

BIOPROSPEKSI BERBASIS SUMBER DAYA GENETIK MIKROBA UNTUK PENGELOLAAN PENYAKIT TANAMAN

Yadi Suryadi¹, Dwi N. Susilowati¹, dan Fani Fauziah²

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian

Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

²BPTK Gambung-Mekarsari, Bandung 40972

PENDAHULUAN

Produksi tanaman sangat dipengaruhi oleh banyak faktor (biotik dan abiotik), yang menyebabkan hilangnya hasil panen. Secara global, aplikasi pupuk yang kurang tepat serta tingkat keparahan penyakit tanaman yang tinggi dapat mengurangi hasil sehingga mengancam keamanan pangan. Strategi utama saat ini untuk menjaga stabilitas produksi tanaman yang dapat diandalkan, didasarkan pada penggunaan senyawa kimia. Pupuk kimia digunakan untuk menyediakan nutrisi yang cukup untuk mengoptimalkan hasil panen. Namun, ketergantungan pada penggunaan pupuk anorganik/sintetis dan pestisida seringkali menyebabkan berbagai masalah diantaranya ketahanan patogen terhadap bahan kimia, pencemaran lingkungan, dan efek merusak terhadap nontarget seperti pada manusia/hewan (Pal *et al.* 2011).

Bioprospeksi diartikan sebagai pencarian secara sistematis pada seluruh sumberdaya alam potensial (tanaman dan mikroba)

terkait gen, senyawa alami dan disainnya untuk pengembangan produk melalui upaya hayati, biokimia dan genetika tanpa merusak lingkungan. Rhizosfir dihuni oleh beragam rhizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman (RPPT), dan habitat ini kaya dengan nutrisi yang menyediakan sumber karbon organik karena akumulasi berbagai eksudat tanaman seperti gula sederhana/kompleks (glukosa, xilosa, maltosa dan sukrosa), senyawa primer dan sekunder termasuk asam amino (asam aspartat, *glutamate*, *isoleusin*, dan *leusin*), asam organik (asam sitrat, asam malat, asam laktat dan asam suksinat), asam fenolik, flavonoid, enzim, asam lemak, nukleotida, tanin, steroid, terpenoid, dan alkaloid (Mateo *et al.* 2001; Rudrappa *et al.* 2008). Penggunaan pupuk hayati/organik atau biopestisida yang mengandung isolat RPPT merupakan strategi alternatif bioprospeksi untuk mengurangi suplemen kimia. RPPT, sebagai agen pupuk hayati pemacu pertumbuhan tanaman bekerja melalui beberapa mekanisme, antara lain mengubah struktur komunitas mikroba rhizosfir, memfiksasi nitrogen, melarutkan fosfat, menghasilkan zat pengatur tumbuh (IAA, giberelin, dan sitokinin) (Gilbertson *et al.* 2007), menghasilkan siderofor pengkelat besi; senyawa organik yang mudah menguap, dan efek merusak terhadap mikroba lainnya.

Minat dalam pemanfaatan bioprospeksi berbasis sumberdaya genetika mikroba untuk memperbaiki kesehatan tanaman telah meningkat di seluruh dunia karena perhatian publik terhadap pertanian berkelanjutan, dimana mikroba RPPT diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman serta menyediakan alternatif pengendalian hayati (PH) penyakit tanaman. Mikroba antagonisme seperti bakteri yang menguntungkan dikenal sebagai agen PH yang dapat mengurangi kejadian atau keparahan penyakit tanaman. Sebagai agen untuk PH, RPPT memiliki dua mekanisme utama, yaitu: (a) Antagonisme langsung di mana RPPT menghasilkan metabolit yang mempengaruhi patogen (antibiotik, persaingan, dan hiperparasitisme); dan (b) Efek tidak

langsung (induksi ketahanan sistemik) di mana RPPT memicu ketahanan tanaman terhadap patogen (Yan *et al.* 2002). RPPT dapat menghasilkan berbagai macam senyawa dengan aktivitas antimikroba yang digunakan dalam sistem pertahanan. Aktivitas antagonisme bakteri RPPT dapat dikelompokkan sebagai berikut: (a) Sintesis enzim hidrolitik, seperti kitinase, glukukanase, protease, dan lipase, yang dapat melisis sel jamur patogenik (Maksimov *et al.*, 2011); (b) Persaingan untuk nutrisi dan kolonisasi yang sesuai pada lingkungan permukaan akar (Kamilova *et al.*, 2008); (c) Pengaturan kadar etilen tanaman oleh enzim ACC-deaminase, yang dapat mengatur kadar etilen dalam tanaman sebagai tanggapan terhadap cekaman yang ditimbulkan oleh infeksi patogen; dan (d) Produksi siderofor, bacteriocins, dan antibiotik berspektrum luas. Kemampuan RPPT untuk memproduksi siderofor dan metabolit yang berkontribusi terhadap antibiosis telah diteliti secara mendalam. Penyerapan ion besi dari lingkungan melalui siderofor sebagian besar digunakan oleh mikroba patogen dan non-patogen. Siderofor, bacteriocin dan antibiotik adalah tiga mekanisme antagonis yang paling efektif untuk mencegah perbanyakan patogen tanaman (Jha & Subramanian 2014).

Dewasa ini kebutuhan global untuk makanan lebih sehat dengan sedikit kontaminasi residu kimia, serta perhatian terhadap kelestarian lingkungan telah meningkat pesat. Meskipun beberapa agen PH saat ini telah tersedia di pasaran, upaya untuk mengisolasi mikroba RPPT dari tanaman dan kompos masih banyak dilakukan secara intensif di seluruh dunia, dan berbagai RPPT potensial sudah banyak dieksploitasi secara komersial untuk mendukung pertanian berkelanjutan. Aplikasi bakteri RPPT antara lain telah dipelajari pada berbagai tanaman seperti kedelai, gandum, jagung, oat, kentang, barley, tomat, canola dan mentimun (Khalid *et al.*, 2004).

RPPT diketahui mempengaruhi penekanan penyakit dan pertumbuhan tanaman. Namun, beberapa *strain* yang efektif

secara *in vitro* atau di rumah kaca mungkin tidak efektif lagi pada kondisi lapangan. Beberapa faktor lingkungan mempengaruhi pertumbuhan RPPT pada tanaman. Adaptasi terhadap lingkungan yang kompleks sangat penting untuk memilih *strain* RPPT yang memiliki aktivitas PH dan pemacu pertumbuhan tanaman berspektrum luas. PH dengan *strain* RPPT tunggal hanya dapat menekan kisaran patogen yang sempit, serta menunjukkan kinerja yang tidak konsisten, oleh karena itu untuk mengelola beberapa penyakit tanaman yang sering terjadi di lapangan, pendekatan RPPT campuran juga perlu ditingkatkan aplikasinya (Jetiyanon & Kloepper 2002).

Peran RPPT yang terlibat dalam PH patogen di lapangan sangat bermanfaat dalam kajian pengelolaan penyakit tanaman berkelanjutan untuk meminimalkan penggunaan bahan kimia, serta untuk mengatasi masalah lingkungan dan kesehatan. Tulisan tinjauan disusun sebagai berikut: (1) RPPT dan pemacu pertumbuhan tanaman; (2) RPPT sebagai agen PH dan mekanismenya; (3) Mekanisme induksi ketahanan sistemik/*induce systemic resistance* (ISR) yang dibantu oleh RPPT; dan (4) Penelitian pengembangan kemampuan agen PH terhadap respon tanaman. Di samping itu contoh dari hasil penelitian pengelolaan penyakit tanaman menggunakan mikroba rhizosfir (RPPT), juga dijelaskan dengan referensi khusus aplikasinya pada tanaman teh dan padi.

RPPT PEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN

Produk pupuk hayati yang mengandung mikroba hidup RPPT mengkolonisasi rhizosfir tanaman kemudian meningkatkan pasokan atau ketersediaan nutrisi utama dan memberikan rangsangan pertumbuhan pada tanaman target. RPPT mengkolonisasi akar tanaman dan secara langsung meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan berbagai mekanisme, seperti fiksasi nitrogen,

Tabel 3.9. RPPT pemacu pertumbuhan tanaman dengan berbagai fungsi

Fungsi	Spesies	Referensi
Fixasi Nitrogen	<i>Azospirillum</i> , <i>Cyanobacteria</i> , <i>Azoarcus</i> , <i>Azotobacter</i> , <i>Acetobacter diazotrophicus</i> <i>Rhizobium</i> <i>Bradyrhizobium</i> <i>Bacillus</i>	Bhattacharjee dan Dey, (2014)
Pelarat Fosfat	<i>Pseudomonas</i> , <i>Rhizobium</i> <i>Bacillus</i> sp, <i>Klebsiella oxytoca</i> dan <i>P. nitroreducens</i>	Mallaiah, (2009) Setyowati <i>et al.</i> , (2017)
Penghasil hormon tanaman	<i>B. aryabhatai</i> 6KJ, <i>B. cibi</i> 4PB dan <i>B. marisflavi</i> 2KB	Lestari <i>et al.</i> , (2017)

melarutkan mineral fosfat, dan sekresi hormon tanaman (Tabel 3.9).

PERAN RPPT DALAM FIKSASI NITROGEN, PELARUT FOSFAT, DAN HORMON TANAMAN

Nitrogen (N) adalah nutrisi yang paling penting untuk pertumbuhan tanaman karena diperlukan untuk biosintesis molekul penting seperti asam nukleat dan asam amino. Meskipun sekitar 78% atmosfer adalah N (dalam bentuk N₂), akan tetapi N tidak dapat langsung digunakan oleh organisme. Mikroba pengikat N mengubah gas nitrogen (N₂) dari atmosfer menjadi bentuk yang dapat dimanfaatkan tanaman melalui aksi kompleks nitrogenase-enzimatik selama fiksasi N. Beberapa mikroba seperti *Azospirillum*, *Cyanobacteria*, *Azoarcus*, *Azotobacter*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Rhizobium*, *Bacillus*, dan *Pseudomonas* adalah contoh bakteri simbiotik/non simbiotik pengikat nitrogen yang dapat meningkatkan kesuburan tanah dengan cara fiksasi N secara hayati (Bhattacharjee & Dey 2014) (Tabel 3.9).

RPPT dari spesies bakteri yang berbeda dapat melarutkan senyawa fosfat inorganik yang tidak larut seperti *dicalciumphosphate*, *tricalcium phosphate*, *rock phosphate* dan *hydroxyapatite* untuk serapan tanaman (Nautiyal *et al.* 2000). Beberapa contoh bakteri pelarut fosfat diantaranya *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bacillus* sp., *Klebsiella oxytoca*, dan *P. nitroreducens*.

Hormon tanaman (asam indole-3-asetat (IAA), giberelin, dan sitokinin) diketahui terlibat dalam proses inisiasi akar, pembelahan sel, dan pembesaran sel. Bakteri gram positif berbentuk batang (basil) penghasil IAA diantaranya *B. aryabhattai* 6KJ, *B. cibi* 4PB dan *B. marisflavi* 2KB (Tabel 3.9).

RPPT AGEN PH

Dua *strain* RPPT seperti *Pseudomonas* spp. dan bakteri Gram-positif *Bacillus* spp. pembentuk spora sangat penting sebagai agen PH. Kajian RPPT yang paling banyak dilakukan adalah pada bakteri *Pseudomonas* spp., tetapi sebagian besar RPPT yang tersedia secara komersial adalah kelompok bacilli, karena spesies ini memiliki endospora dorman yang toleran terhadap kondisi panas, kekeringan, radiasi UV dan pelarut organik. Mekanisme umum RPPT sebagai agen PH termasuk antagonisme (antibiotik, persaingan untuk nutrisi dan habitat, parasitisme, penghambatan perkecambahan spora jamur) di mana *strain* RPPT menggunakan aksi utama langsung terhadap patogen melalui produksi antibiotik, atau persaingan. Antagonisme diekspresikan secara aktif termasuk antibiosis, persaingan, dan parasitisme. RPPT dengan dasar antagonisme sebagai mekanisme PH telah dipelajari secara ekstensif. Antibiosis tampaknya menjadi mekanisme utama aktivitas PH pada sebagian besar *strain* RPPT. Berbagai macam metabolit yang dihasilkan RPPT terlibat dalam PH, termasuk antibiotik, siderofor, dan enzim pengurai dinding sel (Tabel 3.10).

Penggunaan lebih dari satu mekanisme untuk menekan penyakit di antaranya *strain* yang bekerja melalui mekanisme predasi dan parasitisme penghasil enzim (seperti kitinase, selulase, β -1,3 glukukanase, dan protease) yang dapat melisis dinding sel jamur sangat menguntungkan. Mekanisme ini memiliki kelebihan dapat bertindak tanpa antibiotik, yang membuat agen PH lebih aman daripada *strain* yang bekerja melalui antibiotik (Jha & Subramanian 2014).

PERAN AGEN PH SEBAGAI PENGHASIL ANTIBIOTIK DAN BAKTERIOSIN, SIDEROFOR, ENZIM PERTAHANAN, METABOLIT, DAN SENYAWA MUDAH MENGUAP (VOLATILE) ANTIJAMUR

Enam kelas senyawa antibiotik terkait dengan PH penyakit akar di antaranya: *phenazines*, *phloroglucinols*, *pyoluteorin*, *pyrrolnitrin*, *cyclic lipopeptida* (semuanya larut) dan hidrogen sianida (HCN; mudah menguap). Hampir 37 *strain* agen PH telah diisolasi, yang selain penghasil antibiotik juga merupakan agen kompetitor yang baik (Haas & Defago 2005). Berbagai antibiotik telah diisolasi dari *strain* jamur dan bakteri termasuk mekanisme aksi yang menghambat sintesis dinding sel patogen, pengaruh struktur membran sel dan penghambatan pembentukan kompleks inisiasi subunit kecil ribosom (Maksimov *et al.* 2011).

Contoh penggunaan antibiotik untuk kegiatan PH antara lain: antibiotik, yang diproduksi oleh berbagai *Bacillus* sp. bersifat aktif terhadap bakteri Gram-positif, bakteri Gram-negatif, serta jamur patogen. *B. cereus* UW85 menekan patogen Oomycete penyebab rebah kecambah pada alfalfa (*Phytophthora medicaginis*). *B. subtilis strain* F-29-3 penghasil fengycin dan *B. amyloliquefaciens strain* B94 penghasil iturin A digunakan untuk PH *R. solani* (Deleu *et al.* 2008). HCN dan DAPG diproduksi oleh *strain Pseudomonas* sp. LBUM300 digunakan untuk PH penyakit kanker

bakteri (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) pada tomat (Lanteigne *et al.* 2012). Strain *P. aeruginosa* PNA1 penghasil phenazines dimanfaatkan untuk PH penyakit busuk akar (*Pythium myriotylum*) pada cocoyam (Tambong & Höfte 2001). *P. putida* NH-50 penghasil pyoluteorin digunakan untuk PH penyakit busuk merah (*Glomerella tucumensis*) pada tebu (Hassan *et al.* 2015). *P. fluorescens* PCL1606 penghasil antibiotik 2-hexyl-5-propylresorcinol digunakan untuk PH busuk akar (*Dematophora necatrix*) pada alpukat (Cazorla *et al.* 2006). Penggunaan spesies Gram-positif penghasil spora seperti *Bacillus* dan *Paenibacillus* spp. dapat memberikan stabilitas populasi yang lebih tinggi selama proses formulasi dan penyimpanan produk inokulan.

Hampir semua bakteri dapat membuat setidaknya satu bakteriosin, dan banyak bakteriosin yang diisolasi dari bakteri Gram-negatif muncul dari hasil rekombinasi antara bakteriosin yang ada. Kolisin, protein yang diproduksi oleh beberapa strain *Escherichia coli* adalah bakteriosin yang paling representatif yang dihasilkan oleh bakteri Gram-negatif dan mematikan untuk strain terkait, Bakteriosin lain di antaranya *aspyocins* asal strain *P. pyogenes*, *cloacins* dari *Enterobacter cloacae*, *marcescins* dari *S. marcescens* dan *megacins* dari *B. megaterium* (Cascales *et al.* 2007). Bakteriosin asal *Bacillus* spp. penting karena memiliki spektrum penghambatan lebih luas terhadap bakteri Gram-negatif, ragi atau jamur, bakteri Gram-positif, bahkan beberapa di antaranya diketahui bersifat patogen terhadap manusia dan/atau hewan (Abriouel *et al.* 2018) (Tabel 3.10).

Molekul kecil peptida yang mengandung rantai samping dan kelompok fungsional yang dikenal sebagai siderofor menyediakan set ligan dengan afinitas tinggi untuk mengatur ion besi (Tabel 3.10). Siderofor untuk beberapa RPPT penting sebagai alat antagonis dengan mengikat sebagian besar Fe^{3+} yang tersedia di rhizosfir dengan spesifisitas dan afinitas tinggi, sehingga membuat besi tidak tersedia kemudian menekan pertumbuhan patogen (Dimkpa *et al.* 2009).

Tabel 3.10. RPPT sebagai Agen PH dengan berbagai fungsinya

Fungsi	Spesies	Senyawa	Referensi
Penghasil Antibiotik dan Bakteriosin	<i>Pseudomonas</i> dan <i>Bacillus</i>	lipopeptida	Raaijmakers <i>et al.</i> , (2018).
	<i>Bacillus</i> sp.	polymyxin, circulin dan colistin	Maksimov <i>et al.</i> , (2011)
	<i>B. cereus</i> UW85	zwittermicin A	
	<i>B. subtilis</i> strain F-29-3	Fengycin	Deleu <i>et al.</i> , (2008)
	<i>P.fluorescens</i> , <i>B. amyloliquefaciens</i>	agrocin 84, agrocin 434, 2, 4-diacetylphloroglucinol (DAPG), herbicolin, oomycin, phenazines, pyoluteorin dan pyrrolnitrin, iturin A	Souza <i>et al.</i> , (2003)
	<i>Pseudomonas</i> sp. LBUM300	HCN dan DAPG	Lanteigne <i>et al.</i> , (2012)
	<i>P. aeruginosa</i> PNA1	Phenazines	Tambong dan Höfte, (2001)
	<i>P. putida</i> NH-50	Pyoluteorin	Hassan <i>et al.</i> , (2015)
	<i>P. fluoreescens</i> PCL1606	2-hexyl-5-propylresorcinol	Cazorla <i>et al.</i> , (2006)
	<i>Pseudomonads</i>	Phenazine	Souza <i>et al.</i> , 2003
	<i>P. chlororaphis</i> PCL1391	phenazine-1-carboxamide	Haas dan Défago, (2005)
	<i>P. cepacia</i> B37 <i>P. fluorescens</i> BL915	Pyrrolnitrin	
	<i>P. pyogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>B. megaterium</i>	Bakteriosin: Aspyocins, cloacins, marcescins, megacins	Cascales <i>et al.</i> , (2007)
	<i>Bacillus</i> spp.	bakteriosin	Abriouel <i>et al.</i> , (2018).
Penghasil Siderofor	<i>P. putida</i> B10	pseudobactin	Dwivedi dan Johri, (2003)
Penghasil Enzim Pertahanan	<i>B. subtilis</i> EPCO 16, <i>P. stutzeri</i> , <i>B. cereus</i> 28-9; <i>Enterobacter agglomerans</i>	Kitinase, β -1, 3-glukanase	Ramyabharathi <i>et al</i> , (2012)
Penghasil Metabolit Antijamur, Senyawa mudah menguap (Volatile)	<i>B. subtilis</i> GB03 <i>B. amyloliquefaciens</i> IN937a	3-hidroxy-2-butanone (acetoin) dan 2,3-butanediol	Bhattacharjee dan Dey, (2014)
	<i>Cladosporium werneckii</i> , <i>P. cepacia</i> (<i>B. cepacia</i>) dan <i>P. solanacearum</i>	-	Rij <i>et al.</i> , (2005).
	<i>B. cereus</i> 11UJ; <i>Bacillus</i> spp	Cyclolanostan 3-ol, acetate, (3.beta.)-(CAS) cycloartanyl acetate; 2, 3-butanediol, 2-etil-heksanol, 2, 4-bis (2-methypropil)-fenol, 4-hidroxybenzaldehyde, 2-nonanone	(Suryadi <i>et al.</i> , 2015; Arrebola <i>et al.</i> , 2010)

Kebanyakan tanaman merespon serangan patogen dengan mensintesis enzim/protein yang berkaitan dengan patogenesis (PR) yang dapat menghidrolisis dinding sel jamur (Xiao *et al.*, 2009). Produksi enzim termasuk kitinase, β -1, 3-glukanase, protease dan lipase yang dapat melisis sel jamur telah dilaporkan pada berbagai *strain* RPPT (Ramyabharathi *et al.* 2012) (Tabel 3.10). RPPT menghasilkan berbagai macam metabolit berat molekul rendah dengan aktivitas antijamur. *Strain B. subtilis* GB03 dan *B. amyloliquefaciens* IN937a, menghasilkan senyawa organik mudah menguap 3-hydroxy-2-butanone (acetoin) dan 2,3-butanediol yang dapat memacu pertumbuhan tanaman pada *Arabidopsis* (Bhattacharjee & Dey 2014) (Tabel 3.10). Berbagai senyawa organik *volatile* (VOC) di antaranya diproduksi oleh *Bacillus* spp. termasuk 2, 3-butanediol, 2-etil-heksanol, 2, 4-bis (2-methypropil)-fenol, 4-hydroxybenzaldehyde, 2-nonanone, dan berbagai campuran volatil. VOC terlibat dalam PH penyakit pascapanen pada jeruk yang disebabkan *Penicillium crustosum* (Arrebola *et al.* 2010), penghambatan pertumbuhan dan perkecambahan spora *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Yuan *et al.* 2012), induksi ketahanan sistemik terhadap *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* dan pemacu pertumbuhan *Arabidopsis* (Ryu *et al.* 2004).

RPPT PENGINDUKSI KETAHANAN (ISR DAN SAR)

Mekanisme PH lainnya adalah dengan cara kerja tidak langsung-ISR yaitu RPPT memicu ketahanan tanaman terhadap patogen. ISR dapat melindungi tanaman terhadap berbagai serangan patogen seperti bakteri, jamur, virus dan bahkan serangga. Perkecambahan spora jamur *Fusarium* dihambat oleh *P. fluorescens* WCS365 (Kamilova *et al.* 2008). Beberapa *strain Bacillus*, dan *Pseudomonas* yang bertindak melalui ISR mengkolonisasi akar di mana mereka mengirim sinyal ke tanaman agar men-

stimulasi tanaman bereaksi cepat terhadap serangan patogen. Komponen yang mampu menginduksi ISR adalah flagella, lipopolisakarida, N-acyl homoserine lactones, siderofor, antibiotik (phloroglucinol dan surfactin) dan senyawa volatil seperti 2,3-butanediol yang diproduksi oleh *Bacillus* spp. Sinyal bersifat sistemik untuk melindungi semua bagian tanaman. Selain itu, sinyal bergantung pada hormon tanaman asam jasmonat (AJ) dan etilen (ET) (Ryu *et al.* 2004).

Rhizobakteri non-patogenik dapat menekan keparahan atau kejadian penyakit dengan menginduksi mekanisme ketahanan pada tanaman yang disebut sebagai ISR. Ketahanan induksi adalah keadaan peningkatan kemampuan defensif yang dikembangkan oleh tanaman ketika distimulasi dengan tepat oleh mikroba. *Pseudomonas* dan *Bacillus* spp. adalah rhizobakteri pemacu ISR yang paling banyak dipelajari. ISR pada tanaman anyelir, secara sistemik dilindungi oleh strain *P. fluorescens* WCS417r terhadap serangan *F. oxysporum* f. sp. *dianthi*, sementara pada mentimun, strain rhizobakteri melindungi daun terhadap serangan antraknosa yang disebabkan oleh *Colletotrichum orbiculare* (Wei *et al.* 1991).

Reaksi ISR nampak pada berbagai spesies tanaman seperti kacang, lobak, tembakau, tomat, dan *Arabidopsis thaliana* yang terserang patogen, termasuk oleh serangan jamur, bakteri dan virus. *Systemic acquired resistance* (SAR) dan ISR melindungi tanaman melalui jalur sinyal yang berbeda. Tidak seperti SAR yang bergantung pada jalur sinyal asam salisilat (AS) dan menyebabkan gejala yang dapat dilihat, ISR bergantung pada jalur sinyal AJ dan ET dan tidak menyebabkan gejala yang terlihat pada tanaman (Ent *et al.* 2009). Akumulasi sistemik AS terjadi secara lokal pada tingkat yang lebih rendah sejalan dengan perkembangan SAR. Penerapan AS eksogen juga menginduksi SAR pada berbagai spesies tanaman. Pertumbuhan jaringan nekrosis digunakan untuk melihat aktivasi SAR, selain itu SAR

juga dapat dipicu tanpa jaringan nekrosis seperti yang ditunjukkan pada *A. thaliana* (Mishina & Zeier 2007). Perlindungan yang dimediasi oleh ISR secara nyata kurang dibandingkan dengan yang diperoleh oleh SAR. ISR dan SAR dapat bertindak secara positif dalam mendorong ketahanan terhadap patogen, di mana keduanya bisa memberikan perlindungan yang lebih baik daripada bekerja sendiri. Pada mekanisme SAR, infeksi pertama mempengaruhi tanaman untuk menahan serangan lebih lanjut. AS mengaktifkan satu set gen spesifik terkait ketahanan yang disebut patogenesis-terkait protein (PRs). Umumnya, ISR tidak disertai dengan aktivasi gen PR. Karakteristik kapasitas ketahanan yang ditingkatkan dari SAR selalu dikaitkan dengan akumulasi PR. SAR terkait PR menunjukkan kontribusi enzim penting untuk meningkatkan kapasitas defensif jaringan induksi. PR seperti β 1,3-glukanase dan kitinase mampu menghidrolisis dinding sel jamur. Pada Tanaman Arabidopsis yang diinokulasi dengan patogen *P. syringae* pv. *tomato* atau disemprot dengan AS yang dikembangkan sebagai SAR terdeteksi akumulasi PR-1, PR-2 dan PR-5 mRNA (Pieterse *et al.* 2002), sementara tanaman diinokulasi dengan *P. fluorescens* WCS417r atau *P. putida* WCS358 hasil pengembangan ISR, akumulasi PRs dan ekspresi gen tidak terdeteksi. PR diinduksi bersamaan dengan SAR, sedangkan AS dan aktivasi gen PR bukanlah bagian dari jalur menuju ISR pada Arabidopsis.

Transduksi sinyal AS membutuhkan protein pengatur (aktivator) *npr1* (atau *nim1*) yang berfungsi di bagian ujung jalur sinyal SAR. Pada tanaman yang tidak diinduksi, *npr1* hadir sebagai multimer dan selama induksi SAR, AS memicu konversi *npr1* menjadi bentuk monomer (Kinkema *et al.* 2000). Monomer ini ditranslokasi ke nukleus, di mana mereka berinteraksi dengan anggota subkelas *TGA/OBF* dari faktor transkripsi *bZIP* yang terlibat dalam aktivasi gen PR yang bergantung pada AS (Zhang *et al.*, 2003). Interaksi langsung antara *npr1* dan faktor transkripsi

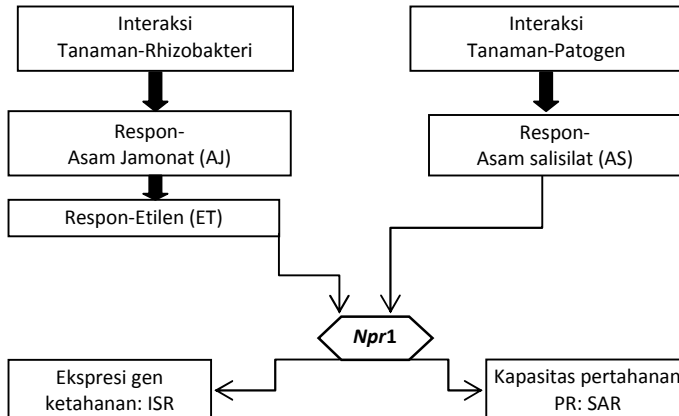
TGA spesifik diperlukan untuk pengikatan elemen kompleks dalam promotor gen PR (Fan & Dong 2002). Overekspresi gen *npr1* mengarah ke peningkatan ketahanan terhadap serangan patogen. Arabidopsis mutan *npr1* tidak mengekspresikan gen PR dan tidak menunjukkan SAR. Karena rhizobakteri dimediasi ISR independen dari AS tidak terkait dengan PR, diharapkan ISR masih akan ditemukan pada mutan ini. Namun, mutan *npr1* dari Arabidopsis tidak menampilkan *P. fluorescens* WCS417r-dimediasi ISR. Hal ini menyiratkan bahwa *npr1* mengatur respon ketahanan dimediasi oleh jalur sinyal yang berbeda yang berfungsi di luar ekspresi gen PR, dan menunjukkan bahwa SAR dan ISR berkumpul di bagian akhir dari jalur sinyal. Laporan (Pieterse *et al.* 2002) dengan referensi rhizobakteri strain *P. fluorescens* WCS417r menunjukkan bahwa, setidaknya di Arabidopsis, WCS417r-dimediasi ISR berfungsi secara independen dari AS, tergantung pada *npr1*, tetapi komponen yang diperlukan terdiri dari jalur respon AJ dan etilen (ET). Tanaman yang terinfeksi meningkatkan kadar AJ dan ET sebagai tanda pertahanan aktif (Gundlach *et al.* 1992). Molekul pemberi sinyal mengkoordinasikan aktivasi respons ketahanan dan ketika diterapkan secara eksogen, dapat menginduksi ketahanan. Model mekanisme ISR dan SAR yang diadaptasi dari Pieterse *et al.* (2002) ditampilkan pada Gambar 3.17.

MENUJU PENGEMBANGAN RPPT SEBAGAI AGEN PH

Diperlukan pengenalan khusus antara tanaman dan rhizobakteri untuk induksi ketahanan. Berbagai laporan yang dipublikasikan tentang PH penyakit tanaman adalah satu atau lebih faktor penentu (determinan) bakteri harus dikenal oleh reseptor tanaman tertentu sehingga terjadi induksi ketahanan. ISR diinduksi oleh metabolit atau fitur lain dari *strain* bakteri tertentu. Sifat-sifat bakteri yang bekerja dalam memicu ISR telah

diidentifikasi, termasuk struktur sel seperti komponen sel flagella, metabolit lipopolisakarida, termasuk AS dan siderofor (*N-alkylated benzylamine surfactin* atau *fengycin* lipopeptida, senyawa fenol VOC dan molekul sinyal seperti N-asil-L-homoserine lactone (AHL) (Ryu *et al.* 2004). *P. putida* WCS358r dan *P. fluorescens* WCS374r bertindak dengan cara yang berbeda tergantung pada spesies tanaman. Pada Arabidopsis, *P. putida* WCS358r memunculkan ISR, tetapi tidak pada tanaman lobak dan anyelir. Sebaliknya, tanaman lobak responsif terhadap *P. fluorescens* WCS374r, sementara Arabidopsis tidak responsif. Pada Arabidopsis, WCS417r memunculkan ISR terhadap berbagai patogen tanaman seperti patogen daun bakteri *X. campestris* pv *armoraciae* dan *P. syringae* pv *tomato* DC3000 (Pst DC3000), jamur patogen daun *Alternaria brassicicola*, patogen daun Oomycete (*Hyaloperonospora parasitica*), dan jamur patogen akar *F. oxysporum*. RPPT menginduksi ketahanan sistemik dengan mengaktifkan jalur sinyal pada tumbuhan, seperti jalur sinyal AS, AJ atau ET. RPPT yang berbeda memicu ISR bergantung pada jalur yang berbeda. Beberapa rhizobakteri menginduksi ketahanan sistemik secara simultan dengan mengaktifkan *dependent signaling pathways*. AS, dan AJ/ET-misalnya, Niu *et al.*, (2011) menemukan bahwa ISR yang dipicu oleh rhizobakteri *B. cereus* AR156 melibatkan jalur sinyal AS, dan AJ/ET serta *npr1*. Beberapa *strain* RPPT memiliki potensi ISR terhadap beberapa patogen tanaman. RPPT *strain P. putida* 89B-27 dan *S. marcescens* 90-166 menimbulkan ISR pada tanaman mentimun terhadap infeksi penyakit antraknosa yang disebabkan oleh *Colletotrichum orbiculare* (Wei *et al.* 1991)

PH melalui produksi antibiotik telah dilaporkan pada beragam bakteri pada berbagai sistem inang/patogen, termasuk *strain B. subtilis* NH-100 dan NH-160 terhadap busuk merah pada tebu, yang disebabkan oleh *C. falcatum* (Hassan *et al.* 2015); *strain B. subtilis* PFMRI, BS-DFS, dan PF9 terhadap layu bakteri kentang yang disebabkan oleh *R. solanacearum*; Enzim ekstraseluler (β -1,



Gambar 3.17. Model mekanisme induksi ketahanan ISR dan SAR (Pieterse *et al.* 2002)

3-glucanase) dan antibiotik yang diproduksi oleh *B. subtilis* NSRS 89-24 memainkan peran sinergis dalam mengendalikan dua jamur patogen *P. grisea* dan *R. solani* pada padi (Leelasuphakul *et al.* 2006).

RPPT *strain* tunggal dengan satu mekanisme aksi utama untuk PH juga telah dipilih berdasarkan produksi siderofor dan peningkatan ketahanan induksi sistemik. Dengan ISR, *strain B. pumilus* SE34 menginduksi pertahanan terhadap layu Fusarium (*F. oxysporum*) dan hawar daun tomat (*P. infestans*) (Yan *et al.* 2002). RPPT *strain* tunggal menunjukkan kinerja yang tidak konsisten di lapangan karena berbagai alasan, antara lain: (a) *strain* RPPT tunggal biasanya tidak memiliki aktivitas PH terhadap beberapa patogen; (b) *strain* tunggal tidak mungkin aktif terhadap patogen pada tingkat yang cukup tinggi di bawah kondisi beragam yang ditemukan di lapangan, termasuk mikroba asli kompetitif, kondisi lingkungan yang beragam, cuaca yang tidak dapat diduga, dan beberapa penyakit tanaman lainnya (Pal *et al.* 2006).

PENGEMBANGAN MIKROBA RPPT CAMPURAN

Formulasi campuran RPPT adalah salah satu strategi untuk mengatasi berbagai mode aksi PH terhadap beberapa patogen (Siddiqui & Shaukat 2002). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa campuran *strain* RPPT yang kompatibel mempunyai aktivitas spektrum luas terhadap patogen yang berbeda. Campuran RPPT yang cocok dapat menginduksi tingkat perlindungan yang lebih tinggi daripada *strain* RPPT tunggal. Campuran RPPT menunjukkan kecenderungan penekanan penyakit busuk buah cabai lebih konsisten dan lebih kuat daripada masing-masing *strain* RPPT. Campuran RPPT yang kompatibel dapat memberikan kinerja yang konsisten. Di Thailand RPPT tunggal dan campuran telah diuji selama musim hujan dan menunjukkan bahwa campuran lebih konsisten menekan tingkat keparahan penyakit daripada *strain* tunggal (Jetiyanon *et al.* 2003).

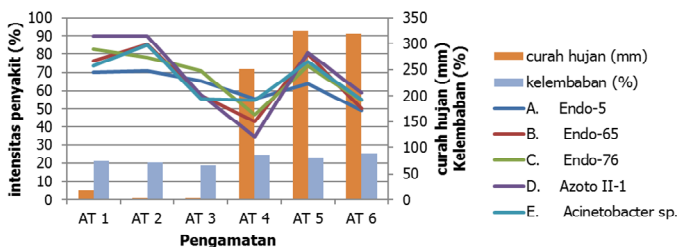
Kemanjuran yang baik dilaporkan dari aplikasi campuran untuk mengendalikan *Phytophthora* lada pada dua kondisi lapangan yang berbeda dengan rotasi tanaman di Korea (Kim *et al.* 2008). Campuran RPPT digunakan untuk melawan berbagai jenis patogen yang termasuk kelompok jamur (*Macrophomina phaseolina*, *F. solani*, dan *R. solani*) dan nematoda bengkok akar (*M. javanica*) pada tanaman tomat (Siddiqui & Shaukat 2002). Raupach & Kloepper (1998) menggunakan campuran dua atau tiga bakteri terhadap tiga patogen yang berbeda (*C. orbiculare*, *P. syringae* pv. *lachrymans*, *E. tracheiphila*) dalam satu inang (mentimun). Beberapa campuran RPPT menyebabkan hampir 50% penekanan penyakit layu bakteri tomat, antraknosa lada, rebah kecambah futsoi, dan virus mosaik mentimun dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang tidak diberi perlakuan RPPT (Jetiyanon *et al.* 2003).

Formulasi campuran *strain* adalah kunci pendekatan untuk meningkatkan efektivitas pemacu pertumbuhan tanaman dan

perlindungan penyakit tanaman di lapangan. Formulasi yang stabil menggunakan bahan pembawa yang berbeda seperti gambut dan talek telah dikembangkan untuk aplikasi RPPT di lapangan. Campuran *strain* berbasis talek efektif terhadap hawar pelepah daun padi, dengan hasil tanaman meningkat lebih besar daripada *strain* tunggal di bawah kondisi lapangan (Suryadi *et al. unpublished*). Formulasi berbasis Talek dan gambut *P. chlororaphis* dan *B. subtilis* juga telah digunakan untuk pengelolaan rimpang rimpang kunyit (Nakkeeran *et al.* 2006).

Pengaruh RPPT terhadap pertumbuhan tanaman teh yang bekerja optimal sebagai pupuk hayati maupun induksi ketahanan tanaman untuk menekan penyakit cacar daun teh (*Exobasidium vexans* Massee) telah dipelajari. Isolat bakteri yaitu *Chryseobacterium* sp AzII-1, *Acinetobacter* sp., *Alcaligenes* sp. E5, *Bacillus* E65, dan *Burkholderia* E76 selain berfungsi sebagai pupuk hayati juga bertindak sebagai agen PH. Isolat-isolat bakteri tersebut memiliki kemampuan bertahan hidup pada kedua kondisi cekaman biotik dan abiotik, tidak menyebabkan nekrosis pada tanaman (Fauziah *et al.* 2016). Aplikasi mikroba untuk menginduksi kesehatan tanaman untuk mengatasi serangan penyakit cacar daun teh dilakukan di Kebun percobaan Gambung BPTK Gambung, Jawa Barat menggunakan klon TRI 2024. Kondisi pada pengamatan pendahuluan (sebelum aplikasi) intensitas penyakit mencapai $\pm 72,67\%$, dan secara konsisten menurun hingga pengamatan keempat (AT 4). Namun, intensitas penyakit sedikit meningkat (53,63%) setelah pengamatan kelima (AT 5). Curah hujan 319 mm dan kondisi basah (kelembaban tinggi 89%), berpengaruh terhadap peningkatan penyakit (Gambar 3.18).

Penurunan intensitas cacar daun tidak diiringi dengan peningkatan hasil tunas segar. Pengaruh perlakuan mikroba terhadap hasil kumulatif pucuk teh segar tidak berbeda nyata, namun, teh yang diaplikasi dengan *Acinetobacter* sp. hasilnya lebih tinggi 17,26%. Kombinasi *Chryseobacterium* sp AzII-1 +



Gambar 3.18. Curah hujan, kelembaban dan intensitas penyakit cacar daun (Sumber: Rachmiati, data tidak dipublikasi)

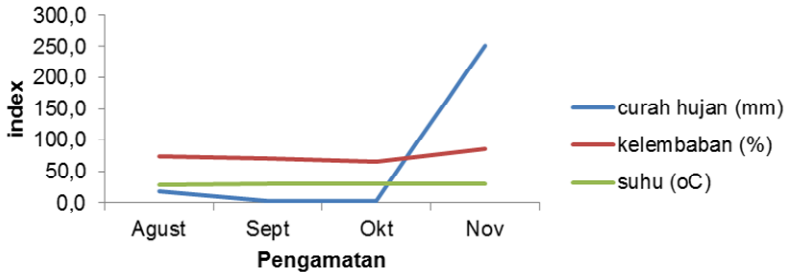
Tabel 3.11. Intensitas cacar daun pada berbagai kombinasi perlakuan bakteri

Perlakuan	Intensitas penyakit (%)
A. kontrol (tanpa bakteri)	1,84 ab
B. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 25% + <i>Alcaligenes</i> sp. E5 75%	1,84 ab
C. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 50% + <i>Alcaligenes</i> sp. E5 50%	2,09 b
D. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 75% + <i>Alcaligenes</i> sp. E5 25%	1,27 a
E. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 25% + <i>Burkholderia</i> E76 75%	1,85 ab
F. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 50% + <i>Burkholderia</i> E76 50%	2,08 b
G. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 75% + <i>Burkholderia</i> E76 25%	2,19 b

* Nilai pada kolom yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5% (Sumber: Fauziah et al. 2016)

Alcaligenes sp. E5 , menunjukkan intensitas cacar daun yang rendah pada tahap pembibitan tanaman teh. Intensitas cacar daun pada perlakuan *Chryseobacterium* sp AzII-1 75% + *Alcaligenes* sp. E5 25% mencapai (1,27%) dan (berbeda secara nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Tabel 3.11).

Chryseobacterium sp AzII-1 dan *Alcaligenes* sp. E5 memiliki aktivitas kitinase. Keparahan penyakit dapat ditekan oleh aktivitas kitinase yang diproduksi oleh *Chryseobacterium* sp AzII-1 + *Alcaligenes* sp. E5, sehingga isolat-isolat ini berpotensi digunakan lebih lanjut sebagai agen PH terhadap jamur patogen. Perubahan iklim atau cuaca mempengaruhi patogen sebelum menginfeksi tanaman (prapenetrasi). Patogen sensitif terhadap perubahan lingkungan dan perkembangannya sangat ditentukan oleh kon-



Gambar 3.19. Kondisi iklim selama percobaan RPPT pada tanaman teh (Sumber: Rachmiati, data tidak dipublikasi)

disi iklim atau cuaca yang optimal. Rata-rata suhu dan kelembaban masing-masing mencapai 30°C dan 80%. Meskipun curah hujan dan kelembaban cukup tinggi, tetapi tidak mempengaruhi perkembangan cacar daun teh sampai akhir periode percobaan (Gambar 3.19). Pembentukan dan penyebaran basidiospora membutuhkan kelembaban relatif lebih tinggi di atas 80%. Sementara itu, untuk perkecambahan spora dibutuhkan kelembaban lebih tinggi dari 90%. Hubungan antara curah hujan, suhu dan kelembaban terhadap intensitas cacar daun menunjukkan pola regresi linier yang kuat; yang sangat mendukung kondisi penurunan intensitas cacar daun (Rezamela *et al.* 2016). Kombinasi *Chryseobacterium* sp AzII-1 + *Alcaligenes* sp. E5 mempengaruhi pertumbuhan tanaman teh, di mana memiliki rata-rata pertumbuhan tanaman lebih tinggi daripada perlakuan lainnya (Tabel 3.12). Persentase *Alcaligenes* sp E5 yang lebih tinggi dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, sementara semakin tinggi persentase *Chryseobacterium* sp AzII-1, semakin rendah intensitas penyakit cacar daun teh. Perlakuan *Chryseobacterium* sp. AzII-1 75% + *Alcaligenes* sp. E5 25% menunjukkan intensitas penyakit cacar daun terendah jika dibandingkan dengan perlakuan lain, tetapi tidak mempengaruhi pertumbuhan tanaman secara nyata.

Analisis menggunakan metagenom pada sampel kontrol diperoleh komunitas bakteri *Gemmatimonas aurantiaca* (5,80%),

Bacillus sp. (42,55%), bakteri *Acidobacteria* (23,45%) dan *Actinobacteria* sp. (28,20%). Komunitas rhizobakteria pada sampel perlakuan *Chryseobacterium* sp AzII-1 75% + *Alcaligenes* sp. E5 25%, diperoleh bakteri *Gemmatimonas aurantiaca* (3,58%), *Bacillus* sp. (30,76%), *Pseudomonas* sp. (5,55%) *Acidobacteria* (13,94%) dan *Actinobacteria* sp. (46,16%). Pada perlakuan *Chryseobacterium* sp. AzII-1 75% + *Alcaligenes* sp. E5 25% ditemukan komunitas rhizobakteria *Bacillus* sp. (10,66%), *Acidobacteria* (4,22%), *Actinobacteria* sp. (5,48%), *Alcaligenes* sp. (36,95%), *Chryseobacterium* sp. (46,82%) dan bakteri lainnya (1,49%). Keberadaan *Alcaligenes* sp. dan *Chryseobacterium* sp. menunjukkan konsistensi *Chryseobacterium* sp AzII-1 75% + *Alcaligenes* sp. E5 25% pada aplikasi di rhizosfir tanaman teh.

Saat ini, perhatian yang cukup besar telah diberikan pada penggunaan agen PH menggunakan RPPT untuk menekan penyakit pada tanaman padi. Karena PH merupakan salah satu komponen kunci dalam pengelolaan penyakit secara terpadu, maka sangat penting untuk mencari RPPT padi yang aktif terhadap penyakit dan mengevaluasi kemampuan RPPT untuk aplikasi PH di bawah kondisi lapangan. Penggunaan bioformulasi campuran bakteri dalam metode PH, mendapatkan minat yang tinggi dimana produk dapat digunakan sebagai suplemen atau sebagai alternatif pengendalian secara kimia, dan produksi RPPT komersial sebagai metode untuk pemacu pertumbuhan tanaman dan PH saat ini sudah banyak dikembangkan.

Kajian tentang pengendalian penyakit hawar daun bakteri (HDB) menggunakan RPPT misalnya telah dilakukan dengan aplikasi kombinasi matrikondisi ditambah agen PH (isolat A6) di mana perlakuan tersebut bisa mengurangi populasi bakteri pada tanaman padi dan meningkatkan viabilitas dan vigor benih padi di rumah kaca (Agustiansyah *et al.* 2010). Perlakuan benih dan aplikasi penyemprotan daun padi dengan interval 2 minggu menggunakan spora *B. subtilis* B12 konsentrasi 2%, mengurangi

Tabel 3.12. Pengaruh pertumbuhan tanaman teh pada umur 6 minggu setelah aplikasi

Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)	diameter batang (cm)	jumlah daun	panjang akar (cm)	volume akar (cc)
A. kontrol (tanpa bakteri)	12.6 a	3.2 abc	7.9 b	16.40 a	1.87 ab
B. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 25% + <i>Alcaligenes</i> sp. E5 75%	16.93 b	3.46 c	9.9 c	20.08 a	2.50 b
C. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 50% + <i>Alcaligenes</i> sp. E5 50%	14.42 ab	3.33 abc	8.4 b	19.92 a	2.75 b
D. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 75% + <i>Alcaligenes</i> sp. E5 25%	15.32 b	3.38 bc	8.05 b	18.25 a	2.37 ab
E. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 25% + <i>Burkholderia</i> E76 75%	12.35 a	3.17 abc	7.05 ab	19.62 a	2.25 ab
F. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 50% + <i>Burkholderia</i> E76 50%	12.59 a	3.13 ab	6.4 a	19.77 a	1.50 a
G. <i>Chryseobacterium</i> sp AzII-1 75% + <i>Burkholderia</i> E76 25%	12.66 a	3.06 a	7.75 ab	19.90 a	2.62 b

penyakit HDB sebesar 21% dan meningkatkan hasil hingga 50% (Wartono *et al.* 2015).

Penggunaan *strain P. aeruginosa* dapat menginduksi ketahanan padi terhadap hawar pelepah daun dengan menghasilkan aktivitas antijamur yang berbeda (AS dan peroksidase). Formulasi suspensi *B. cepacia* pada konsentrasi 3% disarankan digunakan sebagai konsentrasi yang direkomendasikan untuk menekan pertumbuhan *R. solani*. Bakteri *B. cereus* 11UJ menghasilkan tiga senyawa utama yaitu; 9,19-cyclolanostan-3-ol, acetate, (3.beta.)-(CAS) cycloartanyl acetate (13,14%); 4-(2', 2'-dimethyl-6'-methyliden-1'-cyclohexyliden)-3-methyl-2-butanone (9,72%); dan stigmast-5-en-3-ol oleat (9,09%) yang berperan dalam menekan jamur patogen padi. Ekstrak etil asetat dari *B. cereus* 11UJ menunjukkan aktivitas antijamur terhadap *P. oryzae* dan *R. solani* (Suryadi *et al.* 2015). Perlakuan aplikasi penyemprotan secara preventif bakteri *B. firmus* E 65 dan *P. aeruginosa* C 32b memiliki potensi yang sangat baik sebagai agen PH *R. solani* pada padi di rumah kaca (Suryadi *et al.* 2011), sementara perlakuan filtrat biakan bakteri Gram negatif *Burkholderia* sp. isolat E76 penghasil kitinase dapat meng-

hambat pertumbuhan radial koloni jamur *R. solani* berkisar antara 32,9-99,4% (Suryadi *et al.* 2013 b).

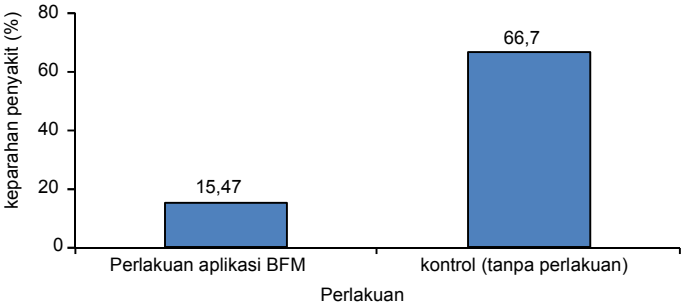
Pada PH penyakit blas (*Magnaporthe grisea*), terdapat interaksi yang kompleks antara RPPT dan tanaman tergantung pada kondisi kultivar padi dan jenis tanah. Penelitian di Pakistan dilaporkan bahwa enam belas *strain* bakteri yang diisolasi dari akar dan rhizosfir padi asal tanah salin dan nonsalin diuji kemampuannya untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman dan mengurangi insiden blas padi. Beberapa *strain* RPPT menghambat pertumbuhan, jamur blas pada uji *in vitro*. Terdapat perbedaan kemampuan beberapa *strain* dalam melindungi tanaman terhadap blas yang tergantung pada jenis tanah. Kolonisasi rhizosfir oleh bakteri pada tanaman yang ditanam di tanah pasir steril berkorelasi dengan ketahanan penyakit pada kultivar Super Basmati, tetapi tidak berkorelasi pada kultivar Azucena (Naureen *et al.* 2009).

PH menggunakan mikroba lokal dapat diterapkan keefektifannya untuk berkontribusi di lapangan. Aplikasi bakteri antagonis tunggal isolat E 65, C 32a, C32b, E 31 dapat menekan panjang luka HDB pada uji di Rumah kaca. Penelitian PH HDB menggunakan konsorsium bakteri seperti *Bacillus* spp. *Serratia* spp. *P. aeruginosa*, dan *Corynebacterium* spp. telah dilakukan secara terbatas di lapangan menggunakan pola organik Sistem Intensifikasi Padi (SRI). Tiga konsorsium bakteri yaitu. C1 (*Bacillus* sp E64 + *B. firmus* E65 + *Burkholderia* sp. E76 + *B. cereus* C29d + *B. licheniformis* CPKPP35 + *Bacillus* sp H + *Bacillus* sp IR), C2 (*Bacillus* sp E64 + *B. firmus* E65 + *Burkholderia* sp E76 + *B. cereus* C29d + *B. licheniformis* CPKPP35 + *Azospirillum* sp Aj.5252) dan C3 (*Bacillus* sp. H + *Bacillus* sp. IR) telah diuji dengan tiga kali penyemprotkan menggunakan suspensi konsorsium bakteri pada kanopi daun padi saat 14 hari, 28 hari dan 42 hari setelah tanam. Konsorsium bakteri menurunkan keparahan penyakit HDB dan bakteri garis merah (*red stripe*) dan juga meningkatkan hasil padi, meskipun

tidak efektif terhadap penyakit hawar pelepah daun (Suryadi *et al.* 2013 a).

Beberapa bakteri endofit yang diisolasi dari rhizosfir menghasilkan kitinase dan hormon pertumbuhan IAA; dan menunjukkan aktivitas antibiosis terhadap patogen padi pada uji penghambatan secara *in vitro*, sementara *B. firmus* isolat E 65 dilaporkan sangat efektif dalam menekan penyakit blas (18,15%) (Suryadi *et al.* 2011) Formula A2 (*B. firmus* E65) dan konsorsium A6 (*B. firmus* E65, *B. cereus* II.14, dan *P. aeruginosa* C32b) secara nyata mengurangi pertumbuhan miselium *P. oryzae* dengan persentase penghambatan masing-masing sebesar 73-85% dan 66-83% (Suryadi *et al.* 2013 b).

Kajian di rumah kaca dan lapangan telah dilakukan untuk menunjukkan kemampuan RPPT dalam pengelolaan penyakit. Aplikasi campuran mengandung setidaknya empat spesies bakteri yang berbeda untuk penekanan patogen blas telah dilakukan (Suryadi *et al.* 2013b). Keberhasilan PH pada kultivar padi Sintanur dengan bahan pembawa kaolin menunjukkan penurunan penyakit HDB dibanding kontrol (tanpa aplikasi) (Gambar 3.20).

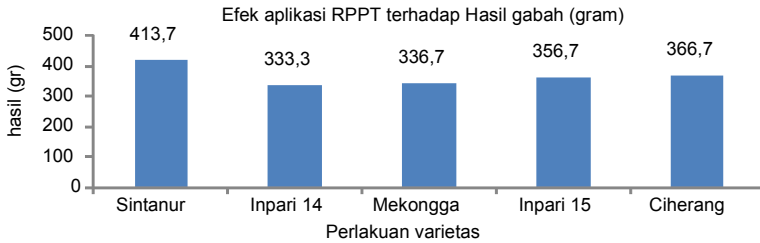


Gambar 3.20. Pengaruh aplikasi campuran bio-formulasi kaolin RPPT terhadap intensitas HDB pada padi kultivar Sintanur (Sumber: Suryadi *et al.*, data tidak dipublikasi).* BFM = campuran bioformulasi mengandung RPPT isolat SKM, E76 dan E65 dalam bahan dasar pembawa kaolin dengan rasio (1:1:1) (b/b)

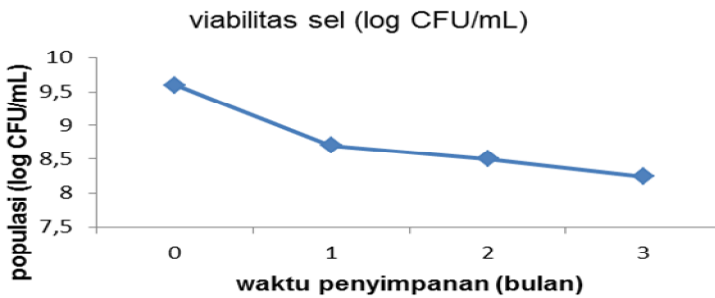
Kinerja formulasi konsorsium RPPT memberikan efek yang lebih baik daripada isolat tunggal *Burkholderia* sp. E76 atau *S. marcescens* SKM. Penggunaan formulasi konsorsium bakteri meningkatkan hasil padi hingga 8% dibandingkan dengan petak padi yang tidak diaplikasi. Formulasi yang stabil sangat penting sebagai dasar untuk pengembangan PH yang ramah lingkungan untuk menggantikan penggunaan bahan kimia sintetis. Penggunaan formulasi bakteri tergantung pada pengembangan formulasi agar bakteri dapat bertahan untuk jangka waktu yang cukup lama. Formulasi berbasis kaolin menunjukkan efek yang baik dalam menekan panjang luka HDB pada padi. Penambahan bahan pembawa bentonit dan CMC dalam bioformulasi cukup stabil. Formulasi berbasis kaolin menunjukkan efek yang sama dengan bentonit, selain itu bahan ini mudah dan murah diperoleh, sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai bahan pembawa alternatif.

Selain mampu menekan penyakit HDB, formulasi E76 berbasis kaolin menunjukkan efek yang baik terhadap berat gabah kering padi). Isolat E65 dan SKM dalam formulasi berbasis kaolin tidak berpengaruh terhadap berat gabah padi. Aplikasi bioformulasi tidak berpengaruh nyata terhadap sifat agronomi tinggi tanaman, jumlah anakan dan jumlah malai. Rata-rata hasil gabah tertinggi ditunjukkan kultivar Sintanur dengan hasil gabah rata-rata 413,67 g (Gambar 3.21).

Viabilitas bio-formulasi yang dihitung berdasarkan jumlah sel hidup (*total plate count*) menunjukkan bahwa formulasi cenderung menurun, meskipun tidak terlalu drastis. Viabilitas isolat bakteri awal mencapai populasi rata-rata sekitar 9,6 log CFU/ml. Selama proses penyimpanan pada suhu kamar, jumlah sel bioformulasi cenderung menurun dengan rata-rata 8,7 log CFU/ml pada bulan pertama penyimpanan, 8,5 log CFU/ml, pada bulan kedua penyimpanan, dan populasi mencapai 8,24 log CFU/ml



Gambar 3.21. Pengaruh aplikasi formulasi RPPT pada hasil beberapa varietas padi.
*Hasil gabah dihitung dari pengukuran petak $1 \times 1 \text{ m}^2$ dengan jarak tanam $30 \times 30 \text{ cm}$ (Sumber: Suryadi *et al.*, data tidak dipublikasi)



Gambar 3.22. Uji viabilitas sel bakteri bioformulasi setelah penyimpanan 1, 2, dan 3 bulan (Sumber: Suryadi *et al.*, data tidak dipublikasi)

pada akhir pengamatan (penyimpanan 3 bulan) dengan rata-rata kehilangan viabilitas sekitar 13,63%. (Gambar 3.22).

ARAH KAJIAN RPPT DI MASA DEPAN

Koleksi mikroba dapat memberikan dampak atau sumbangan yang nyata untuk kepentingan hidup manusia bila dimanfaatkan sebagai suatu produk bioprospeksi baik berupa bahan aktif sarana produksi pertanian untuk mendukung pertanian ramah lingkungan di Indonesia seperti agen pupuk hayati, agen PH, agen pengurai (*decomposer*), pemacu tumbuh, pendukung kegiatan agroindustri (biopreservatif dan enzim untuk industri),

penyedia sumber gen potensial untuk perakitan transgenik seperti gen penyandi kitinase, *cry*, *choline oxiade (codA)*, *phosphotricin_N_cetyltransferase (pat)* dsb. Kultur koleksi BB Biogen (Biogen CC) sebagai penyimpan koleksi mikroba (bank gen mikroba) saat ini memiliki sebanyak 1.404 aksesi, yang terdiri atas 1.259 aksesi bakteri, 98 aksesi fungi dan virus 48 aksesi. Beberapa koleksi mikroba potensail diantaranya koleksi mikroba sebagai bahan aktif agen pupuk hayati dan dekomposer, koleksi bakteri endofit padi (kelompok *Bacillus*), bakteri kitinolitik, aktinomycetes yang bersifat antagonis terhadap patogen utama tanaman padi, koleksi bakteri RPPT pemacu tumbuh tanaman kedelai, dan koleksi bakteri asam laktat (BAL) yang berpotensi sebagai penghasil bakteriosin terhadap *Listeria monocytogenes*, *Staphilococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonela thypi* (Susilowati, data tidak dipublikasi).

Untuk memanfaatkan dan mengembangkan isolat agen PH potensial, saat ini, dimungkinkan untuk memperpanjang aktivitas RPPT terhadap berbagai patogen tanaman. Salah satu cara utama di mana RPPT bertindak sebagai agen PH adalah melalui aktivitas antijamur dari antibiotik yang dihasilkan. Selain itu, aktivitas antibiotik dapat ditingkatkan melalui manipulasi genetik dengan menyediakan gen yang disandikan oleh bakteri lain untuk meningkatkan jumlah antibiotik yang disintesis bakteri. Manipulasi ekstensif produksi antibiotik dapat diperoleh melalui mutagenesis konvensional dan seleksi atau menggunakan teknologi rekombinan DNA.

Pilihan strategi ketahanan dapat menggabungkan peningkatan perlindungan penyakit dan biaya rendah. Bakteri yang memproduksi siderofor mampu bersaing dengan mikroba tanah lainnya, dan menyediakan mekanisme untuk sifat bioantagonis (Haas & Défago 2005). Selain itu, siderofor mampu mengaktifkan ISR pada beberapa spesies tanaman, dan menyediakan mekanisme kedua untuk perlindungan tanaman terhadap penyakit oleh

RPPT yang memproduksi siderofor. RPPT dapat memperbaiki situs pertahanan terhadap penyebaran patogen dengan memperkuat dinding sel epidermal dan kortikal seperti yang dihasilkan strain *B. pumilus* SE34 pada kacang dan tomat dan *P. fluorescens* WCS417r pada tomat. Perubahan biokimia atau fisiologis ini terkait dengan akumulasi protein yang berhubungan dengan protein patogenesis (protein PR) dan senyawa kimia termasuk fitoalexins, *phenylalanine ammonia lyase* (PAL), dan *chalcone synthase*. Tanaman yang diaplikasi RPPT yang mengandung spesies bakteri *P. fluorescens*, *P. putida*, *B. pumilus*, dan *S. marcescens* mempengaruhi kolonisasi sistem akar dan melindungi tanaman terhadap penyakit daun (Raupach & Kloepper 1998). ISR terjadi ketika mekanisme pertahanan tanaman dirangsang dan dilepaskan untuk melawan infeksi oleh patogen. Interaksi mikroba tanaman seperti ini tidak memiliki respon hipersensitif yang terlihat dengan kolonisasi akar oleh RPPT (Wei *et al.* 1991). ISR-RPPT yang diperoleh pada awalnya diamati pada anyelir (*Dianthus caryophyllus*) dengan kerentanan yang berkurang terhadap layu *Fusarium* sp. pada kacang (*Phaseolus vulgaris*) dan mengurangi kerentanan terhadap hawar pada mentimun (*Cucumis sativus*) (Wei *et al.* 1991). Peran mikroba penghasil senyawa organik volatil (VOC) dalam mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman telah dilaporkan. Komponen volatil bakteri dapat berfungsi sebagai agen untuk memicu pertumbuhan pada *Arabidopsis* (Ryu *et al.* 2004). ISR ditimbulkan oleh bahan kimia volatil yang dilepas dari RPPT dan memberikan peran baru untuk VOC bakteri dalam memicu respon pertahanan tanaman (Raupach & Kloepper 1998).

Faktor penting daya saing RPPT adalah kemampuan bakteri untuk berkembang biak. Namun, seringkali sulit untuk memprediksi perilaku RPPT di lingkungan tertentu, karena persistensi dari bakteri dalam tanah dapat dipengaruhi oleh sejumlah faktor yang berbeda termasuk komposisi tanah, suhu dan keberadaan

plasmid rekombinan (Siddiqui & Shaukat 2002). Di bawah iklim dingin dan sedang, banyak jamur patogen tanaman merusak ketika suhu tanah rendah. Oleh karena itu, penggunaan RPPT yang toleran dingin akan jauh lebih efektif di lapangan daripada *strain* yang bersifat mesofilik.

Salah satu strategi yang digunakan tanaman untuk membatasi kolonisasi akar oleh patogen tanaman adalah melalui produksi kelompok oksigen aktif seperti radikal hidroksil, anion superoksida dan hidrogen peroksida yang dapat menghambat berbagai proses sel patogen. Oleh karena itu manipulasi genetik RPPT, untuk meningkatkan satu atau lebih enzim yang mengurangi jumlah oksigen aktif (Pal *et al.* 2006), sehingga *strain* RPPT dengan kemampuan kolonisasi akar meningkat dan karenanya peningkatan efektivitas terhadap jamur patogen mungkin bisa dikembangkan.

Strain RPPT *Enterobacter agglomerans* bersifat antagonis terhadap patogen jamur termasuk *R.solani*, dan memiliki kompleks empat enzim terpisah yang bertanggung jawab untuk aktivitas kitinolitik bakteri. Bakteri ini secara nyata menurunkan kerusakan pada kotiledon tanaman setelah infeksi dengan *R. solani*. Contoh mutan Tn5 dari *Enterobacter agglomerans* PH yang kekurangan aktivitas kitinase tidak mampu melindungi tanaman terhadap kerusakan akibat jamur patogen. Kebanyakan enzim termasuk kitinase dan β -1, 3-glukanase dari RPPT telah ditemukan dapat melisis sel jamur, yang dikodekan oleh gen tunggal. Dalam mengembangkan mode PH yang efektif, RPPT yang menghasilkan antibiotik dan enzim pendegradasi jamur dapat dimanfaatkan dengan cara kloning gen, dan kemudian mentransfer ke RPPT lainnya (Xiao *et al.* 2009).

KESIMPULAN

Strategi pendekatan dalam peningkatan produksi tanaman telah dilakukan dengan aplikasi skala besar RPPT sebagai inokulan untuk meningkatkan hasil panen karena secara substansial akan mengurangi penggunaan pupuk dan pestisida kimia, yang sering mencemari lingkungan dan mencemari bahan makanan. Dalam proses mendukung pertumbuhan tanaman yang sehat, *strain* RPPT memberikan kontribusi yang nyata dengan berbagai cara, di mana *strain* RPPT yang terlokalisasi di permukaan akar tanaman, dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dan meningkatkan produksi tanaman.

Selain itu, *strain* RPPT juga dapat melindungi tanaman dari cekaman biotik. Mereka memiliki fungsi penting dalam antagonisme mikroba, serta mampu menimbulkan ketahanan yang diinduksi. *Strain* RPPT secara langsung dapat menghambat patogen melalui sifat antagonisnya terhadap sebagian besar penyakit yang ditularkan melalui tanah, sedangkan *strain* RPPT dapat menginduksi ketahanan sistemik dan memicu ISR melalui jalur sinyal AJ/ET dan/atau AS terhadap sebagian besar penyakit pada tunas/daun tanaman. Penerapan beberapa *strain* RPPT dapat menginduksi ketahanan sistemik terhadap beberapa penyakit tanaman, di mana proses ini terutama terjadi dengan mengaktifkan jalur sinyal AJ.

Rhizobakteri tahan pada berbagai lingkungan ekosistem, bersifat antagonis tinggi sangat berguna dalam mengembangkan inokulan baru, dan menawarkan alternatif pengendalian penyakit tanaman yang ramah lingkungan. Sebagai teknologi input rendah, teknologi RPPT dapat dimanfaatkan dalam pengelolaan penyakit tanaman mendukung pertanian berkelanjutan.

Pengembangan *strain* RPPT unggul atau baru dengan sifat pemacu pertumbuhan tanaman yang lebih baik, dan pengembangan peningkatan ketahanan terhadap berbagai cekaman biotik

dimungkinkan melalui manipulasi genetik RPPT pada kondisi laboratorium dan lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriouel H, Franz CM, Ben Omar N, Gálvez A. (2011). Diversity and applications of *Bacillus bacteriocins*. FEMS Microbiol. Rev. 35: 201-232 doi: 10.1111/j.1574-6976.2010.00244.x.
- Agustiansyah, Ilyas S, Sudarsono, Machmud M. (2010). The effect of biological seed treatment applied on *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* infected rice seeds on quality and seedling growth. J Agron Indones. 38:185-191.
- Arrebola E, Sivakumar D, Korsten L. (2010). Effect of volatile compounds produced by *Bacillus* strains on postharvest decay in citrus. Bio. Control 53:122-128 doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.11.010.
- Bhattacharjee R, Dey U. (2014). Biofertilizer, a way towards organic agriculture: A review. Afr J Microl Res. 8:2332-2343 doi:10.5897/AJMR2013.6374.
- Cascales E, Buchanan SK, Duché D, Kleanthous C, Lloubès R, Postle K, Riley M, Slatin S, Cavard D. (2007). Colicin Biology. Microbiol Mol Biol Rev. 71:158-229. doi: 10.1128/MMBR.00036-06.
- Cazorla FM, Duckett SB, Bergstrom ET, Noreen S, Odijk R, Lugtenberg BJJ, Thomas-Oates JE, Bloembergen GV. (2006). Biocontrol of avocado dematophora root rot by antagonistic *Pseudomonas fluorescens* PCL1606 correlates with the production of 2-hexyl 5-propyl resorcinol. Mol. Plant-Microbe Interact. 19:418-428.

- Deleu M, Paquot M, Nylander T. (2008). Effect of fengycin, a lipopeptide produced by *Bacillus subtilis*, on model biomembranes. *Biophys J*. 94:2667-2679. doi: 10.1529/biophysj.107.114090.
- Dimkpa CO, Merten D, Svatos A, Büchel G, Kothe E. (2009). Siderophores mediate reduced and increased uptake of cadmium by *Streptomyces tendae* F4 and sunflower (*Helianthus annuus*), respectively. *J Appl Microbiol*. 107:1687-1696. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04355.x.
- Dwivedi D, Johri BN. (2003). Antifungals from fluorescent pseudomonads: Biosynthesis and regulation. *Curr Sci*. 12:1693-1703.
- Ent S Van der, Wees S Van, Pieterse CM. (2009). Jasmonate signaling in plant interactions with re-sistance-inducing beneficial microbes. *Phytochemistry* 70:1581-1588. doi: 10.1016/j.phytochem.2009.06.009.
- Fan W, Dong X. (2002). In vivo interaction between NPR1 and transcription factor TGA2 leads to salicylic acid-mediated gene activation in Arabidopsis. *Plant Cell*. 14:1377-1389. doi: 10.1105/tpc.001628.
- Fauziah F, Setiawati MR, Susilowati DN, Pranoto E, dan Yati Rachmiati. (2016). Potensi mikroba indigen tanaman teh terhadap pertumbuhan dan ketahanan terhadap penyakit cacar daun (*Exobasidium vexans* Massee), J Penelit Teh Kina, 19:115-123.
- Gilbertson AW, Fitch MW, Burken JG, Wood TK. (2007). Transport and survival of GFP-tagged root-colonizing microbes: Implications for rhizodegradation. *Eur J Soil Biol*. 43:224-232. doi: 10.1016/J.EJSOBI.2007.02.005.

- Gundlach H, Mueller MJ, Kutchan TM, Zenk MH. (1992). Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures. *Proc Natl Acad Sci. USA* 89:2389-2393.
- Haas D, Défago G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat Rev Microbiol.* 3:307-319. doi: 10.1038/nrmicro1129.
- Hassan MN, Namood-e-Sahar, Syed Zia-Ul-Husnain Shah, Afghan S, Hafeez FY. (2015). Suppression of red rot disease by *Bacillus* sp. based biopesticide formulated in non-sterilized sugarcane filter cake, *Bio Control.* 60:691-702. doi: 10.1007/s10526-015-9673-4.
- Jetiyanon K, Fowler WD, Kloepper JW. (2003). Broad-spectrum protection against several pathogens by PGPR mixtures under field conditions in Thailand. *Plant Dis.* 87:1390-1394.
- Jha Y, Subramanian R. (2014). PGPR regulate caspase-like activity, programmed cell death, and antioxidant enzyme activity in paddy under salinity. *Physiol Mol Biol Plants.* 20: 201-207. doi: 10.1007/s12298-014-0224-8.
- Kamilova F, Lamers G, Lugtenberg B. (2008). Biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS365 inhibits germination of *Fusarium oxysporum* spores in tomato root exudate as well as subsequent formation of new spores. *Environ Microbiol.* 10:2455-24561. doi: 10.1111/j.1462-2920.2008.01638.x.
- Khalid A, Arshad M, Zahir ZA. (2004). Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J Appl Microbiol.* 96:473-480. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02161.x.

- Kim YC, Jung H, Kim KY, Park SK. (2008). An effective biocontrol bioformulation against *Phytophthora* blight of pepper using growth mixtures of combined chitinolytic bacteria under different field conditions. *Eur J Plant Pathol.* 120:373-382.
- Kinkema M, Fan W, Dong X. (2000). Nuclear localization of NPR1 is required for activation of PR gene expression. *Plant Cell* 12:2339-2350.
- Lanteigne C, Gadkar VJ, Wallon T, Novinscak A, Filion M. (2012). Production of DAPG and HCN by *Pseudomonas* sp. LBUM300 contributes to the biological control of bacterial canker of tomato. *Phytopathology.* 102:967-973.
- Leelasuphakul W, Sivanunsakul P, Phongpaichit S. (2006). Purification, characterization and synergistic activity of β -1, 3-glucanase and antibiotic extract from an antagonistic *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 against rice blast and sheath blight. *Enzyme Microb Technol.* 38:990-997. doi: 10.1016/j.enzmtec.2005.08.030.
- Lestari P, Susilowati DN, Samudra IM, Priyatno TP, Nugroho K, Whyranti Nurarfa, Inda Setyawati, Yadi Suryadi. (2017). Asam Indol Asetat Berdasarkan 16S rRNA dan Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis, *Jurnal AgroBiogen* 13:25-34
- Maksimov IV, Abizgil'dina RR, Pusenkova LI. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens. *Appl Biochem Microbiol.* 47:373-385. doi: 10.1134/S0003683811040090.
- Mateo N, Nader W, Tamayo G. 2001. Bioprospecting. In: *Encyclopedia of Biodiversity*, Volume 1 Academic Press. pp. 471-487.

- Mallaiah MSKV. (2009). Phosphate solubilization by *Rhizobium* strains. *India J Microbiol.* 49:98-102 doi:10.1007/s12088.009.0005.1.
- Mishina TE, Zeier J. (2007). Pathogen-associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. *Plant J.* 50:500-513. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03067.x.
- Nakkeeran S, Kavitha K, Mathiyazhagan S, Fernando W, Chandrasekar G, Renukadevi P. (2004). Induced systemic resistance and plant growth promotion by *Pseudomonas chlororaphis* strain PA-23 and *Bacillus subtilis* strain CBE4 against rhizome rot of turmeric (*Curcuma longa* L.). *Can J Plant Pathol.* 26:417-418. doi: 10.1080/09583150500532196.
- Naureen Z, Hafeez FY, Roberts MR. (2009). Identification of rice blast disease-suppressing bacterial strains from the rhizosphere of rice grown in Pakistan. *Crop Protection.* Elsevier, 28:1052-1060. doi: 10.1016/J.CROPRO.2009.08.007.
- Nautiyal CS, Bhadauria S, Kumar P, Lal H, Mondal R. (2000). Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiol Lett.* 182:291-296.
- Niu DD, Liu HX, Jiang CH, Wang YP, Wang QY. (2011). The plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 induces systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* by simultaneously activating salicylate-and jasmonate/ethylene-dependent signaling pathways. *Mol Plant-Microbe Interact.* 24:533-542.
- Pal KK, Scholar, V., Gardener BM. (2006). Biological control of plant pathogens. *Plant Health Instructor* 2:1117-1142. doi: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.

- Pieterse CMJ, van Wees SCM, Ton J, van Pelt JA, van Loon LC. (2002). Signaling in rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biol.* 4:535-544.
- Raaijmakers JM, de Bruijn I, Nybroe O, Ongena M. (2010). Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: More than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiol Rev.* 34:1037-1062. doi: 10.1111/j.1574-6976.2010.00221.x.
- Ramyabharathi SA, Meena B, Raguchander T. (2012). Induction of chitinase and β -1, 3-glucanase PR proteins in tomato through liquid formulated *Bacillus subtilis* EPCO 16 against Fusarium wilt. *Journal of Today's Biological Sciences: Research & Review (JTBSRR)* 1:50-60.
- Raupach GS, Kloepper JW. (1998). Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology.* 88:1158-1164.
- Rudrappa T, Czymmek KJ, Pare PW, Bais HP. (2008). Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria. *Plant Physiol.* 148:1547-1556. doi: 10.1104/pp.108.127613.
- Rezamela E, Fauziah F, Dalimonthe SL. (2016). Pengaruh bulan kering terhadap intensitas serangan *Empoasca* sp dan blister blight di kebun teh Gambung. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina.* 19:169-178.
- van Rij ET, Girard G, Lugtenberg BJJ, Bloemberg GV. (2005). Influence of fusaric acid on phenazine-1-carboxamide synthesis and gene expression of *Pseudomonas chlororaphis* strain PCL1391. *Microbiology.* 151:2805-2814.

- Ryu CM, Farag MA, Hu CH, Reddy MS, Kloepper JW, Pare PW. (2004). Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 134:1017-1026. doi: 10.1104/pp.103.026583.
- Setyowati M, Susilowati DN, Suryadi Y. (2017). Rhizosphere microbial genetic resources as PGPR potential isolated from maize inbred populations var. bisma. In: Widyatmoko *et al.*, editor. "The Project for Producing Biomass Energy and Material through Revegetation of Alang-alang (*Imperata cylindrica*) Fields". Proceedings The 1st SATREPS Conference Vol. 1. Jakarta (Indonesia): Indonesian Institute of Sciences (LIPI).
- Siddiqui I, Shaukat S. (2002). Mixtures of plant disease suppressive bacteria enhance biological control of multiple tomato pathogens. *Biol Fertil Soils.* 36:260-268. doi: 10.1007/s00374-002-0509-x.
- de Souza JT, Arnould C, Deulvot C, Lemanceau P, Gianinazzi-Pearson V, Raaijmakers JM. (2003). Effect of 2,4-diacetylphloroglucinol on *Pythium*: Cellular responses and variation in sensitivity among propagules and species. *Phytopathology.* 93:966-975.
- Suryadi Y, Susilowati DN, Putri KE, Mubarik NR. (2011). Antagonistic activity of indigenous Indonesian bacteria as the suppressing agent of rice fungal pathogen. *J Int Environ. Appl Sci.* 6:558-568.
- Suryadi Y, Susilowati DN, Akhdiya A, Kadir TS, Wibowo B. (2013a). Efficacy of consortium bacteria for control rice diseases under system of rice intensification (SRI) In West Java-Indonesia. *Albanian J Agric Sci.* 12:143-147.

- Suryadi Y, Susilowati DN, Riana E, Mubarik NR. (2013b). Management of rice blast disease (*Pyricularia oryzae*) using formulated bacterial consortium. Emir J Food Agric. 25:349-357. doi: 10.9755/ejfa.v25i5.12564.
- Suryadi Y, Samudra IM, Priyatno TP, Susilowati Dwiningsih, Lestari P, Sutoro. (2015). Aktivitas Anticendawan *Bacillus cereus* 11UJ terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Pyricularia oryzae*, J Fitopatol Indones. 11:35-42. doi: 10.14692/jfi.11.2.35.
- Tambong JT, Hofte M. (2001). Phenazines are involved in biocontrol of *Pythium myriotylum* on cocoyam by *Pseudomonas aeruginosa* PNA1. Eur J Plant Pathol. 107:511-521. doi: 10.1023/A:1011274321759.
- Wartono, Giyanto, Mutaqin KH. (2015). Effectiveness of *Bacillus subtilis* B12 spore formulation as biocontrol agent for bacterial leaf blight on rice. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan. 34:21-28.
- Wei G, Kloepper JW, Tuzun S. (1991). Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. Phytopathology. 81:1508-1512.
- Xiao L, Xie CC, Cai J, Lin ZJ, Chen YH. (2009). Identification and characterization of a chitinase-produced *Bacillus* showing significant antifungal activity. Curr Microbiol. 58:528-533. doi: 10.1007/s00284-009-9363-5.
- Yan Z, Reddy M, Ryu CM, McInroy JA, Wilson M, Kloepper JW. (2002). Induced systemic protection against tomato late blight elicited by plant growth promoting rhizobacteria. Phytopathology. 92:1329-1333.

- Yuan J, Raza W, Shen QR, Huang QW. (2012). Antifungal activity of *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 volatile compounds against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Appl Environ Microbiol. 78:5942-5944. doi: 10.1128/AEM.01357-12.
- Zhang YL, Tessaro MJ, Lassner M, Li X. (2003). Knockout analysis of Arabidopsis transcription factors TGA2, TGA5, and TGA6 reveals their redundant and essential roles in systemic acquired resistance. Plant Cell. 15:2647-2653. doi: 10.1105/tpc.014894.