

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Batang dan Akar Tanaman Mimba

Yusminah Hala¹, Arifah Novia Arifin²
Universitas Negeri Makassar

Email: yushala12@gmail.com

Abstrak. Bakteri endofit merupakan bakteri yang terdapat pada jaringan tumbuhan yang tidak memberikan infeksi atau efek negatif pada tumbuhan inangnya. Bakteri endofit dapat ditemukan di berbagai jenis tumbuhan, terutama tumbuhan yang sering dijadikan tanaman obat. Salah satunya adalah mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yang memiliki empat senyawa kimia, yang berkhasiat sebagai obat, yakni azadiraktin, salannin, nimbinen, dan meliantriol. Bakteri endofit dapat menghasilkan komponen bioaktif yang sama dengan tumbuhan inangnya, sehingga berpotensi untuk dikembangkan dalam dunia kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan bakteri endofit pada akar dan batang tanaman mimba untuk mengetahui keragaman dan fisiologinya. Isolasi dilakukan pada media LG (Media selektif untuk *Azotobacter* dan mikroba penambat N-2 lainnya) dan media NA untuk mempertahankan kemurnian kultur bakteri. Hasil isolasi bakteri endofit dari akar dan batang tanaman mimba diperoleh tiga koloni berbeda dari akar dan tiga koloni dari batang. Keenam isolat diuji biokimia dan hasilnya menunjukkan bahwa keenam isolat tersebut adalah dari kelompok *Azotobacter*

Kata Kunci: Isolasi Dan Karakterisasi, Bakteri Endofit, Tanaman Mimba, *Azotobacter*

**INDONESIAN
JOURNAL OF
FUNDAMENTAL
SCIENCES**

E-ISSN: 2621-6728

P-ISSN: 2621-671X

Submitted: August 7th, 2021

Accepted : October, 9th, 2021



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

PENDAHULUAN

Mimba atau *Azadirachta indica* A. Juss. adalah tumbuhan perdu yang tumbuh di dataran rendah pada daerah tropis yang agak tandus. Daun mimba mengandung azadirachtin dan senyawa-senyawa fitokimia lain antiinflamasi, antidiabetes dan anti penyakit kardiovaskular insektisida. Oleh sebab itu, di India tanaman ini disebut “the village pharmacy”. Selain itu mimba memiliki efek anti serangga dengan azadirachtin sebagai komponen yang paling poten. Bagian tanaman mimba yang digunakan sebagai insektisida adalah biji dan daun. Selain itu ekstrak daun juga dapat berefek sebagai fungisida alami pada pengendalian beberapa penyakit (Wikipedia, 2017).

Potensi tanaman mimba yang sangat besar sebagai, anti serangga, antivirus, anti fungi, dan anti bakteri (Hala and Omar, 2015) kemungkinan juga mempunyai eksudasi akar yang potensial dan mampu mendukung pertumbuhan mikroba rhizosfer tanaman mimba. Dengan eksudasi yang besar dan beragam, rhizosfer tanaman mimba dapat mendukung pertumbuhan mikroba tanah yang sangat tinggi dan beragam (Karthikeyan et al, 2008). Hasil isolasi mikroba dari rhizosfer mimba *Azadirachta indica* yang tumbuh pada beberapa daerah di West Bengal, India menunjukkan bahwa Rhizosfer mimba dapat mendukung pertumbuhan mikroba umum penghuni tanah (Biswas, 2016).

Keberadaan bakteri endofit pada batang dan akar tanaman mimba belum banyak dilaporkan. Penelitian terkait mikroba endofit tanaman mimba memiliki kemungkinan yang sangat besar untuk menyediakan basis data penting untuk eksplorasi dan evaluasi potensi bioprospektif di masa depan.

Bakteri endofit didefinisikan sebagai bakteri non-patogen yang hidup di dalam jaringan tanaman yang sehat (Suhandono & Utari, 2014) tanpa menyebabkan perubahan morfologi ataupun menimbulkan penyakit dan tidak memberikan infeksi atau efek negatif pada tumbuhan inangnya. Bakteri ini membantu meningkatkan kesehatan dan produktivitas tanaman dengan cara menekan bakteri patogen dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Bakteri endofit dapat ditemukan di berbagai jenis tumbuhan, terutama tumbuhan yang sering dijadikan tanaman obat. Salah satunya adalah mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yang memiliki empat senyawa kimia, yang berkhasiat sebagai obat, yakni azadirachtin, salannin, nimbinen, dan meliantriol (Sarawaneeyaruk, et al., 2015). Bakteri endofit dapat menghasilkan komponen bioaktif yang sama dengan tumbuhan inangnya, sehingga berpotensi untuk dikembangkan dalam dunia kesehatan.

Bakteri endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman memiliki tempat hidup yang relatif terlindungi serta mendapatkan nutrisi yang memadai. Bagi tanaman, bakteri endofit berperan penting dalam menjaga kesehatan tanaman (Malfanova, 2013). Bakteri endofit memberi keuntungan bagi tanaman melalui produksi siderophore, asam absisat, asam indolasetat (AIA), dan lain-lain (Tian et al., 2015). Interaksi positif ini memberikan keuntungan bagi keduanya. Peran penting bakteri endofit bagi tanaman membuat bakteri ini berpotensi dimanfaatkan dalam upaya peningkatan produktivitas tanaman yang berkelanjutan. Beberapa penelitian telah banyak dilakukan untuk mengetahui keberadaan mikroorganisme endofit pada berbagai tanaman yaitu diantaranya tanaman padi (Ji et al., 2014), kentang (Pavlo et al., 2011), anggrek (Faria et al., 2013), kina (Zakiyah et al., 2015). Namun, keberagaman

bakteri endofit pada suatu tanaman tidak selalu sama karena salah satunya dipengaruhi kondisi tanam. Oleh karena itu, eksplorasi tentang keberagaman bakteri endofit masih terus menjadi perhatian. Sampai sekarang, pemanfaatan mikroba endofit masih sedikit, sehingga perlu dikembangkan terutama pada tumbuhan Mimba. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya bakteri endofit dan karakteristiknya dari hasil isolasi batang dan akar tumbuhan Mimba.

Penelitian ini bertujuan untuk menemukan jenis bakteri endofit apa saja yang diisolasi dari batang dan akar tanaman mimba. Manfaat penelitian ini adalah untuk memberikan informasi tentang jenis bakteri endofit apa saja yang diisolasi dari rhizosfer tanaman mimba

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang dan akar Mimba (*Azadirachta indica*), Etanol 70%, larutan natrium hipoklorit 5,25 %, aquadest steril, Media Nutrient agar (NA), Hidrogen peroksida (Uji Katalase), media Triple Sugar Iron, agar (TSIA), Uji Fermentasi laktosa, Media sulfite Indole Motility (Uji Motilitas/pergerakan bakteri), Media gelatin (Uji Hidrolisis Gelatin), media Simmons Citrate Agar (Uji Sitrat), reagen pewarnaan (Kristal violet, Lugol, Safranin, Aseton Alokohol) dan spritus, Gram Colour Stain Set, minyak imersi, proteinase K, lysozyme, Gram (+) buffer, Gram (-) buffer, Natrium Hipoklorit, asam nitrat (HNO_3) 0,5 M feri klorida (FeCl_3), Amyl alcohol ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$), ammonium thiosianat (NH_4SCN) 10%. Media spesifik untuk isolasi *Azotobacter* (Media LG) (Krieg & Doberiner, 1984) dan Media Isolasi *Azospirillum* (Medium NFB) (Doberiner, 1992)

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel batang dan akar Mimba (*Azadirachta indica*),

Batang dan akar Mimba diambil dari 5 tanaman mimba yang tersebar di Pulau Sulawesi. Pengambilan sampel dan isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dilakukan sejak bulan Mei- Oktober 2021.

Isolasi Bakteri Endofit dari batang dan Akar mimba

Bakteri endofit diisolasi dari batang dan akar tanaman mimba dalam kondisi segar. Sampel ditimbang 2 gr, lalu sterilisasi permukaan batang dan akar tanaman dengan merendam bagian tanaman dalam etanol 70 % selama 1 menit. Setelah itu, cairan perendam dibuang dan diganti dengan larutan natrium hipoklorit 5.25 % selama 5 menit, dan dicuci dengan etanol 70 % selama 30 detik. Kemudian batang dan akar tanaman dibilas dengan aquadest steril sebanyak 2 kali dan dikeringkan pada kertas saring steril. Setelah kering bagian ujung kiri dan kanan dari akar tanaman dibuang kurang lebih 2cm. Kemudian masing-masing akar dipotong menjadi 2 bagian. Akar yang sudah steril dihaluskan dengan mortal. Dilakukan proses pengenceran sampai dengan 10^{-4} . Proses pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 ml suspensi dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades, dan hal yang sama dilakukan hingga seri pengenceran sampai 10^{-4} . Diambil sebanyak 1 ml sampel dari keempat seri pengenceran yaitu 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} diinokulasi pada media Nutrient Agar (NA) yang mengandung nistatin. Media yang sudah mengandung sampel

tersebut diinkubasi selama 2x24 jam dan diamati sampai ada pertumbuhan koloni. Isolat bakteri endofit yang telah murni diidentifikasi secara morfologi berdasarkan warna koloni, bentuk tepian koloni, elevasi koloni dan konsistensi koloni serta kecepatan pertumbuhan koloni.

Identifikasi Bakteri Endofit

Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengamati karakteristik mikroskopis. Pewarnaan gram dilakukan pada kultur bakteri umur 2x 24 jam yang diambil dari isolat bakteri murni. Pertama-tama bakteri biakan diambil dan diratakan pada objek glass yang terlebih dahulu yang telah dibersihkan, kemudian difiksasi diatas api bunsen sapai mengering. Kemudian ditetesi pewarnaan kristal violet dan biarkan selama satu menit, setelah itu cuci dengan air mengalir, kemudian tetesi lugol biarkan selama satu menit dan kembali dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya tetesi alkohol 96% biarkan selama 30 detik, cuci dengan air mengalir dan tambahkan safranin biarkan selama 30 detik kemudian cuci lagi dengan air mengalir. Setelah preparat kering dapat diamati dibawah mikroskop. Bila hasil pewarnaan diperoleh bakteri berwarna merah maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, sedangkan bila diperoleh bakteri berwarna ungu maka bakteri tersebut adalah gram positif.

Identifikasi Morfologi

Identifikasi morfologi dilakukan untuk mengamati karakteristik makroskopis. Diinokulasikan biakan bakteri endofit kedalam media NA baru secara goresan dengan menggunakan jarum ose. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Karakteristik bakteri endofit secara visual meliputi bentuk koloni, tepi koloni, warna koloni dan permukaan koloni (elevasi).

Uji Biokimia

1. Uji Motilitas

Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui pergerakan bakteri. Ambil 1 ose isolat bakteri endofit dengan menggunakan ose jarum lalu diinokulasikan dengan cara tusukan pada media Sulfie Indol Motility (SIM) tegak. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

2. Uji Sitrat

Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Ambil 1 ose isolat bakteri endofit dengan menggunakan ose cincin kemudian diinokulasikan pada media Simmon's Citrate Agar (SCA) pada suhu 37°C selama 48 jam. Perubahan warna dari hijau menjadi biru menunjukkan bahwa bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

3. Uji Hidrolisis Gelatin

Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim gelatinase. Ambil 1 ose isolat bakteri endofit dengan menggunakan ose jarum lalu diinokulasikan dengan cara tusukan pada media gelatin. Kemudian diinkubasi pada

suhu 37°C selama 48 jam. Hasil positif terjadi apabila terjadi pencairan glatin pada media berarti bakteri mampu menghasilkan enzim glatinase dan hasil negatif jika media membeku.

4. Uji Fermentasi Gula (TSIA)

Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasi karbohidrat. Ambil 1 ose isolat bakteri dengan menggunakan ose jarum. Kemudian diinokulasi dengan cara ditusukkan pada media Triple Sugar Iron Agar (TSIA). Kemudian ambil lagi 1 ose isolat bakteri lalu digoreskan pada permukaan media. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Perubahan yang terjadi setelah diinkubasi yaitu warna media menjadi kuning menandakan asam, warna media menjadi merah menandakan basa, dan warna media menjadi hitam menandakan terbentuknya H₂S (Hidrogen Sulfida) dan bila media terangkat menandakan bahwa mikroba tersebut mampu untuk memproduksi gas.

Uji Katalase

Uji katalase berguna dalam mengidentifikasi kelompok bakteri yang dapat menghasilkan enzim katalase. Uji katalase digunakan dengan cara ambil 1 ose isolat bakteri dengan menggunakan ose cincin kemudian dicelupkan kedalam tabung reaksi yang berisi reagen Hidrogen Peroksida (H₂O₂). Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung udara dan hasil negatif tidak terbentuknya gelembung-gelembung udara.

Analisis Data

Data diperoleh dengan cara mengumpulkan hasil dari semua pengamatan isolat dari proses isolasi bakteri, identifikasi bakteri, dan pengujian biokimia. Pada semua tahapan penelitian dianalisis secara deskriptif, yaitu dengan memberikan penjelasan atau penggambaran dari bakteri yang didapat hasil identifikasi dan karakterisasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

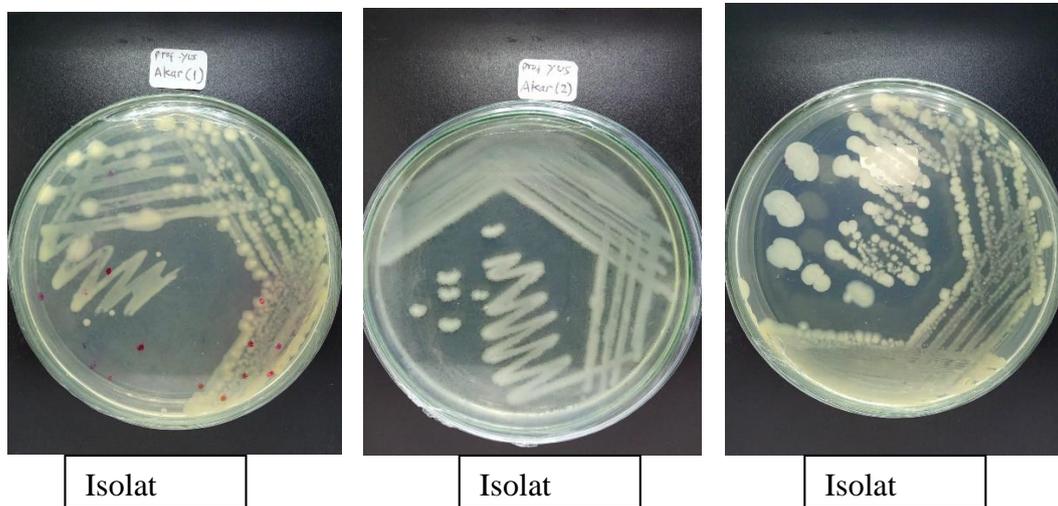
Sampel Akar dan batang Tnaman Mimba yang digunakan sebagai sumber bakteri endofit adalah seperti pada Gambar 1.



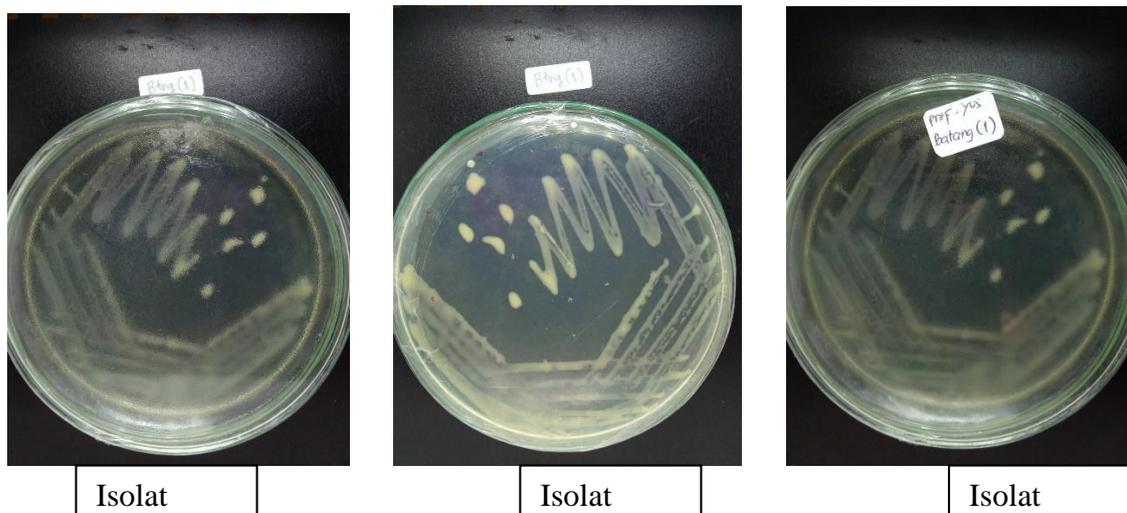
Gambar 1. Sampel Akar dan batang tanama mimba

Isolasi Bakteri Endofit

Hasil isolasi bakteri endofit dari akar dan batang tanaman mimba diperoleh tiga koloni berbeda dari akar (Gambar 2) dan tiga koloni dari batang (Gambar 3). Isolasi dilakukan pada media LG (Media selektif untuk Azotobacter dan mikroba penambat N-2 lainnya) dan media NA untuk mempertahankan kemurnian kultur bakteri



Gambar 2. Isolat bakteri endofit asal akar Tanaman Mimba



Gambar 3. Isolat bakteri endofit asal batang Tanaman Mimba

Hasil analisis terhadap struktur koloni isolat yang diperoleh baik dari akar maupun batang menunjukkan struktur koloni seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi Isolat Bakteri endofit dari akar dan batang

Sifat Koloni	Isolat YHA1	Isolat YHA2	Isolat YHA3	Isolat YHB1	Isolat YHB2	Isolat YHB3
Bentuk koloni	Bundar	Bundar	Bundar	Bundar	Bundar	Bundar
Bentuk sel	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Warna koloni	Kuning	Putih	Kuning	Putih	Kuning	Putih

Transparansi	Buram	Buram	Buram	Buram	Buram	Buram
Sifat Koloni	Berkilau	Berkilau	Berkilau	Berkilau	Berkilau	Berkilau
Margin koloni	Rata	rata	Rata	rata	Rata	rata
Permukaan koloni	Halus	Halus	Halus	Halus	Halus	Halus

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri endofit dari akar dan batang tanaman Mimba selanjutnya diuji secara biokimia. Isolat yang diperoleh dikarakterisasi sel bakterinya melalui pewarnaan Gram dan determinasi keberadaan spora. Karakterisasi koloni terdiri dari bentuk, warna, margin, sifat dan tekstur koloni (Tabel1).

Berbagai hasil uji biokimia terhadap isolat dikarakterisasi berdasarkan Burgys Manual. Beberapa isolat menunjukkan hasil positif terhadap uji biokimia. Hasil uji biokimia menunjukkan hasil seperti pada Tabel 2. Hasil analisis terhadap hasil uji biokimia menunjukkan karakteristik *Azotobacter* sp (Madigan et al., 1997)

Tabel 2. Karakteristik Biokimia Isolat Bakteri *Azotobacter*

Jenis Uji	Isolat YHA1	Isolat YHA2	Isolat YHA3	Isolat YHB1	Isolat YHB2	Isolat YHB1
Pewarnaan Gram	G -	G -	G -	G -	G -	G -
Motilitas	+	+	+	+	+	+
Uji Pemanfaatan Sitrat	+	+	+	+	-	+
Uji Methylred	-	-	-	-	-	-
Uji Voges prosquire	-	-	-	-	-	-
Uji Katalase	+	+	+	+	+	+
Uji Indol	+	+	+	+	+	+
Uji Urea	-	-				
Uji Glukosa	+	+	+	+	+	+
Uji Laktosa	-	-	-	-	-	-
Uji Sukrosa	-	+	-	+	-	+
Uji Fermentasi Gula (Tsia)	Asam	Asam	Asam	Asam	Asam	Asam
Uji Hidrolisis Gelatin	+	+	+	+	+	+

Pembahasan

Penelitian dan penyelidikan dilakukan di Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Negeri Makassar dengan tujuan untuk mengetahui jenis bakteri endofit apa saja yang diisolasi dari akar dan batang tanaman mimba melalui isolasi dan karakterisasi bakteri. Bakteri endofit yang menghuni akar tanaman Mimba ditemukan 3 isolat yaitu

dari genus *Brucella* dan *Klebsiella* sementara bakteri endofit yang ditemukan di batang tanaman mimba ada 3 isolat dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*.

Bakteri endofit dapat masuk ke dalam jaringan tanaman umumnya melalui akar, namun bagian tanaman yang terpapar udara langsung seperti bunga, batang, daun (melalui stomata) dan kotiledon, juga dapat menjadi jalur masuk bakteri endofit. Bakteri endofit yang telah masuk ke dalam tanaman dapat tumbuh hanya di satu titik tertentu atau menyebar ke seluruh tanaman. Mikroorganisme ini dapat hidup di dalam pembuluh vaskular atau di ruang intersel (Zinniel et al. 2002), akar, batang, daun dan buah (Simarmata et al. 2007; Bacon dan Hinton 2006).

Hasil penelitian ini menunjukkan bakteri endofit ditemukan di bagian akar dan batang tanaman Mimba. Uji lanjut seperti uji biokimia dan mikrobiologi yang dilakukan terhadap ke-6 isolat bakteri endofit menunjukkan bahwa bakteri endofit yang menghuni akar tanaman Mimba adalah dari genus *Brucella* dan *Klebsiella* sementara bakteri endofit yang ditemukan di batang tanaman Mimba adalah *Bacillus* dan *Pseudomonas*. Dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa bakteri endofit yang ditemukan pada batang tidak ditemukan pada akar. Jumlah bakteri endofit di dalam tanaman tidak dapat ditentukan secara pasti, namun bakteri ini dapat dideteksi dengan mengisolasi pada media agar. Media agar yang digunakan untuk mengisolasi bakteri endofit pada penelitian ini adalah media nutrient agar (NA). Media ini merupakan media kaya yang terdiri atas yeast extract, pepton, NaCl dan agar. Bakteri endofit dapat hidup pada media NA dikarenakan sifat media yang kompleks dan kemungkinan besar media tersebut memiliki komposisi yang mirip seperti kondisi di dalam tanaman.

Interaksi bakteri endofit dan tanaman merupakan suatu bentuk simbiosis. Simbiosis antara tanaman dengan bakteri endofit bersifat netral, mutualisme atau komensalisme (Bacon dan Hinton 2006). Simbiosis mutualisme antara bakteri endofit dengan tanaman, dalam hal ini bakteri endofit mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan melindungi tanaman dalam melawan patogen, sedangkan tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan selama hidupnya (Simarmata et al 2007). Koloni bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman Mimba menunjukkan keragaman, baik dari segi warna, bentuk dan kecepatan pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan Bhore dan Sathisha (2010) yang menyatakan bahwa bakteri endofit pada satu tanaman inang umumnya terdiri atas beberapa genus dan spesies. Keragaman bakteri endofit dalam suatu tanaman juga dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman, khususnya kondisi tanah. Pada beberapa kasus, tanaman dengan jenis atau spesies yang sama memiliki bakteri endofit yang tidak selalu sama. Pada beberapa tanaman terdapat bakteri endofit yang spesifik dan khas menghuni tanaman tersebut. Keberadaan bakteri endofit pada akar tanaman Mimba ternyata tidak berhubungan dengan bakteri rhizosfer tanaman Mimba yang di dominasi oleh *Azotobacter* (Hala & Ali, 2019)

KESIMPULAN

Bakteri endofit yang menghuni akar tanaman Mimba ditemukan 3 isolat yaitu dari genus *Brucella* dan *Klebsiella* sementara bakteri endofit yang ditemukan di batang tanaman mimba ada 3 isolat dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Universitas Negeri Makassar yang telah mendanai penelitian ini. Penelitian ini didanai oleh PNPB Majelis Professor Universitas Negeri makassar

REFERENSI

- Bacon, C. W., Hinton, D. M., & Hinton Jr, A. 2006. Growth-inhibiting effects of concentrations of fusaric acid on the growth of *Bacillus mojavensis* and other biocontrol *Bacillus* species. *Journal of Applied Microbiology*, 100(1), 185-194.
- Bhore, S. J., Ravichantar, N., & Loh, C. Y. 2010. Screening of endophytic bacteria isolated from leaves of Sambung Nyawa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] for cytokinin-like compounds. *Bioinformation*, 5(5), 191.
- Biswas, K., J. Basu, A. Ghosh & P. Giri 2016 Study of rhizospheric bacterial population of *Azadirachta indica* (Neem) of North 24 Parganas district of West Bengal for bioprospective consideration. *International Journal of Experimental Research and Review (IJERR)* Vol. 6: 62-66
- Faria, D.C. Dias, A.C.F., Melo, I.S., & Costa, F.E.C. 2013. Endophytic bacteria isolated from orchid and their potential to promote plant growth. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(2), 217–221. doi:10.1007/s11274-012-1173-4
- Hala A. Mohammed and Al Fadhil A. Omer 2015. Antibacterial activity of *Azadirachta indica* (Neem) leaf extract against bacterial pathogens in Sudan. *American Journal of Research Communication*, , 3(5): 246-251} www.u sa-journals.com, ISSN: 2325-4076.
- Hala, Y. and A. Ali 2019 Isolation and Characterization of *Azotobacter* from Neems Rhizosphere. *Journal of Physics : Conference series*, Vo. 1244, Conference 1 IOP Science
- Dobereiner, J. 1992. Review article History and New Perspectives of Diazotrophs in Association With Non-Leguminous Plants. *Symbiosis*.
- Ji, S.H., Gururani, M.A. & Chun, S.C. 2014. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. *Microbiological Research*, 169(1), 83–98. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2013.06.003
- Karthikeyan B¹, Jaleel CA, Lakshmanan GM, Deiveekasundaram M. 2008. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 15;62(1):143-5.
- Krieg, N. R., & Döbereiner, J. 1984. Genus *Azospirillum*. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 1, 94-104.
- Madigan, Michael T. Martinko, Jhon. M dan Parker, Jack. 1997. *Brock Biology of Microorganisms* Eighth Edition. USA : Prentice-Hall, Inc.
- Malfanova, N. V. 2013. Endophytic bacteria with plant growth promoting and biocontrol abilities. (Dissertation). Leiden University, Netherlands.
- Pavlo, A, Leonid, O., Iryna, Z., Natalia, K., Maria, P.A. 2011. Endophytic bacteria enhancing growth and disease resistance of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Biological Control*, 56(1), 43–49. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.09.014

- Sarawaneeyaruk, S., S. Krajangsang, O. Pringsulaka 2015 The effects of neem extract and azadirachtin on soil microorganisms. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* vol.15 no.4 <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162015005000075>
- Simarmata, R., Lekatompessy, S., & Sukiman, H. 2007. Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura Procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Berkala Penelitian Hayati*, 13(1), 85-90.
- Suhandono, S., & Utari, I. B. 2014. Isolation and Molecular Identification of Endophytic Bacteria from the Arils of Durian (*Durio zibethinus* Murr) var. Matahari, *Microbiology Indonesia*, 8(4), 161–169. doi:10.5454/mi.8.4.3
- Tian, B., Cao, Y. & Zhang, K. 2015. Metagenomic insights into communities, functions of endophytes, and their associates with infection by root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Nature Publishing Group*, 1–15. doi: <http://dx.doi.org/10.1038/srep17087>
- Wikipedia. 2017. Mimba. <https://id.wikipedia.org/wiki/Mimba>
- Zakiah, A., Radiastuti, N. & Sumarlin, L.O. 2015. Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dari Tanaman Kina (*Cinchona calisaya* Wedd). *Al-Kaunyah*, 8(2), 51–58.
- Zinniel, D. K., Lambrecht, P., Harris, N. B., Feng, Z., Kuczmariski, D., Higley, P., ... & Vidaver, A. K. (2002). Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Applied and environmental microbiology*, 68(5), 2198-2208.