

PEMANFAATAN BAKTERI ANTAGONIS SEBAGAI AGEN BIOKONTROL
PENYAKIT LAYU (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*)
PADA TANAMAN PISANG

*The Use of Antagonistic Bacterial as Biocontrol Agents to Wilt Disease
(Fusarium oxysporum f.sp.cubense) on Banana*

Susanna

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala
Banda Aceh

ABSTRACT

Fusarium wilt or panama disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* is one of the important diseases on banana. Recently there is no such effective method for controlling the disease. The use of fungicide to control the disease can make new races of the fungal pathogen is very virulent. The use of biocontrol agent such as *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* is an alternative method to control fusarium wilt. The aim of this experiment was to find out the most effective antagonist bacterial to control fusarium wilt on banana. The study was carried out in Mycology Laboratory of IPB and green house and Phytopathology Laboratory of Balitbio, Bogor from January to October 2001. Six treatments in this experiment were arranged in randomized complete design with 3 replications. The result showed that *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* were reducing Panama disease fusarium wilt on banana. Both antagonistic bacteria were effective to control fusarium wilt.

Keywords: Banana, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*.

PENDAHULUAN

Saat ini, fusarium yang sering disebut penyakit panama disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) sudah menjadi masalah yang utama di berbagai pertanaman pisang dunia. Penyakit tersebut telah meluas baik pada pertanaman pisang perkarangan maupun perkebunan. Kerugian yang diakibatkan oleh patogen tersebut cukup tinggi. Hasil pengamatan Sulyo (1992) di Kabupaten Lebak beribu-ribu tanaman pisang mati akibat terjangkit layu.

Penyakit ini telah menyebar luas di Jawa Barat dan Sulawesi

Selatan (Muharam *et al.*, 1992). Hal ini menunjukkan bahwa penyakit layu fusarium mempunyai potensi untuk terus berkembang dan menjadi salah satu kendala yang harus dipertimbangkan dalam rangka pengembangan pisang secara besar-besaran di Indonesia.

Foc merupakan patogen tular tanah (soil borne pathogen) yang bersifat penghuni tanah (soil inhabitant), memiliki ras fisiologi yang berbeda dan dapat menimbulkan penyakit yang bersifat monosiklik sehingga strategi pengendalian yang efektif hingga kini belum ditemukan. Disamping itu patogen Foc dapat

bertahan hidup dalam berbagai jenis tanah untuk puluhan tahun walaupun tanpa tanaman inang.

Beberapa tehnik pengendalian telah dilakukan seperti penggunaan fungisida, kultur teknis, dan kultivar yang resisten, tetapi masih juga menjadi masalah. Alternatif pengendalian lain yaitu penggunaan mikroorganisme antagonis. Cook & Baker (1983) menyatakan bahwa usaha penanggulangan penyakit tanaman dengan cara biologi mempunyai peluang yang cukup cerah karena organismenya telah tersedia di alam dan aktifitasnya dapat distimulasi dengan modifikasi lingkungan maupun tanaman inang. Mikroba tanah dari kelompok bakteri yang berpotensi menekan patogen tular tanah, diantaranya: *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*. *P. Fluorescens* dapat mengurangi penyakit layu pada pisang yang ditanam dalam ember plastik pada lahan terbuka dari 93,3 – 20,0% (Djatnika dan Wakiah, 1995). Keanekaragaman mikroorganisme yang antagonis dan kekayaan sumberdaya alam dalam tanah pertanian, sebenarnya menjanjikan peluang yang cukup besar untuk dimanfaatkan dalam pengendalian hayati terhadap penyakit tanaman tanpa merusak lingkungan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keefektifan bakteri antagonis (*Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis*) dalam mengendalikan penyakit layu fusarium pada tanaman pisang.

METODA PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Cendawan HPT (IPB), Laboratorium dan rumah kaca Balai

Penelitian Bioteknologi (Balitbio) Bogor, dari bulan Agustus 1999 sampai dengan Mei 2000.

Bahan yang digunakan bibit pisang kultivar Barangan dari kultur jaringan yang berumur 4 bulan, inokulum *F. Oxysporum* f.sp. *cubense* (asal Lampung), *P. Fluorescens* (asal Lampung), *Bacillus subtilis* (koleksi Lab. Bakteri IPB). Alat-alat yang digunakan: pot plastik (diameter 30 cm), cork borer, timbangan, mikroskop, autoclave, kotak isolasi, dan lain-lain.

Isolasi dan Perbanyakan Patogen

Sumber inokulum berasal dari tanaman pisang yang terserang Foc di lapangan. Di isolasi pada media PDA + chloramphenicol. Koloni yang tumbuh diidentifikasi, kemudian dimurnikan dengan mengisolasi cendawan tersebut secara berulang-ulang pada media PDA. Cendawan diperbanyak dalam media beras untuk perlakuan selanjutnya.

Isolasi dan Perbanyakan Bakteri antagonis

Isolat bakteri antagonis di isolasi dari rizosfer tanaman pisang dengan metode pengenceran berseri. Suspensi bakteri di isolasi pada media King's B. Bakteri yang tumbuh di murnikan dan diperbanyak dengan menggunakan media PSA yang ditambah 10 ml air steril. Selanjutnya suspensi tersebut diencerkan lagi ke dalam 90 ml PDB dan diinkubasikan selama 48 jam.

Inokulasi Patogen dan Agen Antagonis

Patogen diinokulasi dengan cara menginfestasikan biakan dalam substrat beras berumur 10 hari sebanyak 10 g (10^6 cfu/g biakan) ke dalam pot tanaman yang berisi 5 kg

tanah dan dibiarkan selama 5 hari untuk perkembangannya. Pemberian antagonis dilakukan 5 hari setelah infestasi Foc dengan mencampurkan 100 ml suspensi bakteri antagonis ke dalam tanah tiap pot dan diinkubasikan selama seminggu sebelum bibit pisang di tanam.

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 ulangan. Banyaknya tanaman tiap perlakuan adalah 5 tanaman pisang barangan. Perlakuan yang dicobakan adalah: 1. Tidak di infestasi Foc maupun introduksi agen antagonis (K), 2. Infestasi *F.oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc), 3. Introduksi *P. Fluorescens* (Pf), 4. Introduksi *Bacillus subtilis* (Bs), 5. Infestasi Foc dan Introduksi *P. fluorencens* (FocPf), 6. Infestasi Foc dan Introduksi *B. subtilis* (FocBs).

Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap periode inkubasi, kejadian penyakit (Disease Incidence = DI), keparahan penyakit (Disease Severity = DS), serta populasi akhir patogen dan agen antagonis.

Perhitungan tingkat kejadian penyakit ditentukan dengan menggunakan rumus Abbot (*dalam* Unterstenhofer, 1976) sebagai berikut:

$$DI = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Dimana:

DI = Disease Incidence (% gejala layu)

n = Jumlah tanaman yang terserang

N = Jumlah tanaman yang diamati

Pengukuran keparahan penyakit dengan melihat diskolorisasi (kerusakan jaringan) pada bonggol kultivar pisang, yang dilakukan

dengan memotong bonggol tanaman pada umur 120 dan 150 hari setelah tanam (HST). Perhitungan DS ditentukan dengan menggunakan metoda Townsend & Heuberger (*dalam* Unterstenhofer, 1976) yaitu:

$$DS = \frac{\sum_{j=0}^5 (n_i \times v_j)}{Z \times N} \times 100\%$$

Keterangan:

DS = Disease Severity/ Intensitas keparahan penyakit (%)

n_i = Jumlah batang semu yang terserang pada setiap kategori

v_j = Nilai numerik masing-masing kategori serangan

Z = Nilai numerik kategori serangan tertinggi

N = Jumlah batang semu yang diamati

Nilai skoring (skala diskolorisasi) untuk setiap kategori serangan menggunakan metoda Corderio (1994), sebagai berikut:

0 = tidak ada diskolorisasi pada berkas pembuluh ($v = 0$)

1 = diskolorisasi $0 < v \leq 10\%$

2 = diskolorisasi $10 < v \leq 33\%$

3 = diskolorisasi $33 < v \leq 66\%$

4 = diskolorisasi $66 < v < 100\%$

5 = diskolorisasi 100%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semua tanaman pisang yang mendapat perlakuan infestasi Foc baik tanpa introduksi agen antagonis maupun dengan introduksi agen antagonis ternyata menunjukkan kejadian penyakit layu fusarium dengan periode inkubasi antara 82 – 90 hari setelah tanam (HST) (Tabel 1).

Tabel 1. Pengaruh infestasi Foc dan bakteri antagonis terhadap periode inkubasi, tingkat kejadian dan keparahan penyakit pada pisang

Perlakuan	Rerata PI (HST)	Tingkat Kejadian Penyakit (%)	Tingkat Keparahan Penyakit (%)	
			120 HST	150 HST
K	Tdp	Tdp	0,00	0,00
Foc	82,6 ^b	100,00 ^a	26,67 ^a	80,00 ^a
Pf	Tdp	Tdp	0,00	0,00
Bs	Tdp	Tdp	0,00	0,00
FocPf	89,3 ^a	73,33 ^b	27,78 ^a	46,67 ^b
FocBs	90,0 ^a	80,00 ^b	33,33 ^a	55,56 ^b

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan, setelah transformasi $\sqrt{y+0,5}$

Ket: PI = periode inkubasi

Tdp = tidak diaplikasi patogen

K = kontrol

Foc = *F. o. f.sp. cubence*

Pf = *Pseudomonas fluorescens*

Bs = *Bacillus subtilis*

Analisis ragam menunjukkan adanya perbedaan periode inkubasi yang nyata untuk perlakuan yang berbeda. Perbedaan dari masing-masing perlakuan karena adanya aplikasi dari kedua bakteri antagonis, namun periode inkubasi pada perlakuan kedua bakteri antagonis tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata. Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa pemberian bakteri antagonis dapat memperpanjang periode inkubasi karena kehadiran agen antagonis tersebut dapat memperlambat terjadinya kontak dan penetrasi patogen ke inangnya. Dalam hal ini patogen harus bersaing terlebih dahulu dengan mikroorganisme antagonis untuk mendapatkan ruang dan makanan. Berkaitan dengan tingkat kejadian dan keparahan penyakit dari tiap perlakuan, maka jelas perlakuan bakteri antagonis pada tanah terinfeksi Foc selain dapat menghambat kontak dan penetrasi, dapat juga menekan kejadian dan keparahan penyakit. Hasil analisis ragam terhadap tingkat

kejadian serta keparahan penyakit pada 120 dan 150 HST pada tiap perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata (Tabel 1). Penggunaan agen antagonis sangat berpengaruh terhadap kejadian dan keparahan penyakit pada 150 HST, namun pada 120 HST kedua bakteri antagonis belum memberikan pengaruh dalam menekan tingkat keparahan penyakit. Uji Jarak Berganda Duncan menunjukkan bahwa introduksi kedua agen antagonis mampu menekan layu fusarium secara nyata. Pada tanaman yang mendapat perlakuan bakteri antagonis tetap menunjukkan gejala layu. Hal ini dapat terjadi mungkin kultivar uji sangat rentan dan patogen yang diinfestasikan (asal Lampung) sangat virulen serta lebih dulu melakukan proliferasi. Sedangkan bakteri antagonis yang diintroduksi setelah infestasi patogen tidak sepenuhnya menekan populasi patogen. Tanaman pisang yang digunakan dalam percobaan ini adalah kultivar barangan yang berumur 4 bulan. Menurut Sahlan (1991),

barangan merupakan kultivar pisang yang rentan terhadap layu fusarium. Kultivar pisang yang bergenom AAA seperti : barangan dan ambon, umumnya sangat rentan terhadap serangan Foc ras 1 dan 4 (Ji Su *et al.*, 1986). Foc yang diinfestasikan berasal dari Lampung memiliki virulensi yang tinggi. Kenyataan ini dilaporkan oleh Widaranty *et al.* (1995) bahwa isolat Foc asal Lampung memiliki viruensi yang tinggi, agresif dan daya patogenitas yang tinggi dibandingkan isolat asal Solok, Mojokerto, dan Malang. Faktor lain kemungkinan berpengaruh kurang efektifnya agen biokontrol dalam mengendalikan penyakit layu ini dapat juga terjadi karena metode aplikasi agen antagonis yang kurang tepat, konsentrasi aplikasi yang kurang banyak. Fahima & Henis (1990) menyatakan bahwa, salah satu faktor keberhasilan dan keefektifan pengendalian secara biologi ditentukan oleh cara aplikasi agen antagonis. Cara dan tempat aplikasi berhubungan dengan kemampuan agen antagonis untuk tumbuh dan berkembang dengan cepat, mengkolonisasi sistem perakaran dan menghasilkan senyawa metabolit yang menekan patogen dan mampu menetralkan toksin yang dikeluarkan oleh patogen. Selain itu ditentukan juga oleh konsentrasi agen antagonis yang diaplikasikan, kemampuan berproliferasi dan berkembang dalam lingkungan yang baru (Wilson & Lindow, 1994).

Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik mungkin dapat dilakukan dengan melihat waktu yang tepat untuk aplikasi agen antagonis, kombinasi antar agen antagonis yang kompatibel, konsentrasi agen antagonis ditingkatkan, mengaplikasi ulang agen antagonis pada waktu

tertentu untuk meningkatkan populasinya, setelah introduksi agen antagonis diberi waktu yang lebih lama agar perkembangan agen antagonis menjadi lebih baik dan dapat beradaptasi dengan sempurna, atau aplikasi agen antagonis dilakukan lebih awal pada bibit tanaman sebelum di tanam. Di samping kondisi fisik dan kimia rizosfer dapat mempengaruhi kemampuan agen antagonis untuk menekan perkembangan patogen dalam tanah.

Menurut laporan Djatnika dan Wakiah (1995), *Pseudomonas fluorescens* (isolat 4) dapat menurunkan jumlah tanaman layu sebesar 85,7% pada tanaman pisang kultur jaringan. Hal ini mungkin saja terjadi karena strain patogen maupun agen antagonis yang digunakan berbeda dan metode aplikasi dari *P. fluorescens* juga berbeda, yaitu dengan merendam akar tanaman pisang ke dalam suspensi *P. fluorescens* terlebih dahulu sebelum penanaman ke pot yang telah terinfestasi Foc, sehingga diharapkan agen antagonis dapat mengkolonisasi perakaran tanaman pisang terlebih dahulu. Selanjutnya mereka mengatakan aplikasi *P. fluorescens* pada awal penanaman (perendaman akar) akan memberikan kesempatan pada biokontrol tersebut untuk mengkolonisasi lebih awal pada permukaan akar sehingga lebih efektif dalam menghambat kolonisasi dan perkembangan patogen. Hedges dan Messens (1990) menyatakan bahwa *P. fluorescens* menghasilkan pyoverdine, pyrrolnitrin, dan pyoluteorin dalam menghambat patogen (Lynch, 1990). Sedangkan bakteri antagonis *Bacillus subtilis* dapat menghambat patogen karena adanya sejenis antibiotika 'Bulbiformin', bakteri ini berkembang dan menyerap nutrisi dari permukaan luar dan bagian dalam sel

hifa sehingga hifa mengalami lisis (Baker *et al.*,1967).

Berdasarkan data tingkat keparahan penyakit (Tabel 1) yang semakin meningkat bila dilihat dari 120 ke 150 HST, dapat diprediksikan bahwa suatu saat mungkin saja Foc dapat menyerang semua tanaman uji. Untuk mengantisipasi terjadinya hal tersebut maka harus di tambah/aplikasikan kembali populasi agen antagonis sehingga mencapai populasi yang efektif untuk pengendalian Foc serta menambah bahan organik untuk meningkatkan aktivitas dari agen antagonis. Faktor lainnya yang mempengaruhi mungkin saja lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri antagonis ini. Bakteri yang bersifat antagonis di dalam tanah mampu menekan perkembangan dan pertumbuhan *F. oxysporum* dengan cara: berkompetisi dalam memperoleh ruang dan nutrisi yang sama, antibiosis, dan lisis.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa perlakuan agen antagonis tunggal tidak memperlihatkan gejala layu/abnormal lain hingga 150 HST.

Hal ini menunjukkan bahwa introduksi kedua bakteri antagonis tidak menimbulkan fitotoksik karena agen antagonis tersebut merupakan bakteri saprofit.

Hasil re-isolasi yang dilakukan pada 150 HST menunjukkan bahwa patogen maupun bakteri antagonis masih mampu bertahan dalam tanah dekat daerah perakaran tetapi kurang berkembang (Tabel 2). Populasi Foc pada perlakuan tunggal maupun kombinasi dari tanah perlakuan pada tingkat $3,99 - 5,25 \times 10^4$ cfu masih cukup tinggi untuk melakukan infeksi walaupun tampak terjadi penurunan dibandingkan dengan populasi awal infestasi. Sedangkan populasi akhir bakteri antagonis $3,31 - 3,62 \times 10^4$ cfu pada perlakuan infestasi patogen dan introduksi bakteri antagonis tampaknya terlalu rendah untuk dapat efektif mengendalikan Foc. Baker dan Cook (1974) melaporkan bahwa populasi agen antagonis dalam tanah agar dapat efektif mengendalikan patogen harus sekitar 10^6 cfu.

Tabel 2. Pengaruh infestasi *F. o. f.sp. cubense* dan bakteri antagonis terhadap populasi akhir *F.o. f.sp. cubense* dan bakteri antagonis pada 150 HST

Perlakuan	<i>F. o. f.sp. cubense</i>		Bakteri antagonis	
	Populasi awal ($\times 10^6$) (cfu)	Populasi akhir ($\times 10^4$) (cfu)	Populasi awal ($\times 10^6$) (cfu)	Populasi akhir ($\times 10^4$) (cfu)
K	0	0	0	0
Foc	65,2	5,25 ^a	0	0
Pf	0	0	73,6	5,72 ^a
Bs	0	0	72,4	5,37 ^a
FocPf	65,2	4,09 ^b	73,6	3,31 ^b
FocBs	65,2	3,99 ^b	72,4	3,62 ^b

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% berdasarkan Uji Jarak Berganda Duncan

Penurunan populasi akhir dari Foc maupun bakteri antagonis dapat dilihat pada Tabel 2. Uji Jarak

Berganda Duncan menunjukkan bahwa populasi Foc atau bakteri antagonis pada perlakuan tunggal

berbeda nyata dengan perlakuan kombinasi patogen dan agen antagonis. Populasi Foc maupun bakteri antagonis pada perlakuan tunggal relatif lebih tinggi jumlahnya dibandingkan dengan kombinasi. Hal ini dapat terjadi karena pada perlakuan kombinasi patogen dengan bakteri antagonis timbul persaingan/kompetisi dalam memperoleh ruang/tempat dan nutrisi yang terbatas atau terjadi penekanan akibat antibiosis dan lisis. Sedangkan pada perlakuan tunggal tidak terdapat mikroorganisme lainnya sehingga relatif tanpa persaingan antar organisme, hanya terjadi kompetisi di dalam populasi spesies itu sendiri. Selain itu suhu yang tinggi dan kelembaban yang relatif rendah juga dapat mempengaruhi populasi bakteri antagonis.

SIMPULAN DAN SARAN

1. Introduksi bakteri antagonis dapat memperpanjang periode inkubasi penyakit layu fusarium pada tanaman pisang. Keberadaan bakteri antagonis pada tanah terinfeksi *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense* dapat mengurangi tingkat kejadian dan keparahan penyakit, tetapi belum dapat mencegah terjadinya penyakit layu fusarium.
2. Kedua bakteri antagonis memiliki tingkat efektifitas yang relatif sama dalam mengendalikan penyakit layu fusarium pada tanaman pisang.
3. Populasi akhir Foc dan bakteri antagonis mengalami penurunan pada 150 HST dari populasi awal. Populasi Foc masih cukup tinggi pada 150 HST walaupun sudah

mendapat perlakuan bakteri antagonis.

4. Perlu penelitian lanjutan untuk melihat faktor-faktor pembatas seperti lingkungan (fisik dan kimia tanah, suhu, kelembaban, dan pH tanah), jumlah, cara, dan waktu aplikasi agen antagonis.

DAFTAR PUSTAKA

- Baker, K.F., N.T. Flentje, C.M. Olsen, and Helena M. Stretton. 1967. Effect of antagonism on growth and survival of *R. Solani* in soil. *Phytopathology* 57: 591 – 597.
- Cook, R.J. & K.F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. *American Phytopathol. Soc., St. Paul, Minesota.* 539 p.
- Corderio, M. 1994. Scala for rating the internal corm symptoms caused by *Fusarium Wilt*. p. 284. *In* D.R. Jones (ed). *The Improvement and testing of Musa: a Global partnership. Proceedings of global Conference of International Musa Testing Program held at FHIA, Honduras, INIBAB.* p. 284.
- Djatnika, I. dan Wakiah Nuryani. 1995. Pengendalian Biologi Penyakit Layu *Fusarium* pada Pisang dengan Beberapa Isolat *Pseudomonas fluorescens*: 422 – 425. Kong. Nas. XII dan Seminar Ilmiah PFI, Mataram. 27 – 29 September 1995.

- Fahima, T. & Y. Henis. 1990. Interaction between pathogen, host and biocontrol agent: Multiplication of *Trichoderma harzianum* and *Talaromyces flavus* on root of diseased and healthy hosts, p. 165 – 180. In D. Hornby (ed.). Biological control of soil-borne plant pathogen. CAB International. England.
- Hedges, R.W. & E. Messens. 1990. Genetic Aspects of Rhizosphere Interactions., In J.M. Lynch (ed.). The Rhizosphere. John Wiley & Sons Ltd. England. pp. 129 – 176.
- Ji Su, H., S.C.Hwang & W.H.Ko. 1986. Fusarium Wilt of Cavendish Banana in Taiwan. Plant Diseases 9:814 – 818.
- Lynch, J.M. 1990. Microbial Metabolites. In J.M. Lynch (ed.). The Rhizosphere. John Wiley & Sons Ltd. England. pp. 177 – 206.
- Muharam, A., Y. Sulyo, I. Djatnika, & B. Marwoto. 1992. Identifikasi dan daerah pencair penyakit penting pada tanaman pisang, p. 23 – 28. Dalam A. Muharam, Y. Sulyo, I. Djatnika, & H. Sunarjono (eds.). Pisang sebagai komoditas andalan, prospek dan kendalanya. Prosiding Seminar 5 Nop. 1992. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Sub Balai Penelitian Hortikultura Segunung, Balai Penelitian Hortikultura, Lembang.
- Sahlan. 1991. Uji resistensi beberapa varietas pisang (*Musa* sp.) terhadap penyakit layu panama (*Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense*). J. Pen. Hortikul. 4:85 – 86.
- Sulyo, Y. 1990. Informasi mengenai hasil penelitian penyakit pisang muthakir. p. 18 – 22 dalam A. Muharam, Y. Sulyo, I. Djatnika, & H. Sunarjono (eds.). Pisang sebagai komoditas andalan, prospek dan kendalanya. Prosiding Seminar 5 Nop. 1992. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura. Sub Balai Penelitian Hortikultura Segunung, Balai Penelitian Hortikultura, Lembang.
- Unterstenhofer, G. 1976. The basic principles of crop protection field trials. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer Formely Hotchen-Briefe. flanzenschutz-Anwendungstechnik, Bayer AG, Leverkusen. 29:183 – 185.
- Widaranty, A.W., Djayati, & L. Sulistyowati. 1995. Patogenisitas beberapa isolat jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* pada beberapa varietas tanaman pisang. p. 414 – 417. Kongres nasional XIII dan Seminar Ilmiah PFI, Mataram. 27 – 29 Sept. 1995.
- Wilson, M. & S.E. Lindow. 1994. Ecological similarity and coexistence of epiphitic ice-nucleating (ice+) *Pseudomonas syringae* strain and a non-ice nucleating (ice) biological agent. J. Appl. Environ. Microbiol. 60:3128 – 3137.