

# Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif untuk Proteksi Tanaman

## Study on endophytic bacteria for bioactive compound production use as plant protection agent

RUTH MELLIAWATI<sup>✉</sup>, DIAN NOVERITA WIDYANINGRUM, APRIDAH CAMELIA DJOHAN, HARMASTINI SUKIMAN

Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong-Bogor 16911.

Diterima: 24 Februari 2006. Disetujui: 18 April 2006.

### ABSTRACT

Endophytic microbes are microbes which live symbiotically inside the plant tissue. The potential of those microbes were studied for many purposes such as industrial and agriculture. The purpose of this research was to study the potential of endophytic microbes for bioactive compound production as plants protection agent. From 238 bacteria isolates tested, it were identified that 44 bacteria were against the *Xanthomonas campestris*, 49 isolates against *Pseudomonas solanacearum*, 28 isolates against *Colletotrichum gloeosporioides*, 18 isolates against *Fusarium oxysporum*, 19 isolates against *Xanthomonas campestris* and *Pseudomonas solanacearum*, 6 isolates against *X. campestris* and *C. gloeosporioides*, four isolates against *X. campestris* and *F. oxysporum*, two isolates against *P. solanacearum* and *F. oxysporum*, seven isolates against *C. gloeosporioides* and *F. oxysporum*, five isolates against *X. campestris*, *P. solanacearum* and *C. gloeosporioides*. Fermentation process was conducted to collect the bioactive compound against pathogen. Isolates HL.50B.106 could produce bioactive compound against *C. gloeosporioides*, and *F. oxysporum*, isolates HL.13B.21 against *X. campestris* and *P. solanacearum*, isolates HL.12B.19 against *X. campestris*, *P. solanacearum* and *C. gloeosporioides*. Thin layer chromatography analysis showed specific spot, different from standard (media). Spot was purple in color after sprayed with CeSO<sub>4</sub>. Rf value of HL.50B.106 extract were 0.51 and 0.53 (fraction 1 and 2), 0.62 and 0.64 (fraction 3 and 4).

© 2006 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

**Key words:** endophytic bacteria, pathogen microbial against, TLC.

### PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara tropis yang kaya dengan flora dan fauna. Banyak jenis tumbuhan, merupakan sumber plasma nutfah yang tidak ternilai. Beberapa tahun terakhir ini penggalian sumber daya mikrobial yang terdapat di dalam jaringan tanaman mulai banyak mendapat perhatian. Mikrobial tersebut mulai dipelajari untuk berbagai tujuan. Mikrobial endofitik yang berasal dari rumput telah diaplikasikan untuk keperluan industri dan pertanian (Clay, 1988), namun masih banyak mikrobial endofitik belum diketahui karakter dan potensinya (khususnya di Indonesia). Kapang endofitik mempunyai hubungan mutualistik dengan tanaman inangnya yaitu proteksi terhadap herbivor, serangan serangga atau jaringan yang patogen (Siegel, *et al.*, 1985; Clay, 1986; Yang *et al.*, 1994). Dikatakan oleh Petrini (1991) bahwa kapang endofitik yang hidup di dalam tanaman tidak merugikan inangnya. Telah diketahui pula bahwa hubungan antara mikrobial endofitik dengan tanaman adalah karena kontribusi senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikrobial yang memiliki berbagai jenis bioaktif (Strobel *et al.*, 1996; Cacabuono dan Pomilio, 1997; Rizzo *et al.*, 1997; Fabry *et al.*, 1998).

Di Jepang beberapa penelitian tentang kapang endofitik telah dilakukan pada tanaman *cinofers*, *Rye grasses* dan *Ericaceous* (Koga *et al.*, 1993., Hata dan Futai, 1993, 1995, 1996; Okane *et al.*, 1996). Hasilnya menunjukkan bahwa beberapa kapang endofitik dari tanaman monokotil menghasilkan beberapa senyawa racun terhadap lembu dan serangga yang makan rumput tersebut. Dilaporkan pula bahwa telah diproduksi secara biologikal senyawa aktif kapang endofitik dari *conifers* (Findlay *et al.*, 1995; Schultz *et al.*, 1995; Stierle *et al.*, 1993)

Wiryanta (2002) mengatakan bahwa penyakit layu pada tanaman tomat disebabkan oleh *P. solanacearum*, penyakit busuk buah pada tanaman tomat oleh *Colletotrichum gloeosporioides*, penyakit layu pada tanaman tomat dan pisang oleh *Fusarium oxysporum cubense* sedang penyakit busul pada tanaman kedelai oleh *X. campestris*. Dalam rangka mengkaji bakteri endofitik, maka keempat mikrobial patogen tersebut akan digunakan untuk menyeleksi. Mikrobial endofitik hidup bersimbiosis dengan tanaman di dalam jaringan tanaman, apabila mikrobial tersebut mampu menghasilkan suatu agensia biologis yang dapat memerangi penyakit tanaman maka secara langsung tanaman tersebut akan terhindar dari serangan penyakit yang juga disebabkan oleh mikrobial. Tanaman yang sehat secara langsung dapat bertahan terhadap adanya berbagai serangan penyakit.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari bakteri endofitik potensial penghasil senyawa bioaktif untuk proteksi tanaman.

#### ✉ Alamat korespondensi:

Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong-Bogor 16911.  
Tel.: +62-21-8754587 Fax.: +62-21-8754588  
e-mail: ruth.melliawati@lipi.go.id

## BAHAN DAN METODE

**Isolasi bakteri endofitik.** Isolasi bakteri endofitik dilakukan pada 126 sampel tanaman yang berasal dari Taman Nasional Gunung Halimun, Kebun Raya Bali, Kebun Raya Jambi, Hutan di Riau, Kebun Plasma Nutfah Puslit Bioteknologi, tanaman pertanian di Sukabumi. Isolasi dilakukan berdasarkan metode Tanaka *et al.* (1999).

**Uji anti bakteri dan kapang patogen.** Pengujian anti mikrobial penyebab penyakit tanaman pertanian dilakukan dengan cara sebagai berikut: bakteri/kapang patogen tanaman (*Pseudomonas solanacearum*, *Xanthomonas campestris*, *Colletotricum gloeosporioides*, dan *Fusarium oxysporum*) ditumbuhkan dalam media kemudian dilarutkan menggunakan aquades steril, suspensi mikrobial ditransfer ke dalam cawan Petri sebanyak kurang lebih 1 mL kemudian dituangkan media Potato Dextrose Agar/Nutrient Agar cair masing masing untuk kapang dan bakteri yang bersuhu 35-40°C ke dalam cawan Petri tersebut, media digoyang agar homogen dan didiamkan beberapa saat sampai dingin. Setelah dingin, ditempelkan potongan kertas saring steril yang berukuran sama pada media tersebut, selanjutnya diteteskan suspensi mikrobial endofit sebanyak 10 µL di atas potongan kertas tersebut. Cawan Petri diinkubasi pada suhu 30°C selama 1-3 hari sampai terlihat pertumbuhan atau adanya lingkaran jernih disekitar potongan kertas tersebut. Lingkaran jernih tersebut merupakan tanda adanya senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh mikrobial endofit untuk memproteksi diri terhadap serangan/ pertumbuhan mikrobial patogen. Mikrobial patogen yang digunakan diperoleh dari koleksi Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI (*Xanthomonas campestris*), Pusat Penelitian Biologi LIPI (*Pseudomonas solanacearum*), dan IPB (*Colletotricum gloeosporioides* dan *Fusarium oxysporum*).

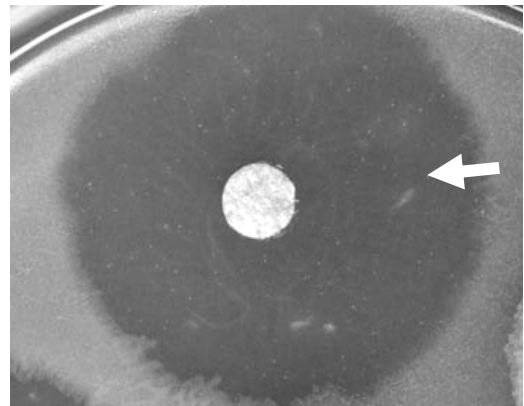
**Proses fermentasi dari mikrobial endofit terseleksi.** Mikrobial endofit terseleksi diinokulasikan pada media cair Nutrient Broth dalam Erlenmeyer 500 mL yang diisi 150 mL media (dua ulangan). Erlenmeyer diinkubasikan dalam "shaker incubator" dengan kecepatan 150 rpm selama 6 hari pada suhu 28-30°C.

**Ekstraksi dan KLT.** Sampel hasil fermentasi diekstraksi tiga kali dengan menambahkan kloroform (1:1). Ekstrak dievaporasi selama kurang lebih 15 menit pada suhu 40°C, selanjutnya dilakukan KLT dengan fase gerak kloroform dan metanol dengan perbandingan 5:1. Pemurnian dilakukan terhadap hasil ekstraksi (senyawa yang larut dalam kloroform dan tidak larut dalam kloroform) masing masing difilter menggunakan kolom yang berisi silika gel. Fraksi-fraksi ditampung dalam botol yang selanjutnya dianalisis kembali menggunakan kertas KLT.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi dari 126 sampel tanaman hutan diperoleh 238 isolat bakteri endofit. Hasil pewarnaan gram menunjukkan 107 isolat gram negatif dan 131 isolat gram positif dengan berbagai bentuk sel seperti bulat, oval, batang pendek, dan panjang. Hasil seleksi bakteri endofit terhadap mikrobial patogen (*X. campestris*, *P. solanacearum*, *Colletotricum gloeosporioides*, dan *Fusarium oxysporum*) diperoleh 100 isolat mampu menghambat pertumbuhan mikrobial patogen (Tabel 1). Dari bakteri yang terseleksi, 44 isolat mampu menghambat pertumbuhan *X. campestris*, 49 isolat menghambat *P. solanacearum*, 28 isolat menghambat *C. gloeosporioides*, dan 18 isolat menghambat *F. oxysporum*. Di antara bakteri yang terseleksi ada yang

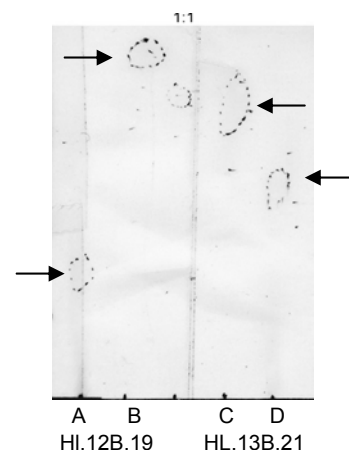
mempunyai kemampuan ganda yaitu 19 isolat menghambat *X. campestris* dan *P. solanacearum*, tujuh isolat menghambat *C. gloeosporioides* dan *F. Oxysporum*, enam isolat menghambat *X. campestris* dan *C. gloeosporioides*, empat isolat menghambat *X. campestris* dan *F. oxysporum*, lima isolat menghambat *P. Solanacearum* dan *C. gloeosporioides*, dua isolat menghambat *P. solanacearum* dan *F. oxysporum*. Di antara mikrobial endofit yang mampu menghambat mikrobial patogen, lima isolat dapat menghambat tiga mikrobial patogen (*X. campestris*, *P. solanacearum* dan *C. gloeosporioides*) yaitu isolat dengan kode CBN.3B.19, HL.12B.19, HL.20B.38, HL.39B.88 dan HL.11B.16 (Tabel 2).



**Gambar 1.** Zonasi jernih bakteri HL.50B.106 terhadap mikrobial patogen *Fusarium oxysporum*.



**Gambar 2.** Hasil analisis KLT dari ekstrak bakteri HL.50 B. 106 dalam pelarut kloroform.



**Gambar 3.** Hasil KLT ekstrak isolat HI.12B.19 (A, B) dan HL.13B.21 (C, D) dalam pelarut air dan khloroform (fermentasi 48 jam).

**Tabel 1.** Hasil pengujian bakteri endofitik yang mampu menghambat pertumbuhan mikrobia patogen: *X. campestris*, *P. solanacearum*, *C. gloeosporioides* dan *F. oxysporum cubense* (dari 238 isolat yang diuji).

No.	Kode isolat bakteri	Hasil pengujian terhadap mikrobia patogen			
		<i>Xanthomonas campestris</i>	<i>Pseudomonas solanacearum</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Fusarium oxysporum cubense</i>
1.	CBN.1 B.4	+	-	-	-
2.	CBN.1 B.6	+	-	-	-
3.	CBN.1 B.8	+	+	-	-
4.	CBN.2 B.12	+	-	-	-
5.	CBN.2 B.14	+	+	-	-
6.	CBN.3 B.15	+	-	-	+
7.	CBN.3 B.16	+	+	-	-
8.	CBN.3 B.17	+	+	-	-
9.	CBN.3 B.18	+	+	-	-
10.	CBN.3 B.19	+	+	+	-
11.	CBN.4 B.20	-	+	-	-
12.	CBN.4 B.21	+	+	-	-
13.	CBN.6 B.24	-	+	-	-
14.	HL.3 B.5	-	+	-	-
15.	HL.7 B.10	+	-	-	-
16.	HL.11 B.15	-	+	-	-
17.	HL.12 B.19	+	+	+	-
18.	HL.13 B.21	+	+	-	-
19.	HL.14 B.23	+	-	-	-
20.	HL.14 B.24	-	+	-	-
21.	HL.15 B.25	-	+	-	-
22.	HL.16 B.26	-	+	-	-
23.	HL.17 B.28	+	+	-	-
24.	HL.20 B.37	+	-	-	-
25.	HL.20 B.38	+	+	+	-
26.	HL.20 B.40	-	+	-	-
27.	BL.22 B.43	+	-	+	-
28.	BL.23 B.46	+	+	-	-
29.	BL.23 B.47	+	-	-	-
30.	BL.25 B.52	+	-	-	-
31.	BL.26 B.53	+	-	-	-
32.	BL.27 B.57	+	-	-	-
33.	HL.28 B.60	+	+	-	-
34.	HL.29 B.63	+	-	-	-
35.	HL.31 B.65	+	-	-	+
36.	HL.32 B.70	+	-	-	-
37.	HL.32 B.71	+	+	-	-
38.	HL.33 B.73	+	-	-	-
39.	HL.38 B.82	+	-	-	-
40.	HL.38 B.83	++	+	-	-
41.	HL.39 B.84	+	+	-	-
42.	HL.39 B.86	-	+	+	-
43.	HL.39 B.87	-	+	-	-
44.	HL.39 B.88	+	+	++	-
45.	HL.39 B.89	+	+	-	-
46.	HL.40 B.91	+	-	-	-
47.	HL.45 B.98	+	-	-	-
48.	HL.45 B.99	-	+	-	-
49.	HL.46 B.101	-	+	-	-
50.	HL.46 B.102	-	+	-	+
51.	HL.48 B.104	-	+	-	-
52.	HL.49 B.105	-	+	-	-
53.	HL.50 B.106	-	-	+	+
54.	HL.51 B.107	-	+	-	-
55.	HL.52 B.110	+	-	-	-
56.	JB.53 B.111	-	+	-	-
57.	JB.58 B.119	-	+	-	-
58.	JB.59 B.120	-	+	-	-
59.	JB.61 B.122	-	+	-	-
60.	HL.68 B.140	++	-	-	-
61.	HL.76 B.165	+	+	-	-
62.	HL.76 B.166	+	-	-	-
63.	HL.86 B.191	-	+	-	-
64.	HL.87 B.193	-	+	-	-
65.	SKB.92B.208	-	+	-	-
66.	SKB.93B.226	-	+	-	-

67.	SKB.94B.235	-	+	-	-
68.	HL.10B.14	-	-	+	+
69.	HL.11B.16	+	+	+	-
70.	HL.31B.67	-	-	+	-
71.	HL.32B.72	-	-	+	+
72.	HL.42B.95	-	-	+	+
73.	JB.54B.114	-	-	+	-
74.	JB.62B.125	-	-	+	+
75.	HL.64B.131	-	-	-	+
76.	HL.71B.149	-	-	+	-
77.	HL.74B.156	-	-	+	-
78.	HL.82B.181	-	-	+	-
79.	CBN.2B.10	-	-	+	-
80.	CBN.2B.13	-	-	+	-
81.	CBN.8B.29	-	-	+	-
82.	HL.75B.161	-	-	+	-
83.	JB.62B.124	-	-	+	-
84.	SKB.92B.208	-	+	-	-
85.	SKB.93B.226	-	+	-	-
86.	SKB.94B.229	-	-	-	+
87.	SKB.94B.235	-	+	-	-
88.	SKB.94B.238	-	-	+	-
89.	SKB.95B.240	-	-	+	-
90.	SKB.95B.242	-	-	+	+
91.	SKB.95B.243	-	-	-	+
92.	SKB.95B.245	-	-	+	-
93.	SKB.95B.248	-	+	-	+
94.	SKB.95B.250	+	-	-	+
95.	SKB.96B.253	-	-	-	+
96.	SKB.96B.257	-	-	+	+
97.	SKB.97B.260	-	-	+	+
98.	SKB.97B.262	-	-	-	+
99.	SKB.97B.263	-	-	+	-
100.	SKB.97B.264	+++	-	-	+

Keterangan: + = Luas zonasi jernih antara 0,5-2,5 mm; ++ = Luas zonasi jernih antara 2,6-4,0 mm; - = Tidak terlihat zonasi jernih.

**Tabel 2.** Hasil penapisan bakteri endofit anti bakteri/kapang patogen.

Mikrobia patogen tanaman	Jumlah bakteri endofit anti bakteri/kapang patogen (isolat)
<i>Xanthomonas campestris</i>	44
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	49
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	28
<i>Fusarium oxysporum</i>	18
<i>X. campestris</i> , <i>P. solanacearum</i>	19
<i>X. campestris</i> , <i>C. gloeosporioides</i>	6
<i>X. campestris</i> , <i>F. oxysporum</i>	4
<i>P. solanacearum</i> , <i>C. gloeosporioides</i>	5
<i>P. solanacearum</i> , <i>F. oxysporum</i>	2
<i>C. gloeosporioides</i> , <i>F. oxysporum</i>	7
<i>X. campestris</i> , <i>P. solanacearum</i> , <i>C. gloeosporioides</i>	5
<i>X. campestris</i> , <i>P. solanacearum</i> , <i>C. gloeosporioides</i> , <i>F. oxysporum</i>	-

Melliawati *et al.* (2004) melaporkan bahwa bakteri endofit HL.38B.83 yang berasal dari Tanam Nasional Gunung Halimun mempunyai daya hambat yang sangat luas terhadap pertumbuhan *X. campestris* dan hasil analisis KLT menunjukkan ada dua spot yang berbeda dari standard (media) yang berarti dihasilkan senyawa lain (bioaktif) yang menghambat mikrobia patogen. Dalam penelitian ini isolat bakteri HL.50B.106 yang berasal dari tanaman *Mallotus paniculatus* yang mempunyai nama daerah calik angin menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan dua jenis kapang sekaligus, yaitu: *C. gloeosporioides* dan *F. oxysporum*. Kedua jenis kapang patogen tersebut menyebabkan penyakit busuk buah dan layu pada tanaman tomat (Wiryanta, 2002). Hasil analisis

KLT dari ekstrak bakteri HL.50B.106 yang sudah melalui pemurnian memperlihatkan satu spot dari masing masing fraksi (Gambar 2). Berdasarkan hasil tersebut, bakteri endofit tersebut mempunyai potensi untuk dikembangkan dalam menghasilkan senyawa aktif antikapang patogen.

Hasil pemurnian melalui kolom pemisah diperoleh fraksi fraksi (Gambar 2), ada empat fraksi masing-masing diperoleh nilai Rf 0,51; 0,52; 0,62 dan 0,64. Gambar 3 hasil KLT dari ekstrak bakteri HL.12B.19 dan HL.13B.21 memperlihatkan adanya senyawa yang berbeda dari standar (medium) baik yang larut dalam air maupun dalam khloroform. Nilai Rf. pada HL.12B.19 dan HL.13B.21 yang larut dalam khloroform masing masing 0,92 dan 0,78 sementara yang tidak larut dalam khloroform nilai Rf. 0,34 dan 0,56. Hasil tersebut merupakan senyawa aktif yang dihasilkan oleh bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan mikrobia patogen (ditunjukkan adanya zonasi jernih pada seleksi awal dalam media padat seperti terlihat pada Gambar 1. Fraksi fraksi hasil KLT setelah melalui penyempotan dengan  $\text{Ce}_2\text{SO}_4$  menunjukkan warna ungu.

### KESIMPULAN

Bakteri endofit tanaman hutan Indonesia mempunyai prospek dalam menghasilkan senyawa aktif yang berguna untuk memproteksi serangan mikrobia patogen tanaman (*Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas solanacearum*, *Colletotricum gloeosporioides*, dan *Fusarium oxysporum*). Seratus bakteri mampu menghambat pertumbuhan mikrobia patogen, beberapa di antaranya mampu menghambat 2-3 jenis mikrobia patogen). Hasil seleksi diperoleh lima isolat bakteri dengan kode isolate CBN.3B.19, HL.12B.19, HL.20B.38, HL.39B.88, dan HL.11B.16 mampu menghambat pertumbuhan tiga mikrobia patogen (*Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas solanacearum*, *Colletotricum gloeosporioides*). Hasil analisis KLT terhadap ekstrak HL.50B.106, HL.12B.19 dan HL.13B.21 mengandung senyawa aktif (steroid) yang mampu menghambat pertumbuhan mikrobia patogen.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pimpinan Proyek Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong-Bogor, yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ferra Octavina, Erlita Ismawati, Rita Yunaeni

Waluyaningasih, Nuryati, dan Dodi Sukmawijaya yang telah membantu penelitian ini sehingga dapat diselesaikan.

### DAFTAR PUSTAKA

- Cacabuono, A.C. and A.B. Pomilio, 1997. Alkaloids from endophyte-infected *Festua argentina*. *Journal of Ethnopharmacology* 57:1-9.
- Clay, K. 1986. Grass endophytes. In: Fokkema, N. and J. van den Heuval (eds.). *Microbiology of the Phyllosphere*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Clay, K. 1988. Fungal endophytes of grasses, and a defensive mutualism between plants and fungi. *Ecology* 69:10-16.
- Fabry, W., P.O. Okemo, and R. Ansorg. 1998. Antibacterial activity of East African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 60: 79-84.
- Findlay, J.A., G. Li, and P.E. Penner. 1995. Novel diterpenoid insect toxins from a conifer endophyte. *Journal of Natural Products* 58: 197-200.
- Hata, K. and K. Futai. 1993. Effects of needle aging on the total colonization rate of endophytic fungi on *Pinus thunbergii* and *Pinus densiflora* needles. *Journal of Japan Forest Society* 75: 338-341.
- Hata, K. and K. Futai. 1995. Endophytic fungi associated with healthy pine needles and needles infested by the pine needle gall midge, *Thecodiplosis japonensis*. *Canadian Journal of Botany* 73: 384-390.
- Hata, K. and K. Futai. 1996. Variation in fungal endophyte populations in needles of the genus *Pinus*. *Canadian Journal of Botany* 74: 103-114.
- Koga, H., T. Kimigakuhuro, T. Tsukiboshi, and T. Uematsu. 1993. Incidence of endophytic fungi in perennial ryegrass in Japan. *Annual of Phytopathology Society of Japan* 59: 180-184.
- Melliawati, R., H.I. Sukiman, D.N. Widyaningrum, F. Octavina, E. Sukmawati, and P. Simanjuntak. 2004. Studies on Indonesian endophytic microorganism and their potentials for plant protection of pathogen bacteria. *Indonesian Biotechnology Conference*. Konsorsium Bioteknologi Indonesia, Sanur, Bali, December 1-3<sup>rd</sup>, 2004.
- Okane, J., A. Nakagiri, and T. Ito. 1996. *Discostruma tricellulare*, a new endophytic ascomycete with a *Seimatosporium anamorph* isolated from *Rhododendron*. *Canadian Journal of Botany* 74: 1334-1344.
- Petrini, O. 1991. Fungal endophytes of tree leaves. In: Andew, J. and S. Hirano (eds.). *Microbial Ecology of Leaves*. New York: Springer-Verlag.
- Rizzo, I., E. Varsavsky, M. Haiduhoski, and H. Frade, 1997. Macrocytic trichothecene in *Baccharis coridifolia* plants and endophytes and *Baccharis artemisioides* plants. *Toxicol* 35: 753-757.
- Schultz, B., J. Sucker, H.J. Aust, K. Krohn, K. Ludewig, P.G. Jones, and D. Doering. 1995. Biologically active secondary metabolites of endophytic *Pezizella* species. *Mycology Research* 99: 1007-1015.
- Siegel, M. R., G.C.M. Latch, and M.C. Johnson. 1985. Acremonium fungal endophytes of tall fescue and perennial ryegrass: significance and control. *Plant Disease* 69:179-183.
- Stierle, A., G. Strobel, and D. Stierle. 1993. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of pacific yew. *Science*. 260: 214-216.
- Strobel, G.A., W.M. Hess., E.J. Ford, R.S. Sidhu, and X. Yang. 1996. Taxol from fungal endophytes and the issue of biodiversity. *Journal of Industry Microbiology* 17: 417-423.
- Tanaka, M., H. Sukiman, M. Takebayashi, K. Saito, M. Suko, M.S. Prana, and F. Tomita. 1999. Isolation, screening and phylogenetic identification of endophytes from plants in Hokaido Japan and Java Indonesia. *Microbes and Environment* 14 (4): 237-241.
- Yang, X., G. Strobel, A. Stierle, W.M. Hess, J. Lee, and J. Clardy. 1994. A fungal endophyte-tree relationship: *Phoma* sp. in *Taxus wallachiana*. *Plant Science* 102:1-9.
- Wiriyanta, B.T.W. 2002. *Bertanam Tomat*. Jakarta: Penerbit PT. AgroMedia Pustaka.