

# IDENTIFIKASI BAKTERI *Azospirillum* DAN *Azotobacter* PADA RHIZOSFER ASAL KOMBA-KOMBA (*Chromolaena odorata*)

Erfin<sup>1</sup>, Natsir Sandiah<sup>2</sup>, La Malesi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Alumnus Fakultas Peternakan UHO

<sup>2</sup>Staf Pengajar Fakultas Peternakan UHO

e-mail : ace-sandiah@yahoo.com

## Abstrak

Tingginya kandungan N pada komba-komba (*Chromolaena odorata*) yang dapat tumbuh pada tanah yang miskin hara menguatkan dugaan adanya bakteri nonsimbiotik pemfiksasi N yang berasosiasi dengan akarnya. Tujuan dilaksanakan penelitian ini antara lain untuk mengetahui ada tidaknya bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* pada rhizosfer asal komba-komba (*Chromolaena odorata*). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas Matematika dan IPA Institut Pertanian Bogor. Sampel tanah diambil dari rhizosfer tanaman komba-komba pada daerah yang berbeda di Kecamatan Kambu, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara, masing-masing 1 sampel. Isolat yang berasal pada rhizosfer asal komba-komba (*Chromolaena odorata*) dari kelurahan Mokoau dan Lalolara, bakteri *Azospirillum* memiliki bentuk koloni lengkung atau setengah spiral dan vibrinoid dan termasuk bakteri gram negatif, bakteri *Azotobacter* memiliki koloni bakteri berbentuk oval, batang pendek, batang dan terdapat kista serta termasuk bakteri gram negatif.

**Kata Kunci;** Komba-Komba (*Chromolaena odorata*), *Azospirillum*, *Azotobacter*

## Abstract

The high content of N in komba-komba (*Chromolaena odorata*), which can grow in poor soil nutrient, corroborate allegations of non-symbiotic N fixation bacteria associated with the roots. The purpose of this study was to determine the presence of *Azospirillum* and *Azotobacter* in the rhizosphere of komba-komba (*Chromolaena odorata*). Research was conducted at the Laboratory of Microbiology Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Bogor Agricultural University. Soil samples were collected from the rhizosphere of komba-komba plants in different areas in Kambu District, Kendari City, Southeast Sulawesi, one sample from each area. Isolates from the rhizosphere of komba-komba (*Chromolaena odorata*) plant which were derived from Mokoau and Lalolara subdistrict, have *Azospirillum* bacteria which form curved or half spiral colonies and vibrinoid, and belong to gram-negative bacteria, while the *Azotobacter* bacteria have oval colonies, short stem, stem and cysts form, and belong to gram-negative bacteria.

**Keywords:** Komba-Komba (*Chromolaena odorata*), *Azospirillum*, *Azotobacter*

## PENDAHULUAN

Komba-komba (*Chromolaena odorata*) adalah leguminosa berbentuk semak berkayu yang dapat berkembang cepat sehingga sulit dikendalikan. Menurut Marthen (2007), tumbuhan ini berpotensi sebagai pakan ternak karena memiliki kandungan protein cukup tinggi (21-36%), setara dengan daun lamtoro, turi, dan gamal. Produksi protein kasar dapat mencapai 15 ton/ha/tahun, degradabilitas efektif dalam rumen lebih dari 80% , palatabilitas lebih baik dari gamal, penelitian di Afrika menunjukkan adanya senyawa *antihelminik* serta potensi pertumbuhan dengan laju 1,5-2,5 cm/hari dan membentuk semak yang mampu mencapai tinggi sampai 3 meter. Meskipun menurut Marthen (2007) *Chromolaena odorata* mempunyai potensi sebagai pakan ternak, namun menurut Ikhimioya (2003), *Chromolaena odorata* mengandung zat antinutrisi.

Tumbuhan ini memiliki banyak cabang yang berpotensi untuk pertumbuhan daun serta tumbuh dalam jarak rapat. Pertumbuhan cepat menyebar karena produksi biji sangat tinggi (>93.000 biji/pohon/tahun). Pengembangan tumbuhan legum ini tumbuh cepat akan berdampak pada perbaikan tingkat kesuburan tanah secara cepat pula. Selain itu tumbuhan ini mampu beradaptasi pada tanah yang miskin hara dan tahan terhadap kekeringan. Tingkat kesuburan tanah dipengaruhi beberapa faktor antara lain keanekaragaman mikroba tanah, faktor iklim seperti suhu, curah hujan, kelembaban, faktor nutrisi dan lingkungan, serta populasi mikroba yang merupakan indikator tingkat kesuburan tanah (Allen dan Allen, 1981).

Keberadaan bakteri penambat N bebas pada daerah perakaran tanaman menguntungkan karena dapat membantu mencukupi kebutuhan N tanaman tersebut. Hubungan antara bakteri penambat N seperti ini diduga juga terjadi pada

perakaran komba-komba (*Chromolaena odorata*). Chandrasekar and Gajanana (1996), melaporkan bahwa Biomassa komba-komba memiliki kandungan hara N 2.65 %, P 0.53 % dan K 1.9 % sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan organik yang potensial untuk perbaikan kesuburan tanah dan komba-komba sangat potensial untuk dikembangkan sebagai sumber pupuk organik dalam perbaikan sifat fisik dan kimia tanah. Tingginya kandungan N pada komba-komba (*Chromolaena odorata*) yang dapat tumbuh pada tanah yang miskin hara menguatkan dugaan adanya bakteri nonsimbiotik pemfiksasi N yang berasosiasi dengan akarnya.

Lingkungan rhizosfir yang sangat mempengaruhi kehidupan bakteri penambat N adalah ketersediaan senyawa karbon (C) yang dibutuhkan (Curl dan Bryan, 1985). Aktivitas mikroorganisme dalam rhizosfir dipengaruhi oleh eksudat yang ada pada rhizosfir (Bais dkk., 2006), kandungan eksudat akar inilah yang merupakan salah satu faktor pertumbuhan bagi mikroorganisme (Vlastimil dan Kunc, 1988).

Bakteri *Azospirillum sp.* adalah salah satu mikroorganisme yang dapat memfiksasi N dari udara yang bersifat mikroaerobik dan mampu berasosiasi dengan tanaman tingkat tinggi. Dalam proses fiksasi N atmosfer, bakteri *Azospirillum sp.* menambat N bebas dan mengubahnya menjadi sebuah jaringan yang kemudian melalui proses pelapukan, amonifikasi dan nitrifikasi akan memberikan sebagian nitrogen udara sebagai nitrogen yang tersedia bagi tanaman tingkat tinggi (Garner dkk., 1995)

Berdasarkan latar belakang perlu diadakan penelitian mengenai identifikasi bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* pada rhizosfer asal komba-komba (*Chromolaena odorata*). Apakah ada bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* yang terdapat pada

rhizosfer asal komba-komba (*Chromolaena odorata*.)

Tujuan dilaksanakan penelitian ini antara lain untuk mengetahui ada tidaknya bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* pada rhizosfer asal komba-komba (*Chromolaena odorata*).

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas Matematika dan IPA Institut Pertanian Bogor.

Sampel tanah diambil dari rhizosfer tanaman komba-komba pada daerah yang berbeda di Kecamatan Kambu, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara. Tanah rhizosfer diambil dari dua kelurahan yaitu Lalolara dan Mokoau, masing-masing daerah diambil 1 sampel.

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: Sekop, gunting, kantung sampel, aluminium foil, kertas label, parang, botol duran besar 2 buah, Gelas ukur, sudip, neraca analitik, timbangan digital, sendok plastik, tabung reaksi, pipet tetes, pemanas, pump, mikroskop, kaca objek, dispenser, magnet stiring, oven, cawan petri, jarum ose, batang sebar, mikro pipet, laminar flow, vortex mixer, Bunsen, tabung uril, keranjang, kertas bekas, kamera, buku, folpen.

Bahan–bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut: Asam malat, KOH, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, FeSO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, Sodium molidat, Bromtimol Blue, Agar, sukrosa, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaMO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, FeCl<sub>2</sub>, CaCO<sub>3</sub>, Garam fisiologis, garam mineral dan alkohol.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu

(1) Pengambilan Sampel Tanah Rhizosfer dan Akar Tanaman Komba-Komba,

Sampel tanah diambil dari rhizosfer tanaman komba-komba pada daerah yang berbeda di kecamatan kambu, kota kendari, sulawesi tenggara. Tanah rhizosfer diambil

di dua kelurahan yaitu Lalolara dan Mokoau dan masing-masing daerah diambil 1 sampel. Selanjutnya akar komba-komba tersebut di cabut dengan cara dipacul selanjutnya tanah yang melekat pada akar dibongkar kemudian dikompositkan dan dibawa ke laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas Matematika dan IPA Institut Pertanian Bogor untuk diisolasi dan diidentifikasi.

(2) Tahap Isolasi Bakteri,

Sampel tanah diisolasi dengan menggunakan media selektif, yaitu : media NFB untuk bakteri *Azospirillum* dan media LGI untuk bakteri *Azotobacter*. Pembuatan media dilakukan dengan menimbang semua bahan yang disediakan kemudian dilarutkan kedalam 500 ml air dengan menggunakan pengaduk atau magnet stirer yang disimpan diatas pemanas. Kemudian setelah bahannya larut diukur pHnya. Setelah itu media yang sudah jadi dinkubasi selama 20 menit.

Tahap pengerjaan sampel yaitu 10 gram tanah rhizosfer dan akar tanaman komba-komba yang akan diisolasi bakteri *Azospirillum*nya dilarutkan dalam 90 ml larutan fisiologis (larutan NaCl 0,85%), selanjutnya diencerkan secara serial sampai tingkat pengenceran 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> dan 10<sup>-5</sup>. Satu ml suspensi dari pengenceran 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> dan 10<sup>-5</sup> tanah rhizosfer dan akar dibiakkan ke dalam tabung reaksi yang mengandung 9 ml media NFB semi padat. Masing-masing pengenceran diulang sebanyak 5 kali kemudian biakan dinkubasi selama 4-7 hari dalam suhu kamar. Biakan yang menunjukkan adanya pelikel putih di goreskan pada media NFB padat yang mengandung 5 ml NH<sub>4</sub>Cl, 20 mg/l ekstrak agar dan congo red. Koloni yang menyerap warna merah kemudian dibiakan kembali ke media NFB semi padat. Kultur yang menunjukkan adanya pelikel dimurnikan pada media NFB padat tanpa bromtimoblue. Selanjutnya koloni kecil berwarna merah muda disimpan dalam agar miring untuk selanjutnya diidentifikasi.

### (3) Identifikasi Bakteri,

Sebanyak 1 gram sampel padat atau 1 ml sampel cair dimasukkan pada tabung reaksi berisi 9 ml garam fisiologis (pengenceran pertama  $10^{-1}$ ), pengenceran kemudian dilanjutkan dengan mengambil 1000 $\mu$ l larutan dari pengenceran sebelumnya ke tabung reaksi berisi 9 ml garam fisiologis berikutnya, tahap ini merupakan pengenceran kedua  $10^{-2}$ . Pengenceran dapat dilanjutkan dengan cara yang sama hingga tingkat pengenceran yang diinginkan. Sebanyak 1ml suspensi pada tiga tingkat pengenceran terakhir, masing-masing diinokulasikan ke dalam media NFB di dalam tabung. Biakan kemudian diinkubasi selama 4-72 jam, adanya pelikel atau cincin pada medium menunjukkan pertumbuhan *Azospirillum*. Kemudian tabung yang ada pellicle dimurnikan menggunakan media NFB + Congo red. Penentuan *Azospirillum* dilakukan lebih detail dengan pengamatan menggunakan mikroskop. Sel *Azospirillum* memiliki bentuk vibrioid, Gram negatif, memiliki tipe flagella polar.

Sebanyak 1 gram sampel padat atau 1 ml sampel cair dimasukkan pada tabung reaksi berisi 9 ml garam fisiologis (pengenceran pertama  $10^{-1}$ ), pengenceran kemudian dilanjutkan dengan mengambil 1000 $\mu$ l larutan dari pengenceran sebelumnya ke tabung reaksi berisi 9 ml garam fisiologis berikutnya, tahap ini merupakan pengenceran kedua  $10^{-2}$ .

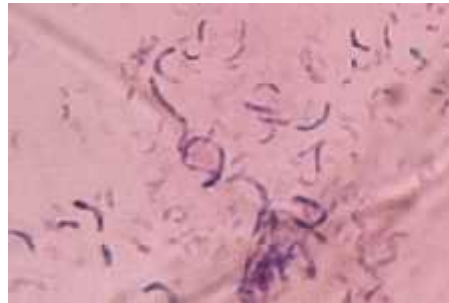
Pengenceran dapat dilanjutkan dengan cara yang sama hingga tingkat pengenceran yang diinginkan. Sebanyak 1ml suspensi pada tiga tingkat pengenceran terakhir, masing-masing diinokulasikan ke dalam media Sukrosa Garam Mineral di dalam tabung. Biakan kemudian diinkubasi selama 48-72 jam. Koloni yang muncul dipurifikasi kembali pada media LGI agar.

Pengamatan sel dilakukan dengan menggunakan mikroskop, koloni berbentuk batang pendek, batang dan oval. Sel bersifat gram negatif.

## HASIL PENELITIAN

### A. Hasil Pengamatan Morfologi Bakteri *Azospirillum*

Hasil isolasi dan purifikasi bakteri *Azospirillum* didapatkan 3 jenis koloni dengan kode M1, M3, L3. Isolat M1 memiliki bentuk koloni yang lengkung atau setengah spiral dan berwarna merah muda yang menunjukkan bahwa bakteri ini termasuk gram negatif (Gambar 2).



Gambar 2. Bakteri *Azospirillum* M1 pembesaran 1000x Hasil Analisis Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas Matematika Dan IPA IPB

Isolat M3, dengan hasil pengamatan bakteri berbentuk vibrinoid dan berwarna merah muda dan termasuk gram negatif (Gambar 3).



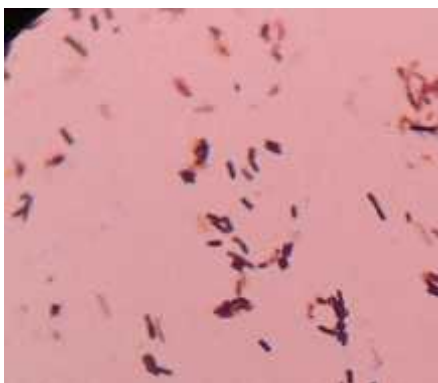
Gambar 3. Bakteri *Azospirillum* M3 pembesaran 1000x Hasil Analisis Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas Matematika Dan IPA IPB

Gambar 2, 3 dan 4 memperlihatkan bahwa isolat yang

berasal pada rhizosferasalkomba-komba (*Chromolaenaodorata*) dari kelurahan Mokoau dan Lalolara, bakteri *Azospirillum* memiliki bentuk koloni lengkung atau setengah spiral dan vibrinoid dan termasuk bakteri gram negatif hal ini sesuai dengan pendapat Haran dan Ansori (1992), yang bahwa *Azospirillum* mempunyai ciri berupa sel yang berbentuk setengah spiral yang padat dan bergetar dengan sebuah flagel polar sehingga bergerak secara berputar.

Bakteri ini adalah gram negatif dan mengandung butir-butir Poli- -hidroksibutirat.

Isolat L3, hasil pengamatan juga menunjukkan bentuk bakteri vibrinoid dan termasuk gram negatif (Gambar 4).



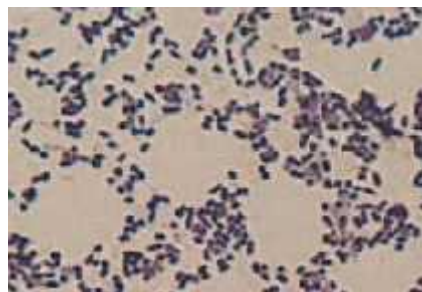
Gambar 4. Bakteri *Azospirillum*L3 pembesaran 1000x

## B. Hasil Pengamatan Morologis Bakteri *Azotobacter*

Hasil isolasi dan purifikasi bakteri *Azotobacter* didapatkan 4 jenis koloni dengan kode M1, M2, L1, L2. Isolat M1, dengan hasil pengamatan morfologis bakteri berbentuk kokus atau bulat, berwarna merah muda menunjukkan bahwa bakteri ini termasuk gram negatif (Gambar 5). Koloni bakteri memiliki pigmen hitam coklat yang tidak larut sehingga bakteri ini termasuk spesies *Azotobacterchroococum*. Hal ini sesuai dengan pendapat Rao, (1994) bahwa

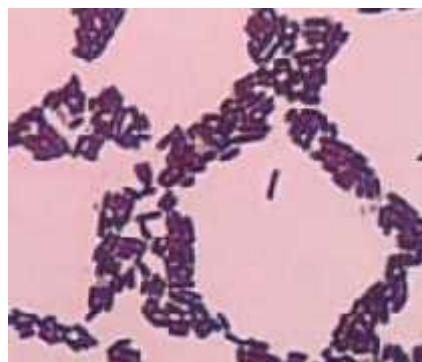
beberapa spesies dari genus *Azotobacter* antara lain *Azotobacterchroococum* mempunyai flagelperitrikha, lender sedang dan memiliki pigmen hitam coklat yang tidak larut

Isolat M2, dengan hasil pengamatan morfologis bakteri berbentuk batang, berwarna merah muda menunjukkan bahwa bakteri ini termasuk gram negatif (Gambar 6). Hal ini sesuai dengan pendapat Brock, dkk.(1994), mengemukakan bahwa Genus *Azotobacter* dicirikan dengan sel berbentuk batang, gram negatif,



Gambar 5. Bakteri *Azotobacter* M1 pembesaran 1000x

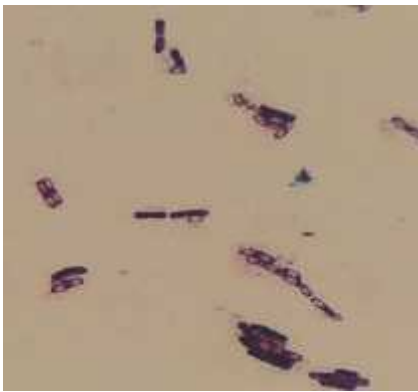
bersifat aerobik obligat dan mempunyai ukuran sel yang lebih panjang dari prokariot lainnya dengan diameter sel 2-4 µm atau lebih.



Gambar 6. Bakteri *Azotobacter* M2 pembesaran 1000x

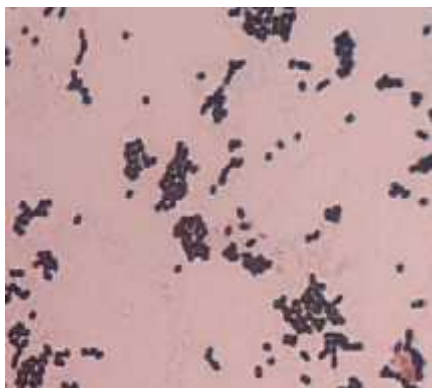
Isolat L1, hasil pengamatan juga menunjukkan bentuk bakteri batang dan terdapat kista dan termasuk gram negatif (Gambar 7). Hal ini sesuai dengan pendapat Brock, dkk., (1994), bakteri ini

memiliki struktur khusus yang disebut kista. Kista ini bersifat seperti endospora yakni tubuh berdinding tebal, sangat reaktif dan resisten, tahan terhadap proses pengeringan pemecahan mekanik, ultraviolet dan radiasi ionik. Menurut M.T. Madigan, dkk.,(1997) dalam Puspitasari, F.D., (2012), kista berfungsi untuk melindungi dari keadaan lingkungan yang ekstrim, misalnya kekeringan, sinar ultraviolet dan radiasi ion.



Gambar 7. Bakteri *Azotobacter* L1 pembesaran 1000x

Isolat L2, hasil pengamatan juga menunjukkan bentuk bakteri oval, bergerombol dan termasuk gram negatif (Gambar 8).



Gambar 8. Bakteri *Azotobacter* L2 pembesaran 1000x

Gambar 5, 6, 7 dan 8 memperlihatkan bahwa isolat yang berasal pada rhizosferasalkomba-komba

(*Chromolaenaodorata*) dari Kelurahan Mokoau dan Lalolara, bakteri *Azotobacter* memiliki koloni bakteri berbentuk oval, batang pendek, batang dan terdapat kista serta termasuk bakteri gram negatif. Hal ini sesuai dengan pendapat Brock, dkk.(1994), bahwa Genus *Azotobacter* dicirikan dengan sel berbentuk batang, gram negatif, bersifat aerobik obligat dan mempunyai ukuran sel yang lebih panjang dari prokariot lainnya dengan diameter sel 2-4  $\mu\text{m}$  atau lebih. Beberapa strain motil dengan flagelperitrikha. Pada media mengandung karbohidrat, bakteri ini membentuk kapsul yang berfungsi melindunginya dari lingkungan luar. Bakteri ini memiliki struktur khusus yang disebut kista. Kista ini bersifat seperti endospora yakni tubuh berdinding tebal, sangat reaktif dan resisten, tahan terhadap proses pengeringan pemecahan mekanik, ultraviolet dan radiasi ionik.

Warna isolat berbeda beda hal ini dipengaruhi oleh proses perwarnaan gram. Preparat ditambahkan safranin berwarna merah untuk memudahkan proses identifikasi sehingga gram negatif berwarna merah dan yang tidak berwarna mengambil warna kontras. Sesuai dengan pendapat yang dikemukakan oleh H.C.J. Gram, seorang histologist berkebangsaan Denmark pada tahun 1884, menyatakan bahwa prosedur pewarnaan gram dimulai dengan pemberian warna basa, Kristal violet. Larutan iodin yang kemudian ditambahkan menyebabkan semua bakteri terwarnai biru pada fase ini. Kemudian preparat diberi alkohol. Sel gram positif akan tetap mengikat senyawa Kristal violet-iodine, sehingga berwarna biru sedangkan gram negatif akan hilang warnanya oleh alkohol. Setelah itu ditambahkan safranin yang bewarna merah sehingga gram negatif, berwarna merah dan yang tidak berwarna akan



mengambil warna kontras, sedangkan gram positif berwarna ungu.

Tanaman komba-komba (*Chromolaenaodorata*), memiliki kandungan nitrogen (N) yang cukup tinggi karena pada rhizosfer tanaman ini terdapat bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* yang berfungsi sebagai penambat nitrogen yang sangat menguntungkan karena dapat mencukupi kebutuhan nitrogen tanaman tersebut. Hal ini sesuai dengan pendapat Fallik dkk., (1994) bahwa *Azospirillum* sp. merupakan bakteri yang tergolong sebagai *Rhizobacteriapemacu* pertumbuhan tanaman (*plantgrowthpromotingrhizobacteria*) yaitu bakteri tanaman yang dapat menghasilkan hormon tumbuh berupa auksin yang berfungsi memacu pertumbuhan akar dan rambut-rambut akar sehingga daerah serapan akar terhadap hara seperti N, P, K dan air.

## PENUTUP

### Kesimpulan

Hasil penelitian identifikasi bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* pada rhizosferasalkomba-komba (*Chromolaenaodorata*), ditemukan bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter*. Ciri-ciri morfologi bakteri *Azospirillum* berbentuk lengkung, vibrinoid dan termasuk bakteri gram negatif. Ciri morfologi bakteri *Azotobacter* berbentuk kokkus atau bulat, termasuk spesies *Azospirillumchroococum*, berbentuk batang, terdapat kista dan berbentuk oval serta termasuk bakteri gram negatif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Allen, O.N. and E.K. Allen. 1981. The Leguminosae. A source book of characteristics. Uses and Nodulation.: The University of Winconsin Press. Winconsin
- Anonim. 2002. *Azotobacter* Isolation. <http://www.geocities.com/WateroseTest/labs15.html>. (Diakses tanggal 28 Mey 2015).
- Bais, H.P., T.L. Weir, L.G. Perry, S. Gilroy and J.M. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57:33-66.
- Barea, J.M., M.J. Pozo, R. Azcón and C. Azcón-Aguilar. 2005. Microbial cooperation in the rhizosphere. *J. of Exp. Botany*, 56 (417) : 1761-1778.
- Brock T.D., dkk. 1994. *Biology of Microorganism*, seventh edition. Prentice – Hall. New Jersey.
- Curl, E dan T. Bryan. 1985. *The Rhizosphere*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg New York. Tokyo.
- Department of Natural Resources, Mines And Water. 2006. Siam Weed Declared no. 1. Natural Resources, Mines and Water, Pesr. Series, Queensland, Australia pp 1-4.
- Dompi, Mariam. 2006. Uji Beberapa Isolate *Azospirillum* sp Asal tanaman Komba-komba pada Pertumbuhan Tanaman Jagung. Universitas Haluoleo. Kendari (Skripsi, tidak dipublikasikan).
- FAO, 2006. Alien species: impacts on forests and forestry – a review. <http://www.fao.org/docrep/008/j6854e/jn854e00.htm>. 25 oktober 2007.
- Fallik E., Y. Okon, and M. Fischer. 1988. 1994. Growth response of maize to *Azospirillum* inoculation : effect of soil organic matter

- content, number of rhizosphere bacteria and timing of inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 21 : 147 – 153.
- Franche, C., K. Lindström and C. Elmerich. 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant Soil* 321:35-59.
- Garner, F.P, R.B. Pearce dan R.I. Mirchel. 1995. *Phyciology of Crop Plants*. The Iowa States University Press, Ames. Iowa.
- Gunarto, L., Lestari, Supadmo dan Marzuki. 2002. Dekomposisi jerami padi, inokulasi *Azospirillum* dan pengaruhnya terhadap efisiensi penggunaan pupuk P pada padi sawah. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. Volume 21 No. 10.
- Gram, H.C.J. 1884 dalam Al Hanif, M.S. 2009. *Pola Resistensi*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Halbeib CM, Ludden PW. 2000. Regulation of Biological Nitrogen Fixation. *J Nutr* 130:1081-1084.
- Hamdi, Y.A. 1982. Application of nitrogen-fixing system in soil improvement and management. Rome. Food and Agriculture Organization of The United Nation.
- Hanafiah, dan K. Ali. 2005. *Dasar-dasar Ilmu Tanah*. PT. Rajagrafindo Persada. Jakarta.
- Hartman A., dan J.I. Baldani. 2006. The Genus *Azospirillum*. Di dalam : Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E, editor. *The Prokaryotes, Proteobacteria: Alpha And Beta Subclasses*. Volume ke-5. Ed ke-3. Springer. New York.
- Hindersah R, Simamarta T. 2004. Rizobakteri *Azotobacter* dalam Meningkatkan Kesehatan Tanah. *Naturindones* 5:127-133.
- Haran, S dan Ansori, N (Eds). 1992. *Bioteknologi pertanian bogor*. pusat antar universitas. bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ladha, J. K. , T. George dan B.B. Bohlool. 1992. *Biological Nitrogen Fixation for Sustainable Agriculture*. London. Kluwer Academic (Publishers).
- Martinez-Romero E. 2006. Dinitrogen-fixing prokaryotes. Di dalam: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E, editor. *The Prokaryotes. Ecophysiology and Biochemistry*. Volume ke-2. Ed ke-3. New York: Springer. hlm 793–817.
- Madigan, M.T. 1997 dalam Puspitasari F.D. 2012. *Isolasi Karakteristik Bakteri Aerob Proteolitik dan Tangki Septik*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). Surabaya.
- Prawiradiputra, B.R. 2007. Kirinyu (*Chromolaena odorata* (L) R.M. King dan H. Robinson): Gulma padang rumput yang merugikan. *Bulletin Ilmu Peternakan Indonesia ( WARTAZOA)*, Volume 17 No. 1.
- Rao, N.B., dan Subba. 1994. *Mikroorganisme Tanah Dan Pertumbuhan Tanaman*. Terjemahan oleh Herawati Susilo UI- Pres, Jakarta.



- Razie F., dan I. Anas. 2005. Potensi *Azotobacterspp.* (dari lahan pasang surut Kalimantan Selatan) dalam menghasilkan indole acetic acid (IAA). *J TanahLingkungan* 7: 35-39.
- Regulation. Oikos no. 36. Copenhagen
- Simarmata, T., Hindersah, R. 2004. Potensi Rizobakteri *Azotobacter* dalam Meningkatkan Kesehatan Tanah. *Jurnal Natur Indonesia* 5(2): 127-133.
- Sipayung, A., R.D. De Chenon and P.S. Sudharto. 1991. Observations on *Chromolaenaodorata (L.)* R.M. King and H. Robinson in Indonesia. Second International Workshop on the Biological Control and Management of *Chromolaenaodorata*. Biotrop, Bogor.
- Sutanto, R. 2002. Penerapan pertanian organik, kanisius. Yogyakarta.
- Tejera N, Lluch C, Martinez-Toledo MV, Lopez JG. 2005. Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere. *Plant Soil* 270: 223–232.
- Vlastimil, V dan F. Kunc. 1988. Soil Microbial Associations. Prague. Institut of Microbiology of the Czechoslovakia Academy of Sciences. Czechoslovakia.
- Wedastri, S. 2002. Isolasi dan Seleksi *Azotobacter spp.* Penghasil Faktor Tumbuh dan Penambat Nitrogen dari Tanah Masam. *J. Ilmu Tanah dan lingkungan* 3: 45-51
- Yadav, A.S. and Tripathi. 1981. Population Dynamic Of The Rudel Weed *Eupatorium Odoratum* And Its Natural