebagai agensia hayati dan berperan sebagai bioherbisida karena menghasilkan senyawa yang mematikan bagi tanaman inangnya seperti senyawa fitotoksin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dari bakteri patogen yang dapat dimanfaatkan sebagai bioherbisida untuk mengandalikan pertumbuhan gulma *M. vaginalis*. Penelitian dilakukan dengan mengeksplorasi bakteri yang berasosiasi dengan gulma *M. vaginalis*. Penelitian ini dilakukan dengan mengisolasi gulma yang bergejala nekrosis kemudian isolat yang diperoleh diuji patogenisitas, virulensi dan fitotoksisitasnya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dua isolat bakteri yang diperoleh dari isolasi tidak menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan gulma *M. vaginalis*, tetapi justru semakin meningkatkan pertumbuhan gulma. Kedua isolat bakteri ini lebih berpotensi sebagai stimulant yang dapat memacu pertumbuhan gulma, dari pada sebagai bioherbisida yang menghambata pertumbuhan gulma *M. vaginalis*.

Keyword: Monochoria vaginalis, Bakteri, Fitotoksin

How to citate: Hanif Widhikinasih, Hardian Susilo Addy, Hartadi. 2014. Inventarisasi Bakteri Patogen pada Gulma Wewehan (*Monochoria vaginalis* Burm.F Presi). Berkala Ilmiah Pertanian 1(1): xx-xx

PENDAHULUAN

Tanaman padi merupakan tanaman pangan utama di Indonesia dan banyak digunakan sebagai beras sebagai makanan pokok (Nurmalina, 2007). Usaha dalam meningkatkan produksi beras dihadapkan pada berbagai kendala, diantaranya adalah serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), salah satunya adalah gulma (Nurmalina, 2007). Gulma yang tumbuh pada pertanaman padi dapat menjadi pesaing dalam memperoleh unsur hara, sinar matahari, air dan ruang tumbuh, selain itu gulma juga dapat menjadi inang bagi hama dan patogen pada tanaman padi (Bondan, 2009). Sehingga keberadaan gulma dapat menurunkan produksi padi sebesar 17% sampai 40% (Deptan, 2007).

Salah satu jenis gulma yang terdapat pada pertanaman padi sawah adalah *Monochoria vaginalis* Burm.F . Presi (Tjitrosemito, 1994). *M. vaginalis* merupakan gulma golongan daun lebar yang dominan dengan frekuensi penutupan lahan padi sawah mencapai lebih dari 50% (Natasomsaran dan Moody, 1993). Salah satu

pengendalian yang sering dilakukan oleh petani yaitu secara manual dengan menyiangi gulma pada saat persiapan lahan dan secara kultur teknis dengan penggenangan, serta penggunaan herbisida kimia yakni 2,4 D (Fauzi *et al.*, 2009). Namun penggunaan herbisida ini menyebabkan dampak negatif antara lain adalah resiko deoksigenas, mengurangi kualitas air dan resiko kematian organisme bukan sasaran (Fauzi *et al.*, 2009). Penggunaan herbisida secara terus menerus juga dapat memberi peluang terjadinya pergeseran spesies gulma dominan atau peledakan populasi spesies gulma yang tahan (Pane, 2003)

Salah satu cara aman yang ditawarkan dalam mengendalikan keberadaan gulma di pertanman padi adalah dengan pengendalian hayati (Rachel, 1998). Pengendalian hayati merupakan pengendalian yang menggunakan patogen tanaman seperti jamur, bakteri atau mikroorganisme lainnya (Charudattan, 2001). Salah satu agen pengendalian hayati yang sering digunakan adalah golongan jamur karena, jamur paling umum ditemukan pada

BIP

tumbuhan dan mempunyai sifat merusak, mampu diproduksi dalam jumlah banyak, dapat diformulasikan serta dapat diaplikasikan pada tumbuhan secara langsung (Fauzi & Murdan, 2009).

Mikroorganisnme seperti bakteri juga berpotensi untuk mengendalikan gulma. Bakteri yang berperan sebagai bioherbisida biasanya mengeluarkan senyawa yang dapat mematikan bagi tanaman inangnya, senyawa yang sering dijumpai berupa fitotoksin (Hoagland et al., 2007). Salah satu bakteri yang mampu memproduksi fitotoksin adalah bakteri *Pseudomonas syringae* pv. tagetis (PST) yang dapat menyebabkan klorosis (Charudattan et al., 1976). Pengendalian gulma dengan menggunakan bakteri masih jarang dilakukan ataupun diteliti. Oleh karena itu perlu dilakukan eksplorasi bakteri patogen gulma *M. vaginalis* untuk menemukan bakteri yang berpotensi sebagai bioherbisida.

BAHAN DAN METODE

Isolasi Bakteri dari M. vaginalis. Isolat diisolasi dari sample gulma M. vaginalis yang diperoleh dari pertanaman padi di daerah Kreongan dan Gebang. Isolasi dilakukan dengan cara sampel gulma M. vaginalis yang dari areal pertanaman padi dengan gejala busuk dan berwarna kecoklatan. Kemudian dipotong bagian tanaman 1cm² yang bergejala dengan disertakan bagian yang tidak bergejala. Selanjutnya potongan sampel didesinfeksi dengan larutan sodium hipoklorit 10% selama 5-10 detik, kemudian potongan sampel dibilas dengan air steril dan dikering anginkan di atas kertas saring steril. Potongan sampel selanjutnya diinokulasikan dalam petridish yang berisi medium NA, dan di inkubasikan pada suhu ruang selama 24 - 48 jam. Bakteri yang tumbuh di sekitar potongan sampel kemudian dogoreskan pada media NA dan ditumbuhkan hingga diperoleh koloni tunggal. Koloni tunggal, disimpan untuk pengujian selanjutnya.

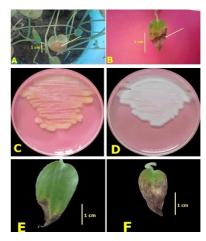
Uji Virulensi dan Patogenisitas Bakteri. Pengujian virulensi bakteri terhadap *M. vaginalis* dilakukan dengan cara masingmasing isolat murni bakteri diinokulasikan. Inokulasi dilakukan dengan cara tanaman yang sehat dilukai terlebih dahulu dengan karborundum, kemudian suspensi bakteri dengan kerapatan 10⁸ CFU/ml dioleskan pada permukaan daun yang telah dilukai, dan sebagai kontrol digunakan air steril. Masing-masing dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pengulangan. Pengamatan dilakukan selama 14 hari sampai muncul gejala. Untuk uji patogenisitas dilakukan dengan pendekatan uji reaksi hipersensitif pada daun tembakau. Uji ini dilakukan dengan menginfiltrasikan 1 ml suspensi bakteri dengan kerapatan 10⁸ CFU/ml pada bagian sel epidermis daun tembakau yang sebelumnya sudah dilukai dengan jarum (Edy, 2008). Pengamatan dilakukan 24–48 jam setelah metode infiltrasi sampai muncul gejala.

Ekstraksi dan Fitotoksisitas Filtrat Bakteri. Isolat dikulturkan dalam 100 ml media cair (NB) dan di gojok selama 24 jam. Selanjutnya kultur bakteri yang diduga mangandung sekresi fitotoksin dipisahkan dari medium dengan disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 20 menit dan diikuti dengan penyaringan supernatan dengan filter 0,22 μm, dan ditampung dalam erlenmeyer steril pada kondisi dingin (Erlenmeyer yang diletakkan pada wadah berisi es) untuk digunakan pada pengujian fitotoksisitas (Singh, 2010). Pengujian fitotoksisitas dilakukan dengan dua perlakuan yaitu sebanyak 10 ml supernatan yang diduga fitotoksin bakteri dituang pada media *M. vaginalis*. Sebelumnya *M. vaginalis* yang berumur sekitar 25 hari (dengan 3-4 daun) di ambil dari lapang dan ditanam di gelas plastik dengan diameter ± 9-10 cm dengan media tanah dari lahan sawah. Selanjutnya supernatan yang diduga fitotoksin tadi dituang pada

tanah. Sebagai kontrol, tanah media *M. vaginalis* dituang dengan air steril (Singh, 2010).

HASIL

Karakteristik Umum Isolat Bakteri. Sampel gulma wewehan (Monochoria vaginalis) yang menunjukkan gejala nekrosis diisolasi patogennya pada media NA. Diperoleh 2 koloni bakteri yang berbeda dengan ciri-ciri koloni berwarna kuning (K1) dan putih susu (G1) (Gambar 1c dan 1d). Ketika digoreskan pada media YDCA isolat bakteri K1 menunjukkan koloni berwarna kuning dan permukaan koloninya mengkilat terlihat seperti berair, sedangkan isolat G1 koloninya berwarna putih susu dengan permukaan koloni tidak mengkilat. Pada pengujian Gram, isolat K1 saat diuji dengan KOH 3% memiliki Gram negatif. Pada pengujian isolat bakteri G1 menunjukkan Gram positif. Ketika digores pada media King's B dan diamati di bawah sinar UV tidak menunjukkan pendarfluor.



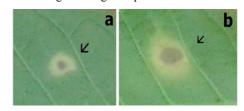
Gambar 1. Gejala pada daun M. vaginalis diinokulasi dengan isolate dari daerah Kreongan dan Gebang. Gejala nekrotik pada M. vaginalis dari daerah Kreongan (A) yang telah direinokulasi (C) menunjukkan gejala nekrotik (E) yang mirip dengan gejala alami di lapang. Gejala nekrotik alami paada M. vaginalis (B) yang telag direinokulasi (D) juga menunjukkan gejala nekrotik (F) yang mirip dengan gejala alami dilapang (Sumber: milik pribadi).

Tabel 1. Karakteristik morfologi isolat bakteri

| No | Pengamatan | Isolat Bakteri | |
|----|------------------------------|----------------|----|
| | | K1 | G1 |
| 1 | Warna Koloni Pada Media YDCA | K | PS |
| 2 | Bentuk Tepi Koloni | В | BK |
| 3 | Pendar dibawah UV | ТВ | TB |
| 4 | Reaksi Pada Uji Gram KOH 3% | + | - |

Keterangan: K: kuning, PS: putih susu, TB: tidak berpendar, B: bulat, BK: bulat kasar. +: respon positif (menunjukkan strain bakteri dari Gram negatif), -: respon negatif (menunjukkan strain bakteri dari Gram positif).

Virulensi dan Patogenisitas Isolat Bakteri. Hasil menunjukkan tidak ada respon hipersensitif karena tidak muncul gejala nekrosis 24 jam setelah diinfiltrasi dengan suspensi bakteri. Gejala nekrosis yang muncul 72 jam setelah infiltrasi berwarna kecoklatan dan disertai dengan halo atau lingkaran berwarna kekuningan di bagian tepi nekrosis.

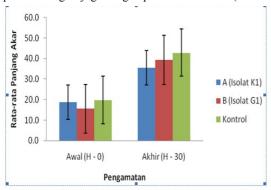


Berkala Ilmiah PERTANIAN. Volume x, Nomor x, Bulan xxxx, hlm x-



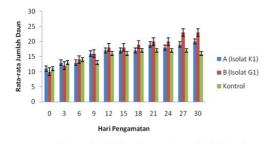
Pada pengujian virulensi, 15 hari setelah diinfeksi dengan isolat bakteri, muncul gejala nekrosis kecoklatan pada bagian daun. Gejala muncul perlahan dimulai dari ujung daun, dan kemudian melebar hingga hampir memenuhi permukaan daun. Berbeda dengan gulma yang diperlakukan dengan air steril (kontrol), tidak menunjukkan gejala nekrosis pada daun atau bagian yang lainnya.

Fitotoksisitas Filtrat Bakteri. Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya penghambatan dari kedua isolat bakteri terhadap pertumbuhan akar, tinggi tanaman, dan pertumbuhan jumlah daun gulma M. vaginalis. Grafik pengamatan panjang akar (Gambar 3) menunjukkan pertumbuhan akar M. vaginalis yang telihat berbeda nyata mulai dari hari ke-0 hingga hari ke-30, dari perbedaan panjang akar tersebut tidak menunjukkan tejadinya penghambatan setelah diberi filtrat bakteri baik dari isolat K1 maupun G1. Begitu juga dengan perlakuan kontrol (air steril).



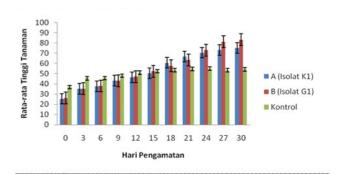
Gambar 3. Rata-rata panjang akar *M. vaginalis* yang diperlakukan dengan (A) isolat K1 dan (B) isolat G1 (Sumber: milik pribadi).

Jumlah daun juga menunjukkan tidak adanya penghambatan filtrat yang di aplikasikan terhadap pertumbuhan daun *M. vaginalis*. Hal tersebut dapat dilihat pada grafik (Gambar 4), jumlah daun yang tumbuh dari hari ke hari hingga hari ke-30 semakin meningkat, baik perlakuan dengan filtrat isolat K1 maupun isolat G1.



Gambar 4. Rata-rata jumlah daun *M. vaginalis* yang diperlakukan dengan (A) isolat K1 dan (B) isolat G1 (Sumber: milik pribadi).

Tinggi tanaman menunjukkan bahwa penghambatan terjadi pada perlakuan isolat K1, pertumbuhan gulma lebih lambat dibandingkan dengan perlakuan isolat G1 (Gambar 5). Kedua perlakuan isolat bakteri terhadap tinggi tanaman yang terlihat pada grafik terjadi pada hari 12 sampai 15 hari setelah diaplikasi dengan filtrat bakteri dengan rata-rata tinggi tanaman 46,5 – 50,4 cm untuk perlakuan A dan 47,1 – 52,3 cm pada perlakuan B. sedangkan pada H-18 sampai H-30 pertumbuhan *M. vaginalis* semakin meningkat, karena filtrat bakteri yang diaplikasikan sudah tidak menghambat.



Gambar 5. Rata-rata tinggi gulma *M. vaginalis* yang diperlakukan dengan (A) isolat K1 dan (B) isolat G1(Sumber: milik pribadi).

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan telah diperoleh 2 isolat bakteri berwarna kuning (C) dari daerah Kreongan (isolat K1) dan berwarna putih susu (D) dari daerah Gebang (isolat G1). Berdasarkan warna koloni dan pendarfluor kedua isolat yang diperoleh merupakan dua jenis bakteri yang berbeda. Bakteri K1 memiliki koloni berwarna kuning, tetapi tidak berpendar bila diamati di bawah sinar UV, permukaan koloni mengkilat seperti berlendir, dan tepi koloninya rata. Warna koloni serta morfologi umum isolat bakteri K1 hampir mirip dengan bakteri dari kelompok Xanthomonas yang juga memiliki koloni berwarna kuning dan kenampakan permukaan koloni seperti basah (Liu & Chia, 1969). Sedangkan isolat bakteri G1 memiliki koloni berwarna putih susu dan tidak berpendar, permukaannya kasar tidak mengkilat, serta tepi koloni yang bentuknya bergelombang. Warna koloni bakteri G1 juga memiliki kemiripan dengan beberapa bakteri dari golongan Bacillus yang pada umumnya memiliki koloni berwarna putih, tepi koloni bermacam-macam namun pada umumnya tidak rata, permukaannya kasar dan tidak berlendir, bahkan ada yang cenderung kering berbubuk (Yayanos et al., 1983).

Patogenisitas yang dilakukan melalui uji hipersensitif pada tembakau, menunjukkan gejala berupa nekrosis pada jaringan daun tembakau yang sudah diinfiltrasi dengan suspensi bakteri. Munculnya gejala ini disebabkan adanya kematian sel daun karena serangan patogen. Menurut Pratiwi (2004) respon hipersensitif pada umumnya merupakan reaksi pertahanan tanaman dalam menghadapi serangan patogen yang inkompatibel, dan kemudian disertai dengan kematian sel yang cepat atau nekrosis jaringan di daerah yang diinfiltrasi suspensi bakteri. Ini membuktikan bahwa kedua isolat bakteri merupakan patogen pada tanaman. Hasil uji hepersensitif pada daun tembakau menunjukkan gejala pada 72 jam setelah diinfiltrasi dengan suspensi bakteri, reaksi ini bukan merupakan respon hipersensitif. Hal ini sesuai dengan penelitian Yucel et al. (1989) yang menyebutkan bahwa respon hipersensitif akan menunjukkan gejala setelah 2 hari (48 jam) diinfiltrasi dengan suspensi bakteri. Sedangkan kebanyakan bakteri patogen tanaman dapat menunjukkan respon hipersensitif jika diinjeksikan ke dalam jaringan tanaman inang yang tidak rentan dalam waktu 24-72 jam setelah inokulasi. Munculya gejala nekrosis pada jaringan daun tembakau disertai dengan halo atau lingkaran berwarna kuning disekitar nekrosis. Munculnya halo ini diduga karena kedua isolat bakteri merupakan patogen pada tanaman tembakau (Yucel et al., 1989).

Filtrat yang dihasilkan bakteri pada penelitian ini bukan berupa toksin. Toksin yang dihasilkan bakteri patogen pada umumnya dapat menghambat pertumbuhan tanaman baik saat fase perkecambahan maupun tanaman dewasa. Penghambatan perpanjangan hipokotil tanaman berkisar antara 93% (Crisan, 1973). Namun perlakuan filtrat bakteri menunjukkan hal yang bertolak belakang. Hal ini kemungkinan dapat disebabkan karena filtrat bakteri tidak mengandung toksin, atau filtrat bakteri mengandung senyawa yang dapat memacu pertumbuhan tanaman. Sebagai mana disampaikan oleh Marcia *et al.* (2010) bahwa bakteri dapat menghasilkan fitohormon seperti indole-3-acetic acid (IAA) sehingga meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Meskipun demikian, diketahui beberapa bakteri patogenik dapat menghambat pertumbuhan tanaman melalui produksi toksin misalnya *Pseudomonas syringae* dengan beberapa patovar seperti glycinea, atropurpurea, morsprunorum, dan tomato (Palmer & Bender, 1993) mampu menghasilkan toksin coronatine yang dapat mengganggu metabolit tanaman dan berdampak pada terganggunya pertumbuhan (Palmer & Bender, 1993). Selain itu, bakteri *Streptomyces* juga menghasilkan toksin yaitu thaxtomin, toksin ini dapat mengganggu proses pertumbuhan dan metabolit, serta menyebabkan penyakit pada tanaman kentang (Doumbou *et al.*, 1998), disamping itu Rhizobitoxine yang merupakan fitotoksin yang diproduksi oleh *Pseudomonas andropogonis* yang merupakan patogen tanaman kacang-kacangan (Ruan & Kent, 1991).

Melalui penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa dari hasil isolasi diperoleh dua isolate bakteri yaitu K1 dengan karakteristik koloni berwarna kuning, megkilat, serta gram negatif. dan G1 dengan karakteristik koloni berwarna putih susu, permukaan kasar, serta gram positif. Pada pengujian virulensi pada daun *M. vaginalis* setelah di infeksi dengan suspensi dari kedua isolat menunjukkan gejala coklat kekuningan bahkan sampai coklat kehitaman. Kedua isolat baktei tidak menghasilkan toksin karena tidak adanya penghambatan terhadap pertumbuhan *M. vaginalis*. Kedua isolat bakteri memiliki potensi sebagai bakteri pemacu pertumbuhan tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Bondan, R E B. 2009. *Karakteristik Morfologi Dan Botani Beberapa Jenis Gulma*. Universitas Padjajaran. Jatinangor.
- Crisan, E, V. 1973. Effects of aflatoxin on seedling growth and ultrastructurein plants. *Applied Microbiology* **12**(6):991-1000.
- Charudattan, R. 2001. Biological control of weeds by means of plant pathogens:significance for integrated weed management in modern agroecology. *BioControl* **46**:229-260.
- Charudattan, R., Perkins D B & Littrell, C R. 1976. The effects fungi and bacteria on the decline of arthropod damage water hyacinth in florida. Weed Sciene. USA.
- Deptan. 2007. *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Padi* Edisi Kedua. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Doumbou, C L., Vladimir A & Carole, B. 1998. Selection and characterization of microorganisms utilizing thaxtomin A, a phytotoxin produced by *Streptomyces scabies*. *Applied And Environmental Microbiology*. **64**(11):4313–4316.
- Edy. 2008. Karakterisasi morfologi, patogenisitas dan biokimia bakteri penyebab penyakit darah pada pisang di lembah palu. *Jurnal Agrisains* 9(2):65 72.

- Fauzi, M T., Murdan & Muthahanas, M. 2009. *Potensi jamur Fusarium sp. sebagai agen pengendali hayati gulma eceng gondok (Eichhornia crassipes)*. Mataram.
- Fauzi, M T & Murdan. 2009. Peranan jamur patogen sekunder dalam meningkatkan kemampuan biokontrol jamur karat (*Puccinia* sp) pada gulma teki (*Cyperus rotundus*). Crop Agro 2(2):152 – 157.
- Hoagland, R E C., Boyette, D & Weaver, M A. 2007. Bioherbicides: research and risks. *Toxin Reviews*, **26**:313–342.
- Liu, P V & Chia, H H. 1969. Inhibition of protease production of various bacteria by ammonium salts: its effect on toxin production and virulence. *Journal of Bacteriology* 99(2):406-413.
- Marcia, D V B F., Lucy, S., Arajuo F F & Mariano, R L R. 2010. Plant growth promoting rhizobacteria: fundamental and aplocation. *Microbiology Monograph* **18**:21-43.
- Natasomsaran, P & Moody, K. 1993. Weed Management for Rainfed Lowland Rice. Paper to be Presented at the Second Annual Technical Meeting of the Rainfed Lowland Rice Consortium, Semarang, Indonesia.
- Nurmalina, R. 2007. Model Ketersediaan Beras yang Berkelanjutan untuk Mendukung Ketahanan Pangan Nasional. *Disertasi*. Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Palmer, D A & Bender, C L. 1993. Effects of environmental and nutritional factors on production of the polyketide phytotoxin coronatine by *Pseudomonas synrngae* pv. glycinea. *Applied And Environmental Microbiology*. **59**(5):1619-1626.
- Pane, H & Jatmiko, S Y. 2003. Kendala dan peluang pengembangan teknologi padi tanam benih langsung. *Jurnal Litbang Pertanian*, **22**(4):172 -178.
- Pratiwi, E. 2004. Analisis sekuen DNA yang terlibat dalam patogenisitas dan perancangan primer PCR spesifik untuk *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. Tesis IPB. Bogor.
- Rachel, E C M. 1998. Bilogical control of weeds: cooperative reserch for tropical pest management and queensland department of natural resources. *Entomol*, **43**:369-393.
- Ruan, X & Kent, N P. 1991. Rapid and sensitive assay for the phytotoxin rhizobitoxine. *Applied And Environmental Microbiology.* 57(7):2097-2100.
- Singh, J. 2010. Production and extraction of phytotoxins from (Colletotrichum dematium) FGCC# 20 effective against Parthenium hysterophorus L. Biology Technol **53**(3):669-678.
- Tjitrosemito, S. 1994. *Integrated management of paddy and aquatic weeds in Indonesia*, p. 20-31. Proceedings of the international eminar biological control and integrated management of paddy and aquatic weeds in Asia. Japan.
- Yucel, I., Xian, Y Y & Steven, W H. 1989. Influence of *Pseudomonas syringae* culture conditions on initiation of the





hypersensitive response of cultured tobacco cells. Applied And Environmental Microbiology. 55(7):1724-1729.

Yayanos, A A., Van, R B & Allan, S D. 1983. Reproduction of $Bacillus\ stear other mophilus\ as\ a\ function\ of\ temperature\ and$ pressure. Applied And Environmental Microbiology. **46**(6):1357-1363.