

VIABILITAS FORMULA RIZOBAKTERIA YANG DISIMPAN PADA SUHU RENDAH SELAMA SATU TAHUN

(Viability of Rhizobacteria Formula on Low Temperature During One Year Storage)

Julio Eiffelt Rossaffelt Rumbiak^{1*}, Samsu Hilal¹

¹Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Serang, Banten.

***Penulis Korespondensi: julio.eiffelt@untirta.ac.id**

ABSTRACT

Rhizobacteria are bacteria found in plant root complexes reported to be able to control plant diseases and increase plant growth that has been formulated so that it is more effective and efficient when applied. One of the factors that affect the viability of the rhizobacteria formula is the influence of temperature during storage. Several rhizobacteria formulas stored at low temperatures were reported to be able to maintain population density during long storage and at low temperatures. This study aimed to determine the effect of low temperature on the viability of rhizobacteria in a formula with alginate as a carrier which is stored for 1 year. This research was carried out in a factorial manner with five replications. This treatment consisted of a combination of ten rhizobacteria and two types of storage temperatures (4°C and -18°C). The results showed that almost all formulations of rhizobacteria isolates with population density could be maintained for up to 1 year at low temperatures of 4°C and -18°C with alginate carrier reaching 107 CFU.gr-1.

Keywords: *Rhizobacteria, Alginat, Viability, 4°C and -18°C , Coloni forming unit*

PENDAHULUAN

Rizobakteria adalah kelompok bakteri yang terdapat pada komplek akar. Rizobakteri dilaporkan mampu menekan perkembangan penyakit tanaman dan meningkatkan pertumbuhan tanaman (*Plant Growth Promotion Rhizobacteria/PGPR*) (Nelson, 2004). Pemanfaatan rizobakteri pada

tanaman sangat tergantung dengan kepadatan populasi sewaktu aplikasi. Apabila aplikasi rizobakteri tanpa diformasi, maka populasi rizobakteri yang efektif sebagai PGPR akan turun dengan cepat. Hal ini disebabkan oleh rendahnya daya adaptasi rizobakteria pada kondisi lingkungan. Kondisi ini diperburuk dengan adanya persaingan

rizobakteri dengan mikroorganisme lain di dalam tanah antara lain makanan, ruang/tempat dan adanya aktifitas predasi (Bashan *et al.*, 2014). Oleh sebab itu, formulasi menjadi sebuah langkah atau metoda dalam menurunkan potensi faktor-faktor yang dapat menurunkan kepadatan populasi rizobakteri sewaktu aplikasi di lahan dengan tetap mempertahankan efektifitas dan efisiensi dari penggunaan rizobakteri. Selain itu, formulasi juga dapat meningkatkan viabilitas rizobakteri sehingga dapat disimpan pada waktu yang relatif lebih lama (Rumbiak, 2016).

Formulasi merupakan suatu proses dari pembuatan sebuah formula yang terdiri atas biomassa agen pengendali dan senyawa untuk meningkatkan daya tahan dan efektifitas dari produk (Shaikh dan Sayyed, 2015). Pada kondisi tertentu formula rizobakteri tidak dapat diaplikasikan ke tanaman. Hal ini disebabkan oleh beberapa hal yaitu: (1) rendahnya atau menurunnya jumlah populasi efektif selama penyimpanan (Rumbiak *et al.*, 2018), (2) adanya cekaman lingkungan sehingga merusak formulasi

rizobakteria selama penyimpanan, (3) rusaknya senyawa penyeimbang atau pelindung rizobakteri pada formula dan (4) formula terlalu lama disimpan (Dutta dan Podile, 2010). Akibatnya, tujuan dari formulasi agar dapat mempertahankan daya hidup (viabilitas) dan melindungi rizobakteri pada iklim mikro yang sesuai dan mencegah periode waktu tertentu tidak dapat dicapai (Bashan *et al.*, 2014). Oleh karena itu diperlukan suatu teknik formulasi rizobakteri yang tepat sehingga dapat disimpan pada waktu relatif lama dan dapat mempertahankan populasi efektif rizobakteria.

Teknik formulasi bioenkapsulasi adalah suatu teknik formulasi rizobakteri yang bertujuan untuk melindungi agen hayati dalam tanah yang dapat melepaskan rizobakteri secara perlahan pada jangka waktu yang relatif lama (Bashan, 1986). Bioenkapsulasi ini berasal dari bahan alami dan sintetik yang termasuk kedalam kelompok karbohidrat (Reineccius, 1991) yang memiliki keunggulan dengan viskositas rendah pada padatan yang tinggi dan memiliki sifat kelarutan yang baik. Bioenkapsulasi kering

rizobakteria dapat disimpan pada waktu yang relatif lama karena memberikan lingkungan yang cocok terhadap rizobakteri dan mengurangi resiko penurunan viabilitas. Selain itu, bioenkapsulasi juga dapat ditambahkan zat atau nutrisi esensial untuk pertumbuhan rizobakteri yang mampu meningkatkan jumlah bakteri sewaktu diaplikasikan ke dalam tanah. Teknik formulasi ini juga dapat mengurangi kontaminasi selama penyimpanan dan trasnportasi (Schoebitz, López dan Roldán, 2013). Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui ketahanan viabilitas dari rizobakteria yang disimpan pada suhu rendah (4°C dan -18°C) yang diformulasi alginat sebagai bahan pembawa.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Ilmu Dasar dan Perlindungan Tanaman Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa bulan Mei 2021-Mei 2022.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: isolat bakteri rizoplan, medium *nutrient agar* (NA), alkohol 70%, akuades,

kantong plastik tahan panas, *aluminum foil*, tissue, plastik *wrapping*, tali plastik, polibag, kertas saring, gliserol, dan kertas label. Alat yang digunakan adalah: cawan petri kaca, *microtube*, tabung reaksi, gelas piala, gelas ukur, labu Erlenmeyer, *laminar air flow cabinet*, *magnetic stirrer*, otoklaf, oven, *hot plate*, *vortex*, timbangan digital, botol *Schoot*, kaca objek, pipet mikro, pipet tetes, rak tabung reaksi, batang pengaduk, lampu spritus, jarum ose, jarum suntik, ruang inkubasi, ember, dan alat tulis.

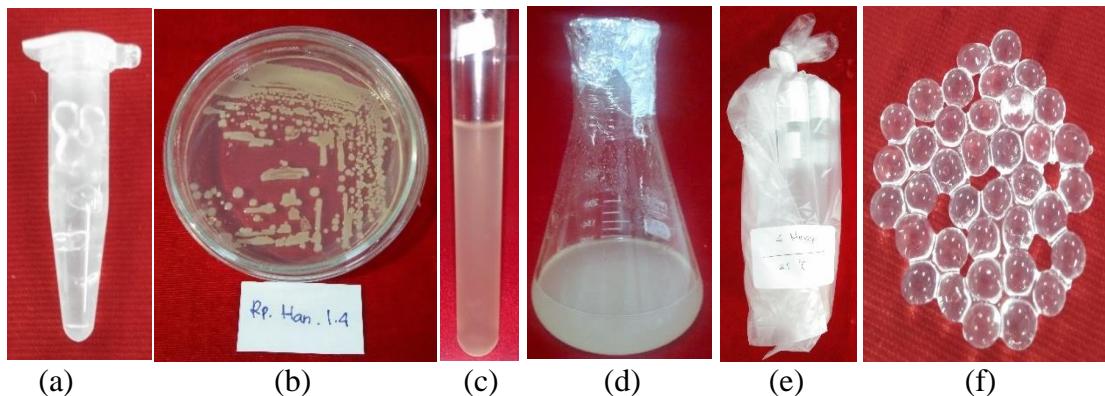
Penelitian ini menggunakan perancangan lingkungan. Perlakuan terdiri dari dua faktor yaitu 10 rizobakteri unggul dan dua jenis suhu penyimpanan (4°C dan -18°C) dan kontrol. Setiap kombinasi perlakuan dan kontrol diulang lima kali sehingga terdapat 110 unit percobaan. Data dianalisis secara sidik ragam, jika berbeda nyata dilanjutkan dengan *Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT)* pada taraf 5 %.

Peremajaan dan Formulasi Rizobakteri Unggul.

Isolat rizoplan diperoleh dari laboratorium Ilmu Dasar dan

Perlindungan Tanaman, Jurusan Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Serang (Koleksi Rumbiak *et al.*, 2021) yang disimpan pada larutan NaCl 0,90 % yang ditambahkan gliserol dalam mikrotube. Isolat-isolat tersebut merupakan isolat rizoplan unggul yang mampu menekan perkembangan penyakit tanaman dan memacu pertumbuhan tanaman cabai. Isolat rizoplan diremajakan dengan metode gores pada medium NA, diinkubasi 1 x 24 jam (Gambar 1). Perbanyak rizobakteria unggul terdiri dari dua tahap yaitu suspensi *preculture* rizoplan dibuat dengan memasukkan satu koloni rizoplan ke dalam 25 ml NB dalam labu Erlenmeyer (vol. 250 ml) yang diinkubasi pada horizontal *rotary shaker* (150 rpm) 1 x 24 jam pada suhu ruang. Selanjutnya, suspensi *mainculture* rizoplan dengan memasukkan 1 ml *preculture* ke dalam 50 ml NB dalam erlenmeyer (vol. 100 ml) dan diinkubasi dengan

cara yang sama. Kepadatan rizoplan diukur 10^7 CFU ml⁻¹ menggunakan spektrofotometer. Teknik formulasi mengacu kepada Rumbiak *et al.* (2018) pada kondisi aseptik pada *laminar air flow*. *Mainculture* rizoplan dimasukkan ke dalam larutan sodium alginat steril dan dihomogenkan menggunakan *rotary shaker* (150 rev/menit) selama 60 menit, kemudian diteteskan menggunakan suntik ke dalam larutan CaCl₂ (1,5% w/w) steril sehingga membentuk butiran (*beads*) dan disimpan selama 1-3 jam. Butiran disaring menggunakan kertas stensil steril dan dibilas dua kali. Butiran dimasukkan ke dalam medium NB selama 1 x 24 jam pada *rotary shaker* agar meningkatkan populasi rizoplan dalam formula. Kemudian formula disaring dan dibilas dengan akuades steril dua kali serta dikeringkan pada pada *laminar air flow* (Trivedi *et al.*, 2005). Formula disimpan pada suhu 4 °C dan -18°C selama satu tahun.



Gambar 1. Peremajaan dan formulasi rizoplane unggul. (a) Rizoplane pada mikrotube, (b) Pemurnian dan koloni tunggal rizoplane pada media NA, (c) *Preculture* dan (d) *Mainculture* rizoplane pada media NB, (e) Formulasi dan (f) Prizoplane pada dengan bahan pembawa alginat.

Viabilitas Formula Rizobakteri

Viabilitas isolat-isolat rizoplane pada formula dilakukan dengan teknik pengenceran seri yaitu 1 g alginat ditambahkan 9 ml akuades steril dan dihomogenkan dengan *vortex*. Suspensi rizoplane diencerkan sampai 10^{-6} . Selanjutnya, 0,1 ml dari pengenceran 10^{-6} dituangkan ke medium NA, diratakan dengan spatula dan diinkubasi 2 x 24 jam. Jumlah koloni yang muncul dihitung dengan *colony counter*. Kepadatan populasi rizobakteri pada formula dihitung dengan rumus menurut Klement *et al.* (1990):

$$JB = A \times C$$

Keterangan:

JB = Kepadatan populasi (CFU/g)

A = Jumlah koloni terbentuk

C = Faktor pengenceran

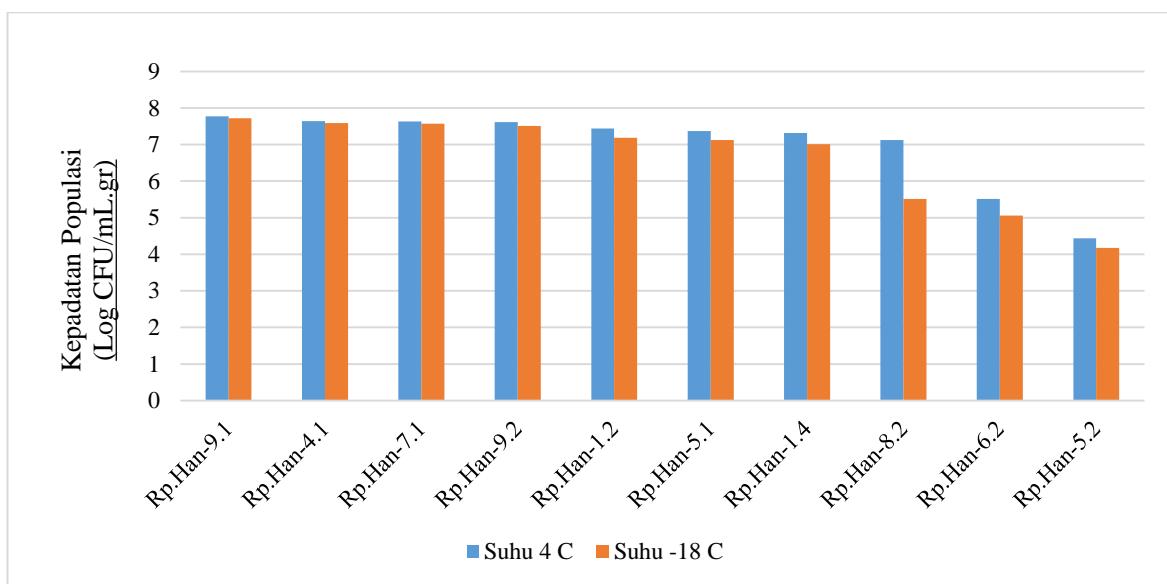
HASIL DAN PEMBAHASAN

Viabilitas Formula Rizobakteri

Rizobakteri unggul yang diformulasikan dengan alginat sebagai bahan pembawa mampu mempertahankan viabilitas yang disimpan pada selama satu tahun pada suhu 4 °C dan -18°C. Hampir semua isolat mampu mempertahankan viabilitas sampai penyimpanan delapan minggu dengan kepadatan populasi yaitu berkisar 10^4 - 10^8 CFU $\text{ml}^{-1}\text{g}^{-1}$ dibanding kontrol. Jumlah koloni tertinggi yaitu pada isolat rizobakteri Rp.Han-9.1 yang disimpan pada suhu 4 °C dengan kepadatan populasi $5,92 \times 10^7$ dan pada suhu -18 °C

yaitu $5,26 \times 10^7$ CFU ml $^{-1}$ g $^{-1}$. Selain itu, isolat-isolat rizobakteri lainnya juga mampu mempertahankan viabilitas dalam formula alginat berkisar $4,38 \times 10^7$ - $1,04 \times 10^7$ CFU ml $^{-1}$ g $^{-1}$ pada suhu 4 °C dan -18 °C. Isolat Rp.Han-8.2, cenderung stabil pada suhu penyimpanan pada suhu 4

°C yaitu dengan kepadatan populasi $1,38 \times 10^7$ CFU ml $^{-1}$ g $^{-1}$ tetapi mengalami penurunan kepadatan populasi menjadi 7×10^6 CFU ml $^{-1}$ g $^{-1}$ pada suhu -18 °C. Sedangkan Rp.Han-6.2 dan Rp.Han-5.2 memiliki viabilitas 10^6 - 10^4 CFU ml $^{-1}$ g $^{-1}$ pada suhu 4 °C dan -18 °C.



Gambar 2. Viabilitas formula rhizobakteri dalam formula alginat dengan lama penyimpanan satu tahun pada suhu 4 °C dan -18°C.

Tabel 1. Viabilitas rizobakteri dalam formula alginat penyimpanan satu tahun pada suhu 40 °C dan 18 °C

Formula Rizobakteri	Suhu (°C)	Jumlah Bakteri (CFU ml $^{-1}$ g $^{-1}$) ^a	Kepadatan Populasi (Log CFU ml $^{-1}$ g $^{-1}$) ^b
Rp.Han-9.1	4	$5,92 \times 10^7$	7,7715 a
Rp.Han-9.1	-18	$5,26 \times 10^7$	7,7183 a
Rp.Han-4.1	4	$4,38 \times 10^7$	7,6390 ab
Rp.Han-7.1	4	$4,26 \times 10^7$	7,6277 ab
Rp.Han-9.2	4	$4,10 \times 10^7$	7,6105 ab
Rp.Han-4.1	-18	$3,86 \times 10^7$	7,5827 ab
Rp.Han-7.1	-18	$3,76 \times 10^7$	7,5685 ab
Rp.Han-9.2	-18	$32,8 \times 10^6$	7,5103 abc
Rp.Han-1.2	4	$2,76 \times 10^7$	7,4394 abc
Rp.Han-5.1	4	$2,36 \times 10^7$	7,3692 abc
Rp.Han-1.4	4	$2,06 \times 10^7$	7,3122 abc
Rp.Han-1.2	-18	$1,56 \times 10^7$	7,1804 bcd

Rp.Han-8.2	4	$1,38 \times 10^7$	7,1253	bcd
Rp.Han-5.1	-18	$1,36 \times 10^7$	7,1205	bcd
Rp.Han-1.4	-18	$1,04 \times 10^7$	7,0101	cd
Rp.Han-8.2	-18	$7,00 \times 10^5$	6,7271	d
Rp.Han-6.2	4	$4,20 \times 10^5$	5,5113	e
Rp.Han-6.2	-18	$1,94 \times 10^5$	5,0602	e
Rp.Han-5.2	4	$3,20 \times 10^4$	4,4352	f
Rp.Han-5.2	-18	$4,64 \times 10^4$	4,1732	f

kk : 3,62 %

Keterangan: a) Jumlah koloni yang tumbuh pada media NA setelah pengenceran berseri (*serial dilution*)

b) konversi Logaritma dari kepadatan populasi Rizobakteri

Viabilitas Rizobakteri Pada Formula

Hampir Semua isolat mampu mempertahankan kepadatan populasi 10^7 CFU $\text{ml}^{-1}\text{g}^{-1}$ yang diformulasikan menggunakan alginat dengan lama penyimpanan selama satu tahun pada suhu 4 °C dan -18 °C. Meskipun terjadi perbedaan jumlah koloni yang muncul pada semua isolat tetapi tidak terjadi perubahan dalam kepadatan populasi sewaktu awal formulasi sampai penyimpanan selama satu tahun kecuali pada isolat Rp.Han 5.2 dan Rp.Han 6.2. Pada suhu 4 °C, semua isolat mampu mempertahankan kepadatan populasi sebesar 10^7 CFU $\text{ml}^{-1}\text{g}^{-1}$ kecuali pada dua isolat yang mengalami penurunan kepadatan populasi yaitu Rp.Han 5.2 dengan kepadatan populasi sebesar $3,2 \times 10^4$ dan Rp.Han 6.2 sebesar $4,2 \times 10^5$ CFU $\text{ml}^{-1}\text{g}^{-1}$. Pada suhu -18 °C, hampir

semua isolat mampu mempertahankan kepadatan populasi selama satu tahun yaitu 10^7 CFU $\text{ml}^{-1}\text{g}^{-1}$ kecuali pada dua isolat yang mengalami penurunan kepadatan populasi yaitu Rp.Han 5.2 dengan kepadatan populasi sebesar $4,64 \times 10^4$ dan Rp.Han 6.2 sebesar $1,94 \times 10^5$ CFU $\text{ml}^{-1}\text{g}^{-1}$. Perbandingan antara suhu 4 °C dan -18 °C pada semua isolat rizobakteri, jumlah koloni yang muncul pada media NA, pada suhu 4 °C lebih tinggi jika dibandingkan pada suhu -18 °C. Perbedaan tersebut hanya terdapat pada jumlah koloni saja yang muncul pada media NA, tetapi tidak pada kepadatan populasi secara umum. Sedangkan pada isolat Rp.Han 8.2, pada suhu 4°C sebesar $1,38 \times 10^7$ terjadi penurunan kepadatan populasi pada suhu -18 °C menjadi 7×10^5 CFU $\text{ml}^{-1}\text{g}^{-1}$.

Young *et al.* (2009) melaporkan bahwa rizobakteri yang diformulasi menggunakan alginat dapat melindungi rizobakteri dari cekaman lingkungan fisik dan menurunkan mortalitas sel yang disimpan waktu yang relatif lama. *Azospirillum lipoferum* mampu mempertahankan viabilitas dengan penyimpanan pada suhu kamar selama satu tahun dengan kepadatan populasi 10^{10} CFU ml⁻¹g⁻¹ (Fages 1992). *Azospirillum brasiliense* Cd dan *P. fluorescens* 313 yang diformulasi alginat kering dengan penyimpanan selama 14 tahun, tidak kehilangan kemampuan dalam meningkatkan pertumbuhan pada tanaman gandum dengan viabilitas 10^5 - 10^6 CFU g⁻¹ (Bashan, dan González 1999). Hal ini menunjukkan bahwa pemanfaatan alginat pada formulasi sesuai dengan tujuan dari formulasi rizobakteri, salah satunya yaitu untuk mempertahankan daya hidup rizobakteri sewaktu penyimpanan dan ketika introduksikan ke tanah (Bashan *et al.*, 2014).

Alginat juga tidak berbahaya terhadap lingkungan apabila diaplikasikan karena mampu terurai

secara alami (*biodegradable*) dan mampu melepaskan rizobakteri secara perlahan (*slow releasing rhizobacteria*) dan berkepanjangan (Kim *et al.*, 2012). Keunggulan penggunaan alginat sebagai carrier dalam formula yaitu mengontrol pelepasan rizobakteri di dalam tanah, perlindungan rizobakteri dari pengaruh abiotik (lingkungan) dan biotik, menekan atau mengurangi terjadinya kontaminasi selama proses formulasi, sewaktu penyimpanan dan proses pemindahan (Schoebitz, López dan Roldán, 2013) serta dapat disimpan pada waktu yang lama (Trivedi dan Pandey, 2008).

Alginat juga mampu mempertahankan kepadatan populasi rizobakteri dari cekaman suhu yang relatif rendah. Hal ini dapat menurunkan rata-rata mortalitas rizobakteria yang rentan terhadap suhu yang rendah seperti pada isolat Rp.Han-5.2, Rp.Han-6.2 dan Rp.Han-8.2. Pada suhu tersebut tersebut rizobakteria tetap aktif selama kondisi lingkungan dan nutrisi mendukung (Bashan *et al.*, 2013). Viabilitas *Azotobacter vinelandii* galur NDD-CK-1 yang disimpan 30 sampai 90 hari relatif

stabil dengan suhu penyimpanan 5, -16, 25 ± 2 , ± 30 dan $37,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ (Phiromtan *et al.*, 2013).

Kepadatan populasi pada formula rizobakteri juga dipengaruhi oleh metode sterilisasi (Bazilah *et al.*, 2011). Sterilisasi dengan menggunakan sinar gamma merupakan cara yang cocok untuk digunakan pada bahan formula jika dibandingkan dengan metoda sterilisasi lain (panas) karena dapat merusak/merubah dari sifat fisik dan kimia dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C (Strijdom dan van Rensburg, 1981). Sterilisasi menggunakan panas yang tinggi dapat protein pada bahan formula sehingga juga menghasilkan produk sampingan (*by product*) yang bisa saja bersifat racun terhadap rizobakteri (Bashan *et al.*, 2013) sehingga berpengaruh terhadap viabilitas bakteri. El-Fattah *et al.* (2013) melaporkan bahwa viabilitas *A. chroococcum* galur A101 dapat dipertahankan 10^{10} CFU ml⁻¹ dengan menggunakan metode sterilisaasi sinar gamma.

SIMPULAN

Hampir semua Rizobakteriaa mampu mempertahankan viabilitas

yang relatif stabil yang diformulasikan dengan alginat sebagai bahan pembawa yang disimpan pada suhu 4°C dan -18°C selama satu tahun. Kepadatan populasi Rizobakteriaa hampir sama pada awal hingga akhir penyimpanan selama satu tahun. Isolat Rp.Han-8.2, Rp.Han-6.2 dan Rp.Han-5.2 memiliki viabilitas yang lebih rendah yaitu berkisar 10^4 - 10^5 CFU ml⁻¹ g⁻¹.

SARAN

Hasil dari penelitian ini dapat dilanjutkan ke tahap teknik pengemasan produk agen hayati rizobakteriaa yang aman dan digunakan sebagai biopestisida dan biofertilizer.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa pada tahun 2022.

DAFTAR PUSTAKA

Abd El-Fattah, D.A., Eweda, W.E., Zayed, M.S., & Hassanein, M.K. 2013. Effect of Carrier Materials, Sterilization Method, and Storage Temperature on Survival and Biological Activities of

- Azotobacter chroococcum* inoculant. *Annals of Agricultural Sciences*, 58 (2): 111-118.
- Albareda, M., Rodríguez-Navarro, D.N., Camacho, M., Temprano, F.J. 2008. Alternatives to Peat as a Carrier for Rhizobia Inoculants: Aolid and Liquid Formulations. *Soil Biol Biochem* 40: 2771-2779.
- Bashan, Y., de-Bashan, L.E., Prabhu, S.R., and Hernandez, J.P. 2014. Advances in Plant Growth-Promoting Bacterial Inoculant Technology: Formulations and Practical Perspectives (1998-2013). *Plant and soil*, 378 (1): 1-33.
- Bashan, Y. 1986. Alginate Beads as Synthetic Inoculant Carriers for Slow Release of Bacteria that Affect Plant Growth. *Appl Environ Microbiol* 51: 1089-1098.
- Bashan, Y., and González, L.E. 1999. Long-Term Survival of the Plant-Growth-Promoting Bacteria *Azospirillum brasiliense* and *Pseudomonas fluorescens* in Dry Alginate Inoculant. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51 (2): 262-266.
- Bashan, Y., Kamnev, A.A., and de-Bashan, L.E. 2013. A Proposal for Isolating and Testing Phosphate-Solubilizing Bacteria that Enhance Plant Growth. *Biology and Fertility of Soils*, 49 (1): 1.
- Bazilah, A.B., Sariah, M., Zainal, A.M.A., dan Yasmeen, S. 2011. Effect of Carrier and Temperature on the Viability of *Burkholderia* sp. (UPMB3) and *Pseudomonas* sp. (UPMP3) During Storage. *International Journal of Agriculture dan Biology*, 13: 198-202.
- Dutta, S., and Podile, A.R. 2010. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): The Bugs to Debug the Root Zone. *Critical reviews in microbiology*, 36 (3): 232-244.
- Fages, J. 1992. An Industrial View of Azospirillum Inoculants: Formulation and Application Technology. *Symbiosis*.
- Kim, K.H., Park, J.H., Kim, M.Y., Heu, S., dan Lee, S.H. 2011. Genetic Mapping of Novel Symptom in Response to Soybean Bacterial Leaf Pustule in PI 96188. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 14 (2): 119-123.
- Kishore, G.K., Pande, S., dan Podile, A.R. 2005. Phyloplane Bacteria Increase Seedling Emergence, Growth and Yield of Field-Grown

- Groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Letters in applied microbiology*, 40 (4): 260-268.
- Klement, Z., Rudolph, K., dan Sand, D.C. 1990. Methods in Phytopathology. Akademia Kiado:Budapest. Hungary.
- Schoebitz, M., Lopez, Maria., and Antonio, R. 2013 Bioencapsulation of Microbial Inoculants for Better Soil-Plant Fertilization. A Review. Agronomy for Sustainable Development, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA, 2013, 33 (4): 751-765.
- Nakkeeran, S., Fernando, W.G.D., Siddiqui, Z.A. 2005. Plant Growth Promoting Rhizobacteria Formulation and Its Scope in Commercialization for the Management of Pest and Disease. Siddiqui, Z. A (Editor). PGPR : Biocontrol and Biofertilization. Springer : Dordrecht, The Netherland. Hal 257-296.
- Nelson, L.M. 2004. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Prospects for New Inoculants. *Crop management*, 3 (1): 1-7.
- Phiromtan, M., Mala, T., dan Srinives, P. 2013. Effect of Various Carrier and Storage Temperature on Survival of *Azotobacter Vinelandii* NDD-CK-1 in Powder Inoculant. *Modern Applied Science*, 7 (6).
- Rumbiak, J.E.R. 2016. Introduksi Formula Rizobakteria *Bacillus* spp. pada Tanaman Kedelai untuk Peningkatan Ketahanan terhadap Penyakit Pustul Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* [l.] Merr.) Di lapangan (Doctoral Dissertation, Universitas Andalas).
- Rumbiak, J.E.R., Habazar, T., dan Yanti, Y. 2018. Introduksi Formula Rizobakteria *Bacillus thuringiensis* pv. *toumanoffi* pada Tanaman Kedelai untuk Peningkatan Ketahanan terhadap Penyakit Pustul Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) di lapangan. *Jurnal Agroekoteknologi*, 10.
- Reineccius, G. 1991. Off-flavors in Foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 29: 381-402.
- Shaikh, S.S., and Sayyed, R.Z. 2015. Role of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Their Formulation in Biocontrol of Plant Diseases. In Plant Microbes Symbiosis: Applied facets (pp. 337-351). Springer, New Delhi.
- Schisler, D.A., Slininger, P.J., Behle, R.W., dan Jackson, M.A. 2004. Formulation of *Bacillus* spp. for Biological Control of Plant Diseases.

- Phytopathology* 94: 1267-1271.
- Strijdom, B.W., dan van Rensburg, H.J. 1981. Effect of Steam Sterilization and Gamma Irradiation of Peat on Quality of Rhizobium Inoculants. *Applied and environmental microbiology*, 41 (6): 1344-1347.
- Trivedi, P., Pandey, A., and Palni, L.M.S. 2005. Carrier-Based Preparations of Plant Growth-Promoting Bacterial Inoculants Suitable for Use in Cooler Regions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(6): 941-945.