

Keanekaragaman Bakteri Rizosfer Pemacu Pertumbuhan Tanaman (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria/PGPR*) selama Pertumbuhan Ubi Jalar Cilembu (*Ipomoea batatas L var. Rancing*)

Rizki Amelia Nst^{1, a)} dan Pingkan Aditiawati^{2, b)}

¹⁾Program Studi Magister Bioteknologi, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung

²⁾Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung
Jl. Ganesha no. 10 Bandung, Indonesia, 40132

e-mail : rizkiamelianasution@yahoo.co.id

Abstrak

Suatu inti atom yang tidak stabil akan segera meluruh untuk mencapai kestabilan. Proses peluruhan ini dikarakterisasi oleh laju peluruhan yang berkaitan dengan waktu paruh dari suatu inti. Terdapat tiga buah peluruhan radioaktif yang dikenal, yaitu peluruhan alfa, peluruhan beta dan peluruhan gamma. Peluruhan alfa terjadi ketika partikel alpha ($^4\text{He}_2$) dilepaskan dari suatu inti dengan “menembus” potensial Coulomb berdasarkan efek terobosan. Pada makalah ini, kami akan menganalisa karakteristik dari inti yang melakukan peluruhan alfa dengan menggunakan metoda transfer matriks.

Kata-kata kunci: Peluruhan alfa, metoda transfer matriks, waktu paruh

PENDAHULUAN

Ubi Cilembu merupakan ubi jalar varietas unggul yang sangat dikenal oleh masyarakat karena keunikan dan kekhasan dibandingkan dengan ubi jalar pada umumnya. Ubi Cilembu memiliki tingkat kemanisan di atas rata-rata ubi jalar pada umumnya dan ubi Cilembu yang di tanam di daerah Cilembu memiliki kualitas yang lebih maksimal dibandingkan dengan ubi cilembu yang di tanam di luar cilembu seperti Jatinangor.

Rizosfer merupakan daerah disekitar perakaran tanaman yang mendukung perkembangan dan aktivitas diversitas komunitas mikroba termasuk kemampuan dalam mendukung pertumbuhan tanaman. Rizosfer juga merupakan daerah yang dekat dengan perakaran dan tersedia di dalamnya gula sederhana dan asam amino untuk kelangsungan hidup mikroorganisme. Komponen-komponen yang terdapat pada rizosfer secara ekologi berkontribusi terhadap berbagai macam sifat dan interaksi di dalamnya. Secara ekologi komponen-komponen rizosfer meliputi tanaman, tanah, mikroorganisme, nematoda dan protozoa. Bakteri merupakan mikroorganisme yang paling melimpah di rizosfer, bakteri bertindak sebagai perantara siklus biogeokimia, mendukung perolehan nutrisi dan perlindungan terhadap tanaman inang.

Aktivitas bakteri rizosfer juga dipengaruhi oleh usia tanaman dan genotif seperti pada penelitian Joana M dkk (2013) yang menyatakan bahwa komunitas bakteri pada umbi rizosfer tanaman ubi jalar dipengaruhi oleh usia dan genotif tanaman. Selain itu penelitian lain yang terkait dengan perubahan komunitas bakteri rizosfer selama pertumbuhan kacang kedelai pada perkebunan (Akifumi S dkk, 2014). Dalam penelitian Farzana Y (2009) telah mengkarakterisasi kemampuan isolat bakteri *Plant-growth Promoting Rhizobacteria* dari rizosfer ubi jalar.

Pengetahuan tentang diversitas, distribusi dan kelimpahan bakteri rizosfer pada ubi jalar varietas rancing yang di tanam pada lokasi yang berbeda sangat ditentukan pada sifat ekologi mikroorganisme. Sebagaimana telah dilaporkan beberapa faktor lain yang mempengaruhi komposisi komunitas mikroba selain variasi spasial, tipe tanah, nematoda dan vegetasi adalah faktor abiotik dan biotik tanah seperti pH, salinitas dan kesuburan tanah. Memahami diversitas bakteri rizosfer dan interaksinya terhadap peran bakteri terhadap perkembangan tanaman sangat penting untuk memperbaiki peningkatan produksi hasil pertanian.

BAHAN DAN METODE

Lokasi penelitian

Lokasi penelitian merupakan lokasi pengambilan sampel tanah rizosfer ubi jalar cilembu (LCI). Pengambilan sampel tanah rizosfer dilakukan sebanyak lima kali dengan rentang waktu satu bulan (0-4 Bulan).

Isolasi dan identifikasi bakteri rizosfer dari akar ubi jalar

Tanah rizosfer sebanyak 1 gram di masukkan ke dalam larutan fisiologis 0,85% 9 ml. Satu (1) ml larutan fisiologis dengan tanah yang sudah di suspensi atau diencerkan sebanyak 6 kali pengenceran. 0.1 ml di masukkan ke dalam media NA cawan petridisk dan di spread menggunakan batang L. Setelah 24-48 jam inkubasi koloni isolat bakteri yang dihasilkan di uji makroskopis dan mikroskopis.

Pengukuran indeks keragaman, keseragaman dan dominansi

Keanekaragaman bakteri rizosfer pada ubi jalar varietas rancing yang diperoleh di hitung menggunakan indeks *Shanon-Wiener* (H') untuk memperoleh status keragaman komunitas bakteri rizosfer dengan ketentuan indeks keragaman yaitu rendah, indeks keragaman juga menggambarkan keadaan populasi bakteri rizosfer secara matematis untuk mempermudah dalam menganalisis informasi-informasi jumlah individu masing-masing jenis dalam suatu komunitas. Kemudian diikuti dengan penghitungan indeks kemerataan (E) digunakan untuk mengetahui pola penyebaran individu tiap jenis, apakah merata atau tidak, bila indeks kemerataan tinggi maka setiap spesies bakteri penyebarannya rendah. Selanjutnya diikuti dengan penghitungan indeks dominansi menggunakan indeks simpson (δ) untuk menggambarkan spesies bakteri yang paling mendominasi suatu populasi dan pada masa pertumbuhan

Seleksi isolat bakteri PGPR

a. Aktivitas pemfiksasi nitrogen (FN)

Isolat bakteri rizosfer diinokulasikan pada media NFB dengan metode spot dan diinkubasi selama tiga hari, untuk positif bakteri fiksasi nitrogen terjadi perubahan warna media menjadi biru muda atau biru tua, sedangkan untuk uji amonifikasi isolat bakteri diinokulasi pada media kaldu pepton. Kemudian hasil positif bahwa bakteri mampu memfiksasi nitrogen dapat dilihat terjadi perubahan warna kuning ketika ditambah reagen Nessler. Ammonia yang dihasilkan dapat dikuantifikasi dari kepekatan warna kuning yang terbentuk dan menentukan nilai produksi ammonia dengan member angka 1: warna kuning muda; 2: kuning tua dan 3: coklat, (Cappuccino dan Sherman, 2008).

b. Aktivitas bakteri pelarut fosfat atau phosphate solubilizing of bacteria isolate (PSB)

Pengujian fosfat menggunakan media selektif *Pikovskaya* dengan penambahan *tri calcium phosphate* (TCP) sebagai sumber fosfat. Media disterilkan kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga beku. Setelah media beku isolat bakteri diambil menggunakan jarum ose dan digoreskan ke permukaan media secara zig zag. Di inkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C. isolat bakteri yang mampu melarutkan fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening (halo) disekitar koloni bakteri (Purwaningsih, 2003).

c. Aktivitas penghasil fitohormon (IAA)

Bakteri penghasil IAA di uji menggunakan nutrient broth dan regean Salkowski. Isolat bakteri dikultur pada media King's B broth dilengkapi dengan dan tanpa 0.1 g/l L-tryptophan dan diinkubasi pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 24 jam pada shaker, setelah kultur diinkubasi 24 jam maka kultur di sentrifugasi pada 4000 rpm selama 20 menit dan diperoleh supernatant dan pelet, supernatan diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 1 ml reagent Salkowski (12g/l FeCl_3 pada 429 ml/l H_2SO_4) dan di inkubasi pada ruang gelap selama 24 jam pada suhu kamar. Intensitas dibaca pada 535 nm menggunakan spektrofotometer UV (Farzana, 2009).

d. Aktivitas penghasil enzim selulase (Bakteri selulolitik)

Identifikasi bakteri selulolitik pada agar cawan menggunakan gram's iodine karena dengan penggunaan gram's iodine pembentukan zona bening pada bakteri yang positif selulolitik terlihat jelas dan dalam waktu yang lebih cepat (Ramesh dkk, 2008). Untuk media agar cawan digunakan media agar CMC (Carboxymethylcellulose 0.5 gr/L, K_2HPO_4 0.1 gr/L, KCL 0.1 gr/L, MgSO_4 0.05 gr/L, Yeast extract 0.05 gr/L, Glukosa 0.1 gr/L dan Agar 1.7%). Isolat bakteri sebanyak 5 μl diinokulasikan pada medium yang sudah di lubang dengan menggunakan pelubang gabus ukuran 0.5 μm , kemudian diinkubasi selama 48 jam. Selanjutnya ditetesi dengan gram's iodine sampai permukaan media tergenang keseluruhan. Jika terbentuk zona bening maka bakteri menghasilkan enzim selulase dan semakin besar diameter zona bening yang dihasilkan semakin banyak enzim selulosa.

e. Aktivitas Penghasil enzim amilase (Bakteri amilolitik).

Isolat bakteri rizosfer diinokulasikan pada medium agar pati dengan metode gores memanjang di tengah medium cawan petri. Kemudian diinkubasi selama 48 jam, setelah 48 jam di tetesi gram's iodine sampai menggenangi permukaan medium. Isolat bakteri rizosfer positif penghasil enzim amilase di tunjukkan dengan pembentukan zona bening pada sekitar koloni bakteri.

Identifikasi bakteri menggunakan sekuensing 16S rRNA

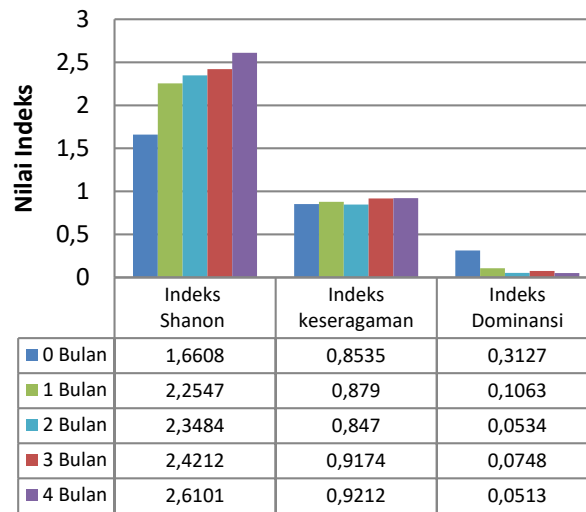
Isolat bakteri rizosfer yang efisien sebagai PGPR diidentifikasi dengan menggunakan teknik sekuens 16S rRNA. Isolat ditanam pada media NB dan diinkubasi pada shaker 120 rpm pada 28°C selama 24 jam. DNA dari isolat PGPR efisien diekstraksi. 16S rRNA gen di amplifikasi di thermocycler (Eppendorf thermocycler) menggunakan primer universal di bawah kondisi sebagai berikut: denaturasi awal pada 95°C (5 menit), denaturasi pada 95°C (30 detik), annealing pada 52°C (30 detik), ekstensi pada 72°C (2 menit), dan pemanjangan terakhir (10 menit). Produk diperkuat diperiksa kemurniannya dengan melakukan elektroforesis pada 1% gel agarosa. DNA yang diekstraksi dihitung (100ng/ μl) dan disequencing dengan bantuan sequencer otomatis. Urutannya dibandingkan dengan urutan yang tersedia dalam database NCBI menggunakan alat online seperti BLAST dan Clustal W2 untuk identifikasi isolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi, identifikasi dan skrining PGPR bakteri rizosfer ubi jalar Cilembu

Hasil isolasi bakteri rizosfer ubi jalar cilembu diperoleh 24 isolat selama fase pertumbuhan dan 19 isolat yang memiliki kemampuan PGPR. Berdasarkan identifikasi mikroskopis dan mikroskopis bakteri rizosfer dapat di kelompokkan menjadi tiga kelompok filum yaitu *Firmicutes*, *Proteobacteria* dan *Actinobacteria*. Dimana ketiga filum ini merupakan filum yang terdapat di rizosfer, jaringan akar, batang dan daun.

Diversitas Bakteri PGPR



Gambar 1. Rata-rata indeks diversitas bakteri berdasarkan hasil hitungan keragaman *Shanon-Wiener* (H'), Kemerataan (E), dan dominansi (δ)

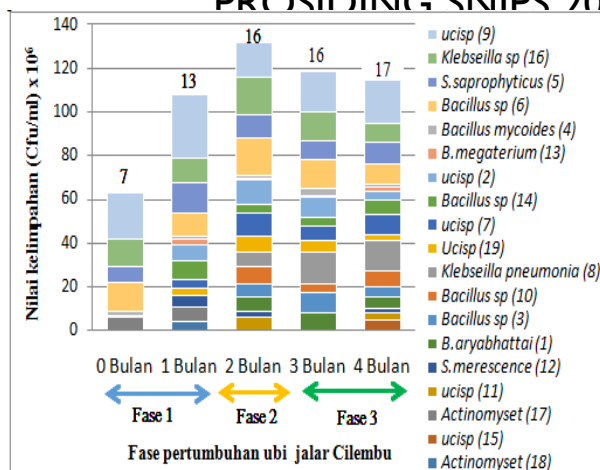
Hasil isolasi bakteri rizosfer pada LCI di bulan pertama menunjukkan bahwa pada 0 bulan memiliki nilai indeks Shanon paling rendah, yang berarti jumlah kelimpahan bakteri rizosfer di 0 bulan paling rendah di antara diversitas bakteri pada fase pertumbuhan berikutnya. Selain itu dari gambar juga menunjukkan dinamika pertumbuhan bakteri semakin meningkat sejalan dengan bertambahnya usia tanaman. Pada fase pertumbuhan dan awal pembentukan umbi (0-2 bulan) menunjukkan peningkatan diversitas bakteri rizosfer, hal ini dikarenakan tumbuhan semakin banyak menghasilkan senyawa eksudat akar seperti Triptopan, polisakarida, poligalakturonat atau senyawa organik lainnya.

Dari hasil penghitungan diversitas *Shanon* dapat ditentukan tingkat keragamannya berdasarkan tinggi rendahnya nilai H' menurut Fanani et al. (2013), dimana nilai $H' > 3$ menunjukkan keanekaragaman spesies tinggi pada suatu kawasan, $1 \leq H' \leq 3$ mengartikan bahwa keanekaragaman spesies sedang, dan $H' < 1$ menunjukkan keanekaragaman spesies rendah.

Gambar 1 menunjukkan nilai keanekaragaman setiap fase pertumbuhan adalah sedang yang menyatakan bahwa produktivitas cukup, tekanan ekologis sedang, dan kondisi ekosistem cukup seimbang. Tingkat keanekaragaman mikroorganisme dipengaruhi oleh interaksi antara tanaman, kesuburan tanah, kondisi lingkungan fisik, dan tekanan mikroorganisme lainnya (subba Rao, 1994).

Dinamika dan kelimpahan bakteri PGPR

Hasil isolasi bakteri rizosfer dari ubi jalar Cilembu selama masa pertumbuhan dari sebelum tanam (0 bulan) sampai umur ubi 4 bulan diperoleh perubahan jumlah isolat yang semakin meningkat selama masa pertumbuhan (Gambar 2) dan dijelaskan juga pada penelitian Akifumi S dkk, 2014 menunjukkan perubahan komunitas bakteri selama pertumbuhan pada tanaman kacang kedele berbeda yang menunjukkan peningkatan komunitas. Hasil menunjukkan semakin bertambah umur pertumbuhan ubi jalar semakin meningkat diversitas bakteri. hal ini bergantung pada jenis tanaman dan tanah sebagai habitat pertumbuhan dan perkembangan bakteri dikaitkan dengan tanah dan tumbuhan yang akan mempengaruhi faktor abiotik dan biotik (Pratibha P dkk, 2013). Selain itu banyak faktor biotik dan abiotik diasumsikan dapat mempengaruhi diversitas komunitas bakteri baik secara struktural dan fungsional. Seperti pada penelitian (Berg Gabriele dan Smalla Kornelia, 2009) menjelaskan bahwa dua faktor yang mempengaruhi komunitas mikroba di rizosfer yaitu spesies tanaman dan tipe tanah.

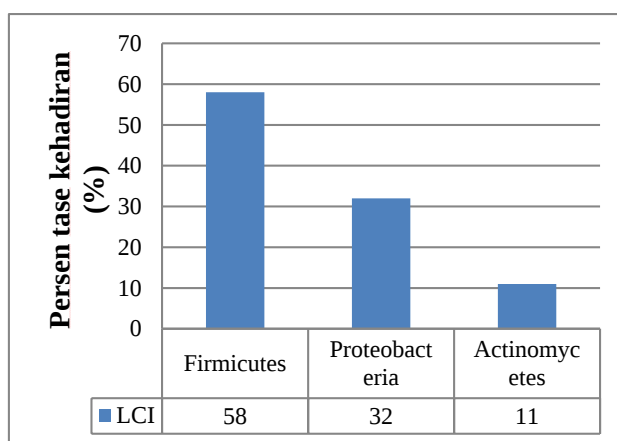


Gambar 2. Dinamika dan kelimpahan bakteri rizosfer PGPR selama pertumbuhan

Dinamika dan kelimpahan bakteri rizosfer selama pertumbuhan terjadi perubahan secara fluktuatif dimana selama fase 1 (fase awal) mengalami peningkatan kelimpahan sampai fase 2 (fase intermediet) yang berarti bahwa sumber energi tersedia banyak di rizosfer bagi bakteri, dengan kata lain bahwa proses pertumbuhan akar, batang dan daun lebih dominan dari pada pembentukan umbi atau penggunaan karbohidrat lebih tinggi dari pada penyimpanan karbohidrat. Adapun faktor yang mempengaruhi diversitas bakteri adalah berbagai macam faktor abiotik dan biotik. Namun tanaman sendiri merupakan faktor yang sangat berperan penting pada kehadiran bakteri pada rizosfer sehubungan dengan peran penting dari eksudat akar. Umur dan tahap perkembangan tanaman memainkan peran penting dalam menentukan struktur komunitas bakteri rizosfer. Rizosfer tanaman muda mencakup bakteri yang laju tumbuh sangat cepat dan memanfaatkan substrat sederhana yang disediakan oleh rizodeposisi (Brimecombe et al, 2001).

Pengelompokan Bakteri PGPR

Dari hasil identifikasi makroskopis dan mikroskopis bakteri rizosfer dengan kemampuan PGPR dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok berdasarkan sifat gram yaitu filum *Firmicutes* dan *Proteobacteria*, serta berdasarkan identifikasi makroskopis yaitu *Actinomycetes*.

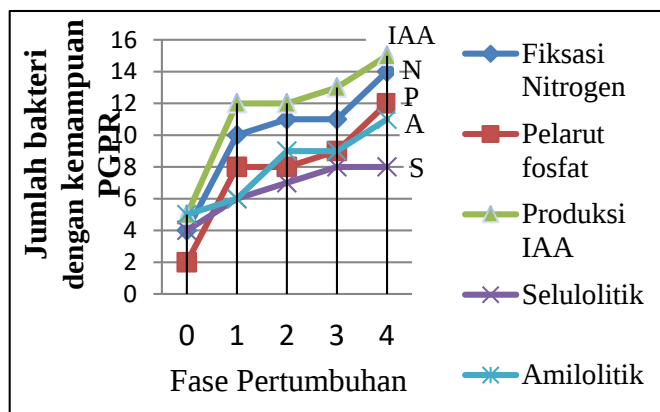


Gambar 3. Kelompok bakteri PGPR

Firmicutes merupakan kelompok bakteri yang termasuk kedalam bakteri gram negatif seperti kelompok bakteri genus *Bacillus*. *Proteobacteria* merupakan filum bakteri secara umum memiliki sifat gram negatif seperti *Klebseilla pneumonia* (ucisp 8). Bakteri ini memiliki kemampuan fiksasi nitrogen, pelarut fosfat, produksi hormon IAA, penghasil enzim selulase dan amilase. Sedangkan kelompok *Actinomycetes* merupakan mikroorganisme gram positif, bersifat anaerob dan bersifat antagonis terhadap parasitik di tanaman seperti nematode (Barreto et al, 2008). Kelimpahan mikroorganisme ini sangat sedikit diperoleh dibandingkan dari kelimpahan bakteri lain.

Kemampuan PGPR selama fase pertumbuhan ubi jalar

Hasil seleksi bakteri rizosfer dengan kemampuan PGPR selama pertumbuhan meningkat jumlah isolat bakteri PGPR dengan kemampuan yang berbeda-beda selama pertumbuhan dan dapat dilihat pada gambar 3 menunjukkan bahwa pada ubi jalar LCI semakin tinggi jumlah bakteri dengan kemampuan PGPR yang berarti bahwa kondisi fisiko kimia tanah mempengaruhi aktivitas bakteri rizosfer.



Gambar 4. Jumlah bakteri dengan kemampuan PGPR selama pertumbuhan ubi jalar Cilembu

Terjadinya perubahan jumlah bakteri PGPR selama pertumbuhan dapat dipengaruhi dari beberapa faktor antara lain metabolit tanaman, dimana semakin tinggi laju pertumbuhan tanaman maka hasil metabolit semakin tinggi sehingga komunitas bakteri rizosfer semakin tinggi. Selain sebagai penyerap air dan hara dari tanah baik melalui aliran massa, kontak langsung atau difusi. Akar juga sangat besar sekali pengaruhnya terhadap perubahan kondisi rizosfer. akar mengeksudasi ion menyebabkan perubahan pH dan potensial redoks tanah dan dekomposisi jaringan akar tanaman memberikan sumbangan yang besar terhadap penyediaan C, N, dan energi bagi kehidupan mikroba (Handayanto dan Hairiah, 2007).

Komposisi unsur makro dan mikro sampel tanah

Tabel 1. Sifat fisiko-kimia dua lokasi tanah

Profil tanah	Tanah Cilembu (LCI)
Kategori tanah	Lempung berpasir
Proporsi pasir (%)	21
Proporsi debu (%)	33
Proporsi liat (%)	46
pH dalam H ₂ O	6,5
pH dalam KCl	5,2
C organik (%)	3,12
N organik (%)	0,23
Rasio C/N	13
P ₂ O ₅ (ppm)	15,7
P ₂ O ₅ (mg/100g)	60,92
K ₂ O	57,31
Kapasitas tukar kation (cmol ₍₊₎ /Kg)	21,15
Kejenuhan Basa/KB (%)	65
Total K (cmol ₍₊₎ /Kg)	1,73
Total Ca (cmol ₍₊₎ /Kg)	9,79
Total Mg (cmol ₍₊₎ /Kg)	1,91
Total Na (cmol ₍₊₎ /Kg)	0,39
Total S (ppm)	30,6
Total Fe (ppm)	4,0
Total Al (ppm)	285,7
Total Cu (ppm)	0,6
Total Zn (ppm)	1,0
Total Mn (ppm)	10,9

Tanah merupakan salah satu faktor abiotik yang mempengaruhi diversitas suatu komunitas bakteri rizosfer yang sangat berperan penting terhadap pertumbuhan dan hasil produksi tanaman. Kondisi tanah lebih besar pengaruhnya terhadap komposisi komunitas bakteri rizosfer dari pada tanaman sebagai inang seperti pada hasil penelitian yang ditunjukkan oleh Hao Wang dkk 2014 menyatakan bahwa kondisi tanah lebih besar pengaruhnya terhadap komposisi komunitas bakteri rizosfer daripada kultivar itu sendiri.

Salah satu faktor lain yang mempengaruhi komunitas bakteri rizosfer adalah rizodeposit yang merupakan material-material rizosfer tanaman atau sekitar tanah yang ditransformasi dan dimanfaatkan oleh biota rizosfer serta digabungkan dengan material-material organik tanah. Adapun material-material tersebut keluar dari akar tanaman meliputi eksudat dalam bentuk terlarut, sekresi material tidak terlarut, lisat, CO₂ dan etilen. Pernyataan tersebut dapat diistilahkan sebagai komponen organik yang dilepaskan oleh akar tanaman hidup ke sekitar lingkungan (whipps dan Lynch, 1985).

Faktor biotik maupun faktor abiotik seperti jenis tanah, musim, tahap perkembangan tanaman, bentuk akar, jenis tanaman, dan kedalaman akar mempengaruhi struktur komunitas bakteri pada akar (review oleh berg & Smalla, 2009).

Akar tanaman memiliki kemampuan untuk mempengaruhi aktivitas mikrobiologi disekitar, mikrobioma rizosfer, melalui pembentukan relung kimia khusus pada tanah diperantarai oleh pelepasan pitokimia seperti eksudat akar yang bergantung pada sebagian faktor, seperti genotip tanaman, sifat tanah, keadaan nutrisi tanaman, dan kondisi iklim. Analisis populasi bakteri dilaporkan bahwa pada dua spesies tanaman dengan keadaan kekurangan Fe dan kecukupan Fe dapat mendukung perbedaan mikrobioma rizosfer (Youry Pii dkk, 2015).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Keanekaragaman bakteri rizosfer sebagai PGPR pada rizosfer ubi cilembu mengalami peningkatan sedangkan kelimpahan menurun selama fase pertumbuhan.

Bakteri rizosfer dengan kemampuan PGPR pada rizosfer ubi jalar Cilembu lebih di dominasi oleh bakteri jenis *Bacillus* dan dapat dikelompokkan sebagai filum *Firmicutes* selama fase pertumbuhan. Sedangkan jenis bakteri lain berupa bakteri gram negatif termasuk didalamnya jenis bakteri *Pseudomonas* dan *Klebsiella* dan dapat dikelompokkan sebagai filum *Proteobacter*. Adapun bakteri lain yang diperoleh adalah *actinomycetes*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih untuk Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati dan DIKTI yang telah mendukung dan menyediakan fasilitas dalam penyelesaian kegiatan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Akifumi S, Yoshikatsu U, Takahiro Z, Hisabumi T, dan Kazufumi Y,. (2014). *Changes un the Bacterial Community of soybean Rhizosphere during Growth un the Field*. Plos ONE 9(6): doi:10.1371/journal.pone.0100709.
2. Brimecombe MJ, de Leij FA, Lynch JM (2001). *The effect of root exudates on rhizosphere microbial populations*. In: Pinto R, Varanini Z, Nannipieri P (eds) *The rhizosphere*. Marcel Dekker, New York, pp 95–141.
3. Berg G and Smalla K,. (2009). Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. DOI:10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x
- 4.
5. Cappuccino, J.G., Sherman, N,. (2008), *Microbiology: A Laboratory Manual* Eighth Edition. Publishing as Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, USA.
6. Fanani, A., Rohman, F., Sulasmi, Eko S. (2013). *Karakteristik Komunitas Herba di Hutan Jati Resort Pemangkuhan Hutan (RPH) Dander Petak 12B Kabupaten Bojonegoro*. Malang: FMIPA Universitas Negeri Malang.
7. Farzana Y., Radziah O., Kamaruzaman S., and Mohd Said S. (2009). *Characterization of beneficial properties of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from sweet potato rhizosfer*. African Journal of Microbiology Research Vol.3(11) pp.815-821.
8. Handayanto, E dan Hairiah K,. (2007). *Biologi Tanah: Landasan Pengelolaan Tanah Sehat*, ISBN 978-979-17163-0-7.

9. Hao WANG, Shao Dong WANG, Yan JIANG, Shuang Jin ZHAO dan Wen Xin CHEN., (2014). *Diversity of Rhizosphere bacteria associated with different soybean cultivars in two soil condition*. Soil Science and Plant Nutrition, 60,630-639. China.
10. Joana M.Marques, Thais F. da Silva, Arie F.Blank, Guo-Chun Ding, Lucy seldin and Kornelia Smalla., (2014). *Plant age and genotype affect the bacterial community composition in the tuber rhizosphere of field-grown sweet potato plants*. FEMS Microbial Ecology 88:424-435. DOI:10.1111/1574-6941.12313.
11. Pratibha P, Neera K and Sarita S., (2016). *Rhizosphere: Its structure, bacterial diversity and significance*. Rev Environ Sci Biotechnol, DOI 10.1007/s11157-013-9317-z.
12. Purwaningsih, S., (2003), *Isolasi, Populasi dan Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah dari Taman Nasional Bogani Nani Wartabone*, Sulawesi Utara, *Biologi*, 3 (1):22-31.
13. Ramesh K Chand, Richa S, Hena D, Som D, dan Arvind G., (2008). *A Rapid and Easy Method for the detection of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram's Iodine*. Springer Science+Business Media,LLC.
14. Subba Rao, N.S. (1994). *Mikroorganisme tanah dan pertumbuhan tanaman*. Terjemahan. UI Press. Jakarta.
15. Whipps JM, Lynch JM., (1985). *Energy losses by the plant in rhizodeposition*. Ann Proceedings Phytochem J Eur 26:59–71.
16. Youry Pii, Luigimaria Borruso, Lorenzo Brusetti, Camine Crecchio, Stefano Cesce, Tanja Mimmo., (2016). *The Interaction between iron nutrition, plant species and soil type shapes the rhizosphere microbiome*. Faculty of Science and Technology, department of soil, plant and food science. University of Balzano and Bari, Italia. Plant Physiology and Biochemistry.