

# Pengujian kapasitas penambatan nitrogen *Azotobacter* sp indigen dan eksogen secara in-vitro pada tanah Andisol areal pertanaman teh

*In-vitro experiment of nitrogen fixing capacity of indigenous and exogeneous Azotobacter sp at Andisol tea planting area's*

Eko Pranoto<sup>1,2</sup> dan Mieke Rochimi Setiawati<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Peneliti pada Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung

<sup>2</sup>Mahasiswa Magister Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Bandung

<sup>3</sup>Dosen Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Bandung

Diajukan: 28 Januari 2014; direvisi; 3 Maret 2014; diterima: 14 April 2014

## Abstrak

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi dan Bioteknologi Tanah, Universitas Padjadjaran, dengan tujuan untuk menganalisis kadar nitrogen total tanah areal pertanaman teh secara in-vitro yang diinokulasikan dengan *Azotobacter* sp indigen dan yang berasal dari luar areal pertanaman teh (eksogen). Metode yang digunakan adalah metode eksperimental berupa rancangan acak lengkap dengan perlakuan: A (kontrol negatif); B (kontrol positif); C (A. kedelai II); D (*A. vinelandii*); E (A. N.D.9.3); F (A. padi); G (VI-1); H (II-1); I (V-2); J (I-1); dan K (III-2). Setiap perlakuan diulang tiga kali. Populasi setiap mikroba yang diinokulasikan sebesar  $1,2 \times 10^{11}$  CFU/ml dengan dosis 1% pada tanah areal pertanaman teh yang telah disterilkan. Setelah diinkubasi selama lima hari, diperoleh bahwa *Azotobacter* sp dengan kode II-1 memiliki perbedaan yang sangat nyata dalam menghasilkan kadar N total tanah, yaitu sebesar 0,8532%. Dengan uji perbandingan ortogonal, diperoleh bahwa *Azotobacter* sp indigen yang terbaik adalah mikroba dengan kode II-1, sedangkan mikroba eksogen terbaik dalam menghasilkan nitrogen total tanah pada areal pertanaman teh adalah *Azotobacter*

sp dengan kode A. kedelai II. Kesimpulan penelitian ini adalah bahwa *Azotobacter* sp Indigen kapasitas penambatan nitrogennya sebesar 7,67% lebih tinggi dibanding dengan *Azotobacter* sp eksogen dalam pertumbuhan pada tanah Andisol areal pertanaman teh yang memiliki pH 4,5–5,6. Walaupun beberapa penelitian mengindikasikan bahwa *Azotobacter* sp jarang ditemukan pada pH yang rendah, tetapi hal ini mengindikasikan terdapat biofertilizer berbahan aktif *Azotobacter* sp indigen pada areal pertanaman.

**Kata kunci:** *Azotobacter* sp, indigen, eksogen, N total tanah, in-vitro, kapasitas penambatan nitrogen

## Abstract

*An in-vitro experiment to evaluate total nitrogen content of soil of tea plantation area included with indigenous and exogenous Azotobacter sp have been conducted in the Biology and Soil Biotechnology Laboratory, Padjadjaran University. A completely randomized design with 11 treatments and three repli-*

cations was used. The treatments were: A (negative control); B (positive control); C (A. Kedelai II); D (A. vinelandii); E (A. N.D.9.3); F (A. Padi); G (VI-1); H (II-1); I (V-2); J (I-1); and K (III-2). Size of microbe inoculated population for each treatment was  $1,2 \times 10^{11}$  CFU/ml. One percent dose was used for sterilized soil originated from the tea plantation area. After five days of incubation period revealed that II-1 *Azotobacter sp* produced very significantly different in total nitrogen production than the other *Azotobacter sp*, i.e. 0,8532%. Orthogonal comparisons indicated that indigenous *Azotobacter sp* had the capacity of nitrogen fixation 7,67% higher than that the capacity of nitrogen fixation of exogenous *Azotobacter sp* for growth on Andisol soil of tea plantation area with pH of 4,5-5,6. Although, *Azotobacter sp* is very rarely found in soil with low pH (high acidity), this phenomena indicating that an active biofertilizer of indigenous *Azotobacter sp* is present in tea plantation area.

**Keywords:** *Azotobacter sp*, indigenous, exogenous, total N of soil, in-vitro, Nitrogen fixing capacity

## PENDAHULUAN

Salah satu faktor penunjang produksi pada tanaman teh adalah ketersediaan unsur hara makro dan mikro yang seimbang, baik dari tanah maupun dari pupuk. Ketersediaan unsur hara pada areal tanaman teh bervariasi dari rendah sampai tinggi dan umumnya tergolong rendah, sehingga untuk mendapatkan hasil optimal diperlukan dosis pupuk yang lebih tinggi dibandingkan unsur hara yang tersedia di dalam tanah. Tanaman teh di Indonesia tumbuh dengan optimal pada tanah dengan pH 4,5–5,6.

Ketersediaan unsur hara yang dapat diserap akar tanaman dipengaruhi keadaan

lahan yang meliputi sifat fisik, kimia, serta biologi tanah termasuk kandungan bahan organik tanah serta kandungan mikroorganisme yang bermanfaat di dalam tanah tersebut. Nitrogen merupakan unsur hara makro esensial yang dominan dibutuhkan oleh tanaman teh dalam mempertahankan pertumbuhan vegetatifnya karena tanaman teh merupakan tanaman yang dipanen pucuknya.

Kebutuhan unsur hara nitrogen di perkebunan teh dipenuhi dengan pempupukan anorganik, organik, dan pupuk hayati sebagai sumber N biologis. Pemberian pupuk anorganik mempunyai kendala pada pertanaman teh, di antaranya ketersediaan yang relatif tidak serempak, harga yang cenderung meningkat, dan aplikasinya yang sangat tergantung dari keadaan iklim.

Mikroba tanah pemfiksasi nitrogen mempunyai peranan penting dalam membantu tersedianya berbagai hara nitrogen yang berguna bagi tanaman. Keberadaan mikroorganisme tanah sangat penting dalam proses mobilisasi dan mineralisasi hara sehingga tersedia untuk tanaman.

Penelitian ini dibatasi pada *Azotobacter sp* sebagai mikroorganisme penambat nitrogen non-simbiotik. Penambatan nitrogen terjadi karena adanya enzim nitrogenase. Zinniel *et al.* (2002) menginformasikan bahwa bakteri penambat nitrogen juga dapat meningkatkan penyerapan mineral, fiksasi nitrogen, mengurangi kerusakan akibat perubahan cuaca dan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit, serta menghasilkan fitohormon asam asetat indole-3 (IAA) dan sitokinin yang dapat memacu pertumbuhan akar dan tajuk (Setiawati *et al.*, 2009).

Himpunan Mahasiswa Pertanian (Himatan) (2012) menginformasikan *Azoto-*

*bacter* sp adalah species *rhizobacteria* sebagai agen biologis pemfiksasi nitrogen yang mengkonversi  $N_2$  ke amonium melalui reduksi elektron dan protonisasi gas di nitrogen. Kontribusi *rhizobacteria* hidup bebas terhadap nitrogen tanah hanya sekitar 15 kg N/ha/tahun yang jauh lebih rendah daripada kontribusi bakteri pemfiksasi nitrogen yang bersimbiosis yang mencapai 24-584 kg N/ha/tahun. Inokulasi *Azotobacter* sp perlu dilakukan karena berperan sebagai agen peningkat pertumbuhan tanaman melalui produksi fitohormon yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman dan juga sejalan dalam konsep Mekanisme Pembangunan Bersih *clean development mechanism* (CDM) sebagai upaya untuk mengurangi emisi gas rumah kaca dengan meningkatkan serapan karbon (*carbon sequestration*) sehingga karbon berada dalam bentuk yang lebih stabil.

Bakteri penambat  $N_2$  *Azotobacter* adalah bakteri aerob yang mudah ditemukan di rizosfer berbagai tanaman. *Rhizobacteria azotobacter* dapat menambat  $N_2$  secara bebas meskipun kapasitas fiksasinya lebih rendah daripada bakteri simbiotik yang dapat menyediakan N terfiksasi sampai 100-300 kg N/ha (Wani *et al.*, 1995). Kontribusi N terfiksasi di tanah oleh bakteri pemfiksasi non-simbiotik hanya 10% dari total N terfiksasi (Roper and Ladha, 1995). Menurut Arjjumend (2006), *Azotobacter* dapat menyumbang N. *Azotobacter chroococcum* pada konsentrasi 108 CFU/ml meningkatkan perkecambahan benih jagung (Sachin & Misra, 2009). Respon positif telah diperlihatkan pula oleh tanaman sereal lain, yaitu gandum (*Triticum aestivum*), inokulasi meningkatkan hasil sekitar 15% (Abbasdokht, 2008). Konsorsium *Bradyrhizobium* dan *Azotobacter* telah

dibuktikan meningkatkan berat kering dan kandungan nitrogen tanaman kedelai (Milic *et al.*, 2002).

Bakteri penambat  $N_2$  seperti *Azotobacter chroococum*, *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter* sp, *Azospirillum* sp diketahui dapat meningkatkan hasil tanaman pangan dan hortikultura beragam (15–35%) melalui aktivitasnya dalam mengikat  $N_2$  dari udara dan menghasilkan hormon tumbuh pada tanah marjinal (Hindersah dan Simarmata, 2004).

*Rhizobacteria* pemfiksasi  $N_2$  aerob *Azotobacter* dapat memproduksi hormon sitokinin pada kondisi bebas nitrogen, giberelin (Hindersah dan Simarmata, 2004) dan auksin (Wedhastri, 2002). Sedangkan melalui rekayasa media produksi *A. vine-landii* terbukti dapat meningkatkan aktivitas enzim nitrogenase dalam memfiksasi  $N_2$ , konsentrasi IAA, sitokinin dan giberelin, dengan peningkatan rata-rata 50% dari kapasitas alaminya. Potensi alami genus *Azotobacter* sp masih dapat ditingkatkan melalui pemilihan sumber karbon yang tepat dan formulasi kebutuhan sumber karbon dan ko-faktor yang optimum sehingga dapat meningkatkan fiksasi nitrogenasinya (Suryatmana *et al.*, 2008). Dengan demikian, *Azotobacter* sp berpotensi digunakan sebagai pupuk hayati pada areal pertanaman teh.

Dalam kaitannya dengan kajian produksi hormon, pada 1999 telah berhasil didapatkan komposisi unsur hara makro dan mikro media bebas N untuk mengisolasi *Azotobacter chroococcum* penghasil hormon (Hindersah *et al.*, 1999). Dengan menggunakan media tersebut, telah diketahui pengaruh positif spesies tersebut terhadap perkembangan akar jagung dan telah dipelajari bahwa perkembangan akar

oleh bakteri tersebut disebabkan produksi hormon giberelin dan sitokinin yang dilepaskan ke dalam media pertumbuhan jagung (Hindersah *et al.*, 2003). Berdasarkan uji hayati menggunakan tanah steril, telah didapatkan beberapa isolat *Azotobacter* penghasil hormon sitokinin, giberelin serta auksin dari rizosfer padi sawah (Danapriatna *et al.*, 2010).

Hasil penelitian Laboratorium Biologi Tanah Unpad telah memperlihatkan bahwa inokulasi *Azotobacter* lebih efektif untuk meningkatkan populasinya pada tanah netral daripada tanah masam (*high acidity*). Pada tanah netral, inokulasi *Azotobacter* sebanyak 105 dan 106 CFU/g meningkatkan ketersediaan N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> sampai 8,23% dan 5,84% masing-masing dibandingkan dengan tanah yang tidak diinokulasi (Hindersah, 1999).

Berbagai bakteri yang menguntungkan aktivitasnya akan terhambat bila diintroduksi pada habitat bukan asalnya. Faktor kemasaman (pH) sangat membatasi aktivitas bakteri tersebut. Oleh karena itu, seleksi bakteri yang menguntungkan pada media tumbuh yang sesuai dengan media tumbuh tanaman teh akan sangat berguna untuk menjaring bakteri potensial yang cocok diaplikasikan pada lahan Andisol.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian kedua ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi dan Bioteknologi Tanah Universitas Padjadjaran, Bandung. *Azotobacter* sp indigen dan eksogen yang digunakan merupakan isolat terpilih hasil dari penelitian pertama, *Azotobacter vinelandii*, *Azotobacter* N.D.93 (eksogen) dan *Azotobacter* kedelai II, serta *Azotobacter* sp

dengan kode III-2, I-1, V-2, dan II-1 (indigen). Isolat dikoleksi pada agar miring media Ashby dengan komposisi sesuai dengan Atlas (1993).

Tanah Andisol yang digunakan pada penelitian ini disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 212<sup>0</sup>C selama 30 menit. Tanah steril sebanyak 100 g dimasukkan ke dalam wadah gelas plastik yang telah disterilkan dengan kloroks 5% dan dibilas dengan aquades. Suspensi bakteri setiap isolat indigen maupun eksogen diinokulasikan pada tanah steril sebanyak 1% (1 ml mikroba dalam 100 g tanah) dengan kepadatan populasi 1,2 x 10<sup>11</sup> CFU/ml yang diukur menggunakan hemocitometer. Tanah yang sudah diinokulasi diinkubasikan selama lima hari.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap dengan 11 perlakuan dan setiap perlakuan diulang tiga kali dengan susunan perlakuan sebagai berikut:

1. Kontrol negatif (tanpa media Ashby steril)
2. Kontrol positif (dengan media Ashby steril)
3. A. kedelai II
4. *A. vinelandii*
5. A. N.D.9.3
6. A. padi
7. VI-1
8. II-1
9. V-2
10. I-1
11. III-2

Setelah diinkubasi selama lima hari, dihitung kadar nitrogen total tanah menggunakan metode Kjeldahl di Laboratorium Pelayanan Pusat Penelitian Teh dan Kina. Data diolah dengan menggunakan analisis

sidik ragam (ANOVA) dengan uji beda Duncan dan uji gugus Scott Knott. *Azotobacter sp* terbaik pada setiap kelompok indigen dan eksogen diperoleh dengan cara uji perbandingan ortogonal.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi bakteri penambat nitrogen (*Azotobacter sp*) dilakukan berdasarkan kemampuannya dalam meningkatkan N-total tanah pada media tanah steril yang telah diinokulasi isolat-isolat tunggal *Azotobacter sp* yang terseleksi pada penelitian sebelumnya. Setelah diinkubasi selama lima hari, hasil analisis kadar nitrogen tanahnya ditampilkan pada Tabel 1

Setelah dianalisis sidik ragamnya, diperoleh koefisien keragamannya (CV)

2,643% dengan hasil sangat signifikan bahwa terdapat perbedaan N-total tanah pada setiap perlakuan (Lampiran 1). Dari Tabel 1 diperoleh bahwa *Azotobacter sp* dengan kode II-1 yang merupakan mikroba indigen memiliki kadar N-total tanah tertinggi. Secara rata-rata, *Azotobacter sp* indigen memiliki kadar N-total tanah lebih tinggi 7,67% dibandingkan *Azotobacter sp* eksogen. Hal ini berarti bahwa *Azotobacter sp* indigen lebih efektif dalam memfiksasi nitrogen secara non-simbiotik dibandingkan *Azotobacter sp* unggulan eksogen. *Azotobacter sp* eksogen diperoleh dari areal pertanaman pangan dan hortikultura yang memiliki pH relatif netral dibandingkan areal pertanaman teh yang memiliki pH 4,5–5,6, pH tanah sangat berpengaruh terhadap spektrum psikologikal, morfologi, dan respon metabolik dari mikroba. Mekanisme pertahanan bakteri terhadap pH rendah.

**TABEL 1**

Kadar N total (%) tanah pada tiap perlakuan

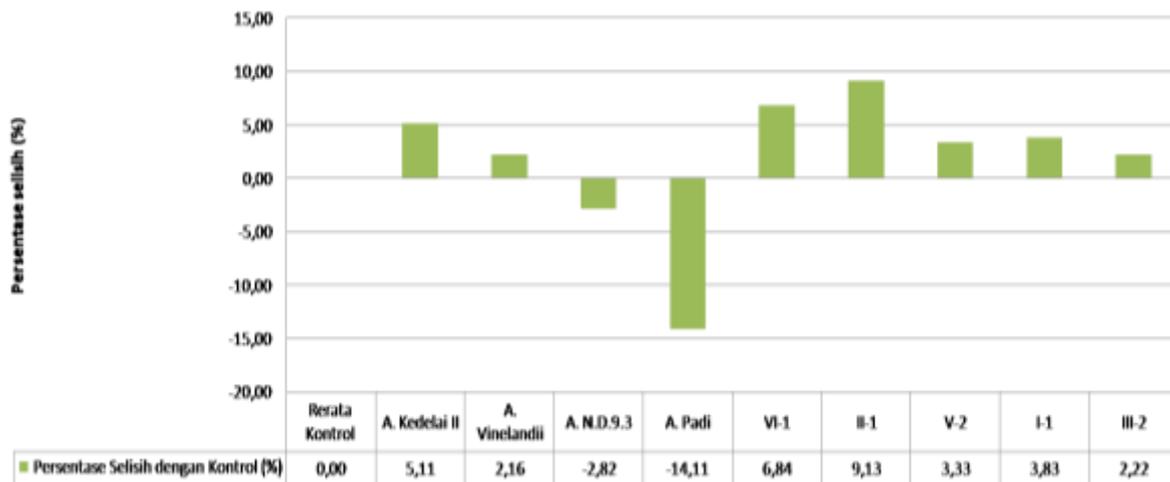
No.	Perlakuan		Rerata N total (%) tnh	Notasi Uji Duncan	Notasi Uji Scott Knott
	Jenis	Kode			
1	Kontrol negatif	A	0,7778	BC	B
2	Kontrol positif *	B	0,7859	BCD	B
3	A. Kedelai II	C	0,8218	DEF	B
4	A. Vinelandii	D	0,7987	CDE	B
5	A. N.D.9.3	E	0,7598	B	B
6	A. Padi	F	0,6716	A	A
7	VI-1	G	0,8353	EF	B
8	II-1	H	0,8532	F	B
9	V-2	I	0,8079	CDE	B
10	I-1	J	0,8118	CDE	B
11	III-2	K	0,7992	CDE	B

Keterangan:

\* = hanya media Ashby steril.

Huruf yang sama pada kolom Notasi menunjukkan bahwa perlakuan tersebut tidak berbeda nyata berdasarkan uji beda Duncan dan Scott Knott

**Persentase selisih kadar N-total tanah tiap perlakuan dengan kontrol (%)**



**GAMBAR 1**

Persentase selisih kadar N-total tanah tiap perlakuan dengan kontrol.

Menurut Bartha dan Atlas (1993), bakteri tanah tersebut mempunyai sitoplasma yang terjaga dalam kondisi hampir netral atau membentuk ATP yang khemio-statik. Mazinani *et al.* (2012) menyatakan bahwa terdapat korelasi yang nyata antara pH tanah, total nitrogen, dan bahan organik dengan populasi mikroba dengan koefisien korelasi masing-masing 0,92; 0,95; dan 0,73. Walaupun beberapa penelitian mengindikasikan bahwa *Azotobacter* sp jarang ditemukan pada pH yang rendah, tetapi hal ini merupakan dasar penemuan baru yang berpotensi menghasilkan biofertilizer berbahan aktif *Azotobacter* sp indigen pada areal pertanaman teh.

Kadar N-total tanah yang dihasilkan melalui fiksasi *Azotobacter* sp secara matematis dapat diketahui dengan menghitung selisih tiap perlakuan dengan kadar N total tanah pada kontrol, baik kontrol negatif maupun positif. Persentase selisih tersebut ditampilkan pada Gambar 1. Dari Gambar 1 terlihat bahwa urutan *Azotobacter* sp yang memiliki fiksasi nitrogen tertinggi secara

berurutan, yaitu pada *Azotobacter* sp indigen dengan kode II-1 (0,0714% N) dan VI-1 (0,0535% N), serta *Azotobacter* sp eksogen dengan kode A. kedelai II sebesar 0,040% N.

Pada Gambar 1 juga terlihat bahwa *Azotobacter* sp eksogen dengan kode A. N.D.9.3 dan A. padi menghasilkan kadar N total tanah yang lebih rendah dibanding dengan kontrol. Hal ini mengindikasikan bahwa pada kedua *Azotobacter* sp eksogen tersebut selama lima hari inkubasi belum dapat memfiksasi nitrogen dari udara, dan bahkan memanfaatkan kandungan nitrogen yang terdapat pada tanah untuk metabolismenya.

Uji perbandingan ortogonal (Lampiran 2) yang dilakukan menghasilkan bahwa *Azotobacter* sp indigen yang terbaik adalah mikroba dengan kode II-1, sedangkan mikroba eksogen terbaik dalam menghasilkan nitrogen total tanah pada areal pertanaman teh adalah *Azotobacter* sp dengan kode A. kedelai II.

## KESIMPULAN

*Azotobacter sp indigen* memiliki kapasitas penambatan nitrogen sebesar 7,67% lebih tinggi dibandingkan *Azotobacter sp eksogen* dalam pertumbuhannya pada tanah Andisol areal pertanaman teh yang memiliki pH 4,5–5,6. *Azotobacter sp indigen* yang terbaik adalah mikroba dengan kode II-1, sedangkan mikroba eksogen terbaik adalah *Azotobacter sp* dengan kode A. kedelai II.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbasdokht, H. 2008. The Study of *Azotobacter-chroococum* Inoculation on Yield and Post Harvest Quality of Wheat (*Triticum aestivum*). *International Meeting on Soil Fertility Land Management and Agroclimatology*.
- Arjjumend, H. 2006. *Agro Technology of Organic Farming*. Grassroots Institute. New Delhi
- Atlas, R. M. 1993. *Hand Book of Microbiological Media*. CRC Press. Boca Roton, Florida. Edited by Lawrence C. Parks.
- Bartha, R., dan R.M. Atlas. 1993. *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*. Edisi ketiga. The Benjamin/Cummings Publish. Co. Inc. California.
- Danapriatna, N., R. Hindersah, dan Y. Satrio. 2010. Pengembangan pupuk hayati *Azotobacter* dan *Azospirillum* untuk meningkatkan produktivitas dan efisiensi penggunaan pupuk N di atas 15% pada tanaman padi. *Laporan Penelitian KKP3T Badan Litbang Deptan*. LPPM Unisma. Bekasi.
- Himpunan Mahasiswa Pertanian (Himatan) UNPAD, 2012. Nitrogen dan *Azotobacter*. *Internet*. <https://sites.google.com/site/aboutfapertaunpad/himatan/-Nitrogenandazotobacter>. Diakses 5 Januari 2013
- Hindersah, R. 1999. Penentuan teknik isolasi dan media pertumbuhan bakteri *Azotobacter chroococum*. *Prosiding Kongres Nasional Himpunan Ilmu Tanah Indonesia*. Bandung, 11-13 November.
- Hindersah, R., M.R. Setiawati, dan A. Yuniarti. 1999. Pengaruh pH tanah dan kepadatan inokulan *Azotobacter* terhadap populasi *Azotobacter*, ketersediaan N tanah, serapan N dan berat kering tajuk tomat. *Prosiding Kongres Nasional Himpunan Ilmu Tanah Indonesia*. Bandung, 11-13 November.
- Hindersah, R., B.N. Fitriatin, dan M.R. Setiawati, 2003. *Azotobacter* application in agricultural soil management. *Proceeding International Conference on Environment and Urban Management*, Semarang, 1-2 Agustus.
- Hindersah, R. dan T. Simarmata. 2004. Kontribusi *Rhizobacteria azotobacter* dalam meningkatkan kesehatan tanah melalui fiksasi N<sub>2</sub> dan produksi fitohormon di rizosfir. *Jurnal Natur Indonesia* 6: 127-133.
- Mazinani, Z., Mehdi Aminafshar, Ahmad Asgharzadeh, dan M. Chaemani, 2012. Effect of *Azotobacter* popu-

- lation on physico-chemical characteristics of some soil samples in Iran. *Annals. of Biological Research* 3(7): 3120-3125.
- Milic, V., N. Mrkovacki, M. Popovic, dan D. Malencic. 2002. Nodule efficiency of three soybean genotypes inoculated by different methods. *Rostlinna Vyroba* 48(8): 356-360.
- Pranoto, E. dan Mieke R. Setiawati. 2014. Seleksi *Azotobacter* sp indigen dan eksogen tanaman teh pada media pertumbuhan dengan pH 5,0 dan pH standar. *Laporan penelitian (dalam proses publikasi)*.
- Roper, M.M. dan J.K. Ladha. 1995. Biological N<sub>2</sub> fixation by heterotrophic phototrophic bacteria in association with straw. *Plant & Soil* 174(1-2): 211-224.
- Sachin, D.N., and P. Misra. 2009. Effect of *Azotobacter chroococcum* (PGPR) on the Growth of Bamboo (*Bambusa bamboo*) and Maize (*Zea mays*) Plants. *Biofrontiers* 1(1): 24-31.
- Setiawati, M.R., Dedeh H. A, Pujawati S., dan Ridha H. 2009. *Formulasi Pupuk Hayati Bakteri Endofitik Penambat N<sub>2</sub> dan Aplikasinya untuk Meningkatkan Hasil Tanaman Padi*. Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Bandung
- Suryatmana, P., R. Hindersah, dan A. Yusuf. 2008. Pemanfaatan molase sebagai bahan baku media produksi *Azotobacter*. LPP Unpad.
- Wani, S.P., O.P. Rupela, dan K.K. Lee. 1995. Sustainable agriculture in semi arid tropics thorough biological Nitrogen fixation in grain legumes. *Plant and Soil* 174(1-2): 29-49.
- Wedhastri, W. 2002. Isolasi dan seleksi *Azotobacter* spp. Penghasil tanda tumbuh dan penambat Nitrogen dari tanah masam. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan* 3(1): 45-51.
- Zinniel, D.K., Lambrecht, P., Harris, N.B., Feng, Z., Kuczmarski, D., Higley, P., Ishimaru C.A., Arunakumari, A., Barletta, R. G., dan Vidaver<sup>1</sup>, A. K. 2002. Isolation and Characterization of Endophytic Colonizing Bacteria from Agronomic Crops and Prairie Plants. *Applied and Environmental Microbiology* 68(5).