

Seminar Nasional Dalam Rangka Dies Natalis UNS Ke 43 Tahun 2019

“Sumber Daya Pertanian Berkelanjutan dalam Mendukung Ketahanan dan Keamanan Pangan Indonesia pada Era Revolusi Industri 4.0”**Karakterisasi Kemampuan Biokontrol Bakteri Endofit Indigenos untuk Pengendalian *Ralstonia solanaceae* subsp. *indonesiensis* pada Cabai****Yulmira Yanti¹, Arneti¹, Muzilatul Nilisma²**¹Program Studi Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang²Mahasiswa Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Andalas PadangEmail: yy.anthie79@gmail.com, mira23@agr.unand.ac.id**Abstrak**

Bakteri endofit hidup dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit pada inang dan banyak dikembangkan sebagai agens hayati pengendalian berbagai penyakit tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri endofit indigenos dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri pada cabai dan mengkarakterisasi kemampuan biokontrol isolat terbaik secara *in-vitro*. Penelitian dilakukan menggunakan percobaan dengan rancangan acak lengkap dengan 5 ulangan dan 11 perlakuan (10 isolat bakteri endofit + kontrol). Parameter pengamatan yaitu kemampuan pengendalian penyakit layu bakteri secara *in planta* (insidensi dan severitas penyakit) dan karakter biokontrol (produksi protease, biosurfaktan, katalase, siderofor, antibiotik, HCN, ammonia dan hemolysin). Hasil penelitian didapatkan 10 isolat bakteri endofit indigenos mampu menekan perkembangan dan menghambat terjadinya penyakit layu bakteri pada cabai sampai 0% dengan efektivitas 100%. Karakterisasi isolat bakteri endofit indigenos secara *in-vitro* menunjukkan semua isolat mampu memproduksi protease, biosurfaktan dengan viskositas beragam, dan aktivitas katalase positif, 9 isolat mampu memproduksi siderofor, dan 8 isolat mampu menghasilkan antibiotik. Seluruh isolat tidak mampu memproduksi HCN dan ammonia. Semua isolat juga memiliki aktivitas hemolysin negatif yang mengindikasikan aktifitas patogenitas negatif pada manusia. Isolat bakteri endofit SLBE 1.1 BB, SLBE 2.1 BB, SLBE 2.3 BB, SLBE 4.2 BB, SLBE 3.1 AP, AGBE 2.1 TL, SLBE 3.1 BB, dan AGBE 4.1 TL merupakan isolat yang paling banyak menunjukkan karakter biokontrol.

Kata kunci: bakteri endofit indigenos, biocontrol, karakterisasi in vitro

Pendahuluan

Penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanaceae* subsp. *indonesiensis* (sebelumnya *R. solanacearum*) (Safni *et al.*, 2014) merupakan penyakit pembuluh pada tanaman cabai yang dapat menyebabkan kehilangan hasil (Basu, 2014) dan kegagalan panen 10-80% (Vanitha *et al.* 2009). Pengendalian penyakit layu bakteri dengan bahan kimia sintetis belum memberikan hasil yang memuaskan. Alternatif pengendalian menggunakan mikroba antagonis dari kelompok bakteri endofit merupakan pengendalian yang potensial dan ramah lingkungan untuk

dikembangkan yang dapat bersifat langsung (kompetisi, predasi, dan antibiosis) atau secara tidak langsung melalui induksi ketahanan tanaman inang.

Bakteri endofit sebagai agen biokontrol memiliki kelebihan dibandingkan agen biokontrol lainnya karena keberadaannya dalam jaringan tanaman, sehingga mampu bertahan terhadap tekanan biotik dan abiotik (Miliute *et al.*, 2015). Bakteri endofit mampu mengendalikan penyakit hawar bakteri oleh *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* pada kapas (Rajendran *et al.*, 2006), mengendalikan penyakit darah pada tanaman pisang (Marwan *et al.*, 2011). Bakteri endofit *Bacillus* spp. indigenos asal akar tomat mampu menekan penyakit layu bakteri oleh *Ralstonia solanacearum* (Yanti *et al.*, 2018).

Mekanisme bakteri dalam menghambat pertumbuhan patogen yaitu melalui aktivitas biokontrol berupa karakterisasi sintesis enzim protease dan kitinase. Karakterisasi lainnya, seperti aktivitas katalase, produksi ammonia, HCN dan siderofor juga berperan penting dalam biokontrol, meningkatkan ketahanan tanaman dan memacu pertumbuhan tanaman (Kumar *et al.*, 2012). Aktivitas mekanisme biokontrol yang beragam dalam melawan patogen menggambarkan keanekaragaman spesies dari bakteri endofit. (Hallmann dan Breg 2006).

Produksi metabolit sekunder yang diproduksi oleh bakteri endofit dapat mempengaruhi patogen secara langsung berupa senyawa yang bersifat antimikroba seperti HCN (Bashan dan de Bashan, 2005); enzim litik (Glick, 2012), enzim hidrolitik seperti kitinase, protease, dan lipase (Bashan dan de Bashan, 2005). Inokulasi dua strain *Bacillus* asal kapas mampu meningkatkan produksi enzim-enzim yang berkaitan dengan sistem pertahanan tanaman, yaitu kitinase, β -1,3 glukukanase, peoksidase, polifenol oksidase, fenilalanin amonialiase dan fenol tanaman inangnya sehingga mampu mengatasi serangan *R. solani*, penyebab rebah kecambah (Rajendran dan Samiyappan, 2006).

Perlu dilakukan pengujian terhadap kemampuan isolat bakteri endofit indigenos asal cabai untuk mengendalikan penyakit layu bakteri dan mengetahui mekanisme biokontrolnya dalam mengendalikan patogen sehingga dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri endofit indigenos dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri pada cabai dan mengkarakterisasi kemampuan biokontrol isolat terbaik secara *in-vitro*.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Agustus 2018 di Laboratorium Mikrobiologi dan Lahan Percobaan Fakultas Pertanian Unviersitas Andalas, Padang, Sumatera Barat.

Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu (1) Uji Kemampuan Isolat bakteri endofit indigenos mengendalikan penyakit layu bakteri secara *in planta* dan (2) Karakterisasi mekanisme biokontrol isolat bakteri endofit secara *in vitro*. Penelitian dilakukan menggunakan percobaan dengan rancangan acak lengkap dengan 5 ulangan dan 11 perlakuan (10 isolat bakteri endofit + kontrol). Parameter pengamatan yaitu kemampuan pengendalian penyakit layu bakteri secara *in planta* (insidensi dan severitas penyakit) dan karakter biokontrol (produksi protease, biosurfaktan, katalase, siderofor, antibiotik, HCN, ammonia dan hemolysin).

Persiapan dan perbanyakan isolat bakteri endofit indigenos

Isolat bakteri endofit indigenos dari microtube diremajakan dengan metode gores pada medium NA dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Satu koloni tunggal bakteri endofit lalu dimasukkan kedalam 25 ml medium NB dalam botol kultur dan diinkubasi selama 24 jam pada shaker dengan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya hasil precultur dipindahkan sebanyak 1 ml ke dalam 50 ml air kelapa steril dalam botol kultur dan diinkubasi pada rotary shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 2x24 jam untuk mainculture (Yanti *et al.*, 2013). Kapadatan populasi ditentukan dengan membandingkan kekeruhan suspensi bakteri dengan larutan McFarland skala 8 (kepadatan populasi diperkirakan 10^8 sel/ml). Populasi dengan kerapatan 10^8 sel/ml digunakan untuk inokulasi.

Persiapan media tanam

Media tanam yang digunakan berupa campuran tanah dengan pupuk kandang (2:1 v/v) (Yanti *et al.*, 2013). Tanah dan pupuk kandang disterilisasi dengan cara dimasukkan ke dalam dandang selama 1 jam pada suhu 100°C lalu diinkubasi 1x24 jam.

Penyemaian dan Penanaman

Permukaan benih cabai disterilkan dengan merendam dalam larutan NaOCl 1% selama 5 menit kemudian dibilas dengan aquades steril sebanyak 2 kali lalu benih dikering anginkan. Benih tersebut selanjutnya direndam dalam suspensi isolat bakteri endofit indigenos selama 10 menit dengan kepadatan 10^8 CFU/ml sesuai perlakuan kemudian disemai pada seed tray. Bibit cabai dipindahkan ke lapangan berumur 21 (hst). Selanjutnya akar bibit cabai direndam ke dalam suspensi bakteri endofit indigenos dengan kepadatan 10^8 CFU/ml selama 10 menit. Selanjutnya bibit ditanam ke *polybag* yang telah berisi tanah steril.

Inokulasi *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis*

R. syzygii subsp. *indonesiensis* diisolasi dari tanaman cabai yang bergejala penyakit layu bakteri dilapangan yang ditumbuhkan pada medium TZC. *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* diinokulasikan pada tanaman cabai berumur 2 minggu setelah tanam untuk menguji tingkat

virulensi dari patogen dengan metode pelukaan akar. Pelukaan akar bibit cabai dilakukan dengan cara menggunting akar di kedua sisi tanaman. Selanjutnya sebanyak 30 ml suspensi *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* disiram ke tanaman dengan kepadatan 10^7 CFU/ml.

Karakterisasi mekanisme biokontrol isolat bakteri endofit indigenos

Produksi protease

Produksi protease dideteksi pada medium Skim milk yang ditandai dengan zona bening di sekeliling pertumbuhan bakteri endofit pada medium skim milk 2 hsi (Cappuccino, 1983).

Produksi biosurfaktan

Produksi biosurfaktan dideteksi dengan metode Jain *et al.*, (1991) dengan mengukur tingkat kekentalan isolat bakteri endofit indigenos yang dibiakkan pada medium King B dari supernatan menggunakan viscometer 2 hsi (mainculture).

Aktivitas katalase

Pengamatan terbentuknya gelembung gas sebagai hasil reaksi antara H₂O₂ dengan isolat bakteri yang memiliki aktivitas katalase.

Produksi siderofor

Produksi siderofor oleh isolat bakteri endofit dengan Gram positif dideteksi dengan medium Simple Double-Layered Chrome Azurol Sulfonat Agar (SD-CASA) yang ditandai adanya zona berwarna jingga di sekeliling pertumbuhan isolat bakteri endofit indigenos 1 hsi (Husen, 2003)..

Produksi antibiotik

Produksi antibiotik oleh isolat BEI dideteksi dengan metode dual plating secara in vitro (Madigan et al., 1997) yang ditandai dengan perubahan larutan pepton menjadi keruh setelah 24 jam (1 hsi). Produksi antibiotik oleh BEI dideteksi dengan metode dual culture (Sigeo, 1993) yang ditandai adanya zona bening di sekeliling potongan kertas cakram dan diukur diameternya 3 his.

Produksi HCN

Produksi HCN dideteksi dengan metode Bekker dan Schipper (Munif, 2011) yang ditandai dengan adanya perubahan warna pada kertas cakram dari kuning menjadi orange kecokelatan setelah 4 hsi.

Produksi ammonia

Produksi ammonia diuji dengan mengikuti metode yang telah dilaporkan oleh Cappuccino (1983) dengan mengamati perubahan warna media kultur menjadi kuning-kecokelatan.

Aktivitas hemolysin.

Produksi hemolisin ditandai dengan timbulnya zona bening disekeliling pertumbuhan bakteri endofit pada media agar darah 2 hsi (Widjayanti, 2012).

Hasil dan Pembahasan

Kemampuan bakteri endofit indigenos menekan *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis*

Introduksi bakteri endofit indigenos mampu menekan masa inkubasi, insidensi dan severitas penyakit layu bakteri pada cabai. Semua isolat mampu menekan insidensi dan severitas penyakit dengan efektivitas 100% hingga pengamatan terakhir dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Masa inkubasi dan insidensi layu bakteri pada tanaman cabai

| Isolat | Masa Inkubasi (hsi) | | Efektivitas (%) | Insidensi | Efektivitas (%) | Severitas | Efektivitas (%) |
|-------------|---------------------|---|-----------------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|
| | | | | | | | |
| SLBE.3.1.AP | 46.00* | a | 107.21 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| SLBE.1.1.BB | 46.00* | a | 107.21 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| SLBE.2.1.BB | 46.00* | a | 107.21 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| SLBE.2.3.BB | 46.00* | a | 107.21 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| SLBE.3.1.BB | 46.00* | a | 107.21 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| SLBE.3.3.BB | 46.00* | a | 107.21 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| SLBE.4.2.BB | 46.00* | a | 107.21 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| AGBE.2.1.TL | 46.00* | a | 107.21 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| AGBE.3.1.TL | 46.00* | a | 107.21 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| AGBE.4.1.TL | 46.00* | a | 107.21 | 0 | 100 | 0 | 100 |
| Kontrol - | 22.20** | b | | 80 | | | |

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada lajur yang sama adalah berbeda tidak nyata menurut LSD pada taraf 5%

*Masa inkubasi 46 hsi menunjukkan tanaman tidak menunjukkan gejala sampai hari pengamatan terakhir.

**tanaman pada perlakuan mati sehingga analisis data tidak dilanjutkan pada parameter pengamatan selanjutnya

Setelah menunjukkan kemampuan mengendalikan *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* secara *in-planta*, selanjutnya dilakukan karakterisasi mekanisme biokontrol bakteri endofit indigenos untuk mengkonfirmasi mekanisme yang terkait dalam kemampuan bakteri endofit indigenos sebagai agens biokontrol secara *in-vitro* (Tabel 2)

Tabel 2. Karakter biokontrol bakteri endofit indigenos terhadap *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis*

| Isolat | Reaksi Gram* | Produksi HCN | Produksi Protease | Produksi Biosurfaktan | | Produksi Ammonia | Produksi Hemolisin | Produksi Siderofor | Aktivitas Katalase | Produksi Antibiotik | |
|-------------|--------------|--------------|-------------------|--------------------------------------|-----------------|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | | | | Viskositas ($\eta = \text{Poise}$) | Peningkatan (%) | | | | | <i>dual plating</i> | <i>dual culture</i> |
| SLBE 1.1 BB | + | - | ++ | 0,7991 | 49,09 | - | - | + | +++ | + | 0 |
| SLBE 2.1 BB | + | - | ++ | 0,6118 | 14,14 | - | - | + | +++ | + | 0 |
| SLBE 2.3 BB | + | - | + | 0,6268 | 16,94 | - | - | + | ++ | + | 0 |
| SLBE 4.2 BB | + | - | ++ | 0,5781 | 7,85 | - | - | + | +++ | + | 0 |
| SLBE 3.1 AP | + | - | + | 0,5655 | 5,50 | - | - | + | +++ | + | 0 |
| AGBE 2.1 TL | + | - | + | 0,5753 | 7,33 | - | - | + | +++ | + | 0 |
| SLBE 3.1 BB | + | - | + | 0,6329 | 18,09 | - | - | + | +++ | + | 0 |
| AGBE 4.1 TL | + | - | ++ | 0,5816 | 8,51 | - | - | + | +++ | + | 0 |
| SLBE 3.3 BB | + | - | ++ | 0,6036 | 12,61 | - | - | + | ++ | - | 0 |
| AGBE 3.1 TL | + | - | ++ | 0,5801 | 8,23 | - | - | - | ++ | - | 0 |
| Kontrol + | | - | - | 0,5360 | 0,00 | - | - | - | - | - | 0 |
| Kontrol - | | | | | | | | | | + | 0 |

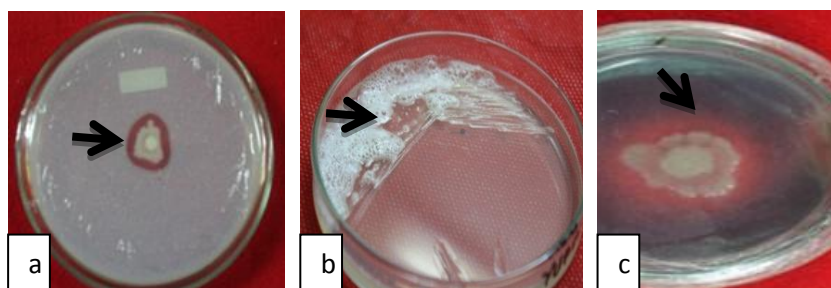
Keterangan: - : tidak ada

+ : ada (rendah)

++ : ada (sedang)

+++ : ada (tinggi)

Karakter biokontrol yang di uji meliputi produksi protease, aktivitas katalase dan produksi siderofor pada isolat SLBE1.1BB dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Pengujian aktivitas biokontrol isolat SLBE 1.1 BB (a) produksi protease, (b) aktivitas katalase dan (c) produksi siderofor

Pembahasan

Tanaman cabai yang diintroduksi isolat bakteri endofit indigenos mampu menekan masa inkubasi dan menurunkan insidensi penyakit layu bakteri oleh *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis*. Hasil penelitian ini menunjukkan semua isolat mampu menekan masa inkubasi terhadap *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* dengan tidak menunjukkan gejala sampai akhir pengamatan yaitu 46 (hsi) dengan efektivitas 107.21% dibandingkan dengan kontrol.

Menurut Hallmann *et al.*, (1997) bakteri endofit dapat berperan sebagai agens pengendali hayati jika bakteri endofit telah berasosiasi dengan tanaman sebelum patogen menyerang tanaman tersebut. Secara garis besar mekanisme bakteri endofit mengedalikan hama dan patogen tanaman dapat dikelompokkan menjadi 2 mekanisme yaitu secara langsung seperti kompetisi ruang dan nutrisi mikro dan tidak langsung seperti menginduksi ketahanan tanaman (Munif, 2003).

Mekanisme biokontrol isolat bakteri endofit indigenos yang didapatkan dari pengujian *in vitro* adalah semua isolat mampu memproduksi protease, biosurfaktan dengan viskositas beragam, dan aktivitas katalase positif, 9 isolat mampu memproduksi siderofor, dan 8 isolat mampu menghasilkan antibiotik. Seluruh isolat tidak mampu memproduksi HCN dan ammonia. Semua isolat juga memiliki aktivitas hemolysin negatif yang mengindikasikan aktifitas patogenesitas negatif pada manusia. Karakter biokontrol ini berkaitan dengan kemampuan bakteri endofit indigenos dalam berkompetisi dan menekan perkembangan patogen.

Enzim protease berperan dalam mendegradasi dinding sel patogen dan juga dapat dimanfaatkan oleh bakteri endofit indigenos untuk melakukan penetrasi kedalam jaringan tanaman. Biosurfaktan berperan dalam mencapai *quorum sensing* untuk selanjutnya dapat mengkolonisasi habitat sehingga bakteri lain tidak mampu bersaing. Reaksi katalisator yang mampu mengkatalisasikan hydrogen peroksida (H_2O_2) atau senyawa yang bersifat toksik terhadap mikroorganisme yang ditunjukkan oleh bakteri endofit indigenos dapat menunjukkan kemampuan

bertahan pada kondisi yang tidak menguntungkan. Kemampuan mengkelat Fe oleh bakteri endofit indigenos berperan positif dalam mendukung keberadaannya sebagai agens biokontrol menyediakan mineral yang penting bagi sel mikroba (Mulya, 1996).

Kemampuan bakteri penghasil siderofor dalam mengikat Fe^{3+} merupakan pesaing terhadap mikroorganisme lain. Antibiosis merupakan mekanisme penting dari bakteri endofit yang digunakan untuk menekan patogen tanaman. Bakteri endofit menghasilkan metabolit yang memiliki aktivitas antibakteri, antifungi dan antinematoda (nematisida). Antibiotik merupakan substansi kimia alamiah hasil metabolisme sekunder mikroorganisme, dalam konsentrasi rendah yang mempunyai kemampuan baik menghambat pertumbuhan maupun membunuh mikroorganisme lain yang mengancam keberadaannya (Lay, 1994).

Isolat bakteri endofit indigenos tidak menghasilkan metabolit sekunder hidrogen sianida yang umumnya dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* dan juga oleh kelompok *Pseudomonas* lain yang bersifat toksik terhadap patogen tanaman (Widodo *et al.*, 1993). Semua isolat bakteri endofit indigenos tidak memproduksi ammonia yang mengindikasikan bahwa bakteri endofit indigenos tidak mereduksi nitrat yang akan menghasilkan amonium (NH_4^+) sebagai salah satu unsur penyusun hormon IAA (Salisbury dan Ross, 1995). Hasil negatif pada pengujian hemolisis dapat diketahui bahwa isolat bakteri endofit indigenos aman digunakan sebagai agens biokontrol yang mengindikasikan aktifitas patogenesis negatif pada manusia.

Kesimpulan

Mekanisme biokontrol isolat bakteri endofit yang ditunjukkan terhadap *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* yaitu produksi biosurfaktan dengan viskositas berbeda, protease, siderofor, dan katalase. Semua isolat tidak memproduksi HCN, ammonia dan hemolisin. Produksi antibiotik untuk mekanisme biokontrol isolat bakteri endofit indigenos terhadap *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* ditunjukkan oleh 8 isolat bakteri endofit indigenos.

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini didanai dari Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Melalui DIPA Unand Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penugasan hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT) No. Kontrak: 050/SP2H/LT/DRPM/2018, Tanggal: 30 Januari 2018.

Daftar Pustaka

Basu, A. 2014. Bio-efficacy of *Pseudomonas flourescens* (7% WP and 5% SC formulations) against bacterial wilt disease of chili. *Asia Pacific Journal of Sustainable Agriculture, Food and Energy*, 2(2): 36-40.

- Berg G., Krechel A., Ditz M., Sikora R.A., Ulrich A., Hallmann J., 2005. Endophytic and Ectophytic Potato-associated Bacterial Communities Differ in Structure and Antagonistic Function Against Plant Pathogenic Fungi. *FEMS Microbiol Ecol.* 51(2):215-229.
- Cappuccino, J.G., 1983. *Microbiology: A laboratory Manual.* Addison-Wesley, USA.
- Hallmann, J.A., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W.F., Kloeper, J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43: 895-914
- Hartman, G.L., Ephinstone. 1994. Advances in The Control of *Pseudomonas solanacearum* Race 1 in Major Food Crops. Di dalam: Hayward AC, Hartman GR, editors. *Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative Agent, Pseudomonas solanacearum.* Wallingford [UK]: Cab International. hlm 157-169.
- Jain, D.K., Thomson, D.K., Lee, H., Trevors, J.T. 1991. A Drop-Collapsing Technique Test for Screening Surfactant Producing Microorganisms. *J Microbiol Methods* 13: 271-279.
- Kumar, A., Devi, S., Pati, S., Payal, C., Negi, S. 2012. Isolation, screening and characterization of bacteria from rhizosperic soils for different plant growthpromoting (PGP) activities: an in vitro study. *Recent Research in Science and Technology*, 4(1): 1-5.
- Lay, B. 1994. *Analisis Mikrobia di Laboratorium.* Jakarta. PT. Grafindi Persada.
- Marwan, H., Sinaga, M.S., Giyanto., Nawangsih A.A., 2011. Isolasi dan Seleksi Bakteri Endofit untuk Mengendalikan Penyakit Darah pada Tanaman Pisang. *Jurnal HPT Tropika* 11(2): 113-121.
- Mulya K., Watanabe M., Goto M., Takikawa Y., dan Tsuyusumu S. 1996. Suppression of Bacterial wilt Disease in Tomato by Root Dipping with *Pseudomonas fluorescens* PfG32: The role of antibiotic substances and siderophore production. *Ann. Phytopathol. Soc. Jap.*
- Munif A., 2003. Peranan Mikroba Endofit Sebagai Agens Hayati Dalam Mendukung Pembangunan Pertanian Berkelanjutan. Seminar Nasional dan Gelar Produk Bidang Ilmu Hayati, Bogor, 4 September 2003.
- Rajendran, L., Saravanakumar, D., Ragunchander, T., Samiyappan, R. 2006. Endophytic Bacterial Induction of Defence Enzymes Againts Bacterial Blight of Cotton. Department of Plant Pathology, Centre for Plant Protection Studies, Tamil Nadu Agriculture University, Coimbatore 641003, Tamil Nadu, India.
- Safni, I., Cleenwerck, I., De Vos, P., Fegan, M., Sly, L., Kappler, U. 2014. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *R. syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* subsp. nov., *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *R. solanacearum* phylotype I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. *Internasional journal of systemic and evolutionary microbiology*, 64(9): 3087-3103.

- Salisbury, F.B., Ross, C.W. 1995. Fisiologi Tumbuhan Jilid III. Bandung: ITB.
- Sigee, D.C. 1993. Bacterial Plant Pathology: Cell and Molecular Aspect. Manchester (UK): Cambridge University Press.
- Vanitha SC, Niranjana SR, Mortensen CN, Umesha S. 2009. Bacterial wilt of tomato in Karnataka and its management by *Pseudomonas fluorescens*. *Biocontrol* 54 (5): 685-695.
- Widjayanti, T. 2012. Pengaruh Varietas Kedelai, Mulsa Jerami dan Aplikasi PGPR Terhadap Penyakit Pustul Bakteri dan Kelimpahan Bakteri Rizosfer. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Widodo, M.S., Sinaga, I., Anas., Machmud, M. 1993. Penggunaan *Pseudomonas* spp. kelompok Fluoresen untuk Pengendalian Penyakit Akar Gada (*Plasmodiophora brassicae* Wor.) pada Caisin (*Brassica campestris* L. Var. *Chinensis* (Rupr.) Olson). *Bull. HPT* 62: 94-105.
- Yanti Y., dan Resti Z., 2010. Pengimbasan Ketahanan Tanaman bawang Merah dengan Bakteri Rizoplan Indigenus Terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv *allii*). Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Organisme Pengganggu Ramah Lingkungan, Purwokerto, 10-11 November 2010.
- Yanti, Y., Habazar, T., Resti, Z., Suhailita, D. 2013. Penapisan Isolat Rhizobakteri dari Perakaran Tanaman Kedelai yang Sehat Untuk Pengendalian Penyakit Pustul Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*). *Jurnal HPT Tropika* 13 (1): 24 – 34
- Yanti, Y., Warnita., Reflin., Nasution, C.R. 2018. Characterizations of endophytic *Bacillus* strains from tomato roots as growth promoter and biocontrol of *Ralstonia solanacearum*. *Jurnal Biodiversitas* 19(3): 906-911