

# ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Azotobacter* DARI RHIZOSFER TANAMAN KOPI (*Coffea canephora*) YANG TERSEERANG NEMATODA PARASIT *Pratylenchus coffeae*

Aditya Tanjung Yulitaasary<sup>1\*</sup>, Iis Nur Asyiah<sup>2</sup>, Mochammad Iqbal<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember, Indonesia

<sup>2,3</sup>Dosen Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember, Indonesia

**Abstract:** *Azotobacter* is one group of aerobic bacteria that colonizes root surfaces and is able to produce glyceroline promoting substances, cytokines and Indole Acetate Acid (IAA). *Azotobacter* can be found in the rhizosphere of various types of plants, such as soy rhizosphere (*Glycinemax* L.), rhizosphere palm (*Elaeis guineensis*), coffee (*Coffea arabica*), and corn (*Zea mays*). Rhizosphere is a soil zone that surrounds the roots of plants where biology and soil chemistry are affected by roots. This zone has a width of about 1 mm. In this study rhizosphere used is rhizosphere coffee Robusta plant. The purpose of this research is to know the isolated *Azotobacter* isolate from the rhizosphere of Robusta coffee plant which attacked by *Pratylenchus coffeae* parasite parasite from Kalibendo plantation, Banyuwangi. The type of research used is explorative research. In this research successfully obtained 5 bacterial isolates. The result showed that from isolate isolate, 4 isolates were genus *Azotobacter* while 1 isolate was not known.

**Keyword:** *Azotobacter*; Plant parasitic nematodes, Rhizosphere.

## PENDAHULUAN

Produksi kopi Indonesia tercatat sebesar 643.857 ton pada tahun 2014. Hasil tersebut menurun dibandingkan dengan jumlah produksi tahun sebelumnya, yakni sebesar 691.163 ton/ha. Penyebab menurunnya tingkat produktivitas kopi di Indonesia salah satunya adalah akibat serangan nematoda. Nematoda merupakan salah satu Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT) yang berperan penting menyebabkan menurunnya hasil pertanian di negara tropis termasuk Indonesia (Salamah, Husnul, & Mulawarman, 2014). Serangan nematoda *Pratylenchus coffeae* pada kopi Robusta dapat menyebabkan menurunnya produksi hingga 57%, sedangkan pada kopi Arabika dapat menyebabkan kerusakan hingga 80% dan tanaman akan mati pada umur kurang dari 3 tahun (Harni & Khaerati, 2013).

Melihat potensi kerusakan yang ditimbulkan oleh nematoda *P. coffeae* maka diperlukan adanya pengendalian. Secara alami tanah memiliki mikroorganisme yang mampu menekan perkembangan patogen dalam tanah (Khalimi & Sudarma, 2013). Salah

---

<sup>1</sup> E-mail : tyatanjung25@gmail.com

P-ISSN: 1411-5433

E-ISSN: 2502-2768

© 2017 Saintifika; Jurusan PMIPA, FKIP, Universitas Jember

<http://jurnal.unej.ac.id/index.php/STF>

satu kelompok bakteri yang diketahui sebagai agen biologis adalah *Azotobacter*. *Azotobacter* adalah spesies rhizobakter yang dikenal penambat N<sub>2</sub> diazotrof, yang mengkonversi dinitrogen ke ammonium melalui reduksi elektron dan protonasi gas dinitrogen. *Azotobacter chroococcum* merupakan spesies *Azotobacter* pertama yang diketahui sebagai bakteri pemfiksasi nitrogen dan hidup bebas (Jnawali, Ohja, & Marahatta, 2015). Hasil penelitian pada berbagai tanaman menunjukkan bahwa inokulasi *Azotobacter* sp. ke dalam tanah dapat meningkatkan hasil sebesar 15 – 60%, selain itu juga mampu menekan beberapa patogen tanah (Kardinan & ruhnyat, 2008).

*Azotobacter* spp. secara agresif mengkolonisasi rhizosfer dari berbagai tanaman dan memiliki aktivitas antagonis dengan spektrum luas terhadap patogen tanaman. *Azotobacter chroococcum* dapat menghambat penetasan juvenile *Meloidogyne incognita* dan penetrasi pada akar tanaman Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) (Moussa, Mohamed, & Said, 2017). *Azotobacter chroococcum* juga dilaporkan dapat menghambat penetasan juvenile *Meloidogyne incognita* pada tanaman akasia (*Acacia farnesiana* L.) (Amira, Shawky, & Omar, 2011). Penggunaan bakteri sebagai agen biologis memiliki berapa keuntungan yaitu berspektrum sempit atau khas inang dan aman bagi lingkungan hidup.

Pemanfaatan *Azotobacter* sebagai pengendali hayati nematoda peluka akar *Pratylenchus coffeae* perlu dikaji dan diteliti lebih dalam lagi dengan melakukan uji protease setelah isolat berhasil diidentifikasi. Selama ini, yang masyarakat ketahui bahwa pengendalian nematoda hanya dilakukan menggunakan nematisida. Penggunaan nematisida hanya membunuh nematoda, sedangkan telurnya tidak terbunuh karena kulit telurnya mengandung kitin (Fikri, Noor, & Liestiany, 2013). Penelitian ini akan membahas mengenai isolasi *Azotobacter* dari rhizosfer tanaman kopi yang terserang nematoda parasit endemik (*P. coffeae*) di perkebunan Kalibendo. Perkebunan Kalibendo terletak di Desa Kampunganyar Kecamatan Glagah Kabupaten Banyuwangi. Perkebunan Kalibendo yang memiliki ketinggian 700 mdpl merupakan kawasan endemik nematoda parasit *Pratylenchus coffeae* (Hulupi & Mulyadi, 2007).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian “Isolasi Identifikasi *Azotobacter* dari Rhizosfer Tanaman Kopi Robusta yang Terserang Nematoda (*Pratylenchus coffeae*)”. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui

spesies/genus mikroba yang berasal dari lahan kopi Robusta yang terserang nematoda *P. coffeae*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksploratif. Penelitian ini dilakukan dengan mengidentifikasi mikroba tanah yang terdapat dalam rhizosfer tanaman kopi Robusta yang terserang nematoda *Pratylenchus coffea* dari PT. Perkebunan kopi Kalibendo, Kabupaten Banyuwangi.

### **Tempat dan Waktu Penelitian**

Tahap persiapan pengambilan tanah di sekitar akar tanaman kopi di lahan kopi Robusta yang terserang nematoda parasit *Pratylenchus coffea* dilakukan pada perkebunan kopi Kalibendo, Kabupaten Banyuwangi. Sedangkan isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember. Tahap pengambilan foto mikroskopis bakteri yang diperoleh dilakukan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

### **Alat dan Bahan Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator, autoklaf, Laminar Air Flow (LAF), timbangan analitik, lemari es, kompor listrik/penangas, bunsen, gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi (kecil dan sedang), rak tabung, spatula, mikropipet, tip kuning, tip biru, eppendorf, gabus berlubang, korek api, jarum ose, jangka sorong, vortex, beaker glass, nampan, mikroskop, gelas objek, pipet tetes, kapas dan spidol. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tanah dari rhizosfer tanaman kopi robusta yang diperoleh dari perkebunan Kalibendo, Banyuwangi. Alkohol 70%, medium *Azotobacter Agar Mannitol*, medium *Nutrien Broth* (NB), aquadest steril, bahan pewarnaan gram, media untuk uji katalase, media untuk uji oksidase, media untuk uji reduksi nitrat, media untuk uji indol, media untuk uji motilitas.

### **Prosedur Penelitian**

Prosedur penelitian ini meliputi persiapan alat dan bahan, sterilisasi alat dan bahan, isolasi *Azotobacter* dari rhizosfer tanaman kopi Robusta yang terserang nematoda

parasit *Pratylenchus coffeae* milik Perkebunan Kalibendo. Peremajaan *Azotobacter* dengan menggunakan metode *streak plate* pada medium *Azotobacter* Mannitol dan diinkubasi selama 3-5 hari. Identifikasi bakteri (meliputi karakterisasi morfologi bakteri dan karakterisasi fisiologi dan biokimia), setelah itu dilakukan identifikasi menggunakan metode *Bergey's* serta dengan merujuk jurnal-jurnal penelitian sejenis.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Isolasi

Tabel 1. Hasil Pengamatan Morfologi, Fisiologi dan Biokimia

Uji	Bakteri				
	RA	RH	RI	RJ	13D
<b>Medium Cawan</b>					
<b>Partumbuhan</b>	Diatas permukaan medium	Diatas permukaan medium	Diatas permukaan medium	Diatas permukaan medium	Diatas permukaan medium
<b>Permukaan</b>	Licin	Licin	Kasar	Licin	Licin
<b>Bentuk koloni</b>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Irregular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>
<b>Elevasi</b>	<i>Convex</i>	<i>Convex</i>	<i>Effuse</i>	<i>Convex</i>	<i>Convex</i>
<b>Bentuk tepian</b>	<i>Undulate</i>	<i>Undulate</i>	<i>Crenate</i>	<i>Undulate</i>	<i>Undulate</i>
<b>Medium Miring</b>					
<b>Bentuk partumbuhan</b>	<i>Effuse</i>	<i>Filiform</i>	<i>Beaded</i>	<i>Effuse</i>	<i>Filiform</i>
<b>Bau</b>	Sedikit	Tidak	Bau	Tidak	Tidak
<b>Medium Tegak</b>					
<b>Bentuk partumbuhan</b>	<i>Echinulate</i>	<i>Echinulate</i>	<i>Beaded</i>	<i>Echinulate</i>	<i>Filiform</i>
<b>Medium Cair</b>					
<b>Permukaan</b>	Tidak membentuk cincin	Bulir	Membran	Tidak membentuk cincin	Bulir
<b>Bau</b>	Sedikit	Tidak	Bau	Tidak	Tidak
<b>Kekeruhan</b>	Sedang	Sangat keruh	Sedang	Sedang	Sedang
<b>Endapan</b>	Sedikit	Sedikit	Bulir -bulir	Sedikit	Sedikit
<b>Fisiologi dan Biokimia</b>					
<b>Gram</b>	-	-	-	-	-
<b>KOH</b>	+	+	-	+	-
<b>Motili-tas</b>	+	+	+	+	-
<b>Kapsul</b>	R	C	C	C	R
<b>Suhu</b>	-	-	-	-	-
<b>pH 4-5</b>	-	-	-	-	-
<b>Katalase</b>	+	+	+	+	+
<b>Oksidase</b>	-	+	+	+	+
<b>Mannitol</b>	+	-	+	+	+
<b>MR</b>	+	+	+	-	+
<b>Indol</b>	-	-	-	-	-
<b>Nitrat</b>	-	+	-	+	-
<b>Bentuk sel</b>	Basil	Kokus	Kokus	Kokus	Basil
<b>Spesies</b>	<i>Azotobacter</i> sp.	<i>Azotobacter</i> sp.	<i>Azotobacter</i> sp.	<i>Azotobacter</i> sp.	-

#### Keterangan

(+) : untuk hasil positif

(-) : untuk hasil negatif

## **Pembahasan**

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui genus/spesies *Azotobacter* yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari rhizosfer tanaman kopi Robusta yang terserang nematoda *Pratylenicus coffeae*. Tahap awal dari penelitian ini adalah penentuan dan pengambilan sampel tanah dari rhizosfer kopi Robusta yang terserang *P. coffeae* di Perkebunan Kalibendo, Desa Kampunganyar, Kecamatan Glagah Kabupaten Banyuwangi. Ciri tanaman kopi yang terserang nematoda *P. coffeae* adalah tanaman nampak kerdil, daun menguning diawali dari bagian tulang daun. Pada penelitian ini terdapat 3 tahap yang dilakukan, yaitu tahap isolasi, identifikasi dan tahap uji potensi proteolitik. Adapun tahap dan hasil penelitian ini dijabarkan sebagai berikut:

### **a. Isolasi Bakteri**

Isolasi bakteri adalah sebuah proses yang dilakukan untuk mendapatkan biakan murni, yaitu koloni bakteri yang tumbuh terpisah dan bentuk koloninya seragam. Isolasi bakteri adalah proses memisahkan bakteri dari habitatnya di alam dan menumbuhkannya dalam sebagai biakan murni dalam medium baru (Handayani, Misbachul, Nanik, & Rizal, 2016). Pada penelitian ini bakteri yang tumbuh pada medium umum dan memiliki perbedaan karakter makroskopis diisolasi pada medium *Azotobacter mannitol* dengan metode *streak plate*. Tahap pertama isolasi dilakukan dengan menimbang 1 gram rhizosfer kopi Robusta yang terserang nematoda untuk kemudian dilakukan pengenceran. Setelah itu ditanam pada medium cawan. Hanya bakteri penambat N yang dapat tumbuh pada medium *Azotobacter Mannitol*. Sehingga bakteri yang tumbuh pada medium *Azotobacter Mannitol* dapat dinamakan bakteri *Azotobacter*. Tujuan dari pemurnian isolat bakteri bertujuan untuk memisahkan inokulan yang terdiri dari banyak koloni bakteri yang berbeda-beda sehingga di dapat koloni bakteri yang murni dari setiap biakan (Pastra, et al. 2012). Hasil dari isolasi bakteri diperoleh sebanyak 5 macam isolat murni, adapun bakteri yang berhasil di isolasi diberi kode RA, RH, RI, RJ, dan 13D.

Isolat tersebut kemudian diteliti lebih lanjut melalui tahap identifikasi secara morfologi, fisiologi dan biokimia. Bakteri murni yang diperoleh juga disimpan dalam medium *Azotobacter Mannitol* miring dan dimasukkan ke dalam kulkas sebagai stok murni. Proses identifikasi bakteri murni yang diperoleh selanjutnya dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember. Tujuan dari

proses identifikasi adalah untuk mengetahui karakter masing-masing isolat bakteri hingga berhasil diperoleh genus/spesies dari bakteri yang diidentifikasi.

### **b. Karakterisasi Bakteri**

Pengamatan morfologi koloni bakteri dilakukan dengan pengamatan morfologi koloni pada berbagai medium. Bakteri terlebih dahulu di inokulasi pada medium *Azotobacter Mannitol* lempeng, tegak, miring dan cair. Pengamatan morfologi koloni pada medium lempeng meliputi pengamatan pertumbuhan koloni, permukaan koloni, bentuk koloni, elevasi, dan tepi (Margin). Pengamatan koloni bakteri pada medium tegak hanya berupa pengamatan bentuk pertumbuhan koloni. Pada medium miring yang diamati adalah bentuk pertumbuhan koloni dan bau. Pengamatan pada medium cair meliputi pengamatan pertumbuhan permukaan, bau, kekeruhan dan endapan koloni bakteri.

Morfologi koloni isolat bakteri yang diperoleh dalam penelitian ini memiliki karakter yang berbeda-beda. Adapun karakter morfologi koloni yang diperoleh adalah sebagai berikut: Tumbuh diatas permukaan medium; permukaan koloni licin; bentuk koloni *circular, irregular*; elevasi *convex, effuse*; bentuk tepi *undulate, crenate*. Bentuk koloni bakteri pada medium miring *effuse, beaded, filiform*. Bentuk koloni pada medium tegak *echinulate, beaded*. Pada medium cair, koloni bakteri tumbuh dengan tidak membentuk cincin, membentuk membran, dan membentuk bulir. Berbau dan tidak berbau. Memiliki tingkat kekeruhan sedang hingga sangat keruh dan memiliki endapan sedikit dan ada pula yang membentuk bulir.

Pengamatan morfologi makroskopis pada medium lempeng diketahui 7 isolat bakteri tumbuh diatas permukaan medium. Isolat RA, RH, RJ, 13D memiliki bentuk permukaan koloni yang licin, sedangkan isolat RI memiliki bentuk permukaan koloni yang kasar. Isolat RA, RH, RJ memiliki bentuk koloni *circular* (bentuk koloni bulat) sedangkan RI dan 13D memiliki bentuk koloni *irregular* (bentuk koloni tidak beraturan). Bakteri RA, RH, RJ, dan 13D memiliki elevasi berbentuk *convex* (cembung), sedangkan bakteri RI dan 13K memiliki elevasi *effuse* (rata). Bakteri RA, RH, RJ, dan 13D memiliki margin *undulate* (bergelombang), sedangkan isolat RI dan 13K memiliki margin *crenate*.

Pengamatan morfologi pada medium miring, diketahui bahwa bakteri RA dan RJ memiliki bentuk *effuse* (pertumbuhan tipis, biasanya merata). Bakteri RH dan 13D memiliki bentuk *filiform* (pertumbuhan sepanjang garis inokulasi merata). Bakteri RI

memiliki bentuk *beaded* (pertumbuhan seperti rantai mutiara/ butir-butir sepanjang bekas inokulasi. Pengamatan morfologi bakteri pada medium tegak menunjukkan bentuk pertumbuhan yang berbeda antar bakteri. Bakteri RA, RH dan RJ memiliki bentuk pertumbuhan yang berbeda antar bakteri. Bakteri RA, RH dan RJ memiliki bentuk pertumbuhan *echinulate* (pertumbuhan sepanjang bekas inokulasi berbintik-bintik atau bergerigi). Bakteri 13D memiliki bentuk pertumbuhan *filiform* pada medium tegak. Bakteri RI memiliki bentuk pertumbuhan *beaded* pada medium tegak. Pengamatan selanjutnya yaitu morfologi koloni bakteri pada medium cair. Bakteri RA dan RJ permukaannya tidak membentuk cincin, sedangkan bakteri RH dan 13D memiliki permukaan yang berbulir. Bakteri RI memiliki permukaan yang bermembran. Parameter yang diamati pada medium cair selanjutnya bau bakteri, bakteri RA memiliki sedikit berbau, bakteri RI sangat berbau, dan bakteri RH, RJ dan 13D tidak berbau. Bakteri RI memiliki tingkat kekeruhan yang sangat keruh. Bakteri RA, RI, RJ dan 13D memiliki tingkat kekeruhan sedang. Pada bakteri RI terbentuk endapan berupa bulir-bulir, sedangkan bakteri RA, RH, RJ, dan 13D hanya terbentuk sedikit endapan. Karakteristik morfologi *Azotobacter* menurut Wedhastri, koloni berbentuk bulat, halus, convex, basah (*moist*), koloni *Azotobacter* dapat berwarna putih, bening, keruh, dan coklat (Wedhastri, *et al.* 2002).

Pada pengamatan fisiologi bakteri diketahui bahwa isolat bakteri RA, RH, RI, dan RJ memiliki sifat gram negatif, motilitas bernilai positif. Sesuai dengan teori pada buku identifikasi Bergey's yang dimiliki Holt, *et al.* (1994: 77). Bakteri dikatakan sebagai gram negatif apabila bakteri berwarna merah. Sel-sel bakteri gram negatif efek pencucian alkohol menyebabkan Kristal violet terlepas dan sel-sel bakteri menjadi tidak berwarna. Uji motilitas dilakukan dengan tujuan untuk melihat pergerakan bakteri. Uji motilitas dilakukan dengan mengambil isolat bakteri berumur 24 jam-48 jam menggunakan ose lalu diletakkan pada *object glass* dan ditetesi aquades steril. Setelah itu diamati menggunakan mikroskop. Bakteri dikatakan motil apabila 100% bakteri terlihat bergerak saat diamati, atau 20-70% dari jumlah keseluruhan terlihat bergerak. Dikatakan non motil, apabila sebanyak 0-20% dari keseluruhan jumlah bakteri tidak bergerak saat diamati. *Azotobacter* merupakan bakteri yang bersifat motil yang bergerak menggunakan flagel, dengan kecepatan pergerakan yang berbeda-beda (Wedhastri, 2002; Agisti, Alami, Hidayati, 2014; Rahmi, 2014).

Hasil uji katalase menunjukkan bahwa semua isolat bakteri bernilai positif. Hal tersebut menunjukkan jika bakteri memiliki enzim katalase. Uji katalase dilakukan untuk mengetahui apakah isolat memiliki enzim katalase. Katalase digunakan oleh mikroorganisme untuk menguraikan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrogen peroksida) menjadi O<sub>2</sub> (oksigen) (Palealu, Butarbutar, & Tallei, 2017). Uji katalase positif ditandai dengan terbentuknya gelembung oksigen. Isolat bakteri yang dapat membentuk gelembung oksigen pada saat ditetesi hydrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 3% menunjukkan jika isolat tersebut mampu menghasilkan enzim katalase. Pada penelitian ini, diketahui bahwa semua isolat bakteri bernilai positif, artinya menghasilkan gelembung pada saat dilakukan uji katalase. Hal ini sesuai dengan pendapat yang menyatakan bahwa genus *Azotobacter* ditandai dengan uji katalase positif (Abdel-Hamid, Elbaz, Ragah, Hamza, & El Halafawy, 2010; Chairman, Amuthan, Ramesh, Vasanthi, & Ranjit, 2013; Agisti, Alami, & Hidayati, 2014).

Pada penelitian ini diketahui uji indol semua isolat menunjukkan hasil negatif. Sesuai dengan pendapat Chairani diketahui pada hasil pengamatan uji biokimia penelitiannya mengemukakan bahwa produksi indol isolat *Azotobacter* bersifat negatif (Chairani, Budiarti, & Kartika, 2016). Begitu pula pada pengujian pH bakteri menggunakan pH 4,5 diketahui bahwa isolat tidak tumbuh pada pH tersebut. Sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa pH optimum pertumbuhan dan fiksasi nitrogen *Azotobacter* sp. berkisar antara 7-7,5, akan tetapi dapat tetap tumbuh pada pH 4,8-8,5 (Ambasari, Udayani., Mulyono, & Akhadi, 2016).

Uji temperatur dilakukan untuk mengetahui pengaruh suhu terhadap pertumbuhan bakteri. Pada uji ini isolat bakteri ditanam pada medium miring kemudian diinkubasi pada temperatur 60°C. Berdasarkan hasil pengamatan semua isolat tidak tumbuh pada temperatur tersebut. Temperatur optimum dari *Azotobacter* adalah 30°C (Sethi & Adhikary, 2012; Kaur, 2014). *Azotobacter* sp. sensitif terhadap temperature diatas 35°C (Pranoto, Pratiwi, Wachyuni, & Anindita, 2015).

## **SIMPULAN**

Pada rhizosfer tanaman kopi Robusta yang terserang nematoda parasit *Pratylenchus coffeae* ditemukan 5 isolat bakteri, 4 merupakan *Azotobacter* (*Azotobacter* sp. RA, *Azotobacter* sp. RH, *Azotobacter* sp. RI, *Azotobacter* sp. RJ), sedangkan 1 isolat bakteri diketahui bukan *Azotobacter* yaitu isolat 13D.



## SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka terdapat beberapa saran yang diajukan oleh peneliti sebagai berikut.

- a. Perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut untuk mengetahui spesies *Azotobacter* yang ditemukan.
- b. Melakukan penelitian dengan mengaplikasikan *Azotobacter* pada daerah yang endemik nematoda untuk dapat melihat potensinya sebagai agen hayati pengendali nematoda parasit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Hamid, M.S., A. F. Elbaz., A. A. Ragab., H. A. Hamza., dan K. A. El Halafawy. 2010. Identification and Characterization of *Azotobacter chroococcum* Isolated from some Egyptian Soils. *J. of Agricultural Chemistry and Biotechnology*. Vol. 1(2): 93-104.
- Agisti, A., N. H. Alami., & T.N. Hidayati. (2014). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiotik pada Lahan Restorasi dengan Metode Legume Cover Crop (LCC) di Daerah Pasirian Lumajang Jawa Timur. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. Vol. 3 (2).
- Ambasari, H., E. Udayani., Mulyono., & D. H. Akhadi. (2016). Pengaruh Penambahan Inokulum *Azotobacter* sp. Terhadap Pertumbuhan Tanaman Sorghum bicolor untuk Aplikasi Fitoremediasi. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. Vol. 17 (1):1-6.
- Amira, S., Shawky, S. M., & Omar, M.N.A. 2011. Efficiency of Bioagents in Controlling Root- Knot Nematode on Acacia Plant in Egypt. *Journal Agriculture and Environ. Science*. Vol. 10 (2): 223 – 229.
- Chairani, O., R. S. Budiarti., & W.D. Kartika. (2016). Identifikasi Bakteri Tanah di Kebun Botani Biologi FKIP Universitas Jambi. *Bio-site*. Vol.2 (1):1-51.
- Chairman, K., M. Amuthan., S. Ramesh., K. Vasanthi., & A. J. A. Ranjit Singh. (2013). Isolation and identification of Bio-fertilizing Microorganisms from Soil Samples and Determination of Growth Condition in Chilly and Cluster Beans. *Medical Plant Research*. Vol. 3 (6): 44-51.
- Fikri, E. N., & Liestiany, E. (2013). Efek Jarak Tanam Tomat dengan Kenikir terhadap Serangan *Meloidogyne* spp. pada Tanaman Tomat. *Agroscentise*. Vol. 20 (2).
- Handayani, N. I., Misbachul, M., Nanik, I. S., & Rizal, A. M. (2016). Isolasi Bakteri Heterotrofik Anaerobik pada Pengolahan Air Limbah Industri Tekstil. *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri*. Vol. 7. No. 1.
- Harni, R., & Khaerati. (2013). Evaluation of Endophytic Bacteria in Controlling of *Pratylenchus Coffeae* in Coffee. *Buletin RISTRI*. 4 (2): 109 – 116.

- Hulupi, R., & Mulyadi. (2007). Sebaran Populasi Nematoda *Radopholus similis* dan *Pratylenchus coffea* pada Lahan Perkebunan Kopi. *Pelita Perkebunan*. Vol. 23 (3): 176-182.
- Jnawali, A.D., R. B. Ohja., & S. Marahatta. (2015). Role of *Azotobacter* in Soil Fertility and Sustainability. *Adv Plants Agric Res*. 2 (6): 00069.
- Kardinan, A. & A. Ruhnayat. (2008). *Budi Daya Tanaman Obat secara Organik*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Khalimi, K. S. & M. Sudarma. (2013). Isolasi dan Identifikasi Rizobakteri dari Rhizosfer Kacang Tanah dan Uji Efektifitasnya dalam Mengendalikan Penyakit Layu *Fusarium* pada Tanaman Tomat. *E-Jurnal Agroteknologi Tropika*. Vol. 2 (4).
- Kaur, I. (2014). Effect of nitrogen Fixing Bacteria *Azotobacter* and *Azospirillum* on the Growth of *Rosa polyantha*. *International Journal of Emerging Trends in Science and Technology*. Vol. 1(7).
- Moussa, M. Mohamed., & M. Said. (2017). Roselle Responsiveness to Application of Certain Bio and Mineral Fertilizers in Relation to Plant Parasitic Nematodes. *Asian Journal Nematology*. Vol. 6 (1):1-13.
- Pelealu, J. B., R. R. Butarbutar., T. E. Tallei. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Rizosfir *Arachis pintoii* setelah Inokulasi Mikoriza Arbuskular dan Penambahan Pupuk Organik. *Jurnal Bioslogos*. Vol. 7 (2).
- Pastra, D. A., Melki., & Heron, S. (2012). Penapisan Bakteri yang BERSimbiosis dengan Spons Jenis *Aplysina* sp sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Tagal Lampung. *Maspari Jurnal*. Vol. 4 (1); 77-82.
- Sethi, S. K., dan S. P. Adhikary. (2012). *Azotobacter*: A Plant Growth-Promoting Rhizobacteria used as Biofertilizer. *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology*. Vol. 6(1):68-74.
- Rahmi. (2014). Kajian Efektifitas Mikroba *Azotobacter* sp. Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Galung Tropika*. Vol. 3 (2): 44-53.
- Salamah, E. Husnul., & Mulawarman. (2014). Identifikasi Nematoda Parasit Tanaman Tebu di Pertanaman Tebu Lahan Kering PTPN VII Cinta Manis. *Semnas Lahan Suboptimal*.
- Sethi, S. K., dan S. P. Adhikary. (2012). *Azotobacter*: A Plant Growth-Promoting Rhizobacteria used as Biofertilizer. *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology*. Vol. 6(1):68-74.
- Wedhastri, S. (2002). Isolasi dan Seleksi *Azotobacter* spp. Penghasil Faktor Tumbuh dan Penambat Nitrogen dari Tanah Masam. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*. Vol. 3 (1): 45-51.

