



Seleksi Dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen Pada Perakaran Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata* L) Dan Tomat (*Solanum lycopersicum* L) Di Kabupaten Belu

Anastasia Buak¹, Gergoious Fallo^{2*}, Lukas Pardosi³

¹Mahasiswa Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Universitas Timur Kefamenanu

^{2,3}Dosen Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Universitas Timur Kefamenanu, Indonesia

Email: ²gergofallo@yahoo.com

| Penerbit | ABSTRACT |
|--|--|
| Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Nusantara PGRI Kediri | <p>Nitrogen fixing bacteria are often called diazotroph bacteria which are able to use air nitrogen as a nitrogen source for their growth. Nitrogen fixing bacteria have the ability to increase the efficiency of N- available in the soil. The purpose of this study was to determine the morphological and biochemical characters of nitrogen-fixing bacteria from the roots of mung bean and tomato plants in Belu Regency. Isolation of nitrogen fixing bacteria by scratch method and spread on NA media. While the selection of nitrogen fixing bacteria using Jensen agar media. The results of the isolation obtained 12 isolates. Six isolates from roots of tomato plants and six isolates from roots of mung bean plants. The morphological characters of the 12 isolates were generally round in shape, small in size, flat in elevation and milky white in color. The selection results showed that 3 isolates grew on Jansen agar media, namely RKHB05, RKHB06, and RTB06. The result of gram staining showed that RKHB05, RKHB06 isolates were gram negative and had cocci cell form, while RTB06 isolates were gram positive with bacillus cell forms. The 3 isolates were positive for motility test, Citrate test, TSIA, and Catalase test.</p> <p>Keywords: Nitrogen fixing bacteria, bacterial isolation, identification, Belu Regency</p> |
| | <p style="text-align: center;">ABSTRAK</p> <p>Bakteri penambat Nitrogen sering disebut bakteri diazotrof yang mampu menggunakan nitrogen udara sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhannya. Bakteri penambat nitrogen memiliki kemampuan meningkatkan efisiensi N- tersedia dalam tanah. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui karakter morfologi dan biokimia bakteri penambat nitrogen dari perakaran tanaman kacang hijau dan tomat di Kabupaten Belu. Isolasi bakteri penambat nitrogen dengan metode gores dan sebar pada media NA. Sedangkan seleksi bakteri penambat nitrogen dengan menggunakan media <i>Jensen agar</i>. Hasil isolasi diperoleh 12 isolat. Enam isolat dari perakaran tanaman tomat dan enam isolat dari perakaran tanaman kacang hijau. Karakter morfologi koloni ke 12 isolat pada umumnya berbentuk bulat, ukuran kecil, elevasi rata dan warna putih susu. Hasil seleksi terdapat 3 isolat tumbuh pada media <i>jansen agar</i> yaitu RKHB05, RKHB06, dan RTB06. Hasil pewarnaan gram diketahui isolat RKHB05, RKHB06 adalah gram negatif dan bentuk sel kokus, sedangkan isolat RTB06 gram positif bentuk sel basil. Ke 3 isolat tersebut positif uji motilitas, uji Sitrat, TSIA, dan uji Katalase.</p> <p>Kata Kunci: Bakteri Penambat Nitrogen, Isolasi Bakteri, Identifikasi, Kabupaten Belu</p> |

PENDAHULUAN

Bakteri penambat Nitrogen sering disebut bakteri diazotrof yang mampu menggunakan nitrogen udara sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhannya. Bakteri penambat nitrogen memiliki kemampuan meningkatkan efisiensi N- tersedia dalam tanah. Bakteri tersebut menggunakan nitrogen bebas untuk mensintesis sel protein dimana protein tersebut akan mengalami proses mineralisasi dalam tanah setelah bakteri mengalami kematian, dengan demikian bakteri berkontribusi terhadap ketersediaan nitrogen untuk tanaman (Danapriatna, 2010). Penggunaan bakteri ini berpotensi mengurangi kebutuhan Nitrogen sintetik, meningkatkan produksi, mengurangi aplikasi pupuk nitrogen dan (Ristiati *et al.*, 2008). Berbagai mikroba tanah yang hidup bebas pada perakaran sebagai bakteri penambat nitrogen, diantaranya yaitu, *Azotobacter*, *Azospirillum* sp, *Pseudomonas* spp, *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, dan *Herbaspirillum Rhizobia*, *Sianobakteria*, (ganggang hijau biru), telah terbukti mampu melakukan fiksasi nitrogen (James dan Olivares, 1997). *Azotobacter* dapat meningkatkan N yang tersedia dengan cara fiksasi N, (Rodrigues *et al.*, 2018). *Azospirillum* sp. Merupakan bakteri pemfiksasi nitrogen bebas di atmosfer dan memiliki potensi sebagai *grow promoting rhizobacteria* (PGPR). *Azospirillum* yang diberi tambahan kultur *Rhizobium* dapat menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap N total, pembentukan nodul, pertumbuhan dan hasil tanaman kedelai (Jabbar dan Halimi, 2012). Berdasarkan uraian masalah di atas, peneliti perlu melakukan “Seleksi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen” di Kabupaten Belu. Tujuan penelitian ini adalah: Untuk mengetahui karakter morfologi makroskopis, mikroskopis dan biokimia bakteri penambat nitrogen dari perakaran tanaman kacang hijau dan tomat asal kabupaten Belu dan Untuk mengetahui bakteri yang berpotensi sebagai penambat nitrogen. Adapun manfaat dari peneliti Memberikan sumbangan pemikiran dan dapat dipakai sebagai bahan masukan apabila melakukan penelitian sejenis. dan Meningkatkan pengetahuan dan informasi kepada masyarakat dalam mengaplikasikan Bakteri Penambat Nitrogen.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Timor. Penelitian dilaksanakan selama 6 bulan yaitu bulan April-November 2021. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: autoklaf, oven, hotplate, tabung reaksi, gelas ukur, batang pengaduk, spatula, bunsen, cawan pedri, erlenmeyer, jarum ose, kaca obyek, kaca penutup, hokistik, plastik sampel, beaker gelas, linggis, kamera, penggaris, mikro pipet, kulkas, timbangan analitik, rak tabung reaksi, pipet tetes, label, bollpoint dan buku. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: tanah kacang hijau, dan tomat, media NA (*Nutrient Agar*), NaCl (*Natrium Klorida*), NB (*Nutrient Broth*), gram iodin, gram crystal violet, gram Decolourizer, safranin 0,5 % Alkohol, spiritus, karet gelang, pemantik, aquades aluminum foil, Cling Wrap, dan media *Jenssen Agar*.

Sampel yang digunakan yaitu tanah disekitar perakaran Kacang hijau (*Vigna radiate* L.) dan tomat (*Solanum lycopersicum* L.). Tanah diambil sebanyak 500 gram dengan kedalaman 5-10 cm dari 4 titik di Kabupaten Belu. Tanah dimasukan kedalam pelastik sampel yang sudah steril lalu dibawah ke laboratorium FAPERTA Universitas Timor.

Isolasi bakteri penambat nitrogen dilakukan dengan metode pengenceran berseri dengan menggunakan media NA. Timbang sebanyak 1 gram tanah dimasukan kedalam tabung reaksi berisi 10mL larutan garam fisiologis 0,85% ditambahkan 100 mL Aquades steril dan dihomogenkan dengan

batang pengaduk. Kemudian dilakukan pengenceran secara serial hasil pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} disebar sebanyak 0,1 mL pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam. Karakter morfologi koloni yang diamati berupa elevasi, tepian dan bentuk sel, sedangkan karakter mikroskopis dilakukan pewarnaan gram,

Seleksi bakteri penambat nitrogen menggunakan Media *Jenssen Agar* dengan komposisi: komposisi per 1000 mL aquades: (Sukrosa 6 gram, K_2HPO_4 0,5 gram, $Mg\ So_4$ 0,15 gram, NaCl 0,15 gram, $FeSo_4$ 0,03 gram, $CaCo_3$ 0,6 gram, Agar 6 gram, Aquades 1000 mL) medium ini bersifat selektif karena tidak mengandung unsur Nitrogen sehingga hanya bakteri yang memiliki kemampuan menambat nitrogen yang dapat tumbuh pada medium tersebut.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

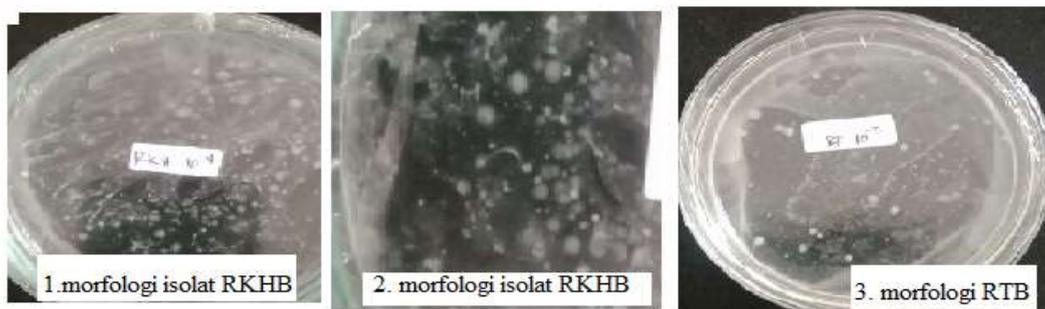
Isolasi Bakteri

Hasil isolasi bakteri dari perakaran tanaman kacang hijau dan perakaran tanaman tomat di Kabupaten Belu diperoleh 12 Isolat. 6 isolat diperoleh dari perakaran tanaman kacang hijau dan 6 isolat dari perakaran tanaman tomat. Hasil Karakteristik Morfologi Koloni dapat dilihat Pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri penambat Nitrogen

| Kode Isolat | Karakter koloni bakteri | | | |
|-------------|-------------------------|--------|---------|------------|
| | Bentuk | Ukuran | Elevasi | Warna |
| RKHB 01 | Bulat | Besar | Rata | Putih susu |
| RKHB 02 | Bulat | Besar | Rata | Putih susu |
| RKHB 03 | Bulat | Kecil | Rata | Putih susu |
| RKHB 04 | Bulat | Besar | Rata | Putih susu |
| RKHB 05 | Bulat | Kecil | Rata | Putih susu |
| RKHB 06 | Bulat | Kecil | Rata | Putih susu |
| RTB 01 | Bulat | Kecil | Rata | Putih susu |
| RTB 02 | Bulat | Kecil | Rata | Putih susu |
| RTB 03 | Bulat | Kecil | Rata | Putih susu |
| RTB 04 | Bulat | Kecil | Rata | Putih susu |
| RTB 05 | Bulat | Kecil | Rata | Putih susu |
| RTB 06 | Bulat | Kecil | Rata | Putih susu |

Keterangan : RKHB (Rhizosfer kacang hijau Belu)
RTB (Rhizosfer tomat Belu)



Gambar 1. Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri penambat Nitrogen

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa isolat bakteri penambat nitrogen dari perakaran tanaman kacang hijau dan perakaran tanaman tomat memiliki karakter morfologinya sama yaitu isolat

RKHB dan isolat RTB memiliki Bentuk koloni rata, ukuran koloni kecil, elevasi berbentuk rata, dan warna pada isolat koloni dari 12 isolat berwarna putih susu. yang didapatkan sama dengan penelitian Suryanto dan Munir (2006) bahwa lebih banyak didapatkan bentuk koloni bakteri yang bulat dan warna koloni putih susu. Menurut Irvan (2014) juga dapat menjelaskan bahwa morfologi koloninya berbentuk tidak teratur dan terdapat beberapa yang membentuk benang dan bulat. Hasil pengamatan Permukaan koloninya timbul datar, dan untuk pengamatan tepinya semua rata. Sedangkan untuk warna koloninya diperoleh warna putih susu. Pengamatan tentang karakteristik koloni perlu dilakukan, agar mempermudah dalam proses identifikasi jenis bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lay (1994), bahwa berdasarkan ciri morfologi koloni bakteri dan biakan murni maka dapat dilakukan proses identifikasi jenis-jenis mikroorganismenya, namun untuk memperoleh hasil identifikasi yang sempurna maka harus dilakukan dengan uji Biokimia.

Isolasi bakteri penambat nitrogen menggunakan sampel tanah disekitar perakaran tanaman kacang hijau dan perakaran tanaman tomat. Hasil isolasi diperoleh 12 isolat. Ditemukannya bakteri di sekitar perakaran tanaman menunjukkan bahwa bakteri sering berasosiasi dengan tanaman. Senyawa metabolit berupa eksudat yang dikeluarkan oleh tanaman melalui akar dimanfaatkan oleh bakteri sebagai nutrisi, sebaliknya bakteri akan mendukung pertumbuhan tanaman melalui produksi hormon pertumbuhan dan melarutkan unsur- unsur yang masih terjerat didalam tanah seperti unsur P, K, Fe, Al, Ca, dan Mg sehingga unsur–unsur tersebut dapat di larutkan oleh bakteri selanjutnya menjadi unsur yang tersedia bagi tanaman.

Seleksi Bakteri Penambat Nitrogen

Hasil seleksi bakteri penambat nitrogen pada perakaran tanaman kacang hijau dan tomat diperoleh 12 isolat dari masing - masing tanaman yaitu 6 isolat dari tanaman kacang hijau dan 6 isolat dari tanaman tomat dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil seleksi bakteri penambat nitrogen

| Kode Isolat | Seleksi bakteri penambat nitrogen |
|-------------|-----------------------------------|
| RKHB 01 | - |
| RKHB 02 | - |
| RKHB 03 | - |
| RKHB 04 | - |
| RKHB 05 | + |
| RKHB 06 | + |
| RTB 01 | - |
| RTB 02 | - |
| RTB 03 | - |
| RTB 04 | - |
| RTB 05 | - |
| RTB 06 | + |

Keterangan : (-) tidak tumbuh pada media *Jenssen Agar*
(+) tumbuh pada media *Jansen agar*



Gambar 2. Isolat tumbuh di media *Jenssen Agar*

Berdasarkan tabel 2 diatas hasil seleksi bakteri penambat nitrogen bahwa dari 12 isolat bakteri diperoleh 3 isolat yang tumbuh di media *Jenssen Agar* yaitu isolat RKHB 05, RKHB 06, dan isolat RTB 06. Seleksi bakteri menggunakan media selektif yaitu media *Jenssen Agar* dengan menggunakan metode gores. Hasil pengamatan pada seleksi Bakteri Penambat Nitrogen pada isolat RKHB 05, isolat RKHB 06 dan isolat RTB 06 merupakan hasil positif (+) yaitu dengan adanya bakteri yang digoreskan pada media *Jenssen Agar* ini bersifat selektif karena tidak mengandung unsur nitrogen sehingga hanya bakteri yang memiliki kemampuan menambat nitrogen yang dapat tumbuh pada medium tersebut. Secara umum bakteri penambat nitrogen yang diisolasi dapat tumbuh pada media *Jenssen Agar* dengan adanya zona bening (*holo zone*) disekitar koloni menunjukkan bahwa isolat bakteri memiliki kemampuan dalam menambat nitrogen.

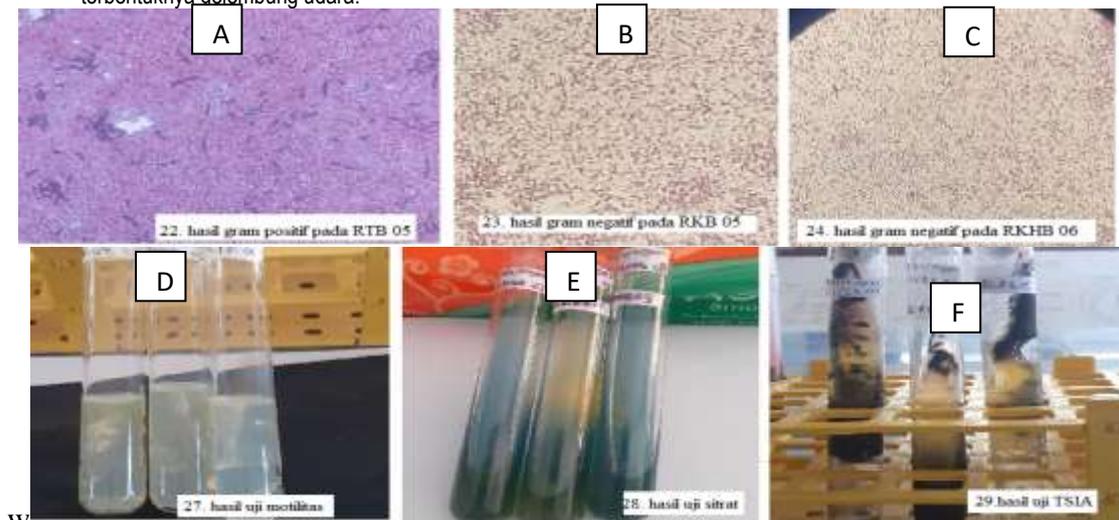
Identifikasi Isolat Bakteri Potensial sebagai Penambat Nitrogen

Hasil identifikasi uji mikroskopis dan uji biokimia pada perakaran tanaman kacang hijau dan perakaran tanaman tomat dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji mikroskopis dan uji biokimia.

| Kode isolat | Bentuk sel | Mikroskopis | | | Biokimia | | |
|-------------|------------|----------------|-----------|--------|----------|----------|--|
| | | Pewarnaan gram | Motilitas | Sitrat | TSIA | Katalase | |
| RKHB 05 | Bulat | - | + | + | + | + | |
| RKHB 06 | Bulat | - | + | + | + | + | |
| RTB 06 | Batang | + | + | + | + | + | |

Keterangan : Motilitas (+), Non Motil (-), Sitrat(+) terjadi perubahan warna, TSIA(+) terjadi perubahan warna, katalase (+) dapat terbentuknya gelembung udara.





Gambar 3. Hasil uji mikroskopis dan uji biokimia

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram diketahui tiga isolat yang potensian sebagai penambat nitrogen yaitu RKHB 05, RKHB 06, dan RTB 06 diketahui isolat bakteri RKHB 05, dan RKHB 06 memiliki pewarnaan gram negatif (Gambar 3 BC) dengan bentuk selnya bulat, sedangkan pada isolat bakteri RTB 06 memiliki pewarnaan gramnya positif (Gambar 3 A) dan bentuk selnya batang. Proses dari pewarnaan Gram ini ialah apabila bakteri termasuk Gram negatif, maka akan memiliki ciri-ciri tidak mampu mempertahankan warna ungu dari Kristal violet, namun mampu menyerap zat warna safranin sehingga akan menampilkan warna merah muda sampai merah ketika diamati dibawah mikroskop. Sedangkan untuk golongan bakteri Gram positif akan mampu mempertahankan warna ungu dari Kristal violet sehingga akan menampilkan warna ungu pada saat diamati dibawah mikroskop (Pratita *et al.*, 2012). Hal ini sesuai dengan pendapat Brock, *et al.*, (1994) mengemukakan bahwa genus *Azotobacter* dicirikan dengan sel berbentuk kokus atau bulat, basil atau batang, dan berbentuk spiral.

Hasil pengamatan uji motilitas dari ke 3 isolat yaitu RKHB 05, RKHB 06, dan RTB 06 (Gambar 3 D) pada perakaran tanaman kacang hijau dan perakaran tanaman tomat bersifat motil karena Adanya pertumbuhan bakteri pada sekitar tusukan isolat (motil) menandakan bahwa isolat memiliki flagela. Uji motilitas yang positif (motil) ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar di sekitar tusukan isolat, apabila tidak ada pertumbuhan bakteri pada tusukan maka dapat dikatakan negatif (nonmotil). Berdasarkan hasil pengamatan diatas dari ke tiga isolat RKHB 05, RKHB 06 dan RTB 06 bersifat motil. *Azotobacter* merupakan bakteri yang bersifat motil yang bergerak menggunakan flagel, dengan kecepatan pergerakan berbeda- beda. (Agisti *et al.* 2014).

Berdasarkan hasil pengamatan pada uji Sitrat (*Simmons's citrate agar*) dari perakaran tanaman kacang hijau dan perakaran tanaman tomat dengan kode isolat RKHB 05, RKHB 06, dan RTB 06 Untuk pengujian sitrat diperoleh bahwa isolat bereaksi positif (Gambar 3 E) dengan mampu mengubah warna medium dari warna hijau menjadi warna Biru yang menunjukkan reaksi yang positif. Adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru, hal ini menunjukkan bahwa semua isolat mampu menggunakan sitrat sebagai satu- satunya sumber karbon. (Huda *et al.*, 2012). Hasil penelitian (Wahyuni *et al.*, 2014) menyatakan bahwa jika terjadi perubahan warna berarti hal ini menunjukkan bahwa mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Penggunaan sitrat oleh bakteri dapat menyebabkan asam menghilang dari biakan sehingga terjadi peningkatan pH dan mengubah warna media dari hijau menjadi biru.

Berdasarkan hasil pengamatan uji biokimia TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) ini dari 3 isolat dengan kode isolatnya RKHB 05, RKHB 06 dan RTB 06 memperlihatkan pada ketiga isolat tersebut mampu memfermentasi sukrosa, glukosa, dan laktosa (Gambar 3 D). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri hanya mampu memfermentasi sebagian karbohidrat. Kemudian apabila terjadinya warna kuning yang terdapat bagian permukaan dan warna merah pada bagian dasar menunjukkan bahwa bakteri hanya laktosa dan sukrosa saja yang mampu memfermentasikannya. Selanjutnya apabila warna

merah terdapat pada bagian permukaan dan bagian dasar, hal ini menunjukkan ketiga gula tidak mampu difermentasikan. (Ulfa *et al.*, 2016).

Hasil Pengujian katalase 3 isolat yaitu RKHB 05 RKHB 06, dan RTB 06 menunjukkan ke tiga isolate tersebut positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara (Gambar 3 G). Hasil uji katalase menunjukkan bahwa semua isolat bakteri bernilai positif. Hal tersebut menunjukkan bakteri memiliki enzim katalase. Katalase digunakan oleh mikroorganisme untuk menguraikan H₂O (Hidrogen Peroksida) menjadi O₂ (Oksigen). (Palealu, 2017).

Uji katalase positif ditandai dengan terbentuknya gelembung oksigen. Isolat bakteri yang dapat membentuk gelembung oksigen pada saat ditetesi hydrogen peroksida (H₂O₂) 3% menunjukkan jika isolat tersebut mampu menghasilkan enzim katalase. Pada penelitian ini, diketahui bahwa semua isolat bakteri bernilai positif, artinya menghasilkan gelembung pada saat dilakukan uji katalase. Hal ini sesuai dengan pendapat yang menyatakan bahwa genus *Azotobacter* ditandai dengan uji katalase positif (Ahbdel-Hamid 2010). uji katalase yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui enzim katalase pada koloni bakteri. Dari 3 sampel pada tanah kacang hijau dan tomat dominan mendapatkan hasil yang positif dan terbentuk gelembung. Hal tersebut dapat dikarenakan pada bakteri mengandung hidrogen peroksida yang diurai oleh enzim katalase.

SIMPULAN

Hasil penelitian disimpulkan bahwa isolasi bakteri penambat nitrogen dari perakaran tanaman kacang hijau dan tomat diperoleh 12 isolat yaitu 6 isolat dari perakaran tanaman kacang hijau dan 6 isolat dari perakaran tanaman tomat di Kabupaten Belu; Hasil karakterisasi morfologi isolat diketahui pada umumnya berbentuk kokus, ukuran kecil, elevasi rata, dan warna putih susu; Hasil seleksi bakteri pemfiksasi nitrogen diketahui isolat RKHB05, RKHB06, dan RTB 06 tumbuh pada media *Jenssen Agari*; dan Hasil pengujian biokimia ke tiga isolat positif uji TSIA, Sitrat, Katalase, dan uji motil, sedangkan hasil pewarnaan gram diketahui isolat RKHB 05, dan RKHB 06 memiliki hasil negatif dengan bentuk selnya bulat dan RTB 06 memiliki hasil positif dengan bentuk selnya batang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada lembaga Universitas Timor melalui LPPM yang telah membiayai dan memfasilitas penelitian sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

RUJUKAN

- Abdel-Hamid, M., Elbaz, A., Ragab, A., Hamza, H.A., 2010. Identification and Characterication of *Azotobacter chroococum* Isolated from some Egyptian Soils. *J. Of Agricultural Chemistry and Biotechnology*. 1(2):93-104. DOI:[10.21608/jacb.2010.88790](https://doi.org/10.21608/jacb.2010.88790)
- Agisti, A., Alami, N.H., Hidayati, T.N., 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri penambat nitrogen non simbiotik pada lahan restorasi dengan Metode Legume Cover Crop (LCC) di Daerah Pasirian Lumajang Jawa Timur. *Jurnal Sains dan POMITS*. 3(2):36-39.
- Brock, T.D., Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. 1994. *Riologi of microorganism*. 7 Edition, Prentice hall. New Jersey.
- Danapriatna, 2010. Pengaruh cekaman kekeringan terhadap serapan Nitrogen dan pertumbuhan tanaman. *Jurnal REGION*. 2 (4): 34-45.

- Huda, dan Salni., 2012. Penampisan Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Beasosiasi dengan Karang Lunak *Sarcophyton* sp. *Jurnal Maspari*, 4 (1): 69-76.
- Huslina, F., dan Harahap,D., 2019. Isolasi Bakteri Pengikat Nitrogen Dengan Menggunakan Media Jensen. *Jurnal Agrotek. Ummat*. 6 (2):91-93
- Irvan, M., 2014. Isolasi Dan Enumerasi Bakteri Tanah Gambut Di Perkebunan Kelapa Sawit PT. Tambang Hijau Kecamatan Tambang KabupatenKampar. *Jurnal Agroteknologi*. 5 (1):1-8
- Jabbar, B.K.A dan Halimi,J. S., 2012) Effect of molybdenum on biological nitrogen fixation by combination of Rhizobium and Azospirillum in soybean under drip irrigation system. *journal of Scie. Biotech. and Pharma Res. Hydeabad*. 1(2): 2250-3137.
- James, E.K. dan Olivares, F.L., 1997. Infection And Colonization Of Sugar Cane And Other Gramineous Plants By Endophytic Diazotrophs. *Critical Reviews in Plant Science*. 17:77-119.
- Lay, 1994. *Analisis mikroba di laboratorium*. PT Raja Grafindo persada , Jakarta.
- Pealeu, J.B., Butarbutar, R.R, Tallei,T.E., 2017. Isolasi dan identifikasi bakteri rhizosfer *Aracis pintoi* setelah diinokulasi Mikoriza Arbuskular dan penambahan pupuk organik. *Jurnal Bioslogos*. 7(2):35-40.
- Pepe, O., Ventrino, V., Blaiotta, G., 2013. Dynamic of functional microbial groups during mesophilic composting of agro-industrial waste and free living (N₂)-fixing bacteria application. *Jurnal Waste Man*. 33:1616-1625. DOI: [10.1016/j.wasman.2013.03.025](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.03.025)
- Rodrigues, M.A., Ladeira, L.C., Arrobas, M., 2018. Azotobacter- enriched organic manures to incese nitrgen fixaton and cop productifity. *Journal f Agronomy*. 93:88-94. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.01.002>
- Purwiningsih, S., 2003. Isolasi, Populasi dan karakterisasi bakteri pelarut fosfat pada tanah dari taman nasional Bog
- Ristiati, N.P., Muliadihardja, S., Nurlita, F., 2008. Isolasi dan identifikasi bakteri penambat nitrogen non simbiosis dari dalam tanah. *Jurnal penelitian dan Pengembangan Sains & Humaniora*. 2:68-80.
- Suryanto, D., dan Munir,E., 2008. Potensi Pemanfaatan Isolat Bakteri Kitinolitik Lokal Untuk pengendali Hayati Jamur. Prosiding Seminar Hasil – Hasil Penelitian USU, Medan. Hal: 15-25. <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/16063>
- Ulfa, A., Suarsini, E., Irawat, M.H.A.M., 2016. Isolasi Dan Uji Sensitivitas Merkuri Pada Bakteri Dari Limbah Penambangan Emas Di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat Penelitian Pendahuluan. *Proceeding Biology Educatin Conference*. 13 (1):793-799
- Wahyuni, R.M., Sayuti, A., Abrar, M., Erina, Hasan, M., Zainuddin., 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Enterik Patogen Pada Badak Sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) Di Suaka Rhino Sumatera Taman Nasional Way Kambas (TNWK), Lampung. *JIMVET*. 2(4):474-487