

ANALISIS SENYAWA ANTIFUNGAL BAKTERI ENDOFIT ASAL TANAMAN JAGUNG (*Zea mays* L.)

Analysis Antifungal Compound Of Endophytic Bacteria From Maize (*Zea mays* L.)

Andini Hanif dan Rini Susanti

Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

andinihanif@umsu.ac.id

ABSTRACT

Endophytic bacteria reported can produce metabolite as antifungal compound. This study was aimed to knowing and obtain antifungal compound wick are produced of endophytic bacteria to control fungal pathogen. Isolation of endophytic bacteria was done using surface sterilization method, furthermore hypersensitive reaction test of bacteria was done for selection pathogenicity of bacteria. Endophytic bacteria was tested their antagonism against fungal pathogen for selection the potential of endophytic bacteria. Isolate of endophytic bacteria which have highest growth inhibitor would be extracted and analyzed the antifungal compound. The result showed that threeisolate of endophytic bacteria wick one potentially in inhibiting *fungal pathogen* are isolate EF14III, ER1I and ER101. Isolate bacteria ER1I was the most effective in inhibiting the growth of fungal pathogen. Antifungal compound in isolate bacteria ER1I are fenol, *lauric acid*, *propenoic acid*, and *cyclohexanone*.

Keywords: Antifungal compound, Endophytic Bacteria, Fungal pathogen

A. PENDAHULUAN

Bakteri endofit adalah bakteri yang terdapat dalam jaringan tanaman sehat yang tidak menimbulkan gejala penyakit dan tidak merugikan tanaman inang. Bakteri endofit dapat diisolasi dan diekstraksi pada media tumbuh bakteri dengan teknik sterilisasi permukaan. Saat ini, mikroba endofit banyak diteliti karena memiliki manfaat dan efek positif pada tanaman inang seperti antimikroba, hormon pertumbuhan, fiksasi nitrogen, mobilitas fosfat, produksi siderofor, induksi SAR dan ISR, serta meningkatkan ketahanan terhadap stres lingkungan (Hallmann *et al.* 1997).

Penelitian untuk memperoleh bakteri endofit dari tanaman jagung telah banyak dilakukan, mengingat manfaat endofit yang sangat banyak. Bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman jagung, yaitu bakteri dari genus *Bacillus* sp., *Burkholderia* sp., *Klebsiella* sp., *Pantoea* sp. (Ikeda *et al.* 2013). Menurut Fisher *et al.* (1992), bakteri endofit dari hasil isolasi bagian batang tanaman jagung diperoleh beberapa bakteri endofit yaitu *Pseudomonas fluorescen*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella terrigena*, *P. corrugata*, *P. marginalis*, dan *Vibrio* sp. Berdasarkan penelitian Orole dan Adejumo

(2011), bakteri endofit yang diperoleh dari hasil isolasi akar dan biji jagung yaitu *Cellulomonas* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Pediococcus* sp., *Microbacterium* sp., *Azospirillum* sp., *Kurtia* sp., dan *Enterobacter* sp.

Mikroba endofit diketahui menghasilkan senyawa aktif yang berpotensi sebagai senyawa antimikroba (Ezra *et al.* 2004). Penggunaan bakteri endofit sebagai agens hayati memiliki keuntungan dibandingkan mikroba antagonis lainnya dikarenakan mikroba endofit sudah terbentuk, hidup, dan bertahan di dalam jaringan selama perkembangan tanaman dan memberi perlindungan bagi tanaman. Kelebihan bakteri endofit sebagai agens hayati dibandingkan dengan bakteri rizosfer selain karena keberadaannya lebih terlindungi dan kemampuannya dalam kolonisasi di dalam jaringan tanaman, kelebihan lainnya adalah proses translokasi senyawa metabolit yang dihasilkan ke dalam jaringan tanaman lebih baik (Hallmann *et al.* 1997).

Banyak penelitian yang menghasilkan produk alami antimikroba yang diisolasi dari bakteri endofit. Senyawa metabolit yang memiliki aktivitas antimikroba yang diisolasi dari endofit terdiri dari beragam struktur

termasuk alkaloid, peptida, steroid, terpenoid, fenol, kuinon, dan flavonoid. Senyawa yang diisolasi dari ekstrak bakteri endofit dengan aktivitas antimikroba memberikan peluang untuk memanfaatkan bakteri endofit sebagai sumber baru untuk produksi antibiotik dan biofungisida (Yu *et al.* 2010). Senyawa antibiotik polipeptida basitrasin dilaporkan dihasilkan oleh bakteri *Bacillus licheniformis* dan *B. Subtilis* dan senyawa basitrasin tersebut telah diproduksi dalam skala industri. Berdasarkan penelitian Chen *et al.* (2009), senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 yaitu surfactin, bacillomycin, fengycin, peptida, dan iron siderophore bacilibactin, yang mempunyai aktivitas anti cendawan. Mondol *et al.* (2013), menyebutkan bahwa *Bacillus* memproduksi senyawa metabolit sekunder berupa lipopeptida, polypeptida, macrolactones, asam lemak, polyketides, dan isocoumarins. Senyawa phenazine sebagai senyawa metabolit sekunder oleh bakteri *Pseudomonas chlororaphis* berperan sebagai antagonis dan aktivitas anti cendawan terhadap cendawan patogen *Sclerotium* sp. (Poritsanos 2005). Berdasarkan penelitian Elshafie *et al.* (2013), senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri *Bulkhoderia* sp. adalah liquid hydrocarbon cyclic terpene dan diidentifikasi sebagai senyawa *cyclohexene 1-methyl-4-(1-methylethenyl)* dan juga senyawa *4-flavanone (4H-1-Benzopyran-4-one, 2, 3-dihydro-2-phenyl)* kedua senyawa volatil tersebut dilaporkan memiliki aktivitas anti cendawan. Bakteri endofit *Streptomyces aureofaciens* diisolasi diisolasi dari jaringan akar *Zingiber officinale* Rosc. Uji antagonis *S. aureofaciens* terhadap cendawan patogen *Colletotrichum musae* dan *Fusarium oxysporum* terdapat zona hambat pada masing-masing pertumbuhan cendawan patogen. Bahan aktif utama dari filtrat *S. aureofaciens* diidentifikasi sebagai *5,7-dimetoksi-4-p-methoxyphenylcoumarin* dan *5,7dimetoksi-4-phenylcoumarin*, senyawa tersebut memiliki aktivitas anti cendawan cendawan *C. musae* dan *F. oxysporum* (Taechowisan *et al.* 2005). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan oleh bakteri endofit yang bersifat sebagai bahan antifungal terhadap cendawan patogen.

B. METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah kertas cakram ukuran 0,6 cm (Oxoid), syringe milipore filter 0,22 μm , media Potato Dextrose Agar (PDA), media Trypton Soya Agar/Broth (TSA/TSB), media Luria Bertani /LB (tryptone 12.5 g; NaCl 6.25 g; yeast extract 6.25 g; aquades 1 L), media Mueller Hinton Broth/MHB (beef extract 2 g; acid hydrolysate of casein 17.5 g; starch 1.5 g; aquades 1 L), media Water Agar (WA), fungisida sintetik (bahan aktif Metalaksil35%), blank disc paper, isolat bakteri endofit asal tanaman jagung varietas Scada asal kecamatan Medan Selayang Sumatera Utara, dan cendawan patogen diperoleh dari benih jagung varietas lokal DK771 asal Kecamatan Stabat Sumatera Utara dan benih jagung hibrida varietas New Honey asal Sang Hyang Seri Sumatera Utara.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah laminar air flow, Pyrolysis Gas Chromatography Mass Spectrometry (Py-GC-MS), mikroskop compound, mikroskop stereo, sentrifus, autoclave, shaker.

Pelaksanaan Penelitian

Isolasi Bakteri Endofit dari Jagung dan Uji Hipersensitif

Bakteri endofit diisolasi dari bagian akar, batang, daun, dan benih tanaman jagung yang sehat. Masing-masing bagian tanaman ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dicuci bersih dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Sterilisasi permukaan jaringan tanaman dengan perendaman alkohol 70% selama 1 menit, dilanjutkan dengan perendaman dalam NaOCl 3% selama 3 menit, kemudian dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Jaringan tanaman yang telah disterilisasi dioles pada media TSA 20% dan diinkubasi selama dua hari, untuk menguji keberhasilan sterilisasi permukaan. Akar, batang, daun, dan benih jagung yang telah disterilisasi dihaluskan dengan menggunakan mortar steril hingga terbentuk suspensi tanaman 100. Suspensi tanaman sebanyak 1 mL dicampurkan dalam 9 mL akuades steril dalam tabung reaksi, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Pengenceran berseri dilakukan hingga tingkat pengenceran 10^{-3} . Masing-masing suspensi pengenceran diambil sebanyak 0.1 mL, dan disebar pada media TSA 20% lalu diinkubasi selama 1 hingga 2 hari pada suhu

ruang. Koloni bakteri yang tumbuh diamati jumlah dan dikarakterisasi koloni berdasarkan bentuk, pinggiran, permukaan, elevasi, dan warna koloni. Masing-masing bakteri yang didapat lalu dimurnikan pada media TSA 100% (Munif et al. 2012).

Uji hipersensitif adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui patogenisitas patogen (kemampuan patogen dalam menyebabkan penyakit). Teknik pengujian ini dilakukan dengan cara menginokulasi suspensi bakteri pada tanaman tembakau kemudian diinkubasi. Suspensi bakteri dibuat dengan mencampurkan 1 lup bakteri ke dalam 100 mL TSB kemudian digoyang dengan shaker selama 24 jam pada kecepatan 150 rpm hingga suspensi bakteri dengan kerapatan 10^8 sel/mL. Sebanyak 0.1 mL suspensi bakteri diambil dengan alat penyuntik kemudian disuntikkan pada daun tembakau dan diinkubasi selama 24 hingga 48 jam, pengamatan dilakukan dengan mengamati munculnya gejala nekrotik pada daun tembakau setelah masa inkubasi 24 jam (Schaad et al. 2000).

Uji Antagonis Bakteri Endofit terhadap Cendawan Patogen

Cendawan patogen ditumbuhkan di tengah media PDA dengan jarak 3.5 cm dari blank disc paper tempat inokulum bakteri, diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Bakteri endofit ditumbuhkan pada media TSB kemudian digoyang dengan shaker selama 24 jam. Blank disc paper direndam pada suspensi bakteri (10^8 sel/mL) selama 30 menit, kemudian diletakkan pada bagian tepi media. Cendawan patogen yang ditumbuhkan pada media PDA dan diletakkan blank disc paper tanpa suspensi bakteri sebagai kontrol, diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Aktivitas penghambatan ditentukan berdasarkan zona hambat yang terbentuk di sekitar koloni. Pengamatan dimulai dari hari ke-2 sampai hari ke-7 (Suryanto et al. 2011).

Ekstraksi dan Analisis Senyawa Metabolit Bakteri Endofit

Berdasarkan uji in vitro antagonis bakteri endofit terhadap cendawan patogen, dipilih tiga isolat dengan daya hambat yang paling tinggi. Senyawa metabolit bakteri endofit dihasilkan dengan menumbuhkan 1 lup isolat bakteri endofit pada media fermentasi MHB kemudian diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 150

rpm dengan selang waktu berdasarkan kurva pertumbuhan bakteri pada fase stasioner. Suspensi bakteri disentrifugasi pada kecepatan 3800 rpm selama 20 menit, dan supernatan disaring dalam keadaan steril dengan syringe milipore filter 0.22 μ m (Elita et al. 2013). Senyawa metabolit bakteri endofit selanjutnya dianalisis dengan menggunakan Py-GCMS (Octaviani 2015).

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Jagung dan Uji Hipersensitif

Sebanyak 67 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tanaman jagung, terdiri atas 20 isolat bakteri dari akar, 11 isolat bakteri dari batang, 24 isolat bakteri dari daun, serta 12 isolat dari benih jagung (Tabel 1).

Tabel 1 Jumlah Isolat Bakteri Asal Tanaman Jagung dan Uji Hipersensitif

Bagian Tanaman Jagung	Jumlah Isolat Bakteri	Uji Hipersensitif	
		Bakteri Patogen	Bakteri non Patogen
Akar	20	8	12
Batang	11	7	4
Daun	24	16	8
Benih	12	5	7
Total	67 (100%)	36 (53%)	31 (46%)

Penelitian terkait bakteri endofit dari tanaman jagung telah banyak dilaporkan. Sebanyak 11 bakteri endofit telah diisolasi dan diidentifikasi dari akar jagung yaitu *Bacillus* sp., *Cellulomonas* sp., *Kurtia* sp., *Microbacterium* sp., *Pediococcus* sp., dan *Pseudomonas* sp. (Orelo dan Adejumo 2011). Liu et al. (2012) memperoleh 160 isolat bakteri endofit yang diisolasi dari benih jagung, dan diidentifikasi secara molekuler diperoleh genus bakteri *Burkholderia*, *Limnobacter*, *Pantoea*, *Undibacterium*. Bakteri endofit yang diisolasi dari bagian batang diperoleh 8 isolat, yang diidentifikasi sebagai *P. fluorescens*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella terrigena*, *Pseudomonas corrugata*, *P. marginalis*, *Vibrio* sp. (Fisher et al. 1992).

Pengujian hipersensitif bakteri endofit yang bersifat patogen ditandai dengan adanya nekrotik pada daun tembakau. Hasil pengujian hipersensitif terhadap 67 isolat bakteri, menunjukkan 36 isolat bakteri bersifat patogen yang ditandai dengan nekrotik pada daun tembakau setelah 24 jam inkubasi, 31 isolat bakteri (46%). Reaksi hipersensitif merupakan kematian sel yang cepat dan terlokalisasi

setelah diinokulasi dengan bakteri. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan patogen, juga merupakan usaha untuk menghambat pertumbuhan patogen. Reaksi hipersensitif dan patogenisitas dipengaruhi oleh gen *hrp* yang umum ditemukan pada bakteri Gram negatif patogen tanaman, termasuk kelompok *Xanthomonas* sp. (Zhu *et al.* 2000).

Uji Antagonis Bakteri Endofit cendawan patogen secara *In vitro*

Hasil uji antagonis secara *in vitro* 31 isolat bakteri endofit non patogen terhadap cendawan patogen diperoleh 3 isolat bakteri endofit yang menunjukkan daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan cendawan patogen (Gambar 4), yaitu isolat EF14III, isolat ER1I, dan isolat ER10I, masing-masing sebesar 64.4%, 58.0%, dan 56.4% (Tabel 2).

Tabel 2 Daya Hambat Isolat Bakteri Endofit Terhadap Cendawan Patogen Pada Media PDA

Isolat Bakteri	Daya Hambat (%) Hari Ke-					
	2	3	4	5	6	7
ER3	25.0	33.4	37.5	44.8	49.9	48.6
ER4	15.1	23.6	36.4	40.4	42.3	42.4
ER1I	16.76	34.5	45.2	51.4	54.7	58.0
ER4I	-1.3	12.8	28.3	40.6	17.8	16.7
ER9I	1.4	20.5	34.4	43.0	47.5	49.9
ER10I	12.3	31.7	39.6	48.9	52.8	56.4
ER1II	1.5	11.9	24.4	34.4	40.7	45.6
ER3II	1.7	13.5	25.8	33.4	22.7	22.8
ER4II	9.6	19.6	28.9	37.5	46.3	52.4
ER8II	19.4	33.7	41.4	46.0	50.2	52.6
ER1III	1.4	13.8	29.3	39.8	46.5	50.9
ER2III	2.8	3.7	2.1	2.8	7.2	7.5
EC16	8.1	8.3	20.3	24.7	35.0	37.0
EC2I	4.0	7.1	14.7	13.3	8.5	7.8
EC5I	3.2	8.7	21.4	29.6	31.0	20.6
EC13II	10.6	23.8	32.0	39.8	44.6	52.0
EF1I	1.1	6.9	20.7	26.2	19.3	18.5
EF6I	0.8	11.9	28.2	34.4	32.1	22.2
EF6II	4.0	10.2	9.0	3.1	13.1	19.0
EF7II	3.9	12.6	19.6	28.8	30.6	26.4
EF4III	21.9	28.1	32.5	38.5	42.6	46.0
EF5III	4.4	10.0	20.8	23.2	14.0	11.5
EF10III	1.2	12.6	26.4	37.0	42.9	46.9
EF14III	19.2	32.9	47.3	54.0	61.2	64.4
ES3	1.9	7.6	20.0	30.1	28.1	26.0
ES5	1.4	4.8	19.2	27.9	22.4	14.5
ES7	-1.5	8.1	22.6	29.0	14.6	11.0
ES6	2.2	3.8	15.5	25.5	19.1	21.2
ES13	2.1	13.6	32.5	40.8	45.0	47.3
ES14	1.4	12.7	28.2	35.9	38.5	20.4
ES18	0.7	9.6	25.9	29.4	30	26.6

Mekanisme antibiosis bakteri endofit terhadap cendawan patogen berkaitan dengan kemampuan isolat bakteri endofit menghasilkan enzim degradasi seperti kitinase, protease, dan selulase serta senyawa lainnya yang berkaitan dengan induksi ketahanan tanaman inang (Hallmann *et al.* 1997). Bakteri endofit potensial sebagai agens antagonis terhadap cendawan patogen dengan menguji karakter fisiologisnya diantaranya, kemampuan bakteri menghasilkan enzim ekstraseluler (kitinase, protease, dan selulase), hidrogen sianida (HCN), pelarut fosfat, dan aktivitas fluoresensi (Eliza *et al.* 2007).

Mekanisme antagonis bakteri endofit dengan menggunakan metode *agar diffusion* ditemukan dinding sel cendawan patogen *Fusarium* sp. hancur terdegradasi oleh aktivitas enzim penghancur dinding sel. Bakteri endofit yang diuji antagonis dengan cendawan patogen *Fusarium* sp. menghasilkan senyawa iturin, surfactin, dan kitinase yang menghambat pertumbuhan cendawan *Fusarium* sp. (Yuliar *et al.* 2013).

Analisis Senyawa Metabolit Bakteri Endofit

Analisis senyawa metabolit bakteri endofit dengan menggunakan Py-GC-MS atau pirolisis kromatografi gas spektrometri massa, merupakan metode analisis yang memungkinkan karakterisasi senyawa makromolekul volatil yang ada di alam (Octaviani 2015). Hasil analisis senyawa metabolit isolat bakteri ER1I menunjukkan beberapa kandungan senyawa dengan konsentrasi yang paling tinggi seperti *Cyclohexanone N, N-dimethylhydrazone* dengan konsentrasi 9.6%. Konsentrasi senyawa 2-*Pyrrolidinone* cukup rendah yaitu pada konsentrasi 0.67% (Tabel 3)

Tabel 3 Hasil Analisis Senyawa Metabolit Antigunal Isolate Bakteri ER1I

Konsentrasi (%)	Nama Senyawa
2.61	<i>Benzenesulfonic acid</i>
1.73	<i>2-methyloxazole</i>
1.09	<i>Phenol</i>
3.25	<i>4-Oxo-9 oxabicyclo</i>
4.99	<i>4-methyloxazole</i>
0.93	<i>Ethyl methacrylate</i>
0.71	<i>4,4-dimethyl-.delta.2-cyclo</i>
1.88	<i>Cis-Non-3-Enol</i>
1.16	<i>Borinic acid</i>
3.83	<i>2,11-dodecadien, 4-acetyloxy</i>

1.24	2,11-dodecadien
9.68	Cyclohexanone N,N-dimethylhydrazone
7.15	Formamide
1.76	Lauric acid
1.61	2,5-dioxo-3-isopropyl-6-methylpiperazine
1.12	Catechol Tetramethylene
7.61	Trans-2-methyl-3-isopropylaziridine
4.80	2-(2'-Nitro-2'-propenyl)-1-cyclohexanone
3.32	1,4-diaza-2,5-dioxo-3-isobutyl bicyclo [4.3.0]nonane
8.29	1,4-diaza-2,5-dioxo-3-isobutyl bicyclo [4.3.0]nonane
3.02	1,4-diaza-2,5-dioxo-3-isobutyl bicyclo [4.3.0]nonane
4.89	2,5-Piperazinedione, 3,6-bis(2-methylpropyl)-
5.52	1,4-diaza-2,5-dioxo-3-isobutyl bicyclo [4.3.0]nonane
1.85	Methyl elaidate
1.46	Valerylpyrrolidine
2.99	1,4-diaza-2,5-dioxo-3-isobutyl bicyclo [4.3.0]nonane
1.82	1,4-diaza-2,5-dioxo-3-isobutyl bicyclo [4.3.0]nonane
4.11	3-benzyl-1,4-diaza-2,5-dioxobicyclo [4.3.0]nonane
4.91	3-benzyl-1,4-diaza-2,5-dioxobicyclo [4.3.0]nonane
0.67	2-Pyrrolidinone, 5-(ethoxymethyl)

Senyawa metabolit isolat bakteri ER11 yang diduga memiliki aktifitas anti cendawan adalah senyawa fenol dengan konsentrasi 1.09%, senyawa *lauric acid* dengan konsentrasi 1.7%, senyawa *propenoic acid* 0.9, dan senyawa *cyclohexanone* dengan konsentrasi 9.7%. Salah satu turunan dari *cyclohexanone*, *pestalofones* yang diisolasi dari cendawan endofit *Pestalotiopsis fici*, menunjukkan aktivitas anti cendawan terhadap *Aspergillus Fumigatus* (Liu *et al.* 2009). Fenol merupakan metabolit yang bersifat anti cendawan. Winkelhausen *et al.* (2005), menjelaskan senyawa fenol memiliki aktivitas anti cendawan terhadap cendawan patogen *Fusarium culmorum*. Fenol dengan konsentrasi 0.1 dan 0.25% efektif menghambat pertumbuhan *F. culmorum*. Fenol dapat dimanfaatkan sebagai fungisida alami terhadap patogen di lapang. Salah satu senyawa fenol *p-kresol* mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan cendawan *Aspergillus* sp., sehingga senyawa *p-kresol* dapat dimanfaatkan sebagai senyawa anti cendawan (Pizzolitto *et al.* 2015).

Lauric acid merupakan asam lemak jenuh yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri

dan anti cendawan. Senyawa asam lemak menyebabkan peningkatan fluiditas membran, yang akan mengakibatkan kebocoran intraseluler dan kematian sel patogen, serta dapat menyebabkan penghambatan sintesis protein patogen. *Lauric acid* diketahui memiliki aktivitas anti cendawan terhadap beberapa cendawan patogen yaitu *Aspergillus niger*, *Colletotrichum gloesporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Phytium ultimum*, *Rhizoctonia solani* (Phol *et al.* 2011). Liu *et al.* (2008) melaporkan bahwa senyawa *lauric acid* memiliki aktifitas anti cendawan terhadap 4 cendawan patogen yaitu *Alternaria solani*, *Colletotrichum lagenarium*, *Fusarium oxysporum f.sp. Cucumerinum*. *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* dengan menghambat perkecambahan spora patogen dan menghambat pertumbuhan miselium.

D. KESIMPULAN

Bakteri endofit asal tanaman jagung diketahui mampu menghasilkan senyawa metabolit yang bersifat anticendawan. Berdasarkan analisis senyawa kimia yang dilakukan, metabolit bakteri endofit yang bersifat anti cendawan adalah *lauric acid*, *propenoic acid*, and *cyclohexanone*.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen XH, Koumoutsi A, Scholz R, Borriss R. 2009. More than anticipated – production of antibiotics and other secondary metabolites by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 16:14–24. DOI: 10.1159/000142891.
- Elita A, Saryono S, Christine J. 2013. Penentuan waktu optimum produksi antimikroba dan uji fitokimia ekstrak kasar fermentasi bakteri endofit *Pseudomonas* sp. dari umbi tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*). *J Ind Che Acta.* 3 (2): 56-62
- Eliza, Munif A, Djatnika, Widodo. 2007. Karakter Fisiologis dan peranan antibiosis bakteri perakaran Graminae terhadap *Fusarium* dan pemacu pertumbuhan tanaman pisang. *J Hort.* 17(2): 150-160.
- Elshafie HS, Bufo SA, Racioppi R, Camele I. 2013. Biochemical Characterization of Volatile Secondary Metabolites Produced by

- Burkholderia gladioli pv. agaricicola. *IJDD*.5(1): 181-184
- Ezra D, Hess WM, Strobel GA. 2004. New endophytic isolates of *Muscodora albus*, a volatile-antibiotic-producing fungus. *Microbiol*.150:4023-4031. doi:10.1099/mic0.27334-0
- Fisher PJ, Petrini O, Scott HM. 1992. The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea Mays* L.). *New Phytol*. 122: 299-305.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffe WF, Kloepper JW. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crop. *Can J Microbiol*. 43: 895-914.
- Ikeda AC, Bassani LL, Adamoski D, Sstringari D, Corderio VK, Glienke C, Steffens MB, Hungria M, Galli-Terasawa LV. 2013. Morphological and genetic characterization of endophytic bacteria isolated from roots of different maize genotypes. *Microb Ecol*. 65:154-160. doi: 10.1007/s00248-012-0104-0.
- Liu L, Liu S, Chen X, Guo L, Che Y. 2009. Pestalofones AE, bioactive cyclohexanone derivatives from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis fici*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*.2(17): 606-613. doi:10.1016/j.bmc.2008.11.066
- Liu S, Weibin R, Jing L, Hua X, Jingan W, Yubao G, Jinguo W. 2008. Biological control of phytopathogenic fungi by fatty acids. *Mycopathologia*. 166:93-102.
- Liu Y, Zuo S, Zuo Y, Wang J, Song W. 2012. Investigation on diversity and population succession dynamics of endophytic bacteria from seeds of maize (*Zea mays* L., Nongda108) at different growth stages. *Ann Microbiol*. doi: 10.1007/s13213-012-0446-3.
- Mondol MAM, Shin HJ, Islam MT. 2013. Diversity of secondary metabolites from marine bacillus species: chemistry and biological activity. *Mar Drugs*.11: 2846-2872. doi:10.3390/md11082846.
- Munif A, Hallmann J, Sikora R. 2012. Isolation of endophytic bacteria from tomato and their biocontrol activities against fungal diseases. *Microbiology*. 6(4): 148-156. doi: 10.545/mi.6.4.2
- Octaviani ER. 2015. Potensi *Trichoderma harzianum* dan *Gliocladium* sp. untuk pengendalian *Botryodiplodia* sp. pada Jabon (*Anthocephalus cadamba*). [Tesis]. Bogor (ID). Institut Pertanian Bogor.
- Orole OO, Adejumo TO. 2011. Bacterial and fungal endophytes associated with grains and roots of maize. *J Ecol Natur Envir*.3(9): 298-303.
- Pizzolitto RP, Barbies CL, Dambolena JS, Herrera JM, Zunino MP, Magnoli CE, Rubinstein HR, Zygadlo JA, Dalcero AM. 2015. Inhibitory effect of natural phenolic compounds on *Aspergillus parasiticus* growth. *Journal of Chemistry*. 2015: 1-7.
- Pohl CH, Kock JLF, Thibane VS. 2011. Anti cendawan free fatty acids: A review. Communicating curret research and technological advance.
- Poritsanos NJ. 2005. Molecular Mechanisms Involved in Secondary Matabolite Production and Biocontrol of *Pseudomonas chlorophis* PA23. [tesis]. Canada (CA): The University of Manitoba.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W. 2000. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Third edition. American Phytopathological Society, APS Press: St. Paul.
- Suryanto D, Irawati N, Munir E. 2011. Isolation and characterization of chitinolytic bacteria and their potential to inhibit plant pathogenic fungi. *Microbiol Indones*. 5(2) : 144 148.
- Taechowisan T, Lu C. Shen Y, Lomyong S. 2005. Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their anti cendawan activity. *Microbiol*. 151: 1691-1695. DOI 10.1099/mic.0.27758-0
- Winkelhausen E, Pospiech R, Laufenberg G. 2005. Anti cendawan activity of phenolic compounds extracted from dried olive

pomace. *Bulletin of chemists and technologists of Macedonia*. 24(1): 41-46

Yu H, Zhang L, Li L, Zeng C, Guo L, Li P, Sun P, Qin L. 2010. Recent development and future prospect of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiol Research*.165: 437-449

Yuliar, Suciati, Supriyati D, Rahmansyah M. 2013. Biodiversity of endophytic bacteria and their antagonistic activity to *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporium*. *GJBHS*. 2(4): 111-118

Zhu W, Magbanua MM, White FF. 2000. Identification of two novel hrp-associated genes in the hrp gene cluster of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *J Bacteriol*. 7(182): 1844-1853