

## **Uji *In Vitro* Asap Cair terhadap *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* Penyebab Penyakit Darah pada Pisang**

### *In Vitro* Test of Liquid Smoke against *Ralstonia syzygii* subsp. *Celebesensis*, the Cause of Blood Disease in Bananas

**Imas Aisyah<sup>1</sup>, Giyanto<sup>2\*</sup>, Meity Suradji Sinaga<sup>2</sup>, Abdjad Asih Nawangsih<sup>2</sup>, Gustan Pari<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Pusat Pengembangan dan Pemberdayaan Pendidik dan Tenaga Kependidikan Pertanian, Cianjur 43202

<sup>2</sup>Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

<sup>3</sup>Pusat Penelitian dan Pengembangan Keteknikan Kehutanan dan Pengolahan Hasil Hutan, Bogor 16610

#### **ABSTRAK**

Penyakit darah yang disebabkan oleh *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman pisang di Indonesia. Beberapa teknik pengendalian penyakit ini telah banyak dilakukan, namun belum memberikan hasil yang optimal. Asap cair dari limbah kayu dilaporkan bersifat antimikroba, tetapi pemanfaatannya untuk pengendalian *R. syzygii* subsp. *celebesensis* belum pernah dilaporkan. Tujuan penelitian ini ialah menguji secara *in vitro* pengaruh asap cair dari tempurung kelapa (TKP), buah pinus (PNS), dan pelepah kelapa sawit (SWT) terhadap morfologi sel bakteri dan kemampuannya menghambat pertumbuhan *R. syzygii* subsp. *celebesensis*. Uji efikasi asap cair dilakukan dengan metode difusi agar-agar dan pengukuran kerapatan bakteri menggunakan spektrofotometri pada  $\lambda$  600 nm. Pengamatan morfologi sel bakteri dilakukan dengan mikroskop elektron. Asap cair TKP, PNS, dan SWT mulai konsentrasi 0.5% sudah memperlihatkan aktivitas penghambatan terhadap *R. syzygii* subsp. *celebesensis* baik pada medium *triphenyl tetrazolium chloride* maupun kaldu *luria bertani*. Asap cair juga menyebabkan kerusakan pada dinding dan membran sel. Oleh karena itu, asap cair berpotensi sebagai bahan untuk mengendalikan *R. syzygii* subsp. *celebesensis*.

Kata kunci: antimikroba, buah pinus, kelapa sawit, limbah kayu, tempurung kelapa

#### **ABSTRACT**

Blood disease, caused by *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis*, is an important disease of banana plants in Indonesia. Several control methods have been done, but the result were not effective. Liquid smoke from wood waste is reported to be antimicrobial, but its use for controlling *R. syzygii* subsp. *celebesensis* has never been reported. Research was conducted to examine the ability of liquid smoke produced from coconut shell (CS-LS), pinecone (P-LS), and oil palm branch (OPB-LS) in inhibiting the growth of *R. syzygii* subsp. *celebesensis* *in vitro* and its effect on bacterial cell morphology. Efficacy test of liquid smoke was carried out by agar diffusion method and measurement of bacterial density by spectrophotometry with  $\lambda$  600 nm. Observation of bacterial cell morphology was carried out by electron microscopy. The CS-LS, P-LS, and OPB-LS starting from 0.5% concentration showed inhibitory activity against *R. syzygii* subsp. *celebesensis* both on triphenyl tetrazolium chloride medium and luria bertani broth. Liquid smoke also caused damage to cell walls and cell membranes. Therefore, liquid smoke has the potential to be used as component in control method for *R. syzygii* subsp. *celebesensis*.

Key words: antimicrobe, coconut shell, palm oil, pinecone, wood waste

\*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper, Kampus Darmaga IPB, Bogor 16680.  
Tel: 0251-8629364, Faks : 0251-8629362; Surel: giyanto2@yahoo.com

## PENDAHULUAN

Penyakit darah pada tanaman pisang disebabkan oleh *blood disease bacterium* (BDB), yaitu *Ralstonia solanacearum* spesies kompleks filotipe IV (Fegan dan Prior 2005). Spesies kompleks yang diisolasi dari Indonesia, Australia, Jepang, Korea, dan Malaysia mengalami perubahan taksonomi dan nomenklatur, serta diidentifikasi sebagai *Ralstonia syzygii*. Spesies ini terdiri atas tiga subspecies, yaitu *R. syzygii* subsp. *syzygii*, *R. syzygii* subsp. *indonesiensis*, dan *R. syzygii* subsp. *celebesensis*. *R. syzygii* subsp. *celebesensis* ialah patogen penyebab penyakit darah pada pisang (Safni *et al.* 2018).

Insidensi penyakit darah pada pisang kepok kuning yang disebabkan oleh *R. syzygii* subsp. *celebesensis* sangat tinggi dan berpeluang mengakibatkan terjadinya epidemi penyakit di lapangan. Gejala khas penyakit ini terdapat pada tanaman dewasa usia produksi, yaitu buahnya dari luar kelihatan mulus, tetapi mengeras dan jika bagian bonggol atau batang dipotong tampak adanya perubahan warna pada bagian empulur menjadi coklat kemerahan disertai pengeluaran ooze bakteri (Remenant *et al.* 2011). Infeksi patogen menyebabkan gejala sistemik sehingga semua bagian dari tanaman pisang terinfeksi berpotensi sebagai sumber inokulum infeksi (Hadiwiyono 2011).

Beberapa teknik pengendalian terhadap penyakit ini telah dilakukan, namun hasilnya belum optimal. Asap cair dilaporkan bersifat antimikroba (Lingbeck *et al.* 2014; Yang *et al.* 2016). Asap cair batang kayu manis, kulit kacang tanah, tempurung kelapa, dan cangkang buah karet dapat menghambat pertumbuhan mikrob (Yefrida *et al.* 2009; Zuraida *et al.* 2011; Oktarina *et al.* 2017).

Penggunaan asap cair dari limbah tempurung kelapa (*Cocos nucifera*), buah pinus (*Pinus merkusi*), dan pelepah kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) untuk menghambat *R. syzygii* subsp. *celebesensis* secara *in vitro* belum pernah diteliti. Tempurung kelapa (TKP), buah pinus (PNS), dan pelepah kelapa sawit (SWT) adalah tiga jenis limbah biomassa yang potensial untuk digunakan

sebagai bahan baku pembuatan asap cair karena memiliki zat kayu (lignoselulosa). Volume ketiga jenis limbah tersebut sangat tinggi sehingga ditingkatkan nilai tambahnya untuk dibuat asap cair TKP, PNS, dan SWT. Asap cair tersebut perlu diuji potensinya dalam menghambat pertumbuhan *R. syzygii* subsp. *celebesensis* secara *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

### Penyiapan Asap Cair

Asap cair dibuat di Pusat Penelitian dan Pengembangan Keteknikan Kehutanan dan Pengolahan Hasil Hutan, Bogor, dengan menggunakan pirolisator dengan suhu pemanasan 400 °C dan lama pemanasan 5 jam. Asap cair yang belum didestilasi (asap cair *grade* 3) selanjutnya didestilasi dengan suhu 150–200 °C sehingga diperoleh asap cair *grade* 2. Asap cair *grade* 2 inilah yang digunakan sebagai bahan penelitian. Asap cair tersebut dianalisis kadar asam asetat, total fenol, dan alkoholnya berturut-turut dengan metode HPLC, spektrofotometri, dan kromatografi gas. Analisis komponen kimianya dilakukan dengan teknik *GC-MS pyr* (Kusch 2012).

### Isolasi, Identifikasi Morfologi, Fisiologi, dan Genetik Bakteri dari Tanaman Pisang Sakit

Bakteri diisolasi dari tandan pisang yang sakit. Bagian permukaan tangkai buah disemprot dengan alkohol 70%, lalu dipotong secara membujur dengan pisau steril, kemudian disimpan dalam wadah tertutup dan lembap selama 30–60 menit hingga keluar ooze bakteri berwarna putih susu. Ooze dibiakkan pada medium *sucrose peptone agar* (SPA) dan diinkubasikan selama 3–5 hari pada suhu ruang. Koloni yang tumbuh selanjutnya dibiakkan pada medium *triphenyl tetrazolium chloride* (TTC) dan diinkubasikan kembali selama 3–5 hari pada suhu ruang.

Koloni bakteri diamati warna, bentuk, ukuran, permukaan, elevasi, dan tepinya. Identifikasi fisiologi dilakukan dengan uji Gram, dan identifikasi molekul dilakukan menggunakan *polymerase chain reaction*

(PCR). Fragmen spesifik DNA genom bakteri diamplifikasi menggunakan sepasang primer, yaitu 121F (5'-CGT ATTGGA TGC CGT AAT GGA- 3') dan 121R (5'-AAG TTC ATT GGT GCC GAA TCA-3') (Hadiwiyono 2011). Pereaksi PCR yang digunakan untuk setiap reaksi, yaitu 12.5  $\mu\text{L}$  *Green Taq<sup>TM</sup> Green PCR Master Mix*, masing-masing 1  $\mu\text{L}$  primer forward dan reverse, 1  $\mu\text{L}$  DNA dan air destilasi steril sehingga total volume 25  $\mu\text{L}$ . Selanjutnya amplifikasi dilakukan pada mesin PCR (*Gene Amp PCR System 9700*) dengan program denaturasi awal 96 °C selama 5 menit, diikuti 30 siklus yang meliputi denaturasi kedua pada suhu 94 °C selama 15 detik, aneling suhu 59 °C selama 30 detik, ekstensi 72 °C selama 30 detik dan dilanjutkan dengan ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 10 menit lalu diakhiri dengan *final hold* pada suhu 11 °C selama 4 menit. Produk amplifikasi dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarosa 2% pada tegangan 100 volt selama 30 menit dan divisualisasi dengan lampu transilumintor UV (Sambrook *et al.* 1989).

#### Uji Efikasi Asap Cair terhadap Bakteri dari Tanaman Pisang Sakit pada Medium TTC dan Kaldu Luria Bertani

Uji ini disusun dalam rancangan acak lengkap faktorial dengan 2 faktor, yaitu jenis asap cair (TKP, PNS, dan SWT) dan konsentrasi asap cair (0%, 0.5%, 1%, dan 2%). Percobaan dilakukan dengan tiga ulangan. Data hasil penelitian diolah dan diuji menggunakan ANOVA. Perlakuan yang berpengaruh nyata dilakukan uji DMRT pada taraf  $\alpha = 0.05$ .

Sebanyak 40  $\mu\text{L}$  suspensi *R. syzygii* subsp. *celebesensis* dengan kerapatan  $10^8$  sel  $\text{mL}^{-1}$  ( $\text{OD}_{600} = 0.1$ ) disebar secara merata di atas medium *triphenyl tetrazolium chloride* (TTC), selanjutnya kertas saring steril berdiameter 6 mm diletakan di atas medium TTC tersebut. Sebanyak 6  $\mu\text{L}$  asap cair TKP, PNS, dan SWT pada taraf konsentrasi 0%, 0.5%, 1%, 2%, dan Agrept 20 WP dengan konsentrasi 1  $\text{mg mL}^{-1}$  masing-masing diteteskan ke dalam kertas saring tersebut, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 3–5 hari. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan *R. syzygii*

subsp. *celebesensis* pada permukaan medium TTC dan pengukuran diameter zona hambat.

Uji efikasi dilakukan pada medium kaldu *luria bertani* (LB). Sebanyak 5 mL suspensi bakteri dengan kerapatan sel awal  $10^8$  sel  $\text{mL}^{-1}$  ( $\text{OD} = 0.1$ ) ditumbuhkan pada medium kaldu LB dalam tabung reaksi yang mengandung asap cair TKP, PNS, dan SWT masing-masing dengan konsentrasi 0%, 0.5%, 1% dan 2%. Sebagai pembanding digunakan Agrept 20 WP dengan dosis 10  $\text{mg} 100 \text{ mL}^{-1}$ . Bakteri selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam pada suhu ruang, sambil dikocok pada kecepatan 100 rpm. Kerapatan optik diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.

#### Pengamatan terhadap Morfologi Sel *R. syzygii* subsp. *celebesensis*

Morfologi sel *R. syzygii* subsp. *celebesensis* hasil perlakuan asap cair SWT 2% dan kontrol (tanpa asap cair), diamati dengan mikroskop elektron *Scanning Electron Microscope* (SEM). Pengamatan dilakukan di LIPI Cibinong Bogor.

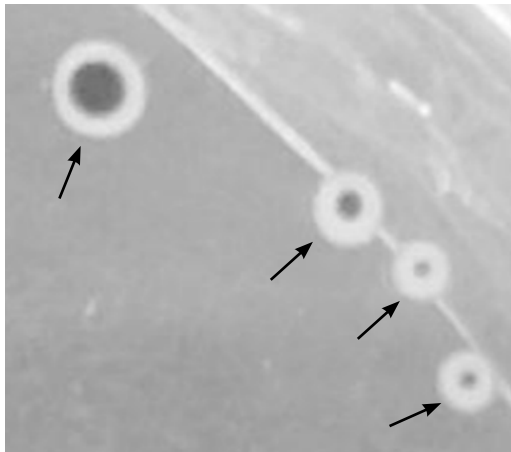
## HASIL

#### Morfologi, Fisiologi, dan Genetik Bakteri dari Tanaman Pisang Sakit

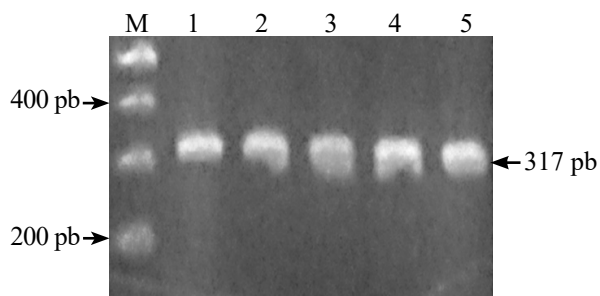
Koloni tunggal bakteri pada medium TTC memiliki ciri morfologi sebagai berikut: koloni bulat bertepi (sirkuler), diameter koloni berukuran 0.5–1.5 mm, koloni berwarna merah dengan pinggiran berwarna putih, permukaannya licin, elevasi bentuk cembung seperti tetesan air, tepian koloni rata (Gambar 1). Uji fisiologi Gram menunjukkan bakteri Gram negatif. Hasil identifikasi molekul menggunakan amplifikasi DNA primer spesifik 121F/R menunjukkan bahwa semua koloni bakteri asal tanaman pisang sakit merupakan *R. syzygii* subsp. *celebesensis* dengan pita DNA berukuran 317 pb (Gambar 2).

#### Daya Hambat Asap Cair terhadap *R. syzygii* subsp. *celebesensis* pada Medium TTC dan Kaldu LB

Berdasarkan uji *in vitro*, asap cair TKP, PNS, dan SWT pada semua konsentrasi



Gambar 1 Koloni *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* dengan empat ukuran diameter pada permukaan medium *triphenyl tetrazolium chloride*



Gambar 2 Hasil amplifikasi DNA *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* dari tanaman pisang sakit. M, Penanda DNA (*Thermo Scientific GeneRuler 1000bp DNA Ladder*); dan 1–5 koloni bakteri dari sampel yang sama.

dapat menghambat pertumbuhan *R. syzygii* subsp. *celebesensis*. Penghambatan tersebut ditunjukkan dengan adanya zona hambat pada medium TTC (Gambar 3a) dan terjadinya penurunan kerapatan sel pada medium kaldu LB (Tabel 1).

Pada perlakuan kontrol tidak terbentuk zona hambat dan nilai kerapatan sel meningkat dari OD = 0.1 menjadi OD = 0.2180. Hal ini menunjukkan bahwa akuades tidak memiliki daya hambat sehingga *R. syzygii* subsp. *celebesensis* masih bisa tumbuh dengan baik pada medium TTC maupun kaldu LB. Diameter zona hambat paling tinggi dan nilai OD paling rendah diperoleh dari perlakuan asap cair SWT 2%. Hal ini menunjukkan bahwa asap cair tersebut memiliki daya hambat paling baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

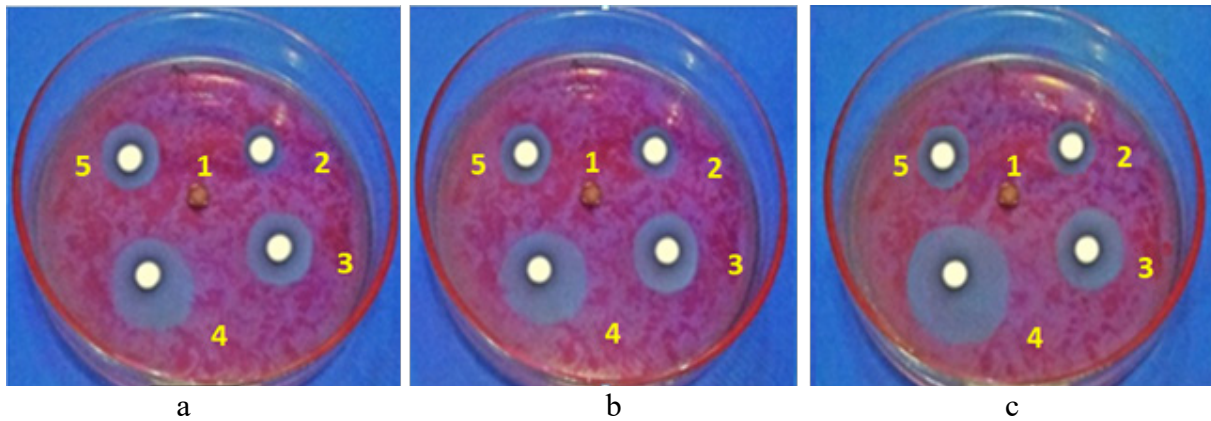
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis asap cair, konsentrasi, dan interaksi antara keduanya berpengaruh nyata terhadap diameter zona hambat dan kerapatan sel *R. syzygii* subsp. *celebesensis* (Tabel 1).

### Morfologi Sel *Ralstonia syzygii* subsp. *Celebesensis* pada Perlakuan Asap Cair

Pengamatan dengan teknik SEM menunjukkan morfologi sel *R. syzygii* subsp. *celebesensis* pada kontrol tidak mengalami kerusakan (Gambar 4a). Pada perlakuan asap cair dinding sel *R. syzygii* subsp. *celebesensis* rusak, menjadi lebih kasar, tidak rata, bagian tepinya bergerigi, dan sel mengalami lisis yang ditandai oleh cairan sitoplasma merembes ke luar sel (Gambar 4b). Selain itu, sekumpulan sel bakteri tampak rusak, berlubang-lubang, lisis, dan beberapa sel memanjang tidak membelah (Gambar 4c).

## PEMBAHASAN

Senyawa fenol dan asam asetat adalah dua senyawa utama dalam asap cair yang mempunyai efek bakterisidal/bakteriostatik (Anggraini dan Susy 2013). Kadar asam asetat dalam asap cair SWT paling tinggi, yaitu 1351.15 ppm, sedangkan pada TKP dan PNS masing-masing sebesar 1340.46 ppm dan 750.51 ppm. Oleh karena itu daya hambat asap cair SWT terhadap pertumbuhan *R. syzygii* subsp. *celebesensis* lebih besar dibandingkan dengan asap cair TKP dan PNS, dan daya hambat asap cair TKP lebih besar daripada asap cair PNS. Senyawa asam dapat dikenali oleh protein reseptor spesifik pada permukaan sel bakteri, yaitu *pediocin AcH* yang berperan untuk mempercepat proses depolimerasi lapisan peptidoglikan, dan mengaktifkan sistem autolisis sel sehingga proses lisis sel dapat dipercepat (Salvadago 2006). Senyawa asam juga dapat mengasamkan sitoplasma sel bakteri dan merusak permeabilitas membran sel (Cortesia *et al.* 2014). Akibatnya transportasi aktif nutrisi ke dalam sel melalui membran akan terganggu, fungsi dan struktur komponen sel bakteri menjadi tidak stabil, dan akhirnya sel melisis.

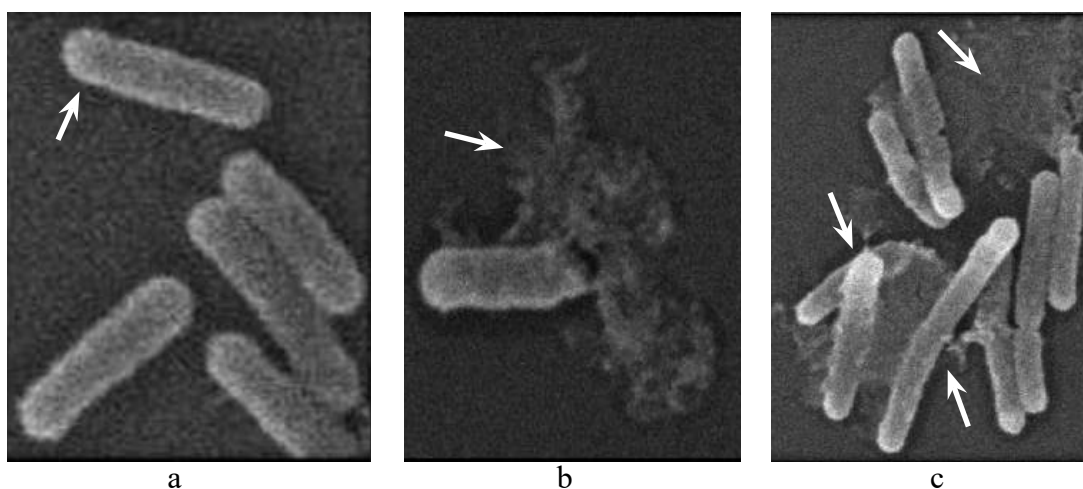


Gambar 3 Zona hambatan pertumbuhan koloni *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* pada medium *triphenyl tetrazolium chloride* dengan perlakuan asap cair yang berasal dari: a, Buah pinus; b, Tempurung kelapa; dan c, Pelelah kelapa sawit. Konsentrasi asap cair: 1, 0%; 2, 0.5%; 3, 1%; 4, 2%; dan 5, Agrept 20 WP 10 mg 100 mL<sup>-1</sup>.

Tabel 1 Diameter zona hambatan dan nilai kerapatan sel *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* hasil perlakuan berbagai jenis dan konsentrasi asap cair

Jenis asap cair	Konsentrasi (%)	Diameter zona hambatan (mm)	Kerapatan sel <i>R. syzygii</i> subsp. <i>celebesensis</i> (OD)
Kontrol	0.0	0.00 a	0.2180 h
TKP	0.5	8.50 bc	0.0728 f
	1.0	21.83 f	0.0259 d
	2.0	23.20 h	0.0024 ab
	Agrept 20 WP	10 mg 100 mL <sup>-1</sup>	25.00 i
PNS	0.5	8.33 b	0.0798 fg
	1.0	20.77 e	0.0260 de
	2.0	22.27 g	0.0025 abc
SWT	0.5	8.83 bcd	0.0711 f
	1.0	25.20 i	0.0260 de
	2.0	30.43 j	0.0023 a

Angka pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan  $\alpha = 5\%$ . TKP, Tempurung kelapa; PNS, buah pinus; SWT, pelelah kelapa sawit.



Gambar 4 Morfologi *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis*. a, Sel bakteri normal pada perlakuan kontrol (pembesaran 10 000 $\times$ ); b, Sel bakteri yang pecah (pembesaran 10 000 $\times$ ); dan c, Dinding sel bakteri rusak dan tidak membelah diri setelah kontak dengan asap cair (pembesaran 7500 $\times$ ).

Senyawa fenol dapat menyebabkan kerusakan dinding membran sel bakteri dengan mendenaturasi protein dan melarutkan lipid (Sabbineni 2016). Protein dan lipid adalah senyawa penyusun dinding sel dan membran sel bakteri. Jika protein mengalami denaturasi dan lipid larut maka dinding sel bakteri mengalami disintegrasi dan kerja permeabilitas membran sel bakteri menjadi terganggu. Senyawa asam, fenol dan alkohol juga dapat mengganggu aktivitas enzim transpeptidase, yaitu enzim yang mengkatalisis tahap akhir sintesis dinding sel bakteri. Gangguan ini melemahkan kekuatan dinding sel bakteri dan akhirnya sel mudah lisis (Fazlara dan Ekhtelat 2012). Dibandingkan dengan senyawa fenol, asam asetat memiliki daya hambat lebih kuat terhadap pertumbuhan bakteri. Namun, bila kedua senyawa tersebut digabungkan dalam wujud asap cair akan menghasilkan kemampuan penghambatan yang lebih besar daripada masing-masing senyawa. Hal ini sesuai dengan pendapat Pszczola (1995) yang menyatakan bahwa dalam bentuk kombinasinya, fenol dan asam organik (asam asetat) yang terdapat dalam asap cair akan bekerja sama secara efektif untuk mengontrol pertumbuhan mikroba.

Berdasarkan hasil *GCMS-pyr* senyawa fenol yang ditemukan dalam asap cair TKP, PNS, dan SWT yang bersifat antibakteri antara lain: (1) *eugenol* yang dapat mengganggu aktivitas enzim transpeptidase (enzim yang mengkatalisis tahap akhir sintesis dinding sel bakteri), gangguan ini mengakibatkan sel bakteri mudah lisis (Oyedemi *et al.* 2008). *Vanillin* dan analog *curcumin* keduanya dapat mengganggu kestabilan dan fungsi enzim FtsZ yang terlibat dalam proses pembelahan sel (Juan *et al.* 2014). Gangguan terhadap pembelahan sel ini dapat menginduksi kematian bakteri (Margalit *et al.* 2004).

Asap cair tempurung kelapa, buah pinus, dan pelepah kelapa sawit dapat menghambat *R. syzygii* subsp. *celebesensis* secara *in vitro*. Oleh karena itu, perlu penelitian lebih lanjut untuk menguji kemampuan ketiga jenis asap cair tersebut dalam mengendalikan bakteri ini di tingkat lapangan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini SPA, Yuniningsih S. 2013. Liquid smoke purification process for benzo (a) pyrene levels lowering on food safety. *J. Agric Food Tech.* 3(12):1–4
- Cortesia C, Vilcheze C, Bernut A, Contreras W, Gomez K, de Waard J, Jacobs Jr RW, Kremer L, Takiff H. 2014. Acetic acid, the active component of vinegar, is an effective tuberculocidal disinfectant. *MBio.* 5(2):13–14. DOI: <https://doi.org/10.1128/mBio.00013-14>.
- Fazlara A, Ekhtelat M. 2012. The disinfectant effects of benzalkoniumchloride on some important foodborne pathogens. *Am Eur J Agric Environ Sci.* 12(1): 23–29.
- Fegan M, Prior P. 2005. How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex”? Di dalam: Allen C, Prior P, Hayward AC, editor. *Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex*. Minnesota (US): APS Press.
- Hadiwiyono. 2011. Blood bacterial wilt disease of banana: the distribution of pathogen in infected plant, symptoms, and potentiality of diseased tissues as source of infective inoculums. *Bioscience.* 3(3):112–117. DOI: <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n030302>.
- Juan S, Li MH, Wang YX, Zhang Z, Yuan JR, Liu YH. 2014. Vanillin derivatives as the selective small molecule inhibitors of FtsZ. *Medicinal Chemistry Res.* 23(6):2985–2994. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00044-013-0886-8>.
- Kusch P. 2012. Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of polymeric materials. Di dalam: *Advanced Gas Chromatography-Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Application*. Rheinbach (DE): Germany. InTech. DOI: <https://doi.org/10.5772/32323>.
- Lingbeck JM, Cordero P, O’Bryan CA, Johnson MG, Ricke SC, Crandall PG. 2014. Functionality of liquid smoke as an all-natural antimicrobial in food preservation. *Meat Sci.* 97(2):197–206. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.02.003>.

- Margalit ND, Romberg L, Mets BR, Hebert MA, Mitchison JT, Kirschner WM, Chaudhuri RD. 2004. Targeting cell division: Small-molecule inhibitors of FtsZ GTPase perturb cytokinetic ring assembly and induce bacterial lethality. *PNAS*. 101(32): 11821–11826. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0404439101>.
- Oktarina D, Sumpono, Elvia R. 2017. Uji efektivitas asap cair cangkang buah *Hevea braziliensis* terhadap aktivitas bakteri *Escherichia coli*. *J Pendidikan Ilmu Kim*. 1(1):1–5.
- Oyedemi SO, Okoh JA, Mabinya LV, Pirochenva G, Afolayan JA. 2008. The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol,  $\alpha$ -terpineol and  $\gamma$ -terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*. *Afri J Biotechnol*. 8(7):1280–1286.
- Pszczola DE. 1995. Tour highlight productions and use of smoke based plafors liquid smoke-natural aqueous condensate of wood smoke. *Food Technol*. 49 (1):70–74.
- Remenant B, de Cambiaire JC, Cellier G, Jacobs JM, Mangenot S, Barbe V, Lajus A, Vallenet D, Medigue C, Fegan M, Allen C, Prior P. 2011. *Ralstonia syzygii*, the blood disease bacterium and some Asian *Ralstonia solanacearum* strains form a single genomic species despite divergent lifestyles. *PLoS ONE*. 6:1–10. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024356>.
- Sabbineni J. 2016. Phenol-an effective antibacterial agent. *J Medic Organic Chem*. 3(2):182–191.
- Safni I, Subandiyah S, Fegan M. 2018. Ecology, epidemiology and disease management of *Ralstonia syzygii* in Indonesia. *Front Microbiol*. 9:419. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00419>.
- Salvado A. 2006. Bacteriosins and lactic acid bacteria a miniriview. *Afri J Biotechnol*. 5(9): 678-683.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning. A laboratory Manual* 2<sup>th</sup> Edition. New York (US): Cold Spring Harbor Laboratory Pr.
- Yang JF, Yang CH, Laing MT, Gao JZ, Wu YW, Chuang LY. 2016. Chemical composition, antioxidant, and antibacterial activity of wood vinegar from *Litchi chinensis*. *Molecules*. 21(9):1150. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21091150>.
- Yefrida, Aprilina F, Leone TI, Refilda, Salim M. 2009. Uji aktivitas antibakteri asap cair dari batang kayu manis dan kulit kacang tanah. *J Ris Kim*. 2(2):190–194.
- Zuraida I, Sukarno, Budijanto S. 2011. Antibacterial activity of coconut shell liquid smoke (CS-LS) and its application on fish ball preservation. *Inter Food Res J*. 18: 405–410.