

SKRINING DAN IDENTIFIKASI ISOLAT BAKTERI ENDOFIT UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT HAWAR DAUN BAKTERI PADA BAWANG MERAH

Zurai Resti¹, Trimurti Habazar², Deddi Prima Putra³, & Nasrun⁴

¹Mahasiswa Pascasarjana Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat
Jl. Alang Lawas IV No. 33 Padang 25211

²Dosen Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat

³Dosen Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat

⁴Peneliti pada Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Laing Solok, Sumatera Barat
E-mail: zures_01@yahoo.com

ABSTRACT

Screening and identification of endophytic bacteria to control bacterial leaf blight disease on Shallot. The experiment was conducted in Laboratory and Green House, from January to June 2012. Laboratory experiment consisted of three steps: (1) isolation of endophytic bacteria from healthy onion roots, (2) *In planta* /screening of endophytic isolates capable of reducing bacterial leaf blight disease, and (3) molecular identification of potential endophytic isolates. Treatments of *in planta* test were arranged in Completely Randomized Design. Collected isolates were tested for their capability in controlling bacterial leaf blight disease on shallot. The variables observed were disease incidence, disease severity, and shallot yield. The results showed that out of 82 isolates successfully isolated, 56 isolates (68.29%) were Gram positive, and 26 isolate (31.71%) were Gram negative. All isolates were HR negative and pathogenicity negative. Six endophytic isolates showed better performance in inducing resistance and increasing onion yield. Based on 16S rRNA sequence the six isolates were *Bacillus cereus* strain P14 , *Bacillus cereus* strain Se07, *Bacillus sp* H1, *Bacillus sp* SJ1 and *Serratia marcescens* strain PPM4.

Key words: bacterial leaf blight, endophytic bacteria, *Xanthomonas axonopodis* pv *allii*, incidence, severity

ABSTRAK

Skrining dan identifikasi isolat bakteri endofit untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri pada bawang merah. Penelitian dilakukan di Laboratorium dan Rumah Kawat. Tahapan penelitian adalah (1) Isolasi bakteri endofit dari akar bawang yang sehat, disekitar tanaman sakit pada daerah endemik Hawar Daun Bakteri (HDB). (2) Seleksi isolat endofit yang memiliki kemampuan untuk mengendalikan penyakit HDB secara *in planta*, dan (3) Identifikasi isolat endofit terpilih secara molekular. Uji *in planta* untuk kemampuan induksi menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), parameter yang diamati adalah persentase serangan, intensitas serangan, dan berat umbi. Hasil penelitian diperoleh 82 isolat bakteri endofit, 56 isolat (68,29%) adalah Gram positif, dan 26 isolat (31,71%) adalah Gram negatif. Semua isolat HR negatif dan patogenisitas negatif. Enam isolat endofit memiliki kemampuan yang lebih baik untuk menginduksi ketahanan bawang merah terhadap HDB dan meningkatkan berat umbi bawang. Berdasarkan identifikasi molekular dengan 16S rRNA, enam isolat tersebut memiliki kemiripan dengan *Bacillus cereus* P14, *Bacillus cereus* Se07, *Basillus sp* H1, *Bacillus sp* SJ1 dan *Serratia marcescens* PPM4 .

Kata kunci: hawar daun bakteri, bakteri endofit, *Xanthomonas axonopodis* pv *allii*, kejadian, keparahan

PENDAHULUAN

Tanaman bawang merah merupakan komoditas unggulan Nasional, sehingga berbagai program dan kegiatan dilakukan untuk meningkatkan produksinya. Produktivitas bawang merah Nasional tahun 2009, 2010, dan 2011 berturut-turut sebanyak 9,28 ton/ha, 9,57 ton/ha, dan 9,54 ton/ha (BPS, 2013). Produktivitas bawang merah ini masih tergolong rendah, dibandingkan potensi

produksi optimum bawang merah yang dapat mencapai 16 ton/ha.

Salah satu penyebab rendahnya produktifitas bawang merah adalah serangan bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* (*Xaa*) penyebab penyakit hawar daun bakteri (HDB) seperti yang telah dilaporkan oleh Habazar *et al.* (2007). Hasil penelitian Resti *et al.* (2007) menyatakan bahwa penyakit hawar daun bakteri telah tersebar di daerah sentra produksi bawang merah di

Sumatera Barat. Persentase serangan mencapai 100% di Kab. Solok dan 39,62% di Kab. Agam. Menurut Schwartz & Gent (2006) kehilangan hasil (termasuk ukuran dan kualitas umbi) bisa mencapai 100%, terutama bila kondisi lingkungan mendukung.

Pengendalian penyakit HDB dapat dilakukan melalui rotasi tanaman dengan tanaman bukan inang, menggunakan varietas tahan (Paulraj & O'Garro, 1993), menggunakan benih sehat, sanitasi lahan, menghindari irigasi yang berlebihan. Pengendalian secara kimia menggunakan bakterisida (Schwartz & Gent, 2006). Induksi ketahanan menggunakan Acibenzolar-s-metil, dan menggunakan agen hayati *Pantoea agglomerans* galur C9-1 (Actigard 50 WP) (Schwartz & Gent, 2006). Hasil penelitian Habazar *et al.* (2007), menunjukkan bahwa rhizobakteria (RB) dari kelompok rhizosfir, rhizoplan dan endofit mampu menekan perkembangan penyakit HDB dan meningkatkan pertumbuhan tanaman bawang merah di rumah kaca dan dilapangan. Namun informasi rinci mengenai kemampuan bakteri endofit yang diintroduksi pada bawang merah dalam mengendalikan HDB masih terbatas.

Bakteri endofit dapat diisolasi dari bagian akar, batang, bunga, dan kotiledon. Bakteri dapat masuk melalui proses perkecambahan biji, akar-akar sekunder, stomata, atau melalui kerusakan yang terjadi pada daun. Di dalam jaringan tanaman bakteri berada di dalam sel, diruang antar sel, atau dalam jaringan pembuluh (Zinniel *et al.*, 2002). Bakteri endofit sebagai agen biokontrol memiliki kelebihan dibandingkan agen biokontrol lainnya karena keberadaannya dalam jaringan tanaman, membuatnya mempunyai kemampuan bertahan terhadap tekanan biotik dan abiotik (Hallmann *et al.*, 1997). Beberapa jenis bakteri endofit disamping sebagai agen biokontrol, juga sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, dan mengimunisasi ketahanan tanaman terhadap patogen seperti *Burkholderia* sp. Strain PsJN mampu memacu pertumbuhan tanaman anggur (*Vitis vinifera* L.) (Complant *et al.*, 2005). Informasi terbaru menyatakan bahwa Pseudomonad fluoresens yang bersifat endofit pada perakaran padi dan mampu memfiksasi Nitrogen (Centre for Microbial and Plant Genetics 2006).

Penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan penyakit HDB pada tanaman bawang merah informasinya masih terbatas. Penemuan isolat bakteri endofit yang cocok untuk perlakuan benih bawang merah dalam mengendalikan *Xaa* penyebab penyakit HDB merupakan sumbangan yang sangat berarti, dalam bidang pengendalian hayati, dan pengembangan produksi biopestisida di Indonesia. Tujuan dari penelitian ini adalah.

Mendapatkan dan melakukan identifikasi isolat-isolat bakteri endofit indigenus yang mampu mengendalikan penyakit HDB dan meningkatkan hasil bawang merah.

METODE PENELITIAN

Isolasi Bakteri Endofit. Sampel jaringan tanaman sehat diambil dari daerah endemik penyakit HDB di Kabupaten Solok, dan Kabupaten Agam (Sumatera Barat). Pengambilan sampel dilakukan dengan pemilihan kebun secara *purposive randomized sampling*, berdasarkan daerah sentra produksi bawang dan endemik penyakit hawar daun bakteri. Sampel yang diambil adalah akar beserta seluruh bagian tanaman sehat, dimasukkan ke dalam kantong kertas dan dibawa ke Laboratorium untuk diisolasi.

Bagian tanaman dicuci dengan akuades steril sebanyak dua kali. Sterilisasi permukaan dilakukan dengan menggunakan *etanol* 70% selama 5 menit, kemudian dicuci dengan akuades steril. Selanjutnya jaringan tanaman dihancurkan menggunakan lumpang dan mortal steril, kemudian dengan metode pengenceran suspensi bakteri (10^3 , 10^4) di biakkan dalam medium *Nutrien Agar* (NA), dan diinkubasi selama 48 jam. Isolat yang tumbuh diberi label dan dipindahkan dalam *vial Eppendorf* (vol 1 ml) berisi ekuades steril dan disimpan untuk pengujian berikutnya.

Semua isolat dimurnikan, kemudian dikarakterisasi morfologi, pengujian Gram menggunakan KOH 3% (Schaad & Stall, 2001), serta Reaksi Hipersensitif pada daun tembakau (Klement *et al.*, 1990). Isolat yang akan digunakan pada pengujian berikutnya adalah isolat yang bukan patogen yang ditandai dengan sifat HR yang (-).

Uji In planta. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan dan Rumah Kawat Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang, dari bulan Januari sampai Juni 2012. Pengujian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), perlakuan adalah 82 isolat bakteri endofit dengan 3 ulangan, dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%. Media tanam yang digunakan adalah campuran tanah dan pupuk kandang (2:1 v/v) yang disterilisasi terlebih dahulu menggunakan metoda *Tyndalisasi*. Benih yang digunakan adalah benih bawang merah Kultivar Medan (rentan terhadap HDB). Benih dipilih yang memiliki ukuran yang hampir sama, bersih, tidak cacat, dan warna merah cerah. Sebelum ditanam benih dipotong 1/3 bagian atas kemudian direndam dalam suspensi bakteri endofit dengan kepadatan inokulum 10^8 sel/ml selama 15 menit,

dikering anginkan, dan ditanam. Untuk kontrol benih direndam dengan akuades steril, dikeringanginkan kemudian ditanam dengan cara yang sama seperti pada perlakuan bakteri endofit.

Bakteri *Xaa* didapatkan dari koleksi Laboratorium Bakteriologi HPT, sebelum inokulasi isolat *Xaa* diremajakan pada medium *Nutrien Glukosa Agar* (NGA) dengan metode gores. Setelah tanaman berumur 14 hari dilakukan inokulasi patogen *Xaa*, dengan kerapatan inokulum 10^6 sel/ml. Inokulasi dilakukan dengan cara melukai permukaan daun bawang dengan jarum steril, kemudian suspensi *Xaa* dioleskan pada bagian yang dilukai tersebut dan tanaman disungkup dengan plastik bening. Tanaman diinkubasi selama ± 7 hari dan tiap hari diamati gejala yang muncul. Pemeliharaan meliputi pemupukan dengan menggunakan pupuk buatan, penyiraman gulma dan pengendalian hama dengan cara mekanik.

Peubah yang diamati adalah persentase daun terserang (%), dan intensitas daun terserang (%). Pengamatan hasil dengan mengukur berat basah dan berat kering tanaman. Pengamatan dimulai saat muncul gejala sampai panen dengan interval waktu tiga hari. Penghitungan berat basah dan berat kering umbi dilakukan setelah panen (umur 70 hari). Persentase serangan dihitung dengan rumus:

$$P = \frac{X}{Y} \times 100\%$$

dengan:

P= Persentase daun terserang,

X= Jumlah daun tanaman yang terserang,

Y= Jumlah daun yang diamati).

Intensitas serangan dihitung dengan rumus:

$$I = \frac{\sum(n_1 \times v_1)}{Z \times N} \times 100\%$$

dengan:

I = Intensitas penyakit,

n_1 = Jumlah daun dari tiap skala serangan,

v_1 = Nilai skala dari tiap skala serangan,

N = Jumlah daun yang diamati,

Z = Nilai skala serangan tertinggi.

Nilai skala yang dipakai ditampilkan pada Tabel 1. Efektivitas penggunaan isolat bakteri endofit dalam meningkatkan hasil umbi bawang merah dihitung dengan rumus berikut:

$$E = \frac{P - K}{K} \times 100\%$$

dengan:

E = efektivitas,

P = perlakuan,

K = kontrol.

Efektivitas isolat bakteri endofit dalam menekan penyakit hawar daun bakteri dihitung menggunakan rumus:

$$E = \frac{K - P}{K} \times 100\%$$

dengan:

E = efektivitas,

P = perlakuan,

K = kontrol.

Identifikasi Isolat Endofit. Identifikasi dilakukan terhadap enam isolat bakteri endofit indigenus terpilih yang potensial untuk mengendalikan penyakit HDB pada bawang merah. Isolasi dan pemurnian DNA bakteri endofit dilakukan menggunakan *Genomic DNA Mini Kit (Geneaid)*. DNA hasil isolasi selanjutnya diamplifikasi menggunakan pasangan primer 27F (5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3') dan primer 42R

Tabel 1. Skala serangan penyakit hawar daun bakteri pada daun bawang (Habazar et al., 2007)

Skala	Tingkat serangan	Kerusakan
0	Tidak gejala hawar	0 %
1	Gejala hawar sedikit sekali	>0 – 10%
2	Gejala hawar sedikit	>10 – 30%
3	Gejala hawar sedang	>30 – 50%
4	Gejala hawar berat	>50 – 70%
5	Gejala hawar berat sekali	>70%

(5' TACGGYTACCTTGTACGACTT 3'). Kondisi awal PCR diatur pada suhu 94 °C selama 5 menit, selanjutnya diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 94 °C selama 3 menit, penempelan primer (*annealing*) pada suhu 55 °C selama 1 menit dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 2 menit dan ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 10 menit. Hasil amplifikasi dielektroforesis menggunakan gel agarose 1% dalam buffer Tris Boric EDTA (TBE 0,5x) dan divisualisasi dibawah UV transilluminator. Hasil amplifikasi DNA menghasilkan pita berukuran ± 1300 bp.

Produk PCR yang diperoleh selanjutnya disekuensing di PT Eijmen Indonesia Jakarta. Kegiatan sekuensing menggunakan prinsip kerja Sanger *et al.* (1997). Sekuensing dilakukan secara *one read direction* (satu arah) menggunakan salah satu primer yang dipergunakan pada proses amplifikasi. Keenam isolat endofit terpilih disekuensing dengan primer 27 F dan 42 R. Data hasil sekuensing dicocokkan dengan data *Gene Bank NCBI* menggunakan *BLAST* pada <http://www.ncbi.nlm.nih.org>.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Endofit. Hasil isolasi bakteri endofit dari akar bawang merah sehat di daerah endemik HDB di Kabupaten Solok dan Kabupaten Agam diperoleh 82 isolat, 62 isolat diantaranya (75,61%) berasal dari Kab. Solok, sedangkan 20 isolat lainnya (24,39%) berasal dari Kab. Agam. Sebanyak 56 isolat (68,29%) Gram positif dan 26 isolat (31,70%) Gram negatif. Koloni dari isolat-isolat endofit tersebut memiliki morfologi dan warna yang berbeda-beda. Sifat fisiologinya berupa Gram dan reaksi hipersensitif ditampilkan pada Tabel 2. Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa bakteri endofit dapat diisolasi dari berbagai tanaman, seperti Zinniel *et al.* (2002), yang mengisolasi 853 isolat endofit dari 27 jenis tumbuhan dari padang rumput dan 4 jenis tanaman agronomi. Terdapat variasi yang signifikan dari isolat bakteri endofit dari berbagai tanaman tersebut. Satu species tanaman dapat menjadi inang bagi berbagai jenis bakteri endofit (Strobel *et al.*, 1993).

Di Kabupaten Solok lebih banyak isolat endofit yang dapat diisolasi karena memang sampel akar yang diperoleh lebih banyak dibandingkan dari Kabupaten Agam. Pada Kabupaten Agam sampel hanya didapatkan dari nagari Badorai Kecamatan Sungai pua, karena pada saat pengambilan sampel hanya pada Kecamatan tersebut dijumpai penanaman bawang merah yang

cukup intensif. Sedangkan di Kabupaten Solok terdapat lahan penanaman bawang merah yang cukup luas di beberapa Nagari di Kecamatan Danau Kembar dan Kecamatan Lembah Gumanti, sehingga didapatkan jumlah sampel yang lebih banyak. Menurut Zinniel *et al.* (2002), Keragaman isolat bakteri endofit indigenus dipengaruhi oleh spesifikasi inang, distribusi geografis, umur tanaman dan jenis tanaman inang.

Uji In planta. Pengujian *in planta* terhadap 82 isolat bakteri endofit dalam menekan serangan *Xaa* dapat dilihat pada Tabel 3. Tidak semua isolat mampu menekan serangan *Xaa*, ini ditunjukkan dengan rata-rata efektifitas penekanan penyakit yang nilainya negatif (tidak mampu menekan penyakit dibandingkan dengan kontrol). Beberapa isolat mampu menekan persentase serangan penyakit secara signifikan yaitu isolat BD4.2E1 dengan persentase 8,33%, intensitas 7,83, isolat PU2E2 dengan persentase 9,39%, intensitas 8,54%, isolat SN1E4 dengan persentase 9,72%, intensitas 9,00%. isolat JB1E3 dengan persentase 10,11%, intensitas 8,99%, dibandingkan kontrol dengan persentase 23,84% dan intensitas 21,93%. Efektifitas penekanan persentase serangan dan penekanan intensitas tertinggi pada isolat BD4.2E1 yaitu 65,05% untuk persentase serangan dan 64,30% untuk intensitas serangan dibandingkan kontrol. Isolat PU2E2 penekanan persentase serangan 60,61% penekanan intensitas 61,06%, isolat SN1E4 penekanan persentase serangan 59,59% penekanan intensitas 58,96% dan isolat JB1E3 penekanan persentase 57,59%, penekanan intensitas 59,01%.

Bakteri endofit dapat digunakan sebagai agen pengendali hayati yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok bakteri dari rhizospir karena tidak berkompetisi dalam hal nutrisi dan lingkungan mikro tempat hidupnya (Reiter *et al.*, 2002). Hasil pengujian 82 isolat endofit indigenus Sumatera Barat yang diintroduksikan pada benih bawang Kultivar Medan menunjukkan bahwa beberapa isolat endofit mampu menghambat perkembangan penyakit HDB dengan rata-rata kemampuan penekanan persentase penyakit tertinggi 60,06% (Tabel 3), yaitu pada isolat BD4.2E1. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kemampuan isolat endofit indigenus cukup tinggi untuk menurunkan serangan penyakit HDB di rumah kaca, dibandingkan beberapa hasil penelitian yang mengintroduksi beberapa jenis agen hayati, seperti penggunaan *Pseudomonas fluorescen* dapat menurunkan serangan Bean Common Mosaic Potyvirus (BCMV) pada kacang buncis dari 53% pada kontrol menjadi 10% (Kumar, 2005). Aplikasi formulasi komersil *Pantoea agglomerans* galur C9-1

Tabel 2. Keragaman sifat fisiologis isolat bakteri endofit indigenus yang diisolasi dari akar bawang merah di Kab. Agam dan Kab. Solok

No	Isolat	Asal isolat	Uji Gram	HR	No	Isolat	Asal isolat	Uji Gram	HR
1	BD1 E1	Agam	+	-	42	SN1E	Solok	-	-
2	BD1.1 E2	Agam	+	-	43	SN1E2	Solok	+	-
3	BD1.2E2	Agam	+	-	44	SN1E3	Solok	-	-
4	BD1.2E3	Agam	+	-	45	SN1E4	Solok	+	-
5	BD1.2E4	Agam	+	-	46	SN2E	Solok	+	-
6	BD1.3E2	Agam	+	-	47	SN2E2	Solok	+	-
7	BD1.3E3	Agam	+	-	48	SN2E3	Solok	+	-
8	BD2E1	Agam	+	-	49	JB1E	Solok	-	-
9	BD2E2	Agam	+	-	50	JB1E2	Solok	+	-
10	BD2.1E1	Agam	+	-	51	JB1E3	Solok	-	-
11	BD2.2E1	Agam	+	-	52	STP1E2	Solok	+	-
12	BD2.2E3	Agam	+	-	53	STP1E3	Solok	-	-
13	BD2.2E5	Agam	+	-	54	STP1E4	Solok	+	-
14	BD2.2E6	Agam	+	-	55	STP1E5	Solok	-	-
15	BD3E1	Agam	+	-	56	TL1E1	Solok	-	-
16	BD3.1E1	Agam	+	-	57	TL1E2	Solok	-	-
17	BD3.1E2	Agam	+	-	58	TL1E2.1	Solok	-	-
18	BD4E1	Agam	+	-	59	TL1E2.3	Solok	-	-
19	BD4.1E2	Agam	+	-	60	TL1E4	Solok	-	-
20	BD4.2E1	Agam	+	-	61	TL2E1	Solok	+	-
21	LKE	Solok	+	-	62	TL2E2	Solok	+	-
22	LKE2	Solok	+	-	63	TL2E2.1	Solok	+	-
23	LKE3	Solok	+	-	64	TL2E2.3	Solok	+	-
24	LL1E2	Solok	+	-	65	TL3E1	Solok	-	-
25	LL1E3	Solok	+	-	66	TL3E1.2	Solok	-	-
26	SS2E	Solok	+	-	67	TL3E2	Solok	-	-
27	RD1E1	Solok	+	-	68	TL3E2.1	Solok	+	-
28	RD1E2	Solok	+	-	69	TP1E1	Solok	+	-
29	RD2E2	Solok	+	-	70	TP1E2	Solok	-	-
30	PK1E	Solok	+	-	71	TP1E2.2	Solok	-	-
31	PK2E2	Solok	-	-	72	TP2E1	Solok	+	-
32	PK2E3	Solok	-	-	73	TP2E1.2	Solok	-	-
33	PK2E4	Solok	+	-	74	TP2E1.3	Solok	-	-
34	PU1E2	Solok	+	-	75	TP2E2	Solok	-	-
35	PU1E3	Solok	+	-	76	TP2E2.1	Solok	-	-
36	PU2E1	Solok	+	-	77	TP3E1	Solok	+	-
37	PU2E2	Solok	+	-	78	TP3E2	Solok	-	-
38	ULG1E1	Solok	+	-	79	TP4E1	Solok	-	-
39	ULG1E2	Solok	-	-	80	TP4E1.2	Solok	+	-
40	ULG1E3	Solok	+	-	81	TP4E2.1	Solok	+	-
41	ULG1E4	Solok	-	-	82	TP4E5	Solok	+	-

dan *Pseudomonas fluorescen* galur A506 dapat menurunkan severitas penyakit HDB (Gent & Schwartz, 2005).

Kemampuan peningkatan berat umbi bawang merah dapat dilihat pada Tabel 4. Isolat bakteri endofit dengan berat basah dan berat kering umbi yang

Tabel 3. Persentase, intensitas dan efektifitas penekanan penyakit HDB pada bawang merah yang diintroduksi bakteri endofit

No	Isolat	Persentase (%)	Efektifitas (%)	Isolat	Intensitas (%)	Efektifitas (%)
1	TL3E2	27,82 a	-16,69	STP1E4	27,55 a	-25,63
2	BD3E1	25,15 ab	-5,49	kontrol	21,93 ab	0,00
3	LKE2	25,09 ab	-5,24	TL3E2	21,52 ab	1,87
4	TP3E1	24,82 ab	-4,11	LKE2	20,59 ab	6,11
5	RD2E2	24,50 ab	-2,77	SN2E	19,71 ab	10,12
6	SN2E	24,41 ab	-2,39	TL3E1	19,28 ab	12,08
7	TL3E1	23,89 ab	-0,21	BD3E1	18,81 ab	14,23
8	Kontrol	23,84 ab	0,00	TP2E1	18,66 ab	14,91
9	BD2E2	23,33 ab	2,14	RD2E2	18,39 ab	16,14
10	TL1E4	23,07 ab	3,23	BD1.1E2	18,39 ab	16,14
11	TL2E2	22,62 ab	5,12	ULG1E2	18,14 ab	17,28
12	ULG1E1	22,45 ab	5,83	ULG1E1	18,08 ab	17,56
13	TP3E2	22,26 ab	6,63	BD1E1	18,03 ab	17,78
14	RD1E1	22,05 ab	7,51	RD1E1	17,93 ab	18,24
15	TP2E1	22,02 ab	7,63	TL1E2.3	17,78 ab	18,92
16	BD1E1	21,27 ab	10,78	TL3E2.1	17,66 ab	19,47
17	ULG1E2	21,23 ab	10,95	TL1E2.1	17,63 ab	19,61
18	BD2E1	21,18 ab	11,16	TP3E1	17,46 ab	20,38
19	TP1E2	21,08 ab	11,58	PU1E3	17,25 ab	21,34
20	BD1.1E2	20,29 ab	14,89	TL2E2	17,11 ab	21,98
21	LL1E2	20,27 ab	14,97	BD2E2	16,94 ab	22,75
22	TP2E2	20,07 ab	15,81	LL1E2	16,88 ab	23,03
23	TL3E2.1	19,71 ab	17,32	TP1E2	16,86 ab	23,12
24	PK2E2	19,41 ab	18,58	TL1E4	16,71 ab	23,80
25	TL1E2.1	19,27 ab	19,17	TP4E1.2	16,41 ab	25,17
26	PU1E3	19,20 ab	19,46	TP2E2	16,09 ab	26,63
27	SN2E2	18,41 ab	22,78	PK2E2	15,83 ab	27,82
28	BD4E1	17,37 ab	27,14	SN2E2	15,72 ab	28,32
29	TP4E1.2	16,99 ab	28,73	BD2E1	15,66 ab	28,59
30	TL1E2	16,66 ab	30,12	TP3E2	15,31 ab	30,19
31	LKE	16,51 ab	30,75	TP2E1.3	15,11 ab	31,10
32	PK1E	16,33 ab	31,50	BD4E1	14,76 ab	32,69
33	TL2E1	16,26 ab	31,80	BD1.3E3	14,74 ab	32,79
34	PU1E2	16,13 ab	32,34	LKE	14,09 ab	35,75
35	SN1E2	15,18 ab	36,33	TP4E2.1	13,96 ab	36,34
36	TP2E1.3	15,11 ab	36,62	BD2.2E1	13,86 ab	36,80
37	BD2.2E1	15,08 ab	36,74	BD2.2E5	13,78 ab	37,16
38	BD3.1E1	15,05 ab	36,87	PU1E2	13,77 ab	37,21
39	TP4E2.1	15,00 ab	37,08	SN1E2	13,56 ab	38,17
40	TP1E1	14,92 ab	37,42	BD2.2E3	13,35 ab	39,12
41	TP4E1	14,83 ab	37,79	RD1E2	13,33 ab	39,22
42	BD1.3E3	14,74 ab	38,17	TL1E2	13,33 ab	39,22
43	TL1E1	14,67 ab	38,46	BD3.1E1	13,18 ab	39,90
44	SS2E	14,47 ab	39,30	TL2E1	13,06 ab	40,45
45	BD2.2E5	14,45 ab	39,39	ULG1E3	13,03 ab	40,58
46	TL3E1.2 1	14,35 ab	39,81	TL3E1.2	12,98 ab	40,81

Tabel 3. lanjutan

47	BD2.2E3	13,87 ab	41,82	BD3.1E2	12,91 b	41,13
48	BD3.1E2	13,59 ab	42,99	PK1E	12,68 b	42,18
49	RD1E2	13,57 ab	43,08	TP4E1	12,61 b	42,50
50	ULG1E3	13,57 ab	43,08	SS2E	12,61 b	42,50
51	SN1E	13,52 ab	43,29	BD1.3E2	12,40 b	43,46
52	TP2E1.2	13,50 ab	43,37	SN1E3	12,37 b	43,59
53	TL1E2.3	13,35 ab	44,00	TL1E1	12,25 b	44,14
54	SN1E3	13,17 ab	44,76	ULG1E4	12,13 b	44,69
55	BD2.1E1	12,99 ab	45,51	TP2E2.1	12,08 b	44,92
56	TP2E2.1	12,98 ab	45,55	BD1.2E2	12,07 b	44,96
57	BD1.3E2	12,94 ab	45,72	TL2E2.1	11,96 b	45,46
58	BD4.1E2	12,93 ab	45,76	TP2E1.2	11,88 b	45,83
59	BD1.2E2	12,83 ab	46,18	BD2.1E1	11,84 b	46,01
60	LKE3	12,63 ab	47,02	LKE3	11,62 b	47,01
61	TL2E2.1	12,63 ab	47,02	BD4.1E2	11,61 b	47,06
62	STP1E4	12,55 ab	47,36	SN2E3	11,33 b	48,34
63	TP1E2.2	12,38 ab	48,07	SN1E	11,19 b	48,97
64	JB1E	12,13 ab	49,12	JB1E2	11,16 b	49,11
65	JB1E2	11,96 ab	49,83	BD2.2E6	10,95 b	50,07
66	SN2E3	11,94 ab	49,92	TL2E2.3	10,83 b	50,62
67	TL2E2.3	11,93 ab	49,96	STP1E3	10,74 b	51,03
68	BD2.2E6	11,81 ab	50,46	TP1E1	10,74 b	51,03
69	PU2E1	11,60 ab	51,34	PU2E1	10,73 b	51,07
70	STP1E3	11,44 ab	52,01	STP1E2	10,67 b	51,35
71	TP4E5	11,34 ab	52,43	LL1E3	10,25 b	53,26
72	STP1E2	11,23 ab	52,89	TP1E2.2	10,21 b	53,44
73	BD1.2E3	11,11 ab	53,40	BD1.2E3	10,11 b	53,90
74	BD1.2E4	10,92 ab	54,19	JB1E	10,03 b	54,26
75	STP1E5	10,83 ab	54,57	STP1E5	9,89 b	54,90
76	PK2E4	10,72 ab	55,03	BD1.2E4	9,66 b	55,95
77	ULG1E4	10,67 ab	55,24	PK2E4	9,66 b	55,95
78	PK2E3	10,63 ab	55,41	TP4E5	9,57 b	56,36
79	LL1E3	10,25 ab	57,01	PK2E3	9,37 b	57,27
80	JB1E3	10,11 ab	57,59	SN1E4	9,00 b	58,96
81	SN1E4	9,72 b	59,23	JB1E3	8,99 b	59,01
82	PU2E2	9,39 b	60,61	PU2E2	8,54 b	61,06
83	BD4.2E1	8,33 b	65,06	BD4.2E1	7,83 b	64,30

Angka-angka pada lajur yang sama yang diikuti oleh huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada $\alpha=0,05$.

signifikan adalah isolat SN2E2 dengan berat basah 121,98 g (peningkatan 281,66%), berat kering 60,86 g (peningkatan 214,85%) dibandingkan kontrol dengan berat basah 23,84 g dan berat kering 21,93 g. Isolat ULG1E2 dengan berat basah 105,77 g (peningkatan 230,94%) berat kering 60,46 g (peningkatan 212,78%). Empat isolat yang mampu menekan persentase dan

intensitas penyakit secara signifikan juga dapat meningkatkan berat basah dan berat kering umbi. Isolat tersebut PU2E2 berat basah 70,79 g (peningkatan 121,50 %) berat kering 36,98 g (peningkatan 91,31%), isolat SN1E4 berat basah 51,16 g (peningkatan 60,08%) berat kering 36,55 g (peningkatan 89,08%), isolat BD4.2E1 berat basah 45,59 g (peningkatan 42,65%)

Tabel 4. Berat basah, berat kering dan efektifitas peningkatan berat umbi bawang merah yang diintroduksi dengan bakteri endofit

No	Isolat	Berat basah (g)	Efektifitas (%)	Isolat	Berat kering umbi (g)	Efektifitas (%)
1	SN2E2	121,98 a	281,66	SN2E2	60,86 a	214,85
2	ULG1E2	105,77 a	230,94	ULG1E2	60,46 a	212,78
3	PU2E2	70,79 b	121,50	PU2E2	36,98 b	91,31
4	SN1E4	51,16 bc	60,08	SN1E4	36,55 bc	89,08
5	BD4.2E1	45,59 bcd	42,65	JB1E3	33,01 bcd	70,77
6	JB1E3	42,78 cde	33,85	BD4.2E1	29,12 bcde	50,65
7	TP2E1	41,73 cde	30,57	TP2E2.1	28,42 bcde	47,03
8	PK2E2	40,64 cdef	27,16	ULG1E4	27,14 bcde	40,40
9	BD1.3E2	40,24 cdef	25,91	TP1E2.2	26,70 bcde	38,13
10	TL2E2.1	39,48 cdef	23,53	TL2E2.1	26,24 bcde	35,75
11	LL1E2	38,39 cdef	20,12	BD1.2E3	26,08 bcde	34,92
12	BD1.2E3	37,83 cdef	18,37	TP2E1	25,26 bcde	30,68
13	TP2E2.1	37,06 cdef	15,96	BD2E2	24,99 bcde	29,28
14	TP1E1	37,01 cdef	15,80	BD1.3E2	24,48 bcde	26,64
15	BD2E2	36,29 cdef	13,55	TL2E2	24,23 bcde	25,35
16	TL2E2	36,15 cdef	13,11	PK2E4	24,02 bcde	24,26
17	PK2E4	35,61 cdef	11,42	BD2.2E5	23,97 bcde	24,00
18	TP2E2	35,31 cdef	10,48	TL1E2	23,82 bcde	23,23
19	ULG1E4	35,13 cdef	9,92	ULG1E3	23,29 bcde	20,49
20	PK2E3	34,20 cdef	7,01	PK2E2	22,86 bcde	18,26
21	TP1E2.2	33,44 cdef	4,63	TP2E1.3	22,71 bcde	17,49
22	BD2.2E5	33,04 cdef	3,38	BD3.1E2	22,57 bcde	16,76
23	JB1E2	32,89 cdef	2,91	JB1E2	22,25 bcde	15,11
24	Kontrol	31,96 cdef	0,00	TP2E1.2	21,91 bcde	13,35
25	STP1E2	31,51 cdef	-1,41	STP1E5	21,75 bcde	12,52
26	TL1E2	31,50 cdef	-1,44	TP4E1	21,20 bcde	9,67
27	TL3E1.2	31,23 cdef	-2,28	BD1.2E4	21,10 bcde	9,16
28	PK1E	30,65 cdef	-4,10	TP2E2	20,54 bcde	6,26
29	TP2E1.3	30,29 cdef	-5,23	PK2E3	20,33 bcde	5,17
30	TL2E2.3	30,06 cdef	-5,94	PU1E3	20,33 bcde	5,17
31	STP1E5	29,97 cdef	-6,23	RD1E2	19,97 cde	3,31
32	BD1.3E3	29,92 cdef	-6,38	TP1E1	19,61 de	1,45
33	TP4E1	29,84 cdef	-6,63	STP1E2	19,55 de	1,14
34	RD2E2	29,58 cdef	-7,45	TL2E2.3	19,53 de	1,03
35	ULG1E3	29,24 cdef	-8,51	STP1E3	19,41 de	0,41
36	BD1.2E4	29,22 cdef	-8,57	kontrol	19,33 de	0,00
37	BD2.2E6	28,90 cdef	-9,57	BD2.2E3	19,24 de	-0,47
38	BD3.1E2	28,85 cdef	-9,73	PU2E1	19,05 de	-1,45
39	TP4E2.1	28,83 cdef	-9,79	SN1E3	18,72 de	-3,16
40	PU1E3	28,58 cdef	-10,58	TP4E2.1	18,63 de	-3,62
41	TL1E2.1	28,55 cdef	-10,67	TL2E1	18,48 de	-4,40
42	TL1E1	28,42 cdef	-11,08	RD2E2	18,42 de	-4,71
43	STP1E4	27,55 cdef	-13,80	TP3E2	18,27 de	-5,48
44	TL3E2.1	27,45 cdef	-14,11	TP4E5	18,18 de	-5,95
45	TP1E2	27,43 cdef	-14,17	PK1E	18,14 de	-6,16
46	LL1E3	27,23 cdef	-14,80	LL1E3	17,99 de	-6,93

Tabel 4. lanjutan

47	RD1E2	27,21 cdef	-14,86	STP1E4	17,88 de	-7,50
48	TP2E1.2	26,57 cdef	-16,86	TL3E2.1	17,72 de	-8,33
49	TL1E2.3	26,04 cdef	-18,52	BD1E1	17,68 de	-8,54
50	BD2.1E1	25,99 cdef	-18,68	BD1.2E2	17,51 de	-9,42
51	BD2.2E3	25,92 cdef	-18,90	TL1E4	17,42 de	-9,88
52	JB1E	25,79 cdef	-19,31	BD2.2E6	17,27 de	-10,66
53	PU2E1	25,52 cdef	-20,15	BD2.2E1	17,00 de	-12,05
54	STP1E3	24,95 cdef	-21,93	JB1E	16,98 de	-12,16
55	LKE3	24,89 cdef	-22,12	BD3.1E1	16,86 de	-12,78
56	SN1E3	24,63 cdef	-22,93	TL3E1.2	16,86 de	-12,78
57	BD1.2E2	24,18 def	-24,34	TL1E1	16,84 de	-12,88
58	TL3E2	24,09 def	-24,62	LKE3	16,76 de	-13,30
59	LKE	23,71 def	-25,81	BD2.1E1	16,73 de	-13,45
60	BD2.2E1	23,54 def	-26,35	LL1E2	16,66 de	-13,81
61	SN1E2	23,08 def	-27,78	TL1E2.3	16,56 de	-14,33
62	SN2E3	23,08 def	-27,78	SS2E	16,40 de	-15,16
63	BD4.1E2	22,62 def	-29,22	BD1.3E3	16,28 de	-15,78
64	TL2E1	22,51 def	-29,57	TL3E2	16,20 de	-16,19
65	TP3E2	22,39 def	-29,94	TP3E1	16,17 de	-16,35
66	TP4E1.2	22,29 def	-30,26	RD1E1	15,90 e	-17,74
67	TP4E5	22,15 def	-30,69	BD1.1E2	15,79 e	-18,31
68	SS2E	21,01 def	-34,26	TP4E1.2	15,61 e	-19,24
69	BD1.1E2	20,96 def	-34,42	LKE2	15,36 e	-20,54
70	SN2E	20,89 def	-34,64	BD4E1	15,36 e	-20,54
71	TP3E1	20,64 def	-35,42	TL1E2.1	15,32 e	-20,74
72	PU1E2	20,61 def	-35,51	BD3E1	15,06 e	-22,09
73	TL1E4	20,34 def	-36,36	ULG1E1	14,89 e	-22,97
74	BD2E1	19,98 def	-37,48	BD4.1E2	14,64 e	-24,26
75	TL3E1	19,76 def	-38,17	SN1E2	13,75 e	-28,87
76	BD1E1	19,73 def	-38,27	SN2E3	13,75 e	-28,87
77	BD4E1	19,31 def	-39,58	SN2E	13,68 e	-29,23
78	BD3E1	19,09 def	-40,27	PU1E2	13,62 e	-29,54
79	BD3.1E1	18,29 ef	-42,77	LKE	13,58 e	-29,75
80	SN1E	17,34 ef	-45,74	TL3E1	13,07 e	-32,38
81	RD1E1	17,16 ef	-46,31	TP1E2	13,06 e	-32,44
82	ULG1E1	17,12 ef	-46,43	SN1E	12,62 e	-34,71
83	LKE2	14,14 f	-55,76	BD2E1	12,46 e	-35,54

Angka-angka pada lajur yang sama yang diikuti oleh huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada $\alpha=0,05$.

berat kering 29,12 g (peningkatan 50,65%), dan isolat JB1E3 berat basah 42,78 g (peningkatan 33,85%) berat kering 33,01 g (peningkatan 70,77%). Tidak semua isolat mampu meningkatkan hasil bawang merah karena ada beberapa isolat yang hasilnya negatif (tidak mampu meningkatkan hasil dibandingkan kontrol).

Kemampuan meningkatkan hasil tanaman oleh kelompok bakteri endofit telah dilaporkan, antara lain Harish *et al.* (2009) melakukan penelitian pengaruh

bioformulasi campuran isolat *Pseudomonas fluorescens* (Pf1) dan *Bacillus* sp. (EPB 22) pada pisang meningkatkan hasil secara signifikan (53,33%) dibandingkan kontrol. Bioformulasi tersebut juga mempunyai potensi sebagai penginduksi ketahanan pisang terhadap *Bunchy Top Virus*. Bakteri endofit yang dapat memacu pertumbuhan merupakan salah satu alternatif untuk mengurangi penggunaan bahan kimia pada pertanian (Kloepper, 1993).

Tabel 5: Hasil analisis BLAST isolat endofit yang mampu menekan serangan Xaa

No	Kode	Identitas	Kode aksesi GenBank	% kesamaan
1	BD42E1	<i>Bacillus cereus</i> strain P14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JN700160	99
2	SN1E4	<i>Bacillus</i> sp. H1(2008) 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	EU 711350.1	98
3	SN2E2	<i>Bacillus cereus</i> strain Se07 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JN700112.1	96
4	PU2E2	<i>Bacillus</i> sp. SJ1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	GQ258753	83
5	UL61E2	<i>Serratia marcescens</i> strain PPM4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JQ308604.1	96
6	JBE3	<i>Serratia marcescens</i> strain PPM4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JQ308604.1	96

Identifikasi Isolat Endofit. Enam isolat terpilih dengan efektifitas penekanan penyakit HDB dan efektifitas peningkatan hasil yang tinggi (BD4.2E1, SN1E4, PU2E2, SN2E2, ULG1E2 dan JB1E3) diidentifikasi secara molekular. Amplifikasi DNA 6 isolat terpilih menghasilkan pita berukuran \pm 1300 bp. Setelah dilakukan sekuensing terhadap asam nukleat dan dilanjutkan dengan analisa BLAST didapatkan identitas isolat terbaik tersebut seperti pada Tabel 5.

Hasil analisis BLAST isolat ULG1E2 dan JB1E3 memiliki kemiripan 96% dengan *Serratia marcescens* strain PPM4 16S, isolat BD4.2E1 memiliki kemiripan 99% dengan *Bacillus cereus* strain P14, isolat SN2E2 memiliki kemiripan 96% dengan *Bacillus cereus* strain Se07, Isolat SN1E4 memiliki kemiripan 98% dengan *Bacillus* sp. H1 dan isolat PU2E2 memiliki kemiripan 83% dengan *Bacillus* sp. SJ1.

Mekanisme penekanan penyakit dari tiga bakteri endofit yaitu *Bacillus cereus* (BD4.2E1), *Bacilles* sp. HI (SN1E4), *Serratia marcescen* PPM 4 (JB1E3) dan *Bacillus* sp. SJ1 (PU2E2) bersifat tidak langsung berupa induksi ketahanan. Bakteri endofit diintroduksikan pada benih sehingga dapat melindungi tanaman pada saat patogen masuk. Hallman *et al.* (2000) menyatakan strain bakteri endofit dari awal dapat mengkolonisasi jaringan kortex akar dan merangsang pertahanan tanaman. Sifat terpenting bagi bakteri endofit untuk mampu sebagai agen pengendali hayati adalah kemampuan kolonisasi yang cepat pada jaringan inang. Kelompok *Bacillus* spp seperti *B. cereus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. substillis*, *B. pasteurii*, *B. pumilus*, *B. mycoides*, dan *B. sphaericus* dapat menekan insidensi dan severitas dari berbagai penyakit pada

berbagai tanaman. Mekanisme yang terjadi pada menekanan penyakit tersebut adalah induksi ketahanan sistemik (Induced Systemic Resistance = ISR) (Kloeppe *et al.*, 2004). Bakteri antagonis *Serratia marcescens* strain B2 mampu menginduksi ketahanan tanaman padi terhadap penyakit blast yang disebabkan *Pyricularia oryzae* (Someya *et al.*, 2002).

Bakteri endofit terpilih yang mampu meningkatkan hasil bawang merah adalah dari kelompok *Bacillus cereus* Se07 (SN2E2), *Serratia mercescens* PPM4 (ULG1E2) dan *Bacillus* sp. SJI (PU2E2). Bakteri *Bacillus cereus* Se07 bahkan mampu meningkatkan rata-rata berat kering dan berat basah lebih dari 200% (Tabel 4). Bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan dan hasil melalui banyak cara, termasuk aktivitas melerutkan fospat, produksi fitohormon IAA, dan memproduksi siderophor (Jalgaonwala & Mahaja, 2011). Bakteri *Bacillus megaterium*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, dan *Lysinibacillus fusiformis* mempunyai peranan dalam peningkatan pertumbuhan tanaman gingseng (Vandan *et al.*, 2010).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, enam isolat bakteri endofit terpilih yaitu isolat BD4.2E1, SN1E4, SN2E2, PU2E2, JB1E3, dan ULG1E2 mampu menekan serangan penyakit HDB dan meningkatkan hasil bawang merah dengan efektivitas penekanan persentase penyakit tertinggi 65,06% (BD4.2E1) dibandingkan kontrol. Isolat SN2E2 mampu meningkatkan hasil bawang merah dengan peningkatan berat kering 214,85% dibandingkan

kontrol. Hasil identifikasi berdasarkan sekuening 16 rRNA. Keenam isolat terpilih tersebut adalah *Bacillus cereus* stain P14 , *Bacillus cereus* strain Se07, *Basillus* sp. H1, *Bacillus* sp. SJ1 and *Serratia marcescens* strain *PPM4*.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik (BPS). 2013. Data Produksi Tanaman sayuran 2012. BPS
- Centre for Microbial and Plant Genetics. 2006. Plant growth promoting rhizobacteria dan biodegradasi. Katolike Universiteit Leuwen, Netherland.
- Compan SRB, Sessitsch A, Nowak J, Clement C, & Barka EA. 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp.strain PsJN. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 1685-1693.
- Gent DH & Schwartz HF. 2005. Management of *Xanthomonas* leaf blight of onion with a plant activator, biological control agents and copper bactericides. *Plant Dis.* 89: 631-639.
- Habazar T, Nasrun, Jamsari, Rusli I. 2007. Pola penyebaran penyakit hawar daun bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv *allii*) pada bawang merah dan upaya pengendaliannya melalui imunisasi menggunakan rhizobacteria. Laporan hasil penelitian KKP3T. Universitas Andalas bekerjasama dengan Sekretariat Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Hallman J, Halmann AQ, Miller WG, Sikora RA, & Lindow SE. 2000. Endophytic colonization of plants by the biocontrol agent *Rhizobium etli* G12 in relation to *Meloidogyne incognita* infection. *Phytopathol.* 91: 415-422.
- Hallmann J, Hallmann AQ, Mahaffee WF, & Kloeppe JW. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43: 895-9214.
- Harish S, Kavino M, Kumar N, Balasubramanian P, & Samiyappan R. 2009. Induction of defense-related proteins by mixtures of plant growth promoting endophytic bacteria against Banana bunchy top virus. *Biol. Control.* 51: 16-25.
- Jalgaonwala RE & Mahaja RT. 2011. Isolation and characterization of endophytic bacteria from roots of *Pongamia glabra* Vent. *Int. J. Pharma and Bio Sci.* 1: 280-287.
- Klement Z, Rudolph K, & Sand DC. 1990. *Methode in phytobacteriology*. Academic Kiado. Budapest.
- Kloeppe JW, Ryu CM, & Zhang S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytophatol.* 94: 1259-1266.
- Kloeppe JW. 1993. Plant growth-promoting rhizobacteria as biocontrol agents. In: Metting FB Jr (ed) soil microbial ecology-applications in agricultural and environmental management. Marcel Dekker, Inc., New York, pp 255-274.
- Kumar HB. 2005. Effect of *Pseudomonas flourescent* on bean common mosaic potyvirus incidence in French Bean . *Int. J.of Botany* 1(2): 163-167.
- Paulraj L & O'Garro LW. 1993. Leaf blight of onion in Barbados caused by *Xanthomonas campestris*. *Plant Dis.* 77: 198-201.
- Reiter B, Preifer U, Schwab H, & Sessitsch A. 2002. Respone of endophytic bacteria communities in potato plants to infection with *Erwinia caratovora* subsp. *atroseptica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 2261-2268.
- Resti Z, Yanti Y, & Rahma H. 2007. Distribusi penyakit hawar daun bakteri pada tanaman bawang (*Xanthomonas axonopodis* pv *allii*) sebagai penyakit baru di Sumatera Barat. Laporan Penelitian DIPA Unand. Universitas Andalas. Padang.
- Sanger F, Nicklen S, & Coulson AR. 1997. DNA Sequensing with Chain Terminating Inhibitor. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA.* 74: 5463-5467.
- Schaad NW & Stall RE. 2001. *Xanthomonas*. Pages 821 94 in Laboratory Gurde for Identification of Plant Phatology Bacteria Z.nd.ed.N.W. Scaad ed. American Phytopathological Society, ST. Paul. M.N.
- Schwartz HF & Gent DH. 2006. Xanthomonas Leaf Blight of Onion (<http://www.Extcolestate.edu/push/gorden.html> access 22-02-2006).
- Someya N, Makajima M, Hilon T, Yamaguchi I, & Akutsu K. 2002. Induced resisntance to rice blast by antagonistic bacterium *Serratia marcescen* strain B2. *Plant Pathol.* 68: 177-182.
- Strobel GA, Stierle A, Stierle D, & Hess WM. 1993, *Taxomyces andreanae* a proposed new taxon for a bulbilliferous hyphomycete associated with Pacific yew. *Mycotaxon.*, 47: 71-78.

- Vendan RT, Joon Y, Heelee S, & Ha Rhee Y. 2010. Diversity of endophytic bacteria in gingseng and their potential for plant growth promotion. *Microbiological Society of Korea* 48(5): 559-565.
- Zinniel DK, Lambrecht P, Harris NB, Feng Z, Kaczmarski 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.