

SKRINING KETAHANAN SOMAKLON NILAM TERHADAP PENYAKIT LAYU BAKTERI (*Ralstonia solanacearum*)

Resistance-Screening of Patchouli Somaclones on Bacterial Wilt Disease (Ralstonia solanacearum)

S. Y. HARTATI, E. HADIPOENTYANTI, AMALIA, dan NURSALAM

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jln. Tentara Pelajar No. 3, Bogor 16111

e-mail: sriyuni.hartati@yahoo.com

(Diterima: 7-4-2014; Direvisi: 7-7-2015; Disetujui: 12-8-2015)

ABSTRAK

Layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman nilam. Perakitan varietas nilam tahan terhadap penyakit tersebut yang dilakukan melalui induksi keragaman somaklonal telah menghasilkan beberapa somaklon yang tahan terhadap *R. solanacearum* secara *in-vitro*. Tujuan penelitian adalah menguji tingkat ketahanan somaklon tersebut terhadap penyakit layu pada kondisi rumah kaca (*in-vivo*). Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan 27 perlakuan, 3 ulangan, dan 10 tanaman/ulangan. Sebagian akar dari somaklon nilam dilukai (dipotong), selanjutnya diinokulasi (disiram) dengan suspensi *R. solanacearum* dengan berbagai konsentrasi 10^5 , 10^7 , dan 10^9 cfu/ml, sebanyak 50 ml/tanaman. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa somaklon yang diinokulasi dengan konsentrasi 10^5 cfu/ml, 50 ml/tanaman semuanya tidak menunjukkan gejala layu. Somaklon yang diinokulasi dengan konsentrasi 10^7 dan 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman, sebagian layu dan mati. Dari somaklon yang diinokulasi dengan konsentrasi 10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman, 8 di antaranya menunjukkan respon sangat tahan, 4 tahan, dan 5 agak tahan. Ke 17 somaklon tersebut mempunyai intensitas penyakit <50% dan semua lebih tahan dari pada varietas Sidikalang (agak toleran). Dari 17 somaklon yang diinokulasi dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman, 2 di antaranya sangat tahan dan 7 somaklon tahan. Teknik skrining ini dapat digunakan sebagai metode standar untuk pengujian ketahanan nilam terhadap penyakit layu.

Kata kunci: Skrining ketahanan, somaklon, nilam, penyakit layu, *R. solanacearum*.

ABSTRACT

Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* is one of the most important diseases on patchouli. The developing patchouli resistance varieties against wilt disease conducted through the induction of somaclonal variation produced resistant patchouli somaclones against *R. solanacearum* (*in-vitro*). The aim of this research was to screen the resistance of those patchouli somaclones against wilt disease under a glass house condition (*in-vivo*). The research was conducted in a Randomized Completely Design with 27 treatments, 3 replicates, and 10 plants/replicate. Some roots of the patchouli somaclones were wounded (cut), then inoculated (drenched) with *R. solanacearum* suspension in concentration of 10^5 , 10^7 , and 10^9 cfu/ml; 50 ml/plant. The result showed, that all the patchouli somaclones inoculated with *R. solanacearum* 10^5 cfu/ml, 50 ml/plant were not show any wilt symptom. Whereas, some somaclones inoculated with the higher concentration 10^7 and 10^9 cfu/ml, 50 ml/plant were wilted and died. Among the somaclones inoculated with the concentration of 10^7 cfu/ml, 50 ml/plant, 8 of them were highly resistant, 4 were resistant, and 5 were moderately resistant. The disease intensity of those 17 somaclones were <50% and they were more resistant

than the Sidikalang variety (moderately tolerant). Among those 17 somaclones inoculated with the concentration of 10^9 cfu/ml, 50 ml/plant, 2 of them were highly resistant and 7 were resistant. This screening method could be used as a standard protocol for patchouli resistance screening against wilt disease.

Kata kunci: Screening resistance, somaclone, patchouli, wilt disease, *R. solanacearum*.

PENDAHULUAN

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* merupakan salah satu penyakit yang sangat penting pada tanaman nilam (*Pogostemon cablin* BENTH) (MATHEW *et al.*, 1994; NASRUN *et al.*, 2004 dan 2005; NASRUN dan NURYANI, 2007a; PENG *et al.*, 2012; WAHYUNO *et al.*, 2011). Penyakit tersebut sering menjadi kendala utama pada berbagai jenis tanaman di daerah tropis, sub tropis, bahkan di daerah dingin seperti di Eropa Barat dan Utara (CHANDRASHEKARA *et al.*, 2012; DESLANDES *et al.*, 2002; ELPHINSTONE, 2005; HAYWARD, 1991; MIMURA *et al.*, 2009; MIMURA dan YOSHIKAWA, 2009; MUTHONI *et al.*, 2014; PEETERS *et al.*, 2013).

R. solanacearum mempunyai kisaran inang yang sangat luas dan dapat menginfeksi lebih dari 500 species tanaman dari 50 famili (HAYWARD, 1991), terutama pada kelompok tanaman Solanaceae, seperti cabe (MIMURA *et al.*, 2009 dan MIMURA dan YOSHIKAWA, 2009), kentang (CRUZ *et al.*, 2014; CHEPKOECH *et al.* 2013; MUTHONI *et al.*, 2014), tomat (CHANDRASHEKARA *et al.*, 2012; GRIMAULT dan PRIOR, 1994; HANSON *et al.*, 1996; ISHIHARA *et al.*, 2012; KRAUSZ dan THURSTON, 1975; TIWARI *et al.*, 2012), terung (HUSSAIN *et al.*, 2005), serta pada jenis tanaman lainnya seperti abaka, jahe, jute, kacang tanah, kapas, kayu putih, pisang, tembakau dan beberapa jenis gulma (ELPHINSTONE, 2005; GENIN dan DENNY, 2012; HAYWARD, 1991; OZAKI dan WATABE, 2009; SIRI *et al.*, 2009; WENNEKER *et al.*, 1999 dalam HUET, 2014).

Bakteri tersebut merupakan patogen tular tanah yang mampu bertahan hidup di dalam tanah dalam jangka waktu yang cukup lama tanpa adanya tanaman inangnya

(DESLANDES *et al.*, 2002; CARUSO *et al.*, 2005; CHEPKOECH *et al.*, 2013; ELPHINSTONE, 2005; GRIMAULT *et al.*, 1994; HAYWARD, 1991; ISHIHARA *et al.*, 2012; SIRI *et al.*, 2012; TIWARI *et al.*, 2012; WENNEKER *et al.*, 1999 dalam HUET, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa *R. solanacearum* mempunyai sifat ekobiologi yang sangat kompleks, karena patogen tersebut berinteraksi sangat erat dengan lingkungan dan tanaman inangnya (FEGAN dan PRIOR, 2005; HAYWARD, 1991; MUTHONI *et al.*, 2014). Oleh karena itu, pengendalian penyakit layu menjadi semakin sulit dan sering menghadapi berbagai kendala (HUET, 2014).

Pengendalian terhadap penyakit layu secara kimia selain mahal juga kurang efektif (CHEPKOECH *et al.*, 2013; ISHIHARA *et al.*, 2012). Pengendalian secara biologi juga kurang efektif dan masih sulit diterapkan secara luas di lapangan (CHEPKOECH *et al.*, 2013; ISHIHARA *et al.*, 2012; NASRUN *et al.*, 2005; NASRUN dan NURYANI, 2007a). Demikian juga sanitasi, kultur teknis, rotasi tanaman, dan karantina masih sangat sulit diterapkan (HUET, 2014; MARTIN and FRENCH, 1985 dalam MUTHONI *et al.*, 2014; MIMURA *et al.*, 2009). Oleh karena itu, untuk penyakit layu masih perlu dilakukan pengembangan teknik pengendalian secara preventif maupun kuratif yang efektif dan mudah diterapkan, serta yang bersifat lebih ramah lingkungan.

Penanaman varietas tahan merupakan salah satu cara pengendalian yang diharapkan dapat mengurangi kehilangan produksi akibat penyakit layu yang disebabkan oleh *R. solanacearum* (CHEPKOECH *et al.*, 2013; DESLANDES *et al.*, 2002; HUET, 2014; ISHIHARA *et al.*, 2012; MIMURA *et al.*, 2009; MUTHONI *et al.*, 2014). Tanaman yang tahan terhadap penyakit layu, pada umumnya mampu menghambat pertumbuhan, perkembangan, dan penyebaran *R. solanacearum* di dalam jaringannya (GRIMAULT and PRIOR, 1994 dan ISHIHARA *et al.*, 2012). Menurut MIMURA dan YOSHIKAWA (2009), tanaman yang agak tahan masih dapat tumbuh dan berproduksi pada lahan yang telah terkontaminasi oleh *R. solanacearum*, jika kondisi lingkungannya tidak cocok untuk pertumbuhan patogen tersebut. Namun pengembangan varietas tahan pada umumnya memerlukan waktu yang cukup lama, dan pengujian-pengujiannya seringkali menghadapi beberapa kendala (HUET, 2014).

Dalam merakit varietas tahan terhadap penyakit layu, tahap awal yang perlu dilakukan adalah skrining ketahanan tanaman terhadap *R. solanacearum* pada kondisi lingkungan yang diinginkan (MUTHONI *et al.*, 2014). Dalam hal ini perlu ada dukungan teknik inokulasi yang efektif dan tepat untuk melakukan skrining tersebut, agar respon yang ditunjukkan oleh tanaman yang diuji lebih akurat.

Ada beberapa teknik inokulasi *R. solanacearum* yang sering digunakan untuk skrining ketahanan tanaman terhadap penyakit layu, di antaranya adalah teknik perendaman akar dalam inokulum *R. solanacearum* (*root inoculation method*) (DESLANDES *et al.*, 2002), penyiraman inokulum pada media tumbuh (tanah) di sekitar tanaman uji (*drenching method*) (CRUZ *et al.*, 2014; HARTATI dan KARYANI, 2014; MIMURA *et al.*, 2009; MIMURA dan YOSHIKAWA, 2009; MUTHONI *et al.*, 2014; NASRUN *et al.*,

2004; TIWARI *et al.*, 2012), dan injeksi inokulum *R. solanacearum* dengan bantuan jarum suntik atau infus pada batang tanaman uji (DIANESE *et al.*, 1990; ISHIHARA *et al.*, 2012; THERA, 2007; WINSTEAD dan KELMAN, 1952 dalam AYANA *et al.*, 2011).

Untuk skrining ketahanan tanaman terhadap suatu penyakit, sebaiknya menggunakan teknik inokulasi yang bersifat lebih alami, agar infeksi patogen terjadi seperti kondisi di alam, yaitu patogen menginfeksi tanaman melalui luka atau ujung akar (VASSE *et al.*, 1995 dalam MIMURA *et al.*, 2009). Menurut HARTATI dan KARYANI (2014), metode inokulasi dengan penyiraman inokulum *R. solanacearum* pada tanah di sekitar tanaman uji yang akarnya telah dilukai terlebih dahulu adalah yang paling efektif dan stabil dalam menimbulkan gejala layu pada tanaman nilam. Teknik tersebut juga terbukti cukup efektif untuk inokulasi *R. solanacearum* pada tanaman kentang (THERA, 2007), serta tomat dan tembakau (WINSTEAD dan KELMAN, 1952 dalam AYANA *et al.*, 2011). Oleh karena itu, teknik tersebut memungkinkan jika digunakan untuk skrining ketahanan tanaman terhadap penyakit layu (*R. solanacearum*).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji tingkat ketahanan somaklon nilam terhadap penyakit layu bakteri (*R. solanacearum*) secara *in-vivo* pada kondisi rumah kaca. Selain itu juga untuk mendapatkan teknik inokulasi yang tepat dan efektif, agar respon tanaman yang ditunjukkan lebih akurat.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di rumah kaca Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor tahun 2015. Bahan yang digunakan meliputi 26 benih somaklon nilam yang tahan terhadap *R. solanacearum* secara *in-vitro*. Somaklon tersebut berasal dari kalus nilam varietas Sidikalang yang telah diinduksi mutasi dengan iradiasi dan diseleksi secara *in-vitro* dengan filtrat *R. solanacearum*. Benih nilam varietas Sidikalang yang agak toleran terhadap penyakit layu (NASRUN *et al.*, 2004), dan isolat *R. solanacearum* (T1083) juga digunakan dalam penelitian ini. Percobaan disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAK) dengan 27 perlakuan. Setiap perlakuan diulang 3 kali dengan 10 tanaman/ulangan.

Persiapan Somaklon Nilam

Somaklon nilam ditanam pada media campuran tanah dan pupuk kandang (2:1) di dalam *poly bag* dan diaklimatisasi di rumah kaca. Benih somaklon diperbanyak melalui setek dan selanjutnya ditanam pada media tumbuh yang sama. Setek somaklon yang baru ditanam, disungkup dengan gelas plastik tembus cahaya selama 1-2 minggu. Setelah benih somaklon berhasil beradaptasi dan tumbuh sehat, sungkup plastik dibuka.

Persiapan Inokulum *R. solanacearum*

Isolat *R. solanacearum* hasil isolasi dari sampel tanaman nilam sakit dimurnikan, diperbanyak pada media Sukrose Pepton Agar (SPA), dan diinkubasi pada suhu 28°C. Isolat *R. solanacearum* yang telah murni yang berumur 2 hari disuspensikan dengan air steril dan diukur kepadatan populasinya dengan menggunakan alat spektrofotometer. Suspensi bakteri diatur kepadatannya, sehingga diperoleh nilai *optical density* (OD) sebesar 0.0001; 0.01; dan 1.0 yang konsentrasinya setara dengan 10⁵, 10⁷, dan 10⁹ cfu/ml. Selain itu juga disiapkan air steril yang digunakan sebagai perlakuan kontrol.

Inokulasi *R. solanacearum* pada Benih Somaklon Nilam

Benih somaklon nilam umur 1 bulan diinokulasi dengan inokulum *R. solanacearum* yang berupa suspensi. Suspensi *R. solanacearum* tersebut (50 ml/tanaman untuk sekitar 1 kg tanah) disiramkan pada tanah di sekitar perakaran tanaman nilam. Sebelum diinokulasi sebagian akar nilam dipotong dengan pisau yang ditusukkan ke dalam tanah di daerah perakaran nilam (DIANESE *et al.*, 1990).

Pengamatan Penyakit Layu

Gejala penyakit layu diamati setiap hari berturut-turut selama 21 hari. Pengamatan selanjutnya dilakukan selang satu minggu. Parameter yang diamati adalah awal munculnya gejala layu dan jumlah tanaman yang layu (mati) akibat infeksi *R. solanacearum*. Beberapa sampel tanaman yang layu diambil dan diisolasi untuk dikonfirmasi patogen penyebabnya. Tingkat kelayuan tanaman ditentu-

kan dengan skala yang digunakan oleh WINSTEAD dan KELMAN, 1952 dalam AYANA *et al.* (2011) (Tabel 1 dan 2). Intensitas penyakit ditentukan berdasarkan persentase jumlah tanaman nilam yang mati akibat infeksi *R. solanacearum* yang dihitung dengan rumus yang digunakan oleh AYANA *et al.* (2011).

Somaklon nilam yang diinokulasi *R. solanacearum* dengan konsentrasi inokulum 10⁷ cfu/ml, 50 ml/tanaman yang menunjukkan respon sangat tahan, tahan, dan agak tahan serta mempunyai intensitas penyakit <50%, pada tahap selanjutnya juga dievaluasi responnya terhadap *R. solanacearum* dengan konsentrasi inokulum yang lebih tinggi (10⁹ cfu/ml, 50 ml/tanaman).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Periode Inkubasi Penyakit Layu

Somaklon nilam yang diinokulasi *R. solanacearum*, sebagian menjadi layu dan mati. Gejala layu pada umumnya terjadi secara mendadak pada seluruh bagian tanaman. Namun kadang-kadang kelayuan daun hanya terjadi pada beberapa ranting atau cabang saja. Selanjutnya daun-daun pada ranting dan cabang lainnya juga menjadi layu, dan akhirnya seluruh tanaman menjadi mati. Hasil isolasi beberapa sampel tanaman yang layu telah diperoleh isolat bakteri yang koloninya mempunyai ciri-ciri morfologi yang mirip dengan *R. solanacearum*. Hal tersebut membuktikan bahwa layu dan kematian yang terjadi pada somaklon nilam yang diuji disebabkan karena infeksi *R. solanacearum*.

Table 1. Skala gejala layu pada tanaman nilam yang diinokulasi *R. solanacearum*
Table 1. Scale of wilt symptom of patchouli plant inoculated with *R. solanacearum*

Skala / Scale	Keterangan / Notes
0	Tanaman sehat / <i>The plant is healthy</i>
1	Satu daun layu / <i>One leave is wilted</i>
2	Dua daun atau lebih layu / <i>Two leaves are wilted</i>
3	Semua daun layu kecuali daun pucuk / <i>All leaves are wilted except the tip</i>
4	Tanaman layu / <i>The plant is wilted</i>
5	Tanaman mati / <i>The plant is died</i>

Tabel 2. Ketahanan somaklon nilam yang diinokulasi secara buatan dengan *R. solanacearum*
Table 2. Resistance of patchouli somaclones artificially inoculated with *R. solanacearum*

Skala / Scale	Jumlah somaklon yang layu dan mati <i>Number of wilted and died somaclones (%)</i>	Respon somaklon nilam terhadap penyakit layu* <i>Respon of patchouli somaclones against wilt disease</i>
0	0	Sangat tahan / <i>Highly resistance</i>
1	1-20	Tahan / <i>Resistance</i>
2	21- 40	Agak tahan / <i>Moderately resistance</i>
3	41- 60	Agak rentan / <i>Moderately susceptible</i>
4	61- 80	Rentan / <i>Susceptible</i>
5	81-100	Sangat rentan / <i>Highly susceptible</i>

* Winstead dan Kelman, 1952 dalam AYANA *et al.* (2011).

* *Winstead and Kelman, 1952 in AYANA et al. (2011).*

Gejala layu pada umumnya terjadi lebih awal pada varietas Sidikalang yang digunakan sebagai pembanding yang agak toleran terhadap penyakit layu (NASRUN *et al.*, 2004) dibandingkan dengan pada somaklon nilam yang diuji (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa periode inkubasi penyakit layu pada somaklon nilam yang diuji lebih panjang dibandingkan dengan pada varietas Sidikalang.

Menurut HUSSAIN *et al.* (2005), periode inkubasi penyakit layu pada tanaman terung yang tahan lebih panjang dibandingkan dengan pada tanaman yang rentan. Hal ini menunjukkan bahwa periode inkubasi dapat digunakan untuk menentukan tingkat ketahanan tanaman terhadap suatu penyakit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa somaklon nilam yang diuji lebih tahan terhadap penyakit layu dibandingkan dengan varietas Sidikalang.

HARTATI dan KARYANI (2014), melaporkan bahwa periode inkubasi lebih pendek jika inokulasi patogen dilakukan dengan teknik penyuntikan inokulum pada batang dengan bantuan jarum (*stem puncture*) dibandingkan dengan metode penyiraman inokulum pada media tumbuh tanaman yang akarnya telah dilukai maupun tidak. Hal ini menunjukkan bahwa periode inkubasi juga bervariasi tergantung dari metode inokulasi yang digunakan. Menurut MIMURA *et al.* (2009), dengan memodifikasi teknik inokulasi yang digunakan dalam pengujian ketahanan terhadap *R. solanacearum*, tanaman akan memberikan respon yang lebih baik.

Pengaruh Konsentrasi Inokulum *R. solanacearum* terhadap Kejadian Penyakit Layu

Somaklon nilam yang tidak diinokulasi (kontrol) dan yang diinokulasi *R. solanacearum* konsentrasi 10^5 cfu/ml, 50 ml/tanaman semuanya tidak ada yang menunjukkan gejala layu dan mati (sehat). Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 10^5 cfu/ml, 50 ml/tanaman tidak efektif untuk menimbulkan gejala layu pada somaklon nilam yang diuji. Sedangkan somaklon yang diinokulasi dengan konsentrasi lebih tinggi 10^7 dan 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman, beberapa tanamannya menjadi layu dan mati (Tabel 3). Dengan demikian konsentrasi 10^7 dan 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman cukup efektif untuk menimbulkan gejala layu pada somaklon nilam yang diuji.

Penelitian ini mengindikasikan bahwa konsentrasi inokulum berpengaruh terhadap keberhasilan infeksi *R. solanacearum*. Periode inkubasi pada somaklon nilam yang diinokulasi *R. solanacearum* konsentrasi 10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman pada umumnya juga lebih panjang jika dibandingkan dengan yang diinokulasi dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi inokulum selain berpengaruh terhadap keberhasilan infeksi *R. solanacearum*, juga berpengaruh terhadap periode inkubasi penyakit layu.

Intensitas Penyakit Layu

Intensitas penyakit layu pada somaklon nilam yang diuji juga bervariasi tergantung dari konsentrasi *R. solanacearum* yang digunakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa intensitas penyakit lebih kecil pada somaklon nilam yang diinokulasi *R. solanacearum* dengan konsentrasi 10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman dibandingkan dengan yang diinokulasi dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa respon ketahanan yang ditunjukkan oleh somaklon nilam yang diuji dipengaruhi oleh konsentrasi *R. solanacearum* yang digunakan.

Dari 26 somaklon yang diinokulasi *R. solanacearum* konsentrasi 10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman, 8 di antaranya (S1, S3, S5, S6, S8, S9, S12, dan S14), menunjukkan respon sangat tahan, 4 somaklon (S4, S10, S17, dan S22) tahan, dan 5 somaklon (S11, S16, S19, S20, dan S23) agak tahan. Sedangkan somaklon lainnya agak rentan, rentan, atau sangat rentan (Tabel 4). Ke 17 somaklon yang sangat tahan, tahan, dan agak tahan tersebut semuanya mempunyai intensitas penyakit <50% dan menunjukkan lebih tahan dari pada varietas Sidikalang (Tabel 3).

Dari 17 somaklon nilam yang diinokulasi *R. solanacearum* konsentrasi lebih tinggi 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman, 2 di antaranya (S5 dan S8) menunjukkan respon yang sangat tahan dan 7 somaklon (S1, S3, S6, S9, S10, S12, dan S14) tahan. Sedangkan somaklon yang lainnya agak rentan atau rentan (Tabel 5). Ke 9 somaklon yang sangat tahan dan tahan tersebut semuanya mempunyai intensitas penyakit <50% dan semuanya juga menunjukkan lebih tahan dibandingkan dengan varietas Sidikalang (Tabel 3).

Beberapa somaklon nilam yang diuji menunjukkan respon yang stabil baik pada waktu diinokulasi *R. solanacearum* konsentrasi rendah 10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman (Tabel 4) maupun tinggi 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman (Tabel 5). Sedangkan somaklon yang lainnya menunjukkan respon yang tidak stabil, yaitu ada beberapa somaklon yang menjadi lebih rentan pada waktu diinokulasi dengan konsentrasi yang lebih tinggi 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman (Tabel 4 & 5).

Dari 8 somaklon (S1, S3, S5, S6, S8, S9, S12, dan S14) yang menunjukkan respon sangat tahan pada waktu diinokulasi *R. solanacearum* dengan konsentrasi 10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman (Tabel 4), 2 di antaranya (S5 dan S8) menunjukkan respon yang stabil sangat tahan pada waktu diinokulasi dengan konsentrasi yang lebih tinggi 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman (Tabel 5). Sedangkan somaklon yang lainnya turun ketahanannya, yaitu yang semula sangat tahan menjadi tahan (Tabel 4 dan 5).

Somaklon S10 menunjukkan respon yang stabil tahan baik pada waktu diinokulasi *R. solanacearum* konsentrasi 10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman maupun 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman. Somaklon S4 dan S17 yang semula menunjukkan respon tahan berubah menjadi agak rentan, sedang somaklon S22 yang semula tahan menjadi agak rentan (Tabel 4 dan 5).

Tabel 3. Periode inkubasi dan intensitas penyakit layu pada somaklon nilam, 3 bulan setelah diinokulasi *R. solanacearum* (T1083)

Table 3. Incubation period and wilt disease intensity on patchouli somaclones, 3 months after *R. solanacearum* (T1083) inoculation

Somaklon nilam Patchouli somaclones	Konsentrasi inokulum <i>R. solanacearum</i> Concentration of <i>R. solanacearum</i> inoculums			
	10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman 10^7 cfu/ml, 50 ml/plant		10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman 10^9 cfu/ml, 50 ml/plant	
	Intensitas penyakit Disease intensity	Periode inkubasi (hari) Incubation period (days)	Intensitas penyakit Disease intensity	Periode inkubasi (hari) Incubation period (days)
S1	000.0 i	> 90 hari a	13.3 c	> 15.0 bc
S2	076.7 b	> 14.0 c	*	*
S3	000.0 i	> 90 hari a	16.7 c	> 16.0 b
S4	020.0 h	> 12.0 de	53.3 b	> 12.0 d
S5	000.0 i	> 90 hari a	00.0 d	> 90 hari a
S6	000.0 i	> 90 hari a	16.7 c	> 16.0 b
S7	053.3 cdef	> 12.3 cde	*	*
S8	000.0 i	> 90 hari a	00.0 d	> 90 hari a
S9	000.0 i	> 90 hari a	13.3 c	> 16.0 b
S10	016.7 h	> 16.0 b	16.7 c	> 15.0 bc
S11	036.7 fg	> 12.0 de	56.7 ab	> 11.7 d
S12	000.0 i	> 90 hari a	16.7 c	> 16.0 b
S13	060.0 bc	> 12.7 cde	*	*
S14	000.0 i	> 90 hari a	13.3 c	> 15.0 bc
S15	100.0 a	> 12.7 cde	*	*
S16	040.0 efg	> 14.0 c	73.3 a	> 12.3 d
S17	020.0 h	> 14.0 c	56.7 ab	> 12.7 d
S18	060.0 bc	> 12.7 cde	*	*
S19	033.3 g	> 11.7 e	73.3 a	> 12.3 d
S20	040.0 defg	> 12.7 cde	60.0 ab	> 12.3 d
S21	056.7 bcd	> 12.7 cde	*	*
S22	016.7 h	> 12.0 de	56.7 ab	> 13.3 cd
S23	033.3 g	> 13.7 cd	53.3 b	> 13.0 cd
S24	056.7 bcd	> 13.0 cde	*	*
S25	100.0 a	> 12.7 cde	*	*
S26	053.3 cde	> 13.0 cde	*	*
Sidikalang	053.3 cde	> 09.3 f	76.7 a	> 09.0 e

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji Duncan 5%

Notes: Numbers followed by the same letters in the same column are not significantly different at 5% Duncan test

*: Somaklon nilam tidak diuji / Patchouli somaclones were not tested

Tabel 4. Tingkat ketahanan somaklon nilam yang diinokulasi secara buatan dengan *Ralstonia solanacearum* (10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman)

Table 4. Resistance degree of the patchouli somaclones artificially inoculated by *Ralstonia solanacearum* (10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman)

Somaklon / Somaclones	Tingkat ketahanan / Resistance degree
S1, S3, S5, S6, S8, S9, S12, dan S14	Sangat tahan / Highly resistance
S4, S10, S17, dan S22	Tahan / Resistance
S11, S16, S19, S20, dan S23	Agak tahan / Moderately resistance
S7, S13, S18, S21, S24, S26, dan Sidikalang	Agak rentan / Moderately susceptible
S2	Rentan / Susceptible
S15 dan S25	Sangat rentan / Highly susceptible

Tabel 5. Tingkat ketahanan somaklon nilam yang diinokulasi secara buatan dengan *R. solanacearum* (10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman)

Table 5. Resistance degree of the patchouli somaclones artificially inoculated by *R. solanacearum* (10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman)

Somaklon / Somaclones	Tingkat ketahanan / Resistance degree
S5 dan S8	Sangat tahan / Highly resistance
S1, S3, S6, S9, S10, S12, dan S14	Tahan / Resistance
	Agak tahan / Moderately resistance
S4, S11, S17, S20, S22, S23	Agak rentan / Moderately susceptible
S16, S19, dan Sidikalang	Rentan / Susceptible
	Sangat rentan / Highly susceptible

Somaklon (S11, S20, dan S23) yang semula agak tahan pada waktu diinokulasi *R. solanacearum* konsentrasi 10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman turun ketahanannya menjadi agak rentan pada waktu diinokulasi dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml, 50 ml/tanaman. Sedang somaklon (S16 dan S19) yang semula agak tahan menjadi rentan. Sementara varietas Sidikalang yang semula menunjukkan respon agak rentan pada waktu diinokulasi *R. solanacearum* konsentrasi 10^7 cfu/ml, 50 ml/tanaman menjadi rentan pada waktu diinokulasi dengan konsentrasi 10^9 cfu/ml, 50 ml/ tanaman (Tabel 4 dan 5).

Agresifitas *R. solanacearum* sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Suhu dan kelembaban tanah yang tinggi akan mendukung ketahanan, reproduksi, infeksi, dan penyebaran *R. solanacearum* serta perkembangan penyakitnya (MARTIN dan FRENCH, 1985 dalam MUTHONI *et al.*, 2014). Menurut AGRIOS (2005), HAYWARD (1991), KRAUSZ dan THURSTON (1975), proses infeksi dari patogen dan perkembangan penyakit tanaman pada umumnya sangat juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, seperti suhu dan kelembapan udara, intensitas cahaya, konsentrasi inokulum, jenis isolat dan tingkat virulensi patogen, individu tanaman, umur dan varietas, serta beberapa faktor genetik lainnya. Faktor-faktor tersebut akan berpengaruh terhadap keberhasilan teknik inokulasi yang digunakan dalam skrining ketahanan tanaman terhadap suatu penyakit.

Respon tanaman terhadap penyakit layu (*R. solanacearum*) juga sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, seperti suhu, kelembaban udara dan tanah, serta radiasi cahaya matahari (HAYWARD, 1991; HANSON *et al.*, 1996; HUSSAIN *et al.*, 2005; NISHI *et al.*, 2003 dalam MIMURA *et al.*, 2009; dan TUNG *et al.*, 2006). MIMURA *et al.* (2009) juga melaporkan bahwa inokulasi *R. solanacearum* yang dilakukan di rumah kaca sering memberikan respon tanaman yang tidak konstan. Tanaman yang layu (pada saat cahaya cerah) mungkin akan menjadi segar kembali, jika cuacanya mendung pada hari berikutnya.

CHANDRASHEKARA *et al.* (2012), MEHAN *et al.* (1986), HARTATI dan KARYANI (2014) melaporkan, bahwa perbedaan respon tanaman terhadap penyakit layu juga dipengaruhi oleh kepadatan populasi, keragaman virulensi patogennya, dan metode inokulasi yang digunakan. Faktor-faktor tersebut mempunyai peranan yang sangat penting terhadap keberhasilan infeksi patogen, timbulnya gejala layu, dan keparahan penyakit. Oleh karena itu, untuk skrining ketahanan tanaman terhadap penyakit layu diperlukan isolat *R. solanacearum* yang virulen, konsentrasi inokulum yang mampu menimbulkan infeksi pada tanaman uji, dan metode inokulasi yang efektif dapat menimbulkan gejala layu (HARTATI dan KARYANI, 2014). Menurut MUTHONI *et al.* (2014), populasi *R. solanacearum* yang tinggi di dalam jaringan dan pertumbuhan vegetatif tanaman yang baik (subur) akan meningkatkan kejadian penyakit (jumlah tanaman yang layu) di lapangan.

Isolat-isolat *R. solanacearum* menunjukkan keragaman virulensi, seperti yang ditunjukkan pada tanaman cabe (MIMURA *et al.*, 2009 dan MIMURA dan YOSHIKAWA, 2009), kentang (SIRI *et al.*, 2009; SIRI dan PIANZOLLA, 2011), dan pada tanaman *Strelitzia reginae* (RODRIGUES, 2011). Tingkat virulensi *R. solanacearum* tersebut ber-

pengaruh terhadap terjadinya penyakit dan tingkat keparahannya di lapangan. Tingkat virulensi *R. Solanacearum* mempunyai peranan yang lebih besar dalam menimbulkan gejala layu dari pada kepadatan populasinya (CHANDRASHEKARA *et al.*, 2012). Sementara itu, mekanisme virulensinya berhubungan erat dengan beberapa faktor, seperti kisaran inang, sebaran geografis, sifat fisiologi, dan daya adaptasinya terhadap suhu dan kelembapan lingkungan (CELLIER dan PRIOR, 2010; MILLING *et al.*, 2009). *R. solanacearum* juga mempunyai variasi genetik yang sangat tinggi (HUET, 2014), sehingga di alam dikelompokkan menjadi beberapa strain atau ras berdasarkan jenis tanaman inangnya, beberapa biovar berdasarkan sumber karbon yang diperlukan, serta filotipe berdasarkan asal geografiknya (BUDDENHAGEN, 1986; ELPHINSTONE, 2005; FEGAN dan PRIOR, 2005; HAYWARD, 1986 dalam MIMURA dan YOSHIKAWA, 2009; PEETERS *et al.*, 2013; SIRI *et al.*, 2011). Menurut NASRUN *et al.* (2007b), *R. solanacearum* yang menyerang tanaman nilam di Indonesia termasuk dalam strain 1 dan biovar 3.

Uji ketahanan tanaman terhadap penyakit layu dan uji virulensi *R. solanacearum* juga pernah dilakukan pada tanaman cabe (MIMURA *et al.*, 2009; MIMURA dan YOSHIKAWA, 2009), eucalyptus (DIANESE *et al.*, 1990), kentang (CARPUTO *et al.*, 2007 dan 2009; CRUZ *et al.*, 2014; MUTHONI *et al.*, 2012; MUTHONI *et al.*, 2014), nilam (NASRUN *et al.*, 2004; HARTATI dan KARYANI, 2014), terung (HUSSAIN *et al.*, 2005), dan tomat (HANSON *et al.*, 1996; TIWARI *et al.*, 2012).

R. solanacearum mempunyai interaksi yang sangat erat dengan lingkungan dan tanaman inangnya, oleh karena itu, sifat ketahanan tanamannya menjadi sering tidak stabil dan bersifat spesifik lokasi. Pada umumnya sifat ketahanan hanya ditunjukkan terhadap strain-strain *R. solanacearum* yang ada di suatu lokasi, namun tidak untuk strain-strain lainnya di lokasi yang berbeda (MARTIN dan FRENCH, 1985 dalam CRUZ *et al.*, 2014). FRENCH dan DE LINDO (1982) dalam HUET (2014) melaporkan, bahwa tanaman kentang yang tahan terhadap *R. solanacearum* bersifat tidak stabil, apabila ditanam di lokasi yang berbeda. Sifat ketahanannya akan runtuh jika suhu udaranya tinggi dan intensitas cahayanya berkurang. ISHIHARA *et al.* (2012) juga melaporkan, bahwa tanaman tomat yang tahan terhadap penyakit layu sering menjadi runtuh sifat ketahanannya apabila suhu, kelembaban, dan populasi patogennya tinggi. Menurut WANG *et al.* (2000), tanaman tomat cultivar Hawaii 7996 (GRIMAULT *et al.*, 1994) yang tahan terhadap *R. solanacearum* selain bersifat spesifik lokasi juga spesifik terhadap strain *R. solanacearum* tertentu. Hal tersebut menunjukkan betapa sulitnya untuk memperoleh ketahanan yang bersifat umum terhadap penyakit layu (HUET, 2014).

Untuk mengurangi tekanan dari *R. solanacearum* dan agar sifat ketahanan tanaman terhadap penyakit layu lebih stabil dan tahan lama, maka penanaman varietas tahan harus didukung dengan menerapkan teknik pengendalian secara terpadu. Rotasi tanaman dan teknik budidaya lainnya sebaiknya diterapkan untuk mengurangi populasi bakteri *R. solanacearum* di dalam tanah, air, dan daerah perakaran gulma serta tanaman lain yang bukan inangnya (LOPEZ dan BIOSCA, 2005 dalam HUET, 2014)

KESIMPULAN

Berdasarkan 26 somaklon nilam yang diuji respon ketahanannya terhadap *R. solanacearum* pada kondisi rumah kaca, 15 di antaranya menunjukkan respon yang lebih tahan dari pada varietas Sidikalang dan 9 di antaranya sangat tahan dan tahan. Dari 9 somaklon tersebut, 2 di antaranya (S5 dan S8) lebih stabil sifat ketahanannya dibandingkan dengan somaklon lainnya. Ke 9 somaklon tersebut, perlu diuji lebih lanjut pada kondisi lapang untuk memastikan peluangnya, jika digunakan sebagai calon varietas nilam yang tahan terhadap penyakit layu.

Untuk skrining ketahanan tanaman nilam terhadap penyakit layu, sebaiknya digunakan teknik inokulasi yang bersifat lebih alami dan efektif, agar respon ketahanan yang ditunjukkan oleh tanaman uji menjadi lebih akurat. Selain itu juga diperlukan konsentrasi inokulum *R. solanacearum* yang efektif dapat menimbulkan infeksi dan gejala layu pada tanaman. Teknik inokulasi dengan penyiraman inokulum *R. solanacearum* setelah dilakukan pelukaan akar memungkinkan untuk diimplementasikan dalam skrining ketahanan tanaman nilam terhadap penyakit layu.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan input dan saran untuk perbaikan naskah tulisan ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Nuri Karyani, Totong, dan Sugandi yang telah membantu dalam melaksanakan penelitian ini baik di laboratorium maupun di rumah kaca.

DAFTAR PUSTAKA

- AGRIOS, G.N. 2005. Plant pathology. Fifth edition. Elsevier Academic Press. 922 pp.
- AYANA, G., C. FININSA, S. AHMED, and K. WYDRA. 2011. Effects of soil amendment on bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* and tomato yields in Ethiopia. *Journal of Plant Protection Research*. 51(1): 72-76.
- BUDDENHAGEN, I.W. 1986. Bacterial wilt revisited in G.J. Persley (ed). *Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific*. ACIAR Proceeding. 13: 126-143.
- CARUSO, P., J.L. PALOMA, E. BERTOLINI, B. ALVAREZ, M.M. LOPEZ, and E.G. BIOSCA. 2005. Seasonal variation of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 populations in a Spanish river: Recovery of stressed cells at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 140-148.
- CARPUTO, D., L. CASTALDI, I. CARUSO, R. AVERSANO, L. MONTI, and L. FRUSCIANTE. 2007. Resistance to frost and tuber soft rot in near-pentaploid *Solanum tuberosum*-*S. commersonii* hybrids. *Breed. Science*. 57: 145-151. 9.
- CARPUTO, D., R.AVERSANO, A. BARONE, A. DIMATTEO, M. IORIZZO, L. SIGILLO, A. ZOINA, and L. FRUSCIANTE. 2009. Resistance to *Ralstonia solanacearum* of sexual hybrids between *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*. *Journal of Potato Research*. 86: 196-202.
- CELLIER, G. and P. PRIOR. 2010. Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato. *Phytopathology*. 11: 1250-1261.
- CHANDRASHEKARA, K.N., M.K.P. KUMAR, and S. SAROJA. 2012. Aggressiveness of *Ralstonia solanacearum* isolates on tomato. *Journal of Experimental Science*. 3(9): 5-9.
- CHEPKOECH, E., M. KINYUA, O. KIPLAGAT, E.E. ARUNGA, S. KIMNO, G. OLWENYO, P. NJUGUNA, and J. OGGEMA. 2013. Potato breeding potential for resistance to bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) in Kenya. *African Crop Science Conference Proceedings*, Vol. 11: 517-520.
- CRUZ, A.P.Z., V. FERREIRA, M. J. PIANZZOLA, M.I. SIRI, N.S. COLL, and M. VALLS. 2014. A novel, sensitive method to evaluate potato germplasm for bacterial wilt resistance using a luminescent *Ralstonia Solanacearum* reporter strain. *The American Phytopathological Society MPMI*, Vol. 27(3): 277-285. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-10-13-0303-FI>.
- DIANESE, J.C., M.C. DRISTIG, and A.P. CRUZ. 1990. Susceptibility to wilt associated with *Pseudomonas solanacearum* among six species of *Eucalyptus* growing in equatorial Brazil. *Australian Plant Pathology*. 19: 71-76.
- DESLANDES, L., J. OLIVER, F. THEULIERES, J. HIRSCH, D.X. FENG, P.B. EDDY, J. BEYNON, and Y. MARCO. 2002. Resistance to *Ralstonia solanacearum* in *Arabidopsis thaliana* is conferred by the recessive RRS1-R gene, a member of a novel family of resistance genes. *PNAS*, Vol. 99 (4): 2404-2409. doi/10.1073/pnas.032485099.
- ELPHINSTONE, J.G. 2005. The current bacterial wilt situation: a global overview. In Allen, C., P. Prior, A.C. Hayward (Eds.). *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum* species complex. St. Paul USA. American Phytopathological Society. p: 9-28.
- FEGAN, M., and PRIOR, P. 2005. "How complex is the '*Ralstonia solanacearum* species complex?'. in: *Bacterial Wilt: The Disease and the Ralstonia solanacearum* Species Complex. Eds C. Allen, P. Prior, and A. C. Hayward. (St. Paul, MN. American Phytopathological Society Press. 17: 449-461.
- GENIN, S., and T.P. DENNY. 2012. Pathogenomic of *Ralstonia solanacearum* species complex. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42: 107-134.
- GRIMAULT, V., G. ANAIS, and P. PRIOR. 1994. Distribution of *Pseudomonas solanacearum* in the stem tissues of tomato plants with different levels of resistance to bacterial wilt. *Plant Pathology*. 43: 663-668.
- HANSON, P.M., J.F. WANG, O. LICARDO, HANUDIN, S.Y. MAH, G.L. HARTMAN, Y.C. LIN, and J.T. CHEN. 1996. Variable reaction of tomato lines to bacterial wilt evaluated at several locations in south East Asia. *Hort. Sci.* 31: 143-146.
- HARTATI, S.Y. dan N. KARYANI. 2014. Teknik inokulasi *Ralstonia solanacearum* untuk pengujian ketahanan nilam terhadap penyakit layu. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. Vol. 25(1): 127 -135.

- HAYWARD, A.C. 1991. Biology and Epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Rev. of Phytopathology*. 29: 65-87.
- HUSSAIN, M.Z., M.A. RAHMAN, M.A. BASHAR. 2005. Screening of brinjal accessions or bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Bangladesh J. Botany*. 34 (1): 55-58.
- HUET, G. 2014. Breeding for resistances to *Ralstonia solanacearum*. *Frontiers in Plant Science*. Vol. 571(5): 1-5. doi: 10.3389/fpls.2014.00715.
- ISHIHARA, T., I. MITSUHARA, H. TAKAHASHI, and K. NAKAHO. 2012. Transcriptome analysis of quantitative resistance-specific response upon *Ralstonia solanacearum* infection in tomato. *Plos One*, Vol. 7(10): 1-14. Doi:10.1371/journal.pone.0046763.
- KRAUSZ, J. and H.D. THURSTON. 1975. Breakdown of resistance to *Pseudomonas solanacearum* in tomato. *Phytopathology*. 65: 1272-1274.
- MATHEW, J., S.K. MATHEW, V.V. RADHAKRISHNAN, S. BEENA. 1994. Bacterial wilt of patchouli (*Pogostemon patchouli* L.) caused by *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith. *Bacterial Wilts News Letter*. (11): 10.
- MEHAN, V.K., D. MCDONALD, and P. SUBRAHMANYAM. 1986. Bacterial wilt of groundnut: control with emphasis on host plant resistance. In: Persley, G.J. (Ed.). *Bacterial wilt disease in Asia and South Pasific*. ACIAR Proceedings. 13: 112-119.
- MILLING, A., F. MENG, T.P. DENNY, and C. ALLEN. 2009. Interactions with hosts at cool temperatures, not cold tolerance, explain the unique epidemiology of *Ralstonia solanacearum* Race 3, Biovar 2. *Phytopathology*. 99: 1127-1134.
- MIMURA, Y., T. KAGEYAMA, Y. MINAMIYAMA, and M. HIRAI. 2009. QTL analysis for resistance to *Ralstonia solanacearum* in *Capsicum* accession 'Is2341'. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 78(3): 307-313.
- MIMURA, Y. and M. YOSHIKAWA. 2009. Pepper accession LS2341 is highly resistant to *Ralstonia solanacearum* strains from Japan. *Hort. Sci.* 44(7): 2038-2040.
- MUTHONI, J., H. SHIMELIS, R. MELIS. 2012. Management of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) of potatoes: Opportunity for host resistance in Kenya. *Journal of Agriculture Science* 4, 64-78.
- MUTHONI, J., H. SHIMELIS, R. MELIS, and Z. M. KINYUA. 2014. Response of potato genotypes to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* (Smith) (Yabuuchi *et al.*, 1995) in the tropical highlands. *American Journal of Potato Research*. 91: 215-232. DOI 10.1007/S12230-013-9340-1.
- NASRUN, Y. NURYANI, HOBIR, dan REFANYO. 2004. Seleksi ketahanan varian nilam terhadap penyakit layu bakteri. *Prosiding Seminar Ekpose Teknologi Gambir, Kayumanis, dan Atsiri*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. hlm. 115-120.
- NASRUN, CHRISTANTI, T. ARWIYANTO, dan I. MARISKA. 2005. Pengendalian penyakit layu bakteri nilam menggunakan *Pseudomonas fluorescens*. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 11(1): 19-24.
- NASRUN, dan Y. NURYANI. 2007. Penyakit layu bakteri pada nilam dan strategi pengendaliannya. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 26(1): 9-15.
- NASRUN, C. SUMARDIYONO, T. ARWIYANTO, dan I. MARISKA. 2007. Karakteristik fisiologi *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri nilam. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 13(2): 43-48.
- OZAKI, K. and H. WATABE. 2009. Bacterial wilt of Geranium and *Portulaca* caused by *Ralstonia solanacearum* in JAPAN. *Bull Minamikyushu Univ*. 39A: 67-71.
- PENG, L., Z.H. CANG, W.X. XING, W.Z. YUAN, H.H. HO, W.Y. XIN, M.Z. CHAO, H.Y. QIU. 2012. First record and description of *Ralstonia solanacearum* wilt in patchouli from Yunnan Province, China. *Indian Fitopathol*. Vol 65 (2): 208-210.
- PEETERS, N., A. GUIDOT, F. VAILLEAU, and M. VALLS. 2013. *Ralstonia solanacearum*, a widespread bacterial plant pathogen in the post-genomic era. *Mol. Plant Pathology*. 14: 651-662.
- RODRIGUES, L.M.R., A.L. SUZETE, D. FANO, M.C.T. DINIZ, R. COMPARONI, and J.L.R. NETO. 2011. Pathogenicity of Brazilian strain of *Ralstonia solanacearum* in *Strelitzia reginase* seedlings. *Tropical Plant Pathol*. 36(6): 409-413.
- SIRI, M.I., G.A. GALVAN, L. QUIRICI, E. SILVERA, P. VILLANUEVA, F. FERREIRA, L.F. FRAGUAS, and M.J. PIANZZOLA. 2009. Molecular marker diversity and bacterial wilt resistance in wild *Solanum commersonii* accession from Uruguay. *Euphytica*. 165: 371-382.
- SIRI, M.I., and M.J. PIANZZOLA. 2011. Genetic diversity and aggressiveness of *Ralstonia solanacearum* strains causing bacterial wilt of potato in Uruguay. *The American Phytopathology Society. Plant Disease*. 95: 1292-1301.
- THERA, A.T. 2007. Bacterial wilt management: A prerequisite for a potato seed certification program in Mali. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of Master of Science in Plant Pathol. Montana State University, 61 pp.
- TIWARI, J.K., N. MEHTA, M.K. SINGH, and P.S. TIWARI. 2012. Screening of tomato genotypes against bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) under field condition for Chhattisgarh. *Global Journal of Bio-Science & Biotechnology*, vol. 1(12): 168-170.
- TUNG, P.X., J.G. HERMSEN, P.Z. VANDER, and P.E. SCHMIEDICHE. 2006. Inheritance of resistance to *Pseudomonas solanacearum* in tetraploid potato. *Plant Breeding*, 111: 23-30.
- WANG, J.F., J. OLIVER, P. THOQUET, B. MANGIN, L. SAUVIAC, and N.H. GRIMSLEY. 2000. Resistance of tomato line Hawaii7996 to *Ralstonia solanacearum* Pss4 in Taiwan is controlled mainly by a major strain-specific locus. *Mol. Plant Microb Interac*. 13: 6-13.
- WAHYUNO, D., S.Y. HARTATI, S. R. DJIWANTI, R. NOVERIZA, dan SUKAMTO. 2011. Penyakit penting pada tanaman nilam dan usaha pengendaliannya. M. Rizal, Supriadi (editor). *Bunga Rampai Nilam*. Badan Penelitian Pengembangan Pertanian, Puslitbangun, Balitro. Hlm: 66 110.