

**SELEKSI BIAK *RHIZOBIUM* DARI GUNUNG HALIMUN TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN *Pterocarpus indicus* DI RUMAH KACA**

***SELECTION OF RHIZOBIUM STRAIN FROM GUNUNG HALIMUN ON THE GROWTH OF *Pterocarpus indicus* IN GREENHOUSE***

**Sri Purwaningsih**

Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi-LIPI, Bogor

**ABSTRAK**

Penelitian tentang seleksi biak *Rhizobium* dari Gunung Halimun terhadap pertumbuhan *Pterocarpus indicus* di rumah kaca telah dilakukan, yang bertujuan untuk mendapatkan biak *Rhizobium* yang efektif dan efisien dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman *P. indicus*. Penelitian dilakukan di rumah kaca Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, dengan menggunakan tanah dalam pot-pot plastik. Biak *Rhizobium* yang digunakan terdiri dari: Nomor 2 GH, 3 GH, 6 GH, 9 GH, 10 GH, 11 GH, 12 GH, 15 GH, 16 GH, 17 GH, 18 GH, 19 GH, 20 GH. Sebagai kontrol adalah tanaman tanpa diinokulasi dan tanpa dipupuk N ( $K_1$ ), dan tanaman tanpa diinokulasi dan dipupuk N setara dengan 100 kg/ha ( $K_2$ ). Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 3 kali ulangan untuk tiap perlakuan. Pengukuran parameter tinggi tanaman dan jumlah daun dilakukan pada minggu ke 4, 8, 12 dan 16 setelah tanam. Tanaman dipanen pada umur 120 hari. Parameter yang diamati meliputi bobot kering tanaman bagian atas, akar dan bintil akar. Hasil percobaan menunjukkan bahwa biak No 16 GH memberikan hasil pertumbuhan yang lebih baik terhadap tanaman *P. indicus*.

**ABSTRACT**

*The research on selection of Rhizobium strain from Gunung Halimun on the growth of *Pterocarpus indicus* in greenhouse was performed. The study was conducted in the order to know the selection of Rhizobium strain from Gunung Halimun on the growth of *Pterocarpus indicus* in greenhouse. The purpose of the study was to get Rhizobium strain that effective and efficient to increase the growth of *Pterocarpus indicus* plant. The experiment was carried out in a greenhouse at Microbiology Division, Research Centre for Biology-LIPI, by using soils in plastic pot. The Rhizobium strains used as treatments were: Number of 2 GH, 3 GH, 6 GH, 9 GH, 10 GH, 11 GH, 12 GH, 15 GH, 16 GH, 17 GH, 18 GH, 19 GH, 20 GH. The controls were uninoculated and without N fertilizer ( $K_1$ ), and uninoculated with N fertilizer equal to 100 kg/ha ( $K_2$ ). The experiment was designed with a Completely Randomized Design with three replications for each treatment. The growth measurement included plant height and number of leaves for 4, 8, 12 and 16 weeks after planting. The plants were harvested at 120 days after planting. The parameters of investigation were the dry weight of canopy, roots, root nodules. The results showed that the number of 16 GH strain has given the best result on the growth of *P. indicus*.*

---

Kata kunci: Biak *Rhizobium*, *Pterocarpus indicus*

Key words: *Rhizobium* Strain, *Pterocarpus indicus*

## PENDAHULUAN

Taman Nasional Gunung Halimun merupakan kawasan hutan tropik terluas di pulau Jawa, yang ditetapkan sebagai kawasan konservasi, karena mempunyai arti penting dari segi biodiversitas dan dari segi perlindungan lingkungan. Upaya konservasi adalah untuk menjaga kelestarian kekayaan hayati yang ada didalamnya, terutama vegetasi hutannya. Vegetasi hutan di kawasan ini sangat bervariasi, baik berdasarkan ketinggian maupun habitat setempat, sehingga perlu dikelola dengan tepat dan ditingkatkan kesuburan tanahnya. Salah satu usaha untuk meningkatkan kesuburan tanah adalah dengan inokulasi jasad renik (salah satunya adalah bakteri *Rhizobium*). Bakteri ini bersimbiosis dengan tanaman leguminosae yang mempunyai kemampuan menambat nitrogen yang melimpah di udara, hasilambatannya dapat dimanfaatkan oleh tanaman untuk tumbuh dan berkembang (Allen & Allen, 1981). Disamping itu bakteri *Rhizobium* mempunyai dampak positif terhadap sifat fisik dan kimia tanah, serta tidak menyebabkan pencemaran lingkungan (Alexander, 1977).

*P. indicus* merupakan tanaman yang mempunyai potensi untuk dikembangkan di daerah kawasan Gunung Halimun sebagai tanaman penghijauan, mengingat tanaman tersebut adalah merupakan tanaman yang tergolong tumbuh cepat, mempunyai perakaran yang luas dan mampu beradaptasi pada tanah yang miskin unsur hara, serta merupakan tanaman penghasil kayu yang mempunyai kualitas cukup baik. Selain itu tanaman ini mampu bersimbiosis dengan bakteri *Rhizobium* yang ada dalam bintil akar, dengan adanya simbiosis ini menyebabkan tanaman dapat memenuhi kebutuhan unsur N melalui penambatan secara hayati, sehingga tidak lagi tergantug pada pupuk N buatan (Allen & Allen, 1981). Namun dalam kehidupannya bakteri tersebut sangat dipengaruhi oleh banyak faktor, antara lain pH tanah, pH yang terlalu rendah atau terlalu tinggi akan mengganggu kehidupan bakteri tersebut (Chong *et al*, 1987), selain itu jenis tanah dan tanaman yang diinokulasi, serta kompetisi antara mikroba yang diberikan dengan mikroba asli tanah juga sangat berpengaruh (Waksman, 1952; Skerman, 1977). Kerjasama antara mikroba yang diinokulasikan dengan unsur-unsur hara dalam tanah sangat diperlukan dalam pertumbuhan *P. indicus* untuk

mencapai pertumbuhan yang optimum. Oleh karena itu perlu dilakukan upaya untuk mendapatkan biak *Rhizobium* yang efektif dan efisien serta mampu beradaptasi dengan lingkungan tempat tumbuhnya, sehingga diperoleh simbiosis yang optimal. Penelitian terdahulu telah diperoleh beberapa isolat yang berasal dari tanah Gunung Halimun. Isolat-isolat tersebut telah dikarakterisasi, dan dalam penelitian ini diinokulasikan kedalam tanaman *P. indicus* dengan harapan akan diketahui isolat yang efektif dan efisien dalam menambat N, sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman tersebut. Isolat yang efektif dapat digunakan sebagai pupuk hayati di kawasan Gunung Halimun. Tindakan penggunaan isolat lokal yang terseleksi akan memberikan peluang keberhasilan yang lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan isolat yang berasal dari lokasi lain (Iswandi. dkk, 1998).

Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan biak *Rhizobium* yang efektif dan efisien terhadap pertumbuhan tanaman *P. indicus*, yang mana biak tersebut dapat dikembangkan, khususnya di daerah gunung Halimun untuk meningkatkan kesuburan tanah.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di rumah kaca Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, dengan menggunakan tanah dari Muara, Bogor. Tanah tersebut dikeringkan dan diayak, kemudian dimasukkan didalam pot-pot plastik berukuran 0,5 galon. Masing-masing seberat 2 kg.

### Pembuatan Inokulan *Rhizobium*

Isolat yang digunakan dalam percobaan ini merupakan hasil isolasi dari tanah TN.GH, yang telah dimurnikan dan dikarakterisasi. Isolat tersebut diremajakan ke tabung reaksi besar yang berisi media YEMA miring (Vincent, 1970) sebanyak 25 ml, dan diinkubasikan selama 7 hari, kemudian masing-masing dipindahkan ke media YEMA cair (250 ml) dan digojog dengan kecepatan 150 rpm selama 5 hari. Bakteri pada media cair mempunyai populasi sekitar  $10^9/ml$  (sebagai inokulan).

### Percobaan Rumah Kaca

Ada 13 nomor biak yang digunakan dalam percobaan ini, (Tabel 1).

Tabel 1. Nomor Biak yang Digunakan dalam Percobaan

No biak	Deskripsi		
	Warna	Pertumbuhan	Kelompok
1. 2 GH	Putih seperti susu	Lebat	Tumbuh cepat
2. 3 GH	Putih seperti susu	Lebat	Tumbuh cepat
3. 6 GH	Putih seperti susu	Lebat	Tumbuh cepat
4. 9 GH	Putih seperti susu	Sangat lebat	Tumbuh cepat
5. 10 GH	Putih seperti susu	Sangat lebat	Tumbuh cepat
6. 11 GH	Putih seperti susu	Sangat lebat	Tumbuh cepat
7. 12 GH	Kekuningan	Lebat	Tumbuh cepat
8. 15 GH	Kekuningan	Lebat	Tumbuh cepat
9. 16 GH	Kekuningan	Lebat	Tumbuh cepat
10. 17 GH	Kekuningan	Sangat lebat	Tumbuh cepat
11. 18 GH	Kekuningan	Sangat lebat	Tumbuh cepat
12. 19 GH	Kekuningan	Sangat lebat	Tumbuh cepat
13. 20 GH	Kekuningan	Sangat lebat	Tumbuh cepat

Ke 13 biak ini merupakan hasil isolasi dari tanah Gunung Halimun yang telah dikarakterisasi. Sebagai kontrol adalah tanaman tanpa diinokulasi dan tanpa dipupuk N ( $K_1$ ), dan tanaman tanpa diinokulasi dan dipupuk N setara dengan 100 kg/ha ( $K_2$ ). Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 3 kali ulangan untuk tiap perlakuan. Biji *P. indicus* dipilih yang utuh dan sehat dengan daya kecambah 90%, dicuci dengan alkohol 90% dan dibilas dengan aquadest steril berulang-ulang. Biji tersebut direndam dengan air panas (70° C) selama 1 jam, kemudian dikecambahkan dalam petridish yang telah berisi kertas saring dan aquadest steril, dan diinkubasikan sampai berkecambah (5 hari). Kecambah dimasukkan kedalam erlenmeyer yang telah berisi inokulan

*Rhizobium*, didiamkan selama 2 jam, kemudian ditanam. Untuk menjaga kelembaban (24%) setiap hari tanaman disiram dengan air hujan.

Pengamatan tinggi tanaman dan jumlah daun dilakukan pada minggu ke 4,8,12 dan 16 setelah tanam. Tanaman dipanen pada umur 120 hari, parameter yang diamati meliputi bobot kering tanaman bagian atas, akar dan bintil akar.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisa diketahui bahwa pH tanah 5,85. Dari hasil pengukuran ini dapat dikatakan bahwa pH tanah yang digunakan dalam percobaan ini cenderung asam.

Tabel 2. Nilai Rata-rata Tinggi Tanaman *Pterocarpus Indicus* yang Diinokulasi dengan Biak-biak *Rhizobium*

Perlakuan	Tinggi tanaman (minggu) (cm)			
	4	8	12	16
2 GH	9,66 a	11,00 a	11,16 a	11,66 a
3 GH	11,33 b	13,16 b	14,33 cd	15,00 bc
6 GH	11,58 bc	13,16 b	14,66 cd	15,66 bcde
9 GH	11,25 b	13,33 b	14,33 cd	16,33 bcdef
10 GH	9,66 a	13,25 b	13,83 bc	15,33 bcd
11 GH	12,66 bc	15,66 cd	16,66 gh	18,00 cdefg
12 GH	12,66 bc	14,50 bc	13,33 b	17,50 cdefg
15 GH	12,00 bc	14,16 bc	15,00 de	13,66 ab
16 GH	11,33 b	13,83 b	15,33 ef	17,00 cdef
17 GH	11,58 bc	14,00 b	16,00 fg	18,33 defgh
18 GH	12,58 bc	17,66 ef	18,83 jk	21,66 i
19 GH	12,58 bc	16,33 de	17,50 hi	19,66 fghi
20 GH	12,83 c	16,83 def	18,00 ij	20,66 ghi
$K_1$ (tanpa N)	12,25 bc	16,66 def	18,66 jk	18,83 ghi
$K_2$ (+N)	12,16 bc	17,66 ef	21,16 l	21,33 hi
BNT 5%	1,46	1,60	0,88	3,21

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji BNT.

Tabel 3. Nilai Rata-rata Jumlah Daun Tanaman *P. Indicus* yang Diinokulasi dengan Biak-biak *Rhizobium*

Perlakuan	Jumlah daun (minggu)			
	4	8	12	16
2 GH	5,00 a	7,66 abc	3,33 a	3,00 a
3 GH	5,33 ab	8,66 c	6,00 b	5,00 c
6 GH	5,33 ab	7,66 abc	5,00 ab	4,33 abc
9 GH	5,66 b	7,66 abc	5,00 ab	4,66 bc
10 GH	5,33 ab	6,33 a	5,66 b	4,33 abc
11 GH	5,33 ab	7,33 abc	4,66 ab	4,66 bc
12 GH	5,66 b	7,00 ab	4,66 ab	4,00 abc
15 GH	5,00 a	7,33 abc	4,00 ab	4,33 abc
16 GH	5,33 a	8,66 c	5,66 b	5,33 c
17 GH	5,00 a	7,66 abc	5,00 ab	4,00 abc
18 GH	5,00 a	8,00 bc	5,33 ab	4,33 abc
19 GH	5,00 a	7,33 abc	4,66 ab	3,33 abc
20 GH	5,00 a	8,33 bc	5,00 ab	4,00 abc
K <sub>1</sub> (tanpa N)	5,33 ab	8,33 bc	5,33 ab	4,33 abc
K <sub>2</sub> (+N)	5,00 a	8,33 bc	5,66 b	4 abc
BNT 5%	0,65	1,38	2,16	1,56

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji BNT.

Hasil percobaan dapat dilihat pada Tabel 2,3 dan 4 yang menunjukkan bahwa biak-biak *Rhizobium* yang berasal dari tanah G. Halimun yang diinokulasikan terhadap tanaman *P. indicus* mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dan mampu membentuk bintil akar. Hal ini ditunjukkan dengan hasil analisa statistik yang menunjukkan perbedaan yang nyata pada semua parameter yang diamati, namun tanaman yang tidak diinokulasi dan tidak dipupuk N

(K<sub>1</sub>), dan tanaman tanpa diinokulasi dan dipupuk N (K<sub>2</sub>) juga mampu membentuk bintil akar, hal ini menunjukkan bahwa tanah yang digunakan dalam percobaan ini masih mengandung bakteri *Rhizobium* asli (indigenous) yang mampu aktif dan mampu menambat nitrogen dari udara, yang ditandai dengan terbentuknya bintil akar.

Tabel 4. Nilai Rata-rata Bobot Kering Tanaman Bagian Atas (TBA), Akar (BKA) dan Bobot Kering Bintil (BKB) Tanaman *P. Indicus* yang Diinokulasi dengan Biak-Biak *Rhizobium*

Perlakuan	TBA (g)	BKA (g)	BKB (mg)
2GH	2,68 e	0,81 ab	11,2 ab
3GH	2,48 e	0,75 a	17,1 abc
6GH	1,66 bc	1,54 d	20,5 bc
9GH	2,00 cd	0,97 ab	6,1 a
10GH	1,70 bc	0,71 a	9,2 ab
11GH	1,77 bc	0,93 ab	15,5 abc
12GH	1,68 bc	0,83 ab	20,6 bc
15GH	2,38 de	1,10 bc	21,2 bc
16GH	3,16 f	1,49 d	26,0 c
17GH	1,85 bc	0,67 a	19,7 bc
18GH	1,91 c	0,82 ab	15,6 abc
19GH	1,77 bc	1,12 bc	9,4 ab
20 GH	1,99 cd	1,36 cd	13,8 abc
K <sub>1</sub> (tanpa N)	1,23 a	0,83 ab	5,9 a
K <sub>2</sub> (+N)	1,45 ab	0,97 ab	11,7 ab
BNT 5%	0,40	0,33	13,2

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% uji BNT.

Tanaman yang diinokulasi dengan biak-biak *Rhizobium* memberikan hasil yang bervariasi pada semua parameter yang diamati. Tanaman yang memberikan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman kontrol tanpa N ( $K_1$ ), menunjukkan bahwa inokulan yang diberikan mempunyai pengaruh yang positif terhadap pertumbuhan, yang berarti bahwa inokulan tersebut merupakan inokulan yang efektif dan efisien dalam menambat N udara, sehingga hasilambatannya dapat digunakan oleh tanaman untuk pertumbuhannya, sedangkan yang memberikan hasil yang lebih rendah dari tanaman kontrol tanpa ( $K_1$ ) merupakan inokulan yang tidak efektif, sehingga tidak mampu bersaing dengan mikroba asli yang ada didalam tanah, yang pada akhirnya justru menjadi beban terhadap tanaman yang diinokulasi. Inokulasi akan berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan apabila biak *Rhizobium* yang diinokulasikan merupakan biak yang efektif, efisien dan mampu bersaing dengan bakteri yang ada didalam tanah, serta mampu beradaptasi dengan lingkungan, selain itu kecocokan dengan tanaman inang/diinokulasi, kandungan unsur hara dalam tanah juga mempengaruhi keberhasilan suatu tindakan inokulasi (Barbara & Winston, 1986). Disamping itu apabila biak *Rhizobium* yang diinokulasikan tidak dapat membentuk bintil akar yang efektif akan merupakan beban, sehingga bersifat parasit bagi tanaman inang (Usman, 1983). Sedangkan Surowinoto, 1977 mengatakan

bahwa inokulasi bakteri *Rhizobium* dapat berpengaruh negatif yang berakibat menurunnya hasil, karena adanya bakteri justru menjadi beban bagi tanaman.

Dilihat dari masing-masing parameter yang diamati menunjukkan bahwa untuk tinggi tanaman nilai tertinggi pada tanaman yang diinokulasi dengan biak No 20 GH (pada umur 4 minggu) mengalami peningkatan sebesar 4,73%, dan dengan biak No 18 GH (pada umur 8, 12 dan 16 minggu) masing-masing mengalami peningkatan sebesar 6%; 1%; dan 15,02%. Untuk jumlah daun nilai tertinggi pada tanaman yang diinokulasi dengan biak No 9 GH dan 12 GH (pada umur 4 minggu), mengalami peningkatan sebesar 6%, dan biak No 3 GH dan 16 GH (pada umur 8 minggu), mengalami peningkatan sebesar 3,96%, biak No 3 GH (pada umur 12 minggu) mengalami peningkatan sebesar 12,57%, serta dengan biak No 16 GH (pada umur 16 minggu), mengalami peningkatan sebesar 23,09%. Untuk bobot kering tanaman bagian atas dan bintil akar nilai tertinggi pada tanaman yang diinokulasi dengan biak No 16 GH, mengalami peningkatan sebesar 156,91% dan 340,67%, sedangkan untuk bobot kering akar nilai tertinggi pada tanaman yang diinokulasi dengan biak No 6 GH, mengalami peningkatan sebesar 85,54%, hasil prosentase ini kesemuanya dibandingkan dengan tanaman yang tanpa diinokulasi ( $K_1$ ). Untuk tinggi tanaman, pengukuran pada minggu ke 4 sampai minggu ke 16 semuanya mengalami peningkatan (Tabel 5)

Tabel 5. Prosentase Peningkatan Hasil Pertumbuhan Tanaman *P. Indicus* yang Diinokulasi dengan Biak-biak *Rhizobium*

Parameter	No biak	% peningkatan
Tinggi tanaman (4 minggu)	20 GH	4,73
(8 minggu)	18 GH	6,00
(12 minggu)	18 GH	1,00
(16 minggu)	18 GH	15,02
Jumlah daun (4 minggu)	9 GH & 12 GH	6,00
(8 minggu)	3 GH & 16 GH	3,96
(12 minggu)	3 GH	12,57
(16 minggu)	16 GH	23,09
TBA (16 minggu)	16 GH	156,91
Akar (16 minggu)	6 GH	85,54
Bintil akar (16 minggu)	16 GH	340,67

% Peningkatan =  $((K_n - K_1) : K_1) \times 100\%$

Keterangan:  $K_n$  = pengukuran hasil tanaman yang diinokulasi.  $K_1$  = pengukuran hasil tanaman tanpa diinokulasi

Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan tanaman termasuk baik, sedangkan untuk jumlah daun, penghitungan dari minggu ke 4 sampai ke 16 rata-rata mengalami penurunan, karena daun mengalami warna kekuningan kemudian rontok.

Dari keseluruhan parameter yang diamati menunjukkan bahwa hasilnya masih bervariasi, untuk parameter bobot kering akar beberapa isolat seperti No 2 GH, 3 GH, 10 GH, 17 GH dan 18 GH hasilnya lebih rendah dibandingkan dengan tanaman kontrol tanpa N ( $K_1$ ), dan untuk

bobot kering bintil akar biak No 2 GH, 3 GH, 10 GH, 17 GH dan 18 GH juga hasilnya lebih rendah dibandingkan dengan tanaman kontrol tanpa N ( $K_1$ ).

Hasil yang berbeda menunjukkan bahwa biak-biak yang digunakan sebagai inokulan memerlukan waktu penyesuaian pada habitat yang baru. Setiap biak mempunyai kemampuan dalam penyesuaian serta kemampuan bersaing dengan mikroba yang ada didalam tanah. Apabila biak yang diinokulasikan efektif dan mampu bersaing dengan mikroba yang ada didalam tanah, akan ditandai dengan meningkatnya pertumbuhan tanaman dan meningkatnya produksi panen. Seperti biak No 16 GH pada parameter bobot kering tanaman bagian atas menunjukkan hasil yang paling tinggi, hal ini berarti bahwa biak yang diinokulasikan memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan tanaman. Menurut Barea *et. al.*, 1975 yang menyatakan bahwa bakteri yang diberikan pada tanah akan berkompetisi dengan mikroba lainnya untuk dapat hidup dan menempati daerah perakaran. Kompetisi merupakan faktor yang paling kritis yang menghambat kesuksesan inokulasi *Rhizobium*, kompetisi tidak hanya ada pada *Rhizobium*, namun ada pada semua mikroba dalam kaitannya dengan ekologi mikroba (Saraswati dan Susilowati, 1999). Perlakuan yang berpengaruh positif menunjukkan bahwa bakteri yang diberikan kedalam tanah sebagai inokulan mampu mempertahankan jumlah populasinya dan mampu beradaptasi dengan lingkungan serta mampu bersaing dengan mikroba yang ada didalam tanah, selain itu mikroba tersebut efektif dan mempunyai kesesuaian terhadap tanaman inangnya. Seperti yang dikatakan oleh Sumarno dan Harnoto (1983) bahwa inokulasi akan berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan hasil apabila inokulan yang diberikan mampu bersaing dengan mikroba asli tanah dan inokulan tersebut merupakan inokulan yang efektif dan efisien terhadap tanaman, serta mempunyai keserasian dengan tanaman inangnya.

### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa inokulasi *Rhizobium* berpengaruh positif terhadap pertumbuhan tanaman *P. indicus*. Biak Nomor 16 GH memberikan hasil yang paling baik terhadap pertumbuhan tanaman tersebut, sehingga biak ini dapat dimanfaatkan sebagai pupuk hayati dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman *P. indicus* yang dapat dikembangkan di kawasan Gunung Halimun.

### DAFTAR PUSTAKA

- Allen. O. N and E. K. Allen, 1981. The Leguminosae. The University of Wisconsin Press. Medison. 812 p.
- Alexander. M, 1977. Soil Microbiology. Second edition. John Wiley and Sons. Inc. New York. 472 p.
- Barbara. J.K and J.B. Winston, 1986. Identification of *Bradyrhizobium japonicum* nodule Isolates from Wisconsin Soybean Farm. *Applied and Environ Microbiol.* p: 487-492.
- Barea. J.M, R. Azcon and D.S. Hyman, 1975. Possible Synergistic Interaction between Endogene and Phosphate Solubilizing in Low Phosphate Soils Endomycorrhizas. *Proceeding of Symposium Endomycorrhizaz.* p: 409-417.
- Chong.K., J.C. Wynne, G.H. Elkan & T.J. Schneeweis, 1887. Effect of soil acidity and aluminium content on *Rhizobium* inoculation, growth and nitrogen fixation of Peanut and other grain legumes. *Trop. Agric (Trinidad).* 64(2): 97-104.
- Iswandi. A., A. Widyastuti, A.A.I.Kesumadewi dan Dajakirana, 1998. Mikroba Penambat Nitrogen dan Pelarut Fosfat dari Rhizosfer Padi dan Tanah Rawa Gambut Kawasan PLG Satu Juta Hektar Kalimantan Tengah. *Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan PERMI. Bandang Lampung.* h: 582-591.
- Saraswati. R dan D.. Susilowati, 1999. *Rhizobium* dan Pemanfaatannya sebagai Pupuk Hayati. Seminar Sehari Workshop Peranan Culture Collection dan Preservasi Mikroorganisme. Jurusan FMIPA UI. Jakarta 8-11 Maret 1999. 13 h
- Skerman..P.J, 1977. Tropical Forage Legumes. F.A.O of the Uno. Rome. 609 p.
- Sumarno dan Harnoto, 1983. Kedelai dan cara Bercocok Tanamnya. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. *Bull. Tehnik.* No 16. 63 h.
- Surowinoto. S, 1977. Respon kedelai Clark 63 r.j terhadap pemupukan nitrogen. Thesis M.S. Fakultas Pasca Sarjana, IPB, Bogor.
- Usman. R, 1983. Penelitian Mengenai Isolasi Media Pembiakan serta Metode Pengelompokan Species *Rhizobium*. Disertasi Univ. Padjadjaran, Bandung.
- Vincent. J.M, 1970. A Manual for the Practical study of the Root Nodule bacteria. International Biological Programme. London. Handbook No. 15 164 p.
- Waksman. S.A, 1952. Soil Microbiology. John Willey and Sons. Inc. New York. London. 345 p.