

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) DARI TANAH DAN AIR DI SITUGUNUNG, SUKABUMI

ZAKIAH FITHAH A'INI

zaSyiE_FA@yahoo.co.id

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Teknik, Matematika & IPA
Universitas Indraprasta PGRI

Abstract. The purpose of this research study to isolate and identify bacterial soil and water producing IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) Situgunung, Sukabumi potential biofertilizer. This research study method consists of six stages: soil and water sampling, manufacturing pure isolates, gram stain for bacterial identification, testing bacteria producing IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) with the Salkowski reagent, IAA standard curve creation, and storage of bacterial isolates obtained in IPB Culture Collection. Soil samples taken from the root zone 5 (five) trees *Rasamala* (*Altingia excelsa*) around the hiking trail to the waterfall Cimaracun, Sawer, Kembar, Situgunung, and Situgunung lake, of HM 0 HM 2, HM 5, HM 6, HM 9. Isolation of auxin-producing bacteria using media Nutrient Broth (NB) and Nutrient Agar (NA), which both added 0.0204 grams of L-tryptophan (Trp) per 100 mL of distilled water. The results of the purification of pure isolates obtained 26 NA + Trp medium, 15 isolates from soil samples, while 11 isolates from water samples. Has been fully tested with Salkowski reagent and measurement accuracy of a standard curve with a value of 0.972. The test results showed that 9 out of 10 isolates produced IAA exogenous to the value of the highest concentrations of 9.92 ppm produced by isolates A4.01.

Keywords. Bacteria IAA, bacterial soil and water, Salkowski reagent.

PENDAHULUAN

Kawasan Situgunung berjarak sekitar 70 km/1,5 jam dari Bogor dan berada di bagian Selatan taman nasional gunung gede Pangrango. Kawasan ini adalah yang terbasah di pulau Jawa, dan sebagai konsekuensinya hutan di kawasan ini sangat kaya dengan beranekaragam jenis flora. Ahli ekologi membuat klasifikasi ekosistem hutan di sekitar TNGGP kedalam tiga tipe vegetasi berdasarkan ketinggian yaitu *submontana*, *montana*, dan *sub-alpin*. Lokasi pengambilan sampel tanah berada pada zona submontana. Tipe vegetasi ini dapat ditemukan saat mulai memasuki kawasan Situgunung sebagai bagian dari TNGGP. Terdapat jenis-jenis tumbuhan pada hutan tipe ini termasuk si pohon raksasa *Rasamala*.

Pohon *Rasamala* tumbuh dengan baik karena kondisi tanah di hutan montana dataran rendah biasanya dalam, basah, dan kaya dengan bahan-bahan organik dan partikel tanah yang subur seperti tanah liat sehingga pohon-pohon di hutan montana tumbuh lebih besar dan tinggi (TNGGP 2012). Maka dari itu dipilihlah pohon *Rasamala* sebagai titik pengambilan sampel tanah. Kondisi tanah yang dapat menunjang pertumbuhan pohon *Rasamala* hingga dapat tumbuh lebih besar dan tinggi, diharapkan terdapat berbagai jenis bakteri penghasil fitohormon pertumbuhan.

Bakteri penghasil fitohormon merupakan kelompok mikroba yang mampu menghasilkan senyawa yang dapat mempercepat pertumbuhan tanaman. Pengaruh jasad renik tanah (rhizobakteria) terhadap pertumbuhan tanaman sangat penting dalam meningkatkan produktivitas tanaman dan mempertahankan kesuburan tanah karena dapat membawa perubahan pada pertumbuhan tanaman, terutama yang bersifat mendorong pertumbuhan (Kloepper 1994; Glick 1995). Rhizobakteria pemacu tumbuh dapat bereaksi

secara langsung terhadap tanaman dengan menghasilkan fitohormon, vitamin atau molekul organik yang mudah diserap akar atau secara tidak langsung melalui ameliorasi nutrisi mineral dengan cara pelarutan dan mineralisasi unsur hara tertentu (Dommergues & Manganot 1970).

Beberapa bakteri diketahui mampu menghasilkan dan mensintesis Indole-3-Acetic Acid (IAA) seperti *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Serratia* dan *Pseudomonas*. Frankenberger dan Arshad (1995), menambahkan bahwa produksi IAA sangat bervariasi antar spesies dan strain dalam generasi yang sama dan juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, tingkat pertumbuhan dan ketersediaan substrat seperti asam amino. Melalui penelitian ini diharapkan dapat diisolasi dan diidentifikasi bakteri tanah dan air penghasil IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) di Situgunung, Sukabumi.

Auksin

Indole-3-Acetic Acid (IAA) merupakan salah satu hormon pertumbuhan yang berperan untuk memacu pertumbuhan sepanjang sumbu longitudinal. Hal spesifik yang terlihat berupa peningkatan pembesaran sel yang berlangsung ke segala arah secara isodiametric, auksin juga berperan dalam pembelahan dan pembentangan sel (Wattimena 1991). Hormon auksin yang dihasilkan oleh tumbuhan disebut IAA endogen, sedangkan IAA eksogen ialah hormon auksin yang dihasilkan oleh organisme selain tumbuhan. Auksin endogen diproduksi di meristem tanaman, diperlukan saat pemanjangan sel, suatu proses sebelum diferensiasi sel. Auksin juga berfungsi meningkatkan elastisitas sel sedangkan IAA eksogen konsentrasi rendah diperlukan dalam mutipikasi untuk memperbaiki mutu tunas dan pembentukan akar (Haq & Dahot 2007).

Bakteri Penghasil IAA

Sejumlah bakteri tanah dan air memegang peranan penting dalam proses penguraian senyawa organik yang berfungsi dalam pertumbuhan suatu tanaman (Vessey 2003). Bakteri tanah maupun air yang mampu menghasilkan hormon tanaman akan merangsang pertumbuhan tanaman menjadi lebih baik, tanaman akan menyerap hormon bakteri tersebut melalui akar tanaman. Terdapat beberapa bakteri yang dapat menghasilkan IAA diantaranya *Pseudomonas* sp. dan *Azotobacter* sp. (Isroi 2002). Bakteri *Azotobacter* sp. dapat menguraikan N menjadi amonium dan menghasilkan fitohormon. Selain itu bakteri *Azotobacter* sp. dapat pula memperbaiki tajuk, tinggi dan akar tanaman (Hindersah & Simarmata 2004). Selain menghasilkan hormon tumbuh seperti IAA, bakteri juga mampu menghasilkan vitamin dan berbagai asam organik yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan bulu-bulu akar (Vessey 2003; Hindersah & Simarmata 2004).

Bakteri penghasil hormon tumbuh dapat diaplikasikan dalam pembuatan pupuk hayati. Penggunaan pupuk hayati pada pertanian modern saat ini sangat dibutuhkan karena pada kenyataannya penggunaan pupuk kimia seperti pestisida dapat membawa dampak negatif bagi kondisi tanah dan lingkungan (Saraswati 1999). Penggunaan pupuk hayati mampu memperbaiki tingkat kesuburan tanah karena tidak meninggalkan residu pada tanah (Musnamar 2003). Selain itu pupuk hayati juga mampu memacu pertumbuhan tanaman dan meningkatkan produktifitas tanaman (Wu *et al* 2005).

METODE

Pengambilan Sampel Tanah dan Air

Pengambilan sampel tanah dan air dilakukan pada tanggal 25-26 Agustus 2012 di Situgunung, Sukabumi. Pengambilan sampel tanah dilakukan di daerah perakaran pohon Rasamala (*Altingia exelsa*) dengan jarak yang berbeda, yaitu HM 0, HM 2, HM 5, HM 6, dan HM 9 dengan menggali tanah sedalam 10-20 cm dari permukaan tanah. Pengambilan sampel air dilakukan di lima tempat berbeda, yaitu curug Cimanaracun, curug Sawer,

curug Kembar, curug Situgunung, dan danau Situgunung. Setiap sampel tanah dan air dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas dan ditandai dengan menggunakan spidol.

Isolasi Bakteri dari Sampel Tanah dan Air

Isolasi bakteri dari sampel tanah dilakukan dengan meyampurkan 2 gram sampel tanah ke dalam tabung Erlenmeyer yang berisi 30 mL NB+ L-Triptofan (Trp). Pemasukkan sampel tanah ke dalam media cair yang dilakukan secara aseptik dengan menggunakan sudip yang terlebih dahulu dipanaskan dengan api bunsen kemudian mulut tabung Erlenmeyer dipanaskan terlebih dahulu dan sampel tanah dimasukkan ke dalamnya. Sebelum ditutup kembali dengan kapas, mulut tabung dipanaskan terlebih dahulu. Hasil pencampuran sampel tanah dengan media cair NB+Trp diinkubasi dalam suhu ruangan selama 48 jam.

Isolasi bakteri dari sampel air dilakukan dengan mencampurkan 3 mL air ke dalam tabung Erlenmeyer yang berisi 30 mL NB+Trp. Pemasukkan sampel air ke dalam media cair dilakukan secara aseptik dengan menggunakan pipet serologis 5 ml. Sebelum sampel dimasukkan, mulut tabung erlenmeyer dipanaskan terlebih dahulu. Sebelum ditutup kembali, mulut tabung dipanaskan kembali kemudian ditutup dengan kapas. Hasil pencampuran sampel air dan media cair NB+Trp diinkubasi dalam suhu ruangan selama 48 jam.

Pemurnian Isolat Bakteri dari Sampel Tanah dan Air

Pemurnian dilakukan dengan menggunakan metode cawan gores atau metode penggoresan kuadran (Waluyo 2008). Penggoresan dilakukan di ruang laminar Laboratorium Mikrobiologi IPB. sebelum penggoresan, dilakukan pengenceran biakan menggunakan garam fisiologis (0,85%). Sebanyak 1 mL biakan bakteri dari sampel tanah dan air dalam media cair NB+Trp diambil menggunakan mikropipet dan dipindah ke tabung reaksi yang telah berisi 9 mL garam fisiologis steril. Pengenceran dilakukan sampai pengenceran keempat atau diperoleh konsentrasi 10^{-4} . Sebanyak satu lup hasil pengenceran dari setiap biakan bakteri digoreskan dengan metode kuadran pada permukaan media agar cawan NA+Trp. Penggoresan dilakukan secara aseptik dalam ruang laminar. Hasil penggoresan diinkubasikan selama 48 jam.

Penggoresan dilakukan dua kali sampai ditemukan koloni tunggal. Koloni tunggal yang tumbuh berjumlah 26 koloni kemudian digoreskan dalam media agar miring. Isolat murni tersebut diinkubasi selama 24 jam untuk diidentifikasi dengan pewarnaan Gram.

Identifikasi Bakteri dari Sampel Tanah dan Air dengan Pewarnaan Gram

Isolat yang berumur 24 jam diidentifikasi dengan pewarnaan Gram mengikuti prosedur pewarnaan Gram. Setiap olesan bakteri yang akan diwarnai disiapkan pada kaca obyek. Kemudian, olesan bakteri digenangi dengan pewarna primer ungu kristal selama satu menit kemudian kelebihan zat warna dibilas dengan akuades. Olesan bakteri kembali digenangi dengan iodium selama dua menit lalu dibilas dengan akuades. Kemudian dilakukan pemucatan dengan alkohol 95% dan dibilas kembali dengan akuades. Olesan bakteri digenangi dengan pewarna tandingan, safranin, selama 30 detik lalu dibilas dengan akuades. Kelebihan air pada olesan bakteri diserap dengan *tissue* secara hati-hati. Pengamatan preparat olesan bakteri dilakukan dibawah mikroskop dengan obyektif celup minyak pada perbesaran 1000x. Bakteri Gram positif akan berwarna biru gelap sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah muda (Hadioetomo 1993).

Pengujian Bakteri Penghasil IAA dari Sampel Tanah dan Air dengan Menggunakan Reagen Salkowski

Pengujian produksi IAA dari isolat yang ditemukan hanya dilakukan pada 10 isolat yang dipilih berdasarkan keragaman bentuk dan jenis Gram. Sebelum pengujian,

sepuluh isolat terpilih dibiakan kembali pada media cair NB+Trp dan diinkubasi goyang dalam suhu kamar selama 24 jam. Biakan disentrifuse selama 10 menit dan 10.000 rpm untuk mendapatkan supernatan. Supernatan yang diperoleh dari masing-masing isolat tersebut, diambil sebanyak 0.5 mL dengan menggunakan mikropipet dan ditambahkan dengan 2 mL reagen Salkowski. Setelah itu, campuran tersebut diinkubasikan di ruangan gelap selama 15 menit lalu dihomogenkan dengan menggunakan vorteks. Campuran yang telah homogen diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 510 nm. Pengukuran dilakukan secara duplo. Hasil pengukuran tersebut dicatat, dibuat tabel, dan grafik.

Pembuatan Kurva Standar IAA

Pembuatan kurva standar IAA dimulai dengan pembuatan larutan IAA 100 ppm (stok). Sebanyak 0.001 gram IAA dilarutkan dalam 10 mL akuades. Larutan IAA 100 ppm yang telah dibuat di Erlenmeyer, dijadikan larutan bahan untuk membuat larutan IAA 0, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm. Penurunan nilai ppm dengan cara pengenceran melalui penambahan akuades menggunakan wadah tabung reaksi. Kesepuluh tabung reaksi tersebut lalu dihomogenkan dengan vorteks.

Langkah selanjutnya ialah penambahan 2 mL reagen Salkowski (Waluyo 2008) ke dalam 0,5 mL larutan IAA berbagai konsentrasi. Langkah ini dilakukan secara duplo. Campuran diinkubasi selama 15 menit dalam ruang gelap lalu dihomogenkan dengan vorteks. Setelah itu dilakukan pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 510 nm. Hasil pengukuran tersebut dicatat, dibuat tabel, dan grafik.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pengambilan Sampel

Isolasi bakteri dilakukan dengan mengambil lima sampel tanah dan lima sampel air dari Situgunung, Sukabumi dalam kawasan TNGGP. Sampel tanah dipilih dari tanah yang berada di dekat pohon Rasamala yang merupakan salah satu pohon endemik dari Situgunung, Sukabumi dalam kawasan TNGGP. Kelima sampel tanah berasal dari ketinggian berbeda-beda. Tanah ini berwarna coklat kehitaman, lembab, dan banyak serasah. Sampel air berasal dari sumber-sumber air di dekat jalur pendakian.

Isolasi Bakteri Penghasil IAA dari Sampel Tanah dan Air

Hasil pemurnian pertama (Tabel 1, Lampiran 4) dari sampel tanah dan air diperoleh sebanyak 31 isolat bakteri. Koloni yang mampu tumbuh dengan baik di media kombinasi NA dan L-Triptofan ini mengindikasikan bahwa mikroba tersebut mampu memanfaatkan L-Triptofan sebagai senyawa antara dari produksi IAA (Moat *et al* 2002). Triptofan telah diakui sebagai prekursor fisiologis biosintesis auksin baik pada tanaman maupun pada mikroorganisme (Tarabily *et al* 2003) dan juga menjadi prekursor fisiologis yang efisien dalam biosintesis microbial auksin. Prekursor ini mengandung sumber berupa senyawa aktif memacu pertumbuhan mikroba rhizosfer dan endofit (Arshad & Frankenberger 1991). Terdapat lintasan-lintasan metabolik yang dapat mengubah triptofan menjadi IAA.

Lucyanie (2009) mengemukakan bahwa beberapa lintasan sintesis IAA pada bakteri yang melibatkan senyawa intermediate *indole-3-pyruvate* (IpyA), yaitu *indole-3-acetamine* (IAM), *tryptamine* (TAM) dan *indole-3-acetonitrile* (IAN). Jalur utama yang ada pada bakteri, yaitu lintasan IAM dan IPyA. Bakteri yang memproduksi IAA dapat menstimulasi pertumbuhan sistem perakaran inang. Produksi IAA tidak berfungsi nyata sebagai hormon dalam sel bakteri, dimungkinkan keberadaannya dalam sel bakteri karena hormon tersebut berperan penting dalam interaksi antara bakteri dengan tanaman (Glick 1995).

Tabel 1 Hasil penggoresan di media NA+Trp

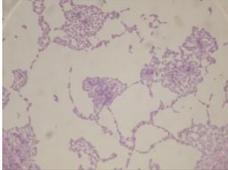
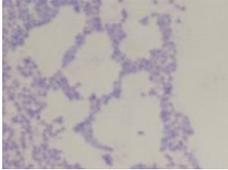
Asal biakan	Kode biakan
Curug Cimaracun	A1.01 , A1.02 , A1.03
Curug Situgunung	A2.01 , A2.02
Curug Kembar	A3.01 , A3.02
Curug Sawer	A4.01 , A4.02
Danau Situgunung	A5.01 , A5.02 , A5.03
Tanah HM 0	T1.01 , T1.02 , T1.03 , T1.04
Tanah HM 2	T2.01 , T2.02 , T2.03 , T2.04 , T2.05 , T2.06
Tanah HM 5	T3.01 , T3.02
Tanah HM 6	T4.01 , T4.02 , T4.03
Tanah HM 9	T5.01 , T5.02 , T5.03 , T5.04

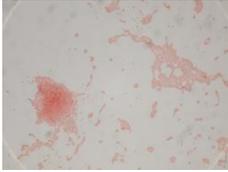
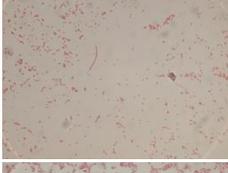
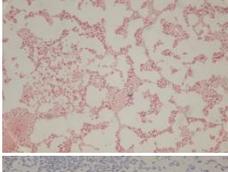
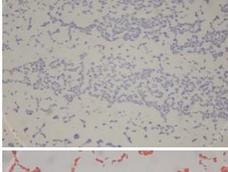
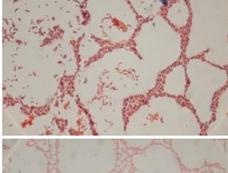
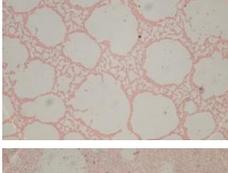
Isolat murni dari proses pemurnian kedua jumlahnya sebanyak 26 isolat. Jumlah isolat berkurang dari hasil pemurnian pertama yang sebanyak 31 isolat karena sebagian isolat merupakan cendawan dan beberapa ada yang berlendir dan menyebar sehingga sulit dilakukan pengambilan isolat.

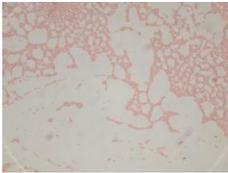
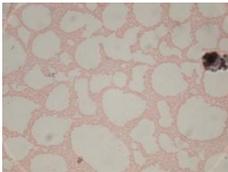
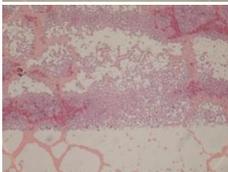
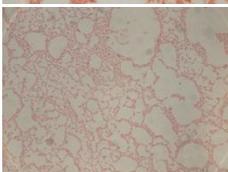
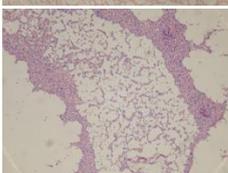
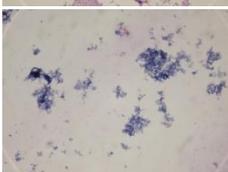
Pewarnaan Gram

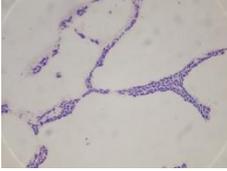
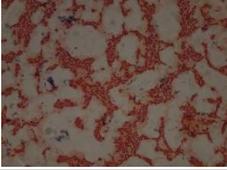
Isolat murni yang diperoleh diidentifikasi morfologinya dengan pewarnaan Gram (Hadioetomo 1993). Identifikasi ini menggunakan zat warna kristal violet dan safranin, diperoleh isolat bakteri dari tanah dan air yang didominasi bakteri bersifat Gram negatif dengan bentuk koloni batang (Tabel 2).

Tabel 2 Koloni dan sel isolat-isolat yang diperoleh

Kode Isolat	Bentuk	Warna Koloni di NA+Trp	Gram	Gambar Sel pada Perbesaran 1000x
A1.01	Batang	Putih bening	+	
A1.02	Batang	Putih bening	+	
A2.01	Bulat	Putih bening	+	
A2.02	Batang	Putih	-	

A3.01	Batang	Putih bening	-	
A3.02	Bulat	Putih bening	-	
A4.01	Batang	Kekuningan	-	
A4.02	Bulat	Putih	-	
A5.01	Bulat	Putih	+	
A5.02	Batang	Putih	-	
A5.03	Batang	Putih bening	-	
T1.01	Bulat	Merah	-	
T1.02	Bulat	Putih	-	

T1.03	Batang	Kekuningan	-	
T2.01	Bulat	Merah	-	
T2.02	Bulat	Putih	-	
T2.03	Bulat	Putih	+	
T2.04	Bulat	Putih	+	
T2.06	Batang	Putih bening	-	
T4.01	Batang	Putih bening	-	
T4.02	Bulat	Putih bening	+	
T4.03	Batang	Putih bening	+	

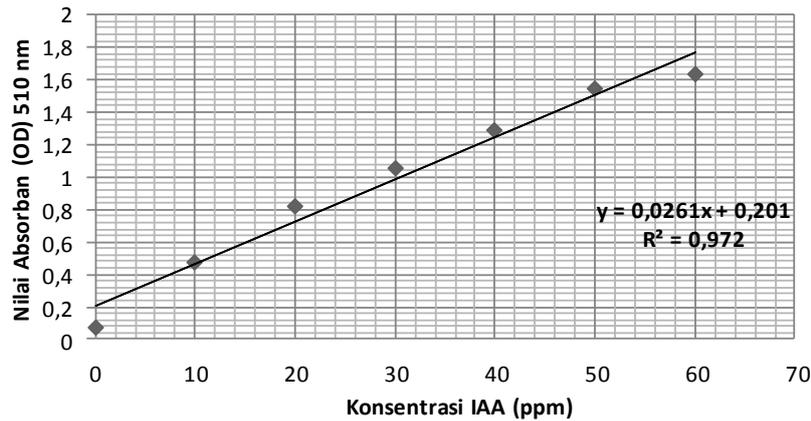
T5.01	Batang	Putih bening	+	
T5.02	Batang	Putih bening	-	
T5.03	Batang	Putih bening	+	
T5.04	Batang	Kekuningan	-	

Kurva Standar IAA

Perhitungan konsentrasi IAA yang berasal dari supernatan bakteri terlebih dahulu dilakukan dengan membuat kurva standar IAA (Gambar 1). Pembuatan kurva ini bertujuan memperoleh suatu persamaan untuk perhitungan konsentrasi IAA dari supernatan tersebut. Kurva standar IAA diperoleh dengan mengukur nilai absorbansi larutan IAA standar berbagai konsentrasi yang telah diberi reagen Salkowski (Tabel 3). Pengukuran nilai absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 510 nm. Hasil pengukuran diolah menjadi grafik sehingga diperoleh persamaan $y = 0,0261x + 0,201$.

Tabel 3 Hasil pengukuran konsentrasi IAA pada supernatan isolat bakteri

Kode isolate	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata	Konsentrasi IAA (ppm)
A1.01	0,247	0,258	0,253	1,992
A2.02	0,348	0,318	0,333	5,057
A4.01	0,412	0,508	0,460	9,923
A5.01	0,205	0,185	0,195	0
T1.01	0,352	0,349	0,351	5,747
T2.01	0,430	0,315	0,373	6,590
T4.01	0,275	0,254	0,265	2,452
T4.03	0,232	0,240	0,236	1,341
T5.01	0,300	0,251	0,276	2,874
T5.04	0,237	0,238	0,238	1,418



Gambar 1 Kurva standar IAA.

Konsentrasi IAA pada Supernatan

Perhitungan untuk mencari konsentrasi IAA dari supernatan isolat adalah dengan mengganti peubah y pada persamaan kurva standar dengan rata-rata hasil pengukuran absorbansi supernatan (Tabel 4). Sehingga didapat nilai x yang merupakan konsentrasi IAA supernatan. Konsentrasi IAA tertinggi sebesar 9,923 ppm didapat pada isolat A4.01 yang berasal dari curug Sawyer. Konsentrasi tertinggi ini kemungkinan karena kealamian air terjun tersebut. Isolat ini termasuk bakteri Gram negatif, bentuk koloni batang dengan warna koloni kekuningan.

Tabel 4 Hasil pengukuran konsentrasi IAA kurva standar

Konsentrasi IAA (ppm)	IAA dari stok	Akuades	Blanko	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata
0	0	1	0,077	0,074	0,061	0,067
10	0,1	0,9	0,077	0,487	0,459	0,473
20	0,2	0,8	0,077	0,843	0,797	0,820
30	0,3	0,7	0,077	1,085	1,031	1,058
40	0,4	0,6	0,077	1,320	1,256	1,288
50	0,5	0,5	0,077	1,580	1,507	1,543
60	0,6	0,4	0,077	1,652	1,609	1,630

Diperolehnya isolat bakteri penghasil IAA memberi keuntungan bagi industri pertanian. Menurut Dommergues & Manganot (1970), bakteri pemacu tumbuh dapat bereaksi secara langsung terhadap tanaman dengan menghasilkan fitohormon, vitamin, atau molekul organik yang mudah diserap akar atau secara tidak langsung melalui ameliorasi nutrisi mineral dengan cara pelarutan dan mineralisasi unsur hara tertentu. Aplikasi bakteri penghasil IAA yang telah ditemukan ini dapat dicampur dengan tanah gambut untuk menanam benih tanaman. Bakteri dalam tanah tersebut dapat menempel pada akar kecambah, kemudian memanfaatkan eksudat akar berupa triptofan untuk menghasilkan IAA. Senyawa IAA yang dihasilkan bakteri tersebut dapat digunakan kembali oleh tanaman sebagai pemacu tumbuh.

PENUTUP

Kesimpulan

Telah berhasil diisolasi 26 isolat bakteri dari sampel tanah dan sampel air di Situgunung, Sukabumi dalam kawasan Taman Nasional Gunung Gede Pangrango. Sembilan dari sepuluh isolat yang dipilih untuk uji IAA, yaitu A1.01, A2.02, T1.01, T4.01, T4.03, T5.01, T5.04 menghasilkan IAA eksogen. Konsentrasi IAA tertinggi ada

pada isolat A4.01 dari air terjun Sawer sebesar 9,923 ppm. Hanya satu isolat, yaitu A5.01 yang tidak menghasilkan IAA eksogen yang berasal dari sumber danau Situgunung.

Rekomendasi

Proses pengambilan sampel tanah dan air sebaiknya disertai pengukuran suhu tanah dan air untuk mengetahui faktor lingkungan yang mendukung pertumbuhan bakteri penghasil IAA.

DAFTAR PUSTAKA

- Dommergues Y, Mangenot F, 1970. **Microbial Ecology of Soil**. Paris: Masson and Cie.
- Frankenberger WT, Arshad M. 1995. **Phytohormones in Soils: Microbial Production and Function**. New York: Marcel Dekker.
- Hadioetomo RS. 1993. **Mikrobiologi Dasar dalam Praktek**. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Haq I, Dahot MU. 2007. **Micro-propagation efficiency in banana (Musa spp.) under different immersion systems**. *Pak J Biol Sci* 10:726-733.
- Hindersah R, Simarmata T. 2004. **Potensi rizobakteri Azotobacter dalam meningkatkan kesehatan tanah**. *J Natur Indones* 5: 127-133.
- Isroi. 2002. **Bioteknologi mikroba untuk pertanian organik**. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0412/17/ilpeng/1442850>. Htm. [21 Juli 2012].
- Lucyani D. 2009. **Pengaruh Penambahan Bahan Organik yang Mengandung Triptofan (Trp) terhadap Produksi IAA (Indole-3- Acetid Acid) oleh Azospirillum spp.** [terhubung berkala]. <http://www.sith.itb.ac.id>. html [06 Agustus 2012].
- Mahaffee WF, Kloepper, J.W. 1994. **Applications of plant growth-promoting rhizobacteria in sustainable agriculture**. Di dalam: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR, Grace PR, penyunting. *Soil Biota, Management in Sustainable Farming Systems*. Melbourne: CSIRO Information Services. Hlm 23-31.
- Moat AG, Foster JW, Spector MP. 2002. **Microbial Physiology**. Fourth Edition. New York: Wiley-liss.Inc.
- Musnamar El. 2003. **Pupuk Organik: Cair & Padat, Pembuatan dan Aplikasi**. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Saraswati R. 1999. **Teknologi pupuk mikrob multiguna menunjang keberlanjutan sistem produksi kedelai**. *J Mikrobiol Indonesia* 4: 1-9.