

***Pongamia pinnata*-Rhizobium: SPESIES SIMBIOTIK
BERNILAI KONSERVASI TINGGI**

Pongamia pinnata-Rhizobium: *High Value Conservation Symbiotic Species*

Asri Insiana Putri

Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta 55582
Telp. (0274) 895954, 896080, Fax. (0274) 896080

Naskah masuk : 8 Agustus 2011 - Naskah diterima : 28 Oktober 2011

ABSTRACT

Pongamia pinnata is an arboreal legume with high conservation value (Conference of The Parties to The Convention on Biological Diversity at the IX/2nd meeting on plants of high conservation value criteria). Biotechnology breeding program with the selection of legume crops that have a high nitrogen use efficiency becomes an important issue to improve productivity and quality of *P. pinnata*. Thus the important symbiotic effectiveness test done to improve the ability of N fixation as the main element forming a plant tissues. The purpose of this study was to obtain Rhizobium strain from different *P. pinnata* habitats which has the highest effectiveness compared with strain Rhizobium sp. commercial (USDA 122) and controls to *P. pinnata* seedlings. The parameters used are the number of nodules, plant height, root length and diameter. From this activity obtained 3 strains of Ambon and 2 strains of Banyuwangi. Strains selected on the basis of colony growth speed of Rhizobium sp. in vitro. The average number of nodules, plant height, root length and diameter of *P. pinnata* that are inoculated with strain AM1, AM2, AM3, Ba1 and Ba2 from seram, Ambon higher than from Baluran, Banyuwangi. On average, the highest number of nodules occurred in simbiose of *P. pinnata* Ambon-Rhizobium AM3 (50 ± 0.66) equals *P. pinnata* Ambon-Rhizobium USDA122 (50 ± 0.88); the best plant height occurred in *P. pinnata* Ambon-Rhizobium Ba2 ($72 \text{ cm} \pm 1.14$); the best root length ($25 \text{ cm} \pm 0.33$) and the best stem diameter ($4.0 \text{ mm} \pm 0.33$) occurred in *P. pinnata* Ambon-Rhizobium AM2. The highest symbiose effectiveness value of *P. pinnata*-Rhizobium occurred in *P. pinnata* origin from Ambon with Rhizobium strain AM3 (32,45).

Key Words : *Pongamia pinnata*, Rhizobium, symbiotic effectiveness

ABSTRAK

Pongamia pinnata merupakan arboreal legume yang bernilai konservasi tinggi (Conference of The Parties to The Convention on Biological Diversity pada pertemuan ke IX/2 tentang kriteria tanaman bernilai konservasi tinggi). Program bioteknologi pemuliaan dengan seleksi tanaman legum yang mempunyai efisiensi penggunaan nitrogen tinggi menjadi isu penting untuk meningkatkan produktivitas dan kualitas *P. pinnata*. Dengan demikian uji efektifitas simbiotik penting dilakukan untuk meningkatkan kemampuan fiksasi N sebagai unsur utama pembentuk jaringan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan strain Rhizobium dari berbagai habitat *P. pinnata* yang

mempunyai efektivitas tertinggi membentuk nodulasi *Rhizobium* sp. pada bibit *P. pinnata* dibandingkan dengan strain *Rhizobium* sp. komersial (USDA 122) dan kontrol. Parameter yang digunakan adalah jumlah nodul, tinggi tanaman, panjang akar dan diameter. Dari kegiatan ini didapatkan 3 strain dari Ambon dan 2 strain dari Banyuwangi. Strain terpilih berdasarkan kecepatan pertumbuhan koloni *Rhizobium* sp. *in vitro*. Rata-rata jumlah nodul, tinggi tanaman, panjang akar dan diameter bibit *P. pinnata* yang diinokulasi strain Am1, Am2, Am3, BA1 dan BA2 dari Pulau Seram, Ambon lebih tinggi dibandingkan dari Baluran, Banyuwangi. Rata-rata jumlah nodul tertinggi terjadi pada simbiose *P. pinnata* Ambon-*Rhizobium* AM3 ($50 \pm 0,66$) menyamai *P. pinnata* Ambon-*Rhizobium* USDA122 ($50 \pm 0,88$); Rata-rata tinggi tanaman tertinggi pada *P. pinnata* Ambon-*Rhizobium* BA2 ($72 \text{ cm} \pm 1,14$); Rata-rata panjang akar terbaik ($25 \text{ cm} \pm 0,33$) dan diameter batang terbaik ($4,0 \text{ mm} \pm 0,33$) pada *P. pinnata* Ambon-*Rhizobium* Am2. Nilai efektivitas simbiose *P. pinnata*-*Rhizobium* terbaik adalah *P. pinnata* asal Ambon dengan *Rhizobium* strain Am3 (32,45).

Kata Kunci : *Pongamia pinnata*, *Rhizobium*, uji efektifitas simbiotik

I. PENDAHULUAN

Hutan bernilai konservasi tinggi (*High Conservation Value Forest/HCVF*) merupakan wilayah hutan yang diperlukan untuk memelihara atau meningkatkan nilai konservasi tinggi dengan salah satu pencirinya adalah memberikan pelayanan dasar alam di ekosistem kritis (Jennings *et al.*, 2003). Sesuai program *Conservation Agriculture With Trees* (CAWT) oleh *World Agroforestry Centre* (ICRAF), prinsip spesies bernilai konservasi tinggi diantaranya adalah dapat meminimalkan gangguan terhadap tanah dan termasuk tanaman yang mampu melakukan fiksasi nitrogen atau yang dapat bersimbiose dengan tanaman tersebut (ICRAF, 2010).

Berkaitan dengan tanaman bernilai konservasi tinggi untuk bioenergi terbarukan, sesuai dengan keputusan yang diadopsi dari *Conference of The Parties to The Convention on Biological Diversity IX/2* (produksi bioenergi berkelanjutan didasarkan pada sifat asli spesies yang sesuai

untuk propagasi di zona konservasi iklim-agro tertentu) dan oleh *Applied Environmental Research Foundation* (AERF) merekomendasikan *Pongamia pinnata* sebagai pohon bernilai konservasi tinggi (Jayant *et al.*, 2010). Di samping sebagai *arboreal legume* cepat tumbuh, *P. pinnata* termasuk pioner pada daerah marginal, pelindung abrasi untuk konservasi daerah pantai, berguna di berbagai industri tanin, perkayuan, obat-obatan dan pakan ternak. Tanaman ini sangat berpotensi sebagai salah satu tanaman alternatif sumber bioenergi baru dan terbarukan dengan kandungan minyak 40-50% dalam biji (Duke, 1983; Friedericks *et al.*, 1990; Suhas *et al.*, 2009; Scot *et al.*, 2008;). Sebagai kayu energi mempunyai kandungan kalori yang tinggi yaitu sekitar 4.600 k cal/kg (Anonim, 2006).

Pongamia pinnata termasuk dalam famili Fabaceae atau Leguminosae, dengan subfamili Papilionoideae. Dijumpai sebagai tanaman asli di iklim tropis Asia termasuk sebagian India, Cina,

Jepang, Malaysia, Australia dan Kepulauan Pasifik, dikenal dengan nama Indian Beech, Pongam, Karanj (Hindi), Honge (Kannada), Pungai (Tamil), Kanuga (Telugu), Naktamala (Sanskrit), pohon besi pantai atau malapari (Indonesia). Di Indonesia tanaman ini banyak ditemukan di Kepulauan Maluku, di daerah pesisir pantai Sumatera, Jawa dan Nusa Tenggara Timur (Anonim, 2006).

Kemampuan *P. pinnata* dalam fiksasi N secara biologis melalui pembentukan nodul dan bersimbiose dengan bakteri *Rhizobium*, menjadikan tanaman ini dapat memenuhi sendiri kebutuhan N untuk pertumbuhan. N₂ atmosfer bersifat sangat stabil dapat dimanfaatkan tanaman bila dalam bentuk ammonium (NH₄⁺) atau nitrat (NO₃⁻), maka reaksi penambahan N sangat mahal jika ditinjau dari tingginya energi yang diperlukan. Proses perubahan N₂ atmosfer melalui serangkaian reaksi biologis oleh *Rhizobium* merupakan bioteknologi masukan rendah. Setiap 30 juta sel *Rhizobium* dapat menggantikan sekitar 200 kg pupuk kimia urea (Anonim, 2008; Singh & Purohit, 2008). Hal tersebut dapat menekan tingginya investasi dari energi yang tidak terbarukan menjadi bioenergi baru dan terbarukan, bioteknologi masukan rendah yang murah dan ramah lingkungan. Penggunaan tanaman ini dinilai lebih menguntungkan dibandingkan dengan bila menggunakan tanaman bioenergi non legum.

Program bioteknologi pemuliaan dengan seleksi tanaman legum yang mempunyai efisiensi penggunaan N tinggi menjadi isu penting untuk meningkatkan produktivitas dan kualitas *P. pinnata* (Scot *et al.*, 2008). Dengan demikian uji efektivitas simbiotik penting dilakukan untuk

meningkatkan kemampuan fiksasi N sebagai unsur utama pembentuk jaringan biji *P. pinnata*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan *strain Rhizobium* sp. terpilih dari nodulasi *P. pinnata* hasil eksplorasi di habitat tanaman dan uji efektivitas *strain Rhizobium* sp. terpilih dibandingkan dengan *strain Rhizobium* sp. komersial (USDA 122) terhadap nodulasi dan pertumbuhan tanaman pada bibit *P. pinnata*.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Peralatan Penelitian

Biji *P. pinnata*, nodul akar dan isolat *Rhizobium* yang diperoleh dari rhizosfer *P. pinnata* hasil eksplorasi dari P. Seram, Maluku dan Baluran, Banyuwangi serta *strain* komersial USDA 122. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan rumah kaca Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan, Purwobinangun Jogjakarta. Media isolasi menggunakan YMA (*Yeast Malt Agar*) (Atlas & Ronald, 1997): K₂HPO₄; Mg₂SO₄.7H₂O; NaCl; manitol, ekstrak khamir dan agar. Bahan sterilisasi: alkohol, spiritus, chlorox, HgCl₂ dan akuades. Bahan uji fisiologi dan pengecatan bakteri: *Oxidase*, *Hydrogen Peroxide*, *Dextrose*, *Iodine*, *Safranin*, *Crystal violet*, larutan *Maneval* dan *Congo red*. Peralatan yang dipergunakan adalah *autoclave*, *laminar air flow*, tabung reaksi, *petri dish*, labu ukur, jarum ose, lampu spiritus, polibag.

B. Metode Penelitian

Identifikasi sampel *Rhizobium* berasal dari nodul akar di habitat Ambon (Am) dan Banyuwangi (Ba) masing-masing dengan 50 ulangan *streak plate*. Setelah didapatkan kultur

murni, pertumbuhan koloni tercepat merupakan *strain* terpilih (*strain* 1, 2, 3, dst.). Perbanyakkan sel *Rhizobium* dilakukan dengan sistem bifase untuk mendapatkan kerapatan antara 109-1.010 sel/ml. *Strain* Am dan Ba dibandingkan dengan *strain* USDA 122 dipergunakan sebagai perlakuan disamping kontrol (tanpa inokulasi). Penghitungan jumlah sel berdasarkan rata-rata pada haemasitometer. Inokulasi dilakukan dengan pengenceran kultur sampai 10 ml untuk menjaga homogenitas sel dalam tanah, dalam 500 g media tanah semi steril setara dengan sekitar 20 juta sel *Rhizobium*/gram tanah. Perlakuan inokulasi *strain* Am, Ba dan USDA 122 dilakukan pada masing-masing bibit asal Ambon dan Banyuwangi disusun menurut rancangan acak lengkap non faktorial dengan 50 ulangan setiap perlakuan. Parameter yang digunakan adalah jumlah nodul, tinggi tanaman, panjang akar dan diameter batang. Nilai efektivitas *P. pinnata-Rhizobium* diukur secara tidak langsung berdasarkan rata-rata dari keempat parameter tersebut. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varians, apabila berbeda nyata analisis dilanjutkan dengan Uji Duncan (*Least Significant Range Test*).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian uji efektivitas *strain Rhizobium* terpilih asal Ambon dan Banyuwangi dibandingkan dengan *strain Rhizobium* komersial (USDA 122) terhadap nodulasi dan pertumbuhan tanaman bibit *P. pinnata* sebagai spesies simbiotik bernilai konservasi tinggi adalah sebagai berikut:

1. Pengambilan nodul akar di *rhizosfer* dan biji *Pongamia pinnata* dari P. Seram, Ambon dan Baluran, Banyuwangi.

Nodul akar didapatkan di daerah *rhizosfer* sampai kedalaman sekitar 50 cm dari permukaan tanah. Pulau Seram, Ambon, Maluku terletak pada 2°30'-7°30' LS dan 125°45'-132°30' BT, temperatur rata-rata 26,9°C, rata-rata jumlah curah hujan sebanyak 240,3 Mm. Sedangkan letak geografis Baluran pada 7°29' - 7°55' LS dan 114°17'-114°28' BT, menurut klasifikasi Schmidt dan Ferguson beriklim kering tipe F dengan temperatur berkisar antara 27,2-30,9°C, kelembaban udara 77%.

P. pinnata tumbuh hampir di seluruh pesisir pantai Baluran maupun di seluruh hamparan Pulau Seram Ambon. Lokasi pengambilan sampel di Baluran ditetapkan secara acak dari wilayah Tanjung Bama/Kelor, Batu Sampan, Popongan, Uyahan, dan Perengan. Sedangkan di pulau Seram ditetapkan secara acak dari desa Kamal, desa Hatusua, desa Kamarian dan desa Amahai, 3 desa pertama termasuk Seram bagian barat dan desa terakhir termasuk Maluku Tengah. Pada tiap lokasi ditentukan 3 titik pengambilan sampel yaitu titik dekat pantai (5-10 m dari garis pantai pasang), titik tengah (15-20 m dari garis pantai pasang) dan titik dekat daratan (25-30 m dari garis pantai pasang).

2. Inokulan *Rhizobium* sp.

Nodul diperoleh dari perakaran *P. pinnata* (Gambar 1a) setelah melalui sterilisasi (Gambar 1b), isolat *Rhizobium* sp. diperoleh dari hasil pemurnian *streak plate* (Gambar 1c).

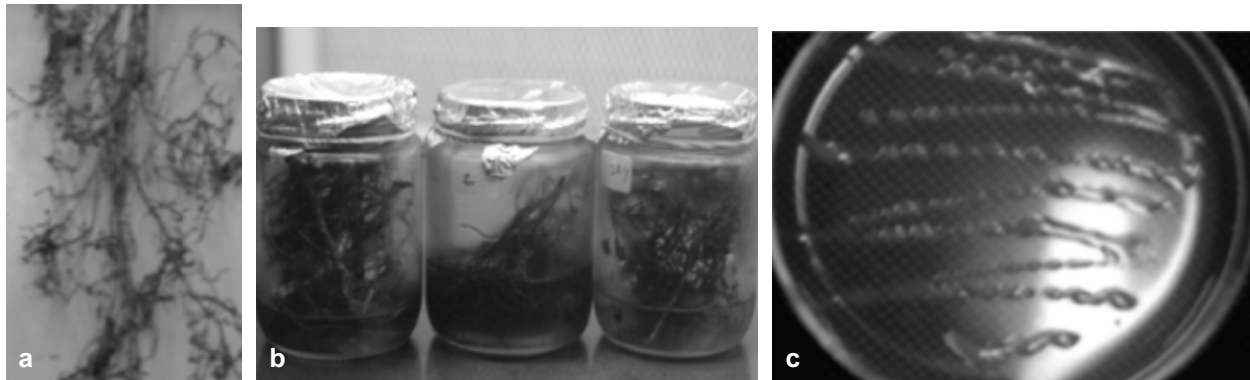


Foto a, b dan c: Asri, 2008

Gambar 1. Nodul pada akar *Pongamia pinnata* (a) setelah sterilisasi (b) isolat *Rhizobium* (c).

Berdasarkan modifikasi protokol dari Jhalani & Yuan (2003) serta Boon *et al.* (2001), uji katalase koloni (2a), uji *methyl red* koloni (2b), pengecatan Gram (2c) dan pengecatan kapsula (2d) menunjukkan identifikasi *Rhizobium* sp.. Dari hasil pertumbuhan sel *Rhizobium* sp. didapatkan dua sifat yaitu cepat tumbuh (2e) dan lambat tumbuh (2f). 3 *strain* cepat tumbuh dari P. Seram, Ambon (Am1, Am2 dan Am3) dan 2 *strain* cepat tumbuh dari Baluran Banyuwangi (Ba1 dan Ba2) diper-

gunakan sebagai inokulan *P. pinnata*. Secara mikroskopis sel *Rhizobium* cepat tumbuh mempunyai dinding yang nisbi lebih rata dibandingkan dengan sel *Rhizobium* lebih lambat. *Strain* berdasarkan lokasi pengambilan terdiri dari 5 lokasi dari Baluran yaitu Bama, Sampan, Popongan, Uyahan dan Perengan serta 4 lokasi dari P. Seram yaitu Kamal, Hatusua, Kamainan dan Amahai.

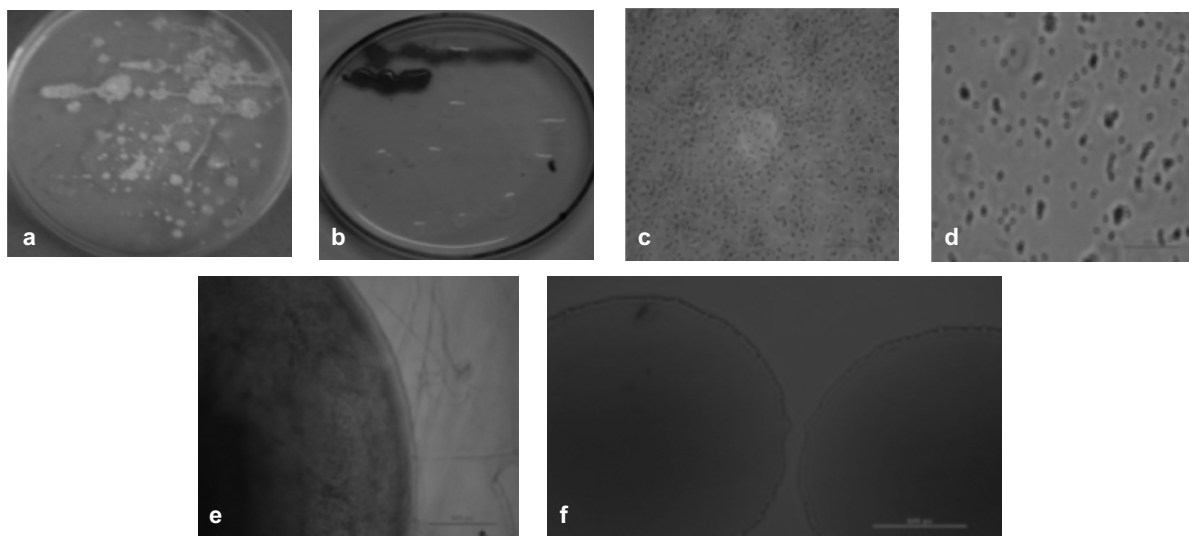


Foto a, b, c, d, e dan f: Asri, 2008

Gambar 2. Identifikasi *Rhizobium* sp., uji katalase koloni (a), uji *methyl red* koloni (b), pengecatan Gram (c), pengecatan kapsula (d), sel *Rhizobium* sp. cepat tumbuh (e) dan sel *Rhizobium* sp. lambat tumbuh (f)

3. Efektivitas *strain Rhizobium* sp. terpilih dibandingkan dengan *strain Rhizobium* sp. komersial (USDA 122) dan kontrol terhadap nodulasi dan pertumbuhan tanaman pada bibit *P. pinnata*.

Berdasarkan pengamatan bibit *P. pinnata* 3 bulan setelah diinokulasi *Rhizobium* sp. (Tabel 1), menunjukkan bahwa bibit yang berasal dari P. Seram, Ambon mempunyai rata-rata jumlah nodul, tinggi tanaman dan diameter yang lebih tinggi untuk semua *strain* dibandingkan bibit yang berasal dari Baluran, Banyuwangi. Hal ini menunjukkan bahwa *P. pinnata* dari P. Seram mempunyai kemampuan kesesuaian (*compatibility*) dengan *Rhizobium* sp. yang lebih tinggi dibandingkan dari Baluran. Rata-rata jumlah nodul pada akar bibit dari P. Seram secara nyata sangat berbeda dengan kontrol. *Strain* Am3 mempunyai jumlah nodul tertinggi menyamai

strain komersial USDA 122, namun Am3 mempunyai nilai efektivitas terbaik (32,45) lebih tinggi dibandingkan USDA 122 (32,13).

Simbiose *P. pinnata* asal Ambon dengan masing-masing *strain* terpilih mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap tinggi tanaman dan panjang akar, namun secara nyata berbeda dibandingkan kontrol. Tinggi tanaman terbaik pada *P. pinnata* Ambon-*Rhizobium strain* Ba2, panjang akar terbaik dan diameter terbaik pada *P. pinnata* Ambon-*Rhizobium strain* Am2.

Rhizobium yang tumbuh dalam bintil akar leguminoceae mengambil nitrogen langsung dari udara dengan aktifitas bersama sel tanaman dan bakteri, nitrogen itu disusun menjadi senyawa nitrogen seperti asam-asam amino dan polipeptida yang ditemukan dalam tanaman (Jordan 1984; Oldroyd & Downie, 2004). Dengan demikian dapat diasumsikan bahwa *strain* ter-

Tabel 1. Jumlah nodul, tinggi tanaman, panjang akar dan diameter *Pongamia pinnata* dari Baluran, Banyuwangi dan P. Seram, Ambon yang diinokulasi beberapa *strain Rhizobium* sp.

No.	Strain <i>Rhizobium</i> sp.	Jumlah nodul (a)	Tinggi tan (cm) (b)	Panjang akar (cm) (c)	Diameter (mm) (d)	Nilai Efektivitas (a+b+c+d)/4
Inokulasi pada bibit dari P. Seram, Ambon						
1.	Am1	37 ± 1,65 ^b	66 ± 1,20 ^b	22 ± 0,21 ^b	2,8 ± 0,25 ^a	31,95
2.	Am2	16 ± 0,79 ^d	60 ± 1,04 ^d	25 ± 0,33 ^a	4,0 ± 0,33 ^b	26,25
3.	Am3	50 ± 0,66 ^a	63 ± 1,43 ^c	14 ± 0,42 ^e	2,8 ± 0,26 ^a	32,45
4.	Ba1	40 ± 0,34 ^b	59 ± 1,55 ^d	19 ± 0,22 ^c	2,6 ± 0,54 ^a	30,15
5.	Ba2	30 ± 1,42 ^c	72 ± 1,14 ^a	20 ± 0,14 ^c	2,6 ± 0,21 ^a	31,15
6.	USDA 122	50 ± 0,88 ^a	60 ± 1,09 ^d	16 ± 0,11 ^d	2,5 ± 0,43 ^a	32,13
7.	Kontrol	6 ± 0,67 ^e	53 ± 1,44 ^e	21 ± 0,21 ^b	2,5 ± 0,45 ^a	20,63
Inokulasi pada bibit dari Baluran, Banyuwangi						
1.	Am1	18 ± 0,21 ^a	18 ± 0,24 ^a	20 ± 0,12 ^a	2,1 ± 0,32 ^a	14,53
2.	Am2	-	18 ± 0,22 ^a	23 ± 0,32 ^b	2,9 ± 0,76 ^b	10,98
3.	Am3	5 ± 0,31 ^b	21 ± 0,43 ^b	29 ± 0,24 ^c	2,1 ± 0,64 ^a	14,28
4.	Ba1	3 ± 0,22 ^b	23 ± 0,51 ^b	19 ± 0,26 ^a	2,3 ± 0,35 ^a	11,83
5.	Ba2	-	19 ± 0,44 ^c	27 ± 0,31 ^d	2,2 ± 0,29 ^a	12,05
6.	USDA 122	8 ± 0,33 ^c	17 ± 0,35 ^c	29 ± 0,21 ^c	2,2 ± 0,24 ^a	14,05
7.	Kontrol	-	27 ± 0,52 ^d	13 ± 0,32 ^c	2,2 ± 0,33 ^a	10,55

Ket.: pengamatan dilakukan setelah 3 bulan inokulasi, nilai rata-rata ± SE dari 50 ulangan, nilai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada $p = 0,05$, nilai rata-rata tiap kolom dianalisa dengan *Duncan's Multiple Range Test*.

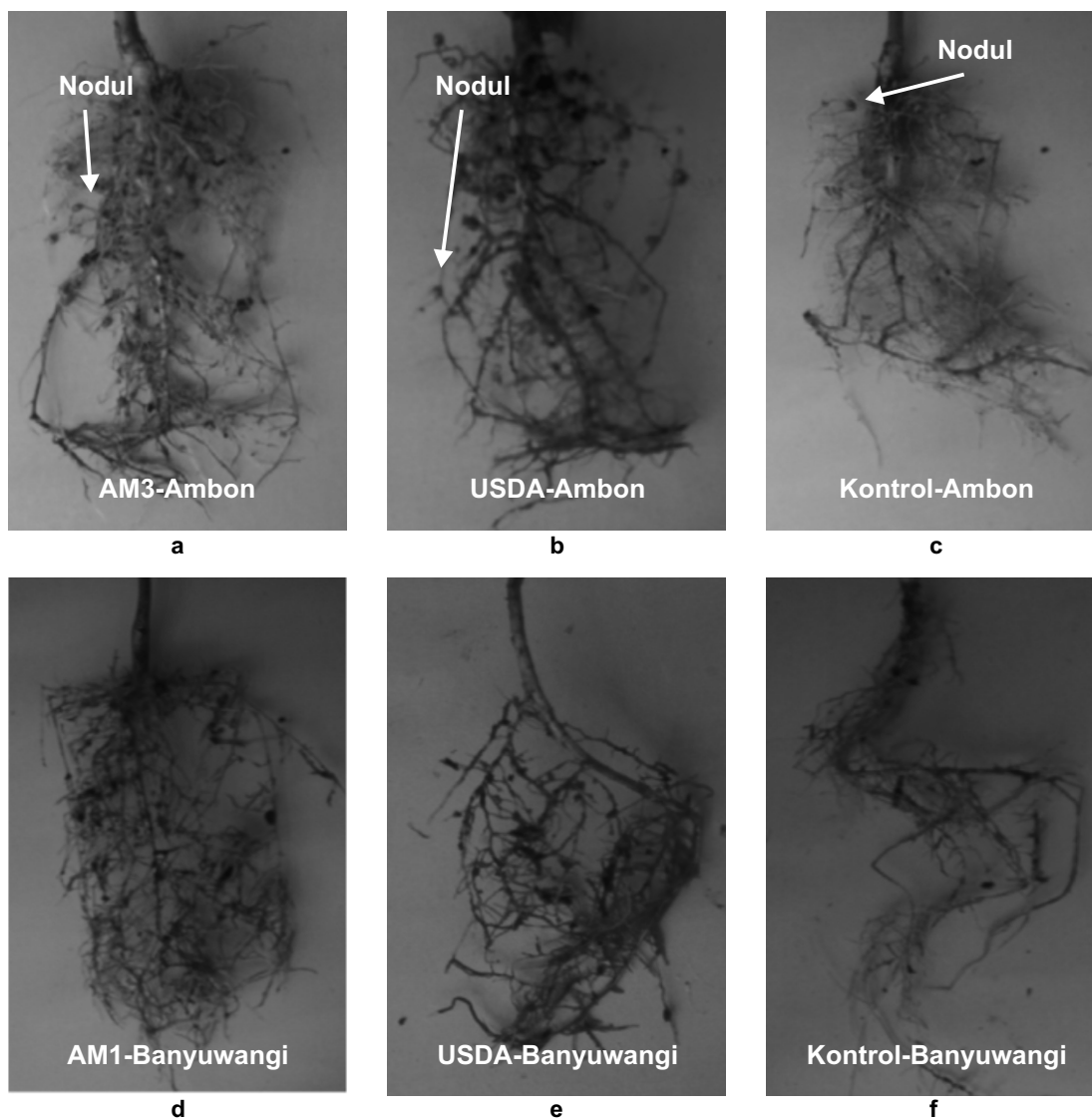


Foto a, b, c, d, e dan f: Asri, 2008

Gambar 3. Nodul yang terbentuk pada *Pongamia pinnata* dari P. Seram, Ambon (a, b dan c) serta dari Baluran, Banyuwangi (d, e dan f).

pilih memberikan pengaruh nyata terhadap fiksasi N yang ditunjukkan dengan lebih besarnya rata-rata tinggi, panjang akar dan diameter tanaman dibandingkan kontrol. Namun demikian nitrogen dalam jaringan tanaman penting dianalisa pada penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh isolat *Rhizobium* terpilih terhadap penyusunan jaringan *P. pinnata*.

Pertumbuhan nodul bersifat lateral dengan ukuran tidak seragam (Gambar 3).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Simbiose *Pongamia pinnata-Rhizobium* dari berbagai habitat menunjukkan perbedaan nilai efektivitas simbiose yang menyebabkan perbedaan kemampuan membentuk nodul, tinggi tanaman, panjang akar dan diameter batang. Semakin tinggi nilai efektivitas simbiose akan meningkatkan nilai konservasi spesies. Nilai efektivitas

simbiose *P. pinnata-Rhizobium* terbaik pada penelitian ini adalah *P. pinnata* asal Ambon dengan *Rhizobium strain* Am3 yaitu 32,45.

B. Saran

Membandingkan efektivitas simbiose antar *strain Rhizobium* terhadap *Pongamia pinnata* dari berbagai habitat penting dilakukan untuk mendapatkan *strain* bernilai konservasi tertinggi. Dengan demikian penelitian uji efektivitas simbiose *Rhizobium* terhadap *Pongamia pinnata* di seluruh habitat Indonesia penting dilakukan untuk mendapatkan klon *Pongamia pinnata* dan *strain Rhizobium* dengan nilai efektivitas simbiose terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2008. Root Boost-An Introduction. Sundaram Overseas Operation. www.soo.co.in/index.htm.
- Anonim. 2006. *Pongamia pinnata*. A Tree Species Reference and Selected Guide. Agroforestry Database. Plant Resources of South East Asia (PROSEA), Bogor, Indonesia.
- Atlas dan Ronald. 1997. *Handbook of Microbiological Media*. 2nd ed. CRC Press.
- Boon E. M., A. Downs, D. Marcey. 2001. "Catalase: H_2O_2 : H_2O_2 Oxidoreductase". Catalase Structural Tutorial Text.
- Duke J.A.1983. *Pongamia pinnata* (L.) Pierre. *Handbook of Energy Crops*. Unpublished. Purdue University.
- Friedericks J. B., T. C. Hagedorn dan S. W. Vanscoyoc. 1999. Isolation of *Rhizobium leguminosarum* (biovar trifolii) Strains From Ethiopian Soils and Symbiotic Effectiveness on African Annual Clover Species. *Applied and Environmental Microbiology*, Apr. 1990, p. 1087-1092.
- ICRAF. 2010. Conservation Agriculture With Trees (CAWT). World Agroforestry Center. www.worldagroforestryconservation.org/ea/stafrika/program/conservation.
- Jayant S., A. Godbole, S. Punde. 2010. Integrating High Conservation Value Native Species Into Biofuel Production For Conservation And Sustainable Use Of Biodiversity. Applied Environmental Research Foundation (AERF), India.
- Jennings S., R. Nussbaum, N. Judd dan T. Evans. 2003. *The High Conservation Value Forest Tool Kit*. ProForest, Oxford, UK.
- Jhalani M., K. Yuan. 2003. Enrichment and Isolation of *Rhizobium*. BSC1223H Section 0101. May, 2003 (unpublished). <http://commtechlab.msu.edu>.
- Jordan, D.C. 1984. Family III Rhizobiaceae Conn. 1983, p234-256. In N. R. Kreig dan J. G. Holt (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1. Williams & Williams Co., Baltimore.
- Oldroyd G. dan J. A. Downie. 2004. Calcium, Kinases And Nodulation Signaling In Legumes. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology* 5: 566-576.
- Scott, T. Paul, Pregelj, Lisette, Chen, Ning, Hadler, S. Johanna; Djordjevic, A. Michael; Gresshoff, M. Peter. 2008. *Pongamia pinnata*: an Untapped Resource for the Biofuels Industry of the Future. *BioEnergy Research* 1: 2.

Singh, T. dan S.S. Purohit. 2008. Biofertilizer Technology. *Agrobios*, 2008, xviii, 390p. ISBN 81-7754-382-2.

Suhas W., T. K. Sreedevi, S. Marimuthu, A. V. R. K. Rao dan C. Vineela. 2009. Harnessing the Potential of Jatropha and Pongamia Plantations for Improving Livelihoods and Rehabilitating Degraded Lands. 6th International Biofuels Conference. Proceedings. New Delhi. India.

