

ISBN 978-979-25-6881-3

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL XIII PERSADA 2007

Kamis, 9 Agustus

**“Pembangunan Nasional Berbasis IPTEKS
Untuk Kemandirian Bangsa”**



FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
Institut Pertanian Bogor
2007

**SEMINAR NASIONAL XIII
PERSADA TAHUN 2007**

Bogor, 9 Agustus 2007

**“Pembangunan Nasional Berbasis IPTEKS
untuk Kemandirian Bangsa”**

PROSIDING

Editor:

Dr. Drh. Deni Noviana

Dr. Ir. Suwardi

Drh. M. Fakhru Ulum

Drh. Hamria

Wywy Goulda March, SKH



**Persada Cabang Bogor dan
Fakultas Kedokteran Hewan
Institut Pertanian Bogor**

PENGARUH MIKROBA ENDOFIT BERASAL DARI EKOSISTEM AIR HITAM TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN PADI

Gusmaini¹⁾, Dwi Andreas Santosa²⁾, Rahayu Widyastuti²⁾

1) Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

2) Institut Pertanian Bogor

ABSTRACT

The aim of this research were to test and select endophytic microbe consortium from plant of black water ecosystem to promote growth. The research was conducted in pot experiment at green house's Indonesian Spices and Medicinal Research Institute, while the laboratory experiment in Microbiology and Environment Laboratory at Bogor University and Soil and Plant Laboratory at Research Indonesian Spices and Medicinal Crops. The treatments are 1) without microbe (control), 2) endophytic microbe consortia from old leaf of *Macaranga gigantea*, 3) endophytic microbe consortia from young leaf of *Macaranga mucronata*, 4) endophytic microbe consortia from old leaf of *Titramerista glabra*, 5) endophytic microbe consortia from middle leaf of *Tristania maingayi*, 6) endophytic microbe consortia from young leaf of *Tristania maingayi*, 7) endophytic microbe consortia from old leaf of *Nepenthes ampularia* daun tua, 8) endophytic microbe consortia from old leaf of *Camptosperma auriculatum*, and 9) endophytic microbe consortia from young leaf of *Camptosperma auriculatum*. Result the research showed that the application endophytic Microbe Consortia effected significantly in increase rice growth (leaves, tiller number, and clump height) at 4 weeks after planting. Four leaf microbe consortia were chosen e.i: endophytic microbe consortia from old leaf of *Titramerista glabra*, endophytic microbe consortia from young leaf of *Tristania maingayi*, endophytic microbe consortia from old leaf of *Nepenthes ampularia*, and endophytic microbe consortia from young leaf of *Camptosperma auriculatum*.

I. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Mikroba yang berpotensi untuk mengurangi penggunaan pupuk kimia dapat berasal dari tanah dan daun. Mikroba yang hidup di daun tanaman, biasanya disebut filosfer ada yang bersifat epifit dan endofit. Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup pada jaringan vascular tanaman tanpa memperlihatkan tanda yang jelas atau melukai tanaman inang (Kloepper *et al.*, 1999; Lindow dan Brandl, 2003). Keuntungan mikroba endofit bagi tanaman inang antara lain dapat menambat nitrogen (Reis *et al.*, 1994; Boddey *et al.*, 1995; Stoltzfus *et al.*, 1997; Kennedy *et al.*, 1997; Hirano dan Upper, 2000), meningkatkan pertumbuhan tanaman (Sturz dan Nowak, 2000), menghasilkan fitohormon (Taller dan Wong, 1989; Morris, 2001; Padua *et al.*, 2001), melawan mikroba patogen (Kloepper *et al.*, 1999; Sturz dan Nowak, 2000).

Peranan mikroba di dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman yang cukup penting antara lain sebagai penyuplai hara melalui fiksasi dan juga sebagai penghasil fitohormon. Peranan bakteri penambat N cukup besar antara lain dapat mengurangi setengah dari kebutuhan N melalui fiksasi Nnya pada tanaman tebu di Brazil (Boddey *et al.*, 1995; Reis *et al.*, 1994). Tanaman yang berasosiasi dengan *endosymbiotic* penambat N, dapat memberikan N yang ditambat secara biologis langsung pada tanaman (Stoltzfus *et al.*, 1997).

Hasil penelitian Pati dan Chandra, (1981), menunjukkan peningkatan hasil gandum sebesar 70% nyata dengan menyemprotkan bakteri pemicu tumbuh. Bakteri *Bacillus* sp. yang disemprotkan pada saat tanaman aprikot sedang berbunga penuh dapat meningkatkan produksi pada tahun pertama dan kedua masing-masing sebesar 30% dan 90% dibandingkan kontrol, dan meningkatkan kandungan

hara N, P, K, Ca, dan Mg pada daun (Esitken *et al.*, 2004).

Salah satu ekosistem yang berpotensi dalam pengembangan mikroba yang bermanfaat adalah ekosistem air hitam (EAH) yang secara geografis masih dipengaruhi oleh lahan gambut (Santosa, 1998). Hasil eksplorasi dari tanaman yang hidup di daerah EAH diperoleh beberapa konsorsium mikroba endofit dan diaplikasikan pada tanaman jagung menunjukkan bahwa bobot basah dan kering akar, dan daun, serta kandungan hara pada daun meningkat dibandingkan tanpa mikroba (Gofar, 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji dan menyeleksi konsorsium mikroba endofit berasal dari tanaman ekosistem air hitam yang mampu dan efektif dalam memacu pertumbuhan tanaman padi.

II. BAHAN DAN METODE

2.1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Lingkungan PPLH Institut Pertanian Bogor, Laboratorium Terpadu dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor.

2.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah isolat mikroba daun yang berasal dari ekosistem air hitam Kalimantan Tengah, yang telah mengalami 3 tahap seleksi pada tanaman jagung, dari hasil seleksi tersebut kemudian dipilih 8 isolat yang terbaik. Bahan kimia yang berhubungan dengan perbanyakan, penghitungan, identifikasi mikroba, dan bahan kimia untuk analisa hara dan tanaman. Tanaman padi yang digunakan varietas unggul nasional IR 64 dan bahan tanah berasal dari tanah Ultisol Cimanggu. Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian antara lain alat-alat

laboratorium untuk memperbanyak dan analisis mikroba endofit, dan pot untuk penanaman padi.

2.3. Metode Penelitian

Percobaan ini terdiri dari 9 perlakuan yang menggunakan 8 konsorsium mikroba endofit (KME). Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok lengkap, faktor tunggal dengan 5 ulangan. Adapun perlakuan terdiri dari: 1) kontrol (tanpa mikroba), 2) KME asal tumbuhan *Macaranga gigantea* daun tua (Mahang 1 = Ct), 3) KME *Macaranga mucronata* daun muda (Mahang 2 = Dm), 4) KME *Titramerista glabra* daun tua (Asam-asaman = Et), 5) KME *Tristania maingayi* daun muda (Pelawan = Gm), 6) KME *Tristania maingayi* daun sedang (Pelawan = Gs), 7) KME *Nepenthes ampularia* daun tua (Kantung semar = Mt), 8) KME *Campnosperma auriculatum* daun muda (Manlaga = Wm), 9) KME *Campnosperma auriculatum* daun tua (Manlaga = Wt).

Benih padi yang digunakan dari varietas IR-64, sebelum ditanam benih padi disterilisasi terlebih dahulu yaitu direndam dengan alkohol 3-5 menit, kemudian direndam chlorox 3% selama 3-5 menit, dibersihkan dengan aquades hingga baunya hilang. Benih yang telah disteril dimasukkan ke dalam cawan petri dan direndam dalam aquades selama 3 hari. Setelah berkecambah ditanam dalam media pembibitan hingga tanaman berumur 1 minggu, terbentuk 2 - 3 daun, dan bibit siap tanam.

Bibit padi yang telah siap ditanam pada media tanam sebanyak 1 kg yang telah steril didalam pot plastik, 8 isolat mikroba masing-masing diinokulasikan ke tanaman padi dengan cara disemprot dengan kepadatan populasi 10^{10} spk ml^{-1} sebanyak 5 -10 ml/tanaman, dan diaplikasikan 1 minggu sekali hingga tanaman berumur 1 bulan. Sumber hara tanaman digunakan larutan Johnson.

Setelah berumur 1 bulan tanaman padi dikeluarkan dari pot, perakarannya dibersihkan dari tanah yang menempel dengan cara mencuci perakaran tersebut dengan air mengalir, lalu dikeringanginkan. Akar dipisahkan dengan bagian atas tanaman, ditimbang bobot segarnya, setelah itu dikeringkan di dalam oven pada suhu 70°C selama 48 jam, lalu ditimbang bobot kering tanaman.

Pengaruh perlakuan terhadap peubah-peubah yang diamati dilakukan dengan menggunakan analisis ragam, dan uji lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5%.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Tanaman Padi

Kemampuan konsorsium mikroba daun berasal dari ekosistem air hitam dalam memacu pertumbuhan tanaman padi (jumlah daun dan tinggi tanaman) berbeda-beda, dari umur tanaman satu minggu hingga empat minggu, dan tidak semua KME berpengaruh positif terhadap pertumbuhan tanaman padi (Gambar 1 dan 2).

Pengujian isolat KME pada tanaman padi menunjukkan hasil nyata terhadap pertumbuhan tanaman baik jumlah daun, jumlah anakan maupun tinggi tanaman berumur 4 minggu dibandingkan tanpa mikroba, namun tidak semua KME meningkatkan pertumbuhan tanaman padi (Tabel 1).

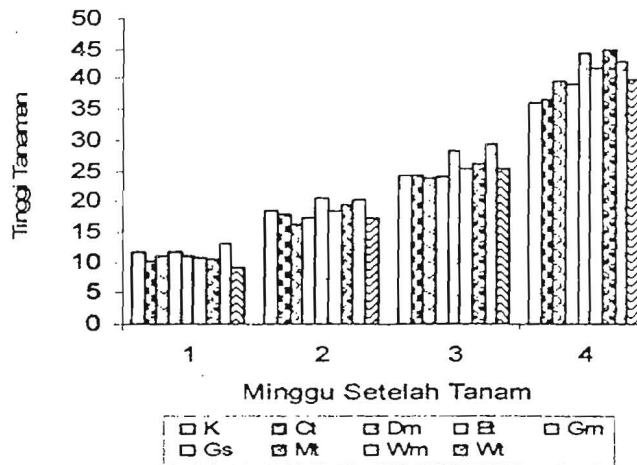
Pertumbuhan tanaman padi yang telah diinokulasi berbagai jenis KME setelah empat minggu juga menunjukkan hasil yang beragam. Dari ke delapan KME yang aplikasikan pada tanaman padi terdapat lima yang menunjukkan respon positif dalam memacu pertumbuhan tanaman yaitu meningkatkan jumlah daun, jumlah anakan, dan tinggi tanaman dibandingkan tanpa mikroba antara lain isolat Dm, Et, Gm, Mt, dan Wm, dan terdapat tiga KME yang tidak berpengaruh di dalam memacu salah satu peubah pertumbuhan tanaman padi yaitu Ct, Gs, dan Wt (Tabel 1)

Tabel 1. Pertumbuhan tanaman padi yang telah diinokulasi isolat konsorsium mikroba daun asal tumbuhan ekosistem air hitam pada umur 4 MST

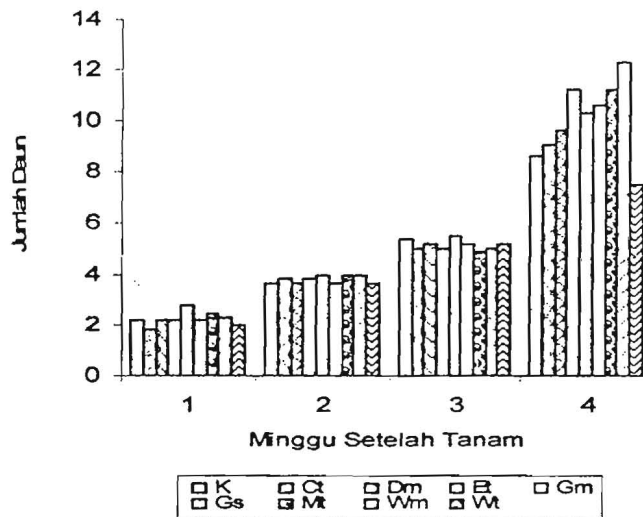
No.	Perlakuan	Jumlah Daun	Jumlah Anakan	Tinggi Tanaman (cm)
1	Tanpa mikroba	8,67 d-e	2,33 b-c	36,03 b-c
2	Isolat Ct	9,06 c-e	2,64 b	31,03 c
3	Isolat Dm	9,62 c-e	2,69 b	39,53 a-b
4	Isolat Et	11,27 a-c	3,09 a-b	39,13 a-c
5	Isolat Gm	10,33 b-d	3,22 a-b	44,28 a-b
6	Isolat Gs	12,87 a	1,57 c	41,95 a-b
7	Isolat Mt	11,29 a-c	2,83 b	45,00 a
8	Isolat Wm	12,33 a-b	3,00 b	42,98 a-b
9	Isolat Wt	7,50 e	2,55 b-c	39,97 a-b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji DMRT.

Jenis dan umur daun tumbuhan inang asal konsorsium berpengaruh terhadap mikroba yang terdapat di dalam konsorsium, meskipun jenis tanaman sama tetapi umur daun berbeda akan memberikan respon yang berbeda pula. Hal ini terlihat pada konsorsium Gm dan Gs, Wt dan Wm. Isolat Gm dan Wm mampu meningkatkan pertumbuhan sedangkan Gs dan Wt sebaliknya.



Gambar 1. Pengaruh Inokulasi isolat KME asal tumbuhan ekosistem air hitam terhadap tinggi tanaman padi umur 1 - 4 MST



Gambar 2. Pengaruh Inokulasi isolat KME asal tumbuhan ekosistem air hitam terhadap jumlah daun tanaman padi umur 1 - 4 MST

Ketidakmampuan beberapa KME untuk memacu pertumbuhan tanaman padi karena adanya spesies mikroba penyusun KME bersifat kurang mendukung bagi pertumbuhan tanaman (bersifat patogen). Mikroba daun ada yang bersifat fitopatogen dan hidup bersama-sama dengan mikroba nonpatogen (Azevado *et al.*, 2000; Morris, 2001), dan yang mampu bertahan adalah mikroba yang berkompetisi, memperbanyak diri secara cepat dan mendominasi nutrisi (Atlas dan Bartha, 1993). Populasi mikroba patogen yang hidup pada jaringan tanaman segar cukup tinggi berkisar $10^8 - 10^{10}$ spk g^{-1} (Morris, 2001). Apabila di dalam konsorsium terdapat mikroba yang kurang menguntungkan (patogen) maka pertumbuhan tanaman akan terhambat.

Adanya penurunan populasi dan keragaman beberapa spesies penyusun konsorsium mikroba daun, akibat pengaruh lingkungan yang tidak sesuai dapat pula menyebabkan terhambatnya pertumbuhan tanaman. Lingkungan sangat besar pengaruhnya terhadap keberadaan mikroba di permukaan daun. Mikroba yang mampu bersaing dan menyesuaikan

diri dengan lingkungan adalah mikroba yang dapat bertahan hidup di permukaan daun. Faktor lingkungan yang berperan penting didalam mempengaruhi jumlah dan keragaman mikroba pada daun, antara lain kondisi daun, ketersediaan nutrisi pada permukaan daun tanaman inang, kelembaban, temperatur, radiasi matahari, dan mikroba dari udara. (Thompson *et al.*, 1993; Jaqobs dan Sundin, 2001).

Produksi Biomasa Tanaman Padi

Kemampuan KME didalam menghasilkan produk biomas tanaman juga berbeda-beda. Pemberian KME dapat meningkatkan biomas bagian atas tanaman, baik segar maupun kering dibandingkan tanpa mikroba. Empat isolat yang menghasilkan bobot biomas bagian atas tanaman lebih baik dibandingkan isolat yang lain yaitu isolat mikroba yang berasal dari tumbuhan Et, Wm, Mt, dan Gm. Peningkatan bobot kering biomas daun dari 18,75 hingga 162,50% dibandingkan tanpa mikroba. Konsorsium mikroba daun *Titramerista glabra* dapat meningkatkan bobot kering biomas bagian atas

tanaman padi tertinggi yaitu sebesar 162,50% (Tabel 2).

Biomasa akar terdapat pola yang sama dengan pertumbuhan jumlah daun dan anakan yaitu pemberian KME tidak selalu memberikan respon positif. dapat meningkatkan bobot segar dan kering biomasa akar tanaman padi. Bobot segar dan kering akar hasil inokulasi KME menunjukkan adanya peningkatan dan penurunan. Tanaman padi yang diinokulasi isolat Wt menurunkan bobot segar akar, namun terdapat empat isolat KME (Ct, Dm, Gs, dan Wt) menurunkan bobot kering akar (Tabel 3). Seperti halnya bobot atas bagian tanaman, empat isolat Gm, Wm, Mt, dan Et yang diaplikasikan pada tanaman padi mampu meningkatkan bobot kering akar. Peningkatan bervariasi dari 7,14 hingga 192,86% dibandingkan tanpa mikroba (Tabel 2). Bobot segar dan kering bagian atas tanaman padi yang telah diinokulasi konsorsium mikroba daun asal tumbuhan ekosistem air hitam pada umur 4 minggu.

Respon pertumbuhan bobot kering akar terhadap pemberian KME terdapat 4 konsorsium yang mampu meningkatkan bobot kering akar padi (Et, Gm, Mt, dan Wm), dan 4 konsorsium yang tidak mampu meningkatkan pertumbuhan bahkan terjadi penurunan bobot kering akar. Beberapa faktor yang menyebabkan ketidakmampuan KME memacu pertumbuhan tanaman antara lain mikroba yang terdapat pada daun berasal dari beberapa sumber seperti dari udara, tanah, perantara vektor lain di lingkungan tumbuh tanaman (Pennsylvania State University, 1999; Beattie dan Lindow, 1999).

Apabila KME yang diaplikasikan tidak mampu bersaing dengan mikroba yang ada di daun tanaman inang maka mikroba tersebut tidak bermanfaat bagi pertumbuhan tanaman. Hal ini berpengaruh terhadap tanaman karena mikroba yang diaplikasikan tidak mampu merangsang pertumbuhan melalui bahan-bahan yang dihasilkannya seperti fitohormon dan unsur hara. Tidak adanya sumbangan bahan-bahan tersebut, pertumbuhan akar menjadi terganggu dan tidak mampu menyerap hara lebih banyak.

Tabel 2. Produksi Biomasa tanaman padi

No. Perlakuan	Bobot segar bagian atas tanaman — g/tanaman —	Bobot kering bagian atas tanaman	Peningkatan terhadap tanpa mikroba (%)
1 Tanpa mikroba	1,01 d	0,16 d	-
2 Isolasi Ct	1,31 c-d	0,24 b-d	50,00
3 Isolasi Dm	1,68 a-d	0,19 c-d	18,75
4 Isolasi Et	2,31 a-b	0,42 a	162,50
5 Isolasi Gm	2,46 a	0,31 b	93,75
6 Isolasi Gs	1,63 a-d	0,27 b-c	68,75
7 Isolasi Mt	2,01 a-c	0,32 b	100,00
8 Isolasi Wm	2,25 a-c	0,41 a	156,25
9 Isolasi Wt	1,42 b-d	0,22 b-d	37,50

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji DMRT.

Perbedaan respon tanaman terhadap pemberian KME dapat pula diakibatkan karena setiap konsorsium mikroba daun dihuni oleh mikroba dengan jenis, komposisi, dan populasi yang berbeda baik bersifat patogen atau nonpatogen, dari yang menguntungkan atau tidak menguntungkan. Hal ini diungkapkan oleh Kinkel *et al.*, (2000) bahwa spesies dan umur tumbuhan mempengaruhi kemampuan daun dalam menampung mikroba.

Tabel 3. Bobot segar dan kering akar tanaman padi yang telah diinokulasi konsorsium mikroba daun asal tumbuhan ekosistem air hitam pada umur 4 minggu

No.	Pertakuan	Bobot segar akar — g/tanaman —	Bobot kering akar	Peningkatan terhadap tanpa mikroba (%)
1	Tanpa mikroba	0,82 b-c	0,14 b-c	-
2	Isolat Ct	0,86 b-c	0,09 c	-35,71
3	Isolat Dm	1,10 a-b	0,08 c	-42,86
4	Isolat Et	1,33 a	0,41 a	192,86
5	Isolat Gm	1,19 a-b	0,15 b-c	7,14
6	Isolat Gs	0,86 b-c	0,10 b-c	-28,57
7	Isolat Mt	1,33 a	0,31 a	121,43
8	Isolat Wm	1,17 a-b	0,21 a	50,00
9	Isolat Wt	0,46 c	0,12 b-c	-14,29

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang dalam satu kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji DMRT.

Lingkungan alami daun yang spesifik juga menentukan spesies tertentu penyusun komunitas mikroba daun (Ercolani, 1991; Thompson *et al.*, 1993). Faktor lingkungan dan nutrisi sangat mempengaruhi keberadaan mikroba daun seperti menurunnya kelembaban, perubahan temperatur, dan radiasi matahari mempengaruhi populasi dan aktivitas bakteri daun (Kinkel, 1997; Pennsylvania State University, 1999; Jacobs dan Sundin, 2001).

IV. KESIMPULAN

Dari hasil pengujian konsorsium mikroba daun asal ekosistem air hitam pada tanaman padi dapat disimpulkan:

- Jenis konsorsium mikroba daun berpengaruh nyata di dalam meningkatkan pertumbuhan
- Diperoleh empat jenis konsorsium mikroba endofit berasal dari ekosistem air hitam yang mampu dan efektif dalam memacu pertumbuhan tanaman padi yaitu isolat berasal dari daun tumbuhan *Titramerista glabra*, daun tumbuhan *Tristania maingayi*, daun tumbuhan *Nepenthes ampularia*, dan daun tumbuhan *Camprosperma auriculatum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas RM, and Bartha R. 1993. Microbial Ecology: Fundamentals and Application. 3rd Eds. Benjamin/Cumming Publ. Company, Inc. California, CA.

- Azevedo JL, Maccheroni WJr, and Pereira JO. 2000. Endophytic microorganisms: A review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic J. of Biotech.* 3(1):1-4. Available at: <http://www.ejb.org/content/vol3/issue/full/4>
- Beattie GA, and Lindow SE. 1999. Bacterial colonization of leaves: A spectrum of strategies. *Phytopathology.* 89:353-359.
- Boddey RM, de Oliveira DC, Uguiza S, Reis VM, de Olivares FL, Baldani VLD, and Dobereiner J. 1995. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice. Contribution and prospect for improvement. *Plant and Soil.* 174:195-209.
- Esitken A, Karlidag H, Ercisi S, Turan M, and Sahin F. 2004. The effect of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. *Hacihaliloglu*). Abstract. *Australian Journal of Agriculture Research.* Csiro Publishing. Available at: <http://www.publish.csiro.au/paper/AR02098.htm>.
- Gofar N. 2003. Eksplorasi konsorsium mikroba daun asal tumbuh tanaman dari ekosistem air hitam Kalimantan tengah dan aplikasinya sebagai pemacu pertumbuhan tanaman jagung pada ultisols (disertasi). Bandung: Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran Bandung.
- Hirano SS, and Upper CD. 2000. Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae*-a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Microbiol. and Mol. Biol. Review.* 64(3):624-653. Available at: <http://mmbr.asm.org/cgi/content/full/64/3/624>
- Jacobs JL, and Sundin GW. 2001. Effect of solar UV radiation on a phyllosphere bacterial community. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:5488-5496.
- Kennedy IR, Pereg-Gerk LL, Wood C, Dealer R, Gilchrist K, and Katuplitiya S. 1997. Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: facilitating the evolution of an affective association between *Azospirillum* and wheat. *Plant and Soil.* 194:65-79.
- Kloepper JW, Ubana RR, Zehnder GW, Murphy JF, Sikora E, and Fernandez C. 1999. Plant root-bacterial interaction in biological control of soil borne disease and potential extension to systemic and foliar disease. *Aust. Plant Pathol.* 28:21-26.
- Lindow SE, and Brandl MT. 2003. Microbiology of phyllosphere. *Appl. and Environ. Microbiol.* 69(4):1875-1883.
- Morris C. 2001. Impact of biofilms on the ecology and control of epiphytic bacteria. *Interdisciplinary Plant Biology Seminar Speaker, January 29, 2001.* Plant Pathology Station, INRA, France.
- Padua VLM, Masuda HP, Alves HM, Schwarcz KD, Baldani VLD, Ferreira PCG, and Hemery AS. 2001. Effect of endophytic bacterial indole-acetic acid (IAA) on rice development. *Dept. Bioquímica Medica, Rio de Janeiro.*
- Pati BR, and Chandra AK. 1981. Effect of spraying nitrogen fixing phyllospheric bacterial isolates on wheat plant. *Plant and Soil.* 61:419-427.
- Pennsylvania State University. 1999. Phyllosphere interaction.: Shoot and leaf inhibiting bacteria. Revised September 1999. Available at: <http://www.ppws.vt.edu/~bacteria/leafzone99.pdf>
- Reis VM, Olivares FL, and Dobereiner J. 1994. Improved methodology for isolation of *Acetobacter diazotrophicus* and confirmation of its endophytic habitat. *Word J. Microbiol. Technol.* 42:1144-1154.
- Santosa DA. 1998 dan 2000. Ekosistem air hitam: Biodiversitas makro dan mikro, isolasi DNA *in situ*, dan kloning shotgun gen penyandi ekstroenzim. Laporan RUT V, DRN, Jakarta.
- Stoltzfus JRRS, Malarvithi PP, Ladha JK, and deBruijn FJ. 1997. Isolation of endophytic bacteria from rice and asement of their potential for supplying rice with biologically fixed nitrogen. *Plant and Soil.* 94:25-36.
- Sturz AV, and Nowak J. 2000. Endhophytic communities of rhizobacteria and strategies required to create yield-enhancing associations with crops. *Appl. Soil Ecol.* 15:183-190.
- Taller BJ, and Wong TY. 1989. Cytokinins in *Azotobacter vinelandii* in culture medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:266-267.
- Thompson IP, Bailey MJ, Fenlon JS, Fermon TR, Lilley AK, Lynch JM, McCormack PJ, McQuilken MP, Purdy KJ, Rainey PB, and Whipps JM. 1993. Quantitative and qualitative seasonal changes in the microbial community from the phyllosphere of sugar bit (*Beta vulgaris*). *Plant and Soil.* 150:177-191.