



## PENGARUH *Azospirillum* spp. TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN JAGUNG (*Zea mays* L.) DAN KEMAMPUAN BEBERAPA ISOLAT DALAM MENGHASILKAN IAA

Oedjijono<sup>1</sup>, Lestanto U.W.<sup>1</sup>, Erie Kolya Nasution<sup>1</sup>, dan Bondansari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman

<sup>2</sup>Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Azospirillum* spp. dalam meningkatkan pertumbuhan dan kolonisasi akar tanaman jagung (*Zea mays* L.) dalam medium pasir steril dan kemampuan beberapa isolat untuk menghasilkan IAA. Penelitian dilaksanakan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap. Data dianalisis menggunakan analisis ragam dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan *Azospirillum* spp. secara nyata meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung. Isolat IL2, IL3b, dan IL3c menunjukkan kemampuan tinggi terutama dalam meningkatkan tinggi tanaman. Isolat IL2 dan IL3b mampu menghasilkan IAA berturut-turut sebanyak 1,616 ppm dan 2,038 ppm.

**Kata kunci:** *Azospirillum*, jagung, IAA.

### ABSTRACT

The aims of this study were to know the ability of *Azospirillum* spp. in promoting growth and colonize the roots of maize (*Zea mays*) in sterile sand medium and to determine the ability of *Azospirillum* spp. to produce IAA. The study was carried out experimentally using a completely randomized design. Data were analyzed using analysis of variance and continued with the least significant difference test. The results showed that *Azospirillum* spp. were significant in enhancing the growth of corn plants. Isolates IL2, IL3b, and IL3c showed high ability especially in increasing plant height. Isolates IL2 and IL3b were able to produce IAA as amount of 1.616 ppm and 2.038 ppm, respectively.

**Keywords:** *Azospirillum*, maize, IAA.

### PENDAHULUAN

*Azospirillum* adalah genus terbaik dari kelompok genera *plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR) karena bakteri tanah tersebut berinteraksi dengan akar berbagai tanaman, mampu menambat nitrogen dan melarutkan fosfat serta mensintesis hormon pertumbuhan tanaman (Steenhoudt and Vanderleyden, 2006). Anggota genus ini dapat menambat N<sub>2</sub> mencapai dua belas kali lebih dominan dibandingkan bakteri penambat N<sub>2</sub> lainnya yang hidup bebas dalam tanah (Samekto, 2008). *Azospirillum* disebut sebagai penambat nitrogen asosiatif karena kebutuhan nutriennya tergantung pada eksudat akar tanaman inang (Frankenberger and Arshad, 1995), dan tanaman inang memanfaatkan hasil aktivitas bakteri untuk pertumbuhannya. Eksudat akar secara kualitatif dan kuantitatif sangat mempengaruhi keberadaan *Azospirillum* (Myers and Hubel, 1987). Eksudat akar mengandung antara lain gula, asam amino, vitamin, malat, tanin, alkaloid, fosfatida, dan beberapa senyawa lain (Sylvia *et al.*, 1999).

Tingkat kolonisasi *Azospirillum* pada akar tanaman berpengaruh terhadap morfologi dan fungsi akar. Bakteri tersebut dapat membentuk koloni pada permukaan akar atau di lapisan luar korteks akar dan mendapatkan sumber karbon dari eksudat tanaman (Metting, 1993).

Rao (1982) menyatakan bahwa inokulasi *A. brasilense* pada tanaman *Cenchrus ciliaris* dan *Chrysopogon fulvus* dapat meningkatkan tinggi tunas dan berat kering tunas berturut-turut



1,4 kali dan 7,26 kali untuk *C. ciliaris* dan 2 kali dan 1,57 kali untuk *C. fulvus* dibandingkan dengan control. Oedjijono *et al.* (1996) melaporkan bahwa pertumbuhan tanaman jagung hibrida yang diinokulasi dengan isolat *Azospirillum* spp. dapat ditingkatkan sebesar 2-3 kali dibandingkan kontrol di rumah kaca. Inokulasi biji *wheat*, *barley* dan *oats* dengan *Azospirillum* sp. mampu meningkatkan hasil dan kandungan total nitrogen di rumah kaca (Santa *et al.*, 2004). Percobaan lapangan inokulasi biji *flax* dengan *A. brasilense* B-4485 menunjukkan hasil setara dengan aplikasi 15 kg/ha N (Mikhailouskaya, 2006). Peningkatan pertumbuhan vegetatif jagung yang diinokulasi dengan inokulum cair *A. brasilense* di lapangan juga dilaporkan oleh Puente *et al.* (2009). Jain and Patriquin (1985) menyatakan bahwa inokulasi *Azospirillum* isolat Sp 245 dan Sp 246 pada tanaman gandum mampu meningkatkan berat kering tanaman dan kandungan nitrogen. *Indole acetic acid* (IAA) yang dihasilkan oleh isolat-isolat tersebut diduga bertanggung jawab terhadap peningkatan pertumbuhan tanaman jagung.

*Azospirillum* spp. yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari akar tumbuhan Ilalang (Rismawati, 2012). Isolat tersebut memiliki karakteristik bentuk sel batang, Gram negatif, oksidase positif, mampu membentuk pelikel pada sub permukaan medium semi padat *Nitrogen-free bromthymol blue* (NfB), koloni berwarna merah muda sampai merah tua pada medium Caceres, mampu menggunakan glukosa, laktosa dan sukrosa sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi.

Tanaman jagung dipilih sebagai inang karena tanaman tersebut merupakan salah satu komoditi tanaman pangan penting di Indonesia, sangat responsif terhadap perubahan unsur hara utama terutama nitrogen. Upaya pemanfaatan asosiasi PGPR, seperti *Azospirillum*, dengan tanaman jagung sangat penting dalam rangka menjaga kesuburan tanah dan meningkatkan pertumbuhan tanaman.

## METODE ANALISIS

### Pengaruh *Azospirillum* spp. terhadap pertumbuhan tanaman jagung

Isolat *Azospirillum* spp. (IL1, IL2, IL3a, IL3b dan IL3c) diisolasi dari akar tumbuhan Ilalang (Rismawati, 2012). Bakteri dikultur dalam medium miring Caceres dan untuk perbanyakan digunakan medium NA. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap. Perlakuan terdiri dari 7 macam yaitu 5 isolat bakteri *Azospirillum* spp. strain IL1, IL2, IL3a, IL3b, IL3c, Kontrol akuades (K-AQ), dan Kontrol nutrient broth (K-NB). Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Data dianalisis menggunakan analisis ragam dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT).

Uji kemampuan isolat *Azospirillum* dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung (*Zea mays*) dilaksanakan dengan memodifikasi metode yang dikembangkan oleh Brisbane and Rovira (1988) pada medium pasir steril. Pasir sebelumnya diayak menggunakan ayakan diameter 0,2 mm, dicuci dengan air beberapa kali sampai bersih dari lumpur. Pasir selanjutnya dikeringkan di bawah terik matahari sampai benar-benar kering. Tabung gelas besar (30 x 200 mm) diisi dengan 40 g pasir dan 8 ml larutan nutrisi Jensen tanpa nitrogen (g/L: CaHPO<sub>4</sub> 1,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,2; NaCl 0,2; FeCl<sub>3</sub> 0,1); mikronutrien 1 ml (g/100ml: H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0,05; MnSO<sub>4</sub> 0,005; Na<sub>2</sub>MoO<sub>3</sub> 0,005; CuSO<sub>4</sub> 0,002), pH 6,5-7,0. Untuk kontrol digunakan dua buah yaitu tabung isi pasir ditambah dengan 8 ml akuades (K-AQ) atau 8 ml medium NB. Tabung ditutup dengan kapas kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf.

Biji jagung (*Zea mays*) yang seragam disterilisasi dengan 1,8% kalsium hipoklorit, dicuci dengan air steril empat kali dan dicekambahkan pada cawan isi kertas tissue steril dan dibasahi secukupnya. Diinkubasi pada suhu kamar sampai berkecambah. Dua kecambah jagung dimasukkan ke dalam setiap tabung, kemudian sebanyak 2 ml inokulum cair *Azospirillum* (10<sup>8</sup> cfu ml<sup>-1</sup>) disiramkan ke sekitar akar menggunakan mikropipet. Kecambah jagung selanjutnya ditutup dengan 10 g pasir kering steril. Tabung percobaan inkubasi selama 2 hari pada suhu ruang dan inkubasi selanjutnya adalah dalam kondisi terkendali yaitu diberi penyinaran dengan intensitas cahaya sekitar 925 lux selama 10 jam per hari pada suhu ruang. Setelah tiga minggu tumbuh, tanaman diambil dari tabung dan secara hati-hati akar-akar dibersihkan dari pasir.



Pengukuran pertumbuhan tanaman jagung meliputi tinggi tanaman, berat kering tanaman dan panjang akar. Pengukuran tinggi tanaman diukur dari pangkal batang sampai ujung daun tertinggi (dalam centimeter), sedangkan pengukuran panjang akar diukur dari pangkal akar sampai ujung akar terpanjang (dalam centimeter). Pengukuran berat kering tanaman (pangkal batang ke atas) dilakukan dengan cara tanaman dikeringkan dalam oven pada suhu 80 °C selama 48 jam (sampai berat konstan).

#### **Kolonisasi akar tanaman jagung oleh *Azospirillum* spp.**

Pengamatan jumlah koloni *Azospirillum* pada akar tanaman dilakukan dengan cara akar dibersihkan dari partikel pasir, selanjutnya akar dipotong pendek menjadi berukuran sekitar 5 mm. Potongan akar sebanyak 1 gr ditumbuk dalam mortar sampai halus kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril. Selanjutnya dilakukan pengenceran seri sampai  $10^{-7}$ , sebanyak 0,1 ml sampel dari pengenceran seri  $10^{-4}$  –  $10^{-7}$  diinokulasi sebar pada medium Caceres (Caceres, 1982). Jumlah koloni yang tumbuh per g akar dihitung dengan metode *total plate count* (TPC).

#### **Produksi IAA oleh *Azospirillum* spp.**

Pengujian kemampuan isolat *Azospirillum* sp. dalam menghasilkan IAA mengacu pada metode yang dikembangkan oleh Ahmad *et al.* (2005). Medium NB ditambah dengan 100 µg/ml L-Triptofan (disterilisasi terpisah menggunakan Millipore 0,2 µm) digunakan untuk pengujian kemampuan produksi IAA. Sebanyak 20 ml medium NB+Triptofan dalam erlenmeyer 100 ml diinokulasi dengan 0,2 ml inokulum *Azospirillum* sp.. Populasi inokulum bakteri ditentukan sebanyak  $10^8$  cfu/ml dengan metode spektrofotometri. Erlenmeyer tersebut kemudiandiinkubasikan pada *shaker incubator* (150 rpm, 30 °C) selama 48 jam. Erlenmeyer berisi medium NB steril tanpa inokulum digunakan sebagai kontrol. Setelah inkubasi, kultur *Azospirillum* disentrifugasi pada 6.000 rpm selama 20 menit kemudian supernatan dipisahkan. Sebanyak 2 ml supernatan diambil dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambah dengan 2 ml reagen Salkowski (1 ml dari 135 mg/ml FeCl<sub>3</sub> dan 50 ml dari 35% HClO<sub>4</sub>). Tabung reaksi tersebut disimpan di ruang gelap selama 30 menit. Hasil positif terbentuknya IAA yang disintesis oleh bakteri secara kualitatif dideteksi berdasarkan perubahan warna supernatan kultur menjadi pink sampai merah setelah ditambah dengan reagen Salkowski (Glickman and Dessaux, 1995).

Penentuan IAA dalam kultur bakteri secara kuantitatif diukur berdasarkan nilai absorbansi pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm. Nilai absorbansi sampel yang didapat selanjutnya dibandingkan dengan hasil pembacaan larutan standar IAA sintetik dengan konsentrasi 0 sampai 50 ppm IAA.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap tinggi tanaman menunjukkan bahwa bakteri *Azospirillum* spp. berpengaruh meningkatkan tinggi tanaman jagung pada taraf kepercayaan 95%. Hasil uji beda nyata terkecil (BNT) menunjukkan bahwa perlakuan isolat IL3c berbeda sangat nyata (BNT 1%) dibandingkan dengan kontrol K-AQ (kontrol akuades) maupun K-NB (kontrol medium NB), isolat IL3b dan IL2 berpengaruh sangat nyata dalam meningkatkan tinggi tanaman dibandingkan dengan kontrol K-AQ, tetapi berbeda nyata (BNT 5%) dibandingkan kontrol K-NB (Tabel 1). Isolat IL1 hanya berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol K-AQ. Hasil tersebut menunjukkan bahwa isolat IL2, IL3b, dan IL3c memiliki kemampuan tinggi dalam meningkatkan tinggi tanaman jagung.

Hasil analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap berat kering tanaman menunjukkan bahwa inokulasi *Azospirillum* spp. pada kecambah jagung tidak berpengaruh meningkatkan berat kering tanaman selama masa pertumbuhan vegetatif. Meskipun demikian, hasil pengukuran rata-rata berat kering tanaman jagung menunjukkan bahwa *Azospirillum* spp. isolat IL1 (0,043 g), IL2 (0,05 g), IL3b (0,037 g) dan IL3c (0,038 g) menunjukkan perbedaan yang cukup tinggi dibandingkan dengan kontrol K-AQ (0,015 g) dan K-NB (0,025 g).



Tabel 1. Hasil uji BNT dari nilai rata-rata tinggi tanaman jagung yang diinokulasi isolat *Azospirillum*spp.

Jenis Isolat	K-AQ	K-NB	IL1	IL2	IL3a	IL3b	IL3c
	16,71	18,73	21,74	23,53	22,7	24,02	25,15
IL3c 25,15	8,44**	6,423**	3,41	1,62	2,45	1,13	
IL3b 24,02	7,31**	5,29*	2,28	0,49	1,32		
IL3a 22,7	5,99*	3,97	0,96	0,83			
IL2 23,53	6,82**	4,8*	1,79				
IL1 21,74	5,03*	3,01					
K-NB 18,73	2,02						
K-AQ 16,71							

Keterangan:

BNT 0,05 = 4,418637; BNT 0,01 = 6,132533; \* Berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%;

\*\*Berbeda sangat nyata pada tingkat kepercayaan 99%.

Hasil analisis ragam pengaruh perlakuan terhadap panjang akar tanaman jagung menunjukkan bahwa inokulasi bakteri *Azospirillum* spp. pada kecambah jagung berpengaruh sangat nyata (tingkat kepercayaan 99%) dalam meningkatkan panjang akar tanaman. Hasil uji BNT memperlihatkan bahwa *Azospirillum* isolat IL1 paling tinggi dalam meningkatkan panjang akar tanaman dibandingkan dengan kontrol (K-AQ dan K-NB) maupun dengan isolat lainnya (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji BNT dari nilai rata-rata panjang akar tanaman jagung yang diinokulasi isolat *Azospirillum* spp.

Jenis Isolat	K-AQ	K-NB	IL1	IL2	IL3a	IL3b	IL3c
	6,4	5,927	8,397	6,333	5,983	6,25	6,083
IL3c	0,317	0,157	2,313**	0,25	0,1	0,167	
IL3b	0,15	0,323	2,147**	0,083	0,267		
IL3a	0,417	0,057	2,413**	0,35			
IL2	0,067	0,407	2,063**				
IL1	1,997**	2,47**					
K-NB	0,473						
K-AQ							

BNT 0,05 = 1,196479; BNT 0,01 = 1,660568; \*\* = Berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil analisis seperti telah disebutkan sebelumnya menunjukkan bahwa perlakuan inokulasi bakteri *Azospirillum* spp. isolat Ilalang pada kecambah mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung. Isolat *Azospirillum* spp. yang diinokulasikan walaupun berasal dari akar tumbuhan Ilalang tetapi dapat meningkatkan tinggi dan panjang akar tanaman jagung. Rusmana dan Hadijaya (1994) melaporkan bahwa *Azospirillum* spp. yang diisolasi dari akar tanaman padi (3 isolat) memiliki kemampuan lebih tinggi dalam meningkatkan berat kering tajuk tanaman jagung dibandingkan dengan isolat yang berasal dari akar tanaman tebu maupun jagung. Isolat *Azospirillum* spp. yang berasal dari akar jagung



mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung lebih tinggi dibandingkan dengan isolat asal akar tebu, meskipun isolat asal akar jagung menunjukkan kemampuan penambatan N<sub>2</sub> lebih kecil. Perbedaan hasil tersebut diduga karena adanya kecocokan isolat dengan tanaman inang.

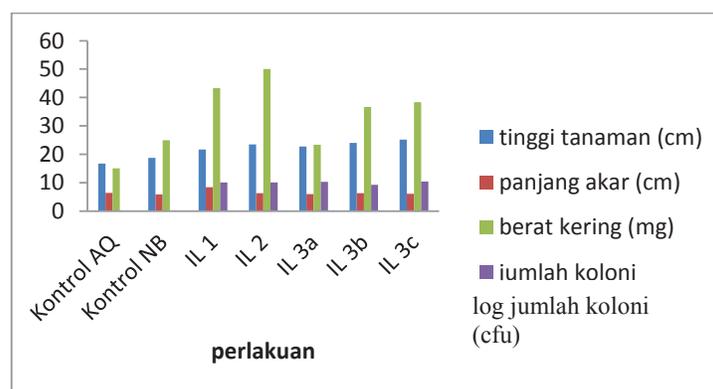
Hasil reisolasi *Azospirillum* spp. dari akar tanaman jagung setelah 3 minggu berinteraksi menunjukkan bahwa semua isolat yang diinokulasikan mampu mengkolonisasi akar dengan baik (Tabel 3). Kemampuan *Azospirillum* sp. isolat IL3c dan IL3a dalam mengkolonisasi akar tampak lebih baik dibandingkan dengan isolat lainnya. *Azospirillum*spp. meskipun diisolasi dari akar tumbuhan kelompok tanaman C3, kemampuan untuk mengkolonisasi akar tanaman jagung (kelompok C4) masih tinggi.

Tabel 3. Jumlah koloni *Azospirillum* spp. pada akar tanaman jagung

No	Perlakuan	Rerata Jumlah Koloni (10 <sup>7</sup> cfug <sup>-1</sup> akar)
1	Kontrol-AQ	0
2	Kontrol-NB	0
3	IL1	15,44
4	IL2	14,54
5	IL3a	23,69
6	IL3b	2,07
7	IL3c	29,70

Pelekatan *Azospirillum* pada akar sangat penting dalam memantapkan asosiasinya dengan tanaman inang (Burdman *et al.*, 2000). Permukaan sel bakteri mengandung polisakarida protein ekstraseluler yang berperan peran penting dalam proses pelekatan bakteri ke inang. Lektin merupakan protein dinding sel *Azospirillum* spp. yang membantu pelekatan ke akar tanaman (Castellanos *et al.*, 1998).

Perlakuan bakteri *Azospirillum*spp.pada kecambah jagung mampu meningkatkan tinggi dan berat kering tanaman, sedangkan panjang akar tanaman cenderung sama pada semua perlakuan (Gambar 1 dan 2). Oedjijono *dkk.* (1996) melaporkan bahwa isolat *Azospirillum* spp. yang diisolasi dari akar tanaman jagung mampu meningkatkan berat kering tanaman dan berat kering akar tanaman jagung sebanyak 2-3 kali dibandingkan dengan kontrol pada medium pasir steril. Sinagadkk. (2003) melaporkan bahwa *Azospirillum* sp. strain Az7 mampu meningkatkan tinggi tanaman, bobot kering bagian atas tanaman, bobot kering akar, panjang akar primer, kandungan klorofil daun tanaman jagung varietas Wisanggeni di kebun percobaan. Selanjutnya dinyatakan bahwa genotip tanaman jagung berpengaruh terhadap kemampuan isolat *Azospirillum* dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Dahono (2006) menyatakan bahwa jumlah anakan, berat segar dan berat kering tanaman, serta jumlah akar lateral tiga varietas tanaman padi dapat ditingkatkan oleh isolat *Azospirillum* spp.. Hasil tersebut menunjukkan adanya pengaruh kecocokan suatu isolat pada tanaman inang.



Gambar 1. Histogram menunjukkan hubungan antara tinggi tanaman, panjang akar, berat kering tanaman dan jumlah koloni *Azospirillum* pada akar.



Isolat *Azospirillum* spp. yang diuji kemampuannya dalam menghasilkan hormon IAA adalah IL2 dan IL3b. Hal ini berdasarkan hasil kemampuan kedua isolat tersebut dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman seperti telah dijelaskan sebelumnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Azospirillum* isolat IL2 dan IL3b mampu menghasilkan hormon IAA sebanyak 1,616 ppm dan 2,038 ppm berturut-turut.

Peningkatan pertumbuhan tanaman jagung yang diinokulasi oleh *Azospirillum* spp. diduga karena bakteri selain mampu menyumbangkan nitrogen sebagai hasil aktivitas penambatan N<sub>2</sub> juga karena hormon IAA yang dihasilkannya. Okon and Kapulnik (1986) dan Karti (2005) menyatakan bahwa perubahan morfologi akar seperti perpanjangan akar, peningkatan rambut akar, dan luas permukaan akar tanaman disebabkan oleh IAA yang dihasilkan oleh *Azospirillum* spp..

Dalam penelitian ini medium tumbuh tanaman jagung diberi larutan nutrisi Jensen yang tidak mengandung unsur N dan dalam kondisi steril. Hasil pengamatan pertumbuhan tanaman jagung selama penelitian menunjukkan bahwa daun tanaman yang tanpa diinokulasi dengan *Azospirillum* lebih cepat menguning dan layu dibandingkan dengan tanaman yang diinokulasi dengan bakteri. Batang tanaman kontrol tampak lebih kecil dibandingkan dengan yang diberi perlakuan bakteri.

Kemampuan *Azospirillum* dalam menambat nitrogen dan menghasilkan fitohormon serta kemampuan meningkatkan penyerapan nutrisi menyebabkan bakteri tersebut mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman sebagai hasil asosiasi non simbiotiknya (Siddiqui, 2010; Tilak *et al.*, 2010). Populasi mikroba di rhizosfer yang menguntungkan tanaman melalui beberapa cara, yaitu meningkatkan *recycling* dan pelarutan (*solubilization*) nutrisi mineral; sintesis vitamin, asam amino, auksin, sitokinin, dan giberelin, yang merangsang pertumbuhan tanaman; dan antagonisme dengan patogen tanaman melalui kompetisi dan hubungan amensalisme berdasarkan produksi antibiotik (Atlas and Bartha, 1994).



Gambar 2. Tanaman jagung usia 3 minggu setelah diambil dari tabung percobaan.

## KESIMPULAN

1. *Azospirillum* spp. mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung pada medium pasir steril dan kemampuan terbaik ditunjukkan oleh isolat IL2, IL3b dan IL3c.
2. Tingkat kolonisasi *Azospirillum* spp. pada akar tanaman jagung cukup tinggi yaitu berkisar antara  $2-29 \times 10^7$  cfu gram<sup>-1</sup> akar.
3. *Azospirillum* isolat IL2 dan IL3b mampu menghasilkan hormon IAA sebanyak 1,616 ppm dan 2,038 ppm.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, F., I. Ahmad, M. S. Khan. 2005. Indole acetic production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turk. J. Biol.* 29: 29-34.
- Atlas, R. M. and R. Bartha. 1994. *Microbial ecology: Fundamentals and applications*. Fourth edition, Benjamin/Cummings, Addison Wesley Longman.
- Brisbane, P.G. and A.D. Rovira. 1988. Mechanisms of inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by fluorescent pseudomonads. *Plant Pathology* 37: 104-111.
- Burdman, S., Y. Okon and E. Jurkevitch. 2000. *Critical Reviews in Microbiology* 26(2): 91-110.
- Caceres, E. A. R. 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. *Journal of Applied and Environmental Microbiology* 44: 990-991.
- Castellanos, T., F. Ascencio and Y. Bashan. 1998. Cell-surface lectins of *Azospirillum* spp.. *Current Microbiology* 36: 241-244.
- Dahono, M. 2006. Pengaruh inokulasi isolat *Azospirillum* terhadap fase vegetatif tiga varietas tanaman padi (*Oryza sativa* L.). Tesis Jurusan Agronomi Universitas Muhammadiyah Malang.
- Frankenberger Jr., W.T. and M. Arshad. 1995. *Phytohormones in soils*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Glickman, E. and Y. Dessaux. 1995. A critical evaluation of the specificity of Salkowski reagent for indole compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 793-796.
- Jain, D. K. and D. G. Patriquin. 1985. Characterization of a substance produced by *Azospirillum* which causes branching of wheat root hairs. *Canadian Journal of Microbiology* 31: 206-210.
- Karti, P. D. M. H. 2005. Penggunaan *Azospirillum* pada tanah masam dengan aluminium tinggi terhadap produksi dan serapan nitrogen rumput *Setaria splendida* dan *Chloris gayana*. *Media Peternakan* 28(1): 37-45.
- Meeting Jr., F.B. 1993. *Soil microbial ecology: Applications in agricultural and environmental management*. Marcel Dekker Inc, New York.
- Mikhailouskaya, N. 2006. The effect of flax seed inoculation by *Azospirillum brasilense* on flax yield and its quality. *Plant and Soil* 52(9): 402-406.
- Myers, M. L. and D. H. Hubbel. 1987. Plant cell wall carbohydrates as substrates for *Azospirillum brasilense*. *Journal of Applied and Environmental Microbiology* 53(12): 2747-2748.
- Oedijono, L. U. Widodo, D. Ryandini dan L. Prayogo. 1996. Isolasi *Azospirillum* dan uji kemampuannya dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung (*Zea mays* L.). *Biosfera* 5: 9-18.
- Okon, Y.L. and Y. Kapulnik. 1986. Development and function of *Azospirillum* inoculated roots. *Plant and Soil* 90: 3-16.
- Puente, M. L., J. E. Garcia and P. Alejandro. 2009. Effect of the bacterial concentration of *Azospirillum brasilense* in the inoculum and its plant growth regulator compounds on crop yield of corn (*Zea mays* L.) in the field. *World Journal of Agricultural Sciences* 5(5): 604-608.
- Rao, N.S. 1982. *Biofertilizer in agriculture*. Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi, Bombay, Calcuta.
- Rismawati. 2012. Populasi *Azospirillum* spp. pada rhizosfer Ilalang (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.) yang tumbuh di lingkungan berbeda. Skripsi S1 Fakultas Biologi Unsoed, Purwokerto.
- Rusmana, I. dan D.D. Hadijaya. 1994. Aktivitas nitrogenase *Azospirillum* sp. dan efektivitas simbiotiknya dengan jagung. *Hayati* 1(2): 51-54.
- Samekto, R. 2008. Bioteknologi dan keharaan tanaman (mikroorganisme, nitrogen dan fosfor). *J. Inov. Pertan.* 7: 66-85.



- Santa, O. R. D., R. F. Hernandez, G.L.M. Alvarez, P.R. Junior and C.R. Soccol. 2004. *Azospirillum* sp. inoculation in wheat, barley and oats seeds greenhouse experiments. *Brazilian Archives of Biology and technology* 47(6): 843-850.
- Siddiqui, Z. A. (Ed.). 2010. *PGPR: Biocontrol and biofertilization*. Springer, Netherlands.
- Sinaga, P.H., A, Baihaki, R. Setiamihardja, dan B. Suprihatno. 2003. Penyaringan genotip jagung yang dapat berasosiasi dengan bakteri *Azospirillum* sp.. *Zuriat* 14(2): 28-38.
- Steenhoudta, O. and J. Vanderleyden. 2006. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Rev.* 24: 487-506.
- Sylvia, D. M., J. J. Fuhrmann, P. G. Hartel, and D. A. Zuberer. 1999. *Principles and applications of soil microbiology*. Prentice Hall Inc., Upper Saddle River, New Jersey.
- Tilak, K. V. B. R., K. K. Pal, and R. Dey. 2010. *Microbes for sustainable agriculture*. I.K. International Publishing House Pvt. Ltd., New Delhi, India.