

PERKEMBANGAN BINTIL AKAR PADA SEMAI SENGON LAUT (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen)

Ramdana Sari* dan Retno Prayudyaningsih

Balai Litbang Lingkungan Hidup dan Kehutanan Makassar
Jl. P. Kemerdekaan Km 16 Makassar, Sulawesi Selatan, 90243
Telp. (0411) 554049, Faks. (0411) 554058
*E-mail: ramdana_sari@yahoo.co.id

ABSTRAK

*Pembentukan bintil akar pada legum terjadi melalui kontak molekular antara rhizobia (mikrosimbion) dengan legum (makrosimbion), seperti pada jenis sengon laut (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen). Kontak terjadi ketika akar mensekresikan berbagai macam senyawa (eksudat akar) yang dikenali oleh bakteri sehingga mampu menginfeksi akar. Jumlah dan macam eksudat akar yang dihasilkan tanaman dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik lingkungan, serta jenis dan umur tanaman. Faktor-faktor tersebut tentu saja juga berpengaruh terhadap pembentukan dan perkembangan bintil akar. Informasi pembentukan dan perkembangan bintil akar pada berbagai umur tanaman masih sangat terbatas. Tulisan ini bertujuan menjelaskan perkembangan bintil akar sengon laut pada umur semai yang berbeda. Pengamatan dilakukan setiap minggu setelah benih berkecambah untuk melihat pembentukan awal dan perkembangan bintil akar. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sengon laut memiliki tipe bintil akar indeterminate. Awal terbentuknya bintil akar terjadi ketika semai berumur 2 minggu. Jumlah bintil akar relatif meningkat seiring bertambahnya umur semai. Rerata jumlah bintil akar semai adalah 0,33; 1,00; 3,33; 3,33; 2,67; 3,33; 5,00; 4,67; 2,33; 4,67 dan 6,33 (umur semai 2-12 minggu). Informasi awal terbentuknya bintil akar dapat menjadi dasar waktu yang tepat untuk penyapihan dan pemberian inokulum rhizobia pada sengon laut, yaitu pada minggu ke 2-3 setelah berkecambah.*

Kata kunci: *Sengon laut (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen), eksudat akar, bintil akar, rhizobia.*

I. PENDAHULUAN

Rhizobia merupakan salah satu mikroba tanah yang berperan penting dalam siklus hara nitrogen di alam. Bakteri ini mampu mengkolonisasi rhizosfer, menginfeksi akar legum, dan memfiksasi nitrogen pada saat simbiosis dengan legum berlangsung. Fiksasi nitrogen terjadi dengan mengubah nitrogen bebas menjadi ammonia (NH_4^{++}) dan nitrat (NO_3^-) yang dapat dimanfaatkan langsung oleh tanaman inang (Gothwal *et al.*, 2008). Legum merupakan makrosimbion dari rhizobia yang memiliki jenis tanaman beragam di dunia dan tersebar luas di daerah tropis. Salah satu jenis legum yang memiliki pertumbuhan cepat adalah sengon laut (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen). Meskipun demikian, pertumbuhan tanaman ini terkadang mengalami hambatan jika ditanam pada lahan marginal seperti lahan bekas tambang. Kondisi tanah yang miskin unsur hara merupakan salah satu faktor yang membatasi pertumbuhan tanaman. Selain itu, struktur tanah yang padat menyebabkan akar sukar berpenetrasi ke dalam tanah sehingga daerah penyerapan air dan unsur hara berkurang. Dengan bantuan bakteri rhizobia yang berasosiasi pada akarnya, sengon laut mampu memperoleh unsur hara nitrogen dengan menambat nitrogen dari atmosfer. Selain itu, hormon *Indole Acetic Acid* (IAA) yang dihasilkan rhizobia mampu merangsang terbentuknya akar tanaman inang sehingga penyerapan air dan nutrisi meningkat (Larosa *et al.* 2013). Oleh karena itu, simbiosis sengon laut dan rhizobia sangat penting dalam meningkatkan kesuburan tanah sehingga banyak diaplikasikan pada rehabilitasi lahan kritis.

Interaksi sengon laut-rhizobia menyebabkan terbentuknya tonjolan kecil di akar yang disebut dengan bintil akar. Pembentukan bintil akar terjadi melalui kontak molekular antara bakteri rhizobia dengan sengon laut. Kontak tersebut diperlukan untuk saling mengenali calon mitra simbiosis yang sesuai dan efektif. Akar tanaman secara aktif mensekresikan berbagai macam senyawa ke dalam tanah yang disebut eksudat akar. Peran eksudat akar antara lain melumasi ujung akar dan

melindungi akar dari kekeringan (desikasi) serta menstabilkan agregat mikro tanah. Selain itu, eksudat akar akan menyebabkan terjadinya interaksi antara tanaman dengan mikroba melalui pertukaran senyawa di rhizosfer. Widyati (2017) menyatakan terbentuknya akar benih yang berkecambah pada tanah menjadi awal terbentuknya rhizosfer akibat sekresi eksudat akar secara terus menerus yang awalnya bertujuan untuk memudahkan akar menembus tanah. Jumlah dan macam eksudat akar yang dihasilkan tanaman dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik lingkungan, serta jenis dan umur tanaman (Badri dan Vivanco, 2009).

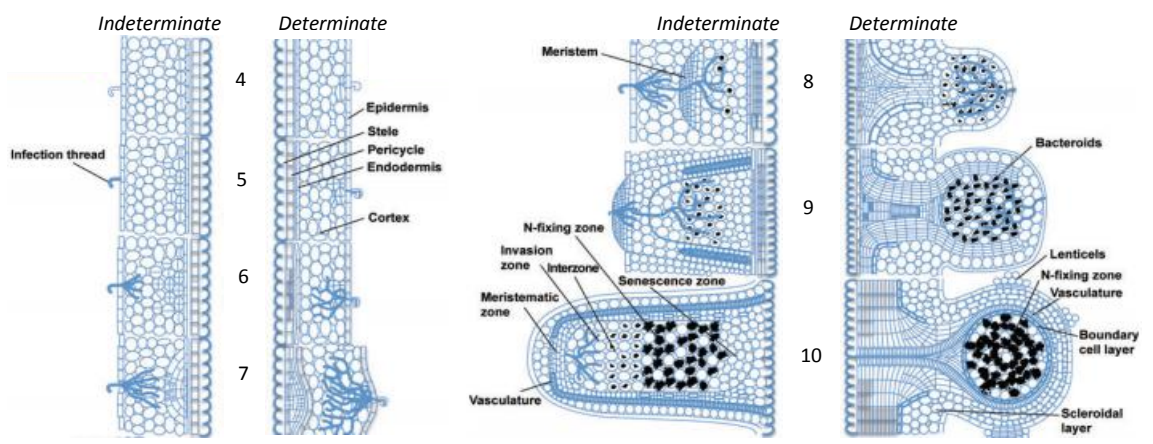
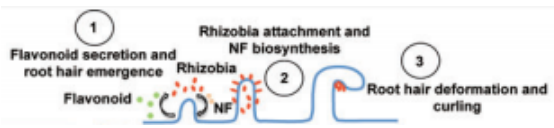
Informasi mengenai pembentukan bintil akar sengon laut pada berbagai umur semai masih terbatas. Tulisan ini bertujuan untuk membahas inisiasi awal pembentukan bintil akar pada semai sengon laut. Pengamatan akar semai dilakukan setiap minggu setelah perkecambahan untuk melihat pembentukan awal bintil akar. Informasi awal terbentuknya bintil akar dapat menjadi dasar waktu yang tepat untuk penyapihan dan pemberian inokulum rhizobia pada tanaman.

II. KARAKTERISTIK BINTIL AKAR PADA LEGUM

Rhizobia masuk ke dalam akar melalui rambut akar dan retakan di jaringan epidermis akar (Oldroyd dan Downie, 2008). Perkembangan bintil akar mulai terjadi saat sel korteks terangsang membelah secara mitotik membentuk calon bintil yang diikuti oleh masuknya bakteri rhizobia ke dalam sel-sel tersebut (Purwaningsih *et al.*, 2012). Meristem bintil akar yang terbentuk kemudian berkembang menjadi jaringan yang berbeda. Bintil akar yang telah berkembang sempurna menunjukkan 2 tipe jaringan utama yang mudah dikenali, yaitu jaringan pusat dan jaringan perifer (Nap dan Bisseling, 1990). Jaringan perifer terdiri dari korteks dan endodermis, selain itu parenkim juga terbentuk (berisi *bundel vascular*) yang menghubungkan bintil dengan stele.

Bintil akar legum terdiri dari dua jenis berdasarkan periode pertumbuhan bintil, yaitu bintil *indeterminate* dan

determinate. Bintil *determinate* berbentuk bulat sedangkan *indeterminate* memiliki sumbu dan memanjang dengan meristem pada bagian apikal dari bintil (Puppo *et al.*, 2005). Jaringan pusat pada bintil akar memiliki karakteristik yang khas. Jaringan pusat pada bintil tipe *indeterminate* memiliki 3 zona perkembangan yang dapat dibedakan. Pada zona invasi yang berbatasan dengan meristem, terjadi pelepasan bakteri dari benang infeksi yang terus menginfeksi sel-sel baru. Sekitar setengah dari sel-sel ditembus oleh benang infeksi dan sebagian sel tetap tidak terinfeksi. Zona invasi diikuti oleh zona simbiotik awal dimana sel-sel tanaman memanjang dan bakteri berproliferasi. Pada zona simbiotik akhir, sel-sel yang telah terinfeksi sepenuhnya diisi oleh bakteri yang memiliki bentuk khas disebut bakteroid. Fiksasi nitrogen berlangsung pada zona simbiotik akhir. Pada bintil akar yang sudah tua, zona keempat terbentuk, saat sel tanaman dan bakteroid mengalami degenerasi (Ferguson *et al.*, 2010). Proses terbentuknya bintil akar tipe *indeterminate* dan *determinate* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbedaan bintil akar *indeterminate* dan *determinate* (Ferguson *et al.*, 2010)

Ferguson *et al.* (2010) menjelaskan ketika bakteri telah masuk ke dalam sel maka terjadi pembelahan awal sel kortikal *anticlinal* (tahap 4). Pembelahan sel periklinal terus berlangsung sampai terbentuk benang infeksi (5). Selanjutnya benang infeksi mengalami perkembangan hingga keluar korteks (6). Benang infeksi kemudian bertambah panjang hingga menembus korteks bagian dalam dan menuju primordium bintil akar (7). Bakteri selanjutnya melakukan pembelahan dan akhirnya terjadi diferensiasi bakteroid (8). Invasi rhizobia terus berlangsung dan terjadi pematangan bintil akar (9-10).

Bintil akar dengan tipe *determinate* tidak memiliki meristem yang persisten. Oleh karena itu, perkembangan pembentukan akhir dari bintil akar berbeda dengan tipe *indeterminate*. Semua sel pada jaringan pusat dalam bintil *determinate* tunggal mengalami kemajuan tahap perkembangan yang sama (Newcomb, 1981 dalam Nap dan Bisseling, 1990). Sel-sel kecil yang tidak terinfeksi ditemukan berada di antara sel-sel yang terinfeksi pada jaringan pusat dari bintil tipe *determinate* dan berperan dalam asimilasi *ureida* (senyawa kimia yang kaya akan nitrogen) dari nitrogen bebas (N_2) yang difiksasi (Schubert, 1986). Sedangkan sel-sel yang tidak terinfeksi pada bintil tipe *indeterminate* tidak memiliki peran dalam proses fiksasi nitrogen.

III. PEMBENTUKAN AWAL BINTIL AKAR PADA SEMAI SENGON LAUT

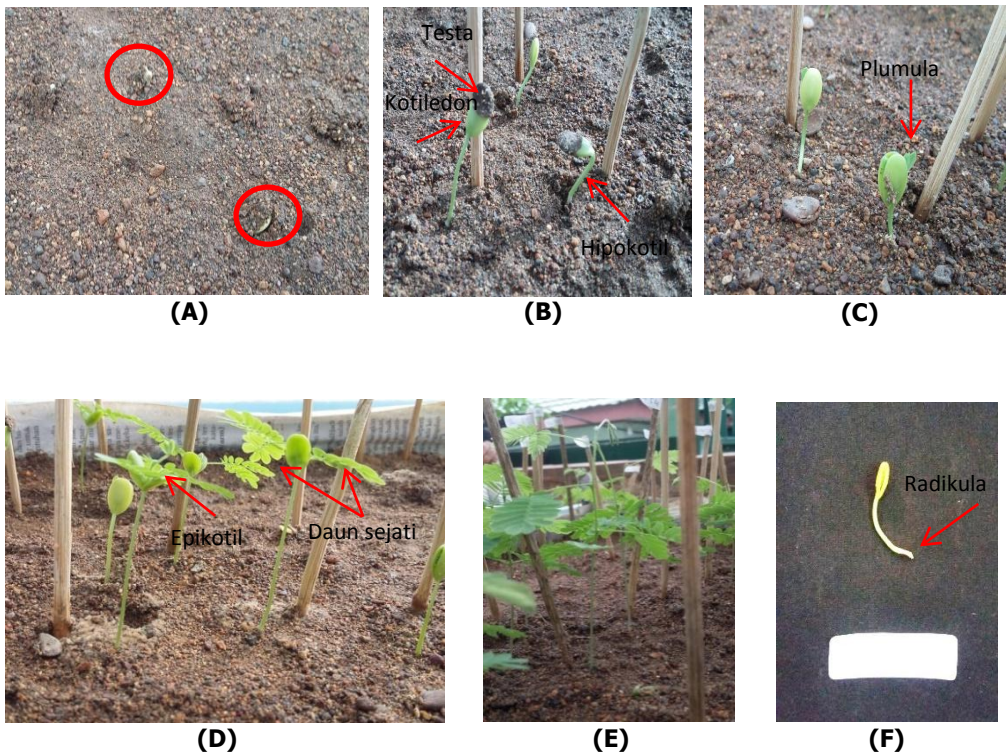
Biji sengon laut yang ditabur diseleksi terlebih dahulu dengan memperhatikan kondisi biji. Biji yang dipilih adalah biji yang padat dengan permukaan yang licin. Biji yang terpilih kemudian direndam ke dalam larutan H_2O_2 10% selama 5 menit untuk menghilangkan kontaminan yang dapat mengganggu perkecambahan biji. Biji selanjutnya diskarifikasi dengan

melakukan perendaman di air mendidih dan dibiarkan dingin. Selanjutnya perendaman dilakukan selama 24 jam. Biji yang melayang di dalam air dibuang. Biji yang telah direndam kemudian dideder pada bak kecambah plastik yang berisi pasir. Jarak antar biji yang dideder adalah 5 cm. Hal ini dilakukan agar akar tiap semai tidak saling mengganggu.

Biji sengon laut pertama kali berkecambah pada hari ke-3 setelah penaburan. Meskipun perkecambahan tidak terjadi secara serentak. Tahapan proses perkecambahan secara umum yaitu (Siregar dan Utami, 1994 dalam Mudiana, 2007):

- a. Penyerapan air oleh biji menyebabkan kulit biji menjadi lunak.
- b. Aktivitas sel dan enzim di dalam biji mulai terjadi. Tahap ini secara morfologis dapat diamati dengan mulai terbentuknya *hypocotyl* dan *cotyledon* (daun lembaga)
- c. Penguraian komponen kimia kompleks (karbohidrat, protein dan lemak) menjadi unsur yang lebih sederhana untuk ditranslokasikan ke titik-titik tumbuh. Penyusutan keping lembaga seiring dengan mulai terbentuknya *paracotyledon* yang menyerupai daun tersusun berhadapan.
- d. Proses asimilasi mulai terjadi untuk menghasilkan energi bagi pertumbuhan sel-sel baru. Pembentukan calon daun muda mulai terlihat.
- e. Kecambah kemudian berkembang melalui proses pembelahan, pembesaran, dan pembagian sel. Tahap ini ditandai dengan terbentuknya daun.

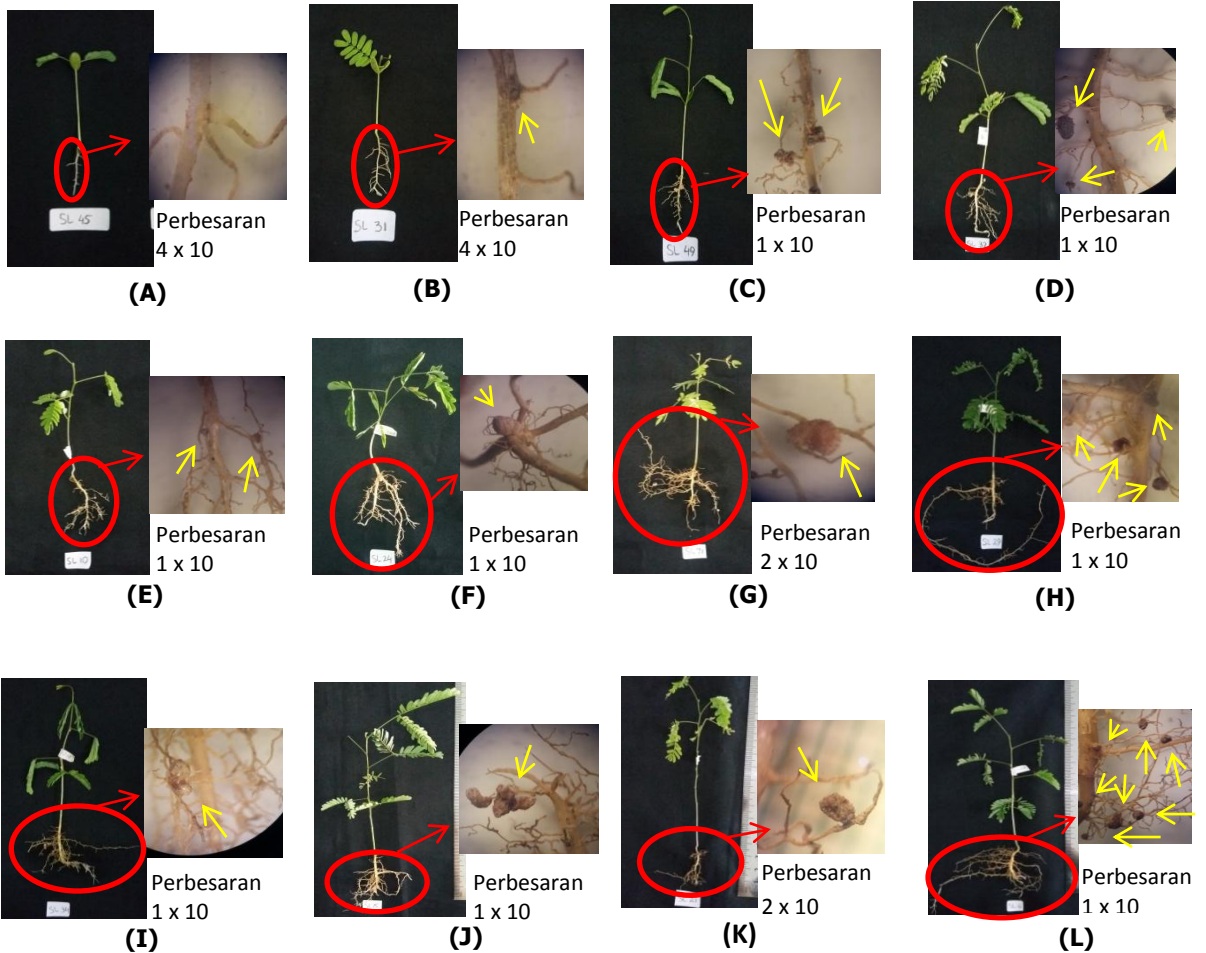
Perkecambahan biji sengon laut pada awalnya ditandai dengan munculnya hipokotil ke atas permukaan tanah. Keping lembaga pada awalnya hanya terlihat sebagai tonjolan kecil berwarna hijau muda, namun hipokotil selanjutnya bertambah panjang dan semakin terangkat ke tanah (Gambar 2). Tjitrosoepomo (1999) menyatakan proses perkecambahan seperti ini bersifat *epigeal*, artinya keping lembaga terangkat ke atas permukaan tanah. Epikotil selanjutnya tumbuh menjadi daun pertama sementara keping lembaga yang berisi cadangan makanan kemudian menyusut seiring terbentuknya daun dan akar baru (Mudiana, 2007).





Gambar 2. Perkembangan epigeal sengon laut (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen); (A) kotiledon mulai terangkat di atas permukaan tanah; (B) hipokotil memanjang, kulit biji (testa) belum terlepas; (C) plumula mulai terbentuk; (D) daun sejati mulai terbentuk; (E) kotiledon sudah terlepas dari semai; (F) kecambah Sengon laut berumur 4 hari

Tahap awal pembentukan bintil akar semai berbeda-beda pada tiap jenis legum. Umumnya bintil akar terbentuk 5-6 hari setelah inokulasi rhizobia (Dierolf *et al.*, 2001 dalam Purwaningsih *et al.*, 2012). Sedangkan informasi mengenai pembentukan awal bintil pada legum secara alami masih terbatas. Pembentukan bintil pada sengon laut secara alami menggunakan media pasir yang telah disterilkan terlebih dahulu. Pengamatan akar dimulai saat semai berumur 1

minggu, dan selanjutnya diamati tiap minggu selama 12 minggu. Perkembangan akar dan pembentukan awal bintil akar dapat dilihat pada Gambar 3.



Keterangan :  Pengamatan akar di bawah mikroskop
 Bintil akar

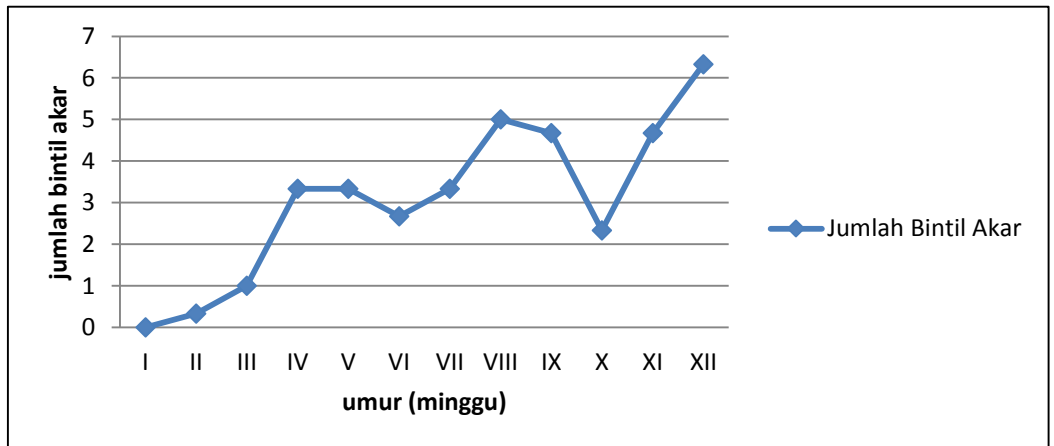
Gambar 3. Perkembangan bintil akar pada sengon laut (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) (A) akar kecambah minggu I; (B) akar kecambah minggu II; (C) akar kecambah minggu III; (D) akar kecambah minggu IV; (E)

akar kecambah minggu V; (F) akar kecambah minggu VI; (G) akar kecambah minggu VII; (H) akar kecambah minggu VIII; (I) akar kecambah minggu IX; (J) akar kecambah minggu X; (K) akar kecambah minggu XI; (L) akar kecambah minggu XII

Kecambah merupakan tumbuhan kecil yang baru muncul dari biji dan hidupnya masih tergantung pada persediaan makanan yang terdapat dalam biji (Tjitrosoepomo, 1999 dalam Mudiana, 2007). Akar kecambah yang berumur 1 minggu berwarna putih. Pertumbuhan akar umumnya masih terbatas pada proses pemanjangan batang akar, sedangkan akar lateral yang terbentuk masih sedikit. Bintil akar juga belum terbentuk. Pada tahap ini, kecambah masih bergantung terhadap kotiledon yang berfungsi sebagai tempat menyimpan cadangan makanan. Pada minggu kedua pengamatan, kotiledon sudah terlepas dan daun sejati sudah terbentuk. Tahap ini merupakan proses perkembangan kecambah menjadi semai. Semai sudah mampu menyusun makanannya sendiri melalui proses fotosintesis. Akar lateral semai sudah banyak muncul dari batang akar. Pembentukan awal bintil akar terjadi pada semai umur 2 minggu. Bintil akar yang terbentuk masih kecil dan hanya bisa diamati di bawah mikroskop. Bintil akar yang terbentuk sudah bisa diamati langsung (tanpa menggunakan mikroskop) saat semai berumur 3 minggu. Bintil akar yang terbentuk umumnya berada pada bagian akar dekat dengan permukaan tanah. Hal ini disebabkan karena bakteri rhizobia yang mengkolonisasi akar membutuhkan oksigen (aerob) untuk melakukan proses metabolisme. Jumlah bintil akar yang terbentuk pada beberapa tingkatan umur semai sengon laut dapat dilihat pada Gambar 4.

Umumnya jumlah bintil akar yang terbentuk mengalami peningkatan seiring bertambahnya umur semai, kecuali pada semai yang berumur 6 dan 10 minggu. Kecambah yang diamati pada tingkatan umur tersebut mengalami pertumbuhan yang tidak baik. Kecambah tumbuh pada pinggir bak kecambah dan menyebabkan akar tidak berkembang sempurna (Gambar 5).

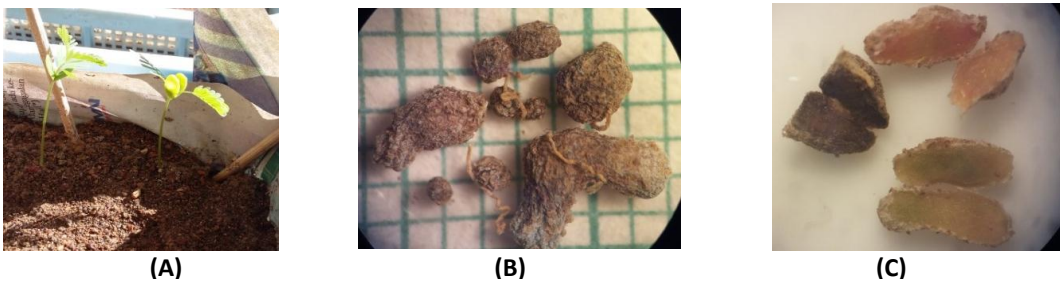
Hal ini tentu saja mempengaruhi proses pembentukan bintil akar.



Gambar 4. Pembentukan bintil akar pada beberapa tingkatan umur semai sengon laut (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen)

Bintil akar sengon laut memiliki tipe *indeterminate* dengan banyak percabangan pada bintil. Pengelompokan bintil akar ini berdasarkan Howieson dan Dilworth (2016) dalam buku *Working With Rhizobia*. Howieson dan Dilworth (2016) menyatakan tipe bintil seperti ini umum ditemukan pada semua subfamily dari Leguminoceae. Bintil akar yang terbentuk pada akar semai tidak menunjukkan semua aktif dalam memfiksasi nitrogen. Hal ini dapat dilihat ketika bintil dibelah. Pengamatan yang dilakukan pada bintil akar sengon laut setelah dibelah menunjukkan beberapa bintil memiliki bagian dalam berwarna merah muda, hijau, dan hitam (Gambar 5). Warna bintil akar setelah dibelah dapat menjadi salah satu indikator keaktifan dari bintil akar dalam memfiksasi nitrogen. Howieson dan Dilworth (2016) bahwa bagian dalam dari bintil yang berwarna merah atau merah muda setelah dibelah mengandung pigmen leghemoglobin dan sekaligus menunjukkan ciri-ciri bintil akar yang telah matang. Rao (1994) menyatakan bintil akar yang

efektif umumnya berukuran besar dan berwarna merah muda karena mengandung pigmen *leghemoglobin* (gugus heme menempel ke protein globin) yang berwarna di dalam jaringan *bakteroid*. Sedangkan bintil dengan bagian dalam yang berwarna hijau diduga belum aktif dalam menambat nitrogen (Nugroho, 2018). Rao (1994) menambahkan bintil akar yang tidak efektif berukuran kecil dan mengandung jaringan *bakteroid* yang tidak dapat berkembang dengan baik karena struktur bintilnya tidak normal. Bintil akar yang telah tua akan mengalami *senescen*. Dierolf *et al.* (2001) dalam Purwaningsih *et al.* (2012) menyatakan *bakteroid* dan *leghemoglobin* akan mengalami degradasi sehingga bintil akar berwarna cokelat atau hitam.



Gambar 5. (A) kecambah yang tumbuh pada pinggir bak kecambah; (B) bintil akar sengon laut (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) dengan tipe *indeterminate*; (perbesaran 2 x 10) (C) bintil akar yang telah dibelah menunjukkan warna yang berbeda (perbesaran 2 x 10).

Pada dasarnya pigmen *leghemoglobin* tidak berperan langsung terhadap proses fiksasi nitrogen tapi berfungsi untuk mengatur masuknya oksigen ke dalam *bakteroid* pada tingkat optimum yang kondusif sehingga sistem pemfiksasian nitrogen dapat berlangsung dengan baik (Subantoro dan Prabowo, 2012). Rhizobia merupakan bakteri aerob yang membutuhkan

oksigen dalam proses metabolismenya, sehingga keberadaan oksigen sangat baik dalam perkembangan *bakteroid*. Akan tetapi peran enzim nitrogenase sebagai katalisator terjadinya fiksasi nitrogen akan terhambat dengan keberadaan oksigen. Hidayatullah *et al.* (2017) menyatakan oksigen akan bereaksi dengan gugus metal pada enzim nitrogenase dan menyebabkan enzim menjadi tidak aktif dan mengalami reaksi *irreversible*. Oleh karena itu, peran pigmen *leghemoglobin* sangat penting dalam melindungi enzim nitrogenase yang labil terhadap oksigen dan sekaligus menyediakan oksigen untuk *bakteroid*. Bakteri rhizobia hanya dapat menambat nitrogen ketika bersimbiosis dengan tanaman legum, sebaliknya tanpa rhizobia tanaman legum juga tidak dapat memfiksasi nitrogen.

IV. KESIMPULAN

Proses terbentuknya bintil akar pada kecambah sengon laut (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) dimulai pada umur 2 minggu. Bintil akar sengon laut termasuk tipe *indeterminate* yang memiliki banyak cabang. Jumlah bintil akar relatif meningkat seiring bertambahnya umur semai. Rerata jumlah bintil akar semai adalah 0,33; 1,00; 3,33; 3,33; 2,67; 3,33; 5,00; 4,67; 2,33; 4,67 dan 6,33 (umur semai 2-12 minggu). Bintil akar yang terbentuk tidak menunjukkan semua efektif dalam menambat nitrogen. Hal ini dapat dilihat dari ciri makroskopik bintil akar setelah dibelah, yaitu ada yang berwarna merah muda (efektif menambat nitrogen), warna hijau (bintil masih muda, belum efektif menambat nitrogen) dan warna hitam (bintil sudah tua, tidak aktif lagi menambat nitrogen). Simbiosis legum-rhizobia sangat penting dalam siklus nitrogen di alam. Rhizobia tidak mampu memfiksasi nitrogen ketika berada di luar akar legum dan legum juga tidak mampu memfiksasi nitrogen tanpa bantuan rhizobia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Andi Sri Rahmah Dania, S.Si yang telah membantu dalam pengamatan pembentukan dan perkembangan bintil akar pada semai sengon laut (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) di *Greenhouse* dan Laboratorium Mikrobiologi Balai Penelitian dan Pengembangan Lingkungan Hidup dan Kehutanan Makassar.

DAFTAR PUSTAKA

- Badri, D. V. and Vivanco, J. M. 2009. Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell and Environment*, 33 (6): 666-681.
- Ferguson, B. J., A. Indrasumunar, S. Hayashi, M. Lin, Y. Lin, D. E. Reid and P. M. Gresshoff. 2012. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52 (1): 61-76.
- Gothwal, R. K., V. K. Nigam, M. K. Mohan, D. Sasmal and P. Ghosh. 2008. Screening of nitrogen fixers from rhizospheric bacterial isolates associated with important desert plants. *Applied Ecology and Environmental Research*, 6 (2): 101-109.
- Hidayatullah, F., Y. S. Rahayu dan L. Lisdiana. 2017. Produksi hormon IAA oleh bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) dalam media limbah cair tahu. *LenteraBio*, 6 (3): 80-85.
- Howieson, J. G. and M. J. Dilworth. 2016. *Working with Rhizobia*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.
- Larosa, S. F., E. Kusdiyantini, B. Raharjo dan A. Sarjiya. 2013. Kemampuan isolate bakteri penghasil *Indole Acetic Acid* (IAA) dari tanah gambut Sampit Kalimantan Tengah. *Jurnal Biologi*, 2 (3): 41-54.

- Mudiana, D. 2007. Perkecambahan *Syzygium cumini* (L.) Skeels. Biodiversitas, 8 (1): 39-42.
- Nap, J. P. and T. Bisseling. 1990. Developmental biology of a plant-prokaryote symbiosis: the legume root nodule. Science, 250 (4983): 948-954.
- Nugroho, D. N. 2018. Pengaruh pemberian cendawan mikoriza arbuskular dan dosis kompos gulma siam terhadap pertumbuhan dan hasil kedelai. [Tesis]. Universitas Mercu Buana Yogyakarta.
- Puppo, A., K. Groten, F. Bastian, R. Carzaniga, M. Soussi, M. M. Lucas, M. R. de Felipe, J. Harrison, H. Vanacker and C. H. Foyer. 2005. Legume nodule senescence: roles for redox and hormone signaling in the orchestration of the natural aging process. New Phytologist, 165 (3): 683-701.
- Purwaningsih, O., D. Indradewa, S. Kabirun dan D. Siddiq. 2012. Tanggapan tanaman kedelai terhadap inokulasi *Rhizobium*. Agrotop, 2 (1): 5-32.
- Oldroyd, G. E. D. and J. A. Downie. 2008. Coordinating nodule morphogenesis with Rhizobial infection in legumes. Annual Review of Plant Biology, 59 (1): 519 – 546.
- Rao, N. S. 1994. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. Jakarta: UI Press.
- Schubert, K. R. 1986. Products of biological nitrogen fixation in higher plants: synthesis, transport and metabolism. Annual Review of Plant Physiology, 37 (1): 539-574.
- Subantoro, R. dan R. Prabowo. 2012. Potensi urin sapi dan *rock phosphate* terhadap produksi benih tanaman Alfalfa (*Medicago sativa* L.). Mediagro, 8 (2): 52-64.
- Tjitrosoepomo, G. 1999. Morfologi Tumbuhan. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Widyati, E. 2017. Memahami komunikasi tumbuhan-tanah dalam areal rhizosfir untuk optimasi pengelolaan lahan. *Jurnal Sumberdaya Lahan*, 11 (1): 33-42.