

Karakter Fisiologis dan Peranan Antibiosis Bakteri Perakaran Graminae terhadap *Fusarium* dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Pisang

Eliza¹⁾, A. Munif²⁾, I Djatnika¹⁾, dan Widodo²⁾

¹⁾ Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Jl. Raya Solok-Aripan Km 8, Solok 27301

²⁾ Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Faperta, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680
Naskah diterima tanggal 25 September 2006 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 4 Oktober 2006

ABSTRAK. Perakaran tanaman famili Graminae memiliki kerapatan populasi bakteri yang tinggi dan berpotensi digunakan sebagai agensi pengendalian hayati. Penelitian ini bertujuan mempelajari karakter fisiologis bakteri rizosfer dan endofit perakaran tanaman famili Graminae serta peranannya sebagai bakteri antibiosis terhadap *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) secara in vitro dan pemacu pertumbuhan tanaman. Tanaman indikator yang digunakan dalam uji kemampuan bakteri dalam memacu pertumbuhan tanaman adalah mentimun. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi dan Rumah Kaca Institut Pertanian Bogor, berlangsung dari bulan Juni sampai November 2003. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perakaran rumput gajah memiliki kerapatan populasi bakteri rizosfer yang paling tinggi yaitu 8,12 log cfu/g bobot basah akar, sedangkan populasi bakteri endofit yang tertinggi ditemukan pada perakaran sorgum yaitu 4,02 log cfu/g bobot basah akar. Empat puluh dua isolat dari 182 isolat diuji karakter fisiologisnya menggunakan medium spesifik. Semua isolat yang diuji, masing-masing sebesar 60,41, 52,08, 4,16, 18,75, 52,09, dan 18,75%, memiliki kemampuan aktivitas selulolitik, proteolitik, kitinolitik, produksi HCN, melarutkan fosfat, dan fluoresensi. Berdasarkan hasil uji secara in vitro menggunakan rancangan acak lengkap, diketahui bahwa 21,45% dari isolat bakteri yang diuji, memiliki kemampuan antibiosis terhadap *Foc*, dan lebih sepertiganya (7,70%) berasal dari bakteri endofit perakaran padi. Persentase daya hambat bakteri pada media TSA lebih tinggi dibandingkan pada media PDA dan PDA+TSA. Dari hasil uji secara in vivo pada tanaman mentimun menggunakan rancangan acak kelompok, diketahui bahwa 22,92% dari 52 isolat bakteri yang diuji, dapat meningkatkan secara nyata pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian ini memberikan informasi bahwa bakteri yang berasal dari rizosfer dan endofit perakaran Graminae mempunyai kemampuan menghambat perkembangan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* secara in vitro dan meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Katakunci: *Musa* sp.; Graminae; Bakteri perakaran; Karakter fisiologis; Antibiosis; Pemacu pertumbuhan

ABSTRACT. Eliza, A. Munif, I Djatnika, and Widodo. 2007. **Physiological Characters and Antibiosis Activity of Gramineous Crops Rhizobacteria, Against *Fusarium* and Banana Growth Promoting.** Roots of Gramineous colonized by various populated bacteria are potential as biological control agents to various soil-borne plant pathogens. This research was conducted to study some physiological characteristics, antibiosis activity to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*), and plant growth promoting effect of gramineous crops roots bacteria to bananas. Cucumber was used as an indicator plant to detect plant growth activity. The experiment was conducted at Mycology Laboratory and Glasshouse Bogor Agriculture Institute from June until November 2003. Highest level population density of rhizobacteria (8.12 log cfu/g fresh root) was showed by giant grass roots, while endophytic bacteria were indicated by sorghum roots (4.02 log cfu/g fresh root). Forty two isolates of 182 isolates was physiologically characterized using specific medium. Among of tested bacteria, 60.41, 52.08, 4.16, 18.75, 52.09, and 18.75%, showed the capability in cellulolytic, proteolytic, HCN production, phosphate solubilization, and fluorescent activities, respectively. Using dual culture test of a randomized complete design, 21.45% of 182 isolates showed antibiosis activity against *Foc*, and more than one third (7.7%) of those were endophytic bacteria from rice roots. Inhibition ability of bacteria on TSA medium was higher than on PDA or PDA + TSA. Based on bioassay test in greenhouse used randomized block design, 22.92 % of 52 isolates have growth promoting activity on tested plant. Bacteria from rhizosphere and endophytic of Gramineous roots have ability to inhibit of *F. oxysporum* f. sp. *cubense* and increasing plant growth.

Keywords: *Musa* sp.; Graminae; Rhizobacteria; Physiological characteristics; Antibiosis, Growth promoter

Perakaran tanaman (rizosfer) merupakan bagian tanaman yang paling kaya akan mikroorganisme (Bruehl 1987). Tingginya populasi mikroorganisme yang ada di rizosfer disebabkan karena pada daerah tersebut merupakan bagian yang sangat kaya akan nutrisi seperti asam

amino dan gula sebagai sumber nitrogen dan karbon yang dibutuhkan untuk perkembangan mikroorganisme.

Jaringan internal tanaman juga dilaporkan mengandung beberapa jenis bakteri atau yang lebih dikenal dengan istilah bakteri endofit.

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup atau mengkolonisasi jaringan internal tanaman tetapi tidak menimbulkan gangguan pada inang. Jaringan internal akar dilaporkan memiliki kerapatan populasi bakteri endofit yang paling tinggi dibandingkan bagian tanaman lain seperti batang dan daun (Hallmann *et al.* 1997).

Beberapa jenis bakteri, baik rizosfer maupun endofit perakaran tanaman, dilaporkan banyak memiliki kemampuan sebagai agensia antagonis. Salah satu indikator yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi potensi bakteri sebagai agensia antagonis adalah dengan melihat karakter fisiologisnya. Beberapa karakter fisiologis yang dapat digunakan di antaranya kemampuan bakteri menghasilkan enzim ekstraseluler (kitinase, protease, dan selulase), hidrogen sianida (HCN), pelarut fosfat, dan aktivitas fluoresensi (Munif 2001). Karakter fisiologis bakteri rizosfer dan endofit perakaran tanaman famili Graminae sejauh ini belum banyak dilaporkan.

Tanaman famili Graminae dilaporkan mempunyai kemampuan untuk meningkatkan populasi dan aktivitas mikroba yang ada diperakaran tanaman tersebut dan juga memiliki kemampuan sebagai bakteri antagonis terhadap patogen tanaman (Li dan Kremer 2000). Leyns *et al.* (1990) mengemukakan dari 3.910 isolat yang diuji 10% menunjukkan kemampuan menghasilkan senyawa antifungal, 0,5% di antaranya berasal dari rizosfer jagung. Bakteri rizosfer tanaman famili Graminae juga dilaporkan memiliki kemampuan meningkatkan pertumbuhan tanaman (*plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR)) di antaranya *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. circulans*, *B. megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *P. fluorescens* (Vasudevan *et al.* 2002, Thakuria *et al.* 2004). Karena terbatasnya informasi mengenai karakter fisiologis dan kemampuan antagonistik dari bakteri rizosfer maupun endofit perakaran tanaman famili Graminae terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) secara *in vitro* serta kemampuannya meningkatkan pertumbuhan tanaman, maka penelitian ini perlu dilakukan.

Tujuan penelitian adalah mempelajari karakter fisiologis bakteri rizosfer dan endofit perakaran tanaman famili Graminae dan peranannya sebagai bakteri antibiotik dan pemacu pertumbuhan tanaman.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi dan Rumah Kaca Departemen Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Penelitian berlangsung dari bulan Juni sampai November 2003.

Isolasi Bakteri Perakaran Tanaman Famili Graminae

Isolasi Bakteri Rizosfer

Tanaman famili Graminae yang digunakan adalah jagung, sorgum, padi gogo, dan rumput gajah yang ada di sekitar tanaman pisang sehat atau ditanam pada polibag yang berisi tanah sebagai media yang berasal dari perkebunan pisang.

Isolasi bakteri rizosfer dilakukan dengan metode pengenceran berseri. Sebanyak 10 g akar tanaman famili Graminae ditimbang, dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 250 ml yang berisi 90 ml air steril. Akar yang sudah direndam dalam air steril tersebut kemudian dikocok menggunakan pengocok putar dengan kecepatan 150 rpm selama 30 menit. Suspensi akar yang telah dikocok diambil 1 ml menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air steril, sehingga didapatkan suspensi dengan tingkat pengenceran 10^{-2} . Seterusnya dilakukan pengenceran dengan cara yang sama sehingga diperoleh suspensi 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} . Bakteri kelompok *Bacillus* sp. diperoleh dengan cara masing-masing suspensi 10^{-4} dan 10^{-5} dipanaskan di dalam penangas air pada suhu 80°C selama 30 menit, kemudian diambil sebanyak 0,1 ml dan ditumbuhkan di dalam cawan petri yang berisi 10 ml medium *tryptic soy agar* = TSA (TSA 0,1). Medium TSA yang sudah mengandung bakteri rizosfer diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang, kemudian dimurnikan. Sedangkan untuk mendapatkan bakteri *Pseudomonas* spp. kelompok fluoresens masing-masing dari suspensi 10^{-5} dan 10^{-6} diambil sebanyak 0,1 ml dan ditumbuhkan dalam cawan petri yang berisi 10 ml media King's B, kemudian diinkubasikan selama 48 jam pada suhu ruang. Bakteri yang tumbuh pada medium King's B agar dan memantulkan warna hijau atau hijau kebiruan ketika dipaparkan pada cahaya ultra violet (panjang gelombang 360 nm) menunjukkan bakteri *Pseudomonas* spp. kelompok fluoresens, kemudian dimurnikan.

Isolasi Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang diisolasi adalah bakteri endofit yang berasal dari perakaran tanaman famili Graminae. Bakteri endofit diisolasi menggunakan metode yang dilakukan oleh Hallmann *et al.* (1997). Sebelum diisolasi akar yang akan digunakan terlebih dahulu disterilisasi permukaannya menggunakan alkohol 70% selama 1 menit, dan natrium hipoklorit 2,5% selama 3 menit. Prosedur sterilisasi permukaan akar diuji keberhasilannya dengan meletakkan akar yang sudah steril ke dalam cawan petri yang berisi TSA, kemudian diinkubasi selama 2 hari. Jika masih ada bakteri yang tumbuh pada media tersebut, berarti sterilisasi gagal dan bakteri yang didapatkan tidak dapat digunakan. Jika terjadi kegagalan, percobaan yang sama diulang kembali sampai tidak ditemukan lagi adanya mikroba yang tumbuh. Sebanyak 10 g akar yang sudah steril dihancurkan dalam mortal steril sampai halus. Suspensi perakaran dicampur dengan 90 ml air steril dalam erlenmeyer kapasitas 250 ml, kemudian dikocok menggunakan pengocok putar berkecepatan 150 rpm selama 30 menit, selanjutnya sebanyak 1 ml suspensi tersebut dipindahkan ke dalam 9 ml air steril pada tabung reaksi. Dengan demikian diperoleh tingkat pengenceran 10^{-2} dan seterusnya dilakukan pengenceran dengan cara yang sama sampai diperoleh suspensi dengan pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} . Bakteri kelompok *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok fluoresens diperoleh dengan cara yang sama dengan metode pada isolasi bakteri rizosfer, tetapi pengenceran yang digunakan untuk *Bacillus* sp. adalah 10^{-2} dan 10^{-3} dan untuk *Pseudomonas* kelompok fluoresens 10^{-3} dan 10^{-4} .

Peubah yang diamati pada saat mengisolasi bakteri antagonis ini adalah jumlah populasi bakteri yang didapatkan pada tiap-tiap tanaman, morfologi koloni bakteri yang berbeda kemudian diamati dan dihitung jumlah masing-masing koloni bakteri yang cirinya sama. Ciri yang sama didasarkan pada ukuran koloni, bentuk koloni, bentuk pinggiran koloni, permukaan koloni, dan warna koloni.

Karakter Fisiologis Bakteri Rizosfer dan Endofit

Sebanyak 48 isolat dari 182 isolat yang terdiri dari bakteri antibiosis dan pemacu pertumbuhan diuji karakter fisiologisnya. Percobaan ini dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 6 perlakuan (uji karakter fisiologis enzim protease, selulase, kitinase, produksi

sianida, pelarut mineral fosfat, dan aktivitas fluoresensi, masing-masing dengan 3 ulangan. Karakterisasi fisiologis ini dilakukan menggunakan media indikator.

Aktivitas Proteolitik

Gelatin digunakan sebagai substrat untuk menguji aktivitas ini dengan mengikuti metode Hankin dan Anagnostakis (1975 dalam Munif 2001). Larutan gelatin (4 g/50 ml akuades) yang telah dicampur dengan medium agar (5 g/400 ml akuades) disterilkan dengan autoklaf (120°C, 15 lbs) selama 20 menit. Medium yang telah dituang dalam cawan petri berdiameter 9 cm, dibuat 4 sumur dengan pengebor gabus ϕ 1 cm kemudian diisi dengan 0,2 ml suspensi bakteri ($OD_{600} = 0,164$) dan diinkubasikan pada suhu ruang ($\pm 26^\circ\text{C}$) selama 3 hari. Aktivitas proteolitik dilihat dengan cara menuangkan 5 ml larutan ammonium sulfat jenuh ke atas medium. Aktivitas proteolitik ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar sumur yang berisi suspensi bakteri.

Aktivitas Selulolitik

Carboxy methyl cellulose (CMC) digunakan sebagai substrat untuk uji aktivitas selulase mengikuti metode Andro *et al.* (1984). Larutan yang digunakan terdiri dari 4 bagian meliputi, larutan A. 0,25 g NaCl, 1,5 g K_2HPO_4 , 2,5 g CMC, 400 ml akuades, CMC dimasukkan secara pelan-pelan ke dalam akuades dan dikocok dengan pengocok putar pada suhu 50°C dengan kecepatan 100 rpm selama 24 jam; larutan B. 1 M larutan $MgSO_4$, larutan C. 3,0 g Na_2HPO_4 , 0,5 g NH_4Cl , 2,5 g gliserol, 0,5 g yeast ekstrak, 6,5 g agar, 100 ml akuades, dan larutan D. 7,5% (w/v) $CaCl_2$. Semua larutan tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf (120°C, 15 lbs) selama 20 menit.

Larutan A dan C dicampur secara pelan-pelan, kemudian 1 ml larutan B dan 1 ml larutan D dituangkan secara pelan-pelan pada larutan A + C, kemudian dihomogenkan. Campuran medium dituang ke dalam cawan petri (ϕ 9 cm), setelah padat dibuat 4 sumur dengan pengebor gabus steril dan diisi dengan 0,2 ml suspensi bakteri ($OD_{600} = 0,164$). Setelah diinkubasikan selama 3 hari pada suhu ruang, permukaan media dituangi 10 ml larutan *congo red* dan dibiarkan selama 10 menit, kemudian larutan tersebut dibuang dan diganti dengan 10 ml larutan NaCl 1M selama 15

menit. Bakteri dengan aktivitas selulolitik akan memperlihatkan zona bening di sekitar sumur.

Aktivitas Kitinolitik

Aktivitas kitinolitik dari bakteri diuji menggunakan metode yang dideskripsikan oleh Lingappa dan Lockwood (1962). Medium yang mengandung koloidal kitin disiapkan sebagai sumber karbon dan nitrogen. Lima belas g kitin Crustacea dilembakkan menggunakan aseton dan dilarutkan dalam 120 ml HCl dingin dengan cara diaduk selama 45 menit di dalam *ice bath*. Supernatan kemudian disaring menggunakan *glass wool*, koloidal kitin kemudian diendapkan. Residu dilarutkan kembali dan disaring 3 kali, sampai tidak ada lagi kitin yang mengendap. Suspensi yang mengandung koloidal kitin disentrifus dengan kecepatan 4.000 rpm. Supernatan dibuang dan pelet yang mengandung koloidal kitin dicuci 3-4 kali dengan 4 liter akuades sampai pH 2, kemudian disimpan dalam refrigerator. Sebelum digunakan pH dijadikan 6 menggunakan 1 M NaOH.

Kitin agar yang mengandung 0,2% koloidal kitin (pH 6,2) disterilkan. Medium dituang ke dalam cawan petri ϕ 9 cm. Empat sumur dibuat pada medium menggunakan pengebor gabus steril ϕ 1 cm dan diisi dengan 0,2 ml suspensi bakteri ($OD_{600} = 0,164$). Medium yang mengandung bakteri diinkubasi pada suhu ruang selama 4 hari. Aktivitas kitinolitik diindikasikan dengan adanya zona bening di sekitar sumur.

Produksi Sianida (HCN)

Produksi sianida oleh bakteri diuji menggunakan prosedur yang dideskripsikan oleh Wei et al. (1991). Komposisi medium yang digunakan untuk membiakkan bakteri adalah 4,4 g glisin, 30,0 g *tryptic soy broth* (TSB), 15,0 g agar dalam 1.000 ml akuades. Medium disterilisasi menggunakan autoklaf (120°C, 15 lbs) selama 20 menit. Medium dituang ke dalam cawan petri ϕ 9 cm. Produksi sianida dideteksi menggunakan larutan *cyanide detection solution* (CDS) yang mengandung 2 g asam pikrat dan 8 g sodium karbonat, kemudian dilarutkan dalam 200 ml akuades steril. Kertas saring dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm dan disterilisasi dengan cara yang sama seperti pada media biakan. Bakteri yang akan diuji digoreskan pada medium

yang mengandung glisin. Potongan kertas saring dicelupkan pada larutan CDS dan diletakkan pada tutup cawan petri bagian dalam, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 4 hari. Bakteri yang dapat memproduksi sianida dideteksi dengan adanya perubahan warna pada kertas saring dari kuning menjadi oranye kecoklatan.

Pelarut Fosfat

Kemampuan bakteri untuk melarutkan fosfat diuji menggunakan medium Pikovskaya's agar (Thakuria et al. 2004), dengan *tri-calcium phosphate* (TCP) sebagai sumber fosfat. Medium dituang ke dalam cawan petri ϕ 9 cm. Empat sumur dibuat pada medium menggunakan pengebor gabus steril ϕ 1 cm dan diisi dengan 0,2 ml suspensi bakteri ($OD_{600} = 0,164$). Medium yang mengandung bakteri diinkubasi pada suhu ruang selama 4 hari. Adanya zona bening di sekitar bakteri menunjukkan adanya kemampuan untuk melarutkan fosfat.

Aktivitas Fluoresensi

Aktivitas fluoresensi dari bakteri diuji menggunakan medium King's B, dengan komposisi 20 g pepton, 1,5 g $MgSO_4$, 1,8 g KH_2PO_4 , 10 ml gliserol, 15 g agar, dan 1.000 ml akuades. Medium disterilisasi menggunakan autoklaf (120°C, 15 lbs) selama 20 menit. Bakteri digores pada medium yang telah dituang dalam cawan petri, diinkubasi pada suhu ruang selama 2 hari. Aktivitas fluoresensi dapat dilihat dengan meletakkan cawan petri yang telah ditumbuhi bakteri di bawah cahaya UV (360 nm).

Perbanyakan *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

Isolat *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) yang digunakan adalah isolat IPB 057 koleksi Laboratorium Mikologi, Departemen Hama dan Penyakit Tanaman, Institut Pertanian Bogor, yang telah diuji ras dan patogenisitasnya. *Foc* yang digunakan adalah ras 4 berdasarkan uji volatil pada media beras, kemudian diperbanyak pada media PDA.

Pengujian Antibiosis Bakteri Rizosfer dan Endofit Perakaran Graminae terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

Uji antagonis secara in vitro dimaksudkan untuk melakukan seleksi terhadap isolat-isolat yang sudah didapatkan baik bakteri rizosfer

maupun endofit. Uji antagonis dilakukan menggunakan metode uji kultur ganda. Percobaan ini dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 3 perlakuan (media PDA, PDA + TSA, TSA), masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. *Fusarium oxyspoum* f. sp. *ubense* (*Foc*) yang sudah diketahui rasnya diperbanyak dalam medium PDA. Potongan koloni *Foc* dengan diameter 0,5 cm dipindahkan ke dalam ketiga media yang digunakan dengan jarak 3 cm dari tepi cawan petri, diinkubasi selama 48 jam. Bakteri rizosfer dan endofit yang sudah didapatkan dipindahkan ke cawan petri yang sudah mengandung *Foc* berumur 48 jam dengan jarak 3 cm dari tepi, berlawanan arah dengan letak *Foc*. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan *Foc* dan dihitung persentase daya hambat bakteri antagonis dengan rumus :

$$\text{Persentase daya hambat} = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

R1= jari-jari pertumbuhan *Foc* ke arah tepi cawan petri

R2= jari-jari pertumbuhan *Foc* ke arah bakteri

Pengujian Bakteri Rizosfer dan Endofit Perakaran Graminae yang dapat Memacu Pertumbuhan Tanaman

Bakteri rizosfer maupun endofit yang tidak menunjukkan kemampuan antagonis secara in vitro, diuji kemampuannya terhadap peningkatan pertumbuhan mentimun sebagai tanaman uji. Tanaman mentimun digunakan sebagai tanaman indikator karena umurnya pendek dan respons terhadap perlakuan lebih cepat dibandingkan pisang. Percobaan ini dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 48 perlakuan (jumlah bakteri yang diuji), masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Bakteri hasil isolasi yang telah didapatkan diperbanyak pada medium TSA, dengan masa inkubasi selama 48 jam. Bakteri yang telah tumbuh dipanen dengan kuas dan disuspensikan dalam akuades steril dengan kerapatan 10⁹ cfu/ml (OD₆₀₀ = 0,164). Permukaan biji mentimun yang digunakan disterilisasi menggunakan natrium hipoklorit 1% selama 60 menit, kemudian dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Biji yang telah disterilisasi

direndam dalam suspensi bakteri selama 24 jam, ditiriskan, dan kemudian dikecambahkan di atas kertas merang yang telah dilembabkan selama 2 hari dalam ruangan gelap pada suhu ruang. Biji yang telah berkecambah ditanam pada polibag (10x10 cm) berisi tanah steril. Peubah yang diamati meliputi tinggi tanaman dan bobot basah.

Analisis data menggunakan perangkat lunak statistik analisis (SAS) versi 6.12, untuk melihat pengaruh tiap perlakuan dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Rizosfer dan Endofit

Kerapatan populasi bakteri endofit yang tertinggi ditemukan pada akar sorgum (4,02 log cfu/g), sedangkan kerapatan populasi bakteri rizosfer yang tertinggi ditemukan pada akar rumput (8,12 log cfu/g) (Tabel 1).

Kerapatan populasi bakteri rizosfer berkisar antara 7,40-8,12 log cfu/g bobot basah akar, sedangkan bakteri endofit 3,60-4,20 log cfu/g bobot basah akar. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Lambert *et al.* (1987), kerapatan populasi bakteri rizosfer jagung dapat mencapai 108 cfu/g bobot basah akar. McInroy dan Klopper (1995) melaporkan kerapatan populasi bakteri endofit yang diperoleh dari akar dan batang jagung manis dan kapas berkisar antara 4,0-6,0 log cfu/g bobot basah.

Karakteristik Fisiologis

Berdasarkan hasil pengujian beberapa karakter fisiologis bakteri perakaran Graminae, diketahui bahwa bakteri endofit yang berasal dari perakaran padi paling banyak mempunyai kemampuan menghasilkan enzim protease, yaitu 22,92%, bakteri yang mempunyai kemampuan menghasilkan enzim kitinase berasal dari rizosfer rumput dan endofit padi masing-masing 2,08 dan 2,08%. Enzim selulase dan pelarut fosfat yang dihasilkan oleh bakteri yang diuji paling banyak ditunjukkan oleh bakteri yang berasal dari endofit padi masing-masing 20,83 dan 22,92%. Produksi asam sianida dan aktivitas fluoresensi paling banyak ditunjukkan oleh bakteri yang berasal

Tabel 1. Kerapatan populasi bakteri perakaran beberapa jenis tanaman Graminae (*Population density of bacteria in several roots Gramineous crops*)

Jenis tanaman Graminae (Kinds of Gramineous crops)	Kerapatan populasi bakteri (Population density of bacteria)	
	Log cfu/bobot basah akar (Log cfu/fresh root weight)	
	Rizosfer (Rhizosphere)	Endofit (Endophyt)
Rumput gajah (<i>Giant grass</i>)	8,12	3,60
Jagung (<i>Corn</i>)	7,64	3,80
Padi gogo (<i>Dryfield rice</i>)	7,40	3,71
Sorgum (<i>Sorghum</i>)	7,42	4,02

dari endofit sorgum masing-masing 8,33%. Berdasarkan hasil pengujian karakteristik fisiologis, diketahui bahwa isolat bakteri yang berasal dari endofit padi lebih berpeluang memiliki kemampuan menghasilkan enzim protease, selulase, dan pelarut fosfat, sedangkan untuk asam sianida dan fluoresensi ditunjukkan oleh bakteri yang berasal dari endofit sorgum (Tabel 2).

Karakter fisiologis yang terbanyak dihasilkan oleh bakteri, yaitu kemampuan menghasilkan enzim selulase, protease, dan kemampuan melarutkan fosfat, yaitu 60,41, 52,08, dan 52,09%, sedangkan karakter fisiologis yang sedikit dihasilkan, yaitu kemampuan menghasilkan enzim kitinase, HCN, dan aktivitas fluoresensi (4,16, 18,75, dan 18,75%).

Tabel 2. Persentase isolat bakteri yang berasal dari perakaran beberapa jenis Graminae yang menunjukkan kemampuan menghasilkan beberapa karakter fisiologis (*Percentage of bacteria isolate from various Gramineous crops with ability to produce several physiological characteristics*)

Asal isolat (Isolate host)	Persentase isolat bakteri yang menunjukkan karakter fisiologis (Percentage of bacteria isolate with ability to produce several physiological characteristic)					
	Protease (Protease)	Kitinase (Chitinase)	Selulase (Cellulase)	HCN	Pelarut fosfat (Phosphate solubilization)	Fluoresens (Fluorescens)
Rumput gajah (<i>Giant grass</i>)						
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	2,08	2,08	4,17	0,00	2,08	0,00
Endofit (<i>Endophyt</i>)	6,25	0,00	4,17	0,00	10,42	0,00
Jagung (<i>Corn</i>)						
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Endofit (<i>Endophyt</i>)	6,25	0,00	14,58	4,17	6,25	4,17
Padi gogo (<i>Dryfield rice</i>)						
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	2,08	0,00	2,08	0,00	2,08	0,00
Endofit (<i>Endophyt</i>)	22,92	2,08	20,83	6,25	22,92	6,25
Sorgum						
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	4,17	0,00	2,08	0,00	4,17	0,00
Endofit (<i>Endophyt</i>)	8,33	0,00	12,5	8,33	4,17	8,33
Jumlah (<i>Total</i>)	52,08	4,16	60,41	18,75	52,09	18,75

Hal yang sama juga dilaporkan oleh Munif (2001), dari hasil karakter fisiologis bakteri endofit perakaran tomat karakter fisiologis yang terbanyak dihasilkan adalah kemampuan menghasilkan enzim protease, selulase, dan pelarut fosfat yaitu 55,74, 41,53, dan 40,44%, sedangkan bakteri yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim kitinase, HCN, dan pelarut fosfat hanya 25,14, 18,03, dan 18,03%.

Enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri perakaran Graminae (60,41%) terutama yang berasal dari endofit perakaran, dapat dihubungkan dengan kemampuan bakteri tersebut melakukan penetrasi secara aktif ke dalam jaringan tanaman. Bakteri yang telah melakukan penetrasi ke dalam jaringan tanaman dapat berkembang di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gangguan pada tanaman inang. Benhamou *et al.* (1996) melaporkan enzim selulase dan pektinase yang dihasilkan oleh bakteri endofit *P. fluorescens* dapat digunakan oleh bakteri tersebut untuk melakukan penetrasi pada jaringan akar kentang dan mengkolonisasi daerah interselular jaringan korteks akar.

Pengujian karakter fisiologis bakteri perakaran Graminae dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk menyeleksi bakteri-bakteri yang potensial digunakan untuk mengendalikan patogen terutama patogen tular tanah atau

untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Beberapa karakter fisiologis yang dihasilkan oleh bakteri perakaran Graminae seperti enzim selulase, protease, kitinase, HCN, dan aktivitas fluoresensi dapat digunakan oleh bakteri tersebut untuk menghambat perkembangan patogen terutama patogen tular tanah. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Mitchell dan Alexander (1962), yang menyatakan bahwa enzim kitinase dan selulase yang dihasilkan oleh *B. cereus* dapat mendegradasi dinding sel patogen *Foc*. Beberapa jenis bakteri telah dilaporkan dapat menghasilkan enzim kitinase di antaranya *B. cereus* (Mitchell dan Alexander 1962), *B. circulans* (Chen *et al.* 2004), *Serratia marcescens* (Downing dan Thomson 2000, Munif 2001), dan beberapa jenis bakteri dari genera *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Cedecea*, *Comamonas*, *Pantoea*, dan *Pseudomonas* (Munif 2001).

Bakteri perakaran Graminae juga mempunyai kemampuan menghasilkan HCN sekitar 18,75% dari total bakteri yang diuji. HCN ini merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* kelompok fluoresens. HCN diketahui sebagai senyawa antifungal yang mempunyai korelasi dengan aktivitas antagonis secara *in vivo*. Terdapat adanya korelasi antara produksi HCN oleh *Pseudomonas* kelompok fluoresens dengan aktivitas bakteri tersebut dalam mengendalikan beberapa patogen, di antaranya penyakit akar gada pada caisin (Widodo *et al.* 1993) secara *in vivo*.

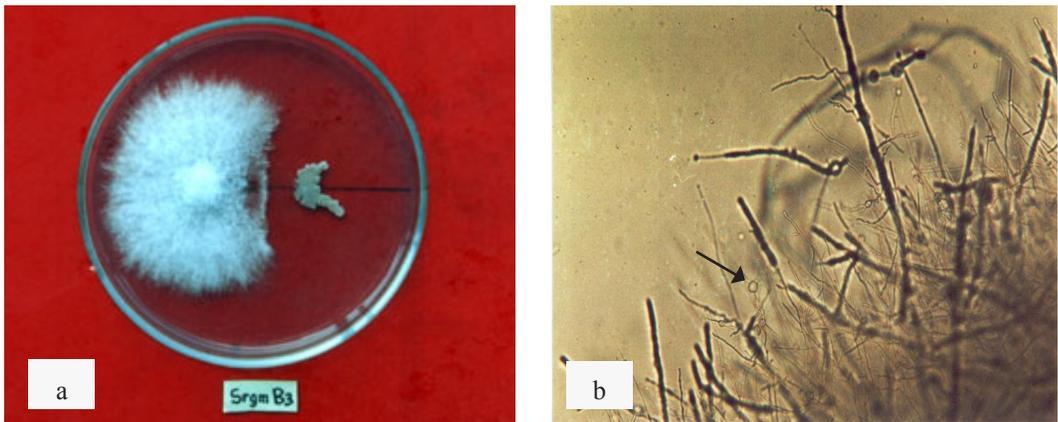
Bakteri perakaran Graminae juga mempunyai kemampuan melarutkan senyawa fosfat yaitu sekitar 52,09% dari total isolat yang diuji. Kemampuan bakteri melarutkan senyawa fosfat dapat digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan melarutkan mineral fosfat, sehingga dapat memudahkan penyerapan unsur fosfat oleh tanaman. Di samping dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, senyawa fosfat juga dapat mempengaruhi penekanan insidensi penyakit layu fusarium pada pisang (Stover 1962). Senyawa fosfat dilaporkan tidak dapat memacu pertumbuhan hifa *Foc* pada pembuluh, dan apabila kandungan fosfat yang diserap tanaman cukup, dapat meningkatkan ketahanan pisang (Wardlaw 1972).

Peranan Bakteri Perakaran Tanaman Famili Graminae sebagai Bakteri Antibiosis dan Pemacu Pertumbuhan

Hasil pengamatan secara *in vitro* dari pengujian bakteri antibiosis dengan metode kultur ganda memperlihatkan bahwa pertumbuhan *Foc* dapat dihambat oleh bakteri. Penghambatan dapat dilihat dengan adanya zona bening antara bakteri yang diuji dengan *Foc*, sedangkan pada daerah tanpa bakteri tidak ditemukan adanya zona bening (Gambar 1 a). Chen dan Michailidaes (2004) juga melaporkan pada uji kultur ganda, *Bacillus* sp. dapat menghambat pertumbuhan *Botryosphaeria dothidae* dengan membentuk zona bening dengan diameter 19,3-20,8 mm. *Bacillus* sp. strain BC121 juga dapat menghambat pertumbuhan *Curvularia lunata* secara *in vitro* dengan diameter zona bening 0,5-1 cm (Basha dan Ulaganathan 2002).

Pembentukan zona bening terjadi karena adanya senyawa antifungal yang dihasilkan oleh bakteri perakaran Graminae. Senyawa antifungal yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* spp. telah banyak dilaporkan di antaranya pyrrolnitrin (Lambert *et al.* 1987), phenazin-1-carboxylic acid, pyocyanin, dan 2,4-diacetylphloroglucinol (Rosales *et al.* 1995). Beberapa bakteri kelompok *Bacillus* juga dilaporkan dapat menghasilkan senyawa antifungal di antaranya inturin A (Leysn *et al.* 1990), dan lipopeptida yang merupakan isomer dari kelompok iturin, fengycin, dan surfactin (Toure *et al.* 2004), serta kitinase (Chen *et al.* 2004).

Senyawa antifungal yang dihasilkan oleh bakteri secara umum mengakibatkan terjadinya pertumbuhan yang abnormal pada hifa (malformasi), yang ditunjukkan dengan pembengkakan dan pemendekan hifa yang mengakibatkan hifa tidak dapat berkembang dengan sempurna (Gambar 1b). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Chen dan Michailides (2004) hifa *B. dothidae* yang diperlakukan dengan *Bacillus* sp. dapat mengalami pembengkakan (*bubbles*), yang menyebabkan hifa tidak dapat tumbuh dengan sempurna dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan *Bacillus* sp.. Pembengkakan hifa juga ditunjukkan pada *C. lunata* yang diperlakukan dengan *Bacillus* sp. strain BC121. Di samping itu juga ditemukan hifa patogen yang mengalami lisis, hal ini disebabkan karena



Gambar 1. Daya hambat bakteri terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* f. sp. *cubense* secara in vitro. (*Bacteria inhibition on growth of Foc on in vitro*) (a) pembentukan zona bening (*transparent zone formation*), (b) pemendekan dan pembengkakan hifa (tanda panah) (*shorting and swelling of hypha* (arrow).

bakteri menghasilkan enzim kitinase yang dapat melisis dinding sel patogen, dinding sel beberapa cendawan patogen dilaporkan disusun oleh senyawa kitin (Basha dan Ulaganathan 2002).

Penghambatan pertumbuhan miselium disebabkan karena adanya aktivitas antibiosis bakteri antagonis. Pembengkakan yang ditunjukkan oleh hifa fusarium terjadi karena senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri dapat masuk ke dalam sel patogen dan menyebabkan *protoplasmic dissolution* (Chen dan Michailides 2004).

Peluang terbesar (10,40%) untuk mendapatkan bakteri dari berbagai asal isolat dengan kemampuan antibiosis tertinggi (+++), diperoleh jika pengujian dilakukan pada medium TSA. Peluang terbesar dari bakteri yang diisolasi dari 4 jenis tanaman dengan kemampuan antibiosis tertinggi diperoleh dari bakteri yang berada dalam jaringan tanaman (endofit) akar jagung yaitu sebesar 3,3% (Tabel 3).

Hasil pengujian secara in vitro menunjukkan bahwa, dari 182 isolat bakteri yang diperoleh dari 4 jenis tanaman Graminae (padi gogo, sorgum, jagung, dan rumput), 37 isolat di antaranya (21,45%) menunjukkan kemampuan menghasilkan senyawa antifungal (antibiosis) (Tabel 4). Sedangkan pengujian pengaruh bakteri terhadap pertumbuhan mentimun terlihat bahwa isolat bakteri yang berasal dari

endofit perakaran sorgum lebih berpeluang untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman (10,42% dari total isolat yang diuji), diikuti oleh rizosfer sorgum, dan endofit jagung. Bakteri yang paling banyak ditemukan adalah bakteri yang tidak memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan tanaman atau bersifat netral, sedangkan bakteri yang menghambat pertumbuhan tanaman tidak dijumpai pada percobaan ini. Secara umum terlihat bahwa bakteri endofit lebih berpotensi sebagai bakteri pemacu pertumbuhan tanaman dibandingkan bakteri rizosfer.

Hasil pengujian secara in vivo pada tanaman mentimun menunjukkan bahwa, beberapa isolat bakteri memiliki kemampuan meningkatkan pertumbuhan tanaman, terutama bakteri yang berasal dari endofit perakaran tanaman. Mekanisme peningkatan pertumbuhan oleh bakteri bisa terjadi dengan beberapa cara di antaranya melarutkan fosfat (Thakuria et al. 2004, de Freitas et al. 1997), fiksasi nitrogen (Thakuria et al. 2004), merangsang pembentukan akar lateral (Vasudevan et al. 2002), dan menghasilkan hormon pertumbuhan seperti IAA (Vonderwell et al. 2001), auksin (Khalid et al. 2004), dan sitokinin. *Pseudomonas fluorescens* dilaporkan dapat menghasilkan sitokinin, 3 jenis sitokinin yang dihasilkan adalah sitokinin dihydrozeatin riboside (DHZR), isopentenyl adenosine (IPA), dan trans-zeatin ribose (ZR) (Salamone et al. 2001).

Tabel 3. Persentase bakteri dengan berbagai kemampuan daya hambat terhadap *Foc* pada 3 jenis media (Percentage of bacteria with ability to inhibit *Foc* in 3 kinds medium)

Asal isolat (Isolate host)	TSA (%)				PDA (%)				TSA+PDA (%)			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
Rumput gajah (Giant grass)												
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	6,5	0,5	0,0	0,5	6,5	1,1	0,0	0,0	6,5	0,0	1,1	0,0
Endofit (<i>Endophyt</i>)	3,3	0,0	0,0	1,6	3,3	0,0	1,1	0,5	3,3	0,0	0,0	1,6
Jagung (Corn)												
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	10,9	0,0	1,1	0,0	10,9	1,1	0,0	0,0	10,9	0,5	0,5	0,0
Endofit (<i>Endophyt</i>)	3,85	0,0	0,5	3,3	4,4	2,2	1,1	0,0	3,8	1,6	1,6	0,5
Padi gogo (Dryfield rice)												
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	21,9	0,0	0,5	0,0	21,9	0,0	0,5	0,0	21,9	0,0	0,0	0,5
Endofit (<i>Endophyt</i>)	14,8	0,0	4,9	2,7	14,8	1,6	1,1	4,9	14,8	1,6	3,3	2,7
Sorghum (Sorghum)												
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	7,1	0,0	0,0	1,1	7,1	0,0	1,1	0,5	7,1	0,0	1,1	0,5
Endofit (<i>Endophyt</i>)	8,7	0,0	2,7	1,1	8,7	1,1	1,1	2,2	8,7	0,0	1,6	2,7
Jumlah (Total)	77,8	0,5	9,9	10,4	78,0	7,1	6,0	8,2	77,8	3,8	9,3	8,8

- = tidak ada daya hambat (*not inhibiting*)
- + = minggu pertama ada zona hambat, minggu kedua tidak ada zona hambat (*inhibition until first week, not inhibiting in second week*)
- ++ = ada zona hambat sampai minggu kedua, daya hambat kurang dari 50% (*inhibition until second week, inhibit ability <50%*)
- +++ = ada zona hambat sampai minggu kedua, daya hambat lebih dari 50% (*inhibition until second week, inhibit ability >50%*)

Kemampuan rizobakteria melarutkan senyawa fosfat yang ada di sekitar perakaran dapat membantu meningkatkan persediaan fosfat untuk pertumbuhan tanaman (Thakuria *et al.* 2004). Thakuria *et al.* (2004) melaporkan bahwa bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari rizosfer padi dapat meningkatkan produksi padi 5,4-21,6%. Hal yang sama juga dilaporkan oleh de Freitas *et al.* (1997) beberapa jenis bakteri pelarut fosfat di antaranya *B. brevis*, *B. megaterium*, dan *B. polymyxa* dapat meningkatkan pertumbuhan *Brassica napus* L.

Di samping dapat meningkatkan ketersediaan fosfat, beberapa bakteri juga dapat meningkatkan unsur nitrogen, sehingga kebutuhan tanaman terhadap unsur nitrogen dapat terpenuhi (Thakuria *et al.* 2004). Di samping dapat meningkatkan ketersediaan beberapa nutrisi, rizobakteria juga dapat merangsang tanaman untuk membentuk akar lateral. Akar lateral ini dapat memperluas daerah penyerapan unsur hara oleh tanaman, sehingga kebutuhan nutrisi lebih cepat terpenuhi dan meningkatkan pertumbuhan tanaman (Vasudevan *et al.* 2002). Hormon pertumbuhan yang dihasilkan oleh bakteri juga dapat dimanfaatkan oleh tanaman untuk meningkatkan pertumbuhan

tanaman. Khalid *et al.* (2004) juga melaporkan bakteri dari rizosfer gandum dapat menghasilkan auksin, hormon ini dapat digunakan oleh tanaman untuk meningkatkan panjang akar hingga 17,3%, berat kering akar 13,5%, panjang tajuk 37,7%, dan berat kering tajuk gandum 36,3% dibanding kontrol.

Beberapa nutrisi seperti nitrogen dan fosfat dapat berpengaruh langsung terhadap perkembangan penyakit. Penambahan senyawa fosfat dapat memperlambat perkembangan penyakit layu fusarium pada tanaman pisang, hal ini terjadi karena fosfat tidak dapat memacu pertumbuhan hifa dan apabila diserap oleh tanaman dalam jumlah yang cukup, dapat meningkatkan ketahanan tanaman (Wardlaw 1972). Senyawa nitrogen tidak berpengaruh terhadap insidensi penyakit, akan tetapi bila kandungan nitrogen dalam bentuk $(NH_4)_2SO_4$ dalam tanah tinggi, dapat meningkatkan kejadian penyakit (Stover 1962). Wardlaw (1972) juga menyatakan, nitrogen merupakan sumber nutrisi bagi patogen untuk berkecambah, jadi kandungan nitrogen yang melebihi batas normal dapat meningkatkan insidensi penyakit.

Tabel 4. Persentase isolat bakteri antibiosis, pemacu pertumbuhan, bersifat netral terhadap pertumbuhan tanaman, dan menghambat pertumbuhan tanaman (Percentage of antibiosis, plant growth promoting, netral, plant growth inhibition bacteria)

Asal isolat (Isolate host)	Persentase isolat (Percentage of isolate)			
	Antibiosis (Antibiosis)	Pemacu pertumbuhan (Growth promoting)	Netral (Neutral)	Menghambat pertumbuhan (Growth inhibiting)
Rumput Gajah (Giant grass)				
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	1,10 ± 0,10	0,00 ± 0,00	12,50 ± 0,17	0,00 ± 0,00
Endofit (<i>Endophyt</i>)	2,20 ± 0,00	4,17 ± 0,02	8,33 ± 0,10	0,00 ± 0,00
Jagung (Corn)				
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	1,10 ± 0,08	0,00 ± 0,00	12,50 ± 0,10	0,00 ± 0,00
Endofit (<i>Endophyt</i>)	3,85 ± 0,07	2,08 ± 0,02	10,42 ± 0,08	0,00 ± 0,00
Padi Gogo (Dryfield rice)				
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	0,55 ± 0,05	2,08 ± 0,01	10,42 ± 0,25	0,00 ± 0,00
Endofit (<i>Endophyt</i>)	7,70 ± 0,18	0,00 ± 0,00	12,50 ± 0,09	0,00 ± 0,00
Sorgum (Sorghum)				
Rizosfer (<i>Rhizosphere</i>)	1,10 ± 0,10	4,17 ± 0,03	8,33 ± 0,07	0,00 ± 0,00
Endofit (<i>Endophyt</i>)	3,85 ± 0,05	10,42 ± 0,21	2,08 ± 0,10	0,00 ± 0,00
Jumlah (Total)	21,45	22,92	77,08	0,00

KESIMPULAN

1. Kerapatan populasi bakteri rizosfer tanaman rumput gajah lebih tinggi dibandingkan jenis tanaman lain, sedangkan untuk bakteri endofit, yang tertinggi ditemukan pada akar sorgum.
2. Karakter fisiologis yang terbanyak dimiliki oleh bakteri perakaran Graminae adalah kemampuan menghasilkan enzim selulase, protease, dan kemampuan melarutkan fosfat.
3. Bakteri perakaran Graminae memiliki kemampuan antibiosis terhadap *Foc* secara in vitro dan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman.
4. Bakteri perakaran menunjukkan kemampuan menghambat secara in vitro yang lebih tinggi pada medium TSA dibandingkan media PDA dan TSA+PDA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada The Participatory Development of Agricultural Technology project (PAATP) dan Pusat kajian Buah Tropika (PKBT) yang telah mendanai penelitian ini, serta Balai Penelitian Tanaman Buah yang telah memfasilitasi pelaksanaan percobaan ini.

PUSTAKA

1. Andro, T., J.P. Chambost, A. Kotoujansky, J. Cattano, Y. Bertheau, F. Baras, F. Van Gijsegem, and A. Coleno. 1984. Mutants of *Erwinia chrysanthemi* Defective in Secretion of Pectinase dan Cellulase. *J Bacteriol* 160:1119-1203.
2. Basha, S., and K. Ulaganathan. 2002. Antagonism of *Bacillus* Species (Strain BC121) toward *Curvularia lunata*. *Current Sci.* 82:1457-1463.
3. Benhamou, N., R.R. Belanger, and T.C. Paulitz. 1996. Induction of Differential Host Responses by *Pseudomonas fluorescens* in Ri T-DNA-Transformed Pea Roots After Challenge with *Fusarium oxysporum* f. sp. Pisi and *Pythium ultimum*. *Phytopathol.* 86:1174-1185.
4. Bruehl, G.W. 1987. *Soilborne Plant Pathogen*. New York: Macmillan Publishing Company. p.
5. Chen, W-q, and T.J. Michailides. 2004. Collection and Trials of Biocontrol Agents Against *Botryosphaeria panicle* and Shoot Blight of Pistachio. Postdoctoral Research Associate. p.
6. Chen, C-Y, Y-H Wang, and C-J Huang. 2004. Enhancement of the Antifungal Activity of *Bacillus subtilis* f29-3 by the Chitinase Encoded by *Bacillus circulans* chiA Gene. *Can J Microbiol* 50:451-454.
7. de Freitas, J.R., M.R. Banerjee, and J.J. Germida. 1997. Phosphat-Solubilizing Rhizobacteria Enhance the Growth and Yield but Not Phosphorus Uptake of Canola (*Brassica napus* L.) [abstract]. *Biology and Fertility of Soil* 24:358-364.
8. Downing, K.J., and J.A. Thomson. 2000. Introduction of the *Serratia marcescens* chiA Gene into an Endophytic *Pseudomonas fluorescens* for the Biocontrol of Phytopathogenic Fungi. *Can J Microbiol* 46:363-369.

9. Hallmann, J., A. Quadt-Hallman, W.F. Mahafee, and J.W. Kloepper. 1997. Bacterial Endophytes in Agricultural Crops. *Can J Microbiol* 43:895-914.
10. Khalid, A., M. Arshad, and Z.A. Zahir. 2004. Screening Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Improving Growth and Yield of Wheat (Abstract). *App Microb.* 96: 473.
11. Lambert B., F. Leyns, L.V. Rooyen, F. Gossele, Y. Papon, and J. Swings. 1987. Rhizobacteria of Maize and the Antifungal Activities. *App Env Microbiol* 53:1866-1871.
12. Leyns F, B. Lambert, H. Joos, and J. Swings. 1990. Antifungal Bacteria from Different Crops. *Dalam: Hornby D, editor. Biological Control of Soil-borne Plant Pathogens.* CAB International.
13. Li, J., and R.J. Kremer. 2000. Rhizobacteria Associated with Weed Seedlings in Different Cropping Systems. *Weed Sci.* 48:734-741.
14. Lingappa, Y., and J.L. Lockwood. 1962. Chitin Medium for Selective Isolation and Culture of Actinomycetes. *Phytopathol.* 52:317-323.
15. McInroy, J.A., and J.W. Kloepper. 1995. Population Dynamics Endophytic Bacteria in Field-Grown Sweet Corn and Cotton. *Can J. Microbiol* 41:3895-3901.
16. Mitchell, R., and M. Alexander. 1962. Lysis of Soil Fungi by Bacteria. *Can J. Microbiol* 9:169-177.
17. Munif, A. 2001. Studies on the Importance of Endophytic Bacteria for the Biological Control of the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* on Tomato (*Dissertation*). Doktor der Agrarwissenschaften. Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
18. Rosales, A.M., L. Thomashow, R.J. Cook, and T.W. Mew. 1995. Isolation and Identification of Antifungal Metabolites Produced by Rice-Associated Antagonistic *Pseudomonas* spp. *Phytopathol.* 85:1028-1032.
19. Salamone, I.E.G., R.K. Hynes, and L.M. Nelson. 2001. Cytokinin Production by Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Selected Mutants (Abstract). *Can J Microbiol* 47:404-411.
20. Stover. 1962. Fusarial Wilt (Panama Disease) of Banana and Other Musa Species. Key survey. cml. Hlm. 45-52.
21. Thakuria, D., N.C. Talukdar, C. Goswami, S. Hazarika, and R.C. Boro. 2004. Characterization and Screening of Bacteria from Rhizosphere of Rice Grown in Acidic Soils of Assam. *Current Sci.*86:978-985.
22. Toure, Y., M. Ongena, P. Jacques, A. Guiro, and P. Thonart. 2004. Role of Lipopeptides Produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the Reduction of Grey Mould Disease Caused by *Botrytis cinerea* on Apple (Abstract). *App Microbiol* 96:1115-1160.
23. Vasudevan, P., M.S. Reddy, S. Kavitha, P. Velusamy, and R.S.D. Paulraj. 2002. Role of Biological Preparations in Enhancement of Rice Seedling Growth and Grain Yield. *Current Sci.* 83:1140-1143.
24. Vonderwell, J.D., S.A. Enebak, and L.J. Samuelson. 2001. Influence of Two Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Loblolly Pine Root Respiration and IAA Activity. *Forest Sci.* 47:197-202.
25. Wardlaw, and C.W.. 1972. *Banana Disease.* Including Plantains and Abaca. London: Longman, Green and Co LTD. P.188-276.
26. Wei, G., J.W. Kloepper, and S. Tuzun. 1991. Induction of Systemic Resistance of Cucumber to *Colletotrichum orbicularae* by Select Strain of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Phytopathol.* 81:1508-1512.
27. Widodo, M.S. Sinaga, I. Anas, dan M. Machmud. 1993. Penggunaan *Pseudomonas* spp. Kelompok Fluoresen untuk Pengendalian Penyakit Akar Gada (*Plasmiodiophora brassicae* wor.) pada Caisin (*Brassica campestris* L. Var. Chinensis (Rupr.) Olson). *Bull. HPT* 62:94-105.