

Keefektifan Mikroba Endofit dalam Memacu Pertumbuhan dan Mengendalikan Penyakit Hawar Pelepah Daun pada Padi Sawah

Effectiveness of Microbial Endophyte as Plant Growth Promoting and Sheath Blight Disease Suppressant in Lowland Rice

Ratih D. Hastuti*¹, Rasti Saraswati¹, Amallia Puspita Sari²

¹ Peneliti Badan Litbang Pertanian di Balai Penelitian Tanah, Jl Tentara Pelajar No. 12, Bogor 16114

² Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

INFORMASI ARTIKEL

Riwayat artikel:

Diterima: 1 April 2014

Disetujui: 15 Agustus 2014

Kata kunci:

Bakteri endofit

Rhizoctonia solani

Hawar pelepah daun

Padi IR-64

Keywords:

Endophytic bacteria

Rhizoctonia solani

Leaf sheath blight

Rice IR-64

Abstrak. Salah satu penyebab rendahnya produksi padi di Indonesia adalah serangan penyakit hawar pelepah daun yang disebabkan oleh jamur *Rhizoctonia solani*. Penyakit ini merupakan penyakit yang sukar dikendalikan karena jamur patogen ini mempunyai sklerosia yang dapat bertahan hidup pada jerami, tanah dan tanaman inang lain. Tujuan penelitian ini adalah mengkarakterisasi dan mempelajari potensi bakteri endofit dalam memacu pertumbuhan dan mengendalikan penyakit hawar pelepah daun tanaman padi sawah. Penelitian ini terdiri atas beberapa kegiatan yaitu uji hipersensitivitas, uji kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan zat pengatur tumbuh dan anti patogen, dan uji keefektifan isolat unggul dalam meningkatkan pertumbuhan dan mengendalikan penyakit Hawar Pelepah Daun padi IR-64 di rumah kaca. Dari hasil penelitian diperoleh satu isolat bakteri endofit dari marga Actinomycetes, isolat B1 yang mempunyai kemampuan menghasilkan zat pemacu tumbuh (IAA sebesar 95,47 ppm) dan menekan pertumbuhan patogen tular tanah (*Rhizoctonia solani*, *Sclerotium*, *Fusarium*, dan *Xanthomonas*). Inokulasi aktinomiset endofit pada tanaman padi IR-64 dapat meningkatkan pertumbuhan dan menekan serangan penyakit hawar pelepah daun.

Abstract. One of the factors causing low rice production in Indonesia is a leaf sheath blight disease caused by the fungus *Rhizoctonia solani*. This disease is difficult to control because of the fungal pathogen that has a sklerotia that can survive and remain in straw, soil and other host plants. The purpose of this study was to characterize and study the potential of endophytic bacteria as plant growth promoting and bio-control agent of leaf sheath blight disease in rice. This study consists of several activities, namely hypersensitivity test, study on the ability of endophytic bacteria in producing plant growth promoting and anti-pathogenic, and the effectiveness of selected bacteria in enhancing the growth and suppressing of the leaf sheath blight disease in greenhouse. The result showed that one of endophytic bacteria, Actinomycetes isolates B1, has the ability to produce plant growth promotion (IAA 95,47 ppm), and serve as anti-pathogenic soil borne *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium*, *Fusarium*, and *Xanthomonas*. Inoculation of endophyte actinomycetes in rice var. IR-64 can enhance the growth and suppress the leaf sheath blight disease.

Pendahuluan

Padi merupakan tanaman pangan penting di Indonesia, lebih dari 50% penduduk mengkonsumsi beras sebagai makanan pokok. Salah satu kendala yang dihadapi dalam usaha menaikkan produktivitas padi adalah serangan penyakit hawar pelepah daun yang disebabkan oleh jamur *Rhizoctonia solani*. Penyakit ini mempengaruhi produksi padi, secara kuantitatif menurunkan hasil panen dan bobot kering 1000 biji, dan secara kualitatif menyebabkan berkurangnya gabah isi dan meningkatnya gabah yang rusak selama proses penggilingan.

Rhizoctonia solani termasuk dalam kelompok jamur yang penyebarannya secara tular tanah (*soil-borne*) (Ou 1985). Pengendalian jamur ini sulit dilakukan dikarenakan jamur ini mempunyai kemampuan membentuk sklerosia yang dapat bertahan hidup dan bersifat patogenik. Sklerosia ini dapat bertahan hidup pada jerami bekas panen, tanah dan tanaman inang lainnya. Selain itu tergantung pada beberapa faktor lain seperti suhu, kelembaban, dan struktur sklerosia (Semangun 2004). Sklerosia *R. solani* dapat bertahan dalam tanah kering selama 21 bulan dan dalam keadaan terendam air selama 224 hari (Ou 1985). Sklerosia dapat disebarkan oleh air hujan, air irigasi, bagian-bagian tanaman termasuk bibit dan semua alat yang kontak dengan tanah. Dengan

* Corresponding author: ratihdhy@yahoo.com

demikian sumber infeksi dapat dikatakan selalu ada sehingga sulit dikendalikan (Ou 1985). *Rhizoctonia solani* berkembang dalam tanah jika terdapat bahan organik dan populasinya akan makin tinggi jika dari tahun ke tahun jika lahan ditanam tanaman yang rentan terhadap jamur *R. solani* (Semangun 2004).

Salah satu cara yang biasa digunakan oleh petani dalam mengendalikan serangan penyakit ini adalah pemakaian fungisida kimia, akan tetapi aplikasi fungisida kimia yang berlebihan dapat menyebabkan dampak yang merugikan bagi mikroba non target dan manusia. Oleh karena itu, diperlukan suatu teknologi yang ramah lingkungan yaitu dengan menggunakan pengendali hayati untuk menekan pertumbuhan patogen ini.

Hallmann *et al.* (1997) mengemukakan bahwa suatu bakteri dikatakan sebagai endofit jika bakteri ini tidak membahayakan bagi tanaman inangnya dan dapat diisolasi dari permukaan jaringan tanaman yang sehat atau diekstraksi dari dalam tanaman. Oleh karena itu, bakteri endofit mempunyai daya tarik tersendiri bagi para peneliti sebagai sumber senyawa bioaktif baru dengan beragam fungsinya. Mikroba endofitik adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman selama periode tertentu dari siklus hidupnya. Bakteri endofitik dapat berpotensi sebagai pupuk hayati karena diketahui mampu memfiksasi nitrogen (N_2) (Baraquio *et al.* 1997), mampu mensekresikan hormon pertumbuhan asam indol-3-asetat dan melindungi tanaman inang dari hama dan patogen, (Sun *et al.* 2008). Selain itu dengan perkembangan teknologi diketahui bahwa bakteri endofitik dapat meningkatkan karakteristik tanaman seperti tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrem (kekeringan), perubahan sifat fisiologis, produksi fitohormon dan senyawa-senyawa lainnya (enzim dan bahan obat-obatan) serta bersifat lebih stabil (Azevedo *et al.* 2000).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi, mempelajari potensi mikroba endofit dan melihat keefektifan mikroba endofit dalam memacu pertumbuhan tanaman dan menekan pertumbuhan sklerosia jamur *Rhizoctonia solani* pada tanaman padi secara *in-planta*.

Bahan dan Metode

Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kelti Biologi dan Kesehatan Tanah, Balai Penelitian Tanah dan Rumah Kaca, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetika Pertanian, Bogor.

Bahan dan alat penelitian

Sumber mikroba endofit, patogen tular tanah (jamur *Rhizoctonia solani*, *Fusarium*, *Xanthomonas* spp.) yang

digunakan dalam penelitian diperoleh dari Laboratorium Biologi dan Kesehatan Tanah sedangkan Jamur *Schlerotium* dari Laboratorium Mikrobiologi, Institut Pertanian Bogor.

Tanaman uji yang digunakan untuk uji keefektifan di rumah kaca adalah tanaman padi varietas IR-64, dan tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum*) untuk uji hipersensitivitas.

Kegiatan penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yaitu:

Rejuvinasi mikroba

Rejuvinasi dilakukan untuk meremajakan dan memurnikan kembali koleksi mikroba endofit (bakteri dan aktinomiset) sehingga diperoleh kultur yang murni dan segar dengan menggunakan medium *nutrient agar* (NA) untuk bakteri endofit dan medium ISP 4 untuk aktinomiset.

Uji hipersensitivitas

Bakteri endofit ditumbuhkan dalam medium *nutrient broth* dan diinkubasi selama 3-5 hari, sedangkan aktinomiset endofit yang ditumbuhkan dalam medium *Yeast Malt Broth* dan diinkubasi selama tujuh hari. Infeksi ke tanaman tembakau dilakukan dengan menyuntikkan kultur bakteri dan aktinomiset yang sudah diencerkan sampai mencapai 10^{-3} sel ml^{-1} ke bagian daun dan diamati adanya gejala nekrosis setelah 24 -48 jam. Sebagai kontrol positif digunakan kultur jamur *Rhizoctonia solani* dan air steril untuk kontrol negatif. Reaksi hipersensitivitas ditandai dengan timbulnya gejala nekrosis pada daerah bekas suntikan daun tembakau (dikatakan positif patogen).

Uji aktivitas antimikrob (bioassay)

Penapisan mikroba endofit penghasil antimikrob dan uji aktivitas antimikrob (*bioassay*) dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram diameter 6 mm. Patogen uji yang digunakan adalah *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp., *Schlerotium oryzae*, dan *Xanthomonas oryzae*.

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan mengukur zona hambat patogen oleh bakteri yang diukur dengan rumus $R1 = 100 \times (R2-R1)/R2$. R1 adalah jarak antara pusat inokulan patogen dengan ujung pertumbuhan pertumbuan miselia yang dihambat oleh isolat bakteri dan R2 adalah jarak maksimum pertumbuhan koloni patogen.

Uji penghasil zat pemacu tumbuh IAA

Kemampuan mikroba endofit dalam menghasilkan IAA dianalisa menurut metode kolorimetri. Pengukuran IAA dilakukan dengan metode Gordon dan Weber (1951)

untuk bakteri sedangkan untuk aktinomiset menggunakan metode dari Bano dan Mussarrat (2003) Pengamatan dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Konsentrasi IAA sampel diketahui dengan membandingkan dengan absorben IAA standar.

Uji keefektifan mikroba endofit penghasil IAA terhadap pertumbuhan padi IR-64

Pengujian keefektifan ini dibagi ke dalam dua unit percobaan: 1) bakteri endofit, dan 2) aktinomiset endofit). Keduanya menggunakan Rancangan Acak Lengkap (*Completely Randomized Design*) yang terdiri atas 12 perlakuan untuk aktinomiset dan 11 perlakuan untuk bakteri endofit, dan tiga perlakuan kontrol (kontrol medium, kontrol auksin 1 ppm, kontrol auksin 1,75 ppm), masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Perlakuan uji keefektifan mikroba endofit penghasil IAA terhadap pertumbuhan tanaman padi

Table 1. The treatment of endophytic microbe effectiveness to paddy growth

Aktinomiset	Bakteri endofit
A-1 : Kontrol medium	B-1 : Kontrol medium
A-2 : Auksin 1 ppm	B-2 : Auksin 1 ppm
A-3 : Auksin 1,75 ppm	B-3 : Auksin 1,75 ppm
A-4 : B1	B-4 : CM 3.2
A-5 : TM2	B-5 : BCr 2.3
A-6 : TP 43	B-6 : CT 4.1
A-7 : TP 44	B-7 : Bcbd 2.1
A-8 : TP 45	B-8 : PKMS 3B3
A-9 : TP 46	B-9 : CM 2.1
A-10 : A Fat	B-10 : BCr 131.2
A-11 : A CHR	B-11 : CM 4.3
A-12 : A Imp 6	

Pengujian ini dilakukan secara *in-vitro* dengan menumbuhkan bibit padi pada tabung reaksi (ukuran 25x200 mm) yang berisi setengah konsentrasi larutan Fahreous agar yang sudah disteril. Varietas padi yang dipakai adalah Padi IR-64 yang sudah disteril permukaannya dan dikecambahkan dalam medium TY (*Trypton Yeast Medium*) 0,7% selama empat hari. Bibit dipilih yang pertumbuhannya seragam kemudian diinokulasi dengan merendamnya dalam kultur mikroba endofit terpilih selama ± 5 menit. Setelah itu bibit ditanam dalam tabung reaksi, dan dipindahkan ke rumah kaca dan dijaga kelembabannya dengan cara menancapkan botol-botol tersebut dalam media pasir yang dibasahi air (agar lembab dan dijaga agar tidak kering). Pengambilan sampel dilakukan pada saat tanaman berumur 10-15 hari dengan

cara dicabut dan dibersihkan akarnya dengan air secara perlahan-lahan. Pengamatan yang dilakukan meliputi jumlah dan panjang akar lateral, tinggi tanaman, bobot kering, dan bobot basah.

Uji keefektifan mikroba endofit terpilih dalam mengendalikan pertumbuhan jamur *Rhizoctonia solani* pada tanaman Padi IR-64 secara in-planta di rumah kaca

Pembuatan inokulan uji dilakukan dengan menginokulasikan isolat bakteri dan aktinomiset terpilih masing-masing ke dalam 100 ml medium ISP 4 dan NA dan diinkubasi selama lima hari, kultur ini digunakan sebagai starter Kemudian starter diinokulasikan ke dalam 200 ml medium ISP 4/NA dan diinkubasi selama lima hari. Setelah itu aktinomiset dipanen dengan menggunakan cara dan sentrifugasi Pelet dan supernatant dicampur dengan perbandingan 1:1.

Sampel tanah dikering anginkan dan diayak lebih dahulu dengan menggunakan ayakan yang berukuran 3 x 3 mm dan disterilisasi. Tanah steril sebanyak 2 kg dimasukkan dalam pot. Sebagai pupuk dasar diberikan pupuk Urea dengan dosis 100 kg ha⁻¹, SP-36 50 kg ha⁻¹, dan KCl 50 kg ha⁻¹.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (*Completely Randomized Design*) yang terdiri atas sembilan perlakuan dengan tiga kali ulangan. Perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

1. Padi IR-64 (Kontrol)
2. Padi IR-64 ditambah fungisida kimia 20 ml pot⁻¹
3. Padi IR-64 ditambah *R.solani*
4. Padi IR-64 ditambah *R.solani* dan B1
5. Padi IR-64 ditambah *R.solani* dan TP 44
6. Padi IR-64 ditambah *R.solani* dan TP 4.3
7. Padi IR-64 ditambah *R.solani* dan A. Impr 6
8. Padi IR-64 ditambah *R.solani* dan TP 4.5
9. Padi IR-64 ditambah *R.solani* dan TP 4.6

Jamur patogen *R. solani* yang diinfeksi ke tanah diperbanyak dengan menggunakan botol-botol selai yang berisi media sekam yang telah direndam selama 24 jam, dimasak selama 30 menit serta diberi pepton 1% kemudian disteril. Setelah dingin, inokulasikan sklerosia atau hifa dari jamur *R. solani*, tutup dengan kapas dan diinkubasi selama tujuh hari.

Benih padi yang sudah disteril permukaannya kemudian disemai selama 14 hari. Bibit yang seragam diinokulasi lebih dahulu dengan isolat uji, dengan merendamnya selama 15 menit dalam larutan kultur isolat uji kemudian ditanam di pot yang sudah diberi perlakuan *R. solani* (20 gram pot⁻¹ *R. solani* sebagai perlakuan patogen dan kontrol positif di beri fungisida kimia sebanyak 20 ml pot⁻¹ dengan cara diaduk dengan tanah)

dan pada kontrol bibit langsung ditanam (tanpa inokulasi dan tanpa pemberian patogen). Sisa perendaman kultur isolat diinokulasikan sebanyak 5 ml pot⁻¹.

Variabel pengamatan yang diamati adalah tinggi tanaman dan jumlah anakan umur 30 hari. Pengamatan serangan penyakit hawar pelepah daun (HPD), dilakukan setelah tujuh hari inokulasi dengan pengamatan sebanyak delapan kali dimulai dari hari ke-7 setelah inokulasi hingga hari ke-28 dengan interval tiga hari.

Intensitas penyakit HPD, dihitung dari jumlah daun yang menampakkan gejala. Untuk menghitung intensitas penyakitnya diperlukan data skor dari penyakit, rumus yang digunakan untuk menghitung skor penyakit (Kuswinanti 2006):

$$IP = \frac{\alpha_1 N_1 + \alpha_2 N_2 + \dots + \alpha_n N_n}{Z \times \text{jumlah tanaman}} \times 100\%$$

dimana:

IP = Intensitas penyakit

a = Nilai skor penyakit tiap tanaman

N = Jumlah tanaman dengan nilai skor tertentu

Z = Nilai skor tertinggi

Tinggi tanaman kumulatif dari tanaman ini dikonversi menjadi suatu luasan area di bawah kurva perkembangan tinggi tanaman (LKDT) menggunakan rumus (Crist and Haynes 2001):

$$LDKT = \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{(TT_{i+1} + TT_1)}{2} \right\} (t_{i+1} - t_i)$$

dimana:

TT = Tinggi tanaman

$$TT = \frac{\sum \text{tinggi tanaman}}{\sum \text{tanaman}} \times 100\%$$

dimana:

t_i = Waktu pengamatan

n = Jumlah pengamatan

Intensitas penyakit kumulatif dikonversi menjadi luasan area dibawah kurva perkembangan penyakit (LDKP) dengan rumus sama dengan LDKT (Crist and Haynes 2001):

$$LDKP = \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{(R_{i+1} + R_1)}{2} \right\} (t_{i+1} - t_i)$$

dimana:

R_i = Tingkat intensitas penyakit

t_i = Waktu pengamatan

n = Jumlah pengamatan

Skoring penyakit hawar daun pada stadia tanaman 7-8 (*milk stage/double stage*) adalah sebagai berikut:

0 = Tidak ada bercak

1 = Jumlah bercak nekrotik < 20% dari jumlah anakan yang diserang

3 = Jumlah bercak nekrotik 20-30% dari jumlah anakan yang diserang

5 = Jumlah bercak nekrotik 31-45% dari jumlah anakan yang diserang

7 = Jumlah bercak nekrotik 46-65% dari jumlah anakan yang diserang

9 = Jumlah bercak nekrotik > 65% dari jumlah anakan yang diserang

Hasil dan Pembahasan

Uji hipersensitivitas

Hasil uji hipersensitivitas menunjukkan bahwa semua isolat uji yang diinokulasikan ke tanaman tembakau bereaksi negatif atau tidak menyebabkan daun mengering (warna daun tembakau tetap hijau) dan sama dengan perlakuan kontrol negatif (air) sedangkan pada kontrol positif (jaringan daun yang diinfeksi *Rhizoctonia solani*) terjadi nekrosis atau berwarna kuning pada bekas suntikannya, yang mengindikasikan terjadi respon hipersensitif atau reaksi pertahanan yang cepat dari tanaman dalam menghadapi patogen yang tidak kompatibel disertai dengan kematian sel yang cepat pada jaringan di daerah yang diinjeksi suspensi bakteri (Suwanto 1996).

Uji aktivitas anti patogen

Berdasarkan hasil yang diperoleh isolat yang mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan keempat patogen tular tanah (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp., *Sclerotium oryzae*, dan *Xanthomonas oryzae*) adalah isolat B1 (Tabel 2). Sedangkan yang bersifat anti patogen terhadap tiga jenis patogen adalah isolat Aimpr6 dan terhadap 2 jenis patogen adalah isolat TM 2, TP 4.3, TP 4.4, TP 4.5, dan TP 4.6.

Kemampuan penghambatan pertumbuhan patogen ditunjukkan dengan adanya zona hambat (zona jernih) disekitar koloni atau *disc paper* yang sudah ditetesi dengan kultur bakteri endofit yang menandakan bakteri uji mempunyai sifat anti patogen atau dan mampu memproduksi suatu senyawa antibiotika. Isolat B1 dapat menghambat pertumbuhan jamur *Rhizoctonia solani* tertinggi dibandingkan mikroba yang lain. *Rhizoctonia solani* merupakan cendawan yang menimbulkan penyakit busuk pelepah (*banded leaf and sheath blight*), busuk benih (*seed rot*), dan busuk bibit (*seedling blight*) pada

Tabel 2. Kemampuan aktinomiset dan bakteri endofit dalam menghambat pertumbuhan patogen tular tanah (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium*, *Sclerotium*, dan *Xanthomonas oryzae*)

Table 2. The ability of endophytic actinomycetes and bacteria to inhibit the growth of soil-borne pathogens (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium*, *Sclerotium*, and *Xanthomonas oryzae*)

Isolat	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Sclerotium</i>	<i>Xanthomonas</i>
 %			
Aktinomiset				
B1	66,67	60,00	62,22	68,89
A2.1	-	-	-	-
A2.2	51,11	-	-	-
A2.3	-	-	-	-
A2.4	-	-	-	-
A2.5	-	-	-	-
TM 1	-	-	62,22	-
TM 2	66,67	60,00	-	-
Afat	-	55,55	-	-
ACHR	-	-	51,11	-
A2Dodo2	-	-	-	-
Ddodo	-	-	-	-
DCHR	-	-	-	-
Aimpr 6	60,00	51,10	-	66,67
TP 4.3	64,40	66,67	-	-
TP 4.4	56,78	60,00	-	-
TP 4.5	55,56	-	-	71,11
TP 4.6	61,11	60,00	-	-
BLW 2.1	-	-	-	71,11
BCR 1.31.2	-	-	-	-
CM 2.1	-	-	-	-
Bakteri endofit				
Bcbd 2.2	-	-	-	71,11
CM 1.1	-	-	-	-
PKMS 3B 3	-	-	-	-
BCR2.3	-	-	-	62,20
CM 3.2	-	-	-	84,40
CT 4.1	-	-	-	-
CM 4.3	-	-	-	-
BCR 1.31	-	-	-	-
CT 1.1	-	-	-	-
CM 4.3 chr	-	-	-	-

* Perhitungan % dihitung dari rumus = $100 \times (R2-R1)/R2$. R1 adalah jarak antara pusat inokulan patogen dengan ujung pertumbuhan miselia yang dihambat oleh isolat bakteri, dan R2 adalah jarak maksimum pertumbuhan koloni patogen.

tanaman padi. Di Indonesia, serangan penyakit ini bisa mengakibatkan kehilangan hasil hingga 100% sehingga diperlukan agen pengendali hayati yang mampu mengendalikan penyakit tersebut (Muis, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa isolat ini berpotensi sebagai agen pengendali hayati. Berg and Hallman (2006) berpendapat bahwa bentuk antagonisme bakteri sebagai pengendali patogen tanaman dapat terjadi melalui mekanisme langsung (seperti: antibiosis, kompetisi, lisis) dan

mekanisme tidak langsung (seperti: induksi sistem resisten dan penghasil zat tumbuh). Penghambatan cara antibiosis yaitu isolat-isolat bakteri tersebut mampu memproduksi metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan atau merusak patogen (Narayanasamy 2001).

Penghasil zat pemacu tumbuh IAA

Beberapa isolat uji, selain menghasilkan senyawa antibiotika, juga mampu menghasilkan asam indol asetat

(IAA). Dari 31 isolat uji, terdapat 12 isolat penghasil IAA >80,00 µg/ml yaitu, isolat B1, Impari6 A, TP 4.3, TP 4.4, TP 4.5, TP 4.6, TM 2, CM 2.1, BCR 1.31.2, CM 1.1, PKMS 3B.3, dan CT 4.1. Dari 12 isolat tersebut, tujuh dari jenis aktinomiset endofit dan lima isolat dari bakteri endofit. Pada medium yang ditambah dengan triptofan, semua isolat mampu menghasilkan zat pemacu tumbuh IAA lebih tinggi dari yang tanpa penambahan triptofan. Hal ini disebabkan karena asam amino triptofan berfungsi sebagai precursor dalam sintesa IAA oleh bakteri melalui *Tryptophan-dependent pathways* (Patten and Glick 2002). Perbedaan produksi IAA dari berbagai bakteri ini dapat dipengaruhi oleh jenis bakteri dan kemampuannya dalam mengkonversi L-triptofan yang terkandung dalam media menjadi IAA (Patten and Glick 2002). Pada perlakuan tanpa penambahan triptofan, bakteri masih dapat menghasilkan IAA walaupun dalam jumlah kecil karena pada media terdapat *extract khamir* yang mengandung protein. Hal tersebut mengindikasikan bahwa sejumlah asam amino triptofan digunakan bakteri dalam mensintesis IAA.

Keektifan mikroba endofit sebagai pemacu pertumbuhan padi IR-64 secara *in-vitro*

Keefektifan bakteri dan aktinomiset endofit dalam menghasilkan IAA dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4. Pengaruh inokulasi aktinomiset endofit berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan tanaman padi, sedangkan inokulasi dengan

bakteri endofit tidak berbeda nyata antar perlakuannya. Jumlah akar dan bobot kering tanaman tertinggi dihasilkan pada perlakuan A-4 (isolat B1). Dapat dikatakan bahwa semakin banyak jumlah akar akan berpengaruh terhadap bobot kering tanaman. Hal ini karena akar merupakan salah satu organ yang paling respon terhadap fluktuasi IAA dan responnya akan meningkat oleh sejumlah IAA eksogenus seperti pemanjangan akar utama, pembentukan akar lateral dan adventif Davies *et al.* (1995).

Pertumbuhan akar primer atau akar lateral dan akar adventif merupakan salah satu keuntungan tanaman yang masih muda karena akan menambah kemampuan mengaitkan akar pada tanah dan membantu penyerapan air dan unsur hara dari lingkungannya (Patten and Glick 2002). Menurut Tien *et al.* 1979 sistem akar tumbuhan lebih respon terhadap auksin daripada batangnya, sedangkan kombinasi IAA, asam giberelat dan kinetin mampu meningkatkan pertumbuhan jika konsentrasi IAA dan kinetin sangat rendah (0,005 dan 0,001 µg ml⁻¹).

Tabel 3. Kemampuan mikroba endofit dalam menghasilkan IAA

Table 3. The ability of endophytic microbes to produce indole acetic acid (IAA)

Isolat	IAA	
	Tanpa L-tryptophan	Penambahan L-tryptophan
 µg ml ⁻¹	
Aktinomiset endofit		
B1	0,99	95,47
A2.1	0,64	75,57
A2.2	0,57	78,73
A2.3	0,63	77,37
A2.4	0,54	74,23
A2.5	0,49	76,20
TM 1	0,78	80,07
TM 2	0,79	82,20
TP 4.3	0,77	86,33
TP 4.4	0,77	86,80
TP4.5	0,79	86,87
TP4.6	0,79	85,63
Afat	0,68	76,10
ACHR	0,76	77,17
A2Dodo 2	0,18	22,23
Ddodo	0,77	77,63
DCHR	0,60	60,80
Aimpr6	0,79	88,23
Bakteri endofit		
BLW 2.1	0,68	76,00
BCR 1.31.2	0,78	82,03
CM 2.1	0,78	84,77
Bcbd 2.2	0,48	46,67
CM 1.1	0,79	84,77
PKMS 3B 3	0,78	83,10
BCR2.3	0,68	75,50
CM 3.2	0,69	78,93
CT 4.1	0,72	81,33
CM 4.3	0,67	75,60
BCR 1.31	0,68	63,90
CT 1.1	0,48	54,27
CM4.3 CHR	0,67	74,57

Pada bakteri endofit, pengaruh inokulasi menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap bobot basah tanaman, dengan perlakuan B-6 (Isolat CT41) mempunyai bobot basah lebih tinggi dari perlakuan yang lainnya (Tabel 4). Hal ini juga sesuai dengan penelitian Nejad dan Paul (2000) yang melaporkan bahwa beberapa bakteri endofitik yang berhasil diisolasi dari tanaman tomat mampu meningkatkan berat basah tanaman. Keefektifan aktinomiset endofit terpilih dalam menghambat

Tabel 4. Pengaruh inokulasi aktinomiset endofit penghasil IAA terhadap pertumbuhan padi IR-64

Table 4. The effect of IAA-producing endophytic actinomycetes on the growth of rice IR-64

Perlakuan	Jumlah akar	Panjang akar cm	Tinggi tanaman cm tan ⁻¹	Bobot basah g tan ⁻¹	Bobot kering
Medium	7,00 a	10,83 ab	13,60 ab	0,10 a	0,02 cde
Auksin 1 ppm	8,67 ab	11,47 ab	13,33 ab	0,16 bc	0,02 cde
Auksin 1,75 ppm	9,67 b	9,07 a	12,17 a	0,19 bc	0,02 cde
B1	14,33 d	10,87 ab	14,97 bc	0,20 cd	0,03 e
TM2	8,00 ab	10,27 a	16,33 cd	0,22 cd	0,02 cde
TP43	7,67 ab	10,00 a	14,27 b	0,16 bc	0,02 cde
TP 44	8,33 ab	10,90 ab	14,37 b	0,16 bc	0,02 cde
TP45	7,33 a	10,47 ab	13,87 ab	0,13 ab	0,02 cde
TP46	7,67 ab	11,13 ab	17,23 de	0,22 cd	0,02 cde
AFat	9,00 b	9,97 a	13,73 ab	0,18 bc	0,02 cde
ACHR	12,33 c	13,40 b	18,43 e	0,33 e	0,02 cde
AImp6	12,67 cd	13,40 b	16,83 cde	0,25 d	0,03 e

* Keterangan: Angka-angka dengan tanda huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5 %.

Tabel 5. Pengaruh inokulasi bakteri endofit penghasil IAA terhadap pertumbuhan padi IR-64

Table 5. The effect of IAA-producing endophytic bacteria on the growth of rice IR-64

Perlakuan	Jumlah akar	Panjang akar cm	Tinggi tanaman cm tan ⁻¹	Bobot basah g tan ⁻¹	Bobot kering
Auksin 1 ppm	4,67 a	6,4 a	9,23 a	0,05 ab	0,02 a
Auksin 1,75 ppm	5,67 a	6,4 a	6,87 a	0,04 ab	0,02 a
CM32	8,67 a	8,4 a	7,37 a	0,04 ab	0,02 a
BCR23	5,33 a	6,6 a	8,87 a	0,04 ab	0,02 a
CT41	7,33 a	7,5 a	11,97 a	0,06 b	0,02 a
Bcbd21	5,53 a	5,5 a	9,47 a	0,03 a	0,02 a
PKMS 3B3	8,33 a	10,6 a	10,20 a	0,05 ab	0,02 a
CM21	5,00 a	6,7 a	13,97 a	0,04 ab	0,02 a
BCR1312	5,00 a	4,5 a	8,03 a	0,03 a	0,01 a
CM43 CHR	6,00 a	6,9 a	8,50 a	0,03 a	0,01 a

* Keterangan: Angka-angka dengan tanda huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5 %.

pertumbuhan Jamur *Rhizoctonia solani* secara *in planta* di rumah kaca ditunjukkan dalam Tabel 4. Selain diuji kemampuannya dalam memacu pertumbuhan tanaman, juga diuji dalam mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh Jamur *Rhizoctonia solani* (Tabel 5). Hasil pengujian menunjukkan bahwa jumlah anakan padi pada perlakuan inokulasi dengan isolat aktinomiset B1 dan diinfeksi dengan patogen (P-4) dan diinokulasi aktinomiset AImp 6 (P-7) pada pengamatan minggu pertama sampai dengan minggu ketiga berpengaruh nyata menurut uji Duncan pada taraf 5% atau inokulasi dengan aktinomiset B1 (P-4) dan AImp (P-7) dapat meningkatkan jumlah anakan padi dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal ini sesuai dengan pendapat yang menyatakan bahwa Aktinomiset endofit yang hidup dalam jaringan tanaman padi berasal dari rizosfer perakaran yang kemudian mengkolonisasi

akar dan melakukan penetrasi ke dalam akar, batang dan daun (Coombs and Franco 2003) dan populasi aktinomiset endofit lebih banyak pada tanaman padi berumur 2-4 minggu setelah persemaian (Jelita 2011).

Berdasarkan Tabel 7 terlihat bahwa perlakuan inokulasi dengan aktinomiset B1 pada tanaman yang diinfeksi jamur *Rhizoctonia* (P-4) berpengaruh nyata berdasarkan uji Duncan taraf 5% pada tinggi tanaman selama empat minggu. Isolat aktinomiset B1 mampu meningkatkan tinggi tanaman padi secara nyata, yang disebabkan oleh tingginya kandungan auksin (Purwanti *et al.* 1997) yang diproduksi oleh isolat B1 sesuai dengan perkembangan tinggi tanaman kumulatif dari tanaman padi yang dikonversikan menjadi suatu luasan area di bawah kurva perkembangan tinggi tanaman yang disebut dengan LADKT (Tabel 8).

Tabel 6. Pengaruh mikroba endofit terhadap pembentukan jumlah anakan padi dari minggu 1 sampai ke-4 secara *in-planta* di rumah kaca

Table 6. The effects of endophytic microbes on number of tillers from first to fourth weeks

Perlakuan	Jumlah anakan			
	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
Padi	6,5 a*	12,2 a	13,0 a	10,2 ab
Padi + Benomyl	6,8 a	12,7 abc	13,2 a	9,3 abc
Padi + RS	8,0 ab	12,8 abc	14,3 a	11,8 a
Padi + RS + B1	11,5 d	14,5 c	15,2 a	4,7 e
Padi + RS + TP44	8,2 ab	12,5 ab	14,2 a	7,7 be
Padi + RS + TP43	7,8 ab	11,3 a	14,3 a	6,7 cde
Padi + RS + Aimp6	11,2 cd	14,0 bc	15,2 a	5,3 de
Padi + RS + TP45	8,3 ab	11,3 a	13,3 a	7,8 bcd
Padi + RS + TP46	9,2 bc	13,2 abc	15,2 a	6,3 cde

Tabel 7. Pengaruh mikroba endofit terhadap tinggi tanaman padi pada minggu pertama sampai ke-4 secara *in-planta* di rumah kaca

Table 7. The effect of endophytic microbes to control sheath blight disease of rice plant on high plants in first up to 4 weeks

Perlakuan	Tinggi tanaman			
	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
 cm			
Padi	68,3 b*	73,7 a	78,7 abc	78,9 abc
Padi + Benomyl	68,3 b	74,3 a	79,0 abc	81,7 bcd
Padi + RS	70,5 bc	74,8 a	78,0 abc	78,8 abc
Padi + RS + B1	74,7 c	78,7 b	83,5 c	85,3 d
Padi + RS + TP44	61,7 a	74,7 a	81,2 bc	82,8 cd
Padi + RS + TP43	70,8 bc	75,7 a	79,0 abc	81,5 cd
Padi + RS + Aimp6	71,7 bc	76,3 ab	81,3 bc	82,3 cd
Padi + RS + TP45	68,7 b	74,7 a	76,5 ab	76,3 ab
Padi + RS + TP46	69,8 b	73,7 a	74,5 a	74,8 a

Tabel 8. Pengaruh mikroba endofit terhadap perkembangan tinggi tanaman (LADKT) pada 7, 14, 21, dan 28 hari setelah inokulasi (HSI) secara *in-planta* di rumah kaca

Table 8. The effect of endophytic microbes on plant height (LADKT) 7, 14, 21, and 28 days after inoculation

Perlakuan	Tinggi tanaman (LADKT)			
	7 HSI	14 HSI	21 HSI	28 HIS
 cm			
Padi	240,9 b*	739,7 b	1.272,8 abc	1.824,4 ab
Padi + Benomyl	239,2 b	738,5 b	1.275,2 abc	1.835,8 ab
Padi + RS	246,8 bc	755,1 b	1.291,5 bc	1.842,2 ab
Padi + RS + B1	261,2 c	796,3 c	1.363,8 d	1.953 c
Padi + RS + TP44	213,8 a	687,8 a	1.231,4 a	1.805,4 a
Padi + RS + TP43	247,9 bc	758,9 b	1.298,5 bc	1.860,3 ab
Padi + RS + Aimp6	249,1 bc	765,3 bc	1.317,2 c	1.889,8 b
Padi + RS + TP45	238,6 b	737,9 b	1.265,3 ab	1.799 a
Padi + RS + TP46	499,9 d	1.016,8 d	1.539,4 e	1.801,3 a

* Keterangan: Angka-angka dengan tanda huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5 %.

Walaupun dalam perlakuan ditambahkan patogen *Rhizoctonia solani* tetapi dengan penambahan bakteri terpilih tanaman padi tetap tumbuh lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan inokulasi mikroba endofit menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap intensitas serangan penyakit hawar pelepah daun dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan tanaman padi yang diinokulasi dengan aktinomiset B1 dan diinfeksi dengan fungi patogen menunjukkan persentase serangan penyakit yang lebih kecil (6,98%) dibandingkan dengan perlakuan yang lain dan tidak berbeda nyata dengan tanaman padi yang diinfeksi dan disemprot dengan fungisida (6,41%). Intensitas serangan semakin meningkat pada sampai dengan pengamatan ke 7 minggu dan mulai menurun pada pengamatan ke-8.

Isolat-isolat bakteri terpilih mampu menekan intensitas penyakit hawar pelepah daun dan penekannya lebih besar apabila dibandingkan dengan fungisida benomyl. Hal ini dapat dilihat dari intensitas serangan pada perlakuan

inokulasi aktinomiset B1 dan penyemprotan dengan fungisida.

Gejala yang ditimbulkan pertama kali adalah adanya bercak-bercak besar berbentuk oval, dan bertepi teratur pada pelepah tanaman padi. Bagian tepi berwarna kemerah-merahan, sedangkan pusatnya berwarna seperti jerami. Apabila serangannya berat maka daun akan mengering dan akhirnya tanaman akan mati.

Intensitas penyakit ditentukan dengan menghitung jumlah daun yang menampilkan gejala nekrosis. Nekrosis muncul pada sekitar batang tanaman padi dihitung jumlah rumpun yang terserang kemudian diskoring sesuai dengan skor penyakit menurut Kuswinanti (2006).

Suatu penyakit tanaman akan muncul tergantung tiga faktor yaitu, tumbuhan yang rentan, patogen yang virulen dan lingkungan yang sesuai. Interaksi ini disebut dengan segitiga penyakit (Semangun 2004). Dalam percobaan di rumah kaca ini ketiga faktor tersebut terpenuhi. Tanaman padi yang digunakan adalah tanaman padi yang berumur

Tabel 9. Pengaruh mikroba endofit terhadap intensitas penyakit tanaman pada percobaan di rumah kaca

Table 9. The effects of endophytic microbes in controlling the intensity of crop diseases in a greenhouse experiment

Perlakuan	Intensitas penyakit						
	1	2	3	4	5	6	7
	%						
Padi	30 ab*	45,2 ab	81,2 ab	127,9 abc	183,4 bcd	244,1 bc	304,8 bc
Padi + Benomyl	6,4 a	12,2 a	29,2 a	48,3 a	72,1 a	97,1 a	122,1 a
Padi + RS	50,6 b	117,3 c	201,5 c	305,6 d	423,8 e	546,8 e	669,8 e
Padi + RS + B1	6,9 a	9,5 a	31,7 a	50,1 a	68,8 a	93,3 a	116,6 a
Padi + RS + TP44	20,1 ab	54,1 ab	96,7 ab	144,6 bc	209,8 bcd	279,5 cd	349,7 cd
Padi + RS + TP43	20,8 ab	45,0 ab	70,9 ab	105,9 ab	159,5 abc	221,2 abc	282,8 bc
Padi + RS + Aimp6	19,7 ab	35,8 ab	58,3 a	81,9 ab	107,4 ab	134,1 ab	160,7 ab
Padi + RS + TP45	24,9 ab	55,7 ab	92,8 ab	151,7 bc	223,4 cd	300,8 cd	378,1 cd
Padi + RS + TP46	40,9 b	74,8 bc	132,2 b	206,9 c	294,2 d	399,2 d	504,2 d

Tabel 10. Keefektifan Pengaruh mikroba endofit terhadap intensitas penyakit kumulatif (LADKP) tanaman padi secara

Table 10. The effects of endophytic microbes on cumulative intensity of plant disease (LADKP) of rice plants

Perlakuan	Intensitas penyakit kumulatif (LADKP)						
	1	2	3	4	5	6	7
Padi	105,1 ab*	45,2 ab	81,2 ab	127,8 abc	183,4 bcd	244,1 bc	304,8 bc
Padi + Benomyl	22,5 a	12,2 a	29,3 a	48,3 a	72,1 a	97,1 a	122,1 a
Padi + RS	176,9 b	117,3 c	201,5 c	305,6 d	423,8 e	546,8 e	669,8 e
Padi + RS + B1	24,4 a	9,5 a	31,8 a	50,1 a	68,7 a	93,3 a	116,6 a
Padi + RS + TP44	105,2 ab	54,1 ab	96,8 ab	144,6 bc	209,8 bcd	279,5 cd	349,2 cd
Padi + RS + TP43	72,7 ab	45,0 ab	70,9 ab	105,9 ab	159,5 abc	221,2 abc	282,8 bc
Padi + RS + Aimp6	68,9 ab	35,8 ab	58,3 a	81,9 ab	107,4 ab	134,1 ab	160,7 ab
Padi + RS + TP45	87,3 ab	55,7 ab	92,8 ab	151,7 bc	223,5 cd	300,8 cd	378, cd
Padi + RS + TP46	119,9 ab	74,8 bc	132,2 b	207,9 c	294,2 d	399,2 d	504,2 d

* Keterangan: Angka-angka dengan tanda huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Duncan pada taraf nyata 5 %.

dua minggu yang rentan terhadap hawar daun, patogen *R. solani* yang virulen dan lingkungan yang cocok untuk pertumbuhan jamur sehingga penyakit muncul secara cepat.

Intensitas penyakit kumulatif dikonversikan menjadi luasan area di bawah kurva perkembangan penyakit (LADKP). LADKP dapat terlihat bahwa perlakuan serangan penyakit berpengaruh nyata pada hampir semua perlakuan. Perlakuan berpengaruh nyata dalam menekan tingkat keparahan penyakit, hal ini dapat dilihat dari nilai LADKP apabila semakin rendah nilainya berarti semakin efektif dalam menekan penyakit. Semua perlakuan dapat menekan penyakit dengan nilai LADKP yang lebih rendah dari tanaman yang diinfeksi dengan fungi patogen. Perlakuan dengan isolat B1 merupakan perlakuan terbaik dalam menekan keparahan penyakit.

Kesimpulan

1. Didapatkan isolat aktinomiset B1 yang unggul dalam menghasilkan zat pemacu tumbuh (mampu memproduksi IAA sebesar 95,47 ppm) dan menekan pertumbuhan patogen tular tanah (*Rhizoctonia solani*, *Sclerotium*, *Fusarium*, dan *Xanthomonas*).
2. Perlakuan inokulasi dengan aktinomiset endofit menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap pertumbuhan dan pengendalian penyakit hawar pelepah daun tanaman padi dibandingkan dengan yang diinokulasi oleh bakteri endofit.
3. Isolat B1 mampu menekan pertumbuhan *Rhizoctonia solani* lebih baik daripada isolat lainnya dengan luas intensitas penyakit kumulatifnya (LADKP) paling rendah (116,647) sedangkan pada kontrol negatif 669,767 dan kontrol positif (aplikasi fungisida Benomyl) 122,080.

Daftar Pustaka

Azevedo, J.L., Walter M.Jr., Jose O.P., and W.L. de Araujo. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *EJB Electronic J Biotechnol* 30:40-65.

Bano, N. and J. Musarrat. 2003. Characterization of a new *Pseudomonas aeruginosa* strain NJ-15 as a potential biocontrol agent. *Curr Microbiol* 46:324

Berg, G. and J. Hallmann. 2006. Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. Pp 53-70. *In* B.J.E. Shculz, C.J.C. Boyle, and T.N. Sieber (Eds.), *Microbial root endophytes*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany.

Barraquio, W.L., L. Revilla, and J.K. Ladha. 1997. Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice. *Plant and Soil* 194: 15-24.

Christ, B.J. and K.G. Haynes. 2001. Inheritance of resistance to early blight disease in a diploid potato population. *Appl. and Envir. Microbiol.* 71:4951-4959.

Coombs, J.T. and C.M.M. Franco. 2003. Isolation and identification of actinobacteria from surface sterilized wheat roots. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 69(9):5603-5608.

Davies, P.J. 1995. The plant hormone concept: concentration, sensitivity, and transport. Pp 13-18. *In* P.J. Davies (ed.), *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Gordon, S.A. and R.P. Weber. 1950. *Calorimetric estimation of indole acetic acid*. Argone National Laboratory. Chicago. USA.

Hallmann, J., A. Quadt-Hallmann, W.F. Mahaffee, and J.W. Kloepper. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43:895-914.

Jelita, S.P. 2011. *Dinamika Populasi dan Karakter Morfologi Aktinomiset Endofit Asal 5 Varietas Tanaman Padi*. Skripsi S-1, Institut Pertanian Bogor.

Kuswinanti. 2006. Efektivitas *Trichoderma harzianum* dan *Gliocladium virens* dalam menekan pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* penyebab penyakit busuk pangkal batang pada tanaman kacang tanah. *Buletin Penelitian* 9(1):10-17.

Narayanasamy. P. 2001. Plant pathogen detection and diseases diagnosis. http://booksgoogle.co.id/book?id=qpo2vRGT2occ&dg=identification+plantpathogen&es-br=3&source=gbssummary_sr_code. Diakses 12 November 2009.

Nejad, P. and P.A. Johnson. 2000. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt diseases suppression in oilseed rape and tomato. *Biological Control* 8: 208-215.

Muis, A. 2007. Pengelolaan penyakit busuk pelepah (*Rhizoctonia solani* Kuhn.) pada tanaman jagung. *Jurnal Litbang Pertanian* 26(3):100-103.

Ou, S.H. 1985. *Rice diseases 2nd edition*. Commonwealth Mycological Institute.

Purwanti, H., A. Nasution, N. Hay, dan Yusida. 1995. Pemanfaatan mikroorganisme antagonis untuk pengendalian penyakit rebah semai kedelai. *Makalah Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi*. Mataram.

Patten, C.L. and B.R. Glik. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.* (8):3795-3801.

Semangun. 2004. *Penyakit-penyakit tanaman pangan di Indonesia*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Sun, L., F. Qiu, X. Zhang, X. Dai, X. Dong, and W. Song. 2008. Endophytic bacterial diversity in rice (*Oryza sativa* L.) roots estimated by 16S rDNA sequence analysis. *Micro.b Ecol.* 55:415-424.

Suwanto, A., H. Friska, dan I. Sudirman. 1996. Karakterisasi *Pseudomonas fluorescens* B29 dan B39: profil DNA genom, uji hipersensitivitas, dan asai senyawa bioaktif. *Hayati.* 3(1):15-20.

Tien, T.M., M.H. Gaskin, and D.H. Hubell. 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L). *Appl. Environ. Microbiol.* 37:1016-1024.