

**EFEKTIVITAS PENGGUNAAN PUPUK HAYATI MIKORIZA (*Glomus* spp.)
UNTUK MENGENDALIKAN NEMATODA PURU AKAR (*Meloidogyne javanica*) PADA TEMBAKAU (*Nicotiana tabaccum* L.)**

Maris Purnanto, Hagus Tarno, Aminudin Afandhi

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawajaya
Jl. Veteran, Malang 65145, Indonesia

ABSTRACT

Root knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) is a major parasite which attacked plants, so it caused losses due to a decline in productivity. Root knot nematodes (*M. javanica*) is a pest which attacked tobacco plant (*Nicotiana tabaccum* L.). The control of root knot nematode can be done in various ways, one of them is the use of mycorrhizae (*Glomus* spp.). Mycorrhizae is a typical structures that reflects their functional interactions with plant. The purpose of this research was to examine the effectiveness of mycorrhizae (*Glomus* spp.) to control *Meloidogyne javanica* on tobacco plant and to know the most effective mycorrhizal biofertilizer dose to control the root knot nematode attack (*M. javanica*) on tobacco plant. The result showed that the use of mycorrhizal biofertilizer controlled the attack of root knot nematode (*M. javanica*) on tobacco plant. The application of 60 g mycorrhizal biofertilizer on tobacco was the most effective dose to control the root knot nematode attack (*M. javanica*). The application of 100 g mycorrhizal biofertilizer was the most effective dose to increase tobacco production.

Keywords: Tobacco, Root Knot Nematode, Mycorrhizae, *Glomus* spp.

ABSTRAK

Nematoda puru akar (*Meloidogyne* spp.) merupakan parasit penting dan banyak menyerang tanaman, sehingga menimbulkan kerugian karena terjadi penurunan produktivitasnya. Nematoda puru akar (*Meloidogyne javanica*) merupakan hama yang menyerang tanaman tembakau (*Nicotiana tabaccum* L.). Pengendalian nematoda puru akar dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya dengan penggunaan mikoriza (*Glomus* spp.). Mikoriza ialah suatu struktur yang khas yang mencerminkan adanya interaksi fungsional yang saling menguntungkan dengan tumbuhan. Tujuan dari penelitian ini ialah mengetahui efektivitas mikoriza (*Glomus* spp.) untuk pengendalian *M.javanica* pada tanaman tembakau dan mengetahui dosis pupuk hayati mikoriza (*Glomus* spp.) yang efektif dalam pengendalian serangan nematoda puru akar *M. javanica* pada tanaman tembakau (*N. tabaccum*). Hasil menunjukkan bahwa penggunaan pupuk hayati mikoriza dapat mengendalikan serangan nematoda puru akar *Meloidogyne sp.* pada tanaman tembakau (*N. tabaccum* L.). Pengaplikasian 60 g pupuk hayati mikoriza pada tembakau (*N. tabaccum* L.) merupakan dosis yang paling efektif dalam mengendalikan serangan nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.). Pengaplikasian 100 g pupuk hayati mikoriza pada tembakau (*N. tabaccum* L.) merupakan dosis efektif untuk peningkatan produksi tembakau.

Kata kunci: Tembakau, Nematoda Puru Akar, Mikoriza, *Glomus* spp.

PENDAHULUAN

Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) merupakan tanaman bernilai tinggi dan merupakan bahan yang dibutuhkan sangat luas di dunia yaitu untuk produksi sigaret, cerutu dan produk lain dari tembakau, merupakan tanaman komersial bukan pangan yang dibudidayakan paling luas di dunia (Akehurst, 1981). Nematoda parasitik tumbuhan terdapat pada tanaman tembakau dibudidayakan, tetapi beratnya masalah yang timbul tergantung pada iklim dan tipe tanah. Sebagian besar negara-negara penghasil tembakau terdapat pada kawasan intertropik. Nematoda parasitik yang dominan ialah *Meloidogyne* spp., diantaranya yang penting ialah *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, dan *M. hapla*.

Mikoriza ialah suatu struktur yang khas yang mencerminkan adanya interaksi fungsional yang saling menguntungkan antara suatu tumbuhan tertentu dengan satu atau lebih galur mikobion dalam ruang dan waktu. Berdasarkan struktur tumbuh dan cara infeksi mikoriza dikelompokkan dalam dua kelompok yaitu Ektomikoriza dan Endomikoriza. Mikoriza juga memiliki peran sebagai *biocontrol* pada tanaman dan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap kekeringan, dan sebaliknya mikoriza tidak menyebabkan penyakit terhadap tanaman untuk menyerap hara mineral dalam tanah dan menyediakan unsur-unsur hara N, Ca dan P bagi inang (Furlan, 1988). Pengendalian penyakit tanaman yang mempunyai prospek baik dan ramah lingkungan ialah pengendalian hayati dengan memanfaatkan mikroba antagonis disekitar tanaman.

Penelitian ini akan mengungkapkan tentang bagaimana tingkat efektivitas mikoriza untuk mengendalikan *Meloidogyne* pada tanaman tembakau. Dari hasil penelitian ini diharapkan Mikoriza dapat menjadi

suatu produk yang dapat dimanfaatkan secara optimal, terutama dalam budidaya tanaman tembakau.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di dalam Rumah Kaca Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian Jl. BesarIjen 30 A, Malang serta laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang. Pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Maret sampai Agustus 2014.

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri dari 5 perlakuan, perlakuan pertama tanpa spora *Glomus* spp., perlakuan kedua dengan dosis pupuk 40 g/tanaman, perlakuan ketiga dengan dosis pupuk 60 g/tanaman, perlakuan keempat dengan dosis pupuk 80 g/tanaman, dan perlakuan kelima dengan dosis pupuk 100 g/tanaman, dari kelima perlakuan tersebut masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali.

Sterilisasi Media Tanam

Sterilisasi media tanam dengan formalin 5%. Adapun sterilisasi tanah dilakukan dengan cara menyemprotkan larutan formalin pada media campuran tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1, diaduk merata, kemudian tanah ditutup dengan plastik selama 7 hari dan setelah itu bungkus plastik dibuka, selanjutnya dihawakan selama 7 hari. Media yang disterilkan dimasukkan kedalam polybag.

Inokulum telur *M. javanica*

Nematoda *M. javanica* diperoleh dari akar tanaman tomat di Areal pertanaman tomat Joyo Grand, Malang. Sampel akar tersebut diambil lalu dimasukan ke kantong plastik dan dibawa ke Laboratorium Nematologi, Fakultas

Pertanian, Universitas Brawijaya. Sampel akar yang diperoleh diambil massa telur menggunakan metode pengambilan secara langsung menggunakan jarum. Sampel akar dari lahan dicuci dengan menggunakan air secara hati-hati. Akar yang telah bersih dipotong dari pangkal batang tanaman, akar yang telah dipotong direndam dengan menggunakan air selama 48 jam. Akar hasil rendaman yang terdapat puru atau *gall* diambil massa telurnya dengan menggunakan jarum dan diletakan pada cawan petri. Massa telur tersebut diidentifikasi berdasarkan sidik pantatnya menggunakan pedoman identifikasi Eisenback *et al.*, (1981).

Identifikasi Nematoda Puru Akar

Identifikasi sidik pantat nematoda puru akar (*Meloidogyne* sp.) menggunakan nematoda puru akar yang menyerang akar tanaman tomat. Kemudian akar tanaman tomat dibelah secara hati-hati dengan menggunakan jarum agar nematoda betina tidak pecah. Selanjutnya pindahkan ke kaca preparat yang kering dan amati dibawah mikroskop stereo. Tusuk bagian kepala nematoda dengan jarum sehingga seluruh isi tubuh nematoda keluar dari dalam tubuhnya. Setelah nematoda Kempis, bagian posterior (pantat) nematoda dipotong dengan menggunakan silet. Pemotongan bagian posterior ini dilakukan dengan memotong 1/3 dari bagian tubuh nematoda. Pada kaca preparat diberi sedikit air untuk membersihkan bagian posterior (pantat) nematoda dari cairan maupun telur nematoda. Harus dipastikan bagian tubuh nematoda tersebut dalam keadaan telungkup. Kemudian kaca preparat tersebut ditutup dengan penutup kaca preparat dan diamati dengan menggunakan mikroskop medan terang. Selanjutnya identifikasi spesies nematoda dengan mengamati struktur morfologi atau sidik pantat nematoda tersebut.

Hal yang perlu diperhatikan dalam pembuatan preparat adalah peletakkan potongan tubuh nematoda diatas kaca preparat. Dalam peletakkannya, potongan tubuh nematoda bagian posterior (pantat) tersebut harus dipastikan dalam keadaan telungkup. Apabila posisi potongan tubuh terbalik, potongan tubuh dibalikkan dengan menggeser-geser penutup kaca preparat maka preparat akan sulit diidentifikasi dan kembali membuat preparat yang baru.

Pelaksanaan Penelitian

Percobaan tentang efektivitas penggunaan pupuk hayati mikoriza untuk pengendalian *M. javanica*. dilakukan bersamaan dengan penanaman bibit tanaman tembakau, yaitu dengan meletakkan pupuk hayati mikoriza ke dalam lubang tanam. Langkah selanjutnya yaitu meletakkan bibit tanaman tembakau diatasnya, kemudian lubang tanam ditutup dengan media dan disiram dengan air.

Inokulasi *M. javanica*.

Inokulasi *M. javanica*. ke tanaman tembakau dilakukan pada saat tanaman tembakau berumur 7 hari setelah tanam. Pada proses inokulasi, telur *M. javanica*. diletakkan pada area perakaran tanaman. Setiap tanaman di inokulasi dengan 100 telur *M. javanica*.

Pemeliharaan Tanaman

Pemeliharaan tanaman dilakukan di rumah kaca meliputi:

1. Pengairan, pemberian air yang dilakukan sesuai dengan kondisi tanaman
2. Pengendalian gulma/ tumbuhan pengganggu dan hama penyakit. Pengendalian gulma dan hama penyakit dilakukan secara mekanik dengan cara penyiangan, membunuh hama dan memotong bagian tanaman yang terserang penyakit.

Pengamatan

Variabel pengamatan dalam percobaan efektivitas penggunaan pupuk hayati mikoriza untuk mengendalikan *Meloidogyne javanica*. meliputi:

Populasi *Meloidogyne javanica*.

Pengamatan populasi *Meloidogyne* sp. dilakukan dengan melakukan perhitungan jumlah *Meloidogyne* sp. per 100 gram tanah pada setiap sampel pada akhir pengamatan.

Infeksi *Glomus* spp. pada Akar Tanaman Tembakau

Pengamatan persentase akar yang terinfeksi oleh *Glomus* spp. bertujuan untuk mengetahui kemampuan spora *Glomus* spp. untuk bersimbiosis dengan akar tanaman tembakau. Langkah-langkah untuk menghitung persentase akar yang terinfeksi *Glomus* spp. yaitu dengan menggunakan metode penjernihan dan pengecatan (*Clearing and Staining*). Akar dicuci dengan air destilat sampai bersih. Selanjutnya akar tersebut direndam dalam KOH 10 % selama 12 jam. Dengan menggunakan penyaring teh sebagai wadah, akar dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali. Selanjutnya akar direndam dalam HCl 2% selama 12 jam. Setelah itu direndam dalam larutan *tripan blue* selama 12 jam. Akar direndam dalam larutan destaining untuk menghilangkan kelebihan larutan pewarna *tripan blue*. Akar dipotong sepanjang kurang lebih 1 cm dan kemudian letakkan berjajar pada gelas obyek. Setiap 5 potong akar di tutup dengan *cover glass*. Setelah pewarnaan selesai kemudian amati setiap potong akar dibawah mikroskop, untuk mengetahui persentase akar yang terinfeksi *Glomus* spp. dengan menggunakan rumus:

$$\text{Persentase Akar Terkolonisasi} = \frac{\text{Jumlah Bidang Akar Terinfeksi}}{\text{Total bidang pandang yang diamati}} \times 100 \%$$

Tinggi dan Jumlah Daun Tanaman Tembakau

Pengukuran tinggi tanaman dan jumlah daun tanaman tembakau bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Glomus* spp. untuk mempengaruhi pertumbuhan tanaman tembakau. Pengukuran dilakukan 5 hari sekali hingga 10 kali pengamatan.

Berat Basah dan Berat Kering Tanaman

Pengukuran berat basah tanaman dilakukan dengan menimbang seluruh bagian tanaman yang telah dipanen. Berat kering tanaman ditentukan dengan menimbang seluruh bagian tanaman yang telah dikeringkan dalam oven dengan suhu 60°C selama 72 jam.

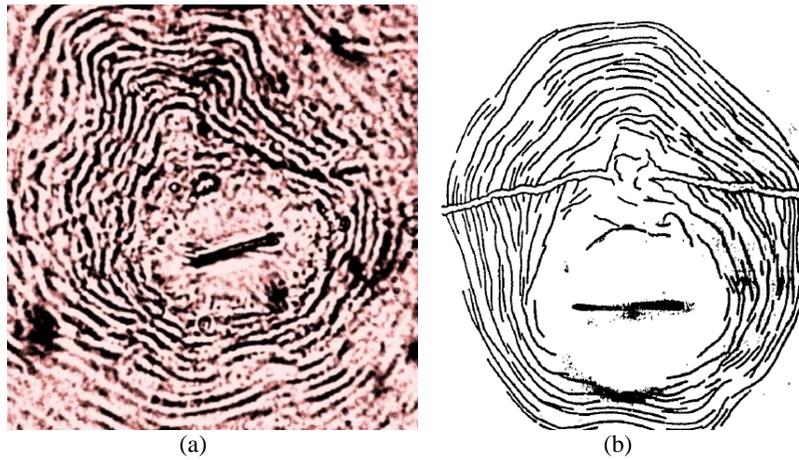
Analisis Data

Data pengamatan yang diperoleh dari percobaan efektivitas penggunaan *Glomus* spp. untuk mengendalikan *M. javanica*., dianalisis dengan menggunakan uji F pada taraf 5% dan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% menggunakan program SPSS statistik 17.0 (SPSS, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Nematoda Puru Akar Pada Tanaman Tomat

Berdasarkan pengamatan pada ciri-ciri khusus dari pola sidik pantat yang dimiliki nematoda betina terdapat 4 spesies nematoda puru akar ialah *M. javanica*. Hal ini dikarenakan pada *M. javanica* dicirikan oleh dua garis lateral yang jelas (Gambar 1a). Pola sidik pantat merupakan salah satu teknik identifikasi



Gambar 1. Hasil identifikasi nematoda puru akar pada tanaman tomat diperoleh seperti gambar 1; (a) adanya garis lateral yang sangat jelas; (b) Menurut Eisenback (1981).

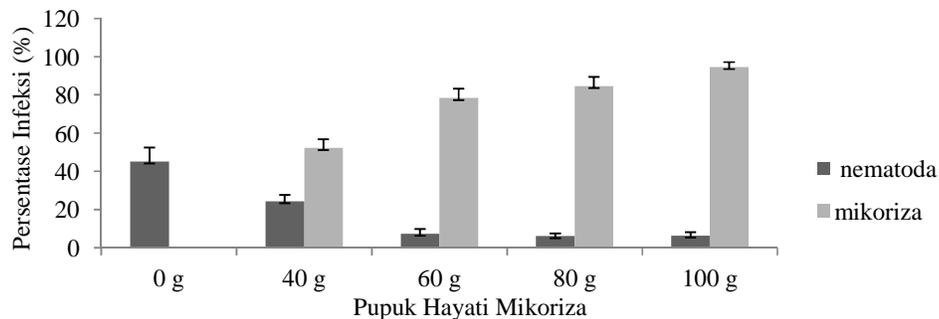
nematoda yang diperkenalkan oleh Eisenback *et al.*,(1981). Teknik identifikasi ini telah umum digunakan untuk melakukan identifikasi *Meloidogyne* walaupun belakangan ini pendekatan biologi molekuler diyakini lebih cepat dan lebih akurat untuk digunakan sebagai teknik identifikasi nematoda.

Persentase Infeksi Mikoriza dan Nematoda

Berdasarkan grafik persentase infeksi mikoriza dan nematoda dapat diketahui terdapat perbedaan yang nyata dari setiap perlakuan. Semakin tinggi dosis pupuk

hayati mikoriza tingkat infeksi nematoda juga semakin menurun. Penambahan 60, 80, dan 100 g pupuk hayati mikoriza secara nyata dapat menurunkan tingkat infeksi nematoda yang ditunjukkan pada Gambar 2.

Menurut Ferguson dan Woodhead (1982) intensitas yang tinggi akan menambah infeksi VA mikoriza dan produksi dari spora. Hal ini sesuai dengan hasil pengamatan bahwa semakin tinggi dosis yang diaplikasikan maka akan semakin tinggi tingkat infeksi mikoriza pada akar tanaman. Dari grafik diatas dapat dilihat bahwa mikoriza dapat



Gambar 2. Grafik persentase infeksi mikoriza dan nematoda pada akar.

berperan menurunkan infeksi nematoda. Hal ini sesuai dengan pendapat Schenk (1981) bahwa tanaman yang terinfeksi mikoriza akan mengalami penebalan sel kortikal sehingga penetrasi pathogen dapat dihalangi.

Populasi Akhir Nematoda Pada Media Tanam

Pengamatan akhir populasi nematoda dilakukan untuk mengetahui kemampuan nematoda bertahan hidup pada setiap perlakuan pupuk hayati mikoriza. Berdasarkan hasil analisa ragam populasi akhir nematoda diketahui bahwa pada perlakuan 60, 80 dan 100 g pupuk hayati mikoriza dapat menekan jumlah populasi akhir nematoda pada media tanam yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Populasi yang dapat bertahan hidup diluar akar (inang) menjadi relatif lebih sedikit karena adanya kompetisi inang dengan mikoriza. Keberadaan tanaman inang akan mempengaruhi populasinya meskipun nematoda dapat hidup selama beberapa bulan tanapa tanaman inang.

Tabel 1. Rerata Populasi Akhir Nematoda Pada 100 g Media Tanam

Perlakuan	Rerata Populasi Nematoda (ekor)
Tanpa Pupuk Hayati Mikoriza	25,20 ±4,12 a
40 g Pupuk Hayati Mikoriza	13,80 ±1,39 b
60 g Pupuk Hayati Mikoriza	4,20 ±0,86 c
80 g Pupuk Hayati Mikoriza	4,00 ±0,71 c
100 g Pupuk Hayati Mikoriza	3,00 ±0,71 c

Keterangan: Angka yang didampingi huruf yang sama pada setiap kolom yang sama, tidak berbeda nyata dengan uji BNT 5%.

Tinggi Tanaman dan Jumlah Daun Tanaman Tembakau

Berdasarkan hasil pengamatan tinggi tanaman tembakau selama 10 kali pengamatan, dapat diketahui bahwa pertumbuhan tanaman mengalami

peningkatan pada setiap perlakuan. Tinggi tanaman terbaik didapat dari perlakuan dengan 100 g pupuk hayati mikoriza.

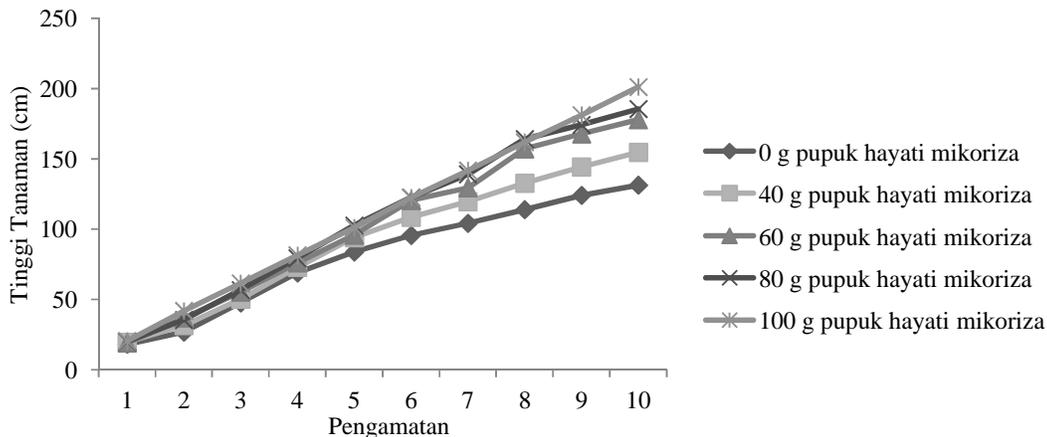
Menurut Carling dan Brown (1982) peningkatan pertumbuhan tanaman yang bermikoriza disebabkan oleh meningkatnya kegiatan fisiologis tanaman untuk mengambil nutrisi dalam tanah seperti K, Ca, Mg dan P. Tetapi pengambilan Fosfor dalam tanah oleh mikoriza adalah yang utama. Diduga mikoriza berperan meningkatkan penyerapan nutrisi dalam tanah dan kandungan hormon pertumbuhan tanaman. Menurut Paul dan Clark (1989) meskipun sulit untuk mengetahui mekanismenya namun aktivitas hormon dan laju fotosintesis akan meningkat pada tanaman yang berasosiasi dengan mikoriza. Seperti telah diketahui kemampuan mikoriza dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman adalah berbeda-beda untuk tiap-tiap spesies, baik dalam jumlah daun, diameter batang dan tinggi tanaman.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada beberapa perlakuan pupuk hayati mikoriza pada tanaman tembakau. Perbedaan yang nyata terdapat antara perlakuan tanpa mikoriza dan 40 g pupuk hayati mikoriza bila dibandingkan dengan perlakuan 60, 80 dan 100 g pupuk hayati mikoriza (Tabel 2).

Tabel 2. Rerata Jumlah Daun Tembakau

Perlakuan	Rerata Jumlah Daun (helai)
Tanpa Pupuk Hayati Mikoriza	15,00 ±0,71 a
40 g Pupuk Hayati Mikoriza	16,00 ±0,71 a
60 g Pupuk Hayati Mikoriza	19,80 ±0,00 b
80 g Pupuk Hayati Mikoriza	20,00 ±0,83 b
100 g Pupuk Hayati Mikoriza	20,00 ±0,00 b

Keterangan: Angka yang didampingi huruf yang sama pada setiap kolom yang sama, tidak berbeda nyata dengan uji BNT 5%.



Gambar 2. Grafik pertumbuhan tinggi tanaman tembakau dilakukan 5 hari sekali

Menurut Baon (1986) kandungan Fosfor yang tinggi dalam tanah akan menghambat perkembangan dari mikoriza. Selain peningkatan penyerapan nutrisi, diduga mikoriza berperan tidak langsung meningkatkan laju fotosintesis dan kandungan klorofil. Akibat lebih lanjut terjadi peningkatan tinggi tanaman, produksi, diameter batang, dan jumlah daun.

Tabel 3. Rerata Berat Basah Tanaman Tembakau

Perlakuan	Rerata Berat Basah (gram)
Tanpa Pupuk Hayati Mikoriza	249,30 ±4,57 a
40 g Pupuk Hayati Mikoriza	271,94 ±3,36 b
60 g Pupuk Hayati Mikoriza	267,90 ±4,35 b
80 g Pupuk Hayati Mikoriza	297,20 ±5,57 c
100 g Pupuk Hayati Mikoriza	331,90 ±3,82 d

Keterangan: Angka yang didampingi huruf yang sama pada setiap kolom yang sama, tidak berbeda nyata dengan uji BNT 5%.

Berat Basah dan Berat Kering Tanaman Tembakau

Berdasarkan hasil analisa ragam berat basah dan berat kering tanaman tembakau diperoleh perbedaan yang nyata dari setiap perlakuan. Penambahan 100 g pupuk hayati mikoriza menghasilkan berat kering tanaman tertinggi dibandingkan perlakuan yang lain. Dari hasil

pengamatan dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis pupuk hayati mikoriza yang ditambahkan ke tanaman tembakau dapat menghasilkan berat kering tanaman yang semakin tinggi pula.

Pengamatan berat basah dan berat kering ini diperoleh bahwa dengan penambahan pupuk hayati mikoriza dapat meningkatkan produktivitas tanaman tembakau. Menurut Mosse (1981) jamur mikoriza memiliki potensi untuk meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman karena miselium jamur ini mampu berperan sebagai perpanjangan akar dalam menyerap nutrisi dan air yang tidak terjangkau oleh akar sehingga permukaan absorpsi akar bertambah luas (Tabel 3 dan 4).

Tabel 4. Rerata Berat Kering Tanaman Tembakau.

Perlakuan	Rerata Berat Kering (gram)
Tanpa Pupuk Hayati Mikoriza	30,96 ±0,71 a
40 g Pupuk Hayati Mikoriza	34,38 ±1,34 b
60 g Pupuk Hayati Mikoriza	34,48 ±1,46 b
80 g Pupuk Hayati Mikoriza	38,50 ±1,71 c
100 g Pupuk Hayati Mikoriza	47,42 ±0,81 d

Keterangan: Angka yang didampingi huruf yang sama pada setiap kolom yang sama, tidak berbeda nyata dengan uji BNT 5%.

KESIMPULAN

1. Penggunaan pupuk hayati mikoriza (*Glomus* spp.) dapat mengendalikan serangan nematoda puru akar *M. javanica*. pada tanaman tembakau (*N. tabaccum* L.)
2. Pengaplikasian 60 g pupuk hayati mikoriza pada tembakau (*N. tabaccum*L.) merupakan dosis yang efektif dalam mengendalikan serangan nematoda puru akar (*M. javanica*.)
3. Pengaplikasian 100 g pupuk hayati mikoriza pada tembakau (*N. tabaccum* L.) merupakan dosis yang efektif untuk peningkatan produksi tembakau.

DAFTAR PUSTAKA

- Akehurst, B.C. 1981. Tobacco, 2nd Edition. London, New York, Longman, 764 p.
- Baon, J. B., S. Wiryadipura, E. Sulistyowati. 1988. Pengaruh infeksi mikoriza terhadap serangan nematode *Pratylenchus coffeae* pada tanaman kopi. *Pelita Perkebunan* 4(1): 22-30.
- Carling, D. E. dan M. E. Brown. 1982. Anatomy and Physiological VA mycorrhizal root and non-mycorrhizal root. *Am. Phytopatol. Soc. West Germany*. P 1108-1114.
- Eisenback J. D, H. Hirschmann, J. N. Sasser, A. C. Triantaphyllou. 1981. A Guide to the Four Most Common Species of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* Spp.), With A Pictorial Key. The Departments of Plant Pathology and Genetics North Carolina State University. Carolina.
- Ferguson, J.J. dan S.H. Woodhead. 1982. Increase and Maintenance of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi. 47-54. Dalam Schenk N.C (eds) *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. *Am. Phytopathol.* 244p.
- Furlan, K. dan Y.S. Tsuno. 1988. Effect of Potassium on the Dry Matter Production of Sweet Potato. *Proc 1st. Symp. On Trop Root Crop. Trinidad.*
- Mosse, B. 1986. Mycorrhiza in a Sustainable Agriculture. *Biol. Agric. Hort.* 3:191-209.
- Paul, E. A. dan F. E. Clark. 1989. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Acad. Press. London. 273 p.