

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Lichen *Usnea* sp. terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum*

Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Lichen Usnea sp. on the Growth of Ralstonia solanacearum Bacterial

Silviana*, Mahanani Tri Asri

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya
Jln. Ketintang, Surabaya 60231

ABSTRAK

Ralstonia solanacearum merupakan bakteri penyebab penyakit layu pada budi daya tanaman hortikultura dan dapat menurunkan hasil produksi hingga 90%. Pengendalian *R. solanacearum* biasanya dilakukan menggunakan pestisida sintetik, tetapi penggunaan berlebihan dan dalam jangka waktu yang panjang dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten. Perlu adanya solusi upaya pengendalian penyakit yang ramah lingkungan melalui pestisida nabati dengan memanfaatkan senyawa aktif lichen *Usnea* sp. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan pengaruh ekstrak etanol lumut kerak dengan berbagai konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* dan menentukan konsentrasi optimal ekstrak etanol lumut kerak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara in vitro. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variasi konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 8%, 6%, 4%, 2%, dan kontrol positif (kloramfenikol 1%), serta kontrol negatif (akuades) masing-masing dengan 4 kali ulangan. Metode difusi cakram digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri. Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat yang dianalisis dengan ANOVA satu arah dan dilanjutkan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak lichen *Usnea* sp. dapat menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum*. Zona hambat optimal terbentuk pada konsentrasi 8% dalam menghambat pertumbuhan *R. solanacearum*. *The optimal inhibition zone was formed at a concentration of 8% in inhibiting the growth of R. solanacearum.*

Kata Kunci: ekstrak etanol; lichen *Usnea* sp.; *Ralstonia solanacearum*

ABSTRACT

Ralstonia solanacearum, a bacterium that causes disease, had become one of the difficulties in the cultivation of horticultural crops because it can decline crops production until 90%. Pathogenic bacteria control is usually conducted using synthetic pesticides, but long-term and excessive use of synthetic pesticides could lead to bacteria resistance. An environmentally friendly antibacterium is needed using biopesticides by taking advantages from active compounds in the lichen *Usnea* sp. The purposes of this research were to describe the effect of lichen extract with various concentrations and to determine the optimal concentration of lichen extract to inhibit in vitro growth of *R. solanacearum*. The research design used Completely Randomized Design (CRD). The concentration of extract used were 8%, 6%, 4%, 2%, positive control (chloramphenicol 1%), and negative control (distilled water) with 4 replications. Antibacterial activity tested using disk diffusion method. The data of inhibition zone diameter was analyzed using one-way ANOVA test and Duncan test. The results showed that lichen extract was able to inhibit the growth of *R. solanacearum*.

Key Words: ethanol extract, lichen *Usnea* sp., *Ralstonia solanacearum*

PENDAHULUAN

Layu bakteri adalah penyakit pada tanaman yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* yang sering menjadi kendala utama pada berbagai jenis tanaman di daerah tropis, sub tropis, bahkan di daerah dingin seperti di Eropa Utara dan Barat (Peeters et al., 2013). Penyakit layu merupakan masalah utama yang dihadapi dalam budidaya tanaman famili Solanaceae dan tanaman penting lainnya seperti pisang dan mulberry. Penyakit layu disebabkan oleh bakteri *R. solanacearum* yang

merupakan bakteri Gram negatif dan berbentuk batang. Bakteri *R. solanacearum* menginfeksi melalui luka pada akar dan daun akibat nematode atau insekta. Penyakit ini menyebabkan gagal panen hingga 90% (Nurjanani, 2011) dan menyebabkan kerugian sebesar 14 juta rupiah setiap tahun (Supriadi, 2011). Bakteri *R. solanacearum* merupakan patogen tular tanah yang mampu bertahan hidup di dalam tanah dalam jangka waktu yang cukup lama tanpa adanya tanaman inangnya (Chepkoech et al., 2013). Hal ini menunjukkan bahwa *R. solanacearum*

*Alamat korespondensi:
nugrahaniprimary@unesa.ac.id

mempunyai sifat ekobiologi yang sangat kompleks, karena patogen tersebut berinteraksi sangat erat dengan lingkungan dan tanaman inangnya sehingga pengendalian penyakit layu bakteri menjadi semakin sulit dan sering menghadapi berbagai kendala (Huet, 2014).

Paath (2005) menyatakan bahwa pengendalian *R. solanacearum* selama ini dilakukan dengan tumpang sari dan rotasi tanaman, tetapi pengendalian tersebut belum berhasil dengan baik karena hanya efektif terhadap bakteri yang menyerang satu tanaman inang tertentu. Pestisida sintetik seperti metil bromide, kloropikrin, dan fumigasi tanah dapat menyebabkan resisten pada bakteri dan residu pestisida dapat menyebabkan kematian organisme (Miller & Spoolman, 2013). Penyakit layu bakteri tetap menjadi masalah serius secara ekonomis, karena terbatasnya efektivitas dari beberapa pengendalian tersebut (Saputra dkk., 2015). Oleh karena itu pengendalian dengan cara biologi dan ramah lingkungan menggunakan pestisida nabati sangat diperlukan. Tumbuh-tumbuhan memiliki senyawa metabolit sekunder bersifat bioaktif dapat dijadikan sebagai bahan baku pestisida nabati sehingga dapat mengendalikan fitopatogen (Kristanti, 2008).

Keanekaragaman flora dan fauna yang tinggi dan tersebar luas di wilayah Indonesia menyebabkan tingginya tingkat keanekaragaman yang memberikan potensi kepada masyarakat untuk digunakan manfaatnya, salah satu diantaranya yaitu lichen atau yang biasa disebut dengan lumut kerak (Yudhayana, 2013). Hasil penelitian Yilmaz et al. (2003) melaporkan bahwa asam usnat yang terkandung dalam *Cladonia foliacea* (termasuk ke dalam kelompok fructicose) memiliki kemampuan antimikroba yang baik dalam menghambat pertumbuhan *B. subtilis*, *S. faecalis*, *P. vulgaris*, *Candida albicans*, dan *Candida glabrata* dengan konsentrasi hambat minimum 0,15 µg/mL. Selain itu, *Usnea subfloridana* juga efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* FNCC 0091 dan *S. aureus* FNCC 0047 dengan konsentrasi ekstrak 0,05 dengan diameter zona hambat sebesar 8,80 ± 0,25 mm dan 9,50 ± 0,50 mm (Amalia, 2018).

Pengendalian penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan jamur pada tanaman yang paling banyak dilakukan saat ini adalah menggunakan bakterisida sintetik. Cara pengendalian bakteri dengan menggunakan bakterisida sintetik dapat menimbulkan dampak negatif berupa keracunan pada manusia dan hewan peliharaan, pencemaran air tanah, serta terbunuhnya organisme bukan sasaran (Mustika dan Nuryani, 2006). Potensi yang ada pada lichen *Usnea* sp., maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menguji

kemampuan antibakteri dari ekstrak lichen *Usnea* sp. dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara in vitro dan mengetahui konsentrasi optimal ekstrak lichen *Usnea* sp. dalam menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2019. Pembuatan ekstrak lichen *Usnea* sp. dilakukan di Laboratorium Fisiologi Universitas Negeri Surabaya, sedangkan pengujian antibakteri ekstrak lichen *Usnea* sp. terhadap bakteri *R. solanacearum* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Surabaya.

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahap. Tahap awal adalah sterilisasi peralatan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Tahap selanjutnya pembuatan ekstrak lichen. Lichen yang digunakan adalah lichen dewasa (berwarna hijau keabu-abuan) dan sehat (tidak berwarna kuning ataupun coklat) yang diperoleh dari Arboretum Sumber Brantas, Kecamatan Bumijati, Kota Batu dan Taman Hutan Raya, Desa Talungrejo, Kota Batu. Proses ekstraksi lichen menggunakan sampel sebanyak 500gram berat basah talus lichen, kemudian dicuci dan dikeringkan dengan oven, selanjutnya dihaluskan sehingga diperoleh 300 gram serbuk, kemudian serbuk direndam dengan pelarut etanol perbandingan 1:10 selama 5 hari, selanjutnya dilakukan penyaringan, dan yang terakhir pemisahan filtrat dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C, sehingga terbentuk ekstrak kental lichen.

Rancangan penelitian menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 6 perlakuan masing-masing dengan 4 kali ulangan. Variabel manipulasi penelitian adalah konsentrasi ekstrak lichen yaitu 8%, 6%, 4%, 2%, serta kontrol positif (kloramfenikol 1%) dan kontrol negatif (akuades).

Media yang digunakan adalah nutrient agar, strain murni bakteri *R. solanacearum* diperoleh dari Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional Veteran, Surabaya. Tahap selanjutnya adalah pembuatan kultur dan penghitungan bakteri menggunakan *haemocytometer*. Jumlah bakteri yang digunakan dalam penelitian adalah 10⁶ cfu/ml (EPPO, 2004).

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Kultur bakteri uji disiapkan terlebih dahulu dengan metode *pour plate*. Media kultur bakteri uji kemudian dibagi menjadi 3 bagian, untuk kontrol positif (kloramfenikol 1%), kontrol negatif (akuades steril), dan ekstrak lichen dengan berbagai konsentrasi lalu diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Parameter yang diamati berupa zona hambat, yaitu daerah di sekitar cakram disk yang

tidak ditumbuhi bakteri dan menunjukkan bahwa ekstrak dapat menghambat pertumbuhan *R. solanacearum*. Data berupa zona hambat dianalisis menggunakan ANOVA satu arah kemudian dilanjutkan dengan Uji Duncan untuk mengetahui perlakuan paling baik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak lichen dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* menunjukkan hasil yang bervariasi pada setiap perlakuannya. Hasil analisis menggunakan uji analisis varian satu arah (ANOVA One-ways) dengan nilai signifikansi sebesar 0,05 menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak *Usnea* sp. yang digunakan memiliki nilai $p < \alpha$ yakni $0,000 < 0,05$ yang berarti konsentrasi ekstrak *Usnea* sp. yang digunakan memiliki aktivitas antibakteri yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri yang diujikan yaitu bakteri *R. solanacearum*.

Selanjutnya, data tersebut diuji menggunakan uji Duncan pada nilai signifikansi 0,05 dengan hasil yang menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi ekstrak *Usnea* sp. yang digunakan memiliki aktivitas antibakteri serta semua perlakuan konsentrasi ekstrak yang digunakan juga menunjukkan

perbedaan yang nyata. Selain itu, kontrol positif juga menunjukkan perbedaan yang nyata dengan semua perlakuan konsentrasi ekstrak yang digunakan, akan tetapi perlakuan kontrol negatif menunjukkan tidak beda nyata dengan konsentrasi 2%. Berdasarkan hasil pengujian dan analisis data, dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Usnea* sp. mampu menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* dengan konsentrasi ekstrak yang optimal adalah konsentrasi ekstrak 8% yaitu sebesar 6,00 mm. (Tabel 1).

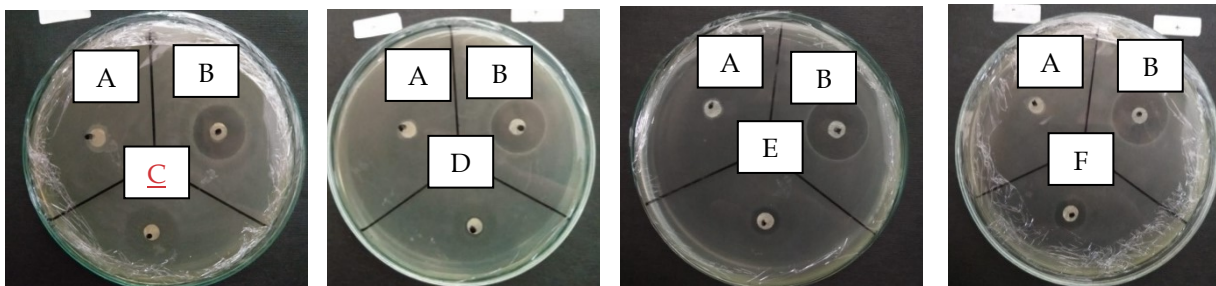
Setiap konsentrasi ekstrak yang digunakan, yaitu konsentrasi 2%, 4%, 6%, dan 8% rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan berturut-turut sebesar $1,00 \pm 0,00$ mm, $2,25 \pm 0,50$ mm, $4,00 \pm 0,82$ mm, dan $6,00 \pm 0,82$ mm. Perlakuan kontrol positif rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk yaitu $17,00 \pm 1,41$ mm. Sedangkan pada perlakuan kontrol negatif, menunjukkan hasil tidak terbentuknya zona hambat. Hal ini menandakan bahwa kontrol negatif tidak memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* (**Gambar 1**).

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *Usnea* sp. terhadap pertumbuhan bakteri *R. solanacearum*.

No.	Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD
1.	Kontrol negatif (akuades)	$0,00 \pm 0,00^{a,b}$
2.	Konsentrasi 2%	$1,00 \pm 0,00^{a,b}$
3.	Konsentrasi 4%	$2,25 \pm 0,50^c$
4.	Konsentrasi 6%	$4,00 \pm 0,82^d$
5.	Konsentrasi 8%	$6,00 \pm 0,82^e$
6.	Kontrol positif (kloramfenikol)	$17,00 \pm 1,41^f$

Keterangan:

Notasi a, b, c, d, e, f yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan tersebut berbeda nyata berdasarkan uji Duncan dengan nilai signifikansi 0,05 dan notasi yang sama menunjukkan tidak beda nyata



Gambar 1. Zona hambat ekstrak lichen *Usnea* sp. terhadap bakteri *R. solanacearum*. (A) Kontrol Negatif (Akuades); (B) Kontrol Positif (Kloramfenikol); (C) Konsentrasi Ekstrak 2%; (D) Konsentrasi Ekstrak 4%; (E) Konsentrasi Ekstrak 6%; (F) Konsentrasi Ekstrak 8%.

Hasil tersebut didasarkan pada hasil uji Duncan yang menunjukkan konsentrasi 8% berbeda nyata dengan konsentrasi 2%, 4% dan 6% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 6,00 mm. Hal ini menandakan adanya aktivitas antibakteri dari ekstrak *Usnea* sp., aktivitas tersebut berupa respons penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji. Respons itu dapat dilihat melalui adanya zona hambat yang terbentuk pada media. Zona hambat atau *clear zone* merupakan respons hambatan terhadap pertumbuhan bakteri akibat adanya suatu senyawa yang terkandung pada ekstrak yang ditandai adanya daerah bening di sekitar cakram atau *paper disk* (Pratiwi, 2016).

Respons hambatan yang ditimbulkan oleh ekstrak *Usnea* sp. terhadap bakteri *R. solanacearum* merupakan akibat adanya senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Hasil uji pencarian fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *U. subfloridana* mengandung senyawa asam usnat, fenolik, alkaloid, steroid, triterpenoid, saponin, dan tanin (Amalia, 2018). Senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki mekanisme yang berbeda-beda dalam proses penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba. Proses penghambatan pertumbuhan mikroba secara umum dapat melalui kerusakan dinding sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, merusak membran plasma, menghambat kerja enzim hingga sintesis protein dan asam nukleat, serta menghambat sintesis metabolit esensial (Tortora *et al.*, 2002).

Mekanisme antibakteri yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* oleh senyawa yang terkandung dalam ekstrak *Usnea* sp. adalah kerusakan dinding sel oleh senyawa alkaloid, fenol, dan tannin. Senyawa alkaloid berperan dalam proses terganggunya komponen penyusun dari peptidoglikan yang mengakibatkan pembentukan dinding sel tidak terjadi secara utuh dan sel mikroba akan mengalami kematian sel (Darsana *et al.*, 2012). Sementara itu, senyawa fenol akan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Sel akan mengalami lisis karena permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel (Mojab *et al.*, 2008).

Senyawa metabolit sekunder ini juga bersifat koagulator protein karena senyawa ini dapat membentuk kompleks dengan protein sel yang menyebabkan terhambatnya kerja enzim, sehingga

berakibat pada terjadinya proses denaturasi protein dari struktur dinding sel bakteri (Cowan, 1999). Senyawa tannin mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari, 2011).

Setelah dinding sel mengalami kerusakan, senyawa steroid dan triterpenoid berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed, 2007). Mekanisme kerja steroid dan triterpenoid dalam mengganggu permeabilitas membran dibantu oleh saponin dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria *et al.* 2009). Menurut Cavalieri *et al.* (2005), senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan membran. Hal ini menyebabkan sitoplasma keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Triterpenoid juga bekerja merusak protein transmembran yang dikenal dengan nama protein porin yang terdapat pada membran luar sel bakteri, sehingga menyebabkan menurunnya permeabilitas dinding sel dan nutrisi sel bakteri berkurang (Rakhmawati dan Bintari, 2014).

Senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktivkan adhesin, yaitu komponen permukaan sel atau pelengkap bakteri yang memfasilitasi adhesi atau pelekatan pada sel lain atau ke permukaan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan, 1994). Selain itu mekanisme kerja tanin bersama dengan alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan menghambat enzim transkriptase balik dan DNA topoisomerase juga sebagai interkelator DNA bakteri (Karou *et al.*, 2005) sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009).

Mekanisme kerja asam usnat berperan dalam menghambat sintesis protein dan menghambat siklus fosforilasi oksidatif. Pada konsentrasi rendah senyawa yang memiliki rumus molekul $C_{18}H_{16}O_7$ dengan bentuk kristal jarum/prisma berwarna kuning ini bersifat bakteristatik dan pada konsentrasi tinggi sebagai bakterisida (Endarti *et al.*, 2004). Akibat dari kerusakan dinding sel, kebocoran membran, dan gangguan pada replikasi DNA

mengakibatkan isi sitoplasma keluar sehingga sel menjadi lisis sehingga bakteri mati.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak *Usnea* sp. terhadap bakteri uji, dapat diketahui bahwa rata-rata diameter zona hambat atau *clear zone* yang dihasilkan oleh ekstrak *Usnea* sp. pada bakteri berkisar antara 1,00 - 6,00 mm. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak *Usnea* sp. yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri ini termasuk ke dalam kategori sedang dikarenakan respons hambatan pertumbuhan bakteri yang ditimbulkan memiliki diameter zona hambat 5-10 mm. Kategori tersebut didasarkan pada klasifikasi respons penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri, yaitu kategori sangat kuat memiliki diameter *clear zone* sebesar ≥ 20 mm, kuat bila diameter zona hambat 10-20 mm, namun apabila diameter zona hambat berkisar antara 5- 10 mm termasuk kategori sedang. Jika diameter zona hambat ≤ 5 mm, maka tergolong kategori lemah (Davis & Stout, 2009).

Pada perlakuan kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat. Kontrol negatif dibutuhkan sebagai pembanding antara perlakuan ekstrak dengan akuades. Hal ini membuktikan bahwa penambahan akuades ke dalam ekstrak *Usnea* sp. tidak berpengaruh terhadap ukuran diameter zona hambat dari kedua bakteri uji.

Pada perlakuan kontrol positif, diameter zona hambat yang dihasilkan sebesar 17,00 mm. Kontrol positif yang digunakan dalam pengujian ini yaitu antibiotik kloramfenikol. Antibiotik kloramfenikol digunakan karena antibiotik ini tergolong ke dalam jenis antibiotik berspektrum luas dan aktif pada bakteri mikroorganisme aerobik dan anaerobik Gram positif maupun negatif serta bersifat bakteristatik (kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba, namun tidak membunuh mikroba). Antibiotik ini dapat menghambat sintesis protein pada mikroba melalui terhalangnya proses pelekatan asam amino pada rantai peptida di unit 50S ribosom dengan cara mengganggu daya kerja dari peptidil transferase (Jawetz *et al.*, 2001).

Berdasarkan hasil pengujian dan analisis data, ekstrak *Usnea* sp. mampu menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* dengan konsentrasi ekstrak yang optimal dalam menghambat kedua bakteri tersebut adalah konsentrasi ekstrak 8%. Hal ini didasarkan pada hasil uji Duncan yang menunjukkan konsentrasi 8% berbeda nyata dengan konsentrasi 2%, 4% dan 6% dengan rata-rata diameter zona hambat (*clear zone*) sebesar 6,00 mm. Disamping itu, hasil dari pengujian ini menunjukkan bahwa meningkatnya konsentrasi ekstrak, menyebabkan zona hambat yang terbentuk pada media semakin lebar.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak lichen *Usnea* sp. memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *R. solanacearum* secara in vitro karena mengandung senyawa fenol, flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid yang bersifat antibakteri. Konsentrasi optimal yang menghambat *R. solanacearum* adalah 8% dengan zona hambat sebesar $6,00 \pm 0,82$ mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed B, 2007. Chemistry Of Natural Products. New Delhi: Department of Pharmaceutical Chemistry Faculty of Science Jamia Hamdard.
- Amalia R, 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak *Usnea subfloridana* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 serta Bakteri *Escherichia coli* FNCC 0091. Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Universitas Negeri Surabaya.
- Cavalieri SJ, Rankin ID, Harbeck RJ, Sautter RS, McCarter YS, Sharp SE, Ortez JH dan Spiegel CA, 2005. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. American Society for Microbiology, USA.
- Chepkoech E, Kinyua M, Kiplagat O, Arunga EE, Kimno S, Olwenyo G, Njuguna P and Oggema J, 2013. Potato breeding potential for resistance to bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) in Kenya. *African Crop Science Conference Proceedings*. 11: 517-520.
- Cowan MM, 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. Oxford: Miami University.
- Darsana IGO, Besung INK dan Mahatmi H, 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera cardifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *Indonesia Medicus Veterinus*. 1(3): 337-351.
- Davis WW and Stout TR, 2009. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*. 22 (4): 666-670.
- Endarti EY, Sukandar dan Soediro I, 2004. Kajian Aktivitas Asam Usnat Terhadap Bakteri Penyebab Bau badan. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*.
- EPPO, 2004. Diagnostic Protocol for Regulated Pest *Ralstonia solanacearum*. Bulletin OEPP/EPPO. 34:173-178. Diakses melalui [http://www.eppo.int/QUARANTINE/bacteria/Ralstonia_solanacearum/pm7-21\(1\)%20PSDMSO%20web.pdf](http://www.eppo.int/QUARANTINE/bacteria/Ralstonia_solanacearum/pm7-21(1)%20PSDMSO%20web.pdf). Diunduh tanggal 28 September 2018.
- Huet G, 2014. Breeding for resistances to *Ralstonia solanacearum*. *Frontiers in Plant Science*. 5(1): 1-5.
- Jawetz E, Melnick JL and Adelberg EA, 2001. Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology). Terjemahan oleh H. Tomang. Jakarta: Penerbit EGC.
- Karou D, Savadago A, Canini A, Yameogo S, Montesano C, Simpore J, Colizzi V and Traore AS, 2005. Antibacterial Activity of Alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal Biotechnology*. 5(2): 195-200.
- Kristanti AN, Aminah NS, Tanjung M dan Kurniadi B, 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press.

- Miller GT and Spoolman SE, 2013. *Sustaining the Earth*. 6th edition. California: Thompson Learning Inc Pacific Grove. 7:144.
- Mojab F, Poursaeed M, Mehrgan H and Pakdaman S, 2008. Antibacterial Activity of *Thymus daenensis* methanolic Extract. *Pak. J. Pharm. Sci.* 21 (3): 210-213.
- Mustika I dan Nuryani Y, 2006. Strategi Pengendalian Nematoda Parasit pada Tanaman Nilam. *Jurnal Litbang Pertanian*.
- Nuria M, Faizatun A dan Sumantri, 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu - ilmu Pertanian*. 5: 26 - 37.
- Nurjanani, 2011. Kajian Pengendalian Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia Solanacearum*) menggunakan Agens Hayati pada Tanaman Tomat. *Jurnal Suara Perlindungan Tanaman*.
- Paath JM, 2005. Pengendalian Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat dengan Pestisida Nabati. *Eugenia* 11(1): 47-55.
- Peeters N, Guidot A, Vailleau F and Valls M, 2013. *Ralstonia solanacearum*, a widespread bacterial plant pathogen in the post-genomic era. *Mol. Plant Pathology*.
- Pelczar MJ and Chan ECS, 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Pratiwi S, 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Cincau Hijau Rambat (*Cyclea barbata* Miers.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro Dengan Metode Difusi. Skripsi. Jakarta: Universitas Pembangunan Nasional "Veteran".
- Rakhmawati F dan Bintari SH, 2014. Studi Aktivitas Antibakteri Sari Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Salmonella enteritidis*. *Unnes Journal of Science*. 3(2): 103-111.
- Saputra R, Arwiyanto T dan Wibowo A, 2015. Uji Aktivitas Antagonistik Beberapa Isolat *Bacillus* spp. Terhadap Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Beberapa Varietas Tomat dan Identifikasinya. *Pros Semnas Masybiodiv indonesia*. 1: 1116-1122
- Sari FP dan Sari SM, 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro.
- Supriadi, 2011. Penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Dampak Bioekologi dan Peranan Teknologi Pengendaliannya. Pengembangan Inovasi Pertanian.
- Tortora GJ, Funke BR dan Case CL, 2002. *Microbiology an Introduction* 8th ed. Pearson, New York.
- Yilmaz M, Turka AO, Tay T and Kivanc M, 2003. The Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichen *Cladonia foliacea* and Its (D)-Usnic Acid, Atranorin, and Fumarprotocetraric Acid Constituents. *Zeitschrift für Naturforschung*.
- Yudhayana A, 2013. *3500 Plant Species of the botanical Garden Indonesia*. Ciplanas, Jawa Barat.