

PEMANFAATAN BAKTERI ENDOFIT PADA PISANG UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT DARAH: ISOLASI, UJI PENGHAMBATAN *IN VITRO* DAN *IN PLANTA*

Abdjad Asih Nawangsih¹⁾

ABSTRACT

THE USE OF ENDOPHYTIC BACTERIA FROM BANANA TO CONTROL BLOOD DISEASE: ISOLATION, INHIBITION TEST IN VITRO AND IN PLANTA

Blood disease caused by blood disease bacterium is one of the important diseases of banana in Indonesia. Disease control using resistant varieties was difficult to be practiced because the pathogen can attack all varieties of banana. Sanitation and eradication has been done by farmers but the disease still occurred in the field with high incidence. Application of some rhizosphere bacteria failed to control the disease in the field. An alternative for disease control is the use of endophytic bacteria with the same niche of the pathogen. This experiment was conducted to isolate one or more endophytic bacteria from banana as candidate of the biocontrol agents, to investigate the potential suppression of the biocontrol agents to the blood disease bacterium *in vitro*, and to the disease incidence *in planta*. The endophytic bacteria were isolated from banana stem of healthy plant from an infected field. The isolates of the bacteria were investigated of their suppression to blood disease bacterium by antibiosis mechanism in King's B agar and their competitiveness in King's B liquid. From this experiment, one isolate (CA8) was found to produce inhibition zone and two isolates (CA8 and PK5) suppressed the population of blood disease bacterium relatively higher than the other thirteen isolates. The diameter of inhibition zone produced by isolate CA8 was up to 10 mm. The population of blood disease bacterium at 24 h after the application of isolate CA8 and PK5 were 4×10^6 cfu/ml and 7×10^6 cfu/ml respectively, while in control (sterilized distilled water) the population was up to 9×10^{10} cfu/ml. The experiment *in planta* is still in progress and the symptom is not appear yet after application of the biocontrol agents. Based on the fisiological characteristics, the isolate CA8 and PK5 were identified as genus *Bacillus* and *Pseudomonas*, respectively.

Keyword: *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., endophytic bacteria, blood disease bacterium, banana

ABSTRAK

Penyakit darah yang disebabkan oleh bakteri penyakit darah (*blood disease bacterium*) merupakan salah satu penyakit penting pada pisang di Indonesia. Pengendalian penyakit menggunakan varietas tahan sulit dilaksanakan karena patogen dapat menyerang semua varietas pisang. Sanitasi dan eradikasi telah dilakukan oleh petani tetapi penyakit masih dapat ditemukan di lapangan dengan kejadian penyakit yang tinggi. Aplikasi beberapa bakteri rizosfer gagal mengendalikan penyakit ini di lapangan. Alternatif lain untuk pengendalian penyakit ini adalah menggunakan bakteri endofit yang memiliki relung hidup yang sama dengan patogen. Penelitian ini dilaksanakan untuk meng-

isolasi satu atau lebih bakteri endofit dari pisang sebagai calon agens biokontrol, untuk menguji kemampuan penghambatan agens biokontrol terhadap bakteri penyakit darah secara *in vitro* dan terhadap kejadian penyakit secara *in planta*. Bakteri endofit diisolasi dari batang pisang sehat dari pertanaman yang terinfeksi. Isolat-isolat bakteri diuji kemampuan penghambatannya terhadap bakteri penyakit darah melalui mekanisme antibiosis pada media agar-agar King B dan kemampuan berkompetisi dalam media cair King B. Dari penelitian ini diperoleh satu isolat (CA8) yang menghasilkan zone hambatan dengan diameter mencapai 10 mm dan dua isolat (CA8 dan PK5) yang menghasilkan penekanan terhadap populasi bakteri penyalit darah relatif paling tinggi dibandingkan dengan 13 isolat lainnya. Populasi bakteri penyakit darah pada penghitungan 24 jam setelah aplikasi isolat CA8 dan PK5 berturut-turut adalah 4×10^6 cfu/ml dan 7×10^6 cfu/ml, sedangkan pada kontrol (akuades steril)

¹⁾ Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB. Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680. Telp. 0251-629362. Email: hpt@ipb.ac.id

Isolasi bakteri endofit dengan metode pencawanan

Untuk mendapatkan bakteri endofit dari tanaman pisang sebagai kandidat agens biokontrol, dilakukan isolasi bakteri dari batang pisang dengan metode pencawanan (*plating*). Tanaman pisang yang dijadikan sumber bakteri endofit adalah sejumlah tanaman sehat yang berasal dari pertanaman yang terserang parah oleh BDB dari daerah Jonggol, Pelabuhan Ratu, dan Pandeglang, Provinsi Jawa Barat. Batang tanaman (bongkol) dan akar dipisahkan. Selanjutnya dilakukan sterilisasi permukaan dan isolasi bakteri menggunakan metode yang dikemukakan oleh Zinniel *et al.* (2002) dengan beberapa modifikasi. Potongan batang pisang dengan tebal kurang lebih 10 cm atau akar dicuci bersih kemudian permukaannya disterilkan dengan cara merendam potongan batang atau akar dalam larutan NaOCl 2% yang mengandung 0,1% Tween 20 selama 10 detik. Batang atau akar kemudian dicuci dua kali dengan akuades steril dan dikeringkan dengan kertas tisu steril. Batang yang sudah steril permukaannya tersebut dibuat potongan-potongan kecil menggunakan pelubang gabus (*cork borer*) berdiameter 1 cm dengan panjang potongan kurang lebih 5 cm. Potongan batang atau akar digerus menggunakan mortar steril. Batang atau akar yang sudah halus kemudian diencerkan secara berseri menggunakan 12,5 mM bufer fosfat (pH 7,1). Sebanyak 100 μ l suspensi dari setiap pengenceran disebarkan secara merata pada media *nutrien-broth yeast extract agar* (NBYA) dalam cawan petri berdiameter 9 cm. Setelah diinkubasikan pada suhu ruang (kurang lebih 28°C) selama 24–48 jam, koloni bakteri yang tumbuh dipisahkan satu sama lain pada media agar yang baru sehingga diperoleh isolat murni (hanya satu jenis bakteri setiap cawan petri). Setiap isolat murni bakteri endofit yang diperoleh diuji reaksi hipersensitifnya terhadap tembakau (HR). Isolat yang menimbulkan reaksi HR negatif kemudian disimpan dalam akuades steril untuk jangka pendek (satu bulan) dan untuk pengujian selanjutnya sedangkan untuk jangka panjang bakteri disimpan dalam larutan gliserol 20% pada suhu -70 °C.

Uji kemampuan penghambatan bakteri endofit terhadap BDB *in vitro* dengan metode *dual culture*

Untuk mengetahui kemampuan penghambatan bakteri endofit terhadap bakteri penyebab penyakit darah secara *in vitro*, dilakukan pengujian kemampuan penghambatan bakteri endofit terhadap bakteri penyebab BDB pada media agar dan media cair dengan metode *dual culture*. Uji kemampuan penghambatan oleh kandidat agens biokontrol terhadap BDB dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama dilakukan pada media padat agar-agar King B (KBA) untuk mendeteksi pembentukan zone hambatan. Tahap kedua dilakukan setelah tahap pertama terhadap bakteri yang tidak menghasilkan zone hambatan. Pada tahap ini digunakan media kaldu King B (KBB). Teknik pengujian dilakukan berdasarkan metode yang dikemukakan oleh Nawangsih *et al.* (2005). Isolat BDB yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB. Biakan bakteri endofit pada media NBYA yang berumur 24–48 jam masing-masing disuspensikan dalam akuades steril dan kerapatannya diupayakan 10^8 - 10^9 cfu/ml. Media KBA steril sebanyak 9 ml dalam tabung reaksi dipanaskan hingga mencair dan setelah suhunya kira-kira 45–50°C ditambahkan 1 ml suspensi BDB dengan kerapatan 10^8 - 10^9 cfu/ml, dicampur hingga merata menggunakan vorteks dan kemudian dituang ke dalam cawan petri steril. Setelah media yang mengandung BDB tersebut memadat, selanjutnya satu potongan kertas saring steril dengan diameter 8 mm yang sudah dicelupkan ke dalam suspensi bakteri endofit diletakkan di tengah permukaan agar-agar. Sebagai kontrol, potongan kertas saring dicelupkan ke dalam akuades steril. Setiap isolat bakteri endofit diuji sebanyak tiga kali dan diameter zone hambatan diukur setelah diinkubasikan pada suhu ruang selama 3–4 hari.

Untuk bakteri endofit yang tidak menghasilkan zone hambatan, pengujian kemampuan antagonisme dilakukan dengan menumbuhkan setiap isolat bakteri endofit bersama-sama dengan BDB dalam media cair King B (KBB) 10%. Isolat BDB yang digunakan dalam

populasinya mencapai 9×10^{10} cfu/ml. Percobaan pada tanaman masih berlangsung dan gejala belum muncul setelah aplikasi agens biokontrol. Berdasarkan ciri fisiologi, isolat CA8 dan PK5 berturut-turut diidentifikasi sebagai genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*.

Kata kunci: *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., bakteri endofit, blood disease bacterium, pisang

PENDAHULUAN

Pisang merupakan tanaman yang banyak ditanam di Indonesia, dan buahnya banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Saat ini pisang dijadikan buah unggulan nasional dan upaya untuk meningkatkan hasil serta mutu terus dilakukan. Salah satu kendala yang dihadapi dalam budi daya pisang adalah adanya penyakit layu bakteri yang disebut sebagai penyakit darah (BDB, *blood disease*).

Pada bulan Agustus 2006 dilaporkan sebanyak 24.000 hingga 30.000 rumpun pisang pada lahan seluas 60 ha di Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan, mati karena penyakit ini. Serangan tersebut sudah digolongkan sangat berat dengan persentase sebesar 24 hingga 37,5% (Kompas 2006).

Berbagai upaya pengendalian telah dilakukan, antara lain melalui sanitasi dengan cara mengangkat bonggol yang sakit dan aplikasi herbisida untuk membunuh tanaman yang terserang (Supriadi 2005). Akan tetapi sejauh ini cara pengendalian tersebut masih belum efektif. Apabila serangan sangat luas, penggunaan herbisida mungkin dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. Pengendalian dengan varietas tampaknya belum dapat dilaksanakan karena semua varietas terserang oleh patogen ini (Hanudin *et al.* 1993). Pengendalian lain yang saat ini banyak diteliti adalah pemanfaatan agens biokontrol. Di laboratorium dan di rumah kaca umumnya agens biokontrol tersebut menunjukkan hasil yang bagus, tetapi setelah diaplikasikan di lapangan hasilnya tidak konsisten. Faktor utama yang mungkin menjadi kendala dalam aplikasi di lapangan adalah perbedaan relung (*niche*) antara patogen dan agens biokontrol.

Agar agens biokontrol dapat melakukan aktivitasnya secara optimum maka dia harus dapat mengatasi pengaruh yang kompleks dari faktor luar yang ada di

lingkungan rizosfer serta memiliki relung yang sama dengan patogen. Kelompok mikroorganisme yang memenuhi syarat tersebut adalah kelompok mikroorganisme endofit atau patogen yang avirulen. Oleh karena itu penelitian ini penting dilakukan dalam rangka mencari agens biokontrol yang memiliki relung yang sama dengan patogen. Bakteri yang bersifat endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan bahaya atau bakteri yang bermanfaat. Bakteri dapat diisolasi dari jaringan tanaman yang sudah disterilkan permukaannya atau diekstraksi dari jaringan tanaman bagian dalam. Bakteri endofit mengkolonisasi relung ekologi yang sama dengan patogen tetapi tidak menimbulkan kerusakan pada inangnya (Reiter *et al.* 2002).

Reiter *et al.* (2002) menyatakan bahwa bakteri endofit dapat menjadi sumber galur biokontrol yang menjanjikan dan manfaatnya lebih menjanjikan dibandingkan dengan bakteri rizosfer karena kurangnya kompetisi dengan bakteri lain dalam apoplas. Menurut Hallmann *et al.* (2000) agens biokontrol dari kelompok bakteri endofit dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu (1) galur yang secara ekstensif mengkolonisasi bagian dalam jaringan tanaman dan menekan perkembangan patogen melalui penempatan relung, antibiosis atau keduanya, dan (2) galur yang pada awalnya mengkolonisasi jaringan korteks akar dan merangsang pertahanan tanaman atau mekanisme resistensi secara umum.

Tujuan penelitian ini adalah (1) mendapatkan bakteri endofit dari tanaman pisang sebagai kandidat agens biokontrol, (2) mengukur kemampuan penghambatan bakteri endofit terhadap bakteri penyebab penyakit darah secara *in vitro*, dan (3) mengevaluasi kemampuan bakteri endofit kandidat agens biokontrol dalam menekan penyakit darah *in planta*.

METODE

Tempat dan waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB dan di rumah kaca Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB. Penelitian berlangsung dari bulan Mei hingga November 2006.

percobaan ini adalah bakteri yang resisten secara spontan terhadap rifampisin 100 µg/ml. Suspensi BDB dan bakteri endofit yang masing-masing mempunyai kerapatan 10^5 – 10^6 cfu/ml diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 50 ml KBB 10%. Sebagai kontrol, ke dalam erlenmeyer ditambahkan 1 ml suspensi patogen dan 1 ml akuades steril. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang dan digoyang menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm/ menit. Pencawan dilakukan secara duplo pada media King B 10% yang mengandung rifampisin 100 µg/ml. Penghitungan populasi BDB dilakukan 24 jam setelah inokulasi.

Bakteri endofit yang menghasilkan zona hambatan dan/atau memiliki kemampuan penekanan terhadap populasi BDB pada media cair paling besar selanjutnya diidentifikasi di Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB. Identifikasi dilakukan menggunakan acuan Klement *et al.* (1990) dan Schaad *et al.* (2001).

Uji kemampuan penghambatan terhadap BDB *in planta*

Satu isolat bakteri yang menghasilkan zone hambatan paling besar dan satu isolat bakteri yang paling tinggi kemampuannya menekan populasi BDB dalam media cair selanjutnya diuji kemampuannya dalam menekan perkembangan BDB pada tanaman pisang di rumah kaca. Sebagai pembanding digunakan juga 2 isolat bakteri koleksi Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman IPB. Tanaman yang digunakan adalah tanaman pisang kepok hasil perbanyakan dengan kultur jaringan yang sudah mengalami masa aklimatisasi. Tanaman diperoleh dari Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Tanaman pisang (bibit) sebelum dipindahkan dari media aklimatisasi akarnya direndam dalam suspensi bakteri endofit (10^8 – 10^9 cfu/ml) selama lebih kurang 14 jam. Bibit kemudian ditanam dalam *polybag* berisi tanah yang sudah terinfeksi BDB (10^5 – 10^6 cfu/g). Rancangan percobaan yang digunakan adalah Acak Kelompok dengan tiga ulangan. Perlakuan terdiri atas 4 jenis bakteri endofit ditambah 1 kontrol tanpa agens biokontrol tetapi dengan patogen (BDB) dan 1 kontrol tanpa bakteri

endofit maupun patogen. Setiap unit perlakuan terdiri atas 5 tanaman. Pengamatan terhadap kejadian penyakit dilakukan setiap tiga hari. Kejadian penyakit (P) dihitung menggunakan rumus:

$$P = \frac{\text{Jumlah tanaman terserang}}{\text{Jumlah tanaman contoh}} \times 100\%$$

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program SAS dan untuk membandingkan pengaruh antar-perlakuan dilakukan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat bakteri endofit

Dari hasil isolasi bakteri endofit diperoleh 50 isolat yang terdiri atas 20 isolat asal Pasir Kuda, Bogor (PK), 17 isolat asal Cugenang, Cianjur (CA), dan 13 isolat asal Cariu, Jonggol (JG). Setelah diremajakan dengan menumbuhkan pada media yang baru ternyata ada 12 isolat yang tidak dapat tumbuh, yaitu enam isolat PK, dua isolat CA, dan 4 isolat JG.

Reaksi hipersensitivitas (HR)

Berdasarkan hasil pengujian terhadap sifat HR ternyata terdapat 8 isolat yang menghasilkan reaksi HR positif, yaitu isolat PK7, PK10, PK12, PK19, CA10, JG7, dan JG11. Isolat tersebut selanjutnya tidak digunakan sebagai calon agens biokontrol. Hasil pengujian sifat HR positif terlihat pada Gambar 1.

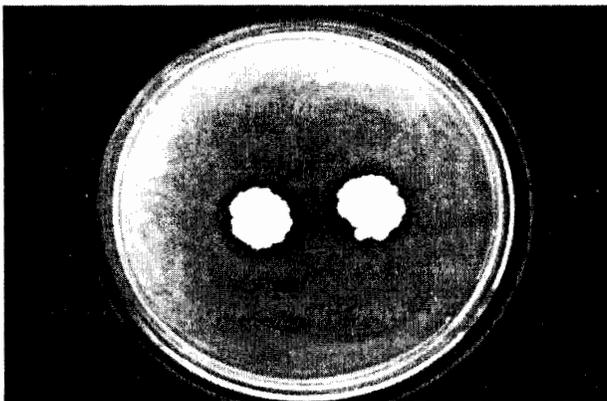


Gambar 1 Hasil pengujian reaksi hipersensitif pada daun tembakau. Tanda panah menunjukkan hasil positif

Setelah dilakukan isolasi bakteri dari tanaman biasanya sulit untuk membedakan antara koloni bakteri yang bersifat patogen atau saprofit pada media agar-agar. Untuk memisahkan bakteri yang bersifat patogen, pengujian pada daun tembakau (HR) merupakan cara yang paling baik dan paling cepat. Beberapa, tetapi tidak semua, bakteri patogen dapat menginduksi reaksi hipersensitif pada daun tembakau atau tanaman bukan inang lainnya (Klement *et al.* 1990).

Uji penghambatan bakteri endofit pada media agar

Kemampuan bakteri endofit dalam menghambat BDB diuji menggunakan media agar-agar King B. Berdasarkan hasil pengujian ternyata hanya satu isolat yang menghasilkan zone hambatan, yaitu isolat CA8 dengan diameter zone hambatan kurang lebih 10 mm (Gambar 2). Uji penghambatan pada media agar-agar dapat dilakukan apabila agens biokontrol menghambat patogen melalui mekanisme antibiosis. Zone hambatan berupa zone bening terbentuk di sekeliling koloni agens biokontrol. Daerah tersebut tidak ditumbuhi oleh patogen karena adanya senyawa antibiotik, yang bersifat menghambat atau membunuh patogen, yang dihasilkan oleh agens biokontrol.



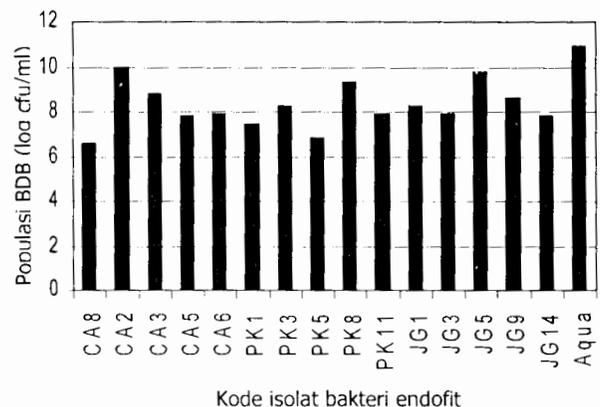
Gambar 2 Pembentukan zone hambatan (area bening) di sekeliling isolat CA8 pada medium agar-agar King B

Beberapa senyawa penghambat yang dihasilkan oleh agens biokontrol antara lain adalah amonia, butirolakton, kitinase, β -1,3-glukanase (Whipps 2001) dan 2,4- diasetilfloroglusinol (Keel *et al.* 1992; Raaijmakers *et al.* 1999; Whipps 2001). Dalam

penelitian ini senyawa yang dihasilkan oleh isolat CA8 belum dapat diidentifikasi lebih lanjut.

Uji penghambatan bakteri endofit pada media cair

Isolat-isolat bakteri endofit yang tidak menghasilkan zone hambatan pada media agar-agar selanjutnya diuji kemampuan penghambatannya terhadap BDB pada media cair King B (KBB). Hasil pengujian pada media ini menunjukkan bahwa isolat CA8 yang menghasilkan zone hambatan pada media agar ternyata menghasilkan penekanan terhadap populasi BDB paling tinggi juga. Selain CA8, isolat lain yang tidak menghasilkan zone hambatan pada media agar tetapi memberikan penekanan terhadap populasi BDB paling tinggi ialah isolat PK5 (Gambar 3). Populasi BDB pada perlakuan kontrol dengan pemberian akuades steril setelah 24 jam mencapai 9×10^{10} cfu/ml sedangkan pada perlakuan dengan penambahan agens biokontrol isolat CA8 dan PK5 berturut-turut adalah 4×10^6 cfu/ml dan 7×10^6 cfu/ml.



Gambar 3 Pengaruh bakteri endofit pada pisang terhadap populasi BDB yang ditumbuhkan dalam medium cair King B

Isolat bakteri yang tidak menghasilkan zone hambatan pada media agar-agar mungkin dapat menghambat patogen melalui mekanisme kompetisi. Kompetisi dapat terjadi antara patogen dan agens biokontrol dalam mendapatkan nutrisi atau ruang. Salah satu contoh mekanisme penghambatan patogen oleh agens biokontrol melalui kompetisi adalah produksi siderofor.

Siderofor merupakan senyawa pengkelat besi (Fe^{+3}) yang disekresikan oleh mikroorganisme dan tanaman kelompok rumput-rumputan (Graminae) sebagai tanggapan terhadap kekurangan besi (Crowley 2001). Selain berperan langsung dalam menekan penyakit, siderofor juga dapat menginduksi ketahanan tanaman (Leeman *et al.* 1996). Mikroorganisme yang menghasilkan siderofor antara lain ialah *Pseudomonas* kelompok fluorescence dan *Bacillus subtilis*.

Pengaruh bakteri endofit terhadap kejadian penyakit darah pada tanaman pisang (uji penghambatan *in planta*)

Kemampuan agens biokontrol dalam menekan kejadian penyakit pada tanaman pisang diuji di rumah kaca. Isolat yang diuji ialah CA8 dan PK5 (dari percobaan ini), serta *B. cereus* L32 dan *P. fluorescens* ES32 (koleksi Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman-IPB). Data hasil perlakuan saat ini belum dapat disajikan karena tanaman belum menunjukkan gejala layu setelah satu minggu perlakuan.

Identifikasi bakteri endofit

Identifikasi berdasarkan beberapa ciri fisiologi terhadap isolat CA8 menunjukkan bahwa isolat tersebut termasuk genus *Bacillus*. Ciri isolat tersebut adalah Gram positif, spora terletak di tengah sel dan berbentuk oval, sel bakteri tidak membengkak, dan reaksi HR negatif. Sementara itu, isolat PK5 termasuk genus *Pseudomonas* dengan ciri: Gram negatif, menghasilkan senyawa berfluoresensi pada medium King B, tidak membentuk spora, dan reaksi HR negatif.

KESIMPULAN

Dari 50 isolat yang berhasil diisolasi dari batang pisang hanya satu isolat yang menghasilkan zona hambatan. Salah satu isolat yang tidak menghasilkan zona hambatan pada media agar, yaitu isolat PK5, ternyata mampu menekan populasi BDB pada media cair relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol maupun isolat lainnya. Isolat bakteri yang menghasilkan zona hambatan (CA8) diidentifikasi sebagai *Bacillus* dan isolat PK5 sebagai *Pseudomonas*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dr. Ir. Sobir, MSc sebagai Kepala Pusat Penelitian Buah-buahan Tropika, IPB atas saran dan fasilitas yang diberikan sejak penyusunan proposal hingga pelaksanaan penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Institut Pertanian Bogor atas hibah Penelitian Dosen Muda sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Crowley D. 2001. Function of siderophores in the plant rhizosphere. Di dalam: Pinton R, Varanini Z, Nannipieri P. Editor. *The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-plant Interface*. New York: Marcel Dekker. hlm. 223-261.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Miller WG, Sikora RA, Lindow SE. 2000. Endophytic colonization of plants by the biocontrol agent *Rhizobium etli* G12 in relation to *Meloidogyne incognita* infection. *Phytopathology* 91:415-422.
- Hanudin, Tjahjono B, Sugiharso. 1993. Uji resistensi varietas pisang terhadap bakteri layu. *Jurnal Hortikultura* 3:37-42.
- Jagadeesh KS, Kulkarni JH, Krishnaraj PU. 2001. Evaluation of the role of fluorescent siderophore in the biological control of bacterial wilt in tomato using Tn5 mutants of fluorescent *Pseudomonas* sp. *Current Science* 81:882-883.
- Keel C, Schneider U, Maurhofer M, Voisard C, Laville J, Burger U, Wirthner P, Haas D, Defago G. 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Mol Plant-Microbe Interact* 5:4-13.
- Klement Z, Rudolph K, Sands DC. 1990. Methods in Phytobacteriology. Budapest: Akademiai Kiado.
- Kompas. 2006. 60 Hektar lahan pisang di Banjar hancur. *Kompas* 2006:22.
- Leeman M, den Ouden FM, van Pelt JA, Dirx FPM, Steilj H, Bakker PAHM, Schippers B. 1996. Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 86:149-155.
- Nawangsih AA, Kanehashi K, Tjahjono B, Sinaga MS, Suwanto A, Wattimena GA, Negishi H, Suyama K

2005. Biological control of tomato bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*, by *Bacillus* sp. L32. *J ISSAAS* 2:91-102.
- Raaijmakers JM, Bonsall RF, Weller DM. 1999. Effects of population density of *Pseudomonas fluorescens* on production of 2,4-diacetylphloroglucinol in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology* 89:470-475.
- Reiter B, Pfeifer U, Schwab H, Sessitsch A. 2002. Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Appl Environ Microbiol* 68:2261-2268.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. Edisi ke-3. St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Supriadi. 2005. Present status of blood disease in Indonesia. Di dalam: Allen C, Prior P, Hayward AC. Editor. *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. Minnesota: APS Press. hlm. 395-404.
- Zinniel DK, Lambrecht P, Harris NB, Feng Z, Kuzmarski D, Higley P, Ishimaru CA, Arunakumari A, Barletta RG, Vidaver AK. 2002. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Appl Environ Microbiol* 68:2198-2208.
- Whipps JM. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J Exp Botany* 52:487-511. http://jxb.oupjournals.org/cgi/content/full/52/suppl_1/487 [3 Mar 2005].