

**PENGARUH PENAMBAHAN GLISEROL TERHADAP
VIABILITAS PSEUDOMONAD FLUORESEN YANG
DIFORMULA MENGGUNAKAN TALKUM**

SKRIPSI

Diajukan sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Sains



**Oleh:
YENI DAHLIA
NIM. 12693**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2013**

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

**Dinyatakan Lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Program Studi Biologi Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang**

Judul : Pengaruh Penambahan Gliserol terhadap Viabilitas
Pseudomonad fluoresen yang Diformula Menggunakan
Talkum
Nama : Yeni Dahlia
NIM : 12693
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 23 Januari 2013

Tim Penguji

| | Nama | Tanda Tangan |
|---------------|----------------------------------|---|
| 1. Ketua | : Dr. Linda Advinda, M. Kes. | 1.  |
| 2. Sekretaris | : Drs. Mades Fifendy, M.Biomed. | 2.  |
| 3. Anggota | : Dra. Des M., M.S. | 3.  |
| 4. Anggota | : Irdawati, S. Si., M. Si. | 4.  |
| 5. Anggota | : Dezi Handayani, S. Si., M. Si. | 5.  |

ABSTRAK

Yeni Dahlia : Pengaruh Penambahan Gliserol terhadap Viabilitas Pseudomonad fluoresen yang Diformula Menggunakan Talkum

Pseudomonad fluoresen merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang dapat mengkolonisasi daerah perakaran yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen hayati dalam pengendalian penyakit tanaman. Pseudomonad fluoresen mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman karena dapat menghasilkan berbagai fitohormon, enzim pelarut fosfor dan siderofor. Formulasi agen hayati Pseudomonad fluoresen dengan penambahan gliserol dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap viabilitas bakteri tersebut. Tujuannya supaya mampu disimpan dalam jangka waktu yang lama dan dapat diaplikasikan di lapangan.

Penelitian dilaksanakan dari bulan Oktober sampai bulan Desember 2012 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, FMIPA, UNP. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan pemberian gliserol sebagai penstabil dan talkum sebagai bahan pembawa pada Pseudomonad fluoresen. Rancangan penelitiannya adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan empat ulangan. Perlakuan tersebut adalah perlakuan A (kontrol, tanpa gliserol), perlakuan B (0,01 mL), perlakuan C (0,02 mL), perlakuan D (0,03 mL), perlakuan E (0,04 mL) dan perlakuan F (0,05 mL). Jumlah bakteri yang didapat dianalisis menggunakan ANOVA dan dilakukan uji lanjut DNMRT pada taraf 5 %.

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan terlihat bahwa pengaruh penambahan gliserol dengan bahan pembawa talkum terhadap viabilitas Pseudomonad fluoresen adalah cenderung stabil pada perlakuan F (0,05 mL). Berdasarkan analisis sidik ragam, pada pengamatan ke 28 hari setiap perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata.

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--------------------------------------|-----------|
| ABSTRAK | i |
| KATA PENGANTAR | ii |
| DAFTAR ISI | iv |
| DAFTAR LAMPIRAN | vi |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 4 |
| C. Tujuan Penelitian | 4 |
| D. Hipotesis | 4 |
| E. Kontribusi Penelitian | 5 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| 1. Pseudomonad fluoresen | 6 |
| 2. Talkum | 9 |
| 3. Gliserol | 10 |
| BAB III METODE PENELITIAN | |
| A. Jenis Penelitian | 12 |
| B. Waktu dan Tempat Penelitian | 12 |
| C. Alat dan Bahan | 12 |
| D. Rancangan Penelitian | 12 |
| E. Prosedur Penelitian | 13 |
| 1. Persiapan Penelitian | 13 |
| 2. Pelaksanaan Penelitian | 13 |
| 3. Pengamatan | 15 |

| | |
|------------------------------------|-----------|
| F. Teknik Analisis Data..... | 16 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| A. Hasil | 17 |
| B. Pembahasan | 18 |
| BAB V PENUTUP | |
| A. Kesimpulan | 28 |
| B. Saran | 28 |
| DAFTAR PUSTAKA | 29 |
| LAMPIRAN | 32 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|---------|
| 1. Analisis Statistik Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Viabilitas Pseudomonad fluoresen yang Diformula Menggunakan Talkum | 32 |
| 2. Skala1 McFarlands..... | 43 |
| 3. Dokumentasi Penelitian | 44 |

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pseudomonad fluoresen merupakan kelompok rhizobakteria yang dapat mengkolonisasi daerah perakaran yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agens hayati dalam pengendalian penyakit tanaman (Cook and Baker, 1983). Pseudomonad fluoresen merupakan agens hayati yang dilaporkan mampu meningkatkan pertumbuhan berbagai jenis tanaman karena dapat menghasilkan fitohormon (auksin, giberelin dan sitokinin), enzim pelarut fosfor dan juga siderofor. Sebagai agens hayati, Pseudomonad fluoresen memiliki kemampuan untuk menginduksi ketahanan tanaman, antaranya dapat menghasilkan zat yang berfungsi untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba (Habazar, 2001).

Agens hayati Pseudomonad fluoresen juga berperan dalam mempercepat pertumbuhan tanaman karena siderofor yang dihasilkan efisien mengikat unsur Fe pada zona akar. Hal ini menyebabkan Fe tidak tersedia bagi mikroorganisme rhizoplan lainnya termasuk mikroorganisme patogen tanaman. Siderofor larut dalam air dan cepat berdifusi sehingga mudah diserap oleh tanaman. Apabila senyawa ini terakumulasi pada akar tanaman, maka tanaman tersebut dapat mengabsorpsi Fe dengan mudah sehingga pertumbuhannya meningkat cepat dan akan tahan terhadap serangan penyakit (Sige, 1993).

Pemanfaatan *Pseudomonad fluoresen* sebagai agens hayati telah banyak dilaporkan. *Pseudomonad fluoresen* dapat menginduksi ketahanan sistemik tanaman ketimun terhadap busuk akar (root rot) oleh *Pythium aphanidermatum*. Introduksi akar tanaman zaitun dengan beberapa galur *Pseudomonad fluoresen* sangat berpengaruh dalam mengurangi insiden penyakit layu *Verticilium* (Blanco *et al.*, 2004). Paul dan Sarma (2006) mengemukakan tanaman lada hitam yang diintroduksi beberapa galur *Pseudomonad fluoresen* berpotensi menekan penyakit busuk akar yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici* di rumah kaca. Hasil penelitian Advinda (2009) menemukan beberapa isolat *Pseudomonad fluoresen* yaitu PfPj₁, PfPj₂, PfPj₃, PfPb₁, PfPb₂, PfPb₃ dan PfPm₁ yang dapat menekan perkembangan penyakit *Blood Disease Bacteria* (BDB) pada bibit pisang.

Perbanyakan *Pseudomonad fluoresen* secara massal masih menggunakan media agar padat dalam cawan petri yang diformulasi oleh pabrik dengan harga jual yang cukup mahal. Selain itu *Pseudomonad fluoresen* yang berada dalam cawan petri juga tidak memiliki masa simpan yang panjang. Dalam pengaplikasiannya ke lapangan juga sulit dilakukan karena harus menunggu perbanyakan terlebih dahulu dari labotarorium. Oleh karena itu harus dilakukan formulasi pada *Pseudomonad fluoresen* dengan bahan pembawa tertentu, memiliki masa simpan yang panjang dan mudah diaplikasikan di lapangan (Advinda, 2009).

Formula yang baik sebagai agen hayati adalah dapat meningkatkan masa simpan dan hemat biaya serta efektif sebagai pengendali penyakit tanaman (Nakkeeran *et al.*, 2005). Formula *Pseudomonad fluoresen* yang dihasilkan sangat

diharapkan dapat memberi kontribusi yang besar dalam pertanian karena dapat disimpan pada suhu ruang dan mudah diaplikasikan di lapangan. Formulasi agens hayati dapat dilakukan dengan menggunakan bahan pembawa yang bersifat organik ataupun anorganik. Bahan pembawa berguna untuk meningkatkan kelangsungan hidup bakteri dengan melindunginya dari kematian sel. Bahan pembawa organik yang digunakan untuk pengembangan formula dapat menggunakan gambut, rumput, lignit, alginat dan serbuk gergaji (Heijnen *et al.*, 1993), sedangkan bahan pembawa anorganik dapat digunakan talkum.

Dalam penelitiannya Nakkeeran (2005) menyatakan talkum merupakan mineral yang terdiri dari berbagai mineral dalam kombinasi dengan klorida dan karbonat. Dalam kimia talkum disebut magnesium silikat ($Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$). Talkum tersedia berbentuk bubuk dari industri dan cocok untuk berbagai aplikasi, memiliki ciri-ciri antara lain kelembaban yang sangat rendah dan mencegah pembentukan jembatan hidrat yang memungkinkan masa penyimpanan lebih lama.

Dalam penelitian Vidhyasekaran dan Muthamilan (1995) juga dilaporkan formula talkum dari *Pseudomonad fluoresen* isolat PfPj1 yang diintroduksi pada biji tanaman buncis, dapat meningkatkan daya kecambahnya. Sedangkan perlakuan penaburan di daerah perakaran dapat mengurangi penyakit layu *Fusarium* dan meningkatkan hasil di lapangan.

Formulasi *Pseudomonad fluoresen* dilakukan untuk dapat mempertahankan kemampuan hidup (viabilitas) dan dapat disimpan lama. Dalam penelitiannya Advinda (2009) menyatakan formulasi *Pseudomonad fluoresen*

isolat Pfpj1 dapat menggunakan tapioka yang diinkubasi pada suhu ruang. Dari hasil penelitian tersebut dilaporkan bahwa kepadatan populasi *Pseudomonad* fluoresen dalam masa penyimpanan mengalami penurunan. Oleh karena itu perlu dilakukan formulasi isolat Pfpj1 ini untuk menjaga kestabilannya dalam formula selama masa penyimpanan. Bahan penstabil yang digunakan yaitu gliserol. Menurut Ozaktan dan Bora (2004) dalam penelitiannya bahwa penambahan stabilizer berupa gliserol sebelum *Pantoea agglomerans galur Eh 24* diformula pada media talkum dapat mempertahankan kemampuan hidup selama 120 hari pada suhu 4° C.

Formulasi Pf dengan bahan pembawa yang bisa meningkatkan viabilitas Pf dan memiliki kestabilan dalam masa simpan yang lama perlu diteliti lebih lanjut. Oleh karena itu penulis telah melakukan penelitian tentang “**Pengaruh Konsentrasi Gliserol yang Berbeda terhadap Viabilitas Pseudomonad fluoresen yang Diformula Menggunakan Talkum**”

B. Rumusan Masalah

Bagaimanakah pengaruh penambahan gliserol terhadap viabilitas *Pseudomonad* fluoresen yang diformula menggunakan talkum ?

C. Tujuan penelitian

Mengetahui pengaruh gliserol terhadap viabilitas *Pseudomonad* fluoresen yang diformula menggunakan talkum.

D. Hipotesis

Penambahan gliserol berpengaruh terhadap viabilitas *Pseudomonad* fluresen yang diformula menggunakan talkum.

E. Kontribusi penelitian

1. Menambah khasanah ilmu pengetahuan terutama di bidang pengendalian penyakit tanaman agar mendapat informasi lebih mengenai masa simpan *Pseudomonad fluoresen*.
2. Pertimbangan bagi pihak-pihak yang terlibat pada bidang pertanian dalam mengoptimalkan pemanfaatan agen hayati pada pengendalian penyakit tanaman.
3. Formulasi *Pseudomonad fluoresen* dapat digunakan oleh para petani karena mudah diaplikasikan di lapangan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Pseudomonad fluoresen

Dalam pengendalian berbagai penyakit tanaman, para petani biasanya menggunakan pestisida. Namun pestisida berdampak tidak baik terhadap lingkungan dan kesehatan manusia sendiri, seperti menimbulkan strain hama dan penyakit tanaman yang resisten terhadap bahan beracun serta dapat merubah struktur jaringan tanaman (Nyoman, 1998). Oleh sebab itu perlu cara pengendalian hama dan penyakit tanaman yang lebih aman dan ramah lingkungan. Alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan agens hayati *Pseudomonad fluoresen* (Sofia, 2001).

Pseudomonad fluoresen merupakan agens hayati yang telah dilaporkan mampu meningkatkan pertumbuhan berbagai jenis tanaman karena dapat menghasilkan fitohormon (auksin, giberelin dan sitokonin), enzim pelarut fosfor dan siderofor. *Pseudomonad fluoresen* yang berbeda menunjukkan interaksi yang bervariasi bila diaplikasikan pada tanaman yang berbeda.

Pseudomonad fluoresen adalah kelompok rhizobakteria yang dapat diisolasi dari daerah perakaran tanaman. *Pseudomonad fluoresen* merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang dapat mengkolonisasi daerah perakaran yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agens hayati dalam pengendalian penyakit tanaman (Cook and Baker , 1983).

Agens hayati memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas bakteri fitopatogen. Proses penghambatan tersebut terjadi melalui beberapa cara

diantaranya yaitu : 1) produksi senyawa antimikroba, 2) melakukan kompetisi terhadap tempat hidup dan makanan pada tempat spesifik di permukaan tanaman, 3) induksi ketahanan, yang merupakan mekanisme tidak langsung dalam pengendalian hayati, karena dalam hal ini agens hayati berperan dalam mengaktivasi pertahanan tanaman, sehingga dapat menekan perkembangan bakteri patogen tanaman.

Pseudomonas fluorescens mampu melarutkan fosfor pada tanaman, sehingga tanaman tumbuh lebih baik dan tahan terhadap penyakit. Sebagai agens hayati *Pseudomonas fluorescens* mampu menginduksi ketahanan tanaman, antara lain dapat menghasilkan zat pengatur tumbuh, meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman, dan memberikan sinyal untuk dapat memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba (Habazar, 2001).

Pseudomonas merupakan salah satu genus dari famili *Pseudomonadaceae*. Morfologi selnya bersifat uniseluler, berbentuk batang atau agak melengkung, berukuran 0,5-1,0 x 1,5-5,0 mm, bergerak dengan satu atau beberapa flagel yang terletak secara polar, tidak membentuk spora, bereaksi negatif terhadap pewarnaan Gram dan ada yang menghasilkan pigmen yang larut dalam air (Brock dan Madigan, 1988).

Pigmen fluoresensi yang dihasilkan oleh kelompok mikroorganisme ini disebut dengan pyoverdine yang berwarna kuning kehijauan. Pyoverdine terdiri atas 5-8 asam amino dan derivat quinoline chromophore dengan berat molekul \pm 1000. Senyawa ini bersifat dapat mengikat zat besi (Fe) dan siderofor. Struktur

pyoverdine bervariasi, namun tetap berfungsi dalam pengikatan besi (Habazar dan Rivai, 2004).

Pseudomonas yang berfluoresensi merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang punya potensi untuk menginduksi ketahanan tanaman. *Pseudomonas fluorescens* galur CHAO dilaporkan efektif menginduksi ketahanan tembakau secara sistemik terhadap Tobacco Necrosis Virus (Maurhofer *et al.*, 1994), busuk akar pada tomat yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Kemudian *Pseudomonas fluorescens* juga dilaporkan mampu mengendalikan nematoda pada tanaman gula bit. Selain itu isolat *Pseudomonas* berfluoresensi Cb₅ dapat menginduksi ketahanan padi terhadap penyakit kresek dan meningkatkan anakan padi (Habazar dan Yaherwandi, 2006).

Kelompok *Pseudomonad* yang berfluoresensi mampu menginduksi ketahanan tanaman terhadap berbagai jenis patogen tanaman disebabkan oleh senyawa antibiotik yang dihasilkannya. Interaksi yang terjadi antara galur-galur dari kelompok ini dengan berbagai jenis tanaman tergolong spesifik. Efek penggunaan *Pseudomonad* berfluoresensi yang berbeda menunjukkan interaksi yang bervariasi bila diaplikasikan pada tanaman yang berbeda.

Interaksi yang bervariasi terlihat pada *Pseudomonad* galur WCS417 mampu menginduksi ketahanan sistemik pada radish terhadap *P. syringae* pv. *tomato* dan *Alternaria brassicicola*. Isolat *Pseudomonad* fluoresen dari daerah perakaran *Mimosa invisa* mempunyai daya hambat yang cukup tinggi terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum* dan jamur *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

dan dapat menginduksi ketahanan bibit pisang terhadap kedua jenis patogen tersebut (Sumardiyono (2000) dalam Habazar dan Rivai, 2004).

2. Talkum

Talkum adalah bahan pembawa *Pseudomonad fluoresen* yang pertama kali dikenal. *Pseudomonad fluoresen* yang diformula dengan campuran talkum dan 20% xanthan gum dapat meningkatkan populasinya 52% setelah dua bulan penyimpanan pada suhu 4°C dan menurun menjadi 10^7 cfu/g setelah tiga bulan penyimpanan (Kloepper and Scroth, 1981). Vidhyasekaran and Muthamilan (1995) menambahkan formulasi *Pseudomonad fluoresen* isolat PfPj1 dalam campuran talkum dan 20% xanthan gum dapat mempertahankan kemampuan hidup (viabilitas) bakteri sampai tiga bulan penyimpanan pada suhu 4° C. Setelah penyimpanan selama delapan bulan, populasi *Pseudomonad fluoresen* menurun dari $37,5 \times 10^7$ cfu/g menjadi $1,3 \times 10^7$ cfu/g.

Talkum adalah mineral alami disebut steatit atau soapstone yang terdiri dari berbagai mineral dalam kombinasi dengan klorida dan karbonat. Dalam kimia talkum disebut magnesium silikat ($Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$) dan tersedia sebagai bentuk bubuk dari industri yang cocok untuk berbagai aplikasi. Talkum memiliki ciri-ciri antara lain hidrofobisitas relatif dan mencegah pembentukan jembatan hidrat yang memungkinkan masa penyimpanan lebih lama (Nakkeeran, 2005).

Formulasi *Streptomyces* pada bahan pembawa talkum mampu hidup 100% hingga 14 minggu penyimpanan pada suhu 4°C . Namun setelah 24 minggu penyimpanan terjadi penurunan jumlah propagul menjadi $1,2 \times 10^5$ cfu/g

(Sabaratnam dan Traquir,2002). Pseudomonad fluoresen yang diformula dengan campuran talkum dan 20% xanthan gum dapat meningkatkan populasinya 52% setelah dua bulan penyimpanan pada suhu 4°C dan menurun menjadi 10 cfu/g setelah tiga bulan penyimpanan (Kloepper dan Scroth, 1981).

Selanjutnya dalam penelitiannya, Ozaktan dan Bora (2004) mengatakan aplikasi dari formulasi Pseudomonad fluoresen dengan menggunakan talkum mampu menekan penyakit hawar api pada kebun pir di Turki. Penerapan di lapangan dilakukan dengan penyemprotan terhadap biji, daerah akar dan daun. Formulasi ini dilakukan dengan dua strain Pseudomonad fluoresen yaitu Pf1 dan Pf7. Hasil aplikasi ini yaitu terjadi pengurangan penyakit hawar api hingga 76% dan meningkatkan hasil perkebunan tersebut.

3. Gliserol

Gliserol merupakan komponen dari lemak, yaitu suatu trihidroksi alkohol yang terdiri atas tiga atom karbon. Tiap atom karbon mempunyai gugus –OH. Satu molekul gliserol dapat mengikat satu, dua atau tiga molekul asam lemak dalam bentuk ester, yang disebut monogliserida, digliserida atau trigliserida. Gliserol memiliki ciri-ciri yaitu berbentuk cairan yang tidak berwarna, tidak berbau dan memiliki rasa manis (Pagliaro dan Rossy (2008) dalam Prasetyo (2012)). Gliserol banyak dimanfaatkan dalam berbagai industri dan bersifat ramah lingkungan.

Gliserol memiliki rumus kimia $C_3H_5(OH)_3$ dengan sifat larut dalam air. Gliserol dapat berfungsi sebagai penstabil dalam formulasi suatu penyimpanan

bakteri agens hayati. Dalam penelitian Ozaktan dan Bora (2004) menyatakan bahwa penambahan gliserol sebagai bahan penstabil pada *Pantoea agglomerans* galur Eh 24 dapat mempertahankan kemampuan hidupnya hingga 120 hari pada suhu 4°C.

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Penambahan gliserol pada viabilitas *Pseudomonad fluoresen* berpengaruh nyata pada masa inkubasi 28 hari.
2. Viabilitas bakteri *Pseudomonad fluoresen* yang cenderung stabil terdapat dalam gliserol 0,05 mL.

B. Saran

Disarankan adanya penelitian lanjutan mengenai viabilitas bakteri *Pseudomonad fluoresen* dengan penambahan gliserol dan menggunakan bahan pembawa talkum agar didapatkan informasi yang lebih mengenai viabilitas bakteri *Pseudomonad fluoresen*.

DAFTAR PUSTAKA

- Advinda, L. 2009. Tanggapan Fisiologis Tanaman Pisang yang Diintroduksi dengan Formula *Pseudomonas* fluoresen terhadap Blood Disease Bacteria (BDB). *Disertasi*. Padang: Universitas Andalas.
- Arief, Armin. 1994. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. IKIP Padang. Padang.
- Blanco, J.M., Jurado, D.R., Hervas, A., and Diaz, R.M.J. 2004. Suppression of Verticillium Wilt in Olive Planting Stocks by Root-Associated Fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biological Control*. www.elsevier.com
- Brock, T.D. dan Mardigan, M.T. 1998. *Biology of Microorganism*. Prentice-Hall International Edition.
- Chrisnawati, N., Arwiyanto, T. Pengendalian Penyakit Layu pada Nilam dengan Menggunakan *Pseudomonas* fluoresens dan *Bacillus* spp. *Jurnal LITTRI* Vol. 15 NO. 3, September 2009 : 116 – 123.
- Cook, R. J., and K. F. Baker. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. St. Paul, Minnesota: APS.
- Habazar, T. 2001. Aspek Imunisasi Dalam Pengendalian Penyakit Bibit Secara Hayati. *Orasi Ilmiah pada Rapat Senat Terbuka*. Fakultas Pertanian Unand dalam Rangka Dies Natalies ke-27. 30 November 2001. Padang.
- Habazar, T. dan Yaherwandi. 2006. *Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tanaman*. Padang: Andalas University Press.
- Heijnen, C.E., Burgers, S.L.G.E., and Veer, J.A., 1993. Metabolic Activity and Population Dynamic of Rhizobia Introduced Into Unamended and Betonite Amended Loamsand. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 59
- Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, D.C. 1990. *Methods in Phytobacteriology*. Akademiai Kiado. Budapest.

- Kloepper , J.W., and Scroth, M.N. 1981. Development of Powder Formulation of Rhizobacteria for Inoculation of Potato Seed Pieces. *Phytopathology*. Vol 71.
- Machmud, Muhammad. 2001. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. *Buletin Agro Bio*, Vol. 4, No. 1:24-32.
- Nakkeeran, S, Fernando, W.G.D., and Siddiqui, Z.A. 2005. Plant Growth Promoting Rhizobacteria Formulations and Its Scope in Commercialization for the Management of Pests and Diseases Z.A. Siddique (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, 257-296. 2005 Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Nyoman , Oka Ida. 1998. Pengendalian Hama Terpadu dan Implementasinya Di Indonesia . Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Özaktan, H., and Bora, T. 2004. Biological control of fire blight in pear orchards with a formulation of *Pantoea agglomerans* strain Eh 24. *Braz. J. Microbiol.* vol.3 São Paulo July/Sept. 2004.
- Patel, A., Bublitz, M., and Vorlop, K.D. Encapsulation and Drying of *Pseudomonas fluorescens* for Biological Pest Control. *Proceeding of 12 International Workshop on Bioencapsulation*, Bilbao, September 25-26, 2004.
- Paul , D., and Sarma, Y.R. 2006. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)-Mediated Root Proliferation in Black Pepper (*Piper nigrum* L.) as Evidenced Trough GS Root. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. Month 2006; 39 (0): 1-4
- Prasetyo, dkk. Potensi Gliserol dalam Pembuatan Turunan Gliserol Melalui Proses Esterifikasi. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, Vol 10. Pasca Sarjana Semarang
- Sabaratnam, S., and Traquir, J.A. 2002. Formulation of a *Streptomyces* Biocontrol Agent for the Suppression of Rhizoctonia Damping-off in Tomato Transplants. *Biological Control*, Volume 23, Issue 3 March 2002, Pages 245-253
- Sofia, Diana.2001.Pengaruh Pestisida Dalam Pertanian. Medan:Fakultas Pertanian USU.
- Sigee, D.C. 1993. Bacterial Plant Pathology. Cambridge: Cambridge University Press.

- Suantika, Gede, dkk. 2009. Pengaruh Kepadatan Awal Inokulum terhadap Kualitas Kultur *Chaetoceros gracilis* (Schutt) pada Sistem Batch. *Jurnal Matematika dan Sains*. Vol 14 No. 1, Maret 2009. Bandung.
- Suriawiria, Unus. 2005. Mikrobiologi Dasar. Jakarta: Papis Sinar Sinanti.
- Vidyasekaran, P., Sethuraman, K., Rajappan, K., and Vasumathi, K. Powder Formulation of *Pseudomonas fluorescens* to Control Pigeonpea Wilt. *Biological Control*. Volume8, Issue 3, March 1997, Pages 166-171.
- Vidyasekaran P., and Muthamilan, M. 1995. Development of Formulation of *Pseudomonas fluorescens* to Control of Chickpes wilt. *Plant Disease* / Vol 79 No.8.
- Wijiyono .2008. Pemanfaatan Mikroba sebagai Pengendali Hayati yang Ramah Lingkungan. Medan : Universitas Sumatera Utara.