



Potensi Metabolit Sekunder *Trichoderma harzianum* terhadap *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Secara in vitro

Potential secondary metabolites of *Trichoderma harzianum* against *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in vitro

Hasni Wardahni^{1*}, Tri Mujoko², Arika Purnawati³

^{1*}UPN "Veteran" Jawa Timur, email: 17025010106@student.upnjatim.ac.id

²UPN "Veteran" Jawa Timur, email: trimujoko.agri@upnjatim.ac.id

³UPN "Veteran" Jawa Timur, email: arika_@upnjatim.ac.id

Penulis korespondensi: E-mail: arika_@upnjatim.ac.id

ABSTRAK

Bercak bakteri merupakan salah satu penyakit pada tanaman tomat yang disebabkan oleh bakteri patogen *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Metabolit sekunder *Trichoderma harzianum* memiliki kemampuan sebagai antibakteri, sehingga berpotensi untuk mengendalikan bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan konsentrasi metabolit sekunder *T. harzianum* yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Metode penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan yaitu konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75%, 100% dan diulang 4 ulangan. Pelaksanaan penelitian ini yaitu isolasi bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, peremajaan jamur *T. harzianum*, produksi metabolit jamur *T. harzianum*, ekstraksi metabolit sekunder dan uji antagonis *in vitro*. Parameter yang diamati adalah luas zona hambatan dan karakteristik bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Hasil penelitian menunjukkan semua konsentrasi dapat menekan pertumbuhan bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* dengan konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat tertinggi yaitu sebesar 16 mm.

Kata kunci: Metabolit sekunder, *Trichoderma harzianum*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*

ABSTRACT

Bacterial spot is one of the diseases on tomato plants caused by the pathogenic bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. The secondary metabolite of *Trichoderma harzianum* has the ability as an antibacterial, so it is possible to control the bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. This study aims to determine the ability of the secondary metabolite concentration of *T. harzianum* which is thought to inhibit the growth of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. The research method used a completely randomized design (RAL) with 5 treatments, namely concentration of 0%, 25%, 50%, 75%, 100% and repeated 4 replications. The implementations of this research is the isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, rejuvenation of the fungus *T. harzianum*, production of secondary metabolite of the fungus *T. harzianum*, extraction secondary metabolite and in vitro antagonist test. The parameters observed were the clear zone area and the characteristics of Xcv bacteria. The results showed that all concentrations could suppress the growth of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* bacteria with a concentration of 100% producing the highest inhibition zone of 16 mm.

Keywords: secondary metabolites, *Trichoderma harzianum*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*.

PENDAHULUAN

Menurut Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jendral Hortikultura produksi tomat di Indonesia khususnya provinsi Jawa Timur mengalami fenomena fluktuatif dari tahun 2015 hingga 2019. Hal tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu adanya penyakit pada tanaman tomat. Budidaya tanaman tomat di Karangploso, Malang mengalami permasalahan yang serius, yakni

tanaman tomat terserang bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv), Bakteri Xcv dapat menginfeksi tanaman tomat baik pada saat fase bibit hingga tua. Penyakit bercak bakteri dapat menyebabkan menurunnya kuantitas dan kualitas tanaman tomat apabila tidak segera dikendalikan (Ji et al., 2008).

Pengendalian penyakit bercak bakteri seringkali dengan menggunakan pestisida berbahan kimia yang dapat berdampak buruk untuk lingkungan maupun konsumen, sehingga perlu dilakukan pengendalian secara biologi dengan menggunakan biopestisida berbahan Agensi Pengendali Hayati (APH). *Trichoderma harzianum* merupakan jamur tanah bersifat saprofit yang dikenal sebagai biokontrol (Bailis et al., 2019), jamur *T. harzianum* berperan penting dalam menghambat pertumbuhan patogen dengan berbagai mekanisme yaitu antibiosis, kompetisi ruang dan nutrisi serta parasitisme. Metabolit sekunder dapat dijadikan sebagai biopestisida dengan memanfaatkan senyawa antibiotik, enzim, toksin dan hormon. Metabolit sekunder *Trichoderma* sp. yang berperan sebagai antijamur dan antibakteri adalah poliketida, piron, dan terpene (Naher et al., 2014). Hasil penelitian Saksiriat et al., (2009) menyatakan bahwa *T. harzianum* dapat menginduksi ketahanan tanaman tomat terhadap penyakit bercak bakteri sebesar 69,32% Bailis et al., (2019). menyatakan bahwa metabolit sekunder *T. harzianum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri Xcv dengan konsentrasi 50%. Berdasarkan kemampuan yang dimiliki oleh jamur *T. harzianum*, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi metabolit sekunder *T. harzianum* dalam menghambat bakteri patogen Xcv penyebab penyakit bercak bakteri pada tanaman tomat secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kesehatan Tanaman I Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur pada bulan Agustus 2021 sampai dengan Oktober 2021.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, bunsen, pinset, scalpel, gelas beaker, erlenmeyer, alat shaker, sentrifuse, *syringe filter*, *autoclave*, inkubator dan timbangan analitik. Sedangkan bahan yang digunakan adalah media PDA (MERCK), media NA (MERCK), media YDC (Yeast Dextrose CaCO₃), media EKG, media OF, isolat murni *Trichoderma harzianum*, isolat murni bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, KOH 3%, alkohol 70%, aquadest steril, spirtus, kapas dan kertas label.

Pelaksanaan

Isolasi Bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*

Isolasi dilakukan untuk memperoleh isolat murni dari bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Daun tanaman yang memiliki gejala bercak bakteri seperti bercak kecil-kecil dan tidak beraturan berwarna coklat dengan dikelilingi halo berwarna kuning diambil untuk ditanam di media NA, sebelum ditanam daun dibersihkan dahulu dan dilakukan sterilisasi bertingkat lalu inkubasi selama 48 jam kemudian dilakukan permunian dengan metode stik pada media NA dan mengamati bentuk koloni. Koloni bakteri Xcv yaitu berwarna kuning, bulat dan mengkilap.

Identifikasi Bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui ciri-ciri yang sesuai dengan bakteri Xcv, dilakukan dengan Uji KOH 3%, uji oksidasi fermentasi, uji warna koloni dan pengamatan secara mikroskopis. Uji KOH 3% bertujuan untuk mengetahui gram bakteri Xcv, uji OF bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengurai karbohidrat (glukosa) secara oksidatif atau fermentatif, uji warna koloni dilakukan dengan meumbuhkan bakteri Xcv dalam media YDC dengan tujuan mengetahui warna koloni bakteri. Masing-masing uji dilakukan menggunakan biakan bakteri Xcv yang berumur 48 jam.

Peremajaan Jamur *Trichoderma harzianum*

Peremajaan jamur *Trichoderma harzianum* dilakukan pada media PDA dengan cara inokulasikan dari isolat jamur *T. harzianum* awal dengan menggunakan bor gabus dan jarum ose. Peremajaan dilakukan dengan tujuan memperoleh isolat dengan umur yang muda dan masih aktif melakukan metabolisme.

Produksi metabolit sekunder *Trichoderma harzianum*

Isolat *T. harzianum* sebanyak 2 plong dengan ukuran diameter 0,5 cm diinokulasikan pada media EKG sebanyak 150 ml pada erlenmeyer kapasitas 250 ml, kemudian diinkubasi menggunakan shaker orbital selama 7 hari pada suhu kamar dengan kecepatan 150 rpm (Soesanto et al., 2014).

Ekstraksi metabolit sekunder *Trichoderma harzianum*

Metabolit sekunder *T. harzianum* yang telah selesai digojok dipindahkan pada tabung sentrifuse berukuran 15 ml selanjutnya dilakukan proses pemisahan antara supernatan dan pellet dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Kemudian supernatan disaring menggunakan *syringe filter* berukuran 0,2 μm (Sukapiring et al., 2016).

Uji antagonis *in vitro*

Uji antagonis metabolit sekunder *Trichoderma harzianum* terhadap bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* dilakukan dengan metode teknik biakan ganda yang mengacu pada metode Bailis et al., (2019) yaitu dengan cara menuangkan suspensi bakteri Xcv (10^6 sel/ml) sebanyak 0,1 ml kedalam media NA dengan suhu $\pm 45^\circ\text{C}$ lalu cawan petri ditutup dan digoyang-goyang hingga homogen. Kemudian kertas saring dengan diameter 0,5 cm di rendam kedalam larutan metabolit sekunder selama 15 menit dan diletakkan pada beberapa titik dalam media NA. inkubasi selama 48 jam dengan mengamati zona bening yang terbentuk pada jam ke-24 dan ke-48.

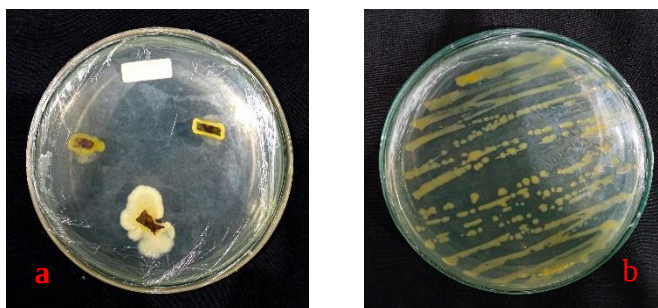
Uji Patogenesitas

Uji patogenesitas dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan bahwa patogen yang didapatkan benar memiliki gejala yang sesuai penyakit bercak bakteri dengan menginokulasikan ulang bakteri patogen pada tanaman inang yang sama, dilakukan dengan metode semprot. Suspensi bakteri Xcv sebanyak 10 ml dengan kerapatan 10^8 cfu mL^{-1} diaplikasikan pada bagian bawah daun tanaman tomat, kemudian diamati gejala yang muncul.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Xcv

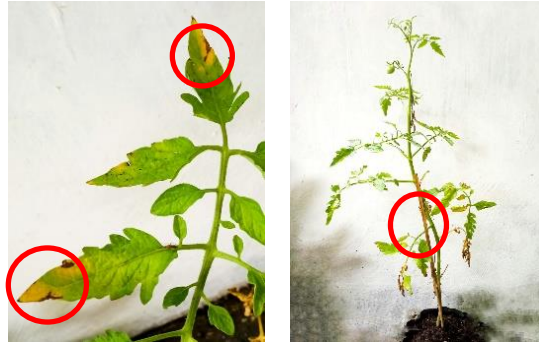
Bakteri Xcv didapatkan dari hasil isolasi tanaman tomat yang bergejala bercak bakteri di lahan Karangploso, Malang. Isolasi bakteri Xcv dilakukan dengan memotong daun yang bergejala dengan setengah bagian bergejala dan setengah bagian sehat, kemudian dilakukan sterilisasi bertingkat setelah itu ditanam pada media NA, setelah inkubasi selama 48 jam dilakukan pemurnian dengan metode gores pada media NA yang baru (Gambar 1).



Gambar 1. Bakteri Xcv (a) hasil isolasi dari gejala bercak bakteri, (b) hasil permurnian umur 3 hari pada media NA

Koloni bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* berbentuk bulat, berwarna kuning dan berlendir. Sesuai dengan pendapat Ajayasee (2018) koloni bakteri Xcv memiliki bentuk bulat warna kuning, mengkilat dan berlendir, koloni akan terlihat jelas bentuk dan warnanya setelah inkubasi selama 72 jam.

Selanjutnya hasil pemurnian bakteri Xcv dilakukan uji patogenesitas untuk membuktikan bahwa bakteri Xcv benar merupakan bakteri penyebab penyakit bercak bakteri. Inokulasi bakteri Xcv pada tanaman tomat dilakukan dengan cara menyemprotkan larutan bakteri ke bagian permukaan bawah daun. Gejala bercak bakteri muncul pada hari ke-5 setelah inokulasi. Gejala yang muncul yaitu bercak abstrak pada bagian ujung daun berwarna kuning hingga berubah menjadi warna coklat gelap dengan dikelilingi oleh zona berwarna kuning.



Gambar 2. Gejala penyakit bercak bakteri.

Sesuai dengan pernyataan Stall *et al.*, (2009) bercak berbentuk bintik-bintik kecil hingga tak beraturan serta bercak dikelilingi lingkaran seperti cahaya berwarna kuning. Bercak akan semakin besar dan menyatu dengan bercak lainnya sehingga daun yang terinfeksi menjadi klorotik dan mengering (Shukla *et al.*, 2003).

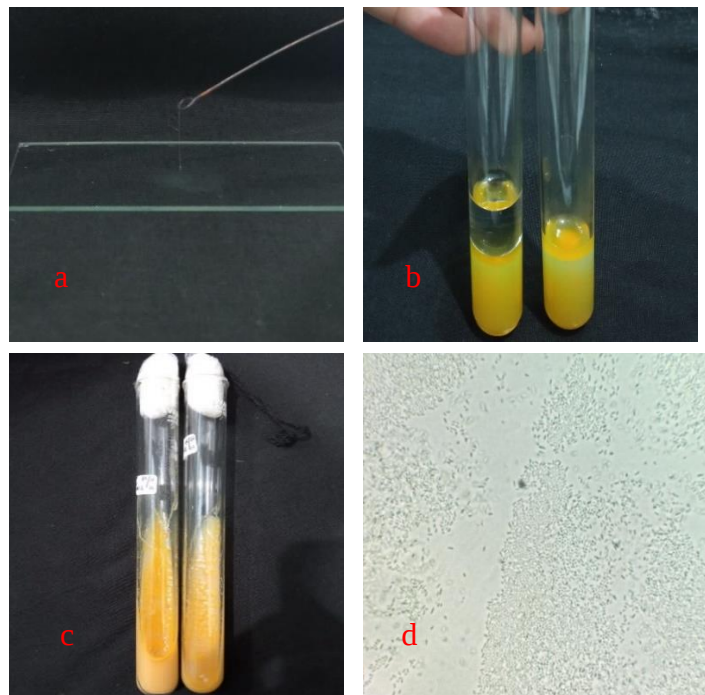
Identifikasi Bakteri Xcv

Hasil identifikasi bakteri Xcv disajikan sebagai berikut :

Uji KOH 3%. Bakteri Xcv merupakan bakteri Gram negatif (Gambar 3a), hal ini sesuai dengan pernyataan Rafi *et al.*, (2013) bahwa termasuk bakteri Gram negatif karena membentuk lendir seperti benang ketika jarum ose diangkat.

Uji OF. Bakteri Xcv merupakan bakteri yang bersifat oksidatif karena hasil uji pada media OF yang tidak ditutup parafin terjadi perubahan warna menjadi kuning (Gambar 3b). Hal ini menandakan metabolisme oksidatif dari glukosa dan bersifat aerob.

Uji koloni pada media YDC. Uji warna koloni dilakukan dengan menumbuhkan koloni Xcv di media YDC hal ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi pigmen keratonoid (Akbar *et al.*, 2015). Bakteri Xcv ditumbuhkan pada tabung reaksi dengan metode gores kemudian diinkubasi selama 48 jam. Pada media YDC koloni berbentuk bulat, berwarna kuning cerah dan mukoid (Gambar 3c).



Gambar 3. Identifikasi Bakteri Xcv

(a) uji KOH 3%, (b) uji oksidasi fermentasi, (c) uji warna koloni pada media YDC, (d) pengamatan makroskopis perbesaran 40x10.

Bakteri *Xcv* diamati secara mikroskopis dengan menggunakan isolat bakteri berumur 48 jam, diamati dengan perbesaran 40x10 memiliki ciri yaitu berbentuk basil dan memiliki flagela kutub tunggal (Gambar 3d) (Thieme *et al.*, 2005).

Hasil ekstraksi metabolit sekunder *Trichoderma harzianum*

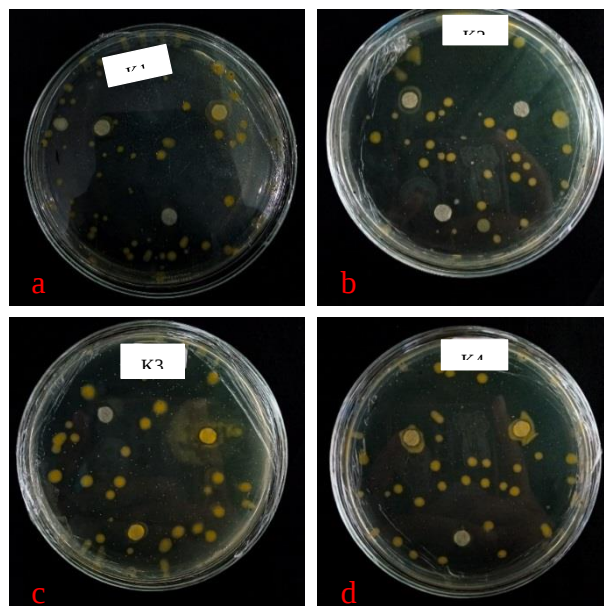
Jamur *Trichoderma harzianum* yang telah digojog selama 7 hari dengan kecepatan 1500 rpm kemudian di sentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Hasil supernatan selanjutnya di filter menggunakan *syringe filter*, sehingga menghasilkan larutan metabolit sekunder *T. harzianum* dengan ciri-ciri berwarna kuning terang dan jernih (Gambar 4) sehingga dapat digunakan untuk uji *in vitro*.



Gambar 4. Metabolit sekunder *Trichoderma harzianum*.

Uji antagonis *in vitro*

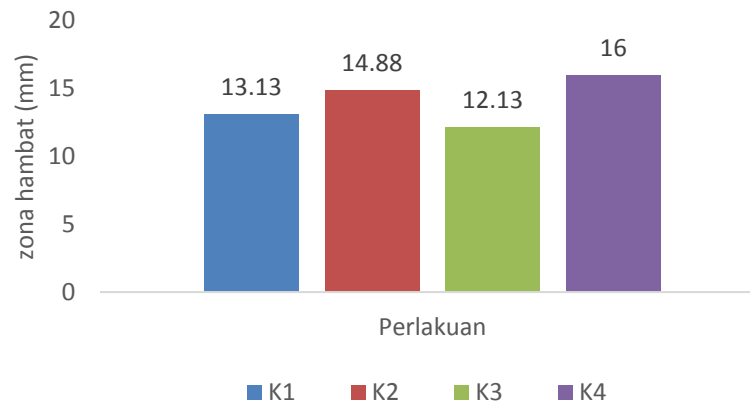
Uji antagonis *in vitro* metabolit sekunder *Trichoderma harzianum* dengan konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75%, 100% terhadap bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* dilakukan selama 48 jam dan mengamati zona hambat yang terbentuk. Munculnya zona hambat disebabkan karena adanya mekanisme antibiosis dimana terdapat reaksi senyawa antibiotik dari metabolit sekunder. Pada uji *in vitro* setiap perlakuan membentuk zona bening yang berbeda-beda terhadap bakteri *Xcv*. Perbedaan zona hambat yang terbentuk diduga dipengaruhi oleh kandungan senyawa dalam metabolit sekunder tersebut.



Gambar 5. Ukuran diameter zona hambat
(a) konsentrasi 25%, (b) konsentrasi 50%, (c) konsentrasi 75%, (d) konsentrasi 100%

Menurut (Alfizar, 2013) *T. harzianum* mampu menghasilkan senyawa antibiotik berupa glitoksin dan glioviridin. Kemudian pernyataan dipertegas oleh Ismail *et al.*, (2011)

bahwa senyawa yang bersifat toksik tersebut mampu mempengaruhi dan menghambat sistem fungsional sehingga patogen menjadi lemah. Faktor yang mempengaruhi jamur antagonis dalam memproduksi antibiotik yaitu jumlah mikroorganisme, pH dan suhu, serta jenis substrat (Cornejo *et al.*, 2016).



Gambar 6. Grafik zona hambat

Hasil zona hambat metabolit sekunder *T. harzianum* terhadap bakteri *Xcv* setelah dilakukan analisis data menggunakan analisis sidik ragam yaitu tidak berbeda nyata. Semua perlakuan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Xcv*, pada perlakuan K4 dengan konsentrasi metabolit sekunder 100% menghasilkan zona hambat sebesar 16 mm, perlakuan K2 dengan konsentrasi metabolit sekunder 50% menghasilkan zona hambat sebesar 14.88 mm, perlakuan K1 dengan konsentrasi metabolit sekunder 25% menghasilkan zona hambat sebesar 13.13 mm dan perlakuan K3 dengan konsentrasi metabolit sekunder 75% menghasilkan zona hambat sebesar 12.13 mm (Gambar 6), sedangkan pada perlakuan kontrol dengan konsentrasi metabolit sekunder 0% tidak muncul zona hambat. Menurut Saxena *et al.*, (2015) bahwa jamur *Trichoderma* berpotensi menghasilkan racun (antibiotik) yang dapat membunuh mikroba lain pada konsentrasi rendah, keragaman antibiotik ini telah menunjukkan berbagai aktivitas melawan prokariotik dan eukariotik. Zona hambat yang terbentuk antar perlakuan memiliki nilai lebih dari 10 mm pada tiap konsentrasi yang berbeda, hal ini menandakan bahwa zona hambat yang terbentuk memiliki kategori kuat. Sesuai dengan pendapat Susanto & Ruga, (2012) bahwa zona hambat dapat dikategorikan sebagai berikut, untuk diameter >20 mm dikategorikan sangat kuat, 11-20 mm dikategorikan kuat, 6-10 mm dikategorikan sedang dan <5 mm dikategorikan lemah.

Hasil yang didapat dalam penelitian ini membuktikan kebenaran yang sudah dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya yang menyebutkan bahwa *Trichoderma* sp. menghasilkan metabolit sekunder yang mengandung senyawa antibakteri. Daniel *et al.*, (2014) menyatakan bahwa *Trichoderma* sp. mampu menghasilkan metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri diantaranya yaitu poliketida, piron, dan terpen. Beberapa kandungan senyawa antibakteri dalam *trichoderma* sp. telah dilakukan penelitian, seperti pada penelitian Basriya *et al.*, (2017) bahwa *T. harzianum* dan *T. viridae* dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram+ *Staphylococcus aureus* dan gram- *Escheria coli* dengan konsentrasi efektifitas 100 µl/ml aquadest. Menurut penelitian Utkhede & Koch, (2004) *T. harzianum* menghasilkan senyawa antibakteri berupa lisosom untuk mengendalikan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Lisosim menyebabkan gangguan pada dinding sel serta membran sel, pelepasan isi intraseluler dan kematian sel bakteri (Saito *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Metabolit sekunder *Trichoderma harzianum* memiliki kemampuan kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* secara in vitro dengan konsentrasi 100% memiliki zona hambat sebesar 16 mm dengan kategori kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajayasee, T.S, Borkar S.G. (2018). Crop Host Specificity of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Prevalent in Nashik District in India. Departement of Plant Phatology and Agriculture Microbiology, 13(1).
- Akbar, A., Ahmad, M., Azra, & Neelam, & Khan, S. Z., & Ahmad, Z. (2015). Characterization of the Causal Organism of Soft Rot of Tomatoes and Other Vegetables and Evaluation of Its Most Aggressive Isolates. *American Journal of Plant Sciences*, 06(04), 511–517. <https://doi.org/10.4236/ajps.2015.64055>.
- Alfizar, Marlina dan F. Susanti. (2013). Kemampuan Antagonis *Trichoderma* sp. Terhadap Beberapa Jamur Patogen In Vitro. *J. Floratek* (8): 45-51.
- bailis, N., Djamaan, A., Rahma, H., & Liswarni, Y. (2019). Secondary Metabolite Production by *Trichoderma* spp and its Potential as Antibacteria. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(04), 196–201. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.804.020>.
- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., del-Val, E., & Larsen, J. (2016). Ecological Functions of *Trichoderma* spp. and Their Secondary Metabolites in the Rhizosphere: Interactions with Plants. In *FEMS microbiology ecology* (Vol. 92, Issue 4, p. fiw036). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw036>.
- H M, R. B., Anuswedha, A., & Kalaiselvam, M. (2017). Antibacterial Efficacy of Crude Extracts of *Trichoderma* spp. Isolated from Mangrove Rhizosphere. *International Research Journal of Pharmacy*, 8(8), 70–73. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.088147>Ismail, N., & Tenrirawe, A. (2011). Potensi Agen Hayati *Trichoderma harzianum* sebagai Agen Pengendali Hayati. Seminar Regional Inovasi Teknologi Pertanian Mendukung Program Pembangunan Pertanian Provinsi Sulawesi Utara. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Sulawesi Utara.
- Ji, G.-H., Wei, L.-F., He, Y.-Q., Wu, Y.-P., & Bai, X.-H. (2008). Biological Control of Rice Bacterial Blight by *Lysobacter Antibioticus* strain 13-1. *Biological Control*, 45(3), 288–296.
- Naher, L., Kalsom Yusuf, U., Ismail, A., & Hossain, K. (2014). *Trichoderma* spp.: A Biocontrol Agent for Sustainable Management of Plant Diseases. In *Pak. J. Bot* (Vol. 46, Issue 4).
- Rafi, A., Hameed, A., Akhtar, M. A., Sohail, K., Shahid, M., & Fahim, M. (2013). Identification and Characterization of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in North-West of Pakistan. *Sarhad Journal of Agriculture*, 29(3).
- Saito, H., Sakakibara, Y., Sakata, A., Kurashige, R., Murakami, D., Kageshima, H., Saito, A., & Miyazaki, Y. (2019). Antibacterial Activity of Lysozyme-Chitosan Oligosaccharide Conjugates (LYZOX) Against *Pseudomonas Aeruginosa*, *Acinetobacter Baumannii* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*. *PLoS ONE*, 14(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217504>.
- Saksirirat, W., Chareerak, P., & Bunyatrachata, W. (2009). Asian Journal of Food and Agro-Industry Induced Systemic Resistance of Biocontrol Fungus, *Trichoderma* spp. Against Bacterial and Gray Leaf Spot in Tomatoes. *As. J. Food Ag-Ind*, 99–104. www.ajofai.info.
- Saxena, A., Raghuwanshi, R., & Singh, H. B. ahadur. (2015). *Trichoderma* Species Mediated Differential Tolerance Against Biotic Stress of Phytopathogens in *Cicer arietinum* L. *Journal of Basic Microbiology*, 55(2), 195–206. <https://doi.org/10.1002/jobm.201400317>.
- Shukla, A., Shyam, K. R., Gupta, S. K., & Parmar, Y. S. (2003). Bacterial Spot of Tomato (*Xanthomonas Vesicatorlaj* and Its Management-A Review. In *Agric. Rev* (Vol. 24, Issue 2).

Hasni Wardahni, Tri Mujoko, Arika Purnawati: *Potensi Metabolit Sekunder Trichoderma harzianum terhadap Xanthomonas campestris pv. vesicatoria Secara in vitro.* (Hal. 539 - 546)

Soesanto, L., Mugiastuti, E., & Prakoso, B. (2014). Perakitan Biopestisida Trichoderma spp. sebagai Agensia Hayati Penyakit Tanaman untuk Meningkatkan Produksi Tanaman. Laporan Penelitian Hibah Kompetensi Tahun II.

Stall, R. E., Jones, J. B., & Minsavage, G. v. (2009). Durability of Resistance in Tomato and Pepper to Xanthomonads Causing Bacterial Spot. Annual Review of Phytopathology, 47, 265–284. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081752>.

Sukapiring, D. N., Soekarno, B. P. W., & Yuliani, T. S. (2016). Potensi Metabolit Sekunder Cendawan Endofit Tanaman Cabai sebagai Penghambat Fusarium sp. Patogen Asal Biji Secara in Vitro. Jurnal Fitopatologi Indonesia, 12(1), 1–8. <https://doi.org/10.14692/jfi.12.1.1>.

Susanto, D. S., & Ruga, R. (2012). Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (Shorea Leprosula Miq) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. Mulawarmnan Scientifie, 11(2), 181–190.

Thieme, F., Koebnik, R., Bekel, T., Berger, C., Boch, J., Büttner, D., Caldana, C., Gaigalat, L., Goesmann, A., Kay, S., Kirchner, O., Lanz, C., Linke, B., McHardy, A. C., Meyer, F., Mittenhuber, G., Nies, D. H., Niesbach-Klössgen, U., Patschkowski, T., Kaiser, O. (2005). Insights into Genome Plasticity and Pathogenicity of The Plant Pathogenic Bacterium Xanthomonas campestris pv. vesicatoria Revealed by the Complete Genome Sequence. Journal of Bacteriology, 187(21), 7254–7266. <https://doi.org/10.1128/JB.187.21.7254-7266.2005>

Utkhede, R., & Koch, C. (2004). Biological Treatments to Control Bacterial Canker of Greenhouse Tomatoes. BioControl, 49(3), 305–313. <https://doi.org/10.1023/B:BICO.0000025373.69584.08>