

# PROSPEK PENGEMBANGAN BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI AGENS HAYATI PENGENDALIAN NEMATODA PARASIT TANAMAN PERKEBUNAN

## *The Prospect of Developing Endophytic Bacteria as Nematodes Biological Control Agents in Estate Crops*

RITA HARNI

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar  
*Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute*  
Jalan Raya Pakuwon Km 2, Parungkuda, Sukabumi 43357. Jawa Barat, Indonesia  
E-mail: rita\_harni@yahoo.co.id

### ABSTRAK

Nematoda parasit tanaman merupakan salah satu organisme pengganggu tumbuhan (OPT) penting yang menyerang berbagai tanaman perkebunan seperti lada, nilam, kopi, tembakau dan jahe. Nematoda *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, dan *Radopholus* merupakan nematoda parasit yang paling merusak pada komoditas tersebut. Kerugian akibat nematoda pada tanaman lada dapat menurunkan produksi 32%, pada tanaman nilam 75%, 58% pada jahe dan 57% pada tanaman kopi. Pengendalian nematoda yang banyak digunakan saat ini adalah penggunaan bakteri endofit. Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup mengkolonisasi jaringan tanaman inang tanpa menimbulkan efek negatif, bahkan banyak memberi keuntungan terhadap inangnya, karena berfungsi sebagai agens hayati, dan pemicu pertumbuhan tanaman. Mekanisme bakteri endofit dalam mengendalikan nematoda adalah menginduksi ketahanan, kompetisi ruang, dan menghasilkan metabolit anti nematoda yang berpengaruh terhadap penetrasi, reproduksi dan populasi nematoda. Penggunaan bakteri endofit *Achromobacter xylosoxidans*, *Bacillus cereus*, *Alcaligenes faecalis*, *B subtilis* dan *Pseudomonas putida* pada tanaman nilam dapat menekan populasi nematoda *P. brachyurus* sebesar 54,8-70,6%. Bakteri endofit *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. dapat menekan kejadian penyakit kuning, menekan populasi nematoda *R. similis* dan *M. incognita*, serta meningkatkan jumlah bunga per ruas dan bobot basah pada tanaman lada. Bakteri endofit *B. pumilus* dan *Bacillus mycoides* dapat menekan populasi dan jumlah puru akar nematoda *M. incognita* 33 - 39% pada tanaman kopi. Prospek pengembangan bakteri endofit

untuk mengendalikan nematoda parasit pada tanaman perkebunan sangat menjanjikan karena bakteri endofit sebagai agens hayati lebih unggul dari agens yang lain, dapat diisolasi dari semua bagian tanaman, dan media perbanyakannya murah, aplikasi mudah serta tidak berulang-ulang. Bakteri endofit dapat bersifat sebagai agens pengendali hayati dan pemicu pertumbuhan, penggunaannya dapat mengurangi penggunaan pestisida sintesis dan pupuk anorganik sehingga sangat mendukung pertanian yang berkelanjutan.

Kata kunci: Bakteri endofit, nematoda parasit, tanaman perkebunan, agens hayati

### ABSTRACT

Plant parasitic nematodes are one of the most important plant pests that attack a variety of estate crops like pepper, patchouli, coffee, tobacco and ginger. *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, and *Radopholus* are the most destructive parasitic nematodes in these commodities. Yield Losses due to nematodes on black pepper can reduce the production of 32%, 75% in patchouli, 58% ginger and 57% at the coffee. Controlling nematodes are widely used at this time are endophytic bacteria. Endophytic bacteria are live bacteria that colonize the host plant tissues without causing any negative effects, but giving many benefits to their host, because it can be as biological agents, and trigger the growth of plants. Mechanism of action endophytic bacteria in controlling nematodes are induce resistance, competition niche, and produce anti-nematode metabolites, that affect on the penetration, reproduction and nematode populations. The use of endophytic bacteria *Achromobacter xylosoxidans* (TT2), *Bacillus cereus* (MSK), *Alcaligenes*

*faecalis* (NJ16), *Bacillus subtilis* (NJ57) and *Pseudomonas putida* (EH11) on patchouli can suppress nematode populations of *P. brachyurus* at 54.8 to 70.6 %. Endophytic bacteria *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. can reduce the incidence of yellow disease and nematode populations of *R. similis* and *M. incognita*, as well as increase the number of flowers/ node and the wet weight of the black pepper, and endophytic bacteria *Bacillus pumilus* and *B. mycoides* can suppress the population and the number of root knot nematode *M. incognita* 33 - 39% of the coffee plant. Development of endophytic bacteria to control parasitic nematodes in estate crop is very promising because of endophytic bacteria as a biological control agent is superior to another agent, can be isolated from all parts of the plant, propagation media inexpensive, easy application and not repetitive. Endophytic bacteria may be of biological agents and plant growth promoters, its use can reduce synthetic pesticides and synthetic fertilizers so very supportive to sustainable agriculture.

Keywords: Endophytic bacteria, plant parasitic nematodes, estate crops, biological control

## PENDAHULUAN

Nematoda parasit merupakan salah satu jenis organisme pengganggu tumbuhan (OPT) penting yang menyerang berbagai jenis tanaman utama di Indonesia dan negara-negara tropis lainnya. Kerugian yang ditimbulkannya dapat mencapai 25% dari potensi produksi. Di Indonesia serangan nematoda parasit yang merugikan sudah dilaporkan pada berbagai tanaman baik pada tanaman pangan seperti padi, kedelai dan jagung, pada tanaman hortikultura seperti pisang, tomat, kentang maupun pada tanaman perkebunan (nilam, lada, kopi, jahe dan tebu).

Pada tanaman perkebunan, beberapa genus nematoda parasit tanaman telah dilaporkan di antaranya adalah *Meloidogyne*, *Radopholus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, dan *Helicotylenchus*. Nematoda-nematoda tersebut menyerang tanaman lada, nilam, jahe, kopi dan tebu. Pada tanaman lada, nematoda parasit yang sering dilaporkan adalah *Radopholus similis* dan *Meloidogyne incognita* yang dikenal dengan penyebab penyakit kuning. Akibat serangan nematoda pada tanaman lada dapat menurunkan hasil sampai 32% (Mustika, 1996). Pada tanaman

nilam, nematoda yang sangat merugikan adalah *Pratylenchus brachyurus*, *R. similis* dan *Meloidogyne* spp, serangan nematoda tersebut dapat menurunkan hasil sampai 75% (Harni *et al.*, 2007; 2012a). Pada tanaman kopi nematoda yang sering menyerang adalah *Pratylenchus coffeae*, *R. similis*, dan *Meloidogyne* spp (Harni, 2013). Serangan nematoda ini dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman terganggu dan menurunkan produksi baik kuantitas maupun kualitas. Serangan *P. coffeae* pada kopi Robusta dapat menurunkan produksi sampai 57%, sedangkan serangan *R. similis* bersama-sama dengan *P. coffeae* pada kopi Arabika dapat mengakibatkan kerusakan 80% dan tanaman akan mati pada umur kurang dari 3 tahun (Wiryadiputra, 2006).

Pengendalian nematoda parasit yang banyak dilakukan petani saat ini adalah menggunakan nematisida sintetik karena cara pengendalian ini yang dianggap dapat mengendalikan nematoda secara cepat dan praktis. Pengendalian menggunakan nematisida sintetik ternyata kurang efektif karena memberikan beberapa dampak negatif seperti pencemaran lingkungan, berbahaya bagi kesehatan dan matinya organisme bukan target. Untuk mengurangi dampak tersebut perlu dicari alternatif pengendalian lain yang ramah lingkungan salah satunya adalah pengendalian biologi dengan bakteri endofit.

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup mengkolonisasi jaringan bagian dalam tanaman tanpa menyebabkan gangguan pada tanaman tersebut dan kebanyakan dari bakteri endofit adalah menguntungkan (Hallmann, 2001). Keunggulan bakteri endofit sebagai agens hayati nematoda adalah 1) bakteri endofit mudah untuk dikulturkan pada media buatan; 2) dapat digunakan sebagai seed treatments (perlakuan benih); 3) mengurangi kerusakan akar lebih awal; 4) terhindar dari kompetisi dengan mikroba lain dan memiliki kemampuan dalam mempengaruhi tanaman merespon serangan patogen; 5) tidak bersifat fitotoksik (tidak beracun bagi tanaman) ; 6) meningkatkan pertumbuhan tanaman; 7) menggunakan eksudat akar untuk perbanyakannya; dan 8) menginduksi ketahanan tanaman (Hallmann, 2001; Siddiqui

dan Saukat, 2003; Bacon dan Hinton 2007; Sikora *et al.*, 2007).

Penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda pada tanaman perkebunan seperti kopi, lada, dan nilam telah dilaporkan oleh Mekete *et al.* (2009), Harni dan Ibrahim (2011), Harni dan Munif (2012), Harni dan Khaerati (2013) serta Harni *et al.* (2014). Penggunaan bakteri endofit dapat menekan populasi nematoda *P. brachyurus* sebesar 54,8-70,6% (Harni *et al.*, 2012a) dan meningkatkan terna nilam sebesar 23.62-57.48%. Bakteri endofit dapat menekan kejadian penyakit kuning dan menekan populasi nematoda, serta meningkatkan jumlah bunga per ruas dan bobot basah lada (Harni dan Munif, 2012). Selanjutnya Mekete *et al.* (2009), menggunakan bakteri endofit *Bacillus pumilus* dan *B. mycoides* untuk mengendalikan nematoda *M. incognita* pada tanaman kopi. Kedua bakteri tersebut dapat menekan populasi dan jumlah puru akar nematoda 33 dan 39%.

Tulisan ini membahas tentang nematoda parasit pada tanaman perkebunan, dan pengendaliannya menggunakan bakteri endofit serta prospek pengembangan bakteri endofit sebagai agens hayati nematoda.

## BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI AGENS HAYATI NEMATODA

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup bersimbiosis mutualisme dengan tanaman. Menurut Kado (1992), bakteri endofit adalah bakteri yang hidup dalam jaringan tumbuhan, tetapi tidak merugikan tumbuhan inangnya, sedangkan menurut Sikora *et al.* (2007), endofit adalah bakteri yang sebagian dari siklus hidupnya mengkolonisasi jaringan internal tanaman. Penggunaan bakteri endofit sebagai agens hayati nematoda memberikan keuntungan lebih, karena memiliki relung yang sama dengan patogen (Hallmann, 2001) yaitu dengan mengkolonisasi jaringan akar. Hal ini sangat menguntungkan untuk pengendalian patogen yang menyerang akar seperti nematoda parasit tanaman. Seluruh siklus hidup bakteri endofit juga berada dalam jaringan akar seperti

nematoda parasit, sehingga target pengendalian lebih cepat mencapai sasaran.

Penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda parasit tanaman relatif masih baru. Awalnya Hallmann *et al.* (1995) mengisolasi bakteri endofit dari akar mentimun dan kapas, hasil isolasi diperoleh bakteri endofit *Aerococcus viridans*, *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *Pseudomonas chlororaphis*, *P. vesicularis*, *Serratia marcescens* dan *Sphingomonas pancimobilis*. Bakteri-bakteri tersebut dapat menekan jumlah puru dan populasi *M. incognita* sampai 50%. Selanjutnya Hallmann *et al.* (1997) melaporkan bahwa perlakuan bakteri endofit melalui benih dapat mengendalikan nematoda *M. incognita* pada tanaman kapas. Setelah itu beberapa peneliti melaporkan penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda parasit di antaranya Siddiqui dan Shaukat (2003) menggunakan *Pseudomonas aeruginosa* dan *P. fluorescens* untuk mengendalikan *M. javanica* pada tanaman tomat, dan kedele. Mahdy *et al.* (2001b) menggunakan *Rhizobium etli* untuk mengendalikan *M. javanica*, *Globodera pallida*, dan *Heterodera schachtii* pada tomat, kedele dan kentang. Saat ini sudah banyak peneliti yang melaporkan penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda parasit tanaman baik pada tanaman pangan, hortikultura dan perkebunan.

Pada awalnya penggunaan bakteri endofit sebagai agens hayati nematoda terfokus pada nematoda endoparasit menetap (*sedentary endoparasitic*) seperti nematoda puru akar (*Meloidogyne*) dan nematoda sista (*Globodera* dan *Heterodera*) (Siddiqui and Shaukat, 2003; Sikora *et al.*, 2007). Hal ini terjadi karena nematoda endoparasit menetap seluruh siklus hidupnya berada dalam jaringan akar dan bakteri endofit juga berada dalam jaringan yang sama, sehingga penggunaan bakteri endofit sebagai agens hayati nematoda sangat tepat karena sasaran yang akan dituju berada pada niche yang sama. Akhir-akhir ini bakteri endofit juga dimanfaatkan untuk mengendalikan nematoda *migratory endoparasitic* (endoparasit berpindah) seperti *Radophylus* dan *Pratylenchus*. Hackenberg *et al.* (2000) menggunakan *P. chlororaphis* Sm3 untuk mengendalikan nematoda peluka akar

Tabel 1. Bakteri endofit sebagai agens hayati untuk mengendalikan nematoda parasit pada beberapa jenis tanaman

Spesies nematoda	Bakteri endofit	Tanaman inang	Pustaka
<i>Meloidogine incognita</i>	<i>Brevundimonas vesicularis</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Cedecea davisae</i> , <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. putida</i> , <i>Rhizobium etli</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>B. subtilis</i> ,	Kapas, ketimun, kedele, kacang tanah, cabai, kentang, tomato	Hallmann <i>et al.</i> , (1995; 1997;2001); Mahdy <i>et al.</i> , 2001b; Siddiqui and Shaukat 2003; Munif <i>et al.</i> , 2013.
<i>M. Javanica</i>	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>R. etli</i>	Tomat, kedelai	Mahdy <i>et al.</i> , 2001; Siddiqui and Ehtesshamul Haque 2001; Siddiqui dan Shaukat 2003
<i>Globodera pallida</i>	<i>R. etli</i>	Kentang	Rache dan sikora 1992; Mahdy <i>et al.</i> , 2001a
<i>Heterodera schachtii</i>	<i>R. etli</i>	Sugar beet	Mahdy <i>et al.</i> , 2001a
<i>Pratylenchus brachyurus</i>	<i>A. xylosoxidans</i> , <i>A. faecalis</i> , <i>P. putida</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>B. subtilis</i>	Nilam	Harni <i>et al.</i> , 2007; 2010; 2011; 2012a; 2014
<i>R. similis</i>	<i>Bacillus sp.</i>	Lada	Harni dan Ibrahim 2011; Harni dan Munif 2012; Munif dan Harni 2011; Munif dan Kristina 2012.
<i>Pratylenchus. coffeae</i> , <i>M. incognita</i>	<i>Bacillus sp.</i> , <i>B. pumilus</i> dan <i>B. mycooides</i>	Kopi	Mekete <i>et al.</i> , 2009; Harni dan Khaerati 2013; Harni, 214
<i>Pratylenchus zea</i>	<i>Rhizobium etli</i>	Jagung	Mahdy <i>et al.</i> , 2001a

*Pratylenchus penetrans* pada tanaman strawberi. Bakteri endofit dapat mengurangi populasi sebesar 41-61% serta mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman. Mahdy *et al.* (2001) menggunakan *R. etli* untuk mengendalikan *Pratylenchus zea* pada jagung. Selanjutnya Harni *et al.* (2010; 2012a; 2014) menggunakan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda *P. brachyurus* pada tanaman nilam, serta Harni dan Khaerati (2013) menggunakan bakteri endofit untuk mengendalikan *P. coffeae* pada tanaman kopi (Tabel 1).

#### MEKANISME BAKTERI ENDOFIT MENGENDALIKAN NEMATODA PARASIT TANAMAN

Mekanisme bakteri endofit dalam mengendalikan nematoda di dalam akar adalah menginduksi ketahanan, kompetisi ruang, dan menghasilkan metabolit anti nematoda (Sikora *et al.*, 2007; Bacon dan Hinton, 2007; Tian *et al.*, 2007).

##### A. Induksi Ketahanan

Induksi ketahanan sistemik (IKS) adalah ketahanan tanaman terinduksi oleh agen biotik

non-patogenik seperti rizobakteria, endofit dan *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) (Van Loon dan Baker 2006). Mikroorganisme ini mengaktifkan lintasan transduksi signal yang melibatkan asam jasmonik dan etilen tanaman untuk mengaktifkan gen-gen ketahanan. Belakangan ini dilaporkan bahwa ketahanan terinduksi oleh PGPR/endofit sering dikaitkan dengan IKS, namun beberapa spesies PGPR dan endofit juga dapat memicu *systemic acquire resistance* (SAR). SAR disebut juga dengan ketahanan perolehan, ketahanan ini terinduksi karena penambahan senyawa kimia atau menginokulasikan patogen nekrotik. Induksi SAR dicirikan dengan terbentuknya akumulasi asam salisilat dan PR protein (*pathogenesis-related proteins*). Faktor yang dapat memicu IKS adalah senyawa kimia (siderofor, antibiotik dan ion Fe) yang dihasilkan bakteri, dan komponen sel bakteri (dinding sel mikroba, flagella, filli, membran lipopolisakarida) (Van Loon dan Bakker, 2006).

Mekanisme bakteri endofit yang menginduksi IKS adalah dengan menghasilkan senyawa tertentu seperti *lipopolysacharida* (LPS). Hasil percobaan Reitz *et al.* (2000) menggunakan teknik *split-root*, menunjukkan bahwa perlakuan sistem perakaran dengan LPS dari rhizobacteria *Rhizobium etli* dapat menurunkan penetrasi akar

oleh nematoda sista (*Globodera pallida*). Hasil mereka menunjukkan LPS dari *R. etli* bertindak sebagai senyawa penginduksi ketahanan sistemik terhadap *G. pallida* pada akar kentang. Menurut Sikora *et al.* (2007), akibat dari IKS akan mempengaruhi proses fisiologis di dalam akar seperti mencegah proses makan nematoda, mencegah terbentuknya *feeding site*, menghambat penetrasi, dan reproduksi nematoda. Selain LPS mekanisme bakteri endofit dalam menekan perkembangan nematoda adalah menghasilkan senyawa fenolik seperti asam salisilat dan peroksidase (Harni *et al.*, 2012b; Harni dan Ibrahim, 2011; Harni dan Khaerati, 2013). Bakteri endofit *Achromobacter xylosoxidans* TT2, *Alcaligenes faecalis* NJ16 dan *Pseudomonas putida* EH11 dapat menekan populasi nematoda *P. brachyurus* dengan peningkatan aktivitas asam salisilat dan peroksidase.

#### **Induksi respon pertahanan fisik dan mekanik**

Bakteri endofit berpengaruh terhadap perubahan fisik tanaman inang berupa penebalan dinding sel tanaman. Kimmons *et al.* (1989) melaporkan terjadi penebalan dinding endodermis akar tanaman *tall fescue* yang terinfeksi endofit, sehingga mengurangi kemampuan *P. scribneri* menginfeksi akar. Penelitian lain yang mengindikasikan bahwa bakteri endofit dapat menginduksi ketebalan dinding sel adalah tanaman *tall fescue* yang diinfeksi endofit dapat mengurangi infeksi *M. marylandi* menembus stele akar.

#### **Induksi respon pertahanan biokimia**

Perubahan lain yang terjadi karena infeksi endofit adalah terjadinya peningkatan akumulasi senyawa fenol (Biggs, 1992). Fenol merupakan senyawa aktif yang memegang peranan penting terhadap penekanan mikroba termasuk nematoda yang menyerang jaringan tanaman. Senyawa ini membuat suatu lingkungan yang toksik untuk berkembang biakan nematoda. Anita *et al.* (2004) melaporkan bahwa terjadi akumulasi senyawa fenol setelah tanaman diinokulasi dengan *P. fluorescens* Pfl agens biokontrol *M. incognita*. Senyawa fenol juga dapat meningkatkan hasil interaksi tanaman dan

mikroorganisme dengan aktifitas secara tidak langsung sebagai signal untuk mekanisme ketahanan. Sebagai contoh, flavonoid penting dalam pembuatan interaksi mutualisme yang terjadi antara akar legum dan *Rhizobium* serta *Bradyrhizobium* sp.

Beberapa peneliti menjelaskan peranan bakteri endofit menginduksi akumulasi senyawa fenol. Compant *et al.* (2005) menunjukkan bahwa bakteri endofit *Burkholderia phytofirmans* menginduksi akumulasi senyawa fenol dan penguatan dinding eksodermis pada tanaman anggur. Schulz *et al.* (1999) melaporkan endofit *Cryptosporiopsis* sp. dan *Fusarium* sp. meningkatkan konsentrasi senyawa fenol pada akar pinus (*Larix laricina*) dan barley (*Hordeum vulgare*) dibanding tanpa endofit.

#### **B. Produk Metabolit Sekunder Anti Nematoda**

Produksi senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit biasanya terekpresi pada saat bakteri endofit belum masuk ke dalam jaringan tanaman. Mekanisme ini digunakannya untuk bertahan hidup (*survival*) pada saat bakteri berada di rizosfir. Metabolit yang dihasilkan bakteri endofit dapat berupa antibiotik, enzim, senyawa HCN, dan siderofor. Li *et al.* (2002) melaporkan bahwa produksi metabolit toksik dalam kultur filtrat dari isolat bakteri endofit *Burkholderia ambifaria* dari akar jagung dapat menghambat penetasan telur dan mobilitas larva stadia kedua *M. incognita*, sedangkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan senyawa toksik yang dapat membunuh larva *M. javanica* (Siddiqui dan Ehteshamul-Haque, 2001). Produksi antibiotik 2,4 diacetylphloroglucinol oleh *P. fluorescens* dalam kultur menurunkan penetasan telur dan membunuh larva *M. javanica* (Siddiqui dan Shaukat, 2003).

Enzim ekstraseluler yang dihasilkan bakteri endofit di antaranya adalah kitinase, protease dan selulase. Enzim kitinase merupakan enzim penting yang dihasilkan oleh bakteri antagonis untuk mengendalikan patogen terutama patogen tular tanah, karena enzim ini dapat mendegradasi dinding sel patogen yang disusun oleh senyawa kitin, seperti dinding sel cendawan, nematoda dan serangga. Oku (1994) melaporkan

bahwa aktivitas kitinase berkorelasi positif dengan tingkat induksi ketahanan sistemik. Peranan enzim ini dalam ketahanan terhadap serangan patogen, melalui penghambatan pertumbuhan dengan menghidrolisis dinding sel patogen, dan pelepasan elicitor endogen yang kemudian memacu reaksi ketahanan sistemik pada tanaman inang, sehingga terjadi penurunan atau penghambatan invasi patogen.

Enzim kitinase banyak dimanfaatkan untuk mengendalikan nematoda karena enzim ini dapat mendegradasi lapisan tengah dari telur nematoda seperti *Meloidogyne javanica*, *Rotylenchulus reniformis*, *Tylenchulus semipenetrans* dan *Pratylenchus minyus* (Tian *et al.*, 2000) serta lapisan luar telur *Heterodera schachtii* dan *H. glycines* (Perry and Trett, 1986 dalam Tian *et al.*, 2000). Kitinase juga dapat membunuh *Tylenchus dubius* dengan menghasilkan senyawa yang dapat merubah struktur kutikula nematoda (Tian *et al.*, 2000).

Peranan enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri endofit adalah mendegradasi dinding sel patogen. Di samping berfungsi untuk mendegradasi dinding sel patogen, protease dapat digunakan oleh bakteri untuk melakukan penetrasi secara aktif ke dalam jaringan tanaman, terutama bakteri yang bersifat endofit. Benhamou *et al.* (1996) melaporkan bahwa enzim selulase dan pektinase yang dihasilkan oleh *P. fluorescens* dapat digunakan oleh bakteri tersebut untuk mengkolonisasi daerah interselular jaringan korteks akar, sehingga terjadi penghambatan invasi patogen. Di samping itu, Siddiqui dan Shaukat (2003) menjelaskan bahwa protease yang dihasilkan bakteri *P. fluorescens* dapat menghambat penetasan telur *M. javanica*.

### C. Kompetisi Ruang

Bakteri endofit dapat menkolonisasi tanaman dengan cepat menempati ruang antar atau intraseluler dan tidak meninggalkan ruang untuk patogen, sehingga dapat menghambat/mencegah infeksi patogen pada tanaman. Kolonisasi jaringan tanaman oleh

endofit dimulai dari perkecambahan, penetrasi epidermis dan kolonisasi jaringan (Petrini, 1991) Setelah endofit berhasil masuk dalam jaringan inang, endofit akan menempati ruang dan mendapatkan nutrisi yang disediakan oleh tanaman berupa eksudat dan melindungi tanaman inang dari serangan mikroorganisme lainnya. Pemanfaatan eksudat/substrat oleh bakteri endofit mengakibatkan tidak tersedia nutrisi untuk patogen. Selain itu, setelah kolonisasi bakteri endofit tanaman akan menghasilkan lignin yang akan memperkuat dinding sel sehingga patogen sulit untuk menginfeksi tanaman (Gao *et al.*, 2010).

Dalam aplikasinya bakteri endofit dapat digunakan dalam mengurangi populasi nematoda melalui metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri yang dikeluarkan melalui eksudat akar tanaman. Menurut Hasky-Gunther *et al.*, (1998), Sifat antagonis dari bakteri endofit terhadap nematoda parasit dapat menyebabkan reaksi hipersensitif dalam tanaman sehingga akar menjadi kurang menarik bagi nematoda. Perilaku nematoda sangat tergantung pada komponen tertentu dalam eksudat akar tanaman. Sikora dan Hoffmann-Hergarten (1993) menyatakan bahwa metabolisme bakteri merupakan komponen penting sebagai elicitor antara parasit dan tanaman. Bakteri endofit dapat menghasilkan metabolit melalui eksudat akar yang bersifat racun bagi nematoda seperti phytoalexins. Peran dari metabolit yang dihasilkan bakteri terhadap nematoda adalah dapat mengurangi reproduksi seperti berkurangnya jumlah telur nematoda (Sikora *et al.*, 2007). Perlakuan *P. aeruginosa* ke dalam tanah dapat mengurangi jumlah telur *M. javanica* pada tanaman tomat (Siddiqui dan Ehteshamul-Haque, 2000). Disamping itu aplikasi bakteri endofit dapat melalui rotasi tanaman, sebagai contoh tanaman koro bengkok (*Mucuna deeringiana*) digunakan sebagai tanaman perotasi untuk mengendalikan nematoda karena mengandung bakteri endofit yang mampu menghambat penetrasi nematoda *Meloidogyne* spp (Klopper *et al.*, 1999).



Tabel 2. Pengaruh agens hayati endofit terhadap kejadian penyakit kuning dan populasi nematoda (3 dan 6 bulan setelah aplikasi)

Perlakuan	Persentase kejadian penyakit kuning	Populasi nematoda 3 bulan setelah aplikasi	Populasi nematoda 6 bulan setelah aplikasi
MER7	13,3b	450 ab	260 b
AA2	3,3b	200 b	195 c
ANIC	6,7b	25 c	50 d
TT2	3,3b	380 ab	275 b
TRI	3,3b	30 c	50 d
Karbofuran	6,7b	50 c	70 d
Kontrol	33,3a	507 a	825 a

Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Tukey pada taraf 5%. Sumber Harni dan Munif, 2012.



A



B

Gambar 1. Tanaman lada terserang penyakit kuning (A), tanaman lada diberi endofit (B).

## EFIKASI BAKTERI ENDOFIT PADA TANAMAN PERKEBUNAN

### Lada

Lada merupakan tanaman rempah yang mempunyai nilai ekonomi tinggi, salah satu masalah yang dihadapi pada tanaman lada adalah serangan nematoda parasit tanaman, yaitu *R. similis* dan *M. incognita*, patogen penyebab penyakit kuning di daerah Bangka dan Kalimantan Barat (Mustika, 1990). Akibat dari serangan penyakit ini dapat menimbulkan kerugian yang sangat besar yaitu sekitar 32% (Mustika, 2000).

Penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda *M. incognita* pada tanaman lada telah dilaporkan oleh Harni dan Ibrahim (2011). Hasil penelitian, bakteri endofit dapat menekan jumlah puru dan populasi nematoda di dalam akar, penekanan tertinggi

pada isolat MSK 97,93% tidak berbeda nyata dengan isolat BAS, TT, dan NJ46 yaitu 97,35; 95,22 dan 92,14%. Selanjutnya Munif dan Harni (2011) juga menguji bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman lada untuk mengendalikan nematoda *M. incognita* pada tanaman lada. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit dapat menurunkan jumlah puru pada akar dan populasi larva nematoda *M. incognita* di dalam tanah hingga mencapai 90%.

Selanjutnya bakteri endofit diuji pada tanaman lada yang terserang penyakit kuning yang disebabkan oleh nematoda *R. similis* dan *M. incognita*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan agens hayati endofit dapat menekan kejadian penyakit kuning dan populasi nematoda di dalam akar (Tabel 2, Gambar 1). Penekanan populasi nematoda oleh endofit lebih nyata pada 6 bulan setelah aplikasi. Penekanan populasi nematoda tertinggi pada isolat ANIC dan TRI

yaitu penekanannya sama dengan nematisida kimia karbofuran. Selain itu perlakuan agens hayati endofit dapat meningkatkan jumlah bunga per ruas dan bobot basah lada (Harni dan Munif 2012).

## Nilam

Nematoda peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) merupakan masalah utama yang dihadapi oleh petani nilam di Indonesia, terutama di daerah-daerah sentra produksi nilam seperti Aceh, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Lampung, Jawa Barat, dan Jawa Tengah (Harni dan Mustika, 2000). Kerusakan akibat serangan nematoda tersebut pada tanaman nilam dapat menurunkan hasil sampai 85% (Mustika *et al.*, 1995). Selain menghambat pertumbuhan tanaman, infeksi *P. brachyurus* juga menurunkan kandungan klorofil dan kadar minyak pada kultivar yang rentan dan agak tahan (Sriwati 1999).

Penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda pada nilam pertama kali dilaporkan oleh Harni *et al.* (2007) bahwa bakteri endofit potensial digunakan sebagai agens hayati nematoda *P. brachyurus*. Selanjutnya Harni (2010), mengisolasi bakteri endofit dari perakaran nilam dan diperoleh 5 jenis bakteri endofit yaitu *Achromobacter xylosoxidans* (TT2), *Bacillus cereus* (MSK), *Alcaligenes faecalis* (NJ16), *Bacillus subtilis* (NJ57) dan *Pseudomonas putida* (EH11). Bakteri endofit tersebut potensial mengendalikan nematoda *P. brachyurus* pada tanaman nilam. Mekanisme bakteri endofit dalam mengendalikan nematoda *P. brachyurus* pada nilam di antaranya adalah menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat nematisida yaitu enzim kitinase dan antibiotik 2,4 diacetylpholoroglucinol (Harni *et al.*, 2010). Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit biasanya terekpresi pada saat bakteri endofit belum masuk ke dalam jaringan tanaman. Mekanisme ini digunakan untuk bertahan hidup (*survival*) pada saat bakteri berada di rizosfir. Metabolit yang dihasilkan bakteri endofit dapat membunuh nematoda, menekan penetasan telur, dan menurunkan mobilitas nematoda (Li *et al.*, 2002; Siddiqui dan Ehteshamul-Haque, 2001; Siddiqui dan Shaukat, 2003). Di samping itu

bakteri endofit juga dapat mengkolonisasi jaringan tanaman dan menginduksi ketahanan tanaman dengan peningkatan kadar asam salisilat, senyawa fenol dan peroksidase dalam jaringan akar (Harni *et al.*, 2012b).

Bakteri endofit sebagai biokontrol nematoda akan mempengaruhi penetrasi, reproduksi, dan populasi nematoda (Sikora *et al.*, 2007). Proses berkurangnya penetrasi nematoda ke dalam akar, karena bakteri endofit mengkolonisasi epidermis akar. Nematoda parasit berpindah seperti *P. brachyurus* menimbulkan kerusakan bersifat destruktif pada akar karena mereka mengkonsumsi isi sel akibatnya sel akan rusak dan mati. Rusaknya sel akar mengakibatkan proses penyerapan air dan hara terganggu sehingga kebutuhan tanaman tidak terpenuhi. Tidak terpenuhinya nutrisi yang dibutuhkan tanaman nilam menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat, proses fotosintesa terganggu, sehingga menyebabkan daun berwarna kuning. Terhambatnya proses tersebut mengakibatkan tanaman menjadi kerdil.

Pengaruh positif bakteri endofit terhadap pertumbuhan tanaman nilam adalah tanaman dapat tumbuh lebih baik dibanding dengan tanaman tanpa bakteri endofit. Terjadinya hal tersebut, karena bakteri endofit dapat menekan perkembangan nematoda dan juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan hormon pertumbuhan seperti indole acetic acid (IAA), sitokinin dan meningkatkan kesediaan unsur hara seperti N, P dan K (Khalid *et al.*, 2004; Thakuria *et al.*, 2004). Perlakuan bakteri endofit pada tanaman nilam dapat meningkatkan berat terna dan total minyak nilam dibanding tanaman tanpa endofit (Tabel 4) (Harni *et al.*, 2014). Perlakuan bakteri endofit *A. xylosoxidans* TT2, memberikan pengaruh tertinggi terhadap produksi terna dan total minyak nilam yaitu 4 kg dan 85 ml tetapi tidak berbeda nyata dengan *A. faecalis* NJ16 dan *P. putida* EH11 yaitu 3,56 kg dan 81 ml; 2,9 kg dan 73 ml. Hasil ini sama dengan karbofuran (nematoda sintetik) yaitu 2,94 kg dan 74 ml.

Hasil analisis kadar minyak dan *patchouli alkohol* pada perlakuan bakteri endofit tidak berpengaruh nyata terhadap kadar minyak dan *patchouli alkohol* (Tabel 3). Kadar minyak yang



Tabel 3. Pengaruh bakteri endofit terhadap produksi terna, kadar minyak dan *patchouli alcohol* tanaman nilam

No.	Isolat bakteri endofit	Terna (kg)	Kadar minyak (%)	Kadar <i>patchouli alcohol</i> (%)	Total minyak nilam (ml)
1.	<i>A. xylosoxidans</i> TT	4,00 ± 1,40a	3,03 a	33,43 a	84 a
2.	<i>B. cereus</i> MSK	2,26 ± 0,84b	3,25 a	34,35 a	59
3.	<i>A. faecalis</i> NJ16	3,56 ± 0,36ab	3,10 a	34,84 a	81
4.	<i>B. subtilis</i> NJ57	2,60 ± 0,29b	2,62 a	35,67 a	66
5.	<i>P. putida</i> EH11	2,90 ± 0,84ab	2,55 a	34,03 a	73
6.	Karbofuran	2,94 ± 0,37ab	3,03 a	34,12 a	74
7.	Tanpa bakteri endofit	2,54 ± 0,51b	2,81 a	33,15 a	66

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan,  $\alpha = 0,05$ . Sumber: Harni *et al.* (2014)

Tabel 4. Pengaruh beberapa isolat bakteri endofit terhadap jumlah puru dan populasi nematoda *Meloidogyne* spp. pada tanaman kopi

No.	Perlakuan	Jumlah puru	Pengurangan jumlah puru (%)	Populasi (ekor)	Pengurangan populasi (%)
1.	LW 15	32,3	42,9	132,4	65,6
2.	PG76	39,3	30,5	146,0	62,1
3.	PG132	22,7	59,8	98,6	74,4
4.	Karbofuran (pembanding)	32,3	42,9	150,0	61,1
5.	Kontrol +	56,6	-	385,2	-

Sumber: Harni (2014).

diperoleh adalah 2,55-3,25% dan kadar *patchouli alcohol* 33,43-35,67%. Walaupun kadar minyak dan *patchouli alcohol* tidak berbeda nyata, tetapi lebih tinggi dari yang dilaporkan Nuryani *et al.* (2005) yaitu 2,89% dan 32,95%.

### Kopi

Rendahnya produktivitas kopi Indonesia salah satunya disebabkan oleh serangan nematoda parasit tanaman yaitu *Pratylenchus coffeae*, *R. similis* dan *Meloidogyne* sp. Serangan nematoda ini dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman terganggu dan menurunkan produksi baik kuantitas maupun kualitas. Nematoda *P. coffeae* merupakan nematoda endoparasit berpindah yang menyerang akar tanaman kopi dan menyebabkan terjadinya luka akar (*root lesion*), sehingga pengangkutan hara tanaman terganggu (Wiradiputra, 2006; Harni, 2013). Luka akibat serangan nematoda juga merupakan jalan masuk bagi patogen lain, seperti jamur dan bakteri.

Penggunaan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda pada tanaman kopi telah dilaporkan oleh Mekete *et al.* (2009), bakteri endofit *Bacillus pumilus* dan *B. mycoides* digunakan untuk mengendalikan nematoda *Meloidogyne incognita* pada tanaman kopi. Kedua bakteri tersebut dapat menekan populasi dan jumlah puru akar nematoda 33% dan 39%. Harni dan Khaerati (2013) juga telah mengisolasi beberapa isolat bakteri endofit dari perakaran kopi di daerah Lampung, dan Jawa Barat. Hasil isolasi diperoleh 422 isolat dan 3 di antaranya potensial untuk mengendalikan nematoda *Pratylenchus coffea* pada tanaman kopi di rumah kaca. Bakteri endofit dapat menekan jumlah puru dan populasi nematoda *Meloidogyne* spp. pada tanaman kopi. Isolat terbaik yang dapat menekan jumlah puru dan populasi nematoda adalah *Bacillus* PG132 dan PG76 yaitu 59,8 dan 74,4%. Bakteri endofit juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman di banding dengan kontrol (Tabel 4). Isolat terbaik dalam

meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi adalah isolat *Bacillus* sp. PG76.

## PROSPEK PENGEMBANGAN BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI AGENS HAYATI NEMATODA

Prospek pengembangan bakteri endofit sebagai agens hayati nematoda sangat menjanjikan, sejalan dengan dukungan terhadap pembangunan pertanian yang ramah lingkungan, terutama pada sistem pertanian organik di negara-negara maju atau pada pertanian secara umum di negara-negara berkembang. Penggunaan bakteri endofit sebagai agens hayati mempunyai banyak kelebihan, di antaranya cara isolasi yang mudah dan dapat dibiakkan pada media buatan, cara aplikasinya mudah dan tidak berulang-ulang, serta dapat memicu pertumbuhan tanaman (Halmann, 2001; Siddiqui dan Shaukat 2003).

Bakteri endofit dapat diisolasi dari semua bagian tanaman seperti akar, batang, daun, bunga dan buah. Metode isolasi sangat mudah hanya dengan teknik sterilisasi permukaan tanaman menggunakan desinfektan, seperti sodium hipoklorit, etanol, hidrogen peroksida, merkuri klorida, atau kombinasi dari dua atau lebih senyawa tersebut (Pleban *et al.*, 1995). Di samping itu bakteri endofit dapat diperbanyak pada media buatan seperti media Nutriens agar (NA), Tryptic soya Agar (TSA), Kings B, Lauria Agar (LA).

Aplikasi bakteri endofit dapat dilakukan melalui perlakuan benih, penyiraman ke tanah, penyemprotan suspensi, dan perendaman akar. Aplikasi bakteri endofit melalui perlakuan benih dengan perendaman biji telah dilaporkan oleh Munif dan Hipi (2011) bahwa perlakuan bakteri endofit melalui perlakuan benih dapat meningkatkan panjang akar dan tinggi tanaman jagung. Selanjutnya Harni dan Khaerati (2013) melaporkan perlakuan bakteri endofit terhadap bibit kopi melalui seed treatment dapat meningkatkan persentase tumbuh, tinggi tanaman, jumlah daun, dan diameter batang. Perlakuan bakteri endofit dapat juga di aplikasikan melalui perendaman setek. Harni *et al.* (2006) menyatakan pemberian bakteri endofit

nyata mempengaruhi pertumbuhan (tinggi tanaman, jumlah daun, dan jumlah cabang akar) dan kualitas bibit (tumbuh sangat baik, seragam, daun subur).

Bakteri endofit dapat juga diaplikasikan melalui penyiraman ke dalam tanah. Munif (2001) mengaplikasikan bakteri endofit ke dalam tanah pada bibit tomat, bakteri endofit dapat meningkatkan panjang akar tomat dan menekan populasi nematoda puru akar (*Meloidogyne incognita*). Selanjutnya Harni *et al.* (2006) melaporkan bahwa perlakuan bakteri endofit penyiraman ke dalam tanah dapat menekan populasi nematoda *P. brachyurus* dan meningkatkan pertumbuhan, tetapi perlakuan dengan perendaman akar lebih baik menekan populasi nematoda dan lebih ekonomis.

Bakteri endofit sebagai agens hayati nematoda telah terbukti efektif dalam mengendalikan nematoda parasit tanaman seperti pada tanaman lada, nilam, kopi, tomat, kentang dan kedelai. Pengendalian nematoda yang banyak dilakukan saat ini adalah penggunaan nematisida sintetik. Penggunaan nematisida sintetik selain harganya yang mahal juga tidak dianjurkan untuk digunakan secara terus menerus karena dapat mencemari lingkungan, terbunuhnya organisme bukan sasaran, dan terdapatnya residu pada produk pertanian. Pembangunan pertanian saat ini diarahkan kepada pembangunan yang berwawasan lingkungan dan berkelanjutan. Penggunaan bakteri endofit salah satunya dapat menjadi teknologi pengendalian nematoda parasit tanaman sebagai pengganti nematisida sintesis karena pengaruhnya sama dalam mengendalikan nematoda. Di samping itu produk ini ramah lingkungan dan harganya lebih murah dibandingkan dengan penggunaan pestisida sintesis.

Selain sebagai agens hayati bakteri endofit juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman karena dapat menghasilkan hormon tumbuh seperti auxin, sitokinin dan pelarut P serta beberapa dapat mengfiksasi N. Penggunaan bakteri endofit juga dapat mengefisienkan penggunaan pupuk buatan (an organik). Hasil penelitian (Surette *et al.*, 2003; Asghar *et al.*, 2002), bakteri endofit dapat meningkatkan

pertumbuhan tanaman, baik secara langsung ataupun tidak langsung. Secara langsung, bakteri ini dapat menyediakan nutrisi bagi tanaman, seperti nitrogen, fosfat, dan mineral lainnya serta menghasilkan hormon pertumbuhan seperti etilen, auxin dan sitokinin (Thakuria *et al.* 2004). Efek lain dari bakteri endofit adalah peningkatan penyerapan mineral seperti besi, fosfor dan nitrogen (Sturz dan Nowak 2000; Surette *et al.* 2003). Beberapa jenis bakteri endofit seperti *Azospirillum*, *Enterobacter cloacae*, *Alcaligenes*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, *Ideonella dechlorantans*, dan *Azoarcus* sp. telah terbukti meningkatkan fiksasi nitrogen pada tanaman padi (Elbeltagy *et al.* 2001). Ladha dan Reddy (1995) melaporkan bahwa sebanyak 200 kg N/ha/tahun dapat dihasilkan oleh bakteri endofit.

Bakteri endofit dilihat dari fungsinya sebagai agens hayati dan pemicu pertumbuhan tanaman sangat prospek untuk digunakan pada sistem pertanian yang ramah lingkungan (pertanian organik). Pada saat ini produk-produk pertanian untuk di ekspor harus bebas dari bahan-bahan berbahaya bagi kesehatan seperti pestisida maupun pupuk sintetis. Prospek penggunaan biopestisida seperti agens hayati sangat terbuka, terutama pada sistem pertanian organik di negara-negara maju atau pada pertanian secara umum di negara-negara berkembang seiring dengan harga pestisida sintetis yang semakin mahal. Salah satu contohnya adalah, penggunaan biopestisida (Niranjan Raj *et al.*, 2005). Namun demikian, pengembangan biopestisida masih menghadapi kendala karena daya kerjanya lambat, dan kurang stabilitas di lapangan.

Selain peluang yang ada tersebut dalam pemanfaatan bakteri endofit sebagai agens pengendali nematoda parasit tanaman terdapat beberapa tantangan yang dapat menjadi kendala dalam pemanfaatan pengendalian hayati patogen tanaman, untuk itu perlu dicari pemecahannya. Banyak informasi tentang kegagalan pengendalian hayati di lapangan kondisi ini timbul karena pada umumnya mereka tidak atau kurang mempertimbangkan adanya tantangan di dalam mengerjakan dan menerapkan pengendalian hayati terhadap patogen tanaman.

Beberapa tantangan yang ada dalam bekerja dengan pengendali hayati, di antaranya 1) masa hidup agens hayati yang terbatas, 2) agens hayati dapat berubah fungsi, 3) terjadinya pencemaran lingkungan, dan 4) terbatasnya penyebaran agens hayati (Soesanto, 2009).

## KESIMPULAN

Nematoda parasit tanaman merupakan salah satu faktor pembatas dalam budidaya tanaman perkebunan seperti lada, nilam, kopi, jahe dan tebu. Pengendalian nematoda menggunakan bakteri endofit mempunyai prospek yang baik karena berada dalam *niche* yang sama dengan patogen dan tidak harus bersaing dalam ekosistem yang baru dan kompleks. Keunggulan lain dari bakteri endofit sebagai agens hayati adalah dapat memicu pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan auxin, sitokinin dan gibberelin dan merangsang pertumbuhan akar. Bakteri endofit dalam mengendalikan nematoda dengan mekanisme menginduksi ketahanan, kompetisi *niche* dan menghasilkan metabolit sekunder anti nematoda. Bakteri endofit akan mempengaruhi penetrasi, reproduksi, dan populasi nematoda di dalam akar. Prospek pengembangan bakteri endofit kedepan sangat terbuka karena bakteri endofit dapat diisolasi dari semua bagian tanaman, media perbanyakannya murah, aplikasi mudah dan tidak berulang-ulang. Bakteri endofit dapat bersifat agens pengendali hayati dan pemicu pertumbuhan, penggunaannya dapat mengurangi penggunaan pestisida sintetis dan pupuk organik sehingga sangat mendukung untuk pertanian yang berkelanjutan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anita, B., G. Rajendran, R. Samiyappan. 2004. Induction of systemic resistance in tomato against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* by *Pseudomonas fluorescens*. *Nematologica Mediterranea* 32: 47-51.
- Asghar, H., Z. Zahir, M. Arshad, dan A. Khaliq. 2002. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria

- and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. *Biol and Fertil Soils* 35: 231-237.
- Bacon, C.W, and S.S. Hinton. 2007. Bacterial endophytes: The endophytic niche, its occupants, and its utility. Dalam: Gnanamanickam SS. Gnanamanickam (ed.). *Plant-Associated Bacteria*. Springer, Berlin. pp. 155–194.
- Benhamou, N., RR. Belanger, and Paulitz T. 1996. Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between *Pseudomonas fluorescens* and Ri T-DNA transformed pea roots: host response to colonization by *Pythium ultimum* Trow. *Planta* 199:105-117.
- Biggs, A.R. 1992. Anatomical and physiological responses of bark tissue to mechanical injury. *Di dalam*: Blanchette, RA and Biggs, AR (ed). *Defense Mechanisms of Woody Plants Against Fungi*. Germany. pp. 13-40.
- Compant, S., B. Reiter, J. Nowak, and E. Ait Barka. 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera*. *Applied Environmental Microbiology* 71: 1685-1693.
- Elbeltagy, A., K. Nishioka, T. Salo, Ye B, T. Hamada, T. Isawa, H. Mitsam, and K. Minomusawa. 2001. Endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a *Herbaspirillum* sp. isolated from wild rice species. *Applied and Environmental microbiology*. 67: 5285-5293.
- Gao, FK, Dai, CC and Liu, XZ 2010, Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens, *African Journal of Microbiology Research* 4:1346–1351.
- Hallmann J, Kloepper JW, Rodriguez-Kabana R, Sikora RA. 1995. Endophytic rhizobacteria as antagonists of *Meloidogyne incognita* on cucumber. *Phytopathology* 85: 1136.
- Hallmann, J., A. Quadt-Hallmann, W.F. Mahaffee, and J.W. Kloepper. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology* 43: 895-914.
- Hallmann, J. 2001. Plant interaction with endophytic bacteria. Dalam: Jeger, MJ. and NJ. Spence, editor. *Biotic Interaction In Plant-Pathogen Associations*. CAB International.
- Harni, R. dan I. Mustika. 2000. Pengaruh infestasi *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* dan *Radopholus similis* pada tanaman nilam. *Buletin Balitro*. 11(2): 47-54.
- Harni, R., A. Munif, Supramana, dan I. Mustika. 2006. Pengaruh metode aplikasi bakteri endofit terhadap perkembangan nematoda peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada tanaman nilam. *Jurnal Littri* 12(4):161 – 165.
- Harni, R., A. Munif, Supramana, I. Mustika. 2007. Pemanfaatan bakteri endofit untuk mengendalikan nematode peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada tanaman nilam. *Jurnal Hayati* 14 (1): 7-12.
- Harni, R., Supramana, S.M. Sinaga, Giyanto, dan Supriadi. 2010. Pengaruh filtrat bakteri endofit terhadap mortalitas, penetasan telur dan populasi nematoda peluka akar *Pratylenchus brachyurus* pada tanaman nilam. *Jurnal littri* 16 (1): 43-47.
- Harni, R. 2010. Bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda peluka akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada tanaman nilam. Disertasi Program Doktor IPB. Bogor.
- Harni, R., Supramana, S.M. Sinaga, Giyanto, dan Supriadi. 2012b. Keefektifan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada tanaman nilam. *Jurnal Littri* 17(1):6-10.
- Harni, R. Supramana, and Supriadi. 2012a. Potential use of endophytic bacteria to control *Pratylenchus brachyurus* on patchouli. *Indonesian Journal of Agricultural Science* 13(2): 84-93.
- Harni, R. dan M.S.D. Ibrahim. 2011. Potensi bakteri endofit untuk menginduksi ketahanan tanaman terhadap infeksi *Meloidogyne incognita* pada tanaman lada. *Jurnal Littri* 17(3):118-123.

- Harni, R., Supramana, S.M. Sinaga, Giyanto, dan Supriadi. 2012b. Mekanisme bakteri endofit mengendalikan nematoda *Pratylenchus brachyurus* pada tanaman nilam. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat* 23(1):102-114.
- Harni, R. dan A. Munif. 2012. Pemanfaatan Agens hayati endofit untuk mengendalikan penyakit kuning pada tanaman lada. *Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri* 3 (3): 201-206.
- Harni, R. dan Khaerati. 2013. Evaluasi bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda *Pratylenchus coffeae* pada tanaman kopi. *Bulletin Ristri* 4(2): 109-116.
- Harni, R. 2013. Strategi pengendalian nematoda parasit pada tanaman kopi di Indonesia. Dalam: Bunga Rampai Inovasi Teknologi Tanaman Kopi untuk Perkebunan Rakyat. p107-114.
- Harni, R. 2014. Pengaruh beberapa isolat bakteri endofit terhadap nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) pada tanaman kopi. *Prosiding Perlindungan Tanaman II*, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Harni, R., Supraman, and Supriadi. 2014. Efficacy of endophytic bacteria in reducing plant parasitic nematode *Pratylenchus brachyurus*. *Indonesian Journal of Agricultural Science* 15 (1):29-34.
- Hackenberg, G, A. Muehlchen, T. Forge, and T. Vrain. 2000. *Pseudomonas chlororaphis* strain Sm3, bacterial antagonist of *Pratylenchus penetrans*. *J. Nematol* 32:183-189.
- Hasky-Gunther, K., S. Hoffmann-Hergarten, and R.A. Sikora. 1998. Resistance against the potato cyst nematode *Globodera pallida* systemically induced by the rhizobacteria *Agrobacterium radiobacter* (G12) and *Bacillus sphaericus* (B43). *Fundam. Appl. Nematol.* 21 (5):511-517.
- Kado, C.I. 1992. Plant pathogenic bacteria. Dalam: A. Balows, H. G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.-H. Schleifer (Eds.), *The Prokaryotes*. New York. Springer-Verlag.
- Khalid A, M. Arshad, and Z.A. Zahir. 2004. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *App Microb* 96:473-479.
- Kimmons, C.A., K.D. Gwinn, and E.C. Bernard. 1989. Reproduction of selected nematode species on endophyte infected tall fescue. *Phytopathology* 79: 374.
- Kloepper, JW, R. Rodriguez-Ubana, GW. Zehnder, JF. Murphy, EA. Sikora, and C. Fernández. 1999. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases, *Australasian Plant Pathology* 28:21-26.
- Ladha, J.K. and PM. Reddy. 1995. Introduction: assessing opportunities for nitrogen fixation in rice a frontier project. *Plant and Soil* 194:1-10.
- Li, W., DP. Roberts, PD. Dery, LSF. Meyer, S. Lohrke, RD. Lumsden, and KP. Hebban. 2002. Broad spectrum antibiotic activity and disease suppression by the potential biocontrol agent *Burkholderia ambifaria* BC-F. *Crop Protection* 21:129-135.
- Mahdy, M., J. Hallmann, and RA. Sikora. 2001a. Influence of plant species on the biological control activity of the antagonistic rhizobacterium *Rhizobium etli* strain G12 toward the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkd Toegep Biol Wet* 66: 655-662.
- Mahdy, M., J. Hallmann., and RA. Sikora. 2001b. Biological control of different species of the root-knot nematode *Meloidogyne* with the plant health-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* S18. *Mededelingen Landbouwkundige Faculteit Universiteit Gent*.
- Mekete, T., J. Hallmann, K. Sebastian, and R. Sikora. 2009. Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonise *Meloidogyne incognita*. *Nematology*, 11(1):117-127.
- Munif, A. 2001. Studies on the importance of endophytic bacteria for the biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. *Inaugural-Dissertation*. Institut fur

- Pflanzenkrankheiten der Rheinischen Friedrich – Wilhelms. Universitat Bonn.
- Munif, A., J. Hallmann, and R.A. Sikora. 2013. The influence of endophytic bacterie on *Meloidogyne incognita* infection and tomato plant growth. *J. ISSAAS* 19(2):68-74.
- Munif, A. dan R. Harni. 2011. Keefektifan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda *Meloidogyne incognita* pada tanaman lada. *Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri* 2(3): 377-382.
- Munif dan Hipi. 2011. Keragaman bakteri endofit dan rizosfer dari tanaman jagung (*Zea mays*) pada media tanam dan varietas yang berbeda. *Seminar Nasional Serealia, Maros, 3-4 Oktober 2011*.
- Munif, A. dan Kristina. 2012. Hubungan bakteri endofit dan nematoda parasit penyebab penyakit kuning pada tanaman lada di Provinsi Bangka Belitung. *Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri* 3(1):71-78.
- Mustika I. 1990. Studies on the interaction of *M. incognita*, *R. similis* and *Fusarium solani* on black pepper (*Piper nigrum* L.). *Wageningen Agric Univ. Netherlands* 127 p.
- Mustika, I., A. Rahmat, dan Suyanto. 1995. Pengaruh pupuk, pestisida dan bahan organik terhadap pH tanah, populasi nematoda dan produksi nilam. *Medkom Penelitian dan Pengembangan Tantri* 15:70-74.
- Mustika, I. 1996. Penyakit kuning lada dan upaya pengendaliannya. *Monograf lada. Balitro. Hlm.* 130-141.
- Mustika I. 2000. Penyakit kuning dan cara pengendaliannya. *Dalam Hama dan Penyakit Utama Tanaman Lada Serta Teknik Pengendaliannya. Booklet. Proyek Penelitian PHT Tanaman Perkebunan. Hlm.* 74-84.
- Niranjan Raj, S., HS. SHETTY, and MS. Reddy. 2005. PGPR: Potential green alternative for plant productivity. *In: Z.A. Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer, Dordrecht, The Netherlands. p.* 197-216
- Nuryani Y, Emizar, and Wiratno. 2005. Patchouli Cultivation. Circular No. 12. Research Institute for Medicinal and Aromatic Crops. Bogor.
- Oku, H. 1994. *Plant Pathogenesis and Disease Control*. London: Lewis Publ.
- Oostendorp, M. and R.A. Sikora. 1990. 177 *uitro* interrelationships between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. *Revue de Nématologie*, 13: 269-274.
- Pleban, S., F. Ingel, and I. Chet. 1995. Control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in the greenhouse using endophytic *Bacillus* spp. *European J. Plant Pathol* 101:665-672.
- Petrini O. 1992. Fungall endhophytes of tree leaves. Dalam: Andrews, J.H., and S.S. Hirano, [editor]. *Microbial Ecology of Leaves*. Berlin: Springer Verlag. [CABI] Commonweal Agricultural Bureaux International. 2004. *Crop Protection Compendium*. P. 179 – 196
- Racke, J, and R.A. Sikora. 1992. Isolation, formulation and antagonistic activity of rhizobacteria toward the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Soil Biology and Biochemistry* 24, 521-526.
- Reitz, M., K. Rudolph, I. Schroder, S. Hoffmann-Hergarten, J. Hallmann, and R.A. Sikora. 2000. Lipopolysaccharides of *Rhizobium etli* G12 act in potato roots as an inducing agent of systemic resistance to infection by cyst nematode *Globodera pallida*. *Applied and Environ. Microbiol* 66(8):3515-3518.
- Schulz B, Rommert A, Dammann U, Aust H, Strack D. 1999. The endophyte-host interaction: a balanced antagonism. *Mycological Research* 103: 1275-1283.
- Siddiqui, I.A., and S.S. Shaukat. 2003. Endophytic bacteria: prospects and opportunities for the biological control of plant parasitic nematodes. *Nematological Meditteranca* 31:111-120.
- Siddiqui, I.A., S. Ehteshamul-Haque, and SS. Shaukat. 2001. Use of rhizobacteria in the control of root rot-root knot disease complex of mungbean. *Journal of Phytopathology* 149, 337–346.

- Sikora, R.A., K. Schafer, and A.A. Dababat. 2007. Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant parasitic nematodes. *Australasian Plant Pathology* 36:124-134.
- Sikora, R.A. and S. Hoffmann-Hergarten. 1993. Biological control of plant parasitic nematodes with plant-health-promoting rhizobacteria. Pp. 166-172. *In: Pest management: Biotechnology based technologies*. R.D. Lumsden and J.L. Vaughn (eds). American Chemical Society, Washington, USA.
- Sriwati, R. 1999. Ketahanan beberapa kultivar nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) terhadap *Pratylenchus irachyurus* (Godfrey) Filipjev. & Stekhoven [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Sturz, A.V., B.R. Christie, B.G. Matheson, W.J. Arsenault, and N.A. Buchanan. 1999. Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens. *Plant Pathol* 48:360-369.
- Sturz, A.V, and Nowak, J. 2000. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Appl Soil Ecol* 15:183-190.
- Soesanto, L. 2009. Pengendalian hayati patogen tanaman : peluang dan Tantangan dalam menunjang ketahanan pangan berkelanjutan. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Pada Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto. P 46.
- Surette, M.A., AV. Sturz, RR. Lada, J. Nowak. 2003. Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. *sativus*): their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth. *Plant Soil* 253:381-390
- Thakuria, D., N.C. Talukdar, C. Goswami, S. Hazarika, and R.C. Boro. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. *Current Science* 86:978-985.
- Tian H, Riggs RD, Crippen DL. 2000. Control of soybean cyst nematode by chitinolytic bacteria with chitin substrate. *J. Nematology* 32:370-376.
- Tian, B., J. Yang, and K. Zhang. 2007. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. *FEMS Microbiol Ecol* 61 : 197-213.
- Van Loon L.C. and P.A.H.M Bakker. 2006. Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria. Di dalam: Siddiqui ZA. Publishing Springer. *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Nederland. p 39-66.
- Wiryadiputra, S. 2006. World Reports Indonesia. In Sauza R.M. Ed. *Plant-Parasitic Nematodes of Coffee*. Springer. P. 277-284.