

Pengujian Mikroba sebagai Pupuk Hayati terhadap Pertumbuhan Tanaman *Acacia mangium* pada Pasir Steril di Rumah Kaca

Effect of microbe as fertilizer on the growth of *Acacia mangium* on the sand sterile in green house

SRI PURWANINGSIH*

Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi-LIPI, Bogor 16122

Diterima: 13 Pebruari 2004. Disetujui: 17 Mei 2004.

ABSTRACT

An experiment on the effect of microbe as fertilizer on the growth of *Acacia mangium* on the sand sterile in greenhouse. The aim of the experiment the effect and potency of the microbe as fertilizer to increase the growth of *A. mangium*. The experiment was carried out in green house condition in Microbiology division, Research Center for Biology-LIPI with sterile sand medium. The *Rhizobium* strains used of: 1. Bio 199R, 2. Bio 203R, 3. Bio 205R, 4 Bio 238R, 5. Bio 251R, 6. Bio 7R, and 7. mixed strains (Bio 199R+Bio 203R+Bio 205R+Bio 238R+Bio 251R+Bio 7R) The controls were uninoculated with *Rhizobium* strain and without urea fertilizer (K_1), uninoculated and with urea fertilizer equal 100 kg/ha (K_2). The research design was Completely Randomized Design with three replications for each treatment. The plants were harvested after 70 days; the parameters of investigation were the dry weight of canopy, roots, nodules root, total plants, number of nodules and "symbiotic capacity". The results showed that all of experiment plant able to form nodule. Strain number of mixed strains has given the best results on the growth of *A. mangium* plant.

© 2004 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Keywords: *Rhizobium* strain, *Acacia mangium*.

PENDAHULUAN

Acacia mangium merupakan tanaman yang termasuk dalam famili Leguminosae (polong-polongan) dan merupakan salah satu jenis tanaman HTI (Hutan Tanaman Industri). Tanaman ini merupakan tanaman yang dapat tumbuh dengan cepat, perakarannya luas, mampu beradaptasi pada tanah yang miskin unsur hara dan tahan terhadap kekeringan, serta mempunyai nilai ekonomi tinggi, kayunya mempunyai kualitas yang cukup baik khususnya sebagai bahan pulp/kertas maupun mebel. Selain itu tanaman ini mampu bersimbiosis dengan bakteri penambat nitrogen (*Rhizobium*) dan melaksanakan proses penambatan N bebas dari udara, sehingga tanaman dapat memenuhi kebutuhan unsur N melalui penambatan secara hayati sehingga mengurangi ketergantungan terhadap penggunaan pupuk N buatan.

Keberadaan unsur hara nitrogen sangat penting bagi setiap kehidupan, khususnya mikroba tanah dan

tanaman Leguminosae. Unsur nitrogen termasuk unsur utama dan merupakan faktor pembatas dalam pertumbuhan, sehingga merupakan kunci keberhasilan pertumbuhan tanaman. Bakteri penambat nitrogen (*Rhizobium*) mempunyai kemampuan menambat nitrogen bebas (N_2) dari udara dan merubahnya menjadi amonia (NH_3) yang akan diubah menjadi asam amino yang akan digunakan oleh tanaman untuk tumbuh dan berkembang (Alexander, 1977). Cadangan nitrogen di alam meliputi 78% volume atmosfer, tetapi tidak tersedia bagi tanaman (Allen dan Allen, 1981). Namun secara alami unsur nitrogen ini dapat tersedia apabila lingkungan kaya bakteri penambat nitrogen yang biasanya bersimbiosis dengan kelompok tanaman dari famili Leguminosae. Penambatan nitrogen secara biologis diperkirakan menyumbang lebih dari 170 juta ton nitrogen ke biosfer pertahun, 80% merupakan hasil dari simbiosis antara bakteri *Rhizobium* dengan tanaman Leguminosae (Peoples *et al.*, 1997 dalam Prayitno, 2000). Salah satu alternatif untuk memperbaiki kondisi tanah dan lingkungan serta meningkatkan kesuburan tanah adalah dengan teknologi pemupukan secara hayati, yaitu dengan menginokulasi mikroba pemacu pertumbuhan (bakteri penambat nitrogen) pada benih/bibit atau tanah maupun keduanya pada

▼ Alamat korespondensi:

Jl. Ir. H. Juanda 18, Bogor 16122.
Tel.: +62-251-324006. Faks.: +62-251-325854
e-mail: rizal_pur@yahoo.com

tanaman. Pengaruh inokulasi akan terlihat nyata apabila digunakan pada lahan yang mengandung unsur hara atau ketersediaan air rendah, sehingga inokulasi dapat mempercepat pemulihan lahan (Carpenter dan Allen, 1988), mampu bersaing dan beradaptasi terhadap lingkungannya, serta cocok dengan tanaman inangnya (Yutono, 1985).

Kerjasama antara mikroba yang diinokulasikan dan tanaman serta unsur-unsur hara dalam tanah sangat diperlukan dalam pertumbuhan tanaman *A. mangium* untuk mencapai hasil yang maximum, karena tidak semua biakan *Rhizobium* mampu hidup bersimbiosis dan efektif melaksanakan proses penambatan nitrogen dari udara bebas. Dengan adanya biakan terpilih maka pemberian inokulum sebagai pupuk hayati dapat tercapai secara optimal. Berdasar hal tersebut, dilakukan penelitian ini untuk mendapatkan inokulum yang cocok dan efektif serta efisien dalam upaya meningkatkan pertumbuhan tanaman. Biakan yang efektif diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai pupuk hayati, terutama untuk tanaman *A. mangium*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di rumah kaca Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, dengan menggunakan pasir steril, dalam pot-pot plastik berukuran 0,5 galon. Sebanyak 1,8 kg pasir steril digunakan sebagai media tumbuh, kemudian setelah biji ditanam di atasnya ditambah pasir yang telah dicampur dengan parafin dan benzol (steril) setinggi 2 cm sebagai penutup biji yang ditanam.

Biakan yang digunakan adalah (i) Bio 199R (isolat dari *Acacia villosa*), (ii) Bio 203 R (isolat dari *Albizia sinensis*), (iii) Bio 205R (isolat dari *Albizia saponaria*), (iv) Bio 238R (isolat dari *Erythrina fusca*), (v) Bio 251R (isolat dari *Pterocarpus indicus*), (vi) Bio 7R (isolat dari *Vigna silindrica*), dan (vii) biakan campuran (Bio 199R+Bio 203R+Bio 205R+Bio 238R+Bio 251R+Bio 7R).

Tabel 1a. Komposisi larutan hara (larutan A, B, C, dan D).

Larutan	Kandungan unsur	Jumlah
A. Standar larutan calcium sulfur	CaSO ₄ 2H ₂ O	2,5 g
	MgSO ₄ 7H ₂ O	2,5 g
	akuades steril	10 liter
B. Standar larutan ferric citrate	ferric citrate	30 g
	akuades steril	1 liter
C. Standar larutan fosfat	KH ₂ PO ₄	34 g
	KOH	1,96 g
	akuades steril	1 liter
	D. Standar larutan trace element	MnSO ₄ H ₂ O
	ZnSO ₄ 5H ₂ O	0,25 g
	CuSO ₄ 5H ₂ O	0,25 g
	NaMoO ₂ 2H ₂ O	0,06 g
	H ₃ BO ₃	0,50 g
	CaCl ₂ 6H ₂ O	0,05 g
	akuades steril	1 liter

Sebagai kontrol tanaman tanpa diinokulasi dan tanpa ditambah pupuk N (K₁), dan tanaman tanpa diinokulasi dan ditambah pupuk N setara dengan 100 kg/ha (K₂). Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan masing-masing perlakuan 3 kali ulangan. Untuk mempertahankan kelembaban (24%) dilakukan penyiraman setiap hari dengan menggunakan larutan hara tanpa N terikat seperti yang dilakukan oleh Saono dkk. (1976).

Komposisi larutan hara (10 liter larutan A + 10 ml larutan B + 100 ml larutan C + 10 ml larutan D) disajikan pada Tabel 1a.

Tanaman dipanen pada umur 70 hari, parameter yang diamati adalah bobot kering tajuk, akar, bintil akar, tanaman total, dan jumlah bintil, komponen tersebut dikeringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 24 jam. Untuk mengetahui kemampuan bersimbiosis (Sc) biakan-biakan *Rhizobium* yang diinokulasikan dilakukan penetapan dengan menggunakan cara Brockwell *et al* (1965) sebagai berikut:

$$Sc = \frac{I-U}{N-U}$$

Sc = kemampuan bersimbiosis.

I = rata-rata bobot kering tajuk tanaman yang diinokulasi.

U = rata-rata bobot kering tanaman tanpa diinokulasi dan tanpa N (K₁).

N = rata-rata bobot kering tanaman tanpa diinokulasi dan ditambah N (K₂).

Nilai Sc dibagi dalam 4 katagori yaitu: E (sangat efektif) jika Sc>0,67, e (efektif) jika 0,33<Sc<0,67, e' (kurang efektif) jika Sc<0,33, dan I (tidak efektif) jika Sc<0. Selain dengan Sc, pengujian tingkat keefektifan dilakukan juga dengan membandingkan bobot kering tanaman total yang diuji dengan bobot kering tanaman kontrol yang ditambah dengan pupuk N (K₂) yang dinyatakan dengan persen seperti yang dikemukakan oleh Date (dalam Vincent, 1982)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa biakan-biakan *Rhizobium* yang diinokulasikan terhadap tanaman *A. mangium* semuanya mampu membentuk bintil akar, hal ini menunjukkan bahwa semua biakan tersebut dapat bersimbiosis secara efektif dan efisien dengan tanaman tersebut, yang ditandai dengan pertumbuhan vegetatif tanaman yang diinokulasi lebih bagus dibandingkan dengan tanaman kontrol tanpa diinokulasi dan tanpa dipupuk N (K₁). Seperti yang dilaporkan oleh Stowers dan Elkan (1980), bahwa kemampuan simbiosis yang efektif dan efisien diketahui bahwa biakan *Rhizobium* yang diinokulasikan mampu membentuk bintil akar, yang berarti pengikatan nitrogennya berjalan dengan baik.

Parameter yang diamati menunjukkan bahwa untuk tinggi tanaman, nilai tertinggi diperoleh pada tanaman yang diinokulasi dengan biakan campuran pada pengukuran umur 4, 6, dan 8 minggu, masing-masing mengalami peningkatan sebesar 85, 83%, 69,93%, dan 76,9%, serta biakan Bio 7R dan biakan campuran pada umur 10 minggu, keduanya mengalami peningkatan sebesar 59,01% dibandingkan dengan tanaman tanpa diinokulasi dan tanpa dipupuk N (K_1). Untuk jumlah daun, nilai tertinggi diperoleh pada tanaman yang diinokulasi dengan biakan campuran pada pengamatan umur 4, 6 dan 8 minggu, masing-masing mengalami peningkatan sebesar 128,75%, 46,18%, 53,2% dibandingkan dengan tanaman tanpa diinokulasi dan tanpa dipupuk N (K_1). Pada umur 10 minggu jumlah daun tertinggi diperoleh pada tanaman yang diinokulasi dengan biakan Bio 7R dan biakan campuran, keduanya mengalami peningkatan sebesar 50,09%. Untuk bobot kering tajuk, akar, bintil akar dan tanaman total nilai tertinggi pada tanaman yang diinokulasi dengan biakan campuran, masing-masing mengalami peningkatan sebesar 70,37%, 60%, 0%, 68,22% dibandingkan dengan tanaman tanpa diinokulasi dan tanpa dipupuk N (K_1) (Tabel 1., 2., dan 3.).

Tabel 1. Nilai rata-rata tinggi tanaman pertumbuhan tanaman *A. mangium* yang diinokulasi dengan mikroba (cm)

Perlakuan	Umur (minggu)			
	4	6	8	10
Bio 199R	2,66 ^{ab}	3,66 ^a	4,66 ^{ab}	6,00 ^{ab}
Bio 203R	3,00 ^{ab}	3,66 ^a	5,00 ^{ab}	6,00 ^{ab}
Bio 205R	2,66 ^{ab}	3,66 ^a	5,00 ^{ab}	3,33 ^{ab}
Bio 238R	3,66 ^{ab}	5,33 ^{bc}	6,00 ^{bc}	7,66 ^{ab}
Bio 251R	3,00 ^{ab}	4,00 ^{ab}	5,66 ^{abc}	7,66 ^{ab}
Bio 7R	3,33 ^{abc}	4,66 ^{abc}	7,00 ^{cd}	9,00 ^b
Campuran	4,33 ^c	5,66 ^c	7,66 ^d	9,00 ^b
K_1 (tanpa N)	2,33 ^a	3,33 ^a	4,33 ^a	5,66 ^a
K_2 (+N)	3,33 ^{abc}	3,66 ^{abc}	5,66 ^{abc}	7,00 ^{ab}
BNT 5%	1,26	1,60	1,54	3,06

Keterangan: nilai yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 uji BNT.

Tabel 2. Nilai rata-rata jumlah daun pertumbuhan tanaman *A. mangium* yang diinokulasi dengan mikroba.

Perlakuan	Umur (minggu)			
	4	6	8	10
Bio 199R	2,66 ^a	4,00 ^a	4,66 ^a	6,00 ^{ab}
Bio 203R	2,66 ^a	4,33 ^{ab}	5,66 ^b	7,66 ^{bc}
Bio 205R	2,33 ^a	4,33 ^{ab}	5,33 ^b	6,33 ^{ab}
Bio 238R	3,00 ^a	4,33 ^{ab}	5,33 ^b	6,00 ^{ab}
Bio 251R	2,66 ^a	4,00 ^a	5,33 ^b	7,66 ^{bc}
Bio 7R	5,33 ^b	6,00 ^{ab}	7,00 ^c	8,00 ^c
Campuran	5,00 ^b	6,33 ^b	7,66 ^c	8,00 ^c
K_1 (tanpa N)	2,33 ^a	4,33 ^{ab}	5,00 ^a	5,33 ^a
K_2 (+N)	2,66 ^a	4,33 ^{ab}	5,66 ^b	6,66 ^{abc}
BNT 5%	1,15	2,1	0,91	1,71

Keterangan: nilai yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 uji BNT.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa untuk semua parameter pertumbuhan yang diamati terdapat perbedaan yang nyata antar biakan, hal ini menunjukkan bahwa biakan tersebut mempunyai kemampuan simbiosis yang efektif yang mana mampu menambat nitrogen dari udara secara maksimal, sehingga pertumbuhan tanaman lebih baik. Pasaribu (1983) mengemukakan bahwa simbiosis yang efektif dan efisien akan menghasilkan N tertambat yang tinggi, dimana N dapat digunakan oleh tanaman untuk tumbuh dan berkembang, sehingga pertumbuhannya akan menjadi lebih baik.

Dari keseluruhan parameter yang diamati diketahui bahwa dari tujuh biakan yang diinokulasikan diperoleh hasil pertumbuhan yang sangat bervariasi, tetapi apabila dibandingkan dengan tanaman yang tidak diinokulasi dan tidak dipupuk N (K_1) terjadi kenaikan pertumbuhan, hal ini berarti bahwa ada kecocokan/keserasian antara biakan yang diinokulasikan dengan tanaman inang. Keberhasilan inokulasi tergantung pada keefektifan dan efisiensi dari biakan yang berperan, dan mempunyai keserasian dengan tanaman inangnya (Sumarno dan Harnoto, 1983). Freire (1977) menambahkan bahwa teknik dan waktu inokulasi juga sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan hasil.

Ke-7 biakan *Rhizobium* yang diinokulasikan terhadap tanaman *A. mangium* menunjukkan kemampuan bersimbiosis. Biakan Bio 238R, Bio 251R, Bio 7R dan campuran menunjukkan nilai Sc yang sangat efektif dan biakan Bio 199R dan Bio 205R menunjukkan efektif, hal ini berarti bahwa simbiosis ke-6 biakan tersebut dengan tanaman *A. mangium* cukup efektif, sedangkan biakan Bio 203R menunjukkan hasil yang kurang efektif (Tabel 4). Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, di antaranya faktor ketidakcocokan antara biakan dengan tanaman inang, misalnya tanaman yang diinokulasi dengan biakan Bio 203R hasilnya tidak efektif karena biakan tersebut dari tanaman *Acacia sinensis*.

Tabel 3. Nilai rata-rata bobot kering tajuk (BKT), akar (BKA), bintil akar (BKB), dan tanaman total (BKTT) terhadap pertumbuhan tanaman *A. mangium* yang diinokulasi dengan mikroba (gram).

Perlakuan	BKT	BKA	BKB	BKTT
Bio 199R	0,74 ^c	0,64 ^{ab}	0,0157 ^a	1,3957 ^{bc}
Bio 203R	0,59 ^{ab}	0,76 ^{cd}	0,0192 ^{ab}	1,3789 ^b
Bio 205R	0,70 ^{bc}	0,77 ^{cd}	0,0213 ^{abc}	1,4913 ^{bcd}
Bio 238R	0,81 ^{cd}	0,84 ^{de}	0,0297 ^{bcd}	1,6797 ^{def}
Bio 251R	0,86 ^d	0,83 ^{de}	0,0255 ^{cde}	1,7155 ^{ef}
Bio 7R	0,88 ^d	0,76 ^{cd}	0,0285 ^{de}	1,6685 ^{cde}
Campuran	0,92 ^d	0,88 ^e	0,0337 ^e	1,8337 ^f
K_1 (tanpa N)	0,54 ^a	0,55 ^a	0	1,0900 ^a
K_2 (+N)	0,87 ^d	0,72 ^{bc}	0	1,5900 ^{cde}
BNT 5%	0,11	0,09	0,0073	0,0248

Keterangan: nilai yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0,05 uji BNT.

Seperti dikemukakan oleh Bergensen (1982) yang menyatakan bahwa ketidakefektifan bintil akar, seperti perkembangan bintil akar yang tidak sempurna akibat ketidaksesuaian antar biakan *Rhizobium* dengan tanaman inang maupun biakan yang diinokulasikan mempunyai hubungan yang serasi dengan tanaman *A. mangium*. Kenyataan ini sejalan dengan hasil penelitian Yutono (1985) yang menyatakan bahwa simbiosis antara strain-strain *Rhizobium* dengan jenis tanaman Leguminosae terdapat perbedaan keserasian, bahkan perbedaan keserasian itu dapat pula terjadi antara strain *Rhizobium* dengan varietas Leguminosae.

Tabel 4. Pembintilan, jumlah bintil, nilai "symbiotic capacity" dan prosentase keefektifan mikroba yang diinokulasikan terhadap tanaman *A. mangium* (umur 70 hari).

Perlakuan	Pembintilan	Jumlah bintil	Symbio-tic riil	Kapasitas nisbi	Sc (%)
Bio 199R	+	9,00 ^a	e	0,60	87,77
Bio 203R	+	9,33 ^a	e-	0,15	86,72
Bio 205R	+	10,66 ^a	e	0,48	93,79
Bio 238R	+	10,66 ^a	E	0,81	105,64
Bio 251R	+	11,33 ^{ab}	E	0,96	107,89
Bio 7R	+	11,00 ^{ab}	E	1,03	104,93
Campuran 14,00 b	+	-	E	1,15	115,33
K ₁ (tanpa N)	-	0	0	0	0
K ₂ (+N)	-	0	0	0	0
BNT 5%	-	3,28	-	-	-

Dari hasil pengujian kemampuan bersimbiosis dapat disimpulkan bahwa walaupun biakan-biakan *Rhizobium* yang diinokulasikan mampu menginfeksi suatu tanaman, namun belum tentu biakan tersebut efektif terhadap tanaman inangnya (*A. mangium*). Seperti dikatakan Usman (1983), bahwa suatu bakteri yang dapat menginfeksi tanaman inang tertentu tidak selalu efektif. Banyak jenis *Rhizobium* yang sangat atau cukup efektif pada suatu tanaman, namun sama sekali tidak efektif atau inefektif parsial pada tanaman lain, dimana biakan tersebut dapat menambat N, namun tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan N tanaman inangnya.

Prosentase keefektifan biakan *Rhizobium* yang tertinggi dijumpai pada tanaman yang diinokulasi dengan biakan campuran, diikuti tanaman yang diinokulasi dengan biakan Bio 251R, Bio 238R, Bio 7R, Bio 205R, Bio 199R, dan terendah pada tanaman yang diinokulasi dengan biakan Bio 203R. Prosentase keefektifan ini sangat bervariasi tergantung dari jenis biakan yang diinokulasikan dan kecocokan terhadap tanaman inang, apabila cocok maka akan terjadi simbiosis yang efektif. Selain itu faktor lingkungan dan fisiologi juga sangat berpengaruh. Bergensen (dalam Gibson, 1980) mengemukakan bahwa pembentukan bintil akar yang baik dari hasil penambatan N pada akar tanaman legum merupakan suatu rangkaian yang kompleks dari proses fisiologi yang meliputi interaksi antara tanaman inang dengan biakan yang diinokulasikan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa semua biakan yang diinokulasikan mampu membentuk bintil akar, namun tidak semua biakan efektif untuk tanaman *A. mangium*. Hasil terbaik diperlihatkan oleh biakan campuran (yang terdiri dari biakan Bio199R+Bio203R+Bio205R+Bio238R+Bio251R+Bio7R). Biakan tersebut dapat dikembangkan sebagai inokulum pupuk hayati untuk tanaman *A. mangium*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1977. *Soil Microbiology*. 2nd edition. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Allen. O.N and E.K. Allen. 1981. *The Leguminosae; A. Source Book of Characteristics Uses and Nodulation*. Winconsin: The University of Winconsin Press.
- Bergensen. F.J. 1982. *Root Nodules of Legume*. Chichester: Structure and Function Research Studies Press.
- Brockwell. J.F.W. Hely, and C.A. Neal-Smith. 1965. Some Symbiotic as effective field nodulation of **Lobus hipidus**. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 6 (23): 365-370.
- Carpenter, A.T and F.F. Allen. 1988. Responses of **Hedysanum boreale** nutt to mycorrhizas and **Rhizobium**: plant and soil nutrient changes in a disturbed shrubsteppe. *New Phytology* 109: 125-132.
- Freire, J.R.J. 1977. Inoculation of Soybean. In. J.M. Vincent. A.S Whitney and J. Bose (eds). *Exploiting the Legume Rhizobium symbiosis in Tropical Agriculture*. Coll. Trop. Agric. Misc. Publ. 145. Hawaii: Department of Agronomy and Soil Science, University of Hawaii.
- Gibson. A.H. 1980. Host determinants in nodulation and nitrogen fixation. *Advances in Legume Science*. England: University of Reading.
- Pasaribu, D., N. Sunarlim, M. Fathan, M. Sudjadi, Hartono, dan L. Sumarsono. 1988. *Maksimalisasi Hasil Kedelai di Wonosari-Yogyakarta. Identifikasi Komponen dan Paket teknologi Kacang-kacangan pada Lahan Tegalan*. Bogor: Balai penelitian tanaman Pangan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan.
- Prayitno, J., J.J. Weinman, M.A. Djordjevic, and B.G. Rolfe. 2000. Pemanfaatan protein pendar hijau (green fluorescent protein) untuk mempelajari kolonisasi bakteri **Rhizobium**. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XVI: 372-277*.
- Saono. S., H. Karsono, and D. Suseno. 1976. Studies on the effect of different rhizobial strains on **Phaseolus lunatus** in sand culture. *Annales Bogoriense* 6 (3): 143-154.
- Stowers. M.D and G.H. Elkan. 1980. Criteria for selecting infektive and efficient strains of **Rhizobium** for use in tropical agriculture. *North Caroline Agriculture Service Technology Bulletin*: 264.
- Sumarno dan Harnoto. 1983. Kedelai dan cara bercocok tanamnya. *Bulletin Teknik*. No 6: 67. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan.
- Usman, R. 1983. *Penelitian Mengenai Isolasi, Media Pemiakan serta Metode Pengelompokan Species Rhizobium*. [Disertasi]. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Vincent, J.M. 1982. *Nitrogen Fixation in Legumes*. New York: Academic Press.
- Yutono. 1985. Inokulasi **Rhizobium** pada kedelai. Dalam Somaatmadja., S., M. Ismunadji, Sumarno, M. Syam., S.O. Manurung, dan Yuswadi (ed). *Kedelai*. Bogor: Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Puslitbangtan.