

# PENYAKIT LAYU BAKTERI BIOEKOLOGI DAN CARA PENGENDALIANNYA

Mudji Rahayu

Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi

## PENDAHULUAN

Penyakit layu yang disebabkan bakteri *Ralstonia solanacearum* hingga saat ini masih menjadi kendala utama dalam budidaya kacang tanah. Layu bakteri merupakan penyakit yang mendunia, penyebarannya ke seluruh dunia baik wilayah tropis maupun sub tropis. Di sebagian besar negara produsen kacang tanah seperti Australia, Fiji, beberapa negara di Afrika meliputi Lybia, Uganda, Somalia, Ethiopia, Zimbabwe, dan Afrika Selatan; serta di Asia meliputi China, Malaysia, Vietnam, Indonesia, Philipina, Thailand, Sri Langka, Papua New Guinea, Taiwan, Jepang, dan India, penyakit tersebut menjadi penyebab utama penurunan produksi (Mehan *et al.* 1994). Di daerah sentra produksi kacang tanah di Jawa Tengah seperti Pati dan Banjarnegara, bakteri layu menjadi faktor utama penyebab rendahnya hasil panen (Nugrahaeni 2011). Kehilangan hasil kacang tanah karena penyakit layu berkisar 10–30% bahkan mencapai 60% pada tingkat serangan parah seperti terjadi di Vietnam dan Indonesia (Mehan *et al.* 1994). Di China, kehilangan hasil kacang tanah akibat layu bakteri di estimasi mencapai 50.000 ton per tahun (Boshou 1999). Besarnya nilai kehilangan hasil tersebut dipengaruhi beberapa faktor seperti seperti tingkat virulensi patogen, kondisi lingkungan seperti cuaca, ketahanan varietas, cara budidaya dan teknologi pengendalian (Elphinstones 2005).

*R. solanacearum* pada umumnya menyerang kacang tanah yang ditanam pada musim kemarau awal atau akhir musim hujan, dengan kondisi lahan masih lembab dan cuaca bersuhu hangat. Gejala infeksiya muncul secara tiba-tiba, batang menjadi layu dan lunglai dengan warna daun tetap hijau. Fase kritis tanaman terhadap infeksi biasanya pada umur 2–3 minggu. Pada tingkat serangan ringan gejala layu hanya terlihat pada sebagian cabang, sedangkan serangan parah menyebabkan kerusakan sistemik seluruh batang dan cabang menjadi layu, kemudian tanaman mengering dan akhirnya mati. Tanaman kacang tanah yang terserang, biasanya tidak dapat sembuh (Mehan *et al.* 1994, Hayward 1995). Pengendalian penyakit layu pada kacang tanah sejauh ini belum dilakukan secara kimia walaupun teknologi tersebut handal dan bakterisida yang efektif tersedia dengan berbagai merk dagang, namun teknologi kimiawi tersebut tidak sesuai untuk petani dengan sumber dana terbatas. Mengingat *R. solanacearum* merupakan patogen yang terdiri atas beragam strain dan sejauh ini belum dilakukan pengendalian secara serius oleh petani, maka beberapa komponen pengendalian alternatif seperti penggunaan varietas tahan, pemilihan lahan bebas penyakit (non infeksi), pergiliran tanaman dengan jenis bukan inang, penggunaan benih sehat, pengendalian hayati, pestisida nabati potensial sebagai bakterisida, dan pengendalian kimiawi dengan antibiotik sangat potensial diterapkan di lapangan.

## SEBARAN GEOGRAFIS

*R. solanacearum* pertama kali ditemukan berasal dari lokasi mana belum jelas, tetapi Hayward (1991) menyatakan bahwa secara geografis tempat ditemukan bakteri tersebut adalah hutan belantara di benua Amerika Selatan dan Indonesia. Van Breda de Haan

pada tahun 1905 untuk pertama kalinya melaporkan bahwa penyakit layu ditemukan pada kacang tanah yang ditanam di Cirebon, Jawa Barat, dan patogen penyebabnya diidentifikasi sebagai *Pseudomonas solanacearum* (Hayward 1991). Layu *R. solanacearum* merupakan penyakit yang mendunia, penyebarannya meliputi seluruh dunia baik wilayah tropis maupun sub tropis. Penyakit layu menjadi kendala serius di negara produsen kacang tanah seperti Australia, Fiji, beberapa negara di Afrika seperti Lybia, Uganda, Somalia, Ethiopia, Zimbabwe, dan Afrika Selatan. Di Asia meliputi China, Malaysia, Vietnam, Indonesia, Filipina, Thailand, Sri Langka, Papua New Guinea, Taiwan, Jepang, dan India (Mehan *et al.* 1994). Penyebaran penyakit ke areal jauh antar pulau dan antar negara sangat dimungkinkan karena bakteri mampu menginfeksi secara laten benih kacang tanah sehingga penyebaran penyakit seiring dengan alur distribusi benih.

## KERUGIAN HASIL

Kerugian hasil kacang tanah akibat penyakit layu bervariasi antara 10–30%, bahkan pada varietas rentan yang terserang parah kerugiannya mencapai 60% (Mehan *et al.* 1994). Besarnya nilai kerugian hasil tersebut dipengaruhi beberapa faktor meliputi faktor lingkungan seperti iklim lokal, tipe tanah, teknis budidaya, jenis varietas yang ditanam, dan virulensi atau tingkat keganasan strain *R. solanacearum* (Elphinstones 2005).

## BIOEKOLOGI PATOGEN

### Identitas Patogen

Patogen penyebab penyakit layu adalah bakteri *Ralstonia solanacearum* Smith-Yabuuchi. Nama tersebut mengalami beberapa kali perubahan, sebagai hasil kajian molekuler yang didasarkan pada analisis DNA bakteri. Semula bakteri tersebut dinamakan *Bacillus solanacearum*, kemudian menjadi *Burkholderia solanacearum*, berubah menjadi *Pseudomonas solanacearum* dan nama mutakhir menurut Yabuuchi *et al.* (1995) adalah *Ralstonia solanacearum*. Secara taksonomi bakteri tersebut diklasifikasikan sebagai berikut:

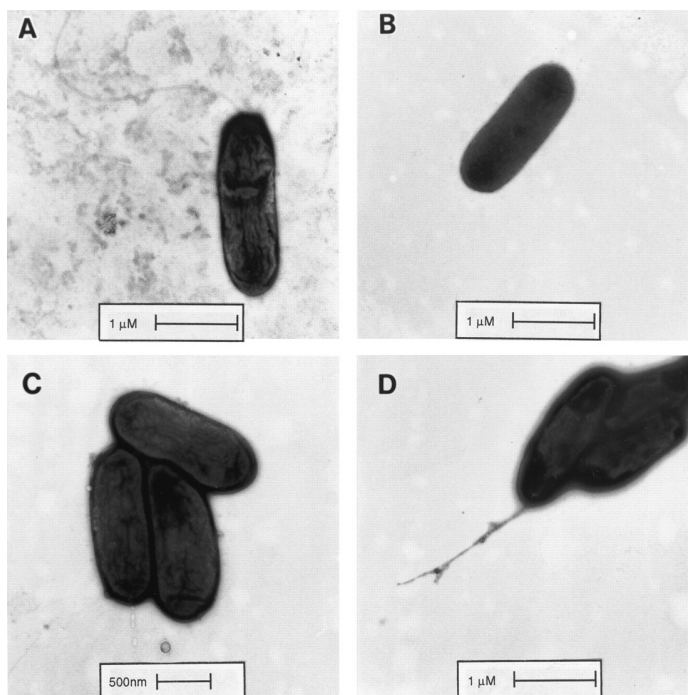
Bangsa	:	Bakteri
Filum	:	Proteobacteria
Klas	:	Betaproteobacteria
Ordo	:	Burkholderiales
Famili	:	Burkholderiaceae
Marga	:	Ralstonia
Spesies	:	solanacearum

*R. solanacearum* termasuk kelompok bakteri Gram negatif, morfologi sel berbentuk batang pendek, sel tunggal berukuran 0,5–0,7 x 1,5–2,0  $\mu\text{m}$ , tidak membentuk spora, dan tidak berkapsul. Bakteri dapat bergerak dengan menggunakan bulu getar (flagela) tunggal atau lebih yang terletak pada salah satu ujung sel polar (Gambar 1). Tans-Kersten *et al.* (2001) menyatakan bahwa flagela berfungsi untuk bergerak cepat ke arah rangsangan inang, dan kecepatan tersebut sangat menentukan virulensi atau keganasan bakteri pada tahap awal infeksi dan kolonisasinya pada inang. Menurut Anitha *et al.* (2003) bahwa isolat virulen pada umumnya tidak memiliki flagel dan tidak mampu bergerak (non-mobil). Pada isolat avirulen atau tidak ganas, bakteri mampu bergerak dengan menggunakan 1–4 buah flagel polar.

## Faktor Lingkungan yang Berpengaruh

Bakteri *R. solanacearum* membutuhkan oksigen untuk hidupnya (aerobik) dan sangat sensitif terhadap kondisi kekeringan. Bakteri mampu tumbuh pada suhu 25 ° hingga 35 °C, pada suhu tinggi (41 °C) bakteri tidak mampu tumbuh (Anitha *et al.* 2003). Lingkungan dengan suhu dingin seperti di dataran tinggi (2500 m dpl), mempengaruhi penampilan gejala penyakit layu. Infeksi *R. solanacearum* pada tanaman kentang seringkali tidak menunjukkan gejala layu secara jelas (*symptomless*), namun bakteri secara laten hidup dalam batang dan umbi kentang. Infeksi laten sangat merugikan karena berpeluang menyebarkan penyakit (Kelman *et al.* 1994).

Kondisi lingkungan ekstrim tidak kondusif untuk perkembangan bakteri. *R. solanacearum* sangat sensitif terhadap kadar air rendah (kekeringan), pH tinggi (tanah alkalin), suhu rendah, dan tingkat kesuburan tanah yang rendah (Hidayah dan Djajadi 2009).



Gambar 1. Morfologi sel *Ralstonia solanacearum* strain K60  
Sumber: Tans-Kersten *et al.* 2001.

## Jenis Inang

Bukan hanya kacang tanah yang menjadi tempat hidup bakteri layu, komoditas lain yang bernilai ekonomis tinggi seperti terung *Solanum melongena*, kentang *Solanum tuberosum*, tomat *Lycopersicon esculentum*, pisang *Musa paradisiaca*, dan tembakau *Nicotiana tabacum* merupakan inang utama *R. solanacearum* (EPPO 2004). Sebelumnya Kelman *et al.* (1994) melaporkan bahwa penyakit layu pada tanaman lada, cabai, jahe, wijen, dan anturium juga disebabkan oleh *R. solanacearum*. Menurut Elphinstone (2005) *R. solanacearum* memiliki kisaran inang sangat luas, dapat menginfeksi 200 spesies tanaman dari 53 famili.

Di Indonesia dilaporkan bahwa *R. solanacearum* merupakan patogen merugikan pada beberapa komoditas seperti cengkeh dan garut (Adhi *et al.* 1998), pisang (Supriadi 1999), jahe (Mulya *et al.* 2000, Supriadi 2000), tembakau (Wuryandari 2004), tanaman aromatik nilam (Asman *et al.* 1998, Nasrun *et al.* 2007), beberapa jenis tanaman obat (Supriadi *et al.* 2001), dan kemangi (Supriadi dan Hadipoentyanti 2000). Tanaman yang berguna sebagai pupuk hijau seperti *Sesbania rostrata* dan *Crotalaria juncea* juga berperan sebagai inang *R. solanacearum*. Aneka tanaman budi daya dan gulma inang bakteri tersebut ditampilkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Tanaman budi daya dan gulma yang berperan sebagai inang *R. solanacearum*

No	Spesies	Nama umum	No	Spesies	Nama umum
1	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Tomat	21	<i>Gladiolus communis</i>	Gladiol
2	<i>Nicotiana tabacum</i>	Tembakau	22	<i>Ocimum</i> sp.	Kemangi
3	<i>Solanum melongena</i>	Terung	23	<i>Crotalaria juncea</i>	Turi
4	<i>Solanum tuberosum</i>	Kentang	24	<i>Amaranthus spinosus</i>	Orok-orok, eceng-eceng
5	<i>Musa</i> spp	Pisang	25	<i>Ageratum conizoydes</i>	Bayam duri
6	<i>Heliconia</i> sp.	Bunga matahati	26	<i>Ageratum conizoydes</i>	Jotang
7	<i>Anthurium</i> spp	Anturium	27	<i>Bidens pilosa</i>	Buntut tikus
8	<i>Arachis hypogaea</i>	Kacang tanah	28	<i>Euphorbia prunifolia</i>	Platilian
9	<i>Capsicum annum</i>	Cabai	29	<i>E. hirta</i>	Nanangkaan
10	<i>Gossypium</i> spp	Kapas	30	<i>Pyllanthus niruri</i>	Meniran
11	<i>Hevea brasiliensis</i>	Karet	31	<i>Portulaca oleracea</i>	Krokot
12	<i>Ipomoea batatas</i>	Ubi jalar	32	<i>Polygonum</i> sp.	Aseman, dandang
13	<i>Ricinus communis</i>	Jarak biji	33	<i>Galinsoga parviflora</i>	Beribil, jakut
14	<i>Zingiber offiChinale</i>	Jahe	34	<i>Eupatorium odora</i>	Kirinyuh
15	<i>Manihot esculenta</i>	Ubi kayu	35	<i>Cleome viscosa</i>	Buntut kucing
16	<i>Curcuma domestica</i>	Kunyit	36	<i>Boerhavia erecta</i>	Cakaran
17	<i>Eugenia aromaticum</i>	Cengkih	37	<i>Lantana camara</i>	Tembelean
18	<i>Marantha arundinacea</i>	Garut	38	<i>Basilicum</i> sp.	Selasih
19	<i>Sesamum indicum</i>	wijen	39	<i>Centela asiatica</i>	pegagan
20	<i>Pogostemon cablin</i>	nilam			

Sumber: Machmud *et al.* (1993), Kelman *et al.* (1994), Mehan *et al.* (1994), Arwiyanto (1997), Asman *et al.* (1998), Adhi *et al.* (1998), Supriadi (1999), Denny (2000), EPPO (2004), Mulya *et al.* (2000), Supriadi (2000), Supriadi dan Hadipoentyanti (2000), Supriadi *et al.* (2001), Wuryandari (2004), Nasrun *et al.* (2007).

Gulma yang tumbuh bersama kacang tanah memiliki peran penting dalam daur penyakit layu. Gulma selain menjadi pesaing kacang tanah dalam mendapatkan bahan makanan, air dan ruang; juga berguna sebagai tempat hidup bakteri dan menjadi sumber infeksi penyakit. Seringkali, gulma yang terinfeksi bakteri tersebut tidak menunjukkan gejala layu. Gulma yang biasanya tumbuh bersama kacang tanah seperti *Ageratum conyzoides*, *Crotalaria juncea*, dan *Croton hirtus* adalah inang alternatif bagi *R. solanacearum* (Mehan *et al.* 1994, Denny 2000).

## PROSES INFEKSI DAN GEJALA PENYAKIT

### Proses Infeksi

*R. solanacearum* menyerang tanaman inangnya mulai dari sel perakaran, dan untuk penetrasi atau masuk dalam jaringan tanaman bakteri membutuhkan jalur khusus berupa luka pada perakaran. Luka tersebut berupa kerusakan akibat terserang hama ataupun luka alamiah pada titik pertumbuhan akar sekunder. Vasse *et al.* (1995) melalui pengamatan mikroskopis *R. solanacearum* pada tomat hidroponik, menyatakan bahwa proses infeksi bakteri terjadi melalui tiga tahap yaitu: 1) kolonisasi bakteri di permukaan akar, 2) infeksi bakteri di bagian korteks, dan 3) infeksi pada sel parenkim diikuti penyebaran bakteri dalam pembuluh *xylem*. Dari pembuluh *xylem* bakteri menyebar sistemik ke bagian atas yaitu batang dan daun. Dalam proses infeksi, bakteri *R. solanacearum* mengeluarkan beberapa jenis senyawa ekstraseluler dengan berat molekul tinggi seperti poligakturonase, endoglukanase, dan senyawa toksin. Deposit senyawa eksopolisakarida yang berlebihan di dalam pembuluh *xylem* akan menyumbat aliran air dari tanah ke seluruh tanaman sehingga timbul gejala layu. Senyawa ekstraseluler tersebut adalah faktor penentu virulensi atau keganasan *R. solanacearum* (Saile *et al.* 1997, Huang dan Allen 2000).

### Gejala Penyakit

Gejala penyakit layu dibedakan menjadi dua berdasarkan kerusakan luar (eksternal) dan gejala kerusakan jaringan pembuluh (internal).

#### 1. Gejala pada tanaman(eksternal)

Kelayuan secara tiba-tiba adalah gejala khas serangan *R. solanacearum* pada kacang tanah, dan awalnya hanya sebagian cabang layu dengan daun berwarna hijau. Gejala awal biasanya muncul pada tanaman umur 2–3 minggu setelah tanam, berupa layu mendadak terutama terjadi pada daun-daun muda sehingga ujung batang nampak lunglai (Gambar 2A). Gejala selanjutnya berkembang sistemik ke seluruh tanaman, daun yang layu berubah menjadi kusam mirip bekas tersiram air panas, cabang dan batang menjadi lunglai dan layu secara permanen, tanaman berwarna kecoklatan, mengering dan akhirnya mati. Apabila tanaman terserang pada umur lebih tua, proses kelayuan terjadi secara bertahap, kadang-kadang hanya sebagian cabang menjadi layu. Tanaman layu atau sakit biasanya tidak dapat sembuh. Infeksi pada polong, menyebabkan perubahan warna menjadi coklat dan busuk polong. Pada intensitas penyakit ringan, tanaman kacang tanah masih mampu memproduksi namun terjadi penurunan kualitas polong yaitu di bagian kulit polong terdapat urat-urat berwarna kecoklatan karena adanya bakteri dalam jaringan kulit (Mehan *et al.* 1994).



A. Tanaman layu (eksternal).



B. Diskolorasi jaringan pembuluh (internal).

Gambar 2. Layu pada sebagian cabang, daun masih hijau segar (A), dan gejala diskolorasi jaringan pembuluh akar dan pangkal batang kacang tanah (B). Sumber: Rahayu 2012.

## 2. Gejala pada jaringan pembuluh batang (internal)

Penyakit layu merusak sistem perakaran dan jaringan pembuluh pengangkutan. Pada tanaman sehat tidak ditemukan gejala diskolorasi atau kerusakan warna pada jaringan pembuluh. Jika bagian batang tanaman layu dipotong melintang, maka tampak bagian empulur dan kayu berwarna kecoklatan atau terjadi kerusakan warna (Gambar 2B). Kerusakan warna pada pembuluh batang umumnya disertai tekstur lunak dan basah, dan kondisi demikian merupakan penciri adanya bakteri. Diskolorasi jaringan pembuluh secara kuantitas belum konsisten sebagai penciri karakter ketahanan ataupun kerentanan kacang tanah terhadap bakteri layu. Diskolorasi jaringan pembuluh hanya sebagai salah satu indikasi adanya deposit senyawa ekstraseluler dari bakteri jenis virulen (ganas).

Gejala serangan bakteri pada biji kacang tanah seringkali terjadi sedikit kerusakan dan biji nampak normal. Untuk biji yang digunakan sebagai benih, biasanya biji rusak akibat penyakit telah dibuang pada proses sortasi benih. Menurut Machmud (1991) dari biji kacang tanah yang dipanen dari tanaman terserang layu bakteri berhasil diisolasi *R. solanacearum* dari beberapa bagian biji seperti funiculus, kulit polong, kulit biji, dan embrio. Persentase penularan tersebut pada varietas Gajah, Pelanduk, Kidang, Macan, Tupai, dan Kelinci berkisar antara 5–8%.

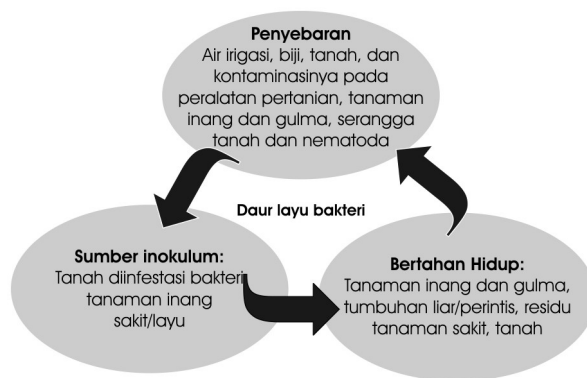
Adanya kemungkinan benih terinfeksi dan tidak menunjukkan gejala perubahan fisik, perlu mendapat perhatian sebab biji terinfeksi dapat membawa bakteri dan akan menghasilkan tanaman baru dalam kondisi terinfeksi. Gejala penyakit yang berasal dari benih membawa patogen biasanya dapat diketahui sekitar 2–4 minggu setelah tanam. Hasil penelitian Zhang *et al.* (1993) tentang pengaruh biji terinfeksi terhadap penularan bakteri menunjukkan bahwa walaupun bakteri dapat dideteksi dalam biji kacang tanah yang baru saja dipanen dari tanaman sakit tidak berarti biji tersebut mampu menularkan penyakit layu. Hal itu disebabkan setelah periode pengeringan, penurunan kadar air biji akan mempengaruhi daya hidup bakteri dalam biji.

### Daur Penyakit

*R. solanacearum* merupakan bakteri penghuni rizosfer atau tanah sekitar perakaran dan penularannya melalui tanah dan biji kacang tanah. Di lapangan, sumber penularan

penyakit terutama dari residu inang terinfeksi dalam tanah, serta air irigasi terkontaminasi bakteri. Air irigasi yang terkontaminasi bakteri, adanya gulma inang dan infeksi laten dalam benih kacang tanah berperan penting pada daur layu *R. solanacearum* di lapangan (Gambar 3).

Penularan penyakit melalui benih, merupakan modus penyebaran pasif dari *R. solanacearum* dan hal ini dipengaruhi oleh aktivitas distribusi benih. Distribusi benih antar lokasi ataupun antar negara, akan seiring dengan penyebaran penyakit ke wilayah lebih luas dalam skala nasional ataupun internasional. Dalam perdagangan internasional, *R. solanacearum* termasuk salah satu organisme pengganggu tanaman paling berbahaya di Amerika Serikat dan karantina pertanian memasukkannya dalam daftar Agricultural Bioterrorism Act sejak tahun 2003 (www.agmkt.state.ny.us dalam Supriadi 2011). Hal-hal demikian mengindikasikan bahwa layu bakteri akan sangat merugikan, karena menjadi penghambat dalam perdagangan benih kacang tanah skala internasional.



Gambar 3. Daur penyakit layu *R. solanacearum* pada kacang tanah.

(Sumber: Priou *et al.* 2011).

## STRAIN DAN VIRULENSI *R. SOLANACEARUM*

Istilah strain digunakan untuk menjelaskan satu kelompok isolat *R. solanacearum* yang memiliki ciri-ciri fenotipik yang sama, sedangkan istilah isolat diartikan sebagai koloni tunggal bakteri pada media kultur. Spesies *R. solanacearum* terdiri beragam strain yang berbeda virulensi atau patogenisitasnya. Strain dengan keragaman jenis inang, sebaran geografis, patogenisitas dan karakter fisiologis dikelompokkan menjadi dua berdasarkan sistem ras dan biovar. Walaupun demikian muncul perbedaan sebutan terhadap klasifikasi di bawah spesies tersebut misalnya grup, strain, patovar, biotipe dan ras. Dalam sistem ras, *R. solanacearum* dibedakan dalam lima ras berdasarkan jenis tanaman inang dan distribusi geografisnya. Dalam sistem biovar, dibedakan lima biovar berdasarkan kemampuan bakteri menggunakan karbohidrat dan alkohol sebagai sumber nutrisinya (Horita dan Tsuchiya 2001, Denny 2006).

*R. solanacearum* penyebab layu pada kacang tanah merupakan strain dari kelompok ras 1 (Hayward 1991). Ras 1 terdiri strain yang menginfeksi inang solanaceae dan bukan solanaceae seperti kacang tanah, buncis, kecipir, bunga matahari, dahlia, lili, anturium, dan strawberi. Ras 1 areal sebarannya meliputi wilayah tropis dan sub tropis pada bebe-

rapa negara di Afrika, Asia, Australia, dan Amerika Selatan (EPPO/CABI 2006). Ras 2 terutama menginfeksi pisang triploid di Amerika Tengah dan Asia Tenggara yang beriklim tropis. Ras 3 menyerang inang solanaceae di dataran tinggi meliputi seluruh dunia. Ras 4 menginfeksi jahe di Asia dan Hawaii. Ras 5 menginfeksi mulberi *Morus sp.* di China (Denny 2006). Penyebaran ras 3 yang paling luas meliputi seluruh dunia, menyerang beragam inang meliputi tanaman budi daya dan tumbuhan liar (Denny dan Hayward 2001, Tahat dan Sijam 2010).

Tabel 2. Pengelompokkan *R. solanacearum* berdasarkan sistem ras.

Ras	Biovar	Jenis inang	Sebaran geografis
1	1, 3, 4	sangat beragam terdiri kentang, tomat, tembakau, kacang tanah, jahe, pisang diploid, buncis, kecipir, bunga matahari, dahlia, lili, anturium	Asia, Australia, Amerika
2	1	pisang triploid ( <i>Musa spp.</i> ) & <i>Heliconia sp.</i>	Amerika Tengah dan Asia Tenggara
3	2	kentang dan tomat	Seluruh dunia terutama di dataran tinggi
4	3, 4	jahe	Asia dan Hawaii
5	5	mulberi ( <i>Morus sp.</i> )	China

Sumber: Denny dan Hayward (2001), EPPO/CABI (2006), Tahat & Sijam (2010).

Tabel 3. Pengelompokkan *R. solanacearum* berdasarkan sistem biovar.

Reaksi biokimia	Biovar-1	Biovar-2	Biovar-3	Biovar-4	Biovar-5
1. Penggunaan disakarida (laktosa, maltose, selobiosa)	-	+	+	-	+
2. Oksidasi alkohol:					
Mannitol	-	-	-	+	+
Sorbitol	-	-	-	+	-
Dulsitol	-	-	-	+	-
3. Denitrifikasi	+	-	+	+	

Sumber: Machmud (1991) dan Priou *et al.* (2011).

Berdasarkan sistem biovar, terdapat lima kelompok biovar *R. solanacearum*. Biovar 1 atau Bv-1 bereaksi negatif terhadap tiga jenis disakarida dan tidak mengoksidasi tiga jenis alkohol. Bv-2 bereaksi positif dapat menggunakan disakarida dan negatif terhadap alkohol. Bv-3 dapat menggunakan disakarida dan juga dapat mengoksidasi alkohol. Bv-4 bereaksi negatif terhadap disakarida dan positif mengoksidasi beberapa alkohol. Bv-5 positif menggunakan disakarida dan hanya mengoksidasi mannitol (Tabel 3). Strain penyebab layu pada kacang tanah di Asia dan Afrika pada umumnya termasuk kelompok Bv-3 dan Bv-4, sementara Bv-1 terdapat di Amerika Serikat (Mehan *et al.* 1994). Menurut Machmud (1993) Bv-3 merupakan strain yang dominan menginfeksi kacang tanah di sejumlah negara Asia seperti China, Indonesia, dan Malaysia. Lebih lanjut dijelaskan bahwa Bv-3 lebih virulen daripada Bv-4.



Virulensi atau keganasan *R. solanacearum* ditentukan oleh kemampuan bakteri menghasilkan senyawa eksopolisakarida. Eksopolisakarida (EPS) merupakan senyawa dengan berat molekul tinggi yang dikeluarkan *R. solanacearum* selama proses infeksi pada tanaman inang. Deposit senyawa tersebut secara berlebihan dalam jaringan pembuluh *xylem* akan menyumbat aliran air dari tanah ke dalam tanaman sehingga timbul gejala layu (Huang dan Allen 2000). Selain EPS, terdapat beberapa enzim yang berperan pada tingkat virulensi suatu strain *R. solanacearum* di antaranya berupa senyawa poliglakturonase (PG) yang mengalami peningkatan setelah bakteri berinteraksi dengan tanaman inang, serta adanya akumulasi enzim pendegradasi dinding sel tanaman inang yaitu enzim endoglukanase (EG) yang berperan pada proses penyakit layu (Suryadi dan Machmud 2002). Strain patogenis *R. solanacearum* yang diisolasi dari kacang tanah layu berdasarkan analisis fisiologis dan biokimianya memiliki sifat reaksi Gram negatif, mampu merombak beberapa jenis karbohidrat sebagai sumber nutrisinya, tidak membentuk pigment fluoresen, dan tidak tumbuh pada suhu 41 °C (Tabel 4).

Tabel 4. Karakter fisiologis dan biokimia *R. solanacearum* isolat kacang tanah.

No.	Jenis pengujian	Reaksi
1.	Reaksi Gram	-
2.	Oxidase	+
3.	Catalase	+
4.	Gerak (Motility)	+
5.	Pigmen Fluorescent	-
6.	Reduksi Nitrate	+
7.	Hidrolisis Arginin	-
8.	Akumulasi Poly-hydroxy butyrate	+
9.	Perombakan Polyacetate	+
10.	Pertumbuhan pada suhu 41 °C	-
11.	Produksi Levan	Bervariasi
12.	Reaksi Hypersensitif	+

Sumber: Machmud (1991) dan Priou *et al.* (2011).

Isolat *R. solanacearum* yang diisolasi dari tanaman terinfeksi di lapangan, bilamana dibiakkan pada media agar-agar secara berulang (rekultur) akan menurun virulensinya sehingga menyulitkan dalam mempelajari patogenisitasnya. Kultur *R. solanacearum* strain yang patogenis mudah dikenali secara visual berdasarkan tipe koloni isolat. Koloni *R. solanacearum* dibedakan menjadi dua tipe yaitu tipe fluidal berarti virulen, dan afluidal yang tidak virulen. Metode identifikasi dan karakterisasi konvensional tersebut di atas perlu dilengkapi dengan metode lain yang didasarkan pada analisis molekuler karena lebih akurat dan cepat. Kajian molekuler sangat bermanfaat untuk mengetahui patogenisitas bakteri dan memahami proses penyakit yang selanjutnya dapat digunakan untuk strategi pengendaliannya.

## PENGENDALIAN PENYAKIT

Pengendalian penyakit tanaman terutama ditekankan melalui pengelolaan penyakit terpadu, dengan menerapkan beberapa komponen teknologi pengendalian yang efektif dan dapat diintegrasikan dengan teknis budidaya tanaman. Mengingat *R. solanacearum* merupakan patogen yang terdiri atas beragam strain dan biovar, serta pengendaliannya

sejauh ini belum dilakukan secara serius oleh petani maka beberapa komponen pengendalian seperti penggunaan varietas tahan, pemilihan lahan bebas penyakit (non infeksi), pergiliran tanaman dengan jenis bukan inang, penggunaan benih sehat, pengendalian hayati, pestisida nabati potensial sebagai bakterisida, dan pengendalian kimiawi dengan antibiotik memiliki potensi cukup baik untuk diterapkan di lapangan.

### **Pengelolaan Lahan Supresif**

Dalam budidaya pertanian, faktor pengelolaan lahan menjadi unsur utama dalam upaya mendapatkan hasil panen yang bermutu tinggi. Di lahan endemik dimana *R. Solanacearum* sering menimbulkan kerusakan, bakteri bertahan hidup di tanah dan serasah atau residu inang terinfeksi sehingga menjadi sumber inokulum primer penyakit pada budidaya kacang tanah berikutnya. Dalam kondisi demikian tindakan sanitasi lahan dan eradikasi residu inang terinfeksi perlu diterapkan di lahan endemik, untuk menurunkan populasi patogen dan melenyapkan sumber penyakit di lapangan.

Pada umumnya gulma selalu diminimalkan keberadaannya melalui penyiangan intensif. Selain merugikan karena menjadi pesaing tanaman utama, gulma tertentu dapat berperan sebagai inang alternatif bagi patogen. Gulma *Portulaca oleracea* dapat menjadi gudang (reservoir) bagi *R. solanacearum*, sehingga berperan pada penyebaran lanjut penyakit layu dari satu musim ke musim berikutnya (Lopez dan Biosca 2004). Seringkali, gulma yang terinfeksi *R. solanacearum* tidak menunjukkan gejala layu, sehingga hal ini menjadi penghambat upaya pengendaliannya. Fakta berlawanan menunjukkan bahwa di lahan yang bebas gulma masih memungkinkan adanya serangan *R. solanacearum*. Hal itu dibuktikan pada tomat yang ditanam di lahan bekas timbunan balok kayu dan juga bebas dari gulma, ternyata terserang parah oleh *R. solanacearum* (Saile *et al.* 1997). Dari penelitian ini diketahui bahwa bakteri indigenus yang hidup dalam tanah dan air di lingkungan setempat dapat berperan sebagai sumber primer penyakit layu bakteri. Adanya bakteri indigenus sangat merugikan karena tindakan pengendalian preventif melalui pemilihan lahan bukaan baru tidak mampu menekan penyakit karena masih berpeluang muncul penyakit layu *R. solanacearum*.

Penggunaan berbagai pupuk hijau, pupuk kandang baik secara sendiri-sendiri maupun dikombinasi dengan menggunakan pupuk NPK dan pengapuran tidak dapat menekan intensitas serangan penyakit layu (Tabel 5). Tetapi di China dilaporkan bahwa pada tanah-tanah miskin yang secara terus-menerus diberi pupuk hijau lebih sedikit mendapat serangan penyakit layu dibandingkan tanah-tanah yang menerima pupuk anorganik. Pada tanah yang bersifat basa pada umumnya tingkat serangan bakteri layu relatif rendah.

Bercocok tanam di tanah supresif atau tanah yang memiliki kapasitas mencegah dan menekan penyakit, sering diterapkan untuk menekan patogen tular tanah seperti *R. solanacearum*. Supresifitas tanah dapat diketahui dari kandungan bahan organik ataupun pengelolaan tanah secara organik. Hasil penelitian di China menunjukkan bahwa pada tanah miskin yang secara terus menerus diberi pupuk hijau lebih sedikit mendapat serangan penyakit layu, dibandingkan tanah yang diberi pupuk anorganik (Lin 1990). Menurut Schonfeld *et al.* (2003) pemberian kompos dapat meningkatkan supresifitas tanah sehingga menekan populasi *R. solanacearum* dan menurunkan intensitas penyakit layu. Hal yang sama dinyatakan van-Bruggen dan Termorshuizen (2003) bahwa tanah yang dikelola secara organik dapat menekan perkembangan *R. Solanacearum*, sebaliknya tanah yang dikelola secara konvensional tidak terjadi penekanan bakteri sehingga penyakit layu

terus berkembang. Berikutnya Lemaga *et al.* (2004) berdasarkan penelitiannya menyatakan bahwa pemberian bahan pembenah tanah berupa pupuk organik ataupun kombinasinya dengan pupuk anorganik NPK, dapat meningkatkan kesehatan tanaman kentang sehingga lebih tahan terhadap layu *R. solanacearum* dan meningkatkan hasil panen. Masyitah (2004 dalam Tahat dan Sijam 2010) membuktikan hal yang sama bahwa pemberian kompos dari bahan seresah batang jagung dan jerami padi, dapat menekan serangan *R. solanacearum* pada tomat. Mekanisme supresifitas tanah organik tersebut belum diketahui secara pasti, tetapi terdapat dugaan bahwa supresifitas berkaitan dengan peningkatan komunitas mikroba agens hayati dalam tanah sehingga perkembangan bakteri layu menjadi terhambat.

Tabel 5. Pengaruh penggunaan pupuk hijau, pupuk kandang, pupuk anorganik dan pengapuran terhadap intensitas layu pada kacang tanah.

Sumber pupuk	Intensitas serangan penyakit layu (%) pada 80 HST
<i>Sesbania rostrata</i>	70,3
<i>Crotalaria juncea</i>	69,7
<i>Leucania leucocephala</i>	78,3
<i>S. rosiata</i> + NPK	75,7
<i>C. juncea</i> + NPK	77,7
<i>L.leucocephala</i> + NPK	81,7
Pupuk kandang	73,7
Pupuk kandang + NPK	67,0
Kapur + NPK	66,3
Kapur + NPK + pupuk kandang	85,7
NPK	67,3
Tanpa pupuk	81,3

Sumber: Machmud (1991).

### Benih Sehat

*R. solanacearum* dapat menular melalui benih kacang tanah walaupun penularannya hanya 5–8% (Machmud 1991). Hasil penelitian di China menunjukkan bahwa penularan bakteri layu berkisar 3–6% dan viabilitas bakteri dalam biji kacang tanah akan menurun dengan semakin rendahnya kadar air benih (Tan *et al.* 1994). Benih membawa penyakit akan sangat merugikan terutama untuk lahan non-infeksi yang semula tidak terdapat kejadian penyakit layu, sehingga dalam penyiapan benih perlu mempertimbangkan faktor kesehatan benih. Mengeringkan kacang tanah hingga kadar air biji kurang dari 8% dilaporkan efektif untuk mencegah penularan penyakit layu bakteri (Zhang *et al.* 1993).

Benih sehat tidak membawa patogen pada komoditas kacang tanah sebaiknya dinyatakan dengan keterangan kesehatan benih. Keterangan kesehatan benih sangat berguna untuk mencegah penyebaran bakteri ke areal lebih luas. Agarwal dan Sinclair (1997) menyatakan bahwa pengujian kesehatan benih sangat diperlukan untuk mendapatkan jaminan mutu patologis bahwa benih tidak membawa sumber penyakit, atau untuk memperkecil peluang penyebaran penyakit melalui benih.

Penyediaan benih bermutu tinggi merupakan salah satu upaya untuk melindungi dan memberikan jaminan kepada petani agar komoditas yang ditanam mencapai hasil panen tinggi dengan mutu yang baik. Benih bermutu biasanya harus melalui serangkaian pemeriksaan lapangan dan pengujian laboratorium. Di dalam pedoman sertifikasi benih dijelas-

kan secara rinci sejak evaluasi sumber benih di lapangan sampai dengan pengujian di laboratorium. Jenis pengujian benih tanaman aneka kacang adalah pengujian kadar air, keaslian dan kemurnian varietas tertentu tidak tercampur dengan varietas lain, mutu fisiologis yaitu viabilitas atau vigor tinggi. Penanggung jawab dan pelaksana sertifikasi benih nasional yaitu Balai Pengawasan dan Sertifikasi Benih (BPSB) yang tersebar sampai di tingkat Kabupaten, belum menerapkan uji patologis yang memberi jaminan mutu kesehatan benih. Anwar (2000) dan Balai Besar Uji Standar Karantina Pertanian (2008) menjelaskan bahwa sampai sejauh ini belum diterapkan uji mutu patologis dalam produksi benih di Indonesia.

Pengujian kesehatan benih dalam pelaksanaannya harus sesuai dengan prosedur operasional yang dikeluarkan oleh lembaga internasional pengujian kesehatan benih yaitu International Seed Testing Association (ISTA). Pengujian kesehatan benih di Indonesia pada umumnya hanya dilakukan terhadap benih-benih introduksi, jadi hanya diterapkan pada alur distribusi benih internasional. Sementara itu dalam sertifikasi benih, belum sepenuhnya menerapkan peraturan sertifikasi internasional tersebut. Sebaliknya di negara-negara maju, selain pengujian mutu fisiologis dan kemurnian varietas, pengujian kesehatan benih mutlak harus dilakukan.

### **Varietas Tahan Penyakit**

Menanam varietas tahan merupakan cara pengendalian yang praktis, selama varietas tahan tersedia benihnya. Seringkali suatu varietas yang dikembangkan sebagai varietas tahan layu di suatu daerah, menjadi rentan di daerah lain. Perubahan ketahanan tersebut disebabkan faktor perbedaan strain ataupun karena perbedaan lingkungan sehingga sifat ketahanan tidak terekspresi. Ekspresi ketahanan terhadap penyakit layu seringkali tidak stabil, di agroekologi yang berbeda sifat tahan tersebut kadang tidak muncul. Semangun (1996) menyatakan bahwa terdapat tiga faktor yang saling berpengaruh pada perbedaan respon ketahanan terhadap suatu patogen yaitu: 1) adanya strain patogen yang virulen (ganas), 2) kondisi agroekologis yang mendukung, dan 3) tingkat kerentanan tanaman inang. Faktor genetik adalah penyebab utama stabilitas karakter ketahanan kacang tanah terhadap penyakit layu, yang dikendalikan gen dominan parsial positif sehingga tidak stabil (Lagiman *et al.* 2000). Faktor virulensi bakteri dapat berubah karena munculnya strain baru *R. solanacearum* di suatu lingkungan agroekologi, juga berpengaruh pada ekspresi ketahanan kacang tanah.

Perakitan varietas unggul kacang tanah untuk ketahanan terhadap penyakit layu di Indonesia telah dilakukan mulai tahun 1925, hasilnya adalah varietas Schwarz 21 yang kemudian ditanam petani hingga tahun 1953. Dengan menggunakan sumber ketahanan dari Schwarz 21 tersebut, kemudian dihasilkan beberapa varietas keturunannya yaitu Gajah, Kidang, Banteng, Macan, Anoa, Rusa, Pelanduk, Tupai, dan Tapir yang juga memiliki sifat tahan terhadap penyakit layu (Mehan *et al.* 1994). Sifat ketahanan terhadap penyakit layu dapat diwariskan melalui persilangan kacang tanah. Penelitian di China menunjukkan bahwa ketahanan terhadap bakteri layu secara mudah dapat dipindahkan melalui persilangan, sehingga diduga ketahanan tersebut secara genetik bersifat sederhana. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa sifat ketahanan tersebut dikontrol oleh gen resesif atau sedikit dominan (Boshou *et al.* 1990).

Sumber gen tahan penyakit layu tersedia di dalam genotipe plasma nutfah kacang tanah. Genotipe yang dikembangkan menjadi calon varietas unggul baru tahan penyakit biasanya dievaluasi dalam skala rumah kaca dengan penularan penyakit secara buatan,

sedangkan evaluasi di lapangan dilaksanakan di lahan mengandung penyakit atau endemik. Nugrahaeni (2011) menyatakan bahwa lahan endemik yang sering digunakan sebagai lokasi pengujian ketahanan kacang tanah terhadap layu bakteri adalah di Pati dan Banjarnegara (Jawa Tengah), serta di Jambegede–Malang (Jawa Timur). Selain faktor inokulum bakteri yang harus virulen, keberhasilan pengujian ditentukan juga oleh metode pengujian yang digunakan. Pengujian pada tanaman di pot di rumah kaca dapat menggunakan berbagai cara inokulasi. Teknik injeksi pada pangkal daun dinilai paling tepat untuk evaluasi ketahanan karena praktis dan memberi hasil yang konsisten (Machmud 1991, Tabel 6).

Tabel 6. Teknik inokulasi bakteri layu di rumah kaca.

Teknik inokulasi	Intensitas serangan (%) pada varietas			
	Gajah	Tupai	Red Spanish	Early Bunch
Pelukaan pangkal daun	8	4	80	84
Metode tusuk gigi	8	8	84	88
Metode injeksi	12	8	88	88
Pencelupan akar	28	20	100	100
Pembasahan akar	16	20	80	80

Sumber: Machmud (1991).

Para pemulia kacang tanah telah mencapai hasil yang sangat mendukung pengendalian layu bakteri melalui penemuan varietas unggul toleran ataupun tahan layu bakteri. Varietas kacang tanah berindikasi toleran hingga tahan layu bakteri di antaranya adalah Gajah, Banteng, Tapir, Kidang, Domba, Mahesa, Panter, Kancil, Anoa, Tupai, KI Putih, Tuban, Papua merah (Tabel 7).

Tabel 7. Ketahanan varietas kacang tanah terhadap layu bakteri.

No	Varietas	Kategori ketahanan	No	Varietas	Kategori ketahanan
1	Gajah	Sangat tahan	15	Badak	Agak Tahan
2	Macan	Tahan	16	Landak	Tahan
3	Banteng	Sangat tahan	17	Panter	Sangat tahan
4	Tapir	Sangat tahan	18	Kancil	Sangat tahan
5	Kidang	Sangat tahan	19	Anoa	Sangat tahan
6	Rusa	Tahan	20	Bima	Agak Tahan
7	Tupai	Sangat Tahan	21	Simpai	Agak Tahan
8	Pelanduk	Tahan	22	Trenggiling	Agak Tahan
9	Kelinci	Agak Tahan	23	KI. Putih	Sangat Tahan
10	Turangga	Tahan	24	Jepara	Agak Tahan
11	Jerapah	Tahan	25	Lokal Pati	Tahan
12	Domba	Sangat tahan	26	Tuban	Sangat Tahan
13	Mahesa	Sangat tahan	27	Papua Merah	Sangat Tahan
14	Komodo	Tahan	28	Zebra	Sangat Tahan
15	Biawak	Tahan	29	Chico	Rentan

Sumber: Balitkabi (2008); Rahayu (2009); Nugrahaeni (2011).

## Pergiliran Tanaman

Pergiliran kacang tanah dengan tanaman lain yang tidak termasuk inang bakteri, dapat mengurangi intensitas penyakit layu. Manfaat pergiliran tanaman dalam mengendalikan *R. solanacearum* ditunjukkan Adhikari dan Basnyat (1998) pada penelitian tomat varietas rentan yang ditanam di lahan bekas jagung dan kacang tunggak, ternyata dapat menunda 1–3 minggu munculnya gejala layu dan menekan intensitas penyakit 20–26%.

Pergiliran tanaman mungkin tidak mengeliminir bakteri secara tuntas tetapi dapat mengurangi populasi patogen di lapangan. Makin lama lahan tersebut ditanami dengan tanaman bukan inang bakteri, akan memberikan hasil yang lebih baik. Pergiliran kacang tanah dengan kapas, kedelai, dan sereal (padi, jagung, sorgum, gandum, tebu) dapat memutus siklus perkembangan *R. solanacearum* di lahan setempat sehingga mengurangi kejadian penyakit layu. Sebaliknya, kacang tanah ataupun inang lainnya yang ditanam secara intensif dapat meningkatkan populasi bakteri di tanah. Kacang tanah yang ditanam bergilir dengan padi gogo selama dua tahun, ternyata dapat menekan intensitas penyakit layu dari 72,6% menjadi 30,7% (Machmud 1991).

Data sejarah kejadian penyakit layu di suatu areal sangat diperlukan sebagai pedoman pengendalian penyakit melalui pendekatan pergiliran tanaman. Apabila pernah terjadi penyakit layu dengan intensitas parah maka selama 2–3 tahun ke depan perlu beberapa upaya pencegahan misalnya dibebaskan sementara dari tanaman kacang tanah, dan dilakukan pergiliran dengan tanaman bukan inang. Upaya lain yang perlu dilakukan adalah menghindari penanaman kacang tanah di areal bekas tomat, terung, cabai, tembakau, jahe dan inang lainnya sebab tanaman tersebut berperan sebagai tempat kehidupan *R. solanacearum*.

## Pengendalian Kimiawi

Pengendalian kimiawi dengan aplikasi bakterisida pada umumnya diterapkan pada tanaman hortikultura. Hasil penelitian Asman dan Sitepu (1998) menunjukkan bahwa antibiotik streptomisin-sulfat cukup efektif untuk menekan layu *R. solanacearum* pada tanaman aromatik nilam. Walaupun bakterisida atau antibiotik telah diketahui efektivitasnya terhadap layu bakteri, tetapi belum diterapkan pada kacang tanah diduga karena pertimbangan tingginya harga bakterisida sehingga tidak efisien. Menurut Parrot dan Kalibwani (2004) bahwa tingginya harga antibiotik dan adanya permintaan produk pertanian yang bebas residu pestisida, telah membatasi penerapan pengendalian kimiawi di beberapa negara seperti Mesir dan Eropa.

## Pengendalian Hayati

Keamanan hayati produk pertanian saat ini semakin mendapat perhatian masyarakat dan petani, sehingga secara berangsur-angsur penggunaan pestisida kimia yang memiliki residu berbahaya terhadap kesehatan, disubstitusi dengan pestisida hayati berasal dari mikroba agens hayati. Beberapa mikroba telah diteliti dan dilaporkan mampu berperan sebagai agens pengendali hayati penyakit layu bakteri *R. solanacearum* (Shekawati *et al.* 1993).

Agens hayati dari jenis bakteri antagonis memiliki potensi cukup baik untuk mengendalikan layu *R. solanacearum*. Beberapa bakteri antagonis seperti *Pseudomonas fluorescens*, *P. glumae*, *P. putida*, *P. gladioli*, *P. aeruginosa*, *Bulkholderia cepacia*, serta *Bacillus subtilis*, *Erwinia sp.*, dan *Streptomyces setonii* yang diisolasi dari rizosfer tanaman sehat dilaporkan efektif mengendalikan layu *R. solanacearum* (Trigalet *et al.* 1998, Lemessa dan Zeller

2007). Pengendalian hayati *R. solanacearum* pada beragam komoditas seperti tembakau (Arwiyanto dan Hartana 2001; Wuryandari 2004), jahe (Mulya *et al.* 2000), tomat (Guo *et al.* 2004), dan tanaman aromatik nilam (Nasrun *et al.* 2005) dengan aplikasi *P. fluorescens* dilaporkan cukup efektif menekan penyakit layu.

Tabel 8. Pengaruh perlakuan benih menggunakan bakteri antagonis *P. fluorescens* dan *B. subtilis* terhadap penyakit layu *R. solanacearum* pada kacang tanah

Perlakuan benih dengan agens hayati	Rumah kaca	Lapangan	
	Kejadian layu (%)	Kejadian layu (%)	Hasil polong (t/ha)
Tanpa perlakuan (cek)	86	89	2,00
<i>P. fluorescens</i>	56	67	2,71
<i>Bacillus subtilis</i>	52	61	2,75

Sumber: Doan and Nguyen (2006).

*P. fluorescens* dan *B. subtilis* yang diaplikasikan melalui benih kacang tanah, dapat menekan kejadian layu hingga 67% demikian juga aplikasi *B. subtilis* menekan kejadian layu hingga 61% sedangkan tanpa pengendalian hayati kejadian layu lebih tinggi mencapai 89%. Selain menekan penyakit, pengendalian hayati tersebut dapat meningkatkan hasil polong kacang tanah hingga 2,71 t/ha sedangkan tanpa perlakuan pengendalian polong yang dihasilkan hanya 2 t/ha (Doan dan Nguyen 2006, Tabel 8).

### Pestisida Nabati

Senyawa alami yang terkandung dalam bahan tanaman tertentu sangat potensial untuk mengendalikan penyakit tanaman, dan hal itu sangat diperhatikan petani karena bahan bakunya tersedia secara lokal. Minyak atsiri berasal dari serai dapur, diketahui mampu menekan serangan *R. solanacearum* pada tomat (Pradhanang *et al.* 2005). Penggunaan biofumigan seperti glukosinolat dan isotiosianat yang berasal dari tanaman Brassicaceae saat ini diteliti secara intensif karena bersifat toksik terhadap aneka patogen tular tanah termasuk *R. solanacearum* (Yulianti dan Supriadi 2008). Selain itu beberapa jenis tanaman seperti daun jambu biji *Psidium guajava*, cangkang biji mangga *Garcinia mangostana*, rimpang kunyit *Curcuma longa*, akar rumput teki *Cyperus rotundus*, ekstraknya mengandung senyawa aktif yang mampu menekan *R. solanacearum* penyebab penyakit layu pada tomat (Vudhivanich 2003, Tabel 9). Ekstrak nabati saat ini memang masih terbatas dalam skala penelitian, tetapi sumber senyawa alami tersebut perlu dikembangkan karena prospeknya cukup baik sebagai alternatif bakterisida yang ramah lingkungan.

Tabel 9. Beberapa jenis tanaman dan sumber ekstrak aktif yang mampu menghambat pertumbuhan in-vitro *R. solanacearum*.

Tanaman	Nama ilmiah	Sumber ekstrak aktif
Jambu biji	<i>Psidium guajava</i>	Daun
Mangga	<i>Garcinia mangostana</i>	Cangkang biji
Rumput teki	<i>Cyperus rotundus</i>	Akar
Kunyit	<i>Curcuma longa</i>	rimpang

Berbagai temuan teknologi pengendalian layu bakteri tersebut di atas yang paling mudah diadopsi petani kacang tanah adalah penanaman varietas tahan penyakit, penggunaan benih sehat, dan pengelolaan lahan agar tidak kondusif bagi perkembangan

penyakit. Pada umumnya dalam penerapan suatu teknologi, selain mempertimbangkan faktor efektif dan efisien juga dipertimbangkan faktor bioekologi patogen sehingga teknologi yang dipilih tersebut layak dan mendukung keberhasilan pengendalian penyakit. Priou *et al.* (2011) menyatakan bahwa dalam kasus layu bakteri pada kentang, penetapan teknologi pengendalian yang layak diterapkan dapat dilakukan melalui pendekatan nilai skor yang menyatakan status suatu teknologi. Lebih lanjut dinyatakan bahwa skor *R. solanacearum* ras 1 berbeda dengan skor untuk ras 3. Komponen teknologi dengan nilai skor rendah (skor = 1) diartikan sebagai teknologi yang belum berkembang dan tidak layak diterapkan, sedangkan skor 7 menunjukkan teknologi prioritas dan harus diterapkan (Tabel 10).

Tabel 10. Komponen teknologi pengendalian penyakit layu *R. solanacearum*

No.	Komponen teknologi	Nilai skor		Keterangan
		Ras1	Ras 3	
1.	Benih sehat	7	7	7 = teknologi prioritas
2.	Ketahanan varietas	2	4	1 = belum berkembang
3.	Tanah bebas bakteri	7	7	
4.	Lahan supresif	2	2	
5.	Rotasi dengan bukan inang	3	5	
6.	Penyiangan gulma	2	2	
7.	Melenyapkan residu setelah panen	3	3	
8.	Roguing (tanaman layu & perintis)	3	4	
9.	Cegah kontaminasi pada peralatan	1	2	
10.	Solarisasi setelah olah tanah	3	1	

Sumber: Priou *et al.* (2011).

Uraian tersebut di atas mengindikasikan bahwa aneka komponen teknologi pengendalian tersebut potensial diterapkan secara tunggal, namun penerapannya secara terpadu akan lebih baik dalam menekan layu bakteri.

## METODE DIAGNOSIS PENYAKIT

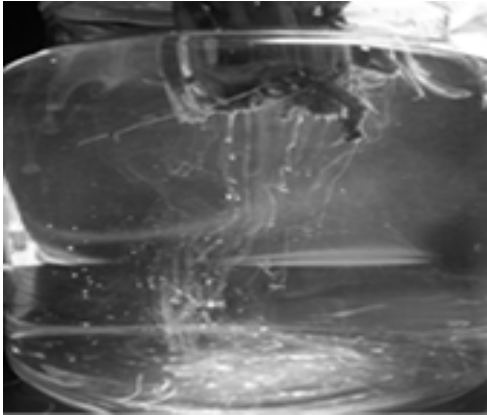
Penyakit layu bakteri dapat dideteksi secara cepat di lapangan, dan bakteri dapat dibiakkan dalam media buatan/dikulturkan menggunakan bahan dan peralatan sederhana dengan metode konvensional.

### Deteksi Konvensional

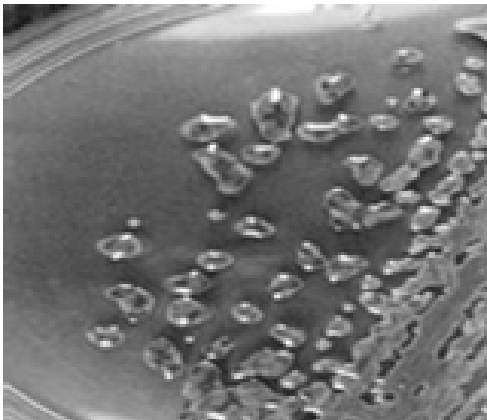
Bakteri keberadaannya dalam jaringan tanaman sakit dapat dideteksi secara cepat dengan cara mengamati lendir bakteri yang dapat diekstrak dari tanaman sakit. Kacang tanah bergejala layu lebih dahulu dicabut, dicuci bersih dan dibuat sedikit irisan di bagian pangkal batangnya. Bagian batang yang telah teriris selanjutnya direndam dalam air steril dalam gelas atau tabung reaksi selama beberapa menit. Bakteri layu bersifat larut dalam air sehingga dalam waktu beberapa menit massa bakteri akan merembes keluar dari permukaan irisan dan nampak mirip kabut putih. Cara tersebut sangat sederhana, praktis dan mudah dilakukan di lapangan. Massa bakteri berasal dari kacang tanah tersebut biasanya dikulturkan pada media spesifik TZCA (Tetrazolium Chloride Agar) untuk keperluan analisis lebih lanjut (Prasada Rao *et al.* 2000, Anitha *et al.* 2004). Dengan menggunakan media tersebut isolat *R. solanacearum* patogenik dan non-patogenik, dapat dengan



mudah dibedakan secara visual berdasarkan warna koloninya. Isolat non-patogenik akan berwarna merah menyala sedangkan koloni bakteri patogenik berwarna merah muda dengan tepi koloni berwarna putih mengkilat.



A. Massa bakteri larut dalam air



B. Koloni bakteri pada media TZCA

Gambar 5. Deteksi cepat melalui perendaman dalam air jernih (A), dan koloni isolat *R. solanacearum* pada media agar-agar (B).

- Pangkal batang kacang tanah sakit dipotong, lalu sebagian ujungnya direndam dalam air jernih dan diupayakan posisi batang tetap tegak.
- Setelah 5–10 menit akan nampak massa bakteri yang keluar dari permukaan irisan, bentuk rembesannya memanjang seperti benang berwarna putih susu.
- Diagnosis cepat sangat berguna untuk membedakan antara layu yang disebabkan bakteri, dengan layu akibat serangan OPT lainnya misalnya oleh jamur ataupun kerusakkan mekanis oleh hama.
- Koloni *R. solanacearum* isolat virulen pada media PDA+TZC (Potato Dextrose Agar + Tetrazolium Chloride) memiliki karakter koloni kecil, berwarna merah muda

### Reaksi Ensimatis

Metode ensimatis yang sering digunakan untuk deteksi bakteri dalam biji adalah dengan analisis NCM-ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay on nitrocellulose membrane*). Sedangkan deteksi bakteri dalam contoh tanah digunakan analisis DAS ELISA (*double-antibody sandwich ELISA*). Peralatan untuk kedua metode tersebut telah tersedia dan diperdagangkan luas di seluruh dunia.

### Reaksi Polymerase Berantai

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) atau reaksi polymerase berantai merupakan cara deteksi berbasis molekuler berdasarkan profil asam deoksiribo nukleat (DNA) bakteri. Teknik ini mampu mendeteksi isolat patogen termasuk bakteri secara cepat dan akurat (Firrao dan Locci 1994). Reaksi PCR membutuhkan primer protein spesifik dan sepe-

rangkaian mesin yang berperan untuk mengamplifikasi atau penggandaan fragmen DNA dari sejumlah kecil sampel atau preparat. Untuk deteksi *R. solanacearum* biasanya digunakan primer oligonukleotida yang bersifat spesifik spesies dari sekuen gen 16S rRNA bakteri tersebut (Seal *et al.* 1993). Hasil penelitian Suryadi *et al.* (2000) menunjukkan bahwa pengujian dengan primer DNA (Oli/Y2) yang bersifat spesifik spesies *R. solanacearum*, bermanfaat untuk deteksi bakteri yang terkandung dalam beberapa jenis sampel seperti preparat murni DNA, suspensi biakan murni bakteri, maupun dari ekstrak jaringan kacang tanah terserang layu. Keuntungan pada metode PCR adalah merupakan metode cepat, memiliki akurasi tinggi, dan sesuai untuk deteksi infeksi laten dalam biji dan sampel tanah sehingga dapat dimanfaatkan oleh petugas karantina ataupun sertifikasi benih. Dibandingkan dengan teknik konvensional, teknik reaksi polimerase berantai hanya memerlukan waktu sekitar 5 jam mulai tahap persiapan sampel hingga pengujian dengan mesin PCR, oleh karena itu metode molekuler ini sangat efektif untuk sampel dalam jumlah yang banyak.

## PENUTUP

Layu *R. solanacearum* merupakan penyakit yang mendunia, penyebarannya meliputi seluruh dunia baik wilayah tropis maupun sub tropis dan menjadi kendala serius di negara produsen kacang tanah dunia. Kerugian hasil kacang tanah akibat penyakit layu bervariasi antara 10–30%, bahkan pada varietas rentan yang terserang parah kerugiannya mencapai 60%. Bakteri layu memiliki beragam strain dari strain ganas hingga lemah, memiliki kisaran tanaman inang sangat luas, dan penyakit mudah menyebar melalui beberapa media seperti tanah, air, dan benih. Mengingat *R. solanacearum* merupakan patogen yang terdiri atas beragam strain dan sejauh ini belum dilakukan pengendalian secara serius oleh petani, maka beberapa komponen pengendalian alternatif seperti penggunaan varietas tahan, pemilihan lahan bebas penyakit (non infeksi), pergiliran tanaman dengan jenis bukan inang, penggunaan benih sehat, pengendalian hayati, pestisida nabati potensial sebagai bakterisida, dan pengendalian kimiawi dengan antibiotik sangat potensial diterapkan di lapangan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adhi EM, Supriadi, D Febriyanti, dan N Karyani. 1998. Patogenisitas tiga isolat *Ralstonia solanacearum* pada tiga tipe kencur. Prosiding seminar nasional IV PFI komisariat Jateng dan DIY, Surakarta. hlm. 421–425.
- Adhikari, T.B. and R.C. Basnyat. 1998. Effect of crop rotation and cultivar resistance on bacterial wilt of tomato in Nepal. *Can. J. Plant Pathol.* 20:283–287.
- Agarwal, V.K. and James, B. Sinclair. 1997. *Principles of Seed Pathology.* (2nd ed.) Lewis Publ. 539 pp.
- Anitha, K., S.K. Chakrabarty, A.G. Girish, R.D.V.J. Prasada Rao, and K.S. Varaprasad. 2004. Detection of bacterial wilt infection in imported groundnut germplasm. *Indian J. of Plant Protection* 32:147–148.
- Anitha, K., G.A. Gunjotikar, S.K. Chakrabarty, S.D. Singh, B. Sarath Babu, R.D.V.J. Prasada Rao and K.S. Varaprasad. 2003. Interception of bacterial wilt, *Burkholderia solanacearum* in groundnut germplasm imported from Australia. *J. of Oilseeds Res.* 20:101–104.
- Anwar, A. 2000. Sertifikasi Benih Tanaman Hasil Kultur Jaringan dan Rekayasa Genetik. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (IPB). Bogor.

- Arwiyanto, T. dan I. Hartana. 2001. Percobaan lapangan pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau (*Ralstonia solanacearum*). *Mediagama* 3:7–14.
- Asman A, MA Esther, dan D Sitepu. 1998. Penyakit layu, budok, dan penyakit lainnya serta strategi pengendaliannya. Monograf Nilam. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor. Hlm. 84–88.
- Balai Besar Uji Standar Karantina Pertanian. 2008. Layanan pengujian. Jakarta. [www.bbuskp.web.id/index.php?link=kt3](http://www.bbuskp.web.id/index.php?link=kt3) (diakses 22 Maret 2012).
- Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. 2008. Deskripsi varietas unggul kacang-kacangan dan umbi-umbian. Balitkabi, Malang. 171 hlm.
- Boshou, L. 1999. Groundnut Bacterial Wilt Working Group (GBWWG). Oil Crops Res. Institute (OCRI), China. News Sheet. No. 2. 11pp.
- Denny, E.P. and A.C. Hayward. 2001. *Ralstonia solanacearum*. In: Schaad NW, JB Jones, and W Chun (eds.) 3<sup>rd</sup> Eds. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. APS Press, St. Paul, Minnesota. pp:151–173.
- Denny, T. 2000. *Ralstonia solanacearum* –a plant pathogen in touch with its host. *Trends Microbiology* 11:486–489.
- Denny, T.P. 2006. Plant pathogenic *Ralstonia* species. In: Gnanamanickam SS. (ed.). Plant-associated bacteria. Springer Publ. The Netherlands. p:573–644.
- Doan, T.T., and T.H. Nguyen. 2006. Status of research on biological control of tomato and groundnut bacterial wilt in Vietnam. In: Zeller W, and C Ullrich (eds.). Proc. of First Internat. Symp. on Biological Control of Bacterial Plant Diseases. Germany, 2005. p:105–111.
- Elphinstone, J.G. 2005. The current bacterial wilt situation: a global overview. In: Allen C, P. Prior, and A.C. Hayward. (eds.). Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. St. Paul Minnesota. APS Press. 9pp.
- EPPO. 2004. EPPO standards PM 7/21. Diagnostic protocols for regulated pests: *Ralstonia solanacearum*. EPPO (European Plant Protection Organization) Bulletin 34:173–178.
- EPPO/CABI. 2006. Distribution maps of plant diseases: *Ralstonia solanacearum* (2003–2006). <http://www.cabi.org/DMPD>.
- Firrao, G. and R. Locci. 1994. Identification of *Clavibacter michiganensis* subs. *epedonicus* using the PCR. *Canadian J. Microbiology* 40:148–151.
- Guenther, E. 1990. Minyak Atsiri. Jilid IVB (Penerjemah: S. Ketaren). Universitas Indonesia. Jakarta. Hal: 480 – 494.
- Guo, J.H., H.Y. Qi, Y.H. Guo, H.L. Ge, L.Y. Gong, L.X. Zhang, and P.H. Sun. 2004. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control*, 29:66–72.
- Hayward, A.C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *P. solanacearum*. *Ann. Rev. Phytopath.* 29:67–87.
- Hayward, A.C. 1995. Phenotypic methods for the differentiation of *Pseudomonas solanacearum*: Biovars and supplementary observations. In: V.K. Mehan and McDonald (eds.). Techniques for diagnosis of *P. solanacearum* and for resistance screening against groundnut bacterial wilt. ICRISAT Tech. Manual No. 1:27–35.
- Hayward, A.C. 2000. *Ralstonia solanacearum*. In: Lederberg, J. (Ed.). *Encyclopedia of Microbiology*. (2<sup>nd</sup> ed.), Acad. Press. Pp:32–42.
- Hidayah, N., dan Djajadi. 2009. Sifat-sifat tanah yang mempengaruhi perkembangan patogen tular tanah pada tanaman tembakau. *Perspektif*. 8(2):74–83.
- Horita, M., and K. Tsuchiya. 2001. Genetic diversity of Japanese strains of *Ralstonia Solanacearum*. *Phytopath.* 91:399–407.
- Huang, Q., and C. Allen. 2000. Polygalacturonases are required for rapid colonization and full virulence of *Ralstonia solanacearum* on tomato plants. *Physiology Molecular Plant Pathology*. 57:77–83.

- Kelman, A., G.L. Hartman, and A.C. Hayward. 1994. Introduction. In: A.C. Hayward and G.L. Hartman (eds.). Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas Solanacearum*. CAB International, United Kingdom. p:1–7.
- Lagiman, S. Sastrosumarjo, W.E.K. Yudiwanti, dan M. Machmud. 2000. Kajian genetic ketahanan layu bakteri pada kacang tanah zuriat dari persilangan varietas Kelinci dan Gajah. *Agrivet* 4(2):94–102.
- Lemaga, B., R. Kakuhezire, B. Kassa, P.T. Ewell, and S. Priou. 2004. Integrated control of potato bacterial wilt in Eastern Africa: The experience of African highlands initiative. In: Allen, C., P. Prior, and A.C. Hayward. (eds.). Rate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 as affected by conditions and soil treatments in temperate climate zones. The Am. Phytopath. Soc. Minnesota, USA. Pp.145–157.
- Lemessa, F., and W. Zeller. 2007. Screening rhizobacteria for biological control of *Ralstonia solanacearum* in Ethiopia. *Biological Control* 42:336–344.
- Lin, Y.W. 1990. A review of bacterial wilt on groundnut in Guangdong Province, Peoples Republic of China. In: KJ Middleton. and AC Hayward (Eds.). Bacterial wilt of groundnut. ACIAR Proc. No.31:48–51.
- Lopez, M.M., and E.G. Biosca. 2004. Potato bacterial wilt management: new prospects for an old problem. In: Allen C, Prior P, and Hayward AC (eds.). Bacterial wilt disease and the *Ralstonia* species complex. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. pp.205–224.
- Machmud, M. 1993. Present status of groundnut bacterial wilt research in Indonesia. In: Groundnut Bacterial Wilt. Proc. of the 2nd Working Group Meeting. ICRISAT, India. p:15–25.
- Machmud, M. 1991. Genetic and cultural control of peanut bacterial wilt *dalam* G.C. Wright and K.J. Middleton (Ed.). Peanut Improvement A case study in Indonesia. ACIAR Proc. No.40:19–25.
- Mehan, V.K., and D. McDonald. 1994. Groundnut bacterial wilt in Asia. Proceedings of the third working group meeting in Wuhan China. ICRISAT India. 153pp.
- Mulya, K., Supriyadi, E.M. Adhi, S. Rahayuningsih, dan N. Karyani. 2000. Potensi bakteri antagonis dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri jahe. *J. Penelitian Tanaman Industri* 6(2):37–43.
- Nasrun, S. Christanti, T. Arwiyanto, dan I. Mariska. 2005. Pengendalian penyakit layu bakteri nilam menggunakan pseudomonad fluoresen. *J. Penelitian Tanaman Industri* 11(1):19–24.
- Nasrun, S. Christanti, T. Arwiyanto, dan I. Mariska. 2007. Karakteristik fisiologis *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri nilam. *Jurnal Litri*. 13(2):43–48.
- Nugrahaeni, N, M. Rahayu, dan J. Purnomo. 2002. Penyakit layu bakteri *Ralstonia Solanacearum* pada kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dan strategi pengendaliannya. hlm. 154–159. *Dalam*: R. Mudjisihono, M. Faturachim, Mashudi, NK. Wardhani, A. Musofi, AM. Sudihardjo, G. Supangkat, dan W. Sudana (Penyunting). Pros. Seminar Nasional Inovasi Teknologi dalam Mendukung Agribisnis. BPTP Yogyakarta-Fak Pertanian Univ. Muhammadiyah Yogyakarta.
- Nugrahaeni, N. 2011. Pemuliaan kacang tanah untuk ketahanan terhadap layu bakteri *Ralstonia* di Indonesia. *Bul. Palawija*. No. 21:1–12.
- Parrot, N. and F. Kalibwani. 2004. Organic agriculture in the continents, Africa. In: Willer H and Yussefi M. (eds.) The world of organic agriculture statistics and emerging trends. p:55–68.
- Pradhanang, P.M., M.T. Momol, S.M. Olson, and J.B. Jones. 2005. Management of bacterial wilt in tomato with essential oils and systemic acquired resistance inducers. In: C Allen, P Priou, and AC Hayward (eds.) Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. APS Press, Minnesota. USA. p:113–138.
- Prasada Rao, R.D.V.J., G.A. Gunjotikar, S.K. Chakrabarty, K.S. Varaprasad, S.D. Singh and P.J. Bramel-Cox. 2000. Detection of *Ralstonia solanacearum* in seeds of wild *Arachis spp.*

- imported from Brazil. *Indian J. of Plant Protection* 28:51–56.
- Priou, S., P. Aley, E. Chujoy, B. Lemaga, and E.R. French. 2011. Integrated control of bacterial wilt of potato. [www.fao.org/sd/erp/toolkit/BOOKS/integrated\\_control\\_of\\_bacterial\\_wilt](http://www.fao.org/sd/erp/toolkit/BOOKS/integrated_control_of_bacterial_wilt). Diakses 19 Januari 2011. 30p.
- Rahaju, M. 2004. Efektivitas beberapa mikroorganisme antagonis terhadap penyakit tular tanah pada kacang tanah. Laporan Teknis Hasil Penelitian Balitkabi. Malang. 15 hlm.
- Rahayu, M. 2012. Penyakit layu *Ralstonia solanacearum* pada kacang tanah dan strategi pengendalian ramah lingkungan. *Bul. Palawija*. 24:49–98.
- Rais, S.A., T.S. Silitonga, S.G. Budiarti, N. Zuraida, dan M. Sudjadi. 2001. Evaluasi ketahanan plasma nutfah tanaman pangan terhadap cekaman beberapa faktor biotic (hama dan penyakit). Prosiding seminar hasil penelitian rintisan dan bioteknologi tanaman. Hlm. 163–174.
- Saile, E., J.A. McGarvey, M.A. Schell, and T.P. Denny. 1997. Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum*. *Phytopathology*. 87:1264–1271.
- Schonfeld, J., A. Gelsomino, L.S. van Overbeek, A. Gorissen, K. Smalla, and van J.D. Elsas. 2003. Effects of compost addition and simulated solarisation on the fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. *FMES Microbiological Ecology* 43:63–74.
- Seal, S.E., L.A. Jackson, and M.J. Daniels. 1993. Development of molecular diagnostic techniques for detection of *Pseudomonas solanacearum* and identification of subgroups within this species. *Asian Centre for International Agricultural Res. (ACIAR) Proc.* 45:97–105.
- Semangun, H. 1996. Pengantar ilmu penyakit tumbuhan. Gadjah Mada Univ. Press. Yogyakarta, 754 hlm.
- Shekawat, G.S., S.K. Chakrabarty, V. Kishore, V. Sunaina, and A.V. Gadewar. 1993. Possibilities of biological management of potato bacterial wilt with strains of *Bacillus* sp., *B. subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* and *Actinomycetes*. In: Hartman GL and AC Hayward (eds.). *Bacterial wilt*. ACIAR Proc. No. 45:327–330.
- Supriadi, dan E. Hadipoentyanti. 2000. Manfaat *Ocimum* spp. dan kendala penyakit layu bakteri. Prosiding forum komunikasi ilmiah pemanfaatan pestisida nabati. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor. Hlm. 432–439.
- Supriadi, K. Mulya, and D. Sitepu. 2001. Bacterial wilt disease of woody trees caused by *Ralstonia solanacearum*: A review. *J. Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 20(3):106–111.
- Supriadi, K. Mulya, and D. Sitepu. 2000. Strategy for controlling wilt disease of ginger caused by *Pseudomonas solanacearum*. *J. Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 19(3):106–111.
- Supriadi. 1999. Karakterisasi kultur dan patogenisitas isolat *Pseudomonas celebensis* penyebab penyakit darah pada tanaman pisang. *J. Hortikultura* 9(2):129–136.
- Supriadi. 2011. Penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*): dampak, bioekologi, dan peranan teknologi pengendaliannya. *Pengembangan inovasi pertanian* 4(4):279–293.
- Suryadi, Y., dan M. Machmud. 2002. Keragaman genetik strain *Ralstonia solanacearum* berdasarkan karakterisasi menggunakan teknik berbasis asam nukleat. *Bul. AgriBio* 5(2):59–66.
- Suryadi, Y., dan Sri A. Rais. 2009. Respon beberapa genotipe kacang tanah terhadap penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) di rumah kaca. *Bul. Plasma Nutfah* 15(1):20–26.
- Suryadi, Y., M. Machmud dan M.A. Suhendar. 2000. Pendeteksian bakteri *Ralstonia solanacearum*, Yabuuchi *et al.* 1995 menggunakan teknik reaksi polimerase berantai dan perbedaan strain menggunakan teknik hibridisasi DNA. *Berita Biologi* 5(1):1–12.
- Tahat, M., and K. Sijam. 2010. *Ralstonia solanacearum*: The bacterial wilt causal agent. *Asian J. of Plant Sciences* 9(7):385–393.

- Tan, Y.J., N.X. Duan, B.S. Liao, Z.Y. Xu, L.Y. He, and G.R. Zheng. 1994. Status of groundnut bacterial wilt research in China. *In*: Mehan VK and D McDonald (eds.). Groundnut bacterial wilt in Asia. Proc. of the third working group meeting in Wuhan China. ICRISAT India. p: 107–113.
- Tans-Kersten J., H. Huang, and C. Allen. 2001. *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *J. Bacteriology*. 183(12):3597–3605.
- Trigalet, A., P. Frey, and D. Trigalet-Demery. 1998. Biological control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*: state of the art and understanding. *In*: Hayward AC and Hartman GL (eds.). Biological wilt: the disease and its causative agent *Pseudomonas solanacearum*. CAB Internat. UK p:225–233.
- van-Bruggen, A.H.C. and A.J. Termorshuizen. 2003. Integrated approaches to root disease management in organic farming systems. *Australian Plant Pathol* 32:141–156.
- Vasse, J., P. Frey, and A. Trigalet. 1995. Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. *Molecular Plant-Microbe Interaction*. 8:241–251.
- Vudhivanich, S. 2003. Potential of some herbal extracts for inhabiting growth of *Ralstonia solanacearum*, the causal agent of bacterial wilt of tomato. *Kamphaengsaen Acad J*. 1(2):70–76.
- Wuryandari, Y. 2004. Formulasi pil-benih tembakau dengan *Pseudomonas putida* strain Pf-20 untuk pengendalian biologi penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*). Disertasi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Tidak dipublikasi. 120 hlm.
- Yabuuchi, E., Y. Kosako, L. Yano, H. Hotta, and Y. Nishiuchi. 1995. Transfer of two *Bulkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni, and Doudoroff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. *Microbiol. Immunology*. 39:897–904.
- Yulianti, T., dan Supriadi. 2008. Biofumigan untuk pengendalian patogen tular tanah penyebab penyakit tanaman yang ramah lingkungan. *Perspektif* 7(1):20–34.
- Yuyun, T., and L. Boshou. 1990. General aspect of groundnut bacterial wilt in China. *dalam* K.J. Middleton and A.C. Hayward (Ed.). Bacterial wilt of groundnut. ACIAR 31:44–47.
- Zeng, D.F., Yj. Tan, and Z.Y. Xu. 1994. Survival of *Pseudomonas solanacearum* in peanut seeds. *Bacterial Wilt Newsletter* No. 10:8–9.
- Zhang, Y., J. Hua, and L. He. 1993. Effect of infected groundnut seeds on transmission of *Pseudomonas solanacearum*. *In* A.C. Hayward (Ed.). Bacterial Wilt Newsletter. ACIAR 9:9–10.