

Keefektifan Bakteri Endofit dan Bakteri Perakaran Pemacu Pertumbuhan Tanaman dalam Menekan Penyakit Layu Bakteri pada Tomat

The Effectiveness of Endophytic Bacteria and Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biocontrol Agents of Tomato Bacterial Wilt Disease

Zhenita Vinda Tri Handini, Abdjad Asih Nawangsih*
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Penyakit layu bakteri yang disebabkan *Ralstonia solanacearum* merupakan penyakit penting pada tanaman tomat. Potensi bakteri endofit dan bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman sebagai agens hayati untuk mengendalikan penyakit telah banyak dilaporkan. Penelitian dilakukan untuk menentukan keefektifan bakteri endofit dan bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman sebagai agens hayati untuk penyakit layu bakteri pada tomat. Dua isolat bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman, *Pseudomonas fluorescens* RH4003, *Bacillus subtilis* AB89, dan 4 isolat bakteri endofit, BC10, *B. amyloliquefaciens*, dan *Staphylococcus epidermidis* BC4, diaplikasikan secara tunggal atau bersama-sama (perlakuan kombinasi) dengan metode penyiraman suspensi pada bibit tomat. Tanaman yang diberi perlakuan kombinasi bakteri *P. fluorescens* RH4003 dengan bakteri endofit isolat BC10 (F1*BC10) menunjukkan pertambahan tinggi yang paling besar, walaupun bobot kering tanaman antar perlakuan tidak berbeda nyata. Perlakuan *S. epidermidis* BC4 secara tunggal menyebabkan insidensi paling rendah dan berbeda nyata dengan perlakuan kontrol.

Kata kunci: *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, pengendalian hayati, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus epidermidis*

ABSTRACT

Bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* is an important disease on tomato. Endophytic bacteria and plant growth promoting rhizobacteria has been reported as potential biocontrol agent for many plant diseases. Research was conducted to determine the effectiveness of some isolates of endophytic bacteria (BC10, *Bacillus amyloliquefaciens*, dan *Staphylococcus epidermidis* BC4) and plant growth promoting rhizobacteria (*Pseudomonas fluorescens* RH4003, *Bacillus subtilis* AB89) as biocontrol agents for tomato wilt disease. Bacterial isolates was applied as soil drench on tomato seedling in single or combination treatments. Combination of *P. fluorescens* RH4003 and isolate BC10 (F1*BC10) enhanced the highest plant height, although plant dry mass among treatments was not significantly different. Single application of *S. epidermidis* BC4 was significantly suppressed disease incidence.

Key words: *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, biological control, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus epidermidis*

*Alamat Penulis Korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Jalan Kamper, Bogor 16680
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: asnawangsih@yahoo.com

PENDAHULUAN

Penyakit layu bakteri merupakan salah satu penyakit penting pada tomat yang dapat menurunkan hasil panen. Gejala layu bakteri ialah antara lain munculnya akar adventif pada batang jika kondisi lingkungan kurang menguntungkan bagi patogen dan adanya oose bakteri yang berwarna keabu-abuan atau seperti benang-benang putih halus yang keluar dari batang yang dipotong.

Beberapa metode pengendalian penyakit layu bakteri yang telah dilakukan diantaranya ialah penanaman varietas tahan, penggunaan pestisida, rotasi tanaman, sanitasi, serta pengendalian menggunakan agens hayati yang bersifat antagonis terhadap patogen. Bakteri endofit dan bakteri perakaran yang bersifat menginduksi pertumbuhan tanaman dilaporkan memiliki potensi untuk digunakan sebagai agens hayati pada beberapa kasus penyakit tanaman (Sharma *et al.* 2005; Vega *et al.* 2005). Pengendalian penyakit layu bakteri pada tomat dengan menggabungkan bakteri endofit dan perakaran pemacu pertumbuhan tanaman belum pernah dilakukan sebelumnya. Sampai saat ini pengendalian dilakukan hanya dengan mengaplikasikan bakteri endofit atau perakaran pemacu pertumbuhan tanaman secara terpisah.

Bakteri endofit merupakan mikrob yang hidup dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya dan akan bersaing dengan patogen (Reiter *et al.* 2002). Penggunaan mikrob endofit memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan penggunaan mikrob antagonis lain, di antaranya ialah mikrob endofit akan tetap ada atau bertahan selama perkembangan tanaman dan terus memberikan perlindungan bagi tanaman.

Bakteri akar perakaran pemacu pertumbuhan tanaman telah banyak diteliti untuk mengendalikan layu bakteri. *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus subtilis* yang merupakan bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman dilaporkan dapat mengendalikan penyakit layu bakteri pada tomat (Nawangsih 2006).

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji keefektifan kombinasi bakteri endofit dengan bakteri akar perakaran pemacu pertumbuhan tanaman dalam menekan perkembangan penyakit layu bakteri pada tomat secara *in planta*.

BAHAN DAN METODE

Tanaman Uji

Medium tanam yang digunakan dalam pembibitan merupakan campuran kompos dan sekam dengan perbandingan 1:1. Benih tomat disemai dan setelah berumur 3 minggu bibit tomat dipindahkan ke dalam kantong plastik berisi medium tanam untuk aplikasi di rumah kaca dan di kebun percobaan.

Medium tanam yang digunakan untuk uji bakteri endofit dan bakteri akar bakteri pemacu pertumbuhan tanaman terdiri atas tanah steril, kompos steril, dan tanah yang telah terinfestasi bakteri *R. solanacearum*. Medium tanam tersebut dimasukkan ke dalam kantong plastik berdiameter 20 cm dengan susunan dari bawah yang terdiri atas tanah steril dengan ketebalan ± 6 cm, tanah terinfestasi *R. solanacearum* dengan ketebalan ± 9 cm, lalu ditutup lagi dengan tanah steril dengan ketebalan ± 10 cm.

Inokulum Bakteri Endofit, PPT, dan *R. solanacearum*

Bakteri endofit (*P. fluorescens* RH4003 dan *B. subtilis* AB89), bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman (isolat BC4, BC10 dan BL10) dan bakteri patogen *R. solanacearum* yang digunakan adalah koleksi Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Fakultas Pertanian, IPB. Bakteri endofit dan bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman diremajakan pada medium agar-agar nutrien (AN) dalam cawan petri dan *R. solanacearum* diremajakan pada medium agar-agar King's B Agar. Bakteri endofit dan bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman yang digunakan dalam percobaan ini selanjutnya disebut sebagai bakteri agens hayati.

Suspensi bakteri yang disimpan pada suhu -20 °C didiamkan sampai mencair, kemudian diambil sebanyak 100 μ L dan disebarkan pada permukaan medium AN dalam cawan petri.

Bakteri agens hayati yang tumbuh selanjutnya disiram dengan 5 mL air steril dan digosok menggunakan jarum ose hingga terbentuk suspensi. Sebanyak 1 mL suspensi tersebut diinokulasikan ke dalam 250 mL medium cair nutrisi dan digoyang menggunakan alat pengocok selama 24–48 jam.

Uji Pengaruh Bakteri Pertumbuhan Tanaman

Bibit tomat berumur 3 minggu disiram akarnya dengan suspensi agens hayati sesuai perlakuan. Untuk perlakuan tunggal setiap bibit disiram dengan 50 mL suspensi agens hayati dan untuk perlakuan kombinasi disiram sebanyak 25 mL dari masing-masing agens hayati yang dikombinasikan. Untuk perlakuan kontrol tanaman sehat, bibit tomat disiram dengan 50 mL air. Perlakuan yang diberikan, yaitu K, perlakuan patogen tetapi tanpa agens hayati (Kontrol); *P. fluorescens* RH4003 (F1); *B. subtilis* AB89 (A); *S. epidermidis* BC4 (B); bakteri endofit BC10 (BC10); bakteri endofit BL10 (BL10); *P. fluorescens* RH4003 + *S. epidermidis* BC4 (F1* B); *P. fluorescens* RH4003 + bakteri endofit BC10 (F1*BC10); *P. fluorescens* RH4003 + bakteri endofit BL10 (F1*BL10); *B. subtilis* AB89 + *S. epidermidis* BC4 (A* B); *B. subtilis* AB89 + bakteri endofit BC10 (A* BC10); *B. subtilis* AB89 + bakteri endofit BL10 (A* BL10).

Bibit tomat yang telah diberi perlakuan selanjutnya dipindah ke dalam kantong plastik dengan medium tanam yang telah mengandung *R. solanacearum*. Percobaan disusun dalam rancangan acak kelompok dengan ulangan sebanyak 3 kali sebagai kelompok. Dalam satu unit perlakuan terdiri atas 5 tanaman.

Penyiraman dalam rangka pemeliharaan dilakukan sesuai kebutuhan. Pengamatan terhadap pertambahan tinggi tanaman dan penghitungan nilai *area under height of plant growth curve* (AUHPGC) dilakukan setiap minggu hingga tanaman berumur 5 minggu setelah tanam (MST). Nilai AUHPGC dihitung menggunakan rumus Van der Plank (1963) yang dimodifikasi, yaitu menggunakan data pertambahan tinggi tanaman.

$$AUHPGC = \sum_{i=1}^n \left(\frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Y, insidensi penyakit pada pengamatan minggu ke-i; t, waktu (hari).

Pengujian Pengaruh Bakteri Agens Hayati terhadap Penyakit Layu Bakteri pada Tomat di Kebun Percobaan

Bibit tomat yang telah berumur 3 minggu disiram dengan agens hayati sebanyak 100 mL untuk aplikasi tunggal dan 50 mL dari masing-masing agens hayati untuk aplikasi kombinasi. Tanaman perlakuan kontrol sehat disiram dengan 100 mL air. Setelah disiram, bibit dipindahkan ke kebun percobaan yang sudah terinfestasi *R. solanacearum*.

Lahan percobaan dibagi menjadi 3 blok. Dalam satu blok terdiri atas 12 bedeng per unit perlakuan yang ditanami dengan 20 bibit tomat, setiap lubang tanam terdiri atas satu bibit tomat. Setiap ulangan terdiri atas 12 plot sehingga dalam satu lahan terdiri atas 36 plot per petak.

Pengamatan dilakukan setiap 2 minggu selama 7 minggu dan peubah yang diamati ialah insidensi penyakit layu bakteri. Insiden penyakit (IP) dihitung dengan rumus yang disampaikan oleh Unterstenhofer (1963):

$$IP = \frac{n}{N} \times 100\%, \text{ dengan}$$

IP, insidensi penyakit; n, jumlah tanaman yang terserang, N, jumlah tanaman yang diamati.

Selanjutnya AUDPC dihitung dengan rumus Van der Plank (1963):

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i), \text{ dengan}$$

Y, insidensi penyakit; t, hari.

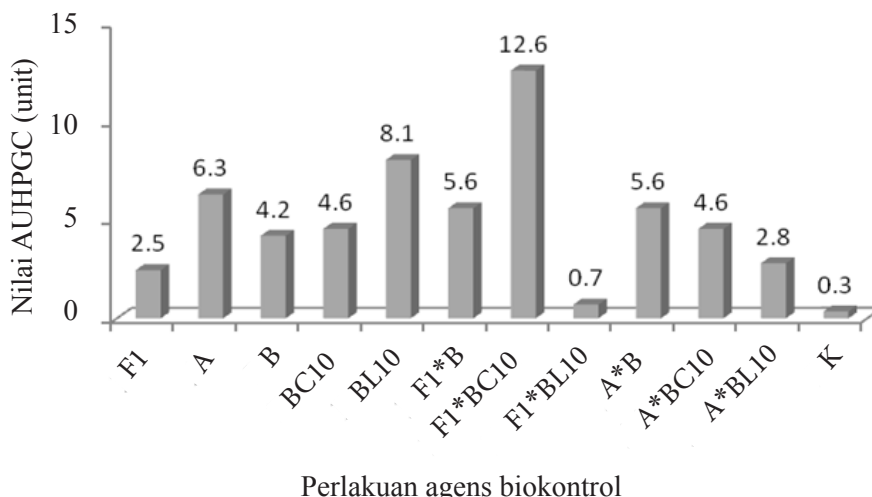
Penghitungan terhadap indeks penekanan penyakit (keefektifan pengendalian) dilakukan menggunakan rumus:

$$\text{Indeks penekanan penyakit} = \frac{DIc - DIb}{DIc} \times 100\%$$

DIc, insidensi penyakit pada perlakuan kontrol; DIb, insidensi penyakit pada perlakuan agens hayati.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam dengan menggunakan program SAS versi 9.1 dan dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf 5%.



Gambar 1 Nilai *area under height of plant growth curve* (AUHPGC) pada berbagai perlakuan bakteri endofit dan bakteri akar pemacu pertumbuhan tanaman secara tunggal dan kombinasi di rumah kaca dari pengamatan 1-5 minggu setelah tanam. F1, *Pseudomonas fluorescens* RH4003; A, *Bacillus subtilis* AB89; B, *Staphylococcus epidermidis* BC4; BC10, bakteri endofit isolat BC10; BL10, *B. amyloliquefaciens*; K, kontrol.

HASIL

Pertambahan Tinggi Tanaman Tomat, Masa Inkubasi, dan Bobot Kering Tanaman

Tanaman yang diberi perlakuan kombinasi bakteri *P. fluorescens* RH4003 dengan bakteri endofit isolat BC10 (F1*BC10) menunjukkan nilai AUHPGC paling tinggi, yaitu sebesar 12.6 unit dibandingkan dengan perlakuan kontrol, maupun perlakuan lainnya (Gambar 1). Bobot kering tanaman pada semua perlakuan tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Tabel 1).

Indeks Penyakit Layu Bakteri di Kebun Percobaan

Aplikasi agens hayati *S. epidermidis* BC4 secara tunggal (B) dan campuran antara *B. subtilis* AB89 dengan *B. amyloliquefaciens* (A*BL10) menghasilkan nilai AUDPC paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lain termasuk kontrol (K) (Gambar 2).

Pada pengamatan 1 MST, insidensi penyakit pada tanaman yang diberi perlakuan *P. fluorescens* RH4003 (F1) secara tunggal dan campuran antara *B. subtilis* AB89 dan *B. amyloliquefaciens* (A*BL10) nyata lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Insidensi penyakit pada pengamatan 7 MST yang paling rendah terjadi pada perlakuan *S. epidermidis*

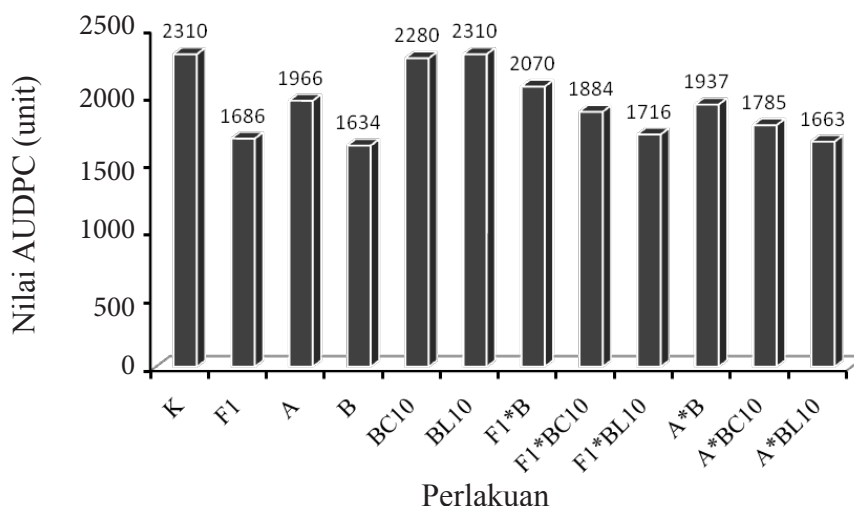
Tabel 1 Rerata bobot kering tanaman tomat pada berbagai perlakuan bakteri endofit dan bakteri akar pemacu pertumbuhan secara tunggal dan kombinasi di rumah kaca

Perlakuan	Bobot kering tanaman* (g)
F1	15.9 ± 7.7 a
B12	12.4 ± 3.1 a
BC4	12.7 ± 7.0 a
BC10	11.6 ± 0.8 a
BL10	10.8 ± 2.1 a
F1*BC4	14.9 ± 9.9 a
F1*BC10	9.4 ± 3.8 a
F1*BL10	11.7 ± 2.6 a
B12*BC4	12.4 ± 3.0 a
B12*BC10	12.6 ± 1.2 a
B12*BL10	11.3 ± 2.4 a
K	13.7 ± 2.8 a

F1, *Pseudomonas fluorescens* RH4003; B12, *Bacillus subtilis* AB89; BC4, *Staphylococcus epidermidis*; BC10, bakteri endofit isolat BC10; BL10, *B. amyloliquefaciens*; K, kontrol.

*Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%.

BC4 (B), yaitu sebesar 71.7%. Nilai tersebut nyata lebih rendah jika dibandingkan dengan insidensi penyakit pada kontrol, yaitu sebesar 90.0% (Tabel 2).



Gambar 2 Nilai *area under disease progress curve* (AUDPC) insidensi penyakit layu bakteri pada berbagai perlakuan bakteri endofit dan bakteri akar pemacu pertumbuhan tanaman secara tunggal dan kombinasinya di kebun percobaan dari pengamatan 1-7 minggu setelah tanam; F1, *Pseudomonas fluorescens* RH4003; A, *Bacillus subtilis* AB89; B, *Staphylococcus epidermidis* BC4; BC10, bakteri endofit isolat BC10; BL10, *Bacillus amyloliquefaciens*; K, kontrol.

Tabel 2 Insidensi penyakit layu bakteri pada berbagai perlakuan bakteri endofit dan bakteri perakaran pemacu pertumbuhan secara tunggal dan kombinasinya di kebun percobaan

Perlakuan	Insidensi penyakit* (%)			
	1 MST	3 MST	5 MST	7 MST
F1	15.0 ± 13.2 c	43.3 ± 12.6 ab	61.7 ± 24.7 b	73.3 ± 15.3 bc
A	35.0 ± 22.9 abc	45.0 ± 21.8 ab	71.7 ± 22.5 ab	83.3 ± 16.1 abc
B	23.3 ± 22.5 abc	33.3 ± 29.3 b	61.7 ± 20.2 b	71.7 ± 14.4 c
BC10	51.7 ± 41.6 ab	63.3 ± 33.3 a	73.3 ± 20.8 ab	88.3 ± 16.1 ab
BL10	53.3 ± 5.8 a	63.3 ± 11.5 a	78.3 ± 16.1 a	86.7 ± 10.4 abc
F1B	45.0 ± 36.1 abc	55.0 ± 26.5 ab	73.3 ± 20.8 ab	78.3 ± 16.1 abc
F1BC10	26.7 ± 23.6 abc	48.3 ± 15.3 ab	70.0 ± 18.0 ab	78.3 ± 12.6 abc
F1BL10	21.7 ± 20.2 bc	35.0 ± 8.7 b	66.7 ± 18.9 ab	76.7 ± 5.8 abc
AB	31.7 ± 30.1 abc	45.0 ± 31.2 ab	70.0 ± 22.9 ab	83.3 ± 16.1 abc
ABC10	28.3 ± 36.9 abc	48.3 ± 27.5 ab	61.7 ± 15.3 b	73.3 ± 11.5 bc
ABL10	15.0 ± 15.0 c	36.7 ± 18.9 b	66.7 ± 14.4 ab	76.7 ± 18.9 abc
K	50.0 ± 27.8 ab	65.0 ± 22.9 a	76.7 ± 15.3 ab	90.0 ± 8.7 a

F1, *Pseudomonas fluorescens* RH4003; A, *Bacillus subtilis* AB89; B, *Staphylococcus epidermidis* BC4; BC10, bakteri endofit isolat BC10; BL10, *Bacillus amyloliquefaciens*; K, kontrol.

*Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%.

Penekanan Insidensi Penyakit oleh Bakteri Agens Hayati

Besarnya penekanan insidensi penyakit oleh bakteri endofit dan bakteri agens hayati (indeks penekanan penyakit) pada 1 MST menunjukkan bahwa indeks penekanan tertinggi terjadi pada tanaman yang diberi perlakuan dengan *P. fluorescens* RH4003 (F1)

secara tunggal dan campuran antara *B. subtilis* AB89 dengan *B. amyloliquefaciens* (A*BL10). Indeks penekanan umumnya menurun pada pengamatan 2-7 MST. Pada pengamatan 7 MST indeks penekanan tertinggi terjadi pada tanaman yang diberi perlakuan *S. epidermidis* BC4 (B) secara tunggal (Tabel 3).

Tabel 3 Indeks penekanan insidensi penyakit layu bakteri pada berbagai perlakuan bakteri endofit dan bakteri pemacu pertumbuhan tanaman secara tunggal dan kombinasinya di kebun percobaan

Perlakuan	Indeks penekanan insidensi penyakit (%)			
	1 MST	3 MST	5 MST	7 MST
F1	70.0	33.3	19.6	18.6
A	30.0	30.8	6.5	7.4
B	53.4	48.8	19.6	20.3
BC10	0.0	2.6	4.4	1.9
BL10	0.0	2.6	0.0	3.7
F1B	10.0	15.4	4.4	13.0
F1BC10	46.6	25.7	8.7	13.0
F1BL10	56.6	46.2	13.0	14.8
AB	36.6	30.8	8.7	7.4
ABC10	43.4	25.7	19.6	18.6
ABL10	70.0	43.5	13.0	14.8

F1, *Pseudomonas fluorescens* RH4003; A, *Bacillus subtilis* AB89; B, *Staphylo-coccus epidermidis* BC4; BC10, bakteri endofit isolat BC10; BL10, *Bacillus amylo-liquefaciens*; *Relatif dibandingkan dengan kontrol; MST, minggu setelah tanam.

PEMBAHASAN

Indeks penekanan yang dihasilkan oleh bakteri endofit *P. fluorescens* yang diaplikasikan secara tunggal dan campuran antara *B. subtilis* AB89 dengan *B. amyloliquefaciens* dapat mencapai 70% tetapi hanya sampai 1 minggu setelah tanam. Pada pengamatan minggu berikutnya indeks penekanannya menurun lebih dari 30%. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofit baik yang diaplikasikan secara tunggal maupun dalam campuran dengan frekuensi aplikasi pada awal tanam saja belum mampu menekan penyakit dalam jangka panjang. Untuk mengatasi hal tersebut perlu dilakukan aplikasi dengan frekuensi yang lebih banyak.

Salah satu faktor keberhasilan agens hayati dalam menekan penyakit antara lain ialah kemampuannya dalam mengkolonisasi niche yang sama dengan patogen. Compant *et al.* (2005) mengemukakan bahwa bakteri akar pemacu pertumbuhan tanaman, sangat bergantung pada kemampuannya, baik untuk memanfaatkan lingkungan yang spesifik maupun beradaptasi terhadap perubahan kondisi lingkungannya.

Berbagai sumber bakteri endofit merupakan fokus yang sangat menarik saat

ini. Lokasinya yang berada dalam jaringan tanaman menjadikan posisi mereka yang kuat dalam mempengaruhi nutrisi tanaman, katabolisme polutan, respons terhadap tekanan atau pertahanan dan penyerangan patogen (Bent dan Chanway 2002; Melnick *et al.* 2008). Bakteri endofit merupakan pengkoloni internal yang mempunyai keuntungan lebih sebagai agens hayati dibandingkan dengan pengkoloni rizosfer (Hallmann *et al.* 2000). Oleh karena tanaman menyediakan tempat dan nutrisi maka bakteri dapat berkembang dalam kondisi kompetisi yang sangat kurang dan menutupi bagian dalam tanaman dari serangan patogen.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa bakteri endofit dan bakteri perakaran pemacu pertumbuhan tanaman dan diaplikasikan secara tunggal yang memberikan penekanan relatif paling tinggi ialah *S. epidermidis* BC4 dan *P. fluorescens* RH4003. Aplikasi campuran bakteri agens hayati yang memberikan penekanan terhadap perkembangan penyakit paling tinggi adalah campuran antara *B. subtilis* AB89 dan *B. amyloliquefaciens* BL10.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini terselenggara dengan dana dari sebagian Program Penelitian Desentralisasi-Hibah Bersaing yang dibiayai dari DIPA IPB dengan nomor kontrak 01/13.24.4/SPP/ PHB/2011, tanggal 28 Maret 2011.

DAFTAR PUSTAKA

- Bent E, Chanway CP. 2002. Potential for misidentification of spore-forming *Paenibacillus polymyxa* isolat as an endophyte by using culture-based methods. *Appl Environ Microbiol.* 68:4650–4657. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.68.9.4650-4652.2002>.
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clement C, Barka EA. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanism of action, and future prospect. *Appl Environ Microbiol.* 71(9):4951–4959. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>.
- Hallmann J, Quadt-Halman A, Miller WG, Sikora RA, Lindow SE. 2000. Endophytic colonization of plants by the biocontrol agent *Rhizobium etli* G12 in relation to *Meloidogyne incognita* infection. *Phytopathology.* 91:415–422. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.4.415>.
- Melnick RL, Zidack NK, Bailey BA, Maximova SN, Gultinan M, Backman PA. 2008. Bacterial endophytes: *Bacillus* spp. from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. *Biol Control.* 46:46–56. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.022>.
- Nawangsih AA. 2006. Seleksi dan karakterisasi bakteri biokontrol untuk mengendalikan penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada tomat [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Nawangsih AA, Damayanti I, Wiyono S, Kartika JG. 2010. Selection and characterization of endophytic bacteria as biocontrol agents of tomato bacterial wilt disease. *Hayati.* 18(2):66–70. DOI: <http://dx.doi.org/10.4308/hjb.18.2.66>.
- Reiter B, Pfeifer U, Schwab H, Sessitsch A. 2002. Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Appl Environ Microbiol.* 68:2261–2268. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.68.5.2261-2268.2002>.
- Sharma PK, Sarita S, Prell J. 2005. Isolation and characterization of an endophytic bacterium related to *Rhizobium/Agrobacterium* from wheat (*Triticum aestivum* L.) roots. *Current Science.* 89:608–610.
- Unterstenhofer G. 1963. The basic principles of crop protection field trials. *Pflanzerschutz Nachrichten Bayer.* 29(2):155.
- Van der Plank JE. 1963. *Plant Disease: Epidemics an Control.* London (GB): Academic Pr.
- Vega FE, Pava-Ripoll M, Posada F, Buyer JS. 2005. Endophytic bacteria in *Coffea arabica* L. *J Basic Microbiol.* 45:371–380. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jobm.200410551>.