

**EKSPLORASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI RHIZOBIUM ASAL
TANAMAN *Mucuna bracteata* DI TANAH GAMBUT**

*(Exploration and Characterization of Rhizobium Bacteria from
Mucuna bracteata in Peatland)*

Isna Rahma Dini^{1*}, Wawan¹, Hapsoh¹, Rahma Devi¹

**¹Staf Pengajar, Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Riau
Kampus Bina Widya KM. 12,5 Simpang Baru Pekanbaru 28293**

***Penulis Korespondensi: isnarahmadini19@gmail.com**

ABSTRACT

The efficiency of fertilizing N on oil palm plants on peatlands in several companies is done by planting legume cover crop, one of which is *Mucuna bracteata*. This plant can form root nodules because it can symbiosis with *rhizobium* bacteria which will make fixation of N₂ in the air so that the bound N elements can be utilized by plants. This bacterium grows naturally on legume cover crop. This study aims to explore and characterize adaptive *rhizobium* bacteria in peatlands. The location of sampling is done at PT. Jatimjaya Perkasa, Kubu District, Rokan Hilir Regency. Sampling of root nodules by stratified random sampling. The results obtained by eight bacterial isolates that have relatively similar macroscopic and microscopic characteristics and belong to *rhizobium* based on the YEMA + CR and YEMA + BTB tests.

Keywords: Peat soil, Oil palm, Legume cover crop, *Rhizobium*

PENDAHULUAN

Lahan gambut di Provinsi Riau sebagian besar dimanfaatkan untuk perkebunan kelapa sawit dimana luas perkebunan kelapa sawit pada tahun 2011 lebih dari 1,5 juta ha (Ditjen Perkebunan, 2011). Menurut Ma'ruf *et al.* (2017), tanaman kelapa sawit membutuhkan N sebagai unsur hara essensial. Salah satu upaya pemenuhan kebutuhan unsur N bagi kelapa sawit

yaitu dengan penanaman tanaman *legum cover crop* (LCC). Jenis LCC yang paling banyak digunakan di perkebunan kelapa sawit adalah *Mucuna bracteata*. Berdasarkan hasil penelitian Samedani *et al.* (2014), peningkatan hasil kelapa sawit pada perlakuan *M.bracteata* dibandingkan dengan tanpa vegetasi menunjukkan peningkatan bobot rata-rata tandan buah segar kelapa sawit.

Penanaman *M.bracteata* pada tanah gambut diduga dapat menyumbang unsur N₂ ke dalam tanah. Kondisi tersebut dicapai jika *M.bracteata* dapat menambat N₂ dari udara melalui bintil akar yang telah bersimbiosis dengan *rhizobium* membentuk akar efektif. Agus *et al.* (2008) menyatakan bahwa pH tanah gambut di Indonesia sebagian besar berkisar antara 3-5. Hal ini yang menyebabkan *rhizobium* diduga kurang optimal tumbuh pada lahan gambut. Akan tetapi menurut Indrawati (2000), terdapat beberapa strain *rhizobium* yang masih hidup pada tanah gambut pada pH sedikit di bawah netral hingga sedikit alkali dengan kisaran pH 5,0 sedangkan pada pH 4,4 beberapa *rhizobium* tidak berkembang (Indrawati, 2000).

Walaupun demikian, beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman legum seperti *M.bracteata* (Hapsoh *et al.*, 2017), tanaman akasia (Pamungkas dan Irfan, 2018) dan tanaman kedelai (Hanafi, 2006) dapat membentuk bintil akar efektif pada tanah gambut. Namun, bintil akar efektifnya masih beragam atau hanya

sebagian bintil yang membetuk akar efektif pada ketiga tanaman tersebut. Hal ini menandakan bahwa aktivitas *rhizobium* dalam memfiksasi N masih beragam. Oleh sebab itu, perlu dilakukan pengembangan potensi tanaman legum di lahan gambut.

Salah satu cara untuk meningkatkan jumlah bintil akar efektif pada tanaman legum yang ditanam pada lahan gambut yaitu dengan mengetahui interaksi antara bakteri *rhizobium* dengan tanaman legum dan lingkungannya. Langkah awal untuk tujuan tersebut yaitu dengan melakukan isolasi dan identifikasi bakteri *rhizobium* dari berbagai tanaman legum asal tanah gambut.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian yang berjudul “Eksplorasi dan Karakterisasi Bakteri *Rhizobium* Asal Tanaman *M.bracteata* di Tanah Gambut”.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di PT. Jatimjaya Perkasa Kecamatan Kubu Kabupaten Rokan Hilir dan

Laboratorium Tanah Fakultas Pertanian Universitas Riau. Sampel penelitian berupa bintil akar diperoleh dari tanaman *M.bracteata* yang ditanam di sekitar tanaman kelapa sawit pada perusahaan tersebut.

Penentuan Lokasi Sampling

Penentuan lokasi penelitian dilakukan dengan metode *purposive sampling* yaitu dengan memilih lahan gambut yang ditanami tanaman *M.bracteata*. Penentuan lokasi pengambilan sampel dengan *stratified random sampling* yaitu sampel diambil di lahan gambut yang ditumbuhi *M.bracteata* umur satu tahun, umur dua tahun, serta umur tiga tahun. Pengambilan sampel dilakukan dengan *proportional stratified sampling* yaitu dengan menghitung setiap anggota antar sub populasi dan diambil sebanyak 10% dari total masing-masing sub populasi. Pengambilan sampel dengan metode diagonal. Pada setiap titik pengambilan sampel akar tanaman legum juga dilakukan pengambilan sampel tanah (Pamungkas, 2014).

Seleksi Nodul Tanaman Legum

Seleksi nodul dilakukan untuk mendapatkan isolat *rhizobium* yang efektif dari bintil akar leguminosa yang telah didapatkan. Ciri nodul yang efektif yaitu bila dibelah secara melintang akan memperlihatkan warna merah muda hingga kecoklatan di bagian tengahnya (Pamungkas, 2014).

Sterilisasi Nodul Tanaman Legum

Bintil akar tumbuhan leguminosa yang telah didapat dicuci bersih dengan cara mengocok bintil akar dalam aquades steril di dalam tabung reaksi selama satu menit menggunakan vortex sebanyak tiga kali ulangan. Setelah bersih bintil akar disterilkan menggunakan larutan *dettol* (10%, 7%, 5%, 3%, dan 1%) dengan cara divortex masing-masing selama dua menit, kemudian bintil akar dicuci kembali tiga kali menggunakan aquades steril dengan cara divortex masing-masing selama satu menit (Pamungkas, 2014).

Isolasi Bakteri Rhizobium

Medium yang digunakan untuk mengisolasi bakteri *rhizobium* dari nodul akar tanaman legum adalah *yeast extract mannitol agar* (YEMA) dan *yeast extract mannitol broth*

(YEMB). Komposisi media YEMA yaitu *mannitol* 10 g; *depotasium phosphate* ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$) 0,5 g; *magnesium sulphate* ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0,2 g; *yeast ekstrak* 1 g; *sodium cholide* (NaCl) 0,1 g; dan agar 20 g dalam 1 L aquades; sedangkan komposisi media YEMB yaitu *mannitol* 10 g; *depotasium phosphate* ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$) 0,5 g; *magnesium sulphate* ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0,2 g; *yeast ekstrak* 1 g; *sodium cholide* (NaCl) 0,1 g; dan *calcium carbonate* ($CaCO_3$) 1 g dalam 1 L aquades. Media tersebut selanjutnya disterilisasi di dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi.

Kegiatan isolasi pertama kalinya dilakukan dengan menggunakan metode streak (gores). Nodul dipecah dan diambil 1 ose kemudian digoreskan pada cawan petri yang berisi media YEMA. Inkubasikan pada suhu 35°C selama 2x24 jam. Pilih satu koloni di antara yang dominan dan pindahkan ke agar miring YEMA. Inkubasikan untuk pengujian lebih lanjut (Saputra, 2014).

Identifikasi Bakteri Rhizobium

Identifikasi bakteri diawali dengan mengamati karakteristik morfologi bakteri secara makroskopis (koloni, bentuk koloni, dan tepian koloni) dan mikroskopis (pewarnaan gram, bentuk sel). Selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri *rhizobium* pada dua media uji yaitu YEMA+*congo red* (CR) dan YEMA+*brom thymol blue* (BTB). Pada pengujian media YEMA+BTB, apabila isolat yang tumbuh berwarna kuning dan biru maka termasuk golongan *Rhizobium*, sedangkan pada pengujian media YEMA+CR, apabila terbentuk koloni berwarna merah jambu berarti koloni tersebut adalah koloni *rhizobium*. Congo red yang ditambahkan sebanyak 0,025 g, sedangkan BTB ditambahkan sebanyak 0,1 ml dalam 1 L media YEMA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri Rhizobium asal tanaman legum di tanah gambut

Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri secara makroskopis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopis koloni bakteri

Kode Isolat	Ukuran	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna Koloni	Gram	Bentuk Sel
IIDM ₁	Kecil	Sirkular	Entire	Cembung	Putih	Negatif	Basil
IIDM ₂	Kecil	Sirkular	Entire	Datar	Putih	Negatif	Basil
IIDM ₃	Kecil	Sirkular	Entire	Cembung	Putih kekuningan	Negatif	Basil
IIDM ₄	Kecil	Sirkular	Entire	Datar	Putih	Negatif	Basil
IIDM ₅	Kecil	Sirkular	Entire	Cembung	Putih	Negatif	Basil
IIRM ₁	Sedang	Sirkular	Entire	Cembung	Putih	Negatif	Basil
IIRM ₂	Kecil	Sirkular	Entire	Cembung	Putih	Negatif	Basil
IIRM ₃	Kecil	Sirkular	Entire	Cembung	Putih	Negatif	Basil

Keterangan: IIDM = isolat bakteri asal tanaman *M. bracteata* umur tanaman 3 tahun;
IIRM = Isolat bakteri asal tanaman *M. bracteata* umur tanaman 2 tahun

Tabel 1 menunjukkan bahwa hampir seluruh isolat *rhizobium* hasil isolasi dan pemurnian mempunyai kesamaan morfologi koloni yaitu memiliki permukaan koloni yang cembung dengan tepi koloni rata dan bertekstur lengket. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Heliati (2003) yang menyatakan bahwa bakteri koloni *rhizobium* berbentuk cembung, warna putih dan putih susu dengan tekstur lengket yang merupakan ciri dari bakteri dalam skala laboratorium. Surtiningsih *et al.* (2009) menambahkan bahwa karakteristik bakteri *rhizobium* secara makroskopis adalah warna koloni putih susu, tidak transparan, bentuk koloni sirkuler, konveks, semitranslusen, diameter 2-4

mm setelah diinkubasi dalam waktu 3-5 hari pada media YEMA. Sari *et al.* (2018) juga menambahkan, berdasarkan pengamatan morfologi koloni pada permukaan agar miring dan media cawan, hasil isolat *rhizobium* dari tanaman legum yang diteliti menunjukkan hasil yang sama, yaitu: bakteri mempunyai bentuk echinulate ketika ditumbuhkan di media miring, dan ketika ditumbuhkan di media cawan ukuran koloni besar, berwarna putih susu, *opaque*, tidak bisa ditembus cahaya, bentuknya sirkular, elevasinya *convex* (cembung), permukaannya halus mengkilap, marginnya entire.

Umumnya kolonir *rhizobium* menghasilkan lendir yang sangat

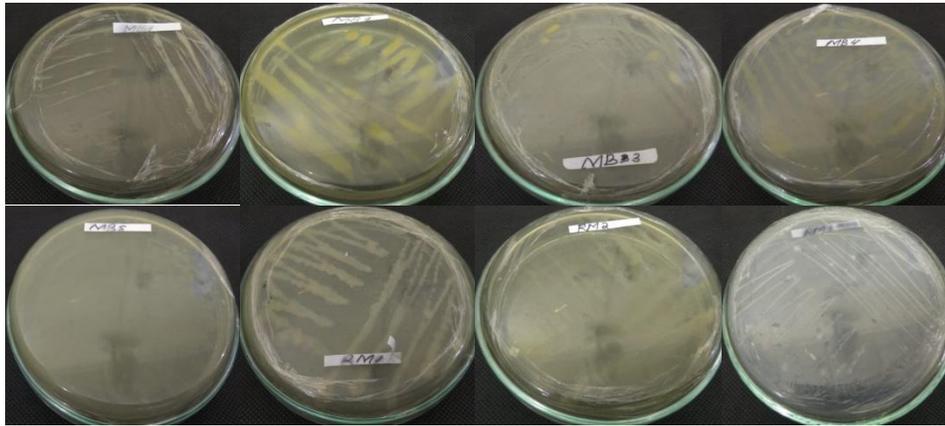
banyak. Hal ini mengindikasikan tingginya produksi eksopolisakarida (EPS). Eksopolisakarida berfungsi untuk meningkatkan viskositas sekeliling sel, sehingga dapat mengurangi jumlah O₂ dan mengurangi penekanan terhadap aktivitas nitrogenase, melindungi sel bakteri dari pengaruh kondisi tercekam (pH, kekeringan, fluktuasi potensial air), mengkelat Al³⁺ dan Mn²⁺, menghalangi difusi H₃O⁺ pada permukaan sel, sehingga dapat menghalangi sel bakteri dari ion yang bersifat toksik yang sering dijumpai pada kondisi tanah masam serta memacu pembentukan gel dengan adanya Ca²⁺ sehingga berperan dalam pelekatan bakteri pada rambut akar (Fuhrman, 1990).

Karakteristik morfologi mikroskopis bakteri diamati melalui pewarnaan gram. Pewarnaan gram merupakan salah satu prosedur yang paling banyak digunakan untuk menggolongkan berbagai bakteri (Anuar *et al.*, 2014). Menurut

Rostinawati (2008), pewarnaan gram digunakan untuk mengetahui morfologi sel bakteri serta untuk membedakan bakteri gram positif dan gram negatif. Dwidjoseputro (2005) menyatakan pada umumnya bakteri memiliki bentuk sel batang (*coccus*), bulat (*bacil*), dan bengkok (*spiril*). Gambar 1 menunjukkan bahwa hasil pewarnaan gram dari delapan isolat merupakan bakteri gram negatif dan berbentuk batang (basil). Hal ini sesuai dengan pernyataan Manalu (2011) bahwa bakteri *rhizobium* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang (basil).

Karakteristik Isolat Hasil Uji Media YEMA+Brom Thymol Blue (BTB)

Pengamatan isolat bakteri menggunakan medium YEMA+BTB digunakan untuk mengelompokkan bakteri *rhizobium* yang memiliki pertumbuhan cepat dan lambat berdasarkan produksi asam atau alkali pada media (Harpreet *et al.*, 2012). Hasil pengamatan isolat bakteri menggunakan medium YEMA+BTB dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Uji media YEMA+Brom Thymol Blue (BTB)

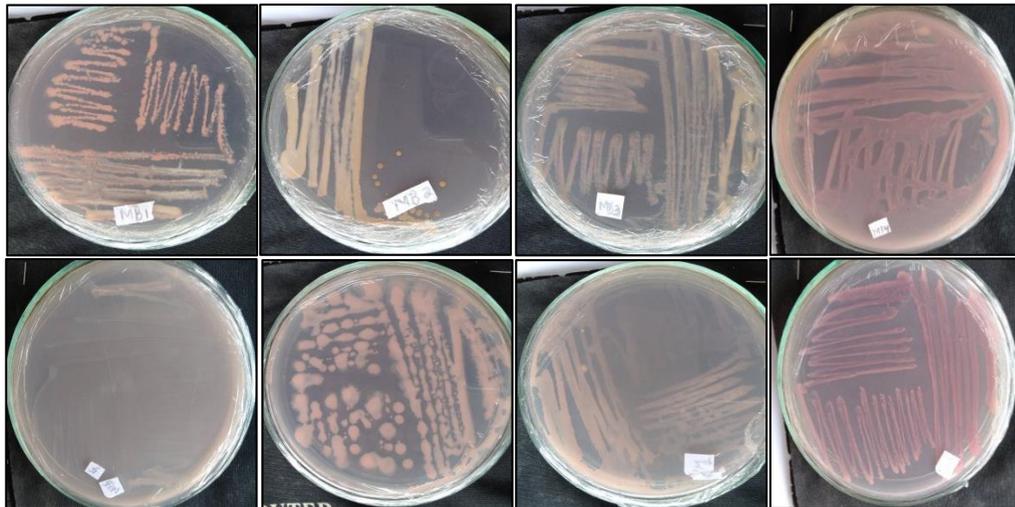
Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa delapan isolat dalam media YEMA yang ditambah dengan BTB kelompok tumbuh cepat (*fast growing*) yang ditandai perubahan warna menjadi kuning. Purwaningsih (2009) menyatakan bahwa bakteri yang ditumbuhkan dengan menggunakan media seleksi YEMA+BTB, memiliki dua kecenderungan warna, yaitu warna kuning dan warna biru. Warna biru menunjukkan bahwa bakteri yang diisolasi pertumbuhannya lambat (*slow growing*), sedangkan apabila bakteri berubah warnanya menjadi kuning, maka bakteri tersebut merupakan jenis bakteri yang pertumbuhannya cepat (*fast growing*).

Koloni bakteri *Rhizobium* yang tumbuh pada medium mengandung BTB akan merubah medium menjadi

kuning karena adanya produksi asam oleh mikroorganisme. Shetta *et al.* (2011) menambahkan bahwa produksi asam diamati setelah isolat diinkubasi 72 jam pada suhu 28°C dengan mengubah warna medium menjadi kuning. Menurut Gyorgi *et al.* (2010), jenis bakteri yang tumbuh lambat digolongkan *Bradyrhizobium* yang memiliki koloni dengan ukuran kecil setelah 7-10 hari inkubasi, elevasi *raised* dan *mucoïd*, umumnya koloni berwarna putih atau krem. Hasil penelitian ini juga didukung oleh Pangaribuan (2018) yang melakukan penelitian pada dua lokasi sampel tanah asal Jatinangor dan Ciparanje mengandung bakteri *Bradyrhizobium* sp. dan *Rhizobium* sp., serta mikoriza jenis Glomussp. Isolasi bakteri indigenus pada inseptisols ditemukan

jenis bakteri *Bradyrhizobium* sp. yang dicirikan pertumbuhan lambat 5

sampai 7 hari, dan memiliki reaksi basa.



Gambar 2. Uji media YEMA+Congo Red (CR)

Karakteristik Isolat Hasil Uji Media YEMA+Congo Red (CR)

Hasil pertumbuhan isolat pada media selektif yang dimodifikasi dengan penambahan reagen *Congo Red* (CR) menunjukkan adanya variasi respon terhadap larutan indikator tersebut. Pada media YEMA+CR, terlihat bahwa isolat tidak mampu atau hanya sedikit menyerap warna merah dari CR. Berdasarkan hasil pengujian menunjukkan bahwa semua isolat tidak mampu atau hanya sedikit menyerap warna merah dari larutan indikator (Gambar 2).

Menurut Soekartadiredja (1992), salah satu ciri khas bakteri *Rhizobium* adalah tidak menyerap warna merah pada media yang mengandung CR. Warna yang ditunjukkan dari bakteri *Rhizobium* sp. pada umumnya putih hingga merah muda apabila ditumbuhkan pada media seleksi, bentuk koloni merata datar pada cawan petri, warna koloni putih atau warna susu dengan tekstur yang lengket. Hasil penelitian ini didukung oleh Purwaningsih (2005) yang menyatakan bahwa warna yang ditunjukkan dari bakteri *Rhizobium* sp. pada umumnya putih hingga merah muda apabila

ditumbuhkan pada media seleksi, bentuk koloni merata datar pada cawan petri, warna koloni putih atau warna susu dengan tekstur yang lengket. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Shetta *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa semua isolat *rhizobium* yang ditumbuhkan pada media yang mengandung CR tidak menyerap CR sehingga mengubah koloni bakteri menjadi warna merah muda.

Menurut Purwaningsih (2005), apabila koloni menyerap CR dan merubah warna koloni menjadi merah maka bakteri tersebut bukan termasuk golongan *rhizobium*. Hal ini didukung oleh hasil peneltian Sari *et al.* (2018) yang menemukan isolat bakteri pada media YEMA+CR yang berwarna merah kemungkinan bukan bakteri *rhizobium*, karena bakteri tersebut menyerap warna merah dari media yang mengandung CR, seperti telah disebutkan di atas bahwa ciri-ciri bakteri *rhizobium* tidak menyerap warna merah pada media YEMA+CR. Jadi bakteri tersebut bukan golongan *rhizobium*. Ada banyak jenis bakteri *rhizobium* dalam satu tanaman saja.

Bakteri *rhizobium* masuk ke dalam akar legum melalui rambut akar atau secara langsung ke titik munculnya akar lateral. Rambut akar merupakan bagian tanaman yang pertama kali dapat memberikan respons karena terinfeksi *rhizobium* di dalam bintil akar. Tidak hanya terdapat satu strain *rhizobium* saja, mungkin dua atau lebih strain hidup bersama-sama di dalam satu bintil akar. Meskipun demikian, beberapa genus hanya ditemukan pada tanaman inang tertentu (spesifik) saja. Strain *rhizobium* mampu menginfeksi legum dengan melepaskan polisakarida spesifik yang menyebabkan lebih banyak aktivitas pektolitik oleh akar (Nyakpa dan Yusuf, 1988).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi isolat bakteri dari bintil akar tanaman *Mucuna bracteata* diperoleh sebanyak delapan isolat bakteri *rhizobium* dengan karakter morfologi isolat yang hampir sama. Berdasarkan pengamatan uji media YEMA+BTB, dan uji media YEMA+CR menunjukkan bahwa

semua isolat yang diperoleh tergolong bakteri *rhizobium*.

SARAN

Hasil pengamatan morfologi dan fisiologis bakteri belum dapat memastikan identifikasi bakteri yang diperoleh, sehingga untuk mengetahui spesies bakteri tersebut perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut yaitu secara molekuler.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada LPPM Universitas Riau melalui dana DIPA Universitas Riau dengan Nomor kontrak: 639/UN19.5.1.3/PT.01.03/2019 yang telah mendanai kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus, F., dan I.G.M. Subiksa. 2008. Lahan Gambut: Potensi untuk Pertanian dan Aspek Lingkungan. Balai Penelitian Tanah. Bogor.
- Anuar, W., D. Andi dan C. Jose. 2014. Isolasi Bakteri Selulolitik dari Perairan Dumai. *Jurnal Online Mahasiswa*. Vol. 1(2).
- Ditjen Perkebunan. 2011. Kebijakan Pengembangan Kelapa Sawit Berkelanjutan. Makalah disampaikan pada Seminar Implementasi RSPO di Indonesia. Jakarta, 10 Februari 2011.
- Dwidjoseputro, D. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan. Jakarta. 214 hal.
- Fuhrman, B.S. 1990. Adolescence, adolescent. London: Foresman and Company.
- Gyorgi, E., G. Mara, I. Mathe, M., E. Laslo, K. Marialigeti, B. Albert, F. Oancea, and S. Lanyi. 2010. Characterization and Diversity of the Nitrogen Fixing Microbiota from a Specific Grassland Habitat in the Ciuc Mountains. *Romanian Biotechnological Letter*. Vol. 5(4): 5474-5481.
- Hapsah, Wawan, E. Lupitasari. 2017. Effects of the Difference Age of *Mucuna bracteata* Toward Soil Chemical Properties in Peatland. *Journal of Applied Science and Technology*. Vol. 1(2): 18-22.
- Hanafi, A. 2006. Isolasi dan Uji Potensi Rhizobia dari Bahan Asal Tanah Gambut pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L). Merrill). Skripsi (Tidak dipublikasi). Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Heliati, I. 2003. Teknik Isolasi *Rhizobium* Alam dari Tanah. Prosiding. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti. Bogor. Hal. 62-65.
- Harpreet, K., P. Sharma, N. Kaur, and B.S. Gill. 2012. Phenotypic and Biochemical Characterization of *Bradyrhizobium* and Ensifer spp. Isolated from Soybean Rhizosphere. *Bioscience Discovery*. Vol, 3(1): 40-46.
- Indrawati. 2000. Fiksasi nitrogen (N₂) oleh Bakteri *Rhizobium* pada

- Tanaman *Leguminosae*. Vol, 7(2).
- Ma'ruf, A., C. Zulia., dan Safruddin. 2017. *Legume Cover Crop* di Perkebunan Kelapa Sawit. Forthisa Karya. Yogyakarta.
- Manalu, M.H.I. 2011. Aplikasi Bakteri Penambat Nitrogen dengan Media Tanah Gambut Terbakar dan Tidak Terbakar pada Semai *Acacia crassicaarpa* Cunn. Ex-Benth. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nyakpa dan M. Yusuf. 1988. Kesuburan Tanah. Universitas Lampung. Lampung.
- Pamungkas, R.D.S. 2014. Eksplorasi dan Isolasi Bakteri *Rhizobium* dari Bintil Akar Tumbuhan Leguminosa di Lahan Gambut Kampus UIN Suska Riau Pekanbaru. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Pekanbaru.
- Pamungkas, R.D.S. dan M. Irfan. 2018. Isolasi Bakteri *Rhizobium* dari Tumbuhan Leguminosa yang Tumbuh di Lahan Bergambut. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. *Jurnal Agroteknologi*. Vol, 9(1): 31-40.
- Pangaribuan, N. 2018. Eksplorasi Mikroorganisme Indigenus Inseptisols. *Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi*. Vol. 19(2): 80-88.
- Purwaningsih, S. 2005. Seleksi Biak *Rhizobium* dari Wonogiri, Jawa Tengah terhadap Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.) pada Media Pasir Steril di Rumah Kaca. *Jurnal Biodiversitas*. Vol. 6: 168-171.
- Purwaningsih, S. 2009. Populasi Bakteri *Rhizobium* di Tanah pada beberapa Tanaman dari Pulau Buton, Kabupaten Muna, Propinsi Sulawesi Tenggara. *J. Tanah Trop*. Vol. 14(1): 65-70.
- Rostinawati. 2008. Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Kitinase dari Air Laut di Perairan Pantai Pondok Bali. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Samedani, B., A.S. Juraimi, S.A.S. Abdullah, M.Y. Rafii, A.A. Rahim, dan M.P. Anwar. 2014. Effect of Cover Crop on Weed Community and Oil Palm Yield. *Journal Agriculture Biotechnology*. Vol. 16: 23-31
- Saputra, Riko, A. 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Rhizobium* dari Akar Tanaman Alfafa (*Medicago sativa* L). Skripsi (Tidak dipublikasikan). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Sari, E., A.N. Flatian, Z.I. Sari, E., Sulaeman. 2018. Isolasi dan Karakterisasi *Rhizobium* dari *Glycine max* L. dan *Mimosa pudica* Linn. *Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*. Vol. 3(2).
- Shetta, N.D., T.S. Al-Shaharani, and M. Abdel-Aal. 2011. Identification and Characterization of *Rhizobium* Associated with Woody Legume Trees Grown under Saudi Arabia Condition. *AmericanEurasian Journal Agriculture and Environment Sciences*. Vol. 10 (3): 410-418.

- Soekartadiredja, E.M. 1992. Perubahan Infektivitas dan Efektivitas Penambat Nitrogen pada Galur *Rhizobium* Setelah Perlakuan Pasasi in Vivo. Tesis (Tidak dipublikasikan). Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Surtiningsih T., Farida dan T. Nurhayati. 2009. Biofertilisasi Bakteri *Rhizobium* pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L) Merr). *Berkala Penelitian Hayati*. Vol. 15: 31-35.