

# PENJARINGAN DAN UJI HAYATI ISOLAT RHIZOBAKTERI PENAMBAT NITROGEN PEMACU TUMBUH DARI EKOSISTEM TANAH SALIN

*Isolatic Rhizobactery and Isolative Nitrogen Testing as Growth Extractor at Saline Soils  
Ecosystems*

**N. M. Kusrachdiyanti<sup>1</sup>, F. H. Khumairah<sup>1,2</sup>, R. Hindersah<sup>1</sup>, dan T. Simarmata<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Departemen Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia

<sup>2</sup> Departemen Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Bandung Raya, Jawa Barat, Indonesia

E-mail: tualar.simarmata@unpad.ac.id

## ABSTRAK

Salinitas dan ketersediaan hara merupakan faktor pembatas utama pertumbuhan dan perkembangan tanaman padi pada tanah salin. Rekayasa keragaman dan dominasi mikroba yang berperan sebagai pupuk dan agen hayati pada rhizosfir dapat dilakukan sebagai alternatif pemupukan ramah lingkungan untuk meningkatkan ketersediaan hara, toleransi dan produktivitas tanaman. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan isolat indigenus rhizobakteri penambat nitrogen dan pemacu tumbuh (RPN-PT) yang toleran terhadap kondisi salin. Sebanyak 16 contoh tanah komposit diambil dari berbagai rhizosfir tanaman pada ekosistem salin di kabupaten Karawang. Selanjutnya, bakteri ditumbuhkan pada media Ashbys disalinkan untuk mendapatkan isolat rhizobakteri penambat N halotoleran. Uji hayati untuk mendapatkan isolat unggul potensial dilakukan dengan menggunakan rancangan acak kelompok dengan 16 perlakuan dan 3 ulangan. Kecambah padi ditumbuhkan pada media media Fahreus salin selama 21 hari. Respon yang diamati meliputi tinggi bibit, panjang akar, bobot kering akar dan pupus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolate memberikan pengaruh yang signifikan terhadap tinggi tanaman, bobot akar dan pupus. Isolat S4, S5 dan S16 mampu menghasilkan tanaman yang lebih tinggi, akar yang lebih panjang serta bobot kering lebih besar jika dibandingkan dengan isolat yang lainnya. Temuan ini menunjukkan bahwa isolat bakteri RPN-PT halo toleran terpilih dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman padi dan potensial dikembangkan sebagai pupuk hayati untuk meningkatkan produktivitas tanaman padi pada ekosistem salin

Kata kunci: Rhizobakteri, penambat N, RPN-PT, salinitas, uji hayati

## ABSTRACT

*Salinity and nutrient availability are the main constraint for rice growth and development in saline soils. Engineering of biodiversity and domination of beneficial microbes acts as biological agents ((biofertilizers) in rhizosphere can be done as an alternative environmentally friendly fertilizers to increase nutrient availability, tolerance and rice productivity. This research was conducted to obtain indigenous rhizobacteria nitrogen-fixing and growth promoters (RPN-PT) that are tolerant of saline conditions. A total of 16 composite soil samples were taken from plant rhizosphere in the saline ecosystem in the Karawang district. Furthermore, the bacteria grown on salinized Ashby's media to obtain rhizobacteria N halotolerant isolates. Bioassay to obtain superior superior isolates were conducted using a randomized block design, consisted 16 treatments (bacterial isolates) and provided with 3 replications. Rice sprouts were grown on Fahreus media for 21 days. The observed responses included seedling height, root length, root dry weight and shoot. The research results reveled that isolate had a significant effect on plant height, root weight and shoot. The isolates S5, S4 and S16 were resulted*

*the higher plants height, longer roots compared with other isolates. These findings indicate that the selected RPN-PT halotolerant bacterial isolate can increase rice plant growth and potentially be developed as biological fertilizer to increase rice productivity in the saline ecosystem*

*Keywords: Rhizobacteria, nitrogen fixer, RPN-PT, rice, saline, bioassay*

Diterima : 29 January 2020. Disetujui: 29 Februari 2020

## PENDAHULUAN

Produktivitas lahan sawah semakin hari semakin menurun sesuai dengan data BPS (2018) yang menunjukkan bahwa produktivitas padi di tahun 2015 mencapai angka 5,34 ton/ha akan tetapi terus menurun hingga 2018 hanya mencapai 5,18 ton/ha. Hal ini disebabkan oleh konversi lahan menjadi pemukiman maupun lahan industri. Solusi untuk permasalahan ini yaitu dengan memanfaatkan lahan suboptimal salah satunya yaitu kawasan pesisir. Diketahui bahwa kawasan pesisir merupakan kawasan dengan area lahan yang memiliki kandungan garam tinggi. Hal ini disebabkan karena garam-garam yang berasal dari laut dapat dengan mudah masuk ke dalam tanah melalui pasang surut maupun intrusi air laut (Cahyadi dkk, 2017). Gelombang pasang yang terjadi pada lahan pertanian dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan lahan tergenang air yang mengandung kadar garam atau salinitas tinggi (Shaaban dkk, 2013).

Kusmiyati (2009) menyatakan bahwa tanah salin merupakan tanah yang mengandung garam terlarut netral dalam jumlah tertentu yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman. Kandungan NaCl yang tergolong tinggi pada tanah salin dapat menyebabkan struktur tanah menjadi rusak sehingga kemampuan aerasi dan permeabilitas tanah tersebut menjadi rendah. Selain itu, kandungan garam yang tinggi juga dapat meningkatkan potensial osmotik larutan tanah dan menyebabkan tanaman sulit menyerap air hingga terjadi kekeringan fisiologis (Hakim, dkk, 1986).

Habitat tanah salin umumnya kekurangan unsur N (Zahran *et al.*, 1995). Terlebih pada umumnya, dalam kondisi normal pun N tersedia di dalam tanah seringkali sedikit. Nitrogen diambil tanaman dalam bentuk amonium yang terikat pada mineral illit dan nitrat yang mudah tercuci (Bloom, 2009). Menurut Lutfi (2012), pengaruh yang akan timbul apabila padi ditanam di tanah salin antara lain perubahan dalam siklus nitrogen dan penurunan serapan N. Namun, kondisi tersebut dapat diatasi salah satunya oleh kehadiran bakteri khususnya rhizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman atau biasa disebut dengan RPN-PT indigenus. Bakteri tersebut bersifat efektif dan agresif menginfeksi akar sehingga akar akan terhindar dari infeksi bakteri lain yang merugikan tanaman (hama penyakit) serta dapat memperbaiki aerasi tanah dan tanah menjadi subur (Widawati, 2015).

Bakteri RPN-PT mampu menambat nitrogen dan hidup bebas dalam permukaan akar dalam tanah salah satu contohnya yaitu *Azotobacter* sp. Bakteri tersebut dapat menambat nitrogen dari udara dan mengubahnya menjadi  $\text{NH}_3$  dengan menggunakan nitrogenase, kemudian  $\text{NH}_3$  diubah menjadi glutamin atau alanin, sehingga bisa diserap oleh tanaman dalam bentuk  $\text{NO}_3$  dan  $\text{NH}_4^+$  (Waters dkk., 1998). Bakteri penambat  $\text{N}_2$  yang hidup pada tanah salin dapat mengkolonisasi rizosfer tanaman halotoleran karena adanya eksudat akar (Zahran *et al.*, 1995). Oleh karena itu diharapkan ketersediaan unsur nitrogen oleh bakteri RPN-PT penambat nitrogen berguna

untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan padi pada ekosistem salin.

Penelitian ini bertujuan untuk mencari dan mengetahui RPN-PT yang indigenus terhadap tanah salin melalui proses uji hayati dan karakterisasi sehingga kelak akan muncul isolat unggul yang mampu menambat N untuk pertumbuhan vegetatif padi dalam ekosistem salin.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dimulai pada bulan September 2019 dan berlokasi di Kabupaten Karawang dalam pengambilan sampel tanah. Proses uji hayati hingga karakterisasi dilakukan di Laboratorium Biologi, Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran.

Alat yang digunakan untuk penelitian ini yaitu : (1) petridish, (2) jarum ose, (3) tabung reaksi, (4) pipet, (5) cawan petri, (6) spiritus, (7) *beaker glass*, (8) labu erlenmeyer, (9) *plastic wrap*, (10) gelas ukur, (11) *shaker*, (12) botol vial.

Sedangkan bahan-bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini antara lain : (1) sampel tanah salin dari tanaman padi, (2) benih tanaman padi varietas Inpari-33, (3) media Ashby's Mannitol Agar salin (4) reagen pewarnaan gram (kristal violet, iodin, safranin), (5) aquadest (6) media Fahraeus.

### **Isolasi RPN-PT**

Tahap pertama penelitian ini dimulai dengan isolasi RPN-PT penambat nitrogen dari rhizosfer tanaman padi, mangrove dan rumput pada ekosistem salin di Karawang, Jawa Barat dengan menggunakan metode pengenceran plat. Pengenceran dilakukan sebanyak 5 kali dan diambil 0,5 ml suspensi bakteri pada pengenceran terakhir. Selanjutnya, suspensi bakteri tersebut dimasukkan ke petridish diikuti dengan menuangkan media Ashbys cair yang telah

disalinkan sebanyak 3 ml. Media Ashbys disalinkan dengan menambahkan NaCl sebanyak 5 gram untuk setiap 1 liter media Ashbys dan kondisi salin ini tergolong pada tingkat *moderately saline*. Setelah itu, isolat diinkubasi selama 3 hari hingga terbentuk pellicle berwarna putih atau putih kecoklatan, cembung dan berlendir.

Setelah media Ashbys ditumbuhi koloni bakteri, dilakukan pemurnian isolat dengan menggosokkan koloni terpisah di atas permukaan media Ashbys padat secara aseptik. Apabila pemurnian telah selesai dan di dapatkan koloni terpisah maka dilakukan penyimpanan isolate di media cair Ashbys dan media agar miring Ashbys yang kelak akan digunakan untuk uji hayati dan karakterisasi.

### **Uji Hayati pada Bibit Padi**

Selanjutnya dilakukan uji hayati yang terdiri atas 16 perlakuan dengan 3 ulangan sehingga terdapat 48 unit percobaan. Perlakuan pertama dengan kode sample S1 tidak ditambahkan suspensi bakteri, hanya bibit tanaman padi dengan media Fahreus salin. Setiap unitnya terdiri dari satu bibit tanaman padi varietas Inpari 33 hasil UKDP selama 5 hari, media Fahreus yang disalinkan dengan tingkat salinitas 6 ds m<sup>-1</sup> sebanyak 90 ml dan inokulan RPN-PT dengan kepadatan populasi sebesar 10<sup>8</sup> CFU ml<sup>-1</sup>. Ketiga komponen tersebut ditanam di tabung reaksi ukuran 100 ml dan pada bagian atas tabung reaksi disangga menggunakan plastik dan mulut pipa agar bagian atas tanaman tertahan dan hanya akar yang terendam media Fahreus. Proses uji hayati berlangsung hingga 21 hari setelah tanam. Secara bersamaan, dilakukan juga uji hayati non salin terhadap tanaman padi dengan Media Fahreus komposisi NaCl normal dengan tujuan untuk membandingkan pertumbuhan padi.



Gambar 1. Tabung reaksi uji hayati

### Karakterisasi Metode Pengecatan Gram

Tahap selanjutnya yaitu perangkingan dengan metode skoring dimana tiga isolat terbaik yang mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman padi secara vegetatif dipilih untuk di karakterisasi dengan metode pengecatan gram.

Proses pengecatan gram dimulai dengan mengoleskan bakteri dari media agar miring Ashbys pada kaca objek steril menggunakan ose. Setelah itu, kaca objek dilewatkan di atas api bunsen sampai sample bakteri pada kaca objek terlihat rekat pada kaca objek dan berwarna putih. Diteteskan zat gentian violet sebanyak 1 tetes pipet selama 1 menit. Setelah selesai zat warna dibilas dengan aquades hingga bersih dan kembali dilakukan pewarnaan dengan zat iodine lugol

selama 2 menit sebanyak 1 tetes. Terakhir, kaca obyek dibilas dengan alkohol 95% selama 30 detik hingga zat warna larut. Ditambahkan 2 tetes minyak imersi pada kaca objek untuk dilakukan pengamatan dengan mikroskop.

Pengamatan uji hayati dilakukan terhadap tinggi tanaman, panjang akar, dan nisbah pupus akar. Sedangkan, pengamatan karakterisasi dilakukan terhadap morfologi bakteri seperti bentuk, keseragaman dan pewarnaan gram.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa penambahan inokulan RPN-PT penambat nitrogen memberikan pengaruh yang tidak nyata terhadap pertumbuhan panjang akar, namun berpengaruh terhadap tinggi tanaman dan nisbah pupus akar (Tabel 1). Data tabel 1 menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan antar isolat RPN-PT tidak menghasilkan perbedaan yang nyata terhadap panjang akar walaupun perlakuan S5 cenderung meningkatkan panjang akar tanaman padi, tetapi terdapat perbedaan yang nyata terhadap tinggi tanaman.

Tabel 1. Hasil Uji Hayati terhadap Tinggi Tanaman dan Panjang Akar

Nomor	Isolat	21 HST	
		Tinggi Tanaman (cm)	Panjang Akar (cm)
1	S1	5.67 a	9.8 a
2	S2	4.77 a	8.8 a
3	S3	5.3 a	7.93 a
4	S4	8.67 ab	9 a
5	S5	11.2 b	11.6 a
6	S6	6.37 ab	10.17 a
7	S7	4.5 a	10.67 a
8	S8	7.13 ab	9.13 a
9	S9	4.9 a	10.27 a
10	S10	8.27 ab	8.73 a

11	S11	6.37 ab	10.23 a
12	S12	5.2 a	7.55 a
13	S13	6.9 ab	9.93 a
14	S14	3.47 a	11.07 a
15	S15	3.87 a	8.73 a
16	S16	7.55 ab	10.95 a

Keterangan: Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.



Gambar 2. Kondisi tanaman padi salin pada 21 HST uji hayati



Gambar 3. Kondisi tanaman padi non-salin pada 21 HST uji hayati

Secara visual, perlakuan penambahan inokulan RPN-PT menghasilkan tanaman padi dengan kondisi akar lebih tebal dan batang tanaman padi

lebih tinggi dibanding kontrol. Hal ini sesuai dengan pendapat Sutariati dkk., (2014) yang menyatakan bahwa RPN-PT merupakan sekelompok bakteri yang hidup di daerah

rizosfer dan berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman.

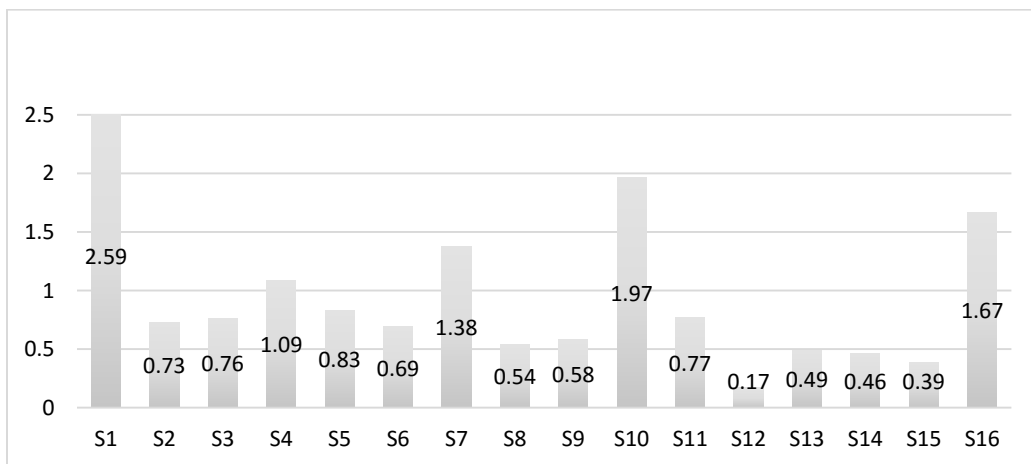
Namun, apabila dibandingkan dengan hasil tanaman padi uji hayati non salin, terlihat jelas bahwa tanaman padi kondisi salin terkena dampak stres garam dengan menunjukkan gejala seperti akar

pendek dan tidak lebat, tinggi tanaman rendah, serta warna daun yang pucat. Sedangkann, tanaman padi hasil uji hayati non salin akarnya tampak lebat dan tinggi tanamannya pun tinggi disertai dengan daun yang lebat dan warna hijau cerah.

Tabel 2. Data Bobot Kering Tanaman dan Akar

Nomor	Isolat	Bobot Kering Pupus (mg)	Bobot Kering Akar (mg)
1	S1	29,7 ab	13 a
2	S2	9,3 a	13,3 a
3	S3	9,3 a	13 a
4	S4	43 b	42,7 b
5	S5	14 ab	16,3 a
6	S6	10 a	14,3 a
7	S7	9,3 a	11 a
8	S8	8,7 a	16,7 a
9	S9	7 a	12 a
10	S10	18,5 ab	14,3 a
11	S11	9 a	13,3 a
12	S12	2,5 a	15,5 a
13	S13	8 a	10,7 a
14	S14	6,3 a	14,3 a
15	S15	7,3 a	9,7 a
16	S16	27,5 ab	17 a

Keterangan: Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.



Gambar 3. Grafik Data Nisbah Pupus Akar

Nisbah pupus akar atau NPA adalah perbandingan bobot kering tanaman bagian atas dengan bobot kering bagian bawah. Nilai NPA baru bisa didapatkan setelah semua sample telah dilakukan perhitungan bobot kering baik bagian atas tanaman maupun bagian akarnya. Tujuan dari pengukuran nisbah pupus akar sendiri yaitu untuk mengetahui analisis kuantitatif serta laju pertumbuhan. Rumus NPA adalah sebagai berikut:

$$NPA = \frac{W_a}{W_b}$$

Keterangan :

Wa = bobot kering bagian atas tanaman, yang diperoleh dengan menjumlahkan bobot kering batang dan daun

Wb = bobot kering akar

Berdasarkan data tabel 2, hasil uji hayati semua isolat memberikan pengaruh

yang nyata terhadap bobot kering pupus dan akar. Akan tetapi, apabila dilakukan perhitungan lebih lanjut, semua isolat tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai nisbah pupus akar walaupun perlakuan S1 cenderung menghasilkan nilai nisbah pupus akar yang tinggi. Akan tetapi, nilai bobot kering tanaman dan nisbah pupus akar cenderung sangat rendah dan hal ini sesuai dengan pendapat Cahyaty (2017) yang menyatakan bahwa salinitas dapat menurunkan bobot kering tanaman sehingga akan berpengaruh langsung terhadap nilai nisbah pupus akar. Sehingga konsentrasi inokulan bakteri RPN-PT juga berpengaruh penambat nitrogen yang di aplikasikan pada tanah non salin maupun salin, maka akan berpengaruh dalam meningkatkan tinggi tanaman, panjang akar serta bobot kering tanaman. (Cahyaty, 2017).

Tabel 3. Hasil Perankingan dengan Metode Skoring dari Uji Hayati

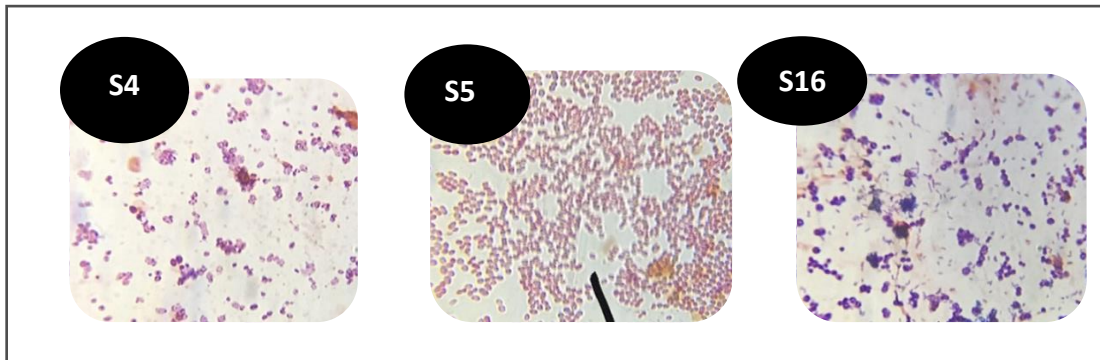
Perlakuan	Tinggi Tanaman	Panjang Akar	NPA	Skor	Ranking
S16	13	14	14	41	16
S5	16	16	11	43	15
S4	15	6	12	33	14
S10	14	3	15	32	13
S1	8	8	16	32	12
S11	10	11	8	29	9
S7	3	13	13	29	7
S6	9	10	7	26	11
S8	12	7	5	24	10
S13	11	9	4	24	8
S9	5	12	6	23	3
S3	7	2	10	19	6
S2	4	5	9	18	5
S14	1	15	3	19	4
S15	2	4	2	8	2
S12	6	1	1	8	1

Melalui proses skoring hasil SPSS yang telah diuji lanjut Duncan pada taraf 5%, dihasilkan perankingan dari 16 perlakuan dengan 3 perlakuan terbaik yang mampu meningkatkan tinggi tanaman dan

panjang akar. Perlakuan tersebut yaitu S16, S5 dan S4. Selanjutnya, ketiga isolat tersebut di karakterisasi dengan metode pengecatan gram. Hasil dari pengecatan adalah sebagai berikut :

Tabel 4. Hasil Karakterisasi Morfologi dengan Metode Pengecatan Gram

Nomor	Kode Sample	Bentuk bakteri	Pewarnaan Gram	Kelompok Gram	Keterangan
1	S4	Kokus	Merah	Negatif	Seragam
2	S5	Kokus	Merah	Negatif	Seragam
3	S16	Kokus	Ungu	Positif	Seragam



Gambar 4. Isolat bakteri S4,S5 dan S16 secara mikroskopis dengan perbesaran 1000x

Hasil pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran lensa okuler 10x dan lensa objektif 100x didapatkan bahwa isolat S5 memiliki ciri morfologis bentuk bakteri kokus dengan warna merah menunjukkan bahwa bakteri termasuk ke dalam kelompok bakteri gram negative. Selain itu, isolat S5 tampak berbentuk batang yang sesuai dengan pendapat Brock, dkk. (1994), yang mengemukakan bahwa Genus *Azotobacter* dicirikan dengan sel berbentuk batang, gram negative, bersifat aerobik obligat dan mempunyai ukuran sel yang lebih panjang dari prokariot lainnya dengan diameter sel 2-4  $\mu\text{m}$  atau lebih. Selain itu, Genus *Azotobacter* bersifat pleomorfik yaitu tidak memiliki bentuk yang tetap mulai dari batang hingga kokus (Kaburuan, dkk., 2014).

Isolat S4 memiliki warna bakteri berwarna merah dan berbentuk kokus serta batang pendek. Selain itu, bentuk bakteri tampak tidak sepadat dan posisi bakteri tidak berkelompok jika dibandingkan dengan isolat -isolat lain. Hal ini juga sesuai dengan pendapat Astutik (2015), dimana genus *Azotobacter* selnya terdapat individu, berpasangan, atau mengelompok dengan bentuk tidak beraturan, dan kadang-kadang membentuk rantai dengan panjang bervariasi.

Isolat S16 tampak berwarna ungu yang artinya bakteri mempertahankan zat pewarna kristal violet dan termasuk ke dalam bakteri gram positif. Selain itu, isolate S16 diatas memiliki bentuk bulat atau kokus. Apabila bakteri berwarna ungu maka bakteri tersebut termasuk ke dalam

kelompok bakteri gram positif dimana bakteri tersebut mempertahankan zat pewarna kristal violet. Warna isolat berbeda-

beda disebabkan oleh proses pewarnaan gram.

## KESIMPULAN

Isolat RPN-PT penambat nitrogen memiliki kemampuan yang beragam dalam meningkatkan pertumbuhan vegetatif tanaman padi. Melalui proses seleksi, didapatkan 3 isolat terbaik yaitu S4, S5 dan S16 yang mampu membantu meningkatkan pertumbuhan tinggi tanaman dan panjang akar tanaman padi jika dibandingkan isolat lainnya.

Selain itu, hasil penelitian karakterisasi morfologis melalui metode pengecatan gram menghasilkan identifikasi bakteri RPN-PT yang ditemukan yaitu *Azotobacter* dengan ciri-ciri berbentuk kokus dan batang, terdapat kista serta termasuk bakteri gram negative.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Universitas Padjadjaran yang telah mendanai penelitian ini melalui program

ALG (Academic Leadership Grant) Unpad 2019.

## DAFTAR PUSTAKA

Astutik, L. 2015. Resistensi dan Potensi *Azotobacter* sebagai Bioremoval Timbal. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.

Bloom, A.J. 2009. As carbon dioxide rises, food quality will decline without careful nitrogen management. *California Agriculture*. 63:67-72.

Brock T.D., dkk. 1994. *Biology of Microorganism*, seventh edition. Prentice – Hall. New Jersey.

Cahyadi, A. Tjahyo, N.A. Muh A.M. Sembodo, N. Romza, F.A. 2017. Analisis Dampak Intrusi Air Laut terhadap Airtanah di Pulau Korol Pramuka, DKI Jakarta. *Majalah Geografi Indonesia*, 31 (2): 61 – 66.

Cahyaty, R. 2017. Pengaruh Bakteri Rhizosfer Toleran Salin terhadap Tanaman Mentimum pada Tanah Salin.

Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.

Erfin, Natsir, S. La, M. 2016. Identifikasi Bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* pada Rhizosfer Asal Komba-Komba. Fakultas Peternakan UHO.

Fitriatin, B.N. Khumairah, F.H. Setiawati, M.R. Suryatmana, P. Hindersah, R. Nurbaity, A. Herdiyantoro, D. Simarmata, T. 2018. Evaluation of Biofertilizer Consortium on Rice at Different Salinity Levels. *Asian Journal of Microbial Biotech Env* Vol. 20 (34) : 1108-1112.

Hakim, Nurhajati, M. Yusuf Nyapka, A.M. Lubis, S.G. Nugroho, M.R. Saul, M.A. Diha, G.B.Hong, H.H. Bailey, 1986. *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*. Universitas Lampung, Lampung.

- Kaburuan, R. Hapsoh. Gusmawartati. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penambat Nitrogen Non-Simbiotik Tanah Gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu. Riau. Jurnal Agroteknologi 5 (1): 35-39.
- Khumairah, F.N. *et al.* 2018. In vitro Test and Bioassay of selected Phosphate Solublizing Bacteria (PSB) by using maize seedlings. IOP Conference Ser. : Earth, Environ, Sci.
- Kusmiyati, F., E.D. Purbajanti dan B.A. Kristanto. 2009. Karakter Fisiologis, Pertumbuhan dan Produksi Legum Pakan pada Kondisi Salin. Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan.
- Lutfi, I. (2012). Ketersediaan Unsur Hara pada Tanah Garaman. Yogyakarta: Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Shaaban, M., Abid, M., & Abou-Shanab, R. A. I. 2013. Amelioration of salt affected soils in rice paddy system by application of organic and inorganic amendments. Plant, Soil and Environment, 59(5), pp. 227-233.
- Simarmata, T. 2013. Tropical bioresources to support biofertilizer industry and sustainable agriculture in Indonesia. Makalah disajikan pada International Seminar on Tropical Bioresources for Sustainable Bioindustry; from Basic Research to Industry. ITB, Bandung. Indonesia.
- Simarmata, T., Turmuktini, T., Fitriatin, B. N., & Setiawati, M. R. 2016. Application of bioameliorant and biofertilizers to increase the soil health and rice productivity. HAYATI Journal of Biosciences, 23(4), 181-184.
- Sutariati, G.A. Tresjia, C.R. Agustina. Novita, S. La, M. Mubayyinul, H. 2014. Kajian Potensi Rizobakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman yang Diisolasi dari Rizosfer Padi Sehat. Fakultas Pertanian Universitas Halu Oleo. Kendari.
- Widawati S. 2015. Isolasi dan Aktivitas RPN-PT dari Tanah Perkebunan Karet, Lampung. Jakarta. Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Waters JK, BL Hughes, LC Purcell, KO Gerhardt, TP Mawhinney and DW Emerich. 1988. Alanine, not ammonia, is excreted from N<sub>2</sub>-fixing soybean nodule bacteroids. Proceedings of the National Academy of sciences USA 1998, 95(20), 12038-12042.
- Zahran, H.H., M.S., Ahmad, and EA., Afkar. 1995. Isolation and Characterization of Nitrogen Fixing moderate halophilic bacteria from saline soils of Egypt. J. Basic Microbiol. 35: 269-275.