

Penapisan Aktinomiset Rizosfer Tanaman Liliaceae sebagai Agens Pengendali Hayati *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*

Screening of Liliaceae Rhizosphere Actinomycetes as Biological Control Agents of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*

Eka Wijayanti, Abdjad Asih Nawangsih*, Efi Toding Tondok
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Penyakit moler yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman bawang merah. Aktinomiset memiliki potensi sebagai agens pengendali hayati *F. oxysporum* f. sp. *cepae* karena kemampuannya dalam memproduksi senyawa bioaktif. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi dan menyeleksi isolat-isolat aktinomiset yang dapat menekan pertumbuhan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* dan memacu pertumbuhan tanaman bawang merah. Penelitian dibagi menjadi empat tahap, yaitu: isolasi, seleksi, karakterisasi, dan identifikasi isolat aktinomiset yang potensial. Sebanyak 43 isolat berhasil diisolasi dari tanaman Liliaceae dan sebanyak 14 isolat berhasil diseleksi berdasarkan hasil uji keamanan hayati. Hasil uji antagonisme menunjukkan bahwa 14 isolat menghasilkan penghambatan terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cepae* sebesar 3.67%–53.67%. Di antara 14 isolat tersebut, sebanyak 13 isolat mampu memproduksi enzim kitinase dengan indeks kitinolitik sebesar 0.31–1.38. Lima isolat terpilih yaitu: ABF42, ABF59, ACF45, AEF35, dan AEF45, mampu melarutkan fosfat dan memproduksi IAA dengan konsentrasi 24.82–82.88 ppm, namun hanya tiga isolat yang mampu memfiksasi nitrogen. Berdasarkan sikuen gen 16S rRNA, lima isolat tersebut berturut-turut teridentifikasi sebagai: *Streptomyces rameus*, *S. lydicus*, *S. panaciradicis*, *S. seoulensis*, dan *S. fuscichromogenes*.

Kata kunci: enzim kitinase, IAA, penyakit moler, *Streptomyces* spp., uji antagonisme

ABSTRACT

Fusarium basal rot caused by *F. oxysporum* f. sp. *cepae* is one of the major diseases of shallot in Indonesia. The use of biocontrol agents is one alternative method for controlling this disease. Actinomycetes isolates have the potential as biological control agents for *F. oxysporum* f. sp. *cepae* because of its ability to produce bioactive compounds. This study aims to evaluate and select actinomycete isolates with the ability to inhibit the growth of *F. oxysporum* f. sp. *cepae* and potentially promote the growth of shallot crops. The study was divided into four stages: i.e. isolation, selection, characterization, and identification of the potential isolates. Forty-three isolates of actinomycetes were successfully isolated from Liliaceae plants, and 14 isolates were selected based on the results of the biosafety test. Antagonism test showed that 14 isolates produced inhibition of *F. oxysporum* f. sp. *cepae* by 3.67%–53.67%. Among them, 13 isolates produced chitinase enzyme with a chitinolytic index of 0.31–1.38. Five selected isolates, i.e., ABF42, ABF59, ACF45, AEF35, and AEF45, were able to solubilize phosphate and produced IAA at the concentration range of 24.82–82.88 ppm, but only three isolates were able to grow on media without nitrogen. Based on the sequences of 16S rRNA, the five isolates were identified as *Streptomyces rameus*, *S. lydicus*, *S. panaciradicis*, *S. seoulensis*, dan *S. fuscichromogenes*.

Keywords: antagonism test, basal rot disease, chitinase enzyme, IAA, *Streptomyces* spp.

*Alamat penulis korespondensi: Departement Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor. 16680.
Tel: 0251-8629354, Faks: 0251-8629362; Surel: ryuntania@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Penyakit moler (*fusarium basal rot*) yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman bawang merah. Patogen ini menimbulkan insidensi penyakit sebesar 27.00%–74.33% di India (Shamyuktha *et al.* 2018). *F. oxysporum* f. sp. *cepae* juga dilaporkan dapat terbawa benih dengan tingkat infeksi hingga 30% (Fadhilah *et al.* 2014). Pengendalian *F. oxysporum* f. sp. *cepae* menggunakan fungisida sintetik dinilai belum efektif. Selain itu, penggunaan fungisida sintetik yang tidak bijaksana dapat menimbulkan resistensi patogen serta membunuh mikroba bermanfaat, sehingga diperlukan alternatif pengendalian yang ramah lingkungan.

Pengendalian hayati penyakit moler menggunakan aktinomiset belum banyak dilakukan. Namun demikian, aktinomiset dilaporkan mampu menurunkan insidensi penyakit busuk akar yang disebabkan oleh *F. oxysporum* dan *Sclerotium rolfsii* pada tanaman *Aconitum carmichaelii* sebesar 76% (Li *et al.* 2019). Aktinomiset merupakan bakteri Gram positif, berfilamen penghasil senyawa bioaktif terbesar yang bersifat antimikrob (Retnowati *et al.* 2018). Selain itu, aktinomiset juga menghasilkan enzim kitinase dan β -1,3-glucanase (Goudjal *et al.* 2016) yang dapat mendegradasi dinding sel cendawan. Sebagai *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR), aktinomiset dilaporkan dapat meningkatkan tinggi tanaman, panjang akar, bobot kering, dan pigmen fotosintesis karena kemampuannya dalam menghasilkan fitohormon (auksin, giberelin, dan sitokinin) (El-Tarabily *et al.* 2020), siderofor, ammonia, melarutkan fosfat, serta menghasilkan hidrogen sianida (Chukwuneme *et al.* 2020).

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi dan menyeleksi isolat-isolat aktinomiset yang dapat menekan pertumbuhan *F. oxysporum* f. sp. *cepae* serta memiliki potensi dalam pemacuan pertumbuhan tanaman bawang merah sebagai PGPR.

BAHAN DAN METODE

Isolasi Aktinomiset dari Rizosfer Tanaman Liliaceae

Sampel tanah untuk isolasi aktinomiset diambil dari rizosfer empat spesies tanaman anggota famili Liliaceae, yaitu *Zephyranthes rosea*, *Z. candida*, *Hippeastrum puniceum*, dan *Hymenocallis littoralis*. Sebanyak 1 g sampel tanah (*bulk sample*) dilarutkan dalam NaCl 0.85% dan dipanaskan pada suhu 60 °C selama 1 jam. Suspensi tanah tersebut kemudian diinokulasikan pada cawan petri yang berisi media *water yeast extract agar* (WYE) (Crawford *et al.* 1993). Setelah diinkubasikan pada suhu ruang selama 7 hari, koloni yang tumbuh kemudian dipisahkan sehingga diperoleh biakan murni.

Uji Keamanan Hayati

Uji Reaksi Hipersensitivitas. Uji ini dilakukan terhadap semua isolat aktinomiset menggunakan tanaman tembakau. Reaksi positif ditandai dengan munculnya gejala nekrosis pada bagian yang diinjeksi. Isolat yang memberikan reaksi hipersensitif tidak digunakan untuk pengujian selanjutnya karena bersifat patogen terhadap tumbuhan (Klement dan Goodman 1967).

Uji Hemolisis. Isolat aktinomiset ditumbuhkan pada medium agar-agar darah (*sheep blood agar* 5%) dan diinkubasi selama 5 hari. Terdapat tiga tipe hemolisis, yaitu hemolisis α , β , dan γ . Isolat yang menghasilkan reaksi hemolisis α atau β tidak digunakan dalam pengujian selanjutnya karena berpotensi menjadi patogen pada manusia dan hewan mamalia (Beutin 1991).

Uji Patogenisitas. Umbi bawang merah disterilisasi permukaannya menggunakan NaOCl 1%. Umbi kemudian dibelah secara vertikal dan sebanyak satu loop aktinomiset dioleskan pada bagian pangkal umbi (*basal plate*) bawang merah. Umbi yang sudah diinokulasi kemudian diinkubasikan selama 5 hari pada suhu ruang. Isolat yang menyebabkan nekrosis pada umbi bawang merah tidak digunakan pada pengujian

selanjutnya karena berpotensi menjadi patogen pada bawang merah (Fadhilah *et al.* 2014).

Uji Antagonisme Aktinomiset terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cepae*

Uji antagonisme dilakukan menggunakan metode kultur ganda. Isolat *F. oxysporum* f. sp. *cepae* diisolasi dari umbi bawang merah bergejala moler yang diambil dari Desa Larangan, Kecamatan Larangan, Kabupaten Brebes, Jawa Tengah. Daya hambat (%) aktinomiset dihitung dengan rumus:

$$P (\%) = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%, \text{ dengan}$$

dengan R1, jari-jari hifa *F. oxysporum* f. sp. *cepae* pada kontrol; dan R2, jari-jari hifa yang tumbuh menuju aktinomiset.

Uji Kemampuan Menghasilkan Enzim Kitinase, Melarutkan Fosfat, Menghasilkan IAA dan Menambat Nitrogen

Aktinomiset terpilih selanjutnya diuji kemampuannya dalam memacu pertumbuhan tanaman. Pengujian yang dilakukan ialah sebagai berikut: 1) menghasilkan enzim kitinase menggunakan metode Hsu dan Lockwood (1975); 2) melarutkan fosfat menggunakan metode dan medium Pikovskaya (1948); 3) menghasilkan IAA dengan metode Gordon dan Weber (1951); dan 4) menambat nitrogen (N) menggunakan metode Döbereiner *et al.* (1976).

Identifikasi Molekuler

Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode Abd-Elsalam *et al.* (2003). DNA diamplifikasi menggunakan primer spesifik untuk aktinomiset 27F (Bruce *et al.* 1992) dan 16Sact1114R (Kyselková *et al.* 2008). Amplifikasi dilakukan pada reaksi campuran dengan total volume 25 μ L meliputi: Bioline MyTaq HS Red Mix 2 \times 12.5 μ L, 1 μ L forward primer (10 μ M), 1 μ L reverse primer (10 μ M), 9.5 μ L Nuclease-Free Water (NFW), dan 1 μ L templat DNA (100 ng μ L⁻¹). Kondisi PCR diawali dengan proses pre-denaturasi (95 °C selama 4 menit), denaturasi (95 °C selama 30 detik), aneling (55 °C selama 30 detik), ekstensi (72 °C selama 1 menit), dan pasca

ekstensi (72 °C selama 7 menit). Siklus selama denaturasi hingga ekstensi sebanyak 30 siklus (Fatmawati *et al.* 2019). Produk PCR divisualisasi pada gel agarosa 1% dan migrasi pada tegangan 50 V selama 50 menit kemudian diamati di bawah UV transiluminator. Produk PCR dikirimkan ke PT Genetika Science Indonesia, untuk proses sekuensing. Sekuens yang diperoleh diedit menggunakan program *Bioedit Sequence Alignment Editor*. Sekuens hasil edit kemudian dianalisis menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool-Nucleotida* (BlastN) dari situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

Analisis Data

Data daya hambat aktinomiset terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cepae* dianalisis menggunakan sidik ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji tukey dengan taraf 5%. Perangkat lunak yang digunakan ialah SAS versi 9.0.

HASIL

Sebanyak 43 isolat aktinomiset berhasil diisolasi dari rizosfer tanaman Liliaceae (Tabel 1). Populasi aktinomiset tertinggi diisolasi dari rizosfer *Z. rosea*, sedangkan keragaman aktinomiset tertinggi diperoleh dari rizosfer *H. littoralis*. Populasi dan keragaman aktinomiset terendah berasal dari tanaman *H. puniceum*.

Berdasarkan hasil uji keamanan hayati, sebanyak 14 isolat menunjukkan reaksi hipersensitif pada tanaman tembakau, 24 isolat menyebabkan reaksi hemolisis pada medium agar-agar darah dan 4 isolat menunjukkan reaksi positif pada uji patogenisitas. Sebanyak 14 isolat menunjukkan reaksi negatif terhadap ketiga uji tersebut (data tidak ditampilkan). Isolat-isolat yang menunjukkan reaksi negatif pada uji keamanan hayati digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Daya hambat aktinomiset terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cepae* tertinggi sebesar 53.67% ditunjukkan oleh isolat ABF 59 dan yang terendah ditunjukkan oleh isolat ACF 33, yaitu sebesar 3.67% (Tabel 2). Perlakuan ABF 59 dan ACF 45 menghasilkan zona

bening masing-masing sebesar 2.3 cm dan 1.5 cm (Gambar 1). Sebanyak 13 isolat mampu memproduksi enzim kitinase. Indeks kitinolitik terbesar ditunjukkan oleh isolat AEF 35 (Tabel 3).

Lima isolat potensial—ABF 59, ACF 45, ABF 42, dan AEF 35—dipilih berdasarkan hasil uji antagonis dan kemampuan memproduksi enzim kitinase. Lima isolat tersebut dapat melarutkan fosfat

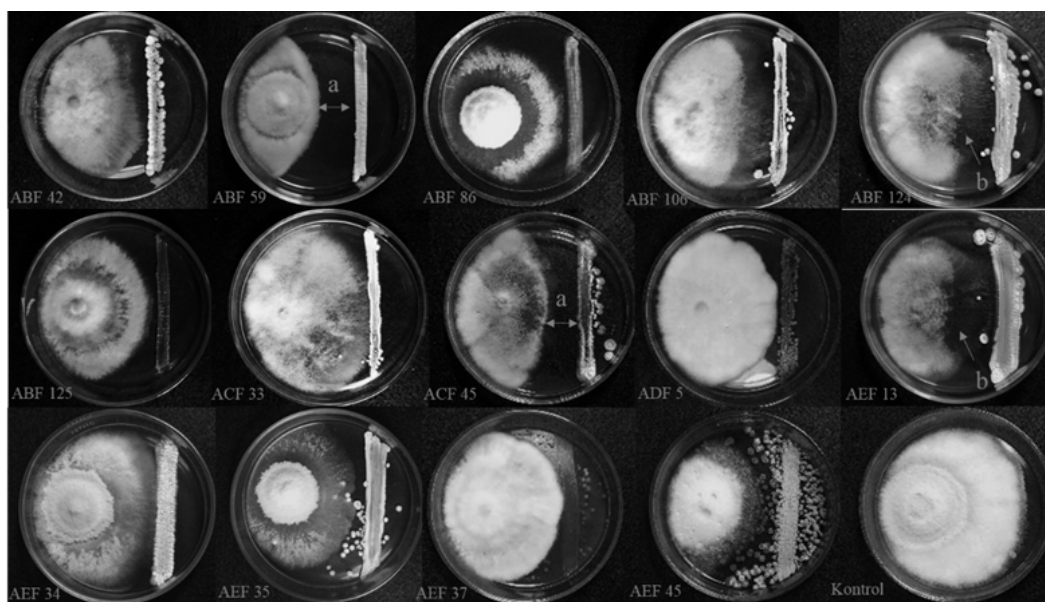
Tabel 1 Populasi dan jumlah jenis aktinomiset hasil isolasi dari tanaman famili Liliaceae

| Nama tanaman | Populasi aktinomiset (cfu g ⁻¹) | Jumlah jenis aktinomiset |
|--------------------------------|---|--------------------------|
| <i>Zephyranthes rosea</i> | 3.4 × 10 ⁷ | 13 |
| <i>Zephyranthes candida</i> | 6.2 × 10 ⁶ | 10 |
| <i>Hippeastrum puniceum</i> | 6.4 × 10 ⁶ | 4 |
| <i>Hymenocallis littoralis</i> | 8.8 × 10 ⁶ | 16 |

Tabel 2 Persentase daya hambat aktinomiset terhadap *F. oxysporum* f. sp. *cepae* dan lebar zona bening yang dihasilkan pada hari ke-9 setelah inkubasi

| Kode isolat | Daya hambat (%) | Lebar zona bening (cm) | Kode isolat | Daya hambat (%) | Lebar zona bening (cm) |
|-------------|-----------------|------------------------|-------------|-----------------|------------------------|
| ABF 42 | 15.00 bc | - | ADF 5 | 8.33 bc | - |
| ABF 59 | 53.67 a | 2.3 | AEF 13 | 12.67 bc | - |
| ABF 86 | 11.33 bc | - | AEF 34 | 9.00 bc | - |
| ABF 106 | 9.67 bc | - | AEF 35 | 14.00 bc | - |
| ABF 124 | 15.00 bc | - | AEF 37 | 14.33 bc | - |
| ABF 125 | 13.33 bc | - | AEF 45 | 19.33 b | - |
| ACF 33 | 3.67 bc | - | Kontrol | 0.00 c | - |
| ACF 45 | 45.67 a | 1.5 | | | |

Angka pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji tukey pada taraf 5%



Gambar 1 Kemampuan penghambatan aktinomiset terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp *cepae* pada hari ke-9 setelah inkubasi. Kode pada masing-masing gambar menunjukkan kode isolat aktinomiet yang digunakan. a, Zona bening antara miselium cendawan dan isolat aktinomiset; dan b, Miselium cendawan yang berhadapan dengan aktinomiset mengalami penipisan.

berdasarkan pada uji karakterisasi fisiologi. Indeks pelarutan fosfat tertinggi ditunjukkan oleh isolat ACF 45. Kelima isolat juga menghasilkan IAA dengan konsentrasi 24.82–82.88 ppm. Produksi IAA tertinggi ditunjukkan oleh isolat AEF 45. Isolat ABF 42, ACF 45, dan AEF 45 mampu menambat nitrogen (Tabel 4).

Hasil identifikasi molekuler menggunakan primer spesifik aktinomiset 27F dan 16Sact1114R, diperoleh identitas lima aktinomiset potensial yaitu: *Streptomyces rameus* (ABF 42), *S. lydicus* (ABF 59), *S. panaciradicis* (ACF 45), *S. seoulensis* (AEF 35), dan *S. fuscichromogenes* (AEF 45). Nilai homologi yang didapatkan lebih dari 99% (Tabel 5).

PEMBAHASAN

Aktinomiset rizosfer merupakan aktinomiset potensial sebagai agens pengendali hayati *F. oxysporum* f. sp. *cepae*. Aktinomiset dilaporkan dapat menekan pertumbuhan patogen tular tanah seperti *F. solani* f. sp. *pisi* (Soltanzadeh *et al.* 2016), *S. rolfsii*, *F. oxysporum* (Li *et al.* 2020), *Rhizoctonia solani* (Zamoum *et al.* 2017), dan *Pythium aphanidermatum* (Hassanisaadi *et al.* 2021).

Sebanyak 14 isolat aktinomiset pada penelitian ini mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f. sp. *cepae*. Zona bening yang terbentuk pada perlakuan ABF 59 dan ACF 45 menunjukkan bahwa aktinomiset memproduksi senyawa yang

Tabel 3 Indeks kitinolitik aktinomiset yang berasal dari rizosfer tanaman *Liliaceae*

| Kode isolat | Indeks lisis | Kode isolat | Indeks lisis |
|-------------|--------------|-------------|--------------|
| ABF 42 | 0.90 ± 0.46 | ACF 45 | 0.57 ± 0.06 |
| ABF 59 | 0.82 ± 0.35 | ADF 5 | 0.52 ± 0.20 |
| ABF 86 | 0.48 ± 0.03 | AEF 13 | 0.74 ± 0.30 |
| ABF 106 | 0.78 ± 0.11 | AEF 34 | 0.54 ± 0.13 |
| ABF 124 | 0.31 ± 0.12 | AEF 35 | 1.38 ± 0.85 |
| ABF 125 | 0.79 ± 0.26 | AEF 37 | 0.57 ± 0.06 |
| ACF 33 | 0 ± 0 | AEF 45 | 0.45 ± 0.13 |

Tabel 4 Karakteristik isolat aktinomiset berdasarkan kemampuan pelarutan fosfat, kemampuan memproduksi IAA dan menambat nitrogen

| Kode isolat | Indeks pelarutan fosfat | Konsentrasi IAA (ppm) | Kemampuan menambat nitrogen |
|-------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| ABF 42 | 0.95 ± 0.08 | 36.33 | + |
| ABF 59 | 1.50 ± 0.36 | 24.82 | - |
| ACF 45 | 2.06 ± 0.20 | 76.82 | + |
| AEF 35 | 0.07 ± 0.07 | 31.67 | - |
| AEF 45 | 0.77 ± 0.22 | 82.88 | + |

Keterangan: -, Bereaksi negatif; dan +, Bereaksi positif.

Tabel 5 Homologi sekuen 16sRNA lima isolat terpilih dengan aksesori GenBank

| Kode isolat | Isolat GenBank | Query cover (%) | Homologi (%) | No. aksesori |
|-------------|--------------------------------------|-----------------|--------------|--------------|
| ABF 42 | <i>Streptomyces rameus</i> NBRC 3782 | 100 | 99.46 | NR 112497.1 |
| ABF 59 | <i>S. lydicus</i> NBRC 13058 | 100 | 99.73 | NR 112352.1 |
| ACF 45 | <i>S. panaciradicis</i> IMR-8 | 100 | 99.52 | NR 134200.1 |
| AEF 35 | <i>S. seoulensis</i> NBRC 16668 | 100 | 99.61 | NR 041432.1 |
| AEF 45 | <i>S. fuscichromogenes</i> m16 | 100 | 99.83 | NR 156030.1 |

bersifat antibiosis. Mariastuti *et al.* (2018) melaporkan bahwa aktinomiset menghasilkan senyawa bioaktif yang bersifat antifungi, antibakteri, antivirus, antioksidan, antikanker, serta insektisidal. Lebih lanjut dilaporkan bahwa sebanyak 10 000 antibiotik dihasilkan oleh aktinomiset (Bérdy 2012).

Aktinomiset juga dilaporkan memproduksi enzim hidrolitik seperti protease, selulase, dan kitinase (Song *et al.* 2020). Sebanyak 13 isolat aktinomiset dari 14 isolat yang diuji pada penelitian ini mampu memproduksi enzim kitinase. Enzim kitinase berfungsi untuk mendegradasi kitin yang merupakan komponen utama penyusun dinding sel *F. oxysporum* (Schoffemeer *et al.* 1999).

Lima isolat aktinomiset potensial, yaitu: ABF 42, ABF 59 dan ACF 45, AEF 35 dan AEF 45 mampu melarutkan fosfat dan memproduksi IAA. Isolat ABF 42, ACF 45, dan AEF 35 mampu menambat nitrogen. *Indole-3-acetic acid* (IAA) ialah auksin utama di sebagian besar tanaman. IAA disintesis dari triptofan atau indol dalam daun primordia, daun muda, dan pada saat pembentukan biji. IAA juga memiliki peran dalam meningkatkan laju fotosintesis, konduktansi stomata, tingkat transpirasi, serta menurunkan konsentrasi interseluler CO₂ (Li *et al.* 2019). Nitrogen dan fosfat merupakan unsur makro yang dibutuhkan tanaman untuk metabolisme dan merupakan penyusun nukleotida yang berperan dalam sintesis asam amino dan protein. Nitrogen juga merupakan komponen utama klorofil pada tumbuhan (Grusak 2001).

Aktinomiset rizosfer didominasi oleh genus *Streptomyces* sebesar 95.3% (Williams dan Wellington 1982). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa spesies-spesies yang teridentifikasi dalam penelitian ini memiliki peran sebagai agens biokontrol dan PGPR. Phankhajon *et al.* (2016) menyatakan bahwa *S. rameus* memiliki aktivitas algicida terhadap *Microcystis aeruginosa*. *S. lydicus* M01 dilaporkan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman mentimun. *S. lydicus* M01 dapat memproduksi IAA, siderofor, dan melarutkan fosfat (Wang *et al.* 2020). *S. lydicus* A01 dari Cina dilaporkan dapat memproduksi senyawa antibiotik *natamycin*. Isolat tersebut

juga menghambat pertumbuhan beberapa cendawan patogen seperti *F. oxysporum*, *Botrytis cinerea*, dan *Monilinia laxa* (Lu *et al.* 2008). Aktinomiset *S. panaciradicis* dilaporkan menghasilkan senyawa antibiotik *actinomycin D* (Jumpathong *et al.* 2019), memproduksi IAA, menambat nitrogen dan melarutkan fosfat serta memacu pertumbuhan hipokotil, radikula dan akar lateral tanaman jagung (Wahyudi *et al.* 2019). *S. seoulensis* Lac 19 memiliki aktivitas antifungi terhadap *Rigidoporus microporus*, memproduksi enzim katalase, enzim kitinase, siderofor, dan β -1,3-glukanase (Chaiharn *et al.* 2019). Belum ada laporan mengenai kemampuan *S. fuscichromogenes* sebagai agens biokontrol. *S. fuscichromogenes* merupakan spesies baru aktinomiset yang diisolasi dari tanah hutan hujan tropis di Cina (Zhang *et al.* 2017).

DAFTAR PUSTAKA

- Abd-Elsalam KA, Aly IN, Abdel-Satar MA, Khalil MS, Verreet JA. 2003. PCR identification of *Fusarium* genus based on nuclear ribosomal-DNA sequence data. *Afr J Biotechnol.* 2(4):82–85. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJB2003.000-1016>.
- Bérdy J. 2012. Thoughts and fact about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *J Antibiot.* 65:385–395. DOI: <https://doi.org/10.1038/ja.2012.54>.
- Beutin L. 1991. The different hemolysins of *Escherichia coli*. *Med Microbiol Immunol.* 180:167–182. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00215246>.
- Bruce KD, Hiorns WD, Hobman JL, Osborn AM, Strike P, Ritchie DA. 1992. Amplification of DNA from native populations of soil bacteria by using the polymerase chain reaction. *Appl Environ Microbiol.* 58(10):3413–3416. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.58.10.3413-3416.1992>.
- Chaiharn M, Sujada N, Pathom-aree W, Lumyong S. 2019. Biological control of *Rigidoporus microporus* the cause of white root disease in rubber using PGPRs in vivo. *Chiang Mai J Sci.* 46(5):850–866.
- Chukwuneme CF, Babalola OO, Kutu FR, Ojuederie OB. 2020. Characterization of

- actinomycetes isolates for plant growth promoting traits and their effects on drought tolerance in maize. *J Plant Interactions*. 15(1):93–105. DOI: <https://doi.org/10.1080/17429145.2020.1752833>.
- Crawford DL, Lynch JM, Whipps JM, Ousley MA. 1993. Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. *Appl Environ Microbiol*. 59(11):3899–3905. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.59.11.3899-3905.1993>.
- Döbereiner J, Marriel TE, Neru M. 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum*. Beijerinck. *Can J Microbiol*. 22:1464–1473. DOI: <https://doi.org/10.1139/m76-217>.
- El-Tarabily KA, El-Baghdady KZ, Al-Khajeh AS, Ayyash MM, Al-jneibi RS, El-Keblawy A, Abu-Qamar SF. 2020. Polyamine-producing actinobacteria enhance biomass production and seed yield in *Salicornia bigelovii*. *Biol Fert Soils*. 56:499–519. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01450-3>.
- Fadhilah S, Wiyono S, Surahman M. 2014. Pengembangan teknik deteksi *Fusarium* patogen pada umbi benih bawang merah (*Allium ascalonicum*) di laboratorium. *J Hort*. 24(2):171-178. DOI: <http://dx.doi.org/10.21082/jhort.v24n2.2014.p171-178>.
- Fatmawati U, Meryandini A, Nawangsih AA, Wahyudi AT. 2019. Screening and characterization of actinomycetes isolated from soybean rhizosphere for promoting plant growth. *Biodiversitas*. 20(10):2970–2977. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d201027>.
- Gordon SA, Weber RP. 1951. Colorimetric estimation of indole acetic acid. *Plant Physiol*. 26(1):192–195. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.26.1.192>.
- Goudjal Y, Zamouma M, Sabaou N, Mathieu F, Zitouni A. 2016. Potential of endophytic *Streptomyces* spp. for biocontrol of *Fusarium* root rot disease and growth promotion of tomato seedlings. *Biocontrol Sci Technol*. 26(12):1691–1705. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1234584>.
- Grusak MA. 2001. *Plant Macro and Micronutrient Minerals*. Encyclopedia of Life Sciences. DOI: <https://doi.org/10.1038/npg.els.0001306>.
- Hassanisaadi M, Bonjar GHS, Hosseinipour A, Abdolshahi R, Barka EA, Saadoun I. 2021. Biological control of *Pythium aphanidermatum*, the causal agent of tomato root rot by two *Streptomyces* root symbionts. *Agronomy*. 11(5):846. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy11050846>.
- Hsu SC, Lockwood J. 1975. Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. *Appl Microbiol*. 29(3):422–426. DOI: <https://doi.org/10.1128/am.29.3.422-426.1975>.
- Jumpathong J, Nuengchamnon N, Masin K, Nakaew N, Suphrom N. 2019. Thin layer chromatography-bioautography assay for antibacterial compounds from *Streptomyces* sp. TBRC 8912, a newly isolated actinomycin D producer. *Chiang Mai J Sci*. 46(5):839–849.
- Klement Z, Goodman R. 1967. The hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol*. 51(11):17–44. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.py.05.090167.000313>.
- Kyselková M, Kopecký J, Felföldi T, Cermák L, Omelka M, Grundmann GL, Moënnelocoz Y, Ságová-Marecková M. 2008. Development of a 16s rRNA gene-based prototype microarray for the detection of selected actinomycetes genera. *Antonie van Leeuwenhoek*. 94(3):439–453. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10482-008-9261-z>.
- Li J, Guan J, Yuan L, Hou J, Wang C, Liu F, Yanga Y, Lu Z, Chen G, Zhu S. 2019. Effects of exogenous IAA in regulating photosynthetic capacity, carbohydrate metabolism and yield of *Zizania latifolia*. *Sci Hort*. 253:276–285. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.058>.
- Li Y, Guo O, He F, Li Y, Xue Q, Lai H. 2020. Biocontrol of root diseases and growth promotion of the tuberous plant *Aconitum*

- carmichaelii* induced by Actinomycetes are related to shifts in the rhizosphere microbiota. *Microb Ecol.* 79(1):134-147. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-019-01388-6>.
- Lu CG, Liu WC, Qiu JY, Wang HM, Liu T, Liu DW. 2008. Identification of an antifungal metabolite produced by a potential biocontrol actinomycetes strain A01. *Braz J Microbiology.* 39(4):701–707. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822008000400020>.
- Mariastuti HD, Listiyowati S, Wahyudi AT. 2018. Antifungal activity of soybean rhizosphere actinomycetes producing bioactive compounds against *Fusarium oxysporum*. *Biodiversitas.* 19(6):2127–2133. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190619>.
- Phankhajon K, Somdee A, Somdee T. 2016. Algicidal activity of an actinomycete strain, *Streptomyces rameus*, against *Microcystis aeruginosa*. *Water Science & Technology.* 74 (6). 1398–1406. DOI: <https://doi.org/10.2166/wst.2016.305>.
- Pikovskaya RI. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Microbiology.* 17:362–370.
- Retnowati Y, Moeljopawiro S, Djohan TS, Soetarto ES. 2018. Antimicrobial activities of actinomycete isolates from rhizospheric soils in different mangrove forests of Torosiaje, Gorontalo, Indonesia. *Biodiversitas.* 19(6):2196-2203. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190627>.
- Schoffelmeer EAM, Klis FM, Sietsma JH, Cornelissen BJC. 1999. The cell wall of *Fusarium oxysporum*. *Fungal Genet Biol.* 27(2–3):275–282. DOI: <https://doi.org/10.1006/fgbi.1999.1153>.
- Shamyuktha J, Sheela J, Rajinimala N, Jeberlinprabina B, Ravindran C. 2018. Survey on onion basal rot disease incidence and evaluation of aggregatum onion (*Allium cepa* L. Var. *Aggregatum* Don.) genotypes against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 7(12):3644-3657. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.907.058>.
- Soltanzadeh M, Nejad MS, Bonjar GHS. 2016. Application of soil-borne actinomycetes for biological control against fusarium wilt of chickpea (*Cicer arietinum*) caused by *Fusarium solani* fsp *pisi*. *J Phytopathol.* 164(11–12):967–978. DOI: <https://doi.org/10.1111/jph.12517>.
- Song L, Jiang N, Wei S, Lan Z, Pan L. 2020. Isolation, screening, and identification of actinomycetes with antifungal and enzyme activity assays against *Colletotrichum dematium* of *Sarcandra glabra*. *Mycobiology.* 48(1):37–43. DOI: <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1716604>.
- Wahyudi AT, Priyanto JA, Fijrina HN, Mariastuti HD, Nawangsih AA. 2019. *Streptomyces* spp. from rhizosphere soil of maize with potential as plant growth promoter. *Biodiversitas.* 20(9):2547–2553. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200916>.
- Wang M, Xue J, Ma J, Feng X, Ying H, Xu H. 2020. *Streptomyces lydicus* M01 regulates soil microbial community and alleviates foliar disease caused by *Alternaria alternata* on cucumbers. *Front Microbiol.* 11:942. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00942>.
- Williams ST, Wellington EMH. 1982. Actinomycetes. Di dalam: Page AL, Miller RH, Keency OR, editor. *Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties.* Ed ke-2. Madison (USA): American Society of Agronomy. hlm: 969–987
- Zamoum M, Goudjal Y, Sabaou N, Mathieu F, Zitouni A. 2017. Development of formulations based on *Streptomyces rochei* strain PTL2 spores for biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato seedlings. *Biocontrol Sci Technol.* 27(6):723–738. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583157.2017.1334257>.
- Zhang H, Zheng J, Zhuang J, Xin Y, Zheng X, Zhang J. 2017. *Streptomyces fuscichromogenes* sp. nov., an actinomycete from soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 67:77–81. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001573>.