

## Formulasi Tepung Biofungisida Berbahan Aktif Ganda *Pseudomonas fluorescens* PG 01 dan *Bacillus Polymixa* BG 25

### (Biofungicide Powder Formulation of Double Activated Materials of *Pseudomonas fluorescens* PG 01 and *Bacillus Polymixa* BG 25)

Widodo\*, Suryo Wiyono

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan memperoleh bahan pembawa yang efektif untuk pembuatan formulasi tepung biofungisida berbahan aktif ganda *Pseudomonas fluorescens* PG 01 dan *Bacillus polymixa* BG 25, serta tambahan bahan aditif yang dapat meningkatkan keragaan hayati bakteri bahan aktif dalam daya antibiosisnya terhadap dua cendawan patogen uji (*Phytophthora capsici* dan *Colletotrichum acutatum*), dan meningkatkan pertumbuhan semai tanaman cabai. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bahan pembawa talk atau bentonit mampu mempertahankan jumlah populasi bakteri yang layak untuk diaplikasi sampai masa simpan 3 bulan. Bahan aditif yang mampu meningkatkan daya antibiosis dan tetap menjaga tingkat pertumbuhan tanaman serta tidak bersifat toksik adalah tepung cangkang rajungan 0,25% dan  $MnSO_4$  antara 1 dan 2%. Formulasi tepung dengan bahan pembawa talk dan aditif tepung cangkang rajungan 0,25% pada kadar air 20% masih dapat mempertahankan populasi kedua jenis bakteri sampai masa simpan 8 bulan serta masih layak pakai, yaitu  $10^6$  cfu/g formulasi.

Kata kunci: *bacillus polymixa*, biofungisida, formulasi tepung, *pseudomonas fluorescens*

#### ABSTRACT

The objective of this study is to determine effective carrier materials and additives which is able to keep the bioperformance, including antibiosis activity to *Phytophthora capsici* and *Colletotrichum acutatum* and plant growth promoting effect, of two antagonistic bacteria *Pseudomonas fluorescens* PG 01 and *Bacillus polymixa* BG 25 in biofungicide powder formulations. Talc and bentonite formulations were effective after 3 months of storage, while tapioca were only effective to *B. polymixa* up to 3 months of storage. Additive materials that can enhance the antibiosis activity of the bacteria, keeping up the growth and no toxicity effect to chili seedlings were crab shell powder 0.25% and  $MnSO_4$  1 to 2%. After eight months storage with 20% moisture content, the bacteria population survived in powder formulation developed in this study was still suitable for seed treatment and/or after transplanting through soil drenching with water. In this period of storage, population of the two bacteria was  $10^6$  cfu/g formulation.

Keywords: biofungicide, *B. polymixa*, *P. fluorescens*, powder formulation

#### PENDAHULUAN

Penyakit tanaman merupakan salah faktor pembatas yang sering dihadapi oleh penanam sehingga produktivitas tanaman tidak tercapai secara maksimum. Kenyataan saat ini, petani lebih mengandalkan pestisida sintetik dalam menangani masalah tersebut, karena mudah untuk memperolehnya dan mengaplikasikannya. Namun, penggunaan pestisida sintetik bukan satu-satunya pilihan dalam menangani masalah, selain karena beberapa dampak negatif yang mungkin ditimbulkan juga ada beberapa penyakit yang tidak dapat diatasi hanya dengan pestisida, seperti penyakit tular tanah dan yang bersifat sistemik. Bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman (*plant growth promoting rhizobacteria*) telah mendapat perhatian beberapa dasawarsa terakhir sebagai pilihan dalam mengendalikan penyakit tanaman yang efektif dan lebih ramah lingkungan. Bakteri tersebut ke depan dapat memiliki prospek

yang baik untuk mengatasi penyakit tanaman, karena ada beberapa mekanisme yang dimiliki, selain produksi antibiotik yang langsung menekan patogen, juga dapat menghasilkan fitohormon dan menginduksi ketahanan tanaman (Chen *et al.* 2000; Thakuria *et al.* 2004; Woiatke *et al.* 2004).

Bakteri pemacu pertumbuhan koleksi Departemen Proteksi Tanaman-IPB, *Pseudomonas fluorescens* PG 01 dan *Bacillus polymixa* BG 25 merupakan agen antagonis yang sudah diuji secara intensif dan terbukti efektif untuk penyakit antraknosa pada cabai, penyakit blas pada padi gogo baik di rumah kaca maupun di lapangan. Uji lapangan *PGPR* sudah dilakukan di Bandung (Widodo *et al.* 2005), Brebes (Widodo *et al.* 2006), Bogor (Amalia 2007; Yulianto 2007), Tegal (Wiyono *et al.* 2007), dan Magelang (komunikasi pribadi dengan petani setempat). Meskipun sudah terbukti efektif dalam skala lapangan, belum ada formulasi yang tepat sehingga penggunaannya masih terbatas. Pada umumnya, penggunaan bakteri tersebut oleh peneliti adalah dalam bentuk cair berupa suspensi sel bakteri, akan tetapi cara tersebut akan menemui kendala dalam transportasi, penyimpanan, dan pengemasannya jika akan digunakan dalam skala

Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680.

\* Penulis korespondensi: E-mail: widodo@ipb.ac.id

luas. Oleh karena hal-hal tersebut maka penelitian formulasi tepung untuk bakteri yang telah teruji keefektifan ini dilakukan. Beberapa peneliti lain juga sudah mencoba membuat formula dengan berbagai pembawa bakteri serupa (Vidyasekaran *et al.* 1997; Chiou & Wu 2003).

## METODE PENELITIAN

### Penapisan Bahan Pembawa dalam Formulasi Tepung

Bahan yang diuji adalah bentonit, kaolin, talk, dan tepung tapioka. Bakteri dengan bahan pembawa dicampur dengan modifikasi teknik Vidhyasekaran *et al.* (1997). Semua bahan dicampur dengan karboksimetil selulosa (CMC) sehingga diperoleh konsentrasi CMC 1% (w/w), kemudian disterilkan dengan autoklaf. *P. fluorescens* dan *B. polymixa* dibiakkan dalam media cair berbasis pupuk phonska dan sukrosa pada 120 rpm dan suhu ruang (Wiyono *et al.* 2007). Sebanyak 200 mL *P. fluorescens* dan 200 mL *B. polymixa*, semua dengan kepadatan  $10^9$  cfu/mL dicampur dengan 1 kg bahan dan diaduk merata dengan menggunakan blender yang disterilkan. Untuk keperluan pengujian daya simpan dan antagonisme *in vitro* digunakan mutan *P. fluorescens* PG 01 resisten streptomisin 150 ppm dan *B. polymixa* resisten rifampicin 100 ppm yang mirip dengan tipe liarnya. Untuk keperluan uji *bioperformance* digunakan tipe liar dari kedua bakteri tersebut. Setelah pencampuran, tepung yang mengandung bakteri tersebut dikemas dalam plastik tahan panas dan disimpan pada suhu ruang.

Ketahanan hidup bakteri PGPR dalam setiap bahan ditentukan setiap 30 hari hingga 3 bulan dengan teknik pengenceran dan dilanjutkan penumbuhan di cawan dengan media selektif. Bahan-bahan yang mengandung bakteri tersebut diencerkan dari  $10^{-2}$  hingga  $10^{-8}$  dan ditumbuhkan pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA) yang mengandung 150 ppm streptomycin untuk *P. fluorescens* PG 01 dan 100 ppm rifampicin untuk *B. polymixa* BG 25, lalu diinkubasi selama 48 jam, kemudian dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

### Penapisan Bahan Aditif terhadap Daya Antibiosis Bakteri

Bahan aditif diujikan kemampuan antibiosis bakterinya secara tunggal dengan metode biakan ganda. Antibiosis *P. fluorescens* PG 01 dan *B. polymixa* BG 25 masing-masing diuji antibiosisnya terhadap *P. capsici* dan terhadap *C. acutatum* pada medium *potato dextrose agar* (PDA) yang diberi bahan aditif uji dengan konsentrasi akhir 2, 1, 0,5, dan 0,25%. Sebagai pembandingan, antibiosis dilakukan pada media PDA tanpa diberi bahan aditif. Setiap isolat bakteri yang akan diuji digoreskan di bagian tengah cawan Petri yang berisi medium masing-masing, kemudian potongan biakan setiap cendawan patogen uji (*P. capsici* dan *C. acutatum*) dengan diameter 5 mm diletakkan pada kedua goresan bakteri dengan

jarak 2 cm. Selanjutnya kemampuan antibiosis ditentukan dengan mengukur lebar zona hambatan (zona bening) yang muncul di antara goresan bakteri dan biakan cendawan uji.

### Penapisan Bahan Aditif yang Sesuai bagi PGPR terhadap Keragaan Persemaian Cabai

Bahan aditif yang diuji ialah  $MnSO_4$ ,  $ZnSO_4$ , kitin murni (Sigma), dan tepung cangkang rajungan (bahan mengandung kitin). Teknik uji didasari pada modifikasi metode Wiyono *et al.* (2008). Setiap bahan aditif dengan konsentrasi akhir 2, 1, 0,5, dan 0,25% ditambahkan dalam medium dasar (Phonska 3 g/L; sukrosa 10 g/L) berwujud cair. Campuran kedua jenis bakteri kemudian dibiakkan pada medium masing-masing, diinkubasikan pada suhu ruang dalam penggojok (*shaker*) dengan kecepatan 125 rpm selama 48 jam. Setelah masa inkubasi, suspensi bakteri dalam biakan diencerkan menjadi 10% (populasi bakteri sekitar  $10^7$  colony forming unit (cfu) /ml), dan benih cabai besar komersial yang telah dibilas dengan air steril sampai tiga kali direndam selama 16 jam, kemudian ditanam pada baki semai yang telah diisi dengan media tanam. Sebagai pembandingan, benih hanya direndam di dalam air dan suspensi kedua bakteri saja tanpa bahan aditif. Peubah yang diamati antara lain daya perkecambah setelah 12 HSS (hari setelah semai), bobot kecambah, dan diameter batang pada umur 30 HSS.

### Pengujian Daya Tahan Hidup Bakteri Uji Tipe Liar dalam Formulasi Tepung dengan Bahan Pembawa dan Aditif Terpilih

Berdasar keragaan hayati maupun daya tahan hidup yang terbaik dari percobaan sebelumnya dipilih bahan pembawa dan aditif yang paling sesuai, yaitu talk dan tepung cangkang rajungan konsentrasi 0,25%. Bakteri yang akan diuji ditumbuhkan pada media seperti pada percobaan sebelumnya (konsentrasi awal  $10^{11}$ /mL), kemudian dicampur dengan bahan pembawa dan aditif sehingga mencapai kadar air 20 dan 30%. Daya tahan hidup bakteri diuji pada umur simpan 1, 3, 4, 7, dan 8 bulan pada suhu ruang dengan metode pengenceran. Bakteri *P. fluorescens* ditumbuhkan pada media King's B, sedangkan *B. polymixa* ditumbuhkan pada media *tryptic soy agar* (TSA). Khusus untuk pengujian daya hidup bakteri *B. polymixa*, hasil pengenceran tertentu yang diinginkan dipanaskan pada suhu 80 °C selama 30 menit sebelum disebar pada media tumbuhnya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Bahan Pembawa

Secara umum pengamatan pada bulan ketiga setelah disimpan, populasi kedua bakteri yang diuji menurun dari populasi awalnya ketika baru terbentuk dalam formulasi. Penurunan ini berkisar antara 9,06 dan 100%, dan hanya satu bahan pembawa, yaitu bentonit terhadap *B. polymixa* yang menyebabkan

kenaikan 5,9% dari populasi awal. Pada bulan ketiga setelah disimpan, bahan pembawa kaolin tidak mampu mempertahankan jumlah populasi bakteri, sehingga bahan ini tidak layak untuk digunakan dalam formulasi tepung. Selain bahan pembawa kaolin, meskipun populasi bakteri terus menurun sampai bulan kedua, beberapa menaik kembali pada bulan ketiga sekalipun belum kembali ke populasi awal (Gambar 1 dan Tabel 1).

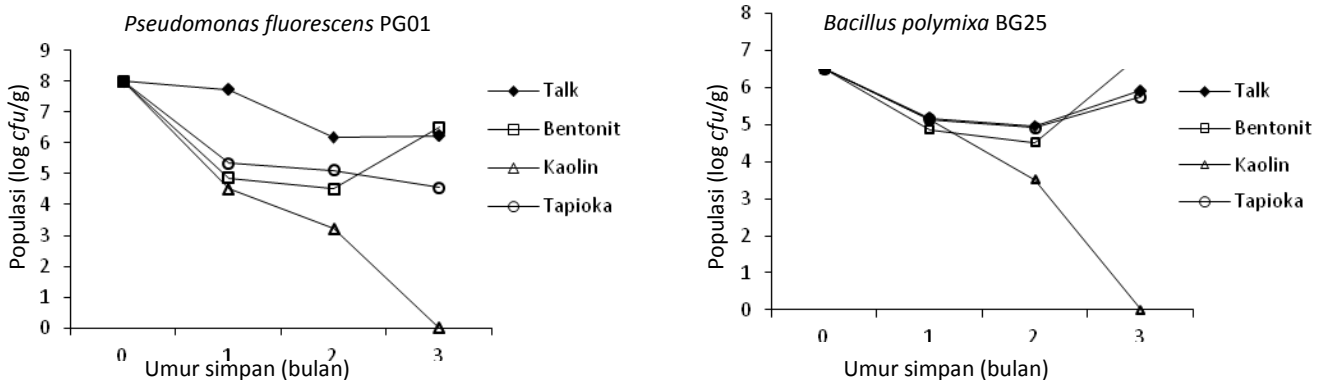
Peningkatan kembali populasi bakteri dengan bahan pembawa tertentu pada bulan ketiga, diduga karena masih ada nutrisi dari media cair untuk perbanyakkan, dan sel-sel bakteri yang sudah mati dapat menjadi sumber nutrisi bagi bakteri yang masih hidup. Sementara itu bahan pembawa tapioka, menunjukkan efek yang berbeda pada kedua bakteri tersebut pada umur simpan 3 bulan dari formulasi. Pada bahan pembawa tapioka usia simpan 3 bulan terjadi proses fermentasi dan dihasilkan senyawa alkohol. Senyawa ini diduga menyebabkan turunnya populasi *P. fluorescens*, tetapi justru meningkatkan kembali populasi *B. polymixa*. *B. polymixa* diduga masih mampu bertahan terhadap alkohol yang terbentuk, karena bakteri tersebut membentuk spora yang dapat digunakan untuk mempertahankan diri dari senyawa toksik di sekitarnya. Bakteri ini juga mampu meningkat kembali populasinya dalam tapioka dikarenakan bahan tersebut juga sebagai sumber karbon bagi perkembangannya. Meskipun demikian, tapioka tidak dapat dipertimbangkan sebagai bahan pembawa karena berpeluang terkontaminasi oleh mikroba lain dan fermentasi selain memengaruhi populasi bakteri yang tidak mampu membentuk spora juga akan menurunkan keragaan (*performance*) fisik karena timbulnya bau yang muncul dari proses fermentasi tersebut. Meskipun bahan pembawa talk dan bentonit memiliki prospek baik untuk formulasi

tepung kedua bakteri ini, tetapi masih perlu diuji daya simpannya dalam waktu yang lebih lama lagi, yaitu sekurang-kurangnya sampai 6 bulan agar layak jika digunakan dalam skala komersial. Sementara itu, tepung tapioka, meskipun masih mampu meningkatkan populasi salah satu bakteri (*B. polymixa*), ternyata tidak mampu mempertahankan populasi bakteri lainnya (*P. fluorescens*) akibat adanya proses fermentasi yang dapat menurunkan keragaan formulasi. Dengan demikian, bahan ini kalau pun dapat digunakan hanya sesuai jika digunakan dalam formulasi tepung biofungisida yang berbahan jenis-jenis bakteri berspora.

**Pengaruh Bahan Aditif pada Daya Antibiosis Bakteri**

Pengaruh bahan aditif pada daya antibiosis bakteri antagonis yang diujikan menunjukkan hasil yang beragam bergantung pada jenis bakteri dan patogen sasarannya. Daya peningkatan antibiosis terbaik *P. fluorescens* terhadap patogen *P. capsici* terjadi jika bahan aditif yang digunakan  $ZnSO_4$  2%, tetapi terjadi sebaliknya untuk bakteri *B. polymixa*. Bakteri *B. polymixa* tidak mampu tumbuh pada medium yang diberi tambahan bahan aditif  $ZnSO_4$  pada semua konsentrasi sehingga kehilangan kemampuan untuk menekan *P. capsici*. Penambahan bahan aditif tepung kulit rajungan dengan konsentrasi 0,25 dan 0,5% meningkatkan daya antibiosis *B. polymixa* terhadap *P. capsici*, tetapi terjadi sebaliknya untuk *P. fluorescens*. Di pihak lain, bahan aditif  $MnSO_4$  1 dan 2% mampu meningkatkan daya antibiosis kedua bakteri yang diuji terhadap *P. capsici* (Gambar 2).

Penambahan tepung kulit rajungan konsentrasi 0,25 sampai 2,0% masih tetap mampu mempertahankan daya antibiosis kedua bakteri tersebut,



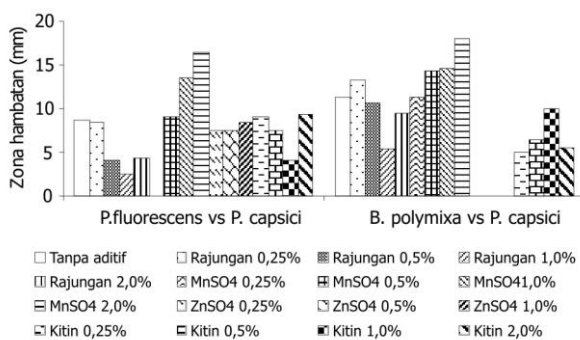
Gambar 1 Perkembangan populasi bakteri pada berbagai bahan pembawa.

Tabel 1 Perubahan populasi bakteri dengan berbagai bahan pembawa sampai bulan ketiga setelah penyimpanan

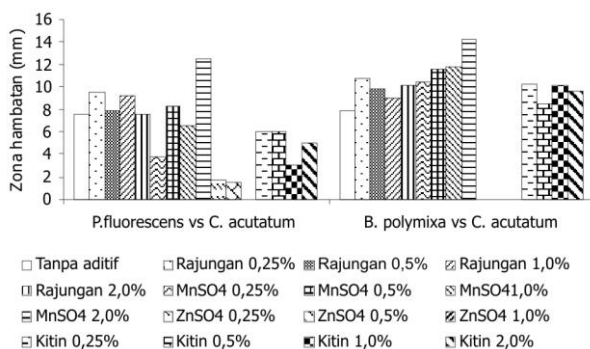
Pembawa	Populasi <i>P. fluorescens</i> pada bulan ke (log cfu/g)				Perubahan populasi (%) setelah 3 bulan		Populasi <i>B. polymixa</i> pada bulan ke (log cfu/g)				Perubahan populasi (%) setelah 3 bulan	
	0	1	2	3	Naik	turun	0	1	2	3	Naik	turun
Talk	8	7,7	6,2	6,2	-	21,96	6,5	5,2	4,9	5,9	-	9,06
Bentonit	8	4,9	4,5	6,5	-	18,77	6,5	4,9	4,5	6,9	5,90	-
Kaolin	8	4,5	3,2	0,0	-	100	6,5	5,1	3,5	0,0	-	100
Tapioka	8	5,3	5,1	4,5	-	43,20	6,5	5,1	4,9	5,7	-	11,57

bahkan meningkat untuk *B. polymixa* dalam menekan patogen *C. acutatum*. Bahan aditif  $MnSO_4$  pada konsentrasi 2% menunjukkan peningkatan antibiosis yang tertinggi untuk kedua bakteri yang diuji terhadap *C. acutatum*, tetapi  $MnSO_4$  pada konsentrasi yang lebih rendah (0,25, 0,5, dan 1,0%) dan kitin murni (0,25–2,0%) hanya mampu meningkatkan daya antibiosis *B. polymixa*. Kemampuan daya anti-biosis kedua bakteri tersebut terhadap *C. acutatum* sangat tertekan dengan adanya tambahan bahan aditif  $ZnSO_4$  pada semua konsentrasi yang dicoba (Gambar 3).

Pada penelitian sebelumnya, bahan aditif yang mengandung Mn atau Zn sangat sesuai untuk meningkatkan daya hambat bakteri *P. fluorescens* terhadap cendawan zoosporik, seperti *P. capsici* (Wiyono *et al.* 2008), tetapi belum diketahui kemampuan daya antibiosisnya terhadap kelompok cendawan lainnya. Dari penelitian ini terlihat bahan aditif Mn lebih sesuai untuk meningkatkan daya tekan terhadap cendawan patogen dari kelompok berbeda. Secara umum, tepung kulit rajungan dengan konsentrasi 0,25 dan 0,5% lebih sesuai untuk meningkatkan daya antibiosis *B. polymixa* terhadap kedua patogen uji, dibandingkan untuk *P. Fluore-secens* (Gambar 2 dan 3). Kitin murni dan kalsium telah diketahui meningkatkan keragaan hayati bakteri *Bacillus* dalam menekan perkembangan cendawan patogen (Manjula & Podile 2001; Schmidt *et al.* 2001; Chiou & Wu 2003). Kitin murni dan kalsium dapat diganti dengan bahan alami tepung kulit rajungan, sehingga dapat digunakan secara layak untuk kepentingan komersial,



Gambar 2 Daya antibiosis bakteri terhadap *P. capsici* dengan tambahan berbagai bahan aditif.



Gambar 3 Daya antibiosis bakteri terhadap *C. acutatum* dengan tambahan berbagai bahan aditif.

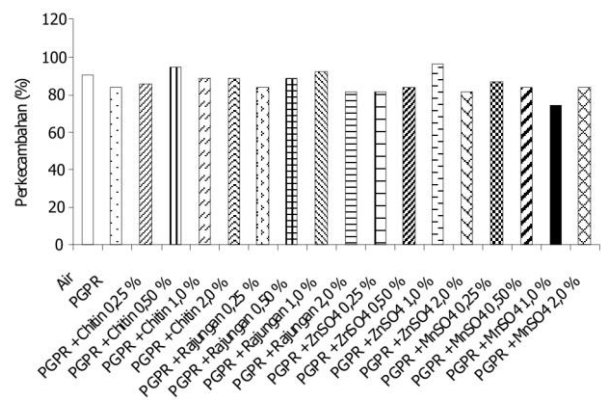
selain karena mudah dicari bahannya juga relatif murah.

**Pengaruh Bahan Aditif pada Keragaan Hayati Bakteri dalam Memicu Pertumbuhan Tanaman**

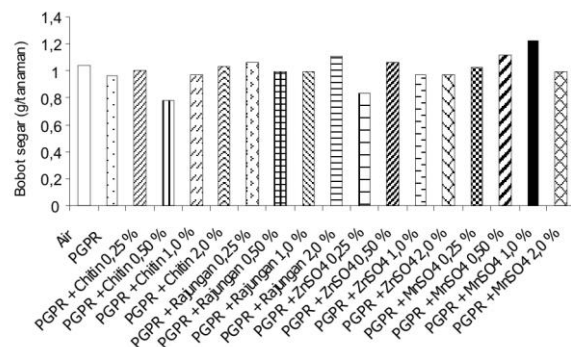
Penambahan bahan aditif secara umum tidak memberikan dampak yang nyata pada bakteri dalam memengaruhi daya kecambah benih cabai, tetapi kitin murni 0,5%, tepung kulit rajungan 1,0%, dan  $ZnSO_4$  1,0% menunjukkan efek yang lebih baik dibandingkan yang lainnya (Gambar 4). Hal ini menunjukkan juga bahwa bahan aditif tidak menyebabkan toksisitas terhadap tanaman, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan aditif yang baik. Sementara itu tepung kulit rajungan 2% dan  $MnSO_4$  1,0% mampu meningkatkan bobot segar bibit cabai ketika ditambahkan dalam campuran kedua bakteri yang diuji (Gambar 5). Diameter batang semai dapat ditingkatkan dengan menambahkan bahan aditif kitin murni 0,25%, atau tepung kulit rajungan 0,25 dan 2%, serta  $MnSO_4$  1% (Gambar 6).

**Daya Tahan Hidup Bakteri Uji Tipe Liar dalam Formulasi Tepung dengan Bahan Pembawa dan Aditif Terpilih**

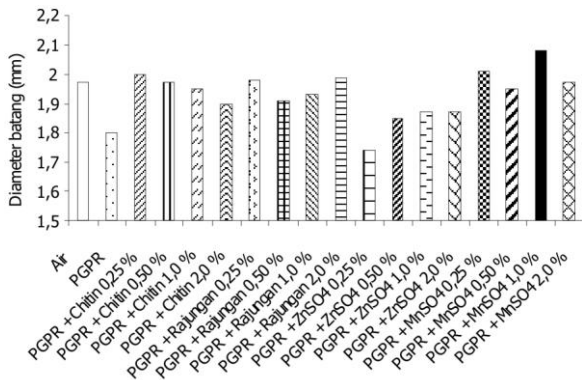
Pada umur simpan satu bulan, kedua jenis bakteri dalam formulasi tepung baik dengan kadar air 20 maupun 30% masih menunjukkan jumlah populasi



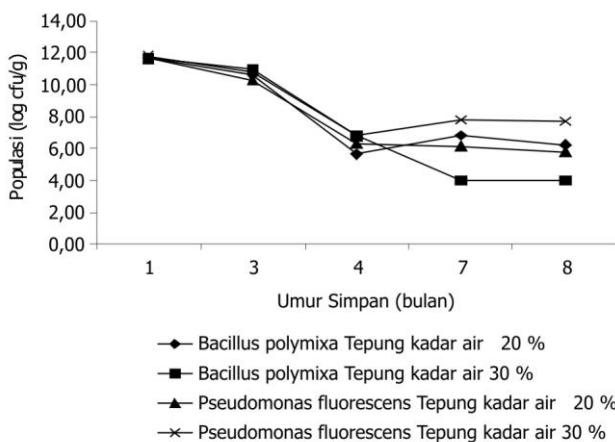
Gambar 4 Pengaruh penambahan berbagai bahan aditif dalam campuran bakteri pada daya kecambah benih cabai.



Gambar 5 Pengaruh penambahan berbagai bahan aditif dalam campuran bakteri terhadap bobot segar bibit cabai.



Gambar 6 Pengaruh penambahan berbagai bahan aditif dalam campuran bakteri terhadap diameter batang bibit cabai.



Gambar 7 Perkembangan populasi bakteri uji pada formulasi tepung pada dua taraf kadar air.

yang cukup tinggi seperti pada populasi awal. Populasi tersebut terus menurun pada pengamatan berikutnya, tetapi masih dalam batas toleransi layak pakai (sekitar  $10^6$  cfu/g), terutama pada kadar air 20%. Pada umur 8 bulan setelah simpan, populasi *P. fluorescens* pada formulasi tepung dengan kadar air 30% lebih tinggi dibandingkan dengan yang 20%, akan tetapi sebaliknya populasi *B. polymixa* pada kadar air tersebut lebih rendah dibandingkan dengan formulasi dengan kadar air 20%. Sementara pada formulasi tepung dengan kadar air 20%, populasi kedua bakteri tidak jauh berbeda dan masih layak pakai pada umur simpan tersebut (Gambar 7). Berhubung kedua bakteri ini merupakan pasangan yang terbaik dalam meningkatkan keragaan pertumbuhan tanaman, dibandingkan jika sendiri-sendiri (Sutariati 2006), maka formulasi tepung dengan kadar air 20% dapat dipilih untuk tujuan komersial dengan daya simpan yang cukup lama.

### KESIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh, bahan pembawa talk dan bentonit masih mampu mempertahankan populasi campuran dua bakteri *P. fluorescens* dan *B.*

*polymixa* sebagai biofungisida dalam waktu 3 bulan dengan formulasi tepung. Namun, talk lebih cenderung digunakan sebagai bahan pembawa mengingat kemudahannya dalam memperoleh bahan tersebut. Pengaruh bahan aditif pada daya antibiosis bakteri beragam terhadap kedua cendawan patogen uji, tetapi secara umum  $MnSO_4$  2% dan tepung kulit rajungan 0,25% dapat dipertimbangkan sebagai bahan aditif yang sesuai.

Secara umum bahan aditif tidak bersifat toksik terhadap tanaman yang diuji, tetapi karena bahan yang mengandung Zn dapat menekan pertumbuhan salah satu bakteri sebagai bahan aktif biofungisida, maka senyawa ini sebaiknya tidak digunakan. Sementara itu, bahan aditif yang mampu menjaga dan/atau meningkatkan keragaan bibit cabai, tetapi juga tidak mengurangi kemampuan antibiosis bakteri adalah tepung kulit rajungan 0,25% dan  $MnSO_4$  antara 1 dan 2%.

Formulasi tepung dengan bahan pembawa talk dan aditif tepung cangkang rajungan 0,25% pada kadar air 20% masih dapat mempertahankan populasi kedua jenis bakteri sampai masa simpan 8 bulan serta masih layak pakai.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih dan penghargaan kami sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah mendanai kegiatan melalui Program Hibah Strategis Nasional Tahun Anggaran 2009 sehingga penelitian dan tulisan ini dapat diselesaikan.

### DAFTAR PUSTAKA

Amalia R. 2007. Pengaruh perlakuan benih menggunakan rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman dan pemupukan P terhadap pengendalian penyakit antraknosa, serta pertumbuhan dan produksi cabai merah. [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

Burges HD, Jones KA. 1998. Trends in formulation of microorganisms and future research requirements. In: Burges HD (Ed.). *Formulation of Microbial Biopesticides, Beneficial Microorganisms, Nematodes and Seed Treatment*. Dordrecht (DE): Kluwer Academic Publication. Hlm. 311–332.

Chen C, Belanger RR, Benhamou N, Paulitz TC. 2000. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiol Mol Plant Pathol*. 56: 13–23.

Chiou AL, Wu WSJ. 2003. Formulation of *Bacillus amyloliquefaciens* B190 for control of lily grey mould (*Botrytis elliptica*). *J Phytopathol*. 151: 13–18.

- Handoko S. 2008. Pemanfaatan kompos bioaktif untuk meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan padi gogo terhadap penyakit blas di lapangan. [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Manjula K, Podile AR. 2001. Chitin-supplemented formulations improve biocontrol and plant growth promoting efficiency of *Bacillus subtilis* AF 1. *Can J Microbiol.* 47: 618–625.
- Santoso T, Prijono D, Wiyono S, Buchori D. 2005. Development, uses and application of biopesticides in Indonesia: current research and future challenge. Makalah pada International Conference on Biopesticides. Chiang–Mai, Thailand, 13–18 Feb 2005.
- Schmidt CS, Lorenz D, Wolf GA, Jager J. 2001. Biological control of the grapevine dieback fungus *Eutypa lata* II: Influence of formulation additives and transposon mutagenesis on the antagonistic activity of *Bacillus subtilis* and *Erwinia herbicola*. *J Phytopathol.* 149: 437–445.
- Sutariati GAK. 2006. Perlakuan benih dengan agens biokontrol untuk pengendalian penyakit antraknosa, peningkatan hasil dan mutu benih cabai [Disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Sutariati GAK, Widodo, Sudarsono, Ilyas S. 2005. Isolasi bakteri rizosfer dan karakterisasi kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan koloni patogen cendawan. *Agriplus* 15(3): 272–281.
- Sutariati GAK, Widodo, Sudarsono, Ilyas S. 2006. Karakter fisiologi dan keefektifan isolat rhizobacteria sebagai agen antagonis *Colletotrichum capsici* dan memacu pertumbuhan cabai merah. *Kultura.* 41: 28–34.
- Thakuria D, Talukdar NC, Goswami C, Hazarika S, Boro RC, Khan MR. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. *Curr Sci.* 86(7): 978–985.
- Vidhyasekaran P, Sethuraman K, Rajappan K, Vasumathi K. 1997. Powder formulations of *Pseudomonas fluorescens* to control pigeon pea Wilt. *Biol Contr.* 8: 166–171.
- Widodo, Wiyono S. 2009. Formulasi tepung biofungisida berbahan aktif ganda *Pseudomonas fluorescens* PG 01 dan *Bacillus polymixa* BG 25. Laporan Akhir Penelitian Hibah Kompetitif Sesuai Prioritas Nasional Batch II. Bogor (ID): Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Institut Pertanian Bogor.
- Widodo, Wiyono S, Santoso S, Pujiyanto, Istiaji B. 2005. Pengembangan teknologi PHT kentang dan kubis bersama masyarakat. Laporan Community Development Program B. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Widodo, Wiyono S, Widodo WD, Pujiyanto. 2006. Pengembangan PHT Bawang Merah dan Cabai Merah dengan Pelibatan Lembaga Lokal. Brebes (ID): Bappeda Brebes.
- Wiyono S, Widodo, Pujiyanto, Santoso S, Istiaji B, Khamidi T, Buchori D. 2007. Ecological agriculture in highland of Java Indonesia; preliminary step toward organic agriculture. Makalah pada International Conference of Organic Farming, FAO, Rome, 3–5 Mei 2007, hlm. 71–72.
- Wiyono S, Widodo, Santoso S, Pujiyanto. 2007. Produksi dan pemanfaatan biopestisida PGPR dan Se NPV untuk mendukung pertanian berkelanjutan di Kabupaten Tegal. Laporan Program Difusi dan Pemanfaatan Iptek. Jakarta (ID): Kementerian Riset dan Teknologi.
- Wiyono S, Schulz DF, Wolf GA. 2008. Improvement of the formulation and antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* B5 through selective additives in the pelleting process. *Biol Contr* 46: 348–357.
- Woitke M, Junge H, Schnitzler WH. 2004. *Bacillus subtilis* as growth promoter in hydroponically grown tomatoes under saline conditions. *Acta Hort* 659: 363–369
- Yulianto D. 2007. Pengaruh rhizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman terhadap penyakit antraknosa, produksi dan mutu benih cabai merah. [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.