

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROBIA BINTIL AKAR PUTRI MALU
(*Mimosa pudica*) INDIGENUS DARI LAHAN KERING PRINGGABAYA,
LOMBOK TIMUR**

**Isolation and characterization of *Mimosa pudica* Nodule Microbes Indigenous
from the Dry Land of Pringgabaya, East Lombok**

Novita Hidayatun Nufus^{1)*}, Wayan Wangiyana²⁾, Ni Wayan Sri Suliartiningsih¹⁾

¹⁾ Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat

²⁾ Program Studi Magister Pengelolaan Sumberdaya Lahan Kering, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat

Diterima redaksi: 04 Juni 2022/ Direvisi: 23 Juni 2022 / Disetujui: 23 Juni 2022/Diterbitkan online: 30 Juni 2022

DOI: 10.21111/agrotech.v7i1.454

Abstrak. Salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam meningkatkan kualitas tanah dalam rangka peningkatan produksi pertanian adalah melalui pemanfaatan pupuk hayati. Pupuk hayati merupakan mikroorganisme tanah yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui peningkatan suplai dan penyerapan unsur hara tanah. Mikrobia tersebut dapat diperoleh dari tanaman yang bersimbiosis dengannya, salah satunya adalah Putri malu (*Mimosa pudica*). Penelitian dilaksanakan dengan tujuan untuk memperoleh isolat mikrobia pembentuk bintil akar yang bersimbiosis dengan tanaman Putri malu (*Mimosa pudica*) indigenus yang hidup di lahan kering Pringgabaya, Kabupaten Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat sebagai sumber isolate dalam produksi pupuk hayati. Untuk itu dilakukan isolasi mikrobia dari bintil akar tanaman Putri malu yang dilanjutkan dengan karakterisasi isolate yang didapat. Isolasi dilakukan dengan menginokulasi suspensi bintil akar ke dalam media tumbuh berupa *Yeast Manitol Agar* (YMA). Pemurnian isolate dilakukan dengan menumbuhkan isolate pada YMA ke dalam media YMA yang baru dengan teknik *streak quadrant* dan dilanjutkan dengan pengecatan gram. Biakan murni isolate selanjutnya diamati morfologi koloni secara makroskopis serta morfologi sel secara mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 7 isolat dari bintil akar tanaman Putri malu (*Mimosa pudica*), yaitu isolate A, B, C, D, E, F, dan G. Berdasarkan analisis kenampakan koloni secara makroskopis, yang dilanjutkan dengan pengamatan morfologi sel secara mikroskopis, dan pengecatan gram, diduga isolat tersebut tergolong ke dalam genus *Bacillus* (isolat A, C, D dan G), *Rizhobium* (isolat D), *Pseudomonas* (isolate F), dan *Actynomycetes* (isolate E).

Kata kunci: *mikrobia endofit, Putri malu, Mimosa pudica*

Abstract. The application of Bio-fertilizer plays a main role in generating the quality of land farming due to increasing the agricultural production. Bio-fertilizer contained several microbes that promotes plants growth by increasing the supply and nutrient uptake. Bio-fertilizer i could be isolated from soil microbes that associated with some legume plants, i.e *Mimosa pudica*. The aim of this study is to find the indigenous *Mimosa pudica* root nodule microbes from the dry land of Pringgabaya, East Lombok, West Nusa Tenggara province. The research was carried out to isolates and characterizes *Mimosa pudica* root nodule microbes. Isolation procedure was completed by inoculated root nodule suspension into *Yeast Manitol Agar* medium for 2 days, then continued by isolate purification using *streak quadrant* technique due to separates the single colony. The single colony of each isolates were observed for its morphological colony, bacterial morphology, and gram stained. The result suggests seven isolates have been

found on *Mimosa pudica* root nodule; isolate A, B, C, D, E, F, and G. Based on colonies description and microscopic observation, those isolates are expected as a member of Genus *Bacillus* (isolate A, C, D, and G), *Rhizobium* (isolate D), *Pseudomonas* (isolate F), and *Actinomycetes* (isolate E).

Keywords: *root nodule microbes, Mimosa pudica*

* Email: novitahnufus@unram.ac.id

Alamat : Jl. Majaphit No. 62 Mataram, Nusa Tenggara Barat

PENDAHULUAN

Kualitas tanah pada suatu lahan merupakan salah satu faktor penentu produktivitas pertanian. Kualitas tanah ditentukan oleh sifat fisik tanah, kondisi kimia tanah, serta kondisi biologi tanah. Penurunan kualitas tanah dapat berimplikasi pada penurunan hasil pertanian. Penurunan kualitas tanah pada areal persawahan antara lain disebabkan oleh pola tanam monokultur dan olah tanah yang intensif yang disertai dengan penggunaan pupuk kimia sintetis dalam jumlah besar.

Upaya peningkatan kualitas tanah pada lahan persawahan dapat dilakukan melalui pemanfaatan mikroba tanah sebagai pupuk hayati (Nurhidayati, 2017). Menurut Permentan No.2 tahun 2006, pupuk hayati didefinisikan sebagai sekumpulan mikroorganisme hidup yang berfungsi untuk membantu memperbaiki kesuburan tanah. Pupuk hayati diinokulasikan ke dalam tanah dan berperan dalam membantu atau memfasilitasi penyerapan unsur hara dalam bentuk unsur hara tersedia yang dapat diserap tanaman dan mampu meningkatkan pertumbuhan dan hasilnya. Pupuk hayati yang digunakan dapat berupa isolat tunggal suatu jenis mikrobia maupun konsorsium mikrobia tertentu yang diisolasi dari daerah perakaran tanaman (rizosfir) yang bersimbiosis dengan tanaman.

Salah satu jenis tanaman yang diketahui kaya akan simbiosis mikrobia pada rizosfirnya adalah Putri Malu (*Mimosa pudica*). Putri malu dikenal sebagai gulma penutup tanah yang bersifat invasif karena berkembang

relatif lebih cepat dibanding tanaman lain dan tahan terhadap berbagai cekaman abiotik (BBPOPT, 2020). Kemampuan yang dimiliki Putri Malu ditengarai disebabkan karena putri malu membentuk simbiosis dengan konsorsium mikrobia pada rizosfirnya. Beberapa jenis mikrobia yang diketahui bersimbiosis dengan Putri Malu antara lain berasal dari Genus *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan beberapa jenis *Actinomycetes*. Diketahui, mikrobia yang bersimbiosis dengan putri malu tersebut ada yang merupakan mikrobia penambat Nitrogen (Genus *Rhizobium*), mikrobia pelarut posfat (genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*), dan mikrobia yang bersifat antagonis terhadap beberapa jenis patogen tular tanah (contoh; *Pseudomonas pudica*) (Harahap, 2008; Nivya, 2015; Sari *et al*, 2018).

Produksi pupuk hayati menggunakan isolat mikrobia memiliki peluang besar untuk dikembangkan dalam skala besar. Akan tetapi terdapat kemungkinan adanya inkompatibilitas antara isolat konsorsium mikrobia yang digunakan dengan tanaman sasaran. Sumber isolat mikroba yang digunakan merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap efektifitas isolat mikrobia pupuk hayati.

Sejauh ini belum diperoleh data mengenai jenis mikrobia endofit Putri Malu yang diperoleh dari Pulau Lombok. Berdasarkan hal tersebut perlu dilaksanakan penelitian yang bertujuan untuk memperoleh isolat mikroba endofit Putri Malu dari Pulau Lombok. Penelitian dilakukan di lahan kering Pringgabaya, Lombok Timur.

Isolasi Dan Karakterisasi Mikrobial Bintil Akar Putri Malu (*Mimosa Pudica*) Indigenus Dari Lahan Kering Pringgabaya, Lombok Timur

Pringgabaya terletak pada ketinggian 5-250 m di atas permukaan laut (Lomboktimurkab.go.id). Lokasi kawasan ini, baik secara topografi dan iklim, memenuhi syarat tumbuh Putri Malu.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain; bintil akar tanaman Putri malu yang diambil pada daerah lahan kering Pringgabaya, media Yeast Manitol Agar (YMA), aquades steril, larutan alkohol 96%, larutan crystal violet, larutan safranin, dan larutan lugol.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain; sekop kecil, gunting, plastik klip, Laminar Air Flow, mortar dan pistil, mikropipet, lampu Bunsen, kawat ose, mikroskop, alat gelas, dan alat tulis.

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan metode deskriptif dan terdiri atas tiga tahap; pengambilan sampel bintil akar, isolasi mikrobial, dan karakterisasi isolate mikrobial.

Pengambilan sampel dilakukan dengan mengadaptasi metode Harahap (2008) dan Nivya (2015). Tanaman Putri malu diambil dari lahan terbuka di Desa Pringgabaya, Kecamatan Pringgabaya, Kabupaten Lombok Timur Nusa Tenggara Barat. Pengambilan sampel dilakukan dengan mencabut tanaman Putri malu hingga akarnya kemudian memasukkannya ke dalam plastik zip lock dan dibawa ke laboratorium.

Isolasi bintil akar Putri malu akan dilakukan dengan adaptasi metode Harahap (2008) dan Nivya (2015). Sebelum isolasi dimulai, akar putri malu akan terlebih dahulu dibersihkan dari tanah dan dicuci di bawah air mengalir dengan hati-hati kemudian dilanjutkan dengan mengambil bintil akar dari akar yang telah bersih untuk disterilisasi. Sterilisasi diawali dengan

menggojog bintil akar di dalam Aquades steril selama 2 menit kemudian meniriskannya pada tissue steril. Sterilisasi dilanjutkan dengan menyemprotkan larutan Alkohol 96% pada bintil akar dan membiarkannya selama 10 detik untuk kemudian dibilas dengan aquades steril selama 2 menit. Selanjutnya, bintil akar digiling kemudian disuspensikan ke dalam 5 mL. Isolasi diakhiri dengan menuang 1 mL suspensi isolate bakteri ke dalam media YMA dan menginkubasi selama 48 jam pada suhu 28° C.

Karakterisasi isolat mikrobial diawali dengan pemurnian isolat untuk mendapatkan isolate tunggal. Pemurnian isolate dilakukan dengan memindahkan masing-masing isolat yang tumbuh pada media YMA ke dalam media YMA yang baru. Setelah didapatkan biakan tunggal, dilakukan karakterisasi morfologi koloni yang dilanjutkan dengan pengecatan gram, serta pengamatan morfologi sel mikrobial dengan menggunakan mikroskop.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel tanaman putri malu diambil dari 2 lokasi yang berbeda pada lahan terbuka Pringgabaya pada lokasi -8.53138, 116.63768, 70.6mdpl, 166° dan -8.53085, 166.63744, 60.2m dpl, 354° (gambar 1). Dari kedua lokasi tersebut didapatkan bintil akar Putri Malu yang serupa dengan karakteristik berwarna kemerahan (merah muda) (gambar 2).

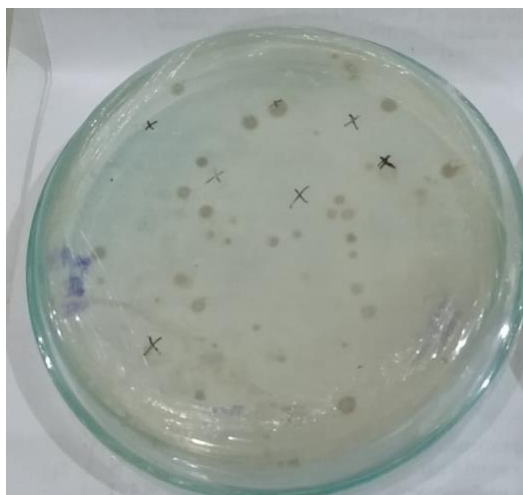
Isolasi mikrobial dari bintil akar Putri malu menghasilkan 7 isolat mikrobial (gambar 3). Karakterisasi kelima isolate tersebut dilakukan dengan mengamati karakter kenampakan koloni, morfologi sel, serta pengecatan gram. Secara umum didapatkan koloni dengan beberapa bentuk; titik (Isolat B dan F), bulat (Isolat A, C, D, dan G), dan berbenang (isolate E). Permukaan koloni ada yang cembung (Isolat A, B, C, D,

F, dan G) dan ada yang datar (Isolat E). Koloni sebagian besar berwarna putih susu dengan pinggiran bening dan berkilau (A, B, F, G), putih susu tanpa pinggiran bening (C,

dan D) namun ada koloni yang berwarna putih (isolat E). Deskripsi koloni isolat secara jelas pada tabel 1.



Gambar 2. Bintil akar tanaman Putri malu



Gambar 3. Hasil isolasi mikrobial bintil akar Putri Malu

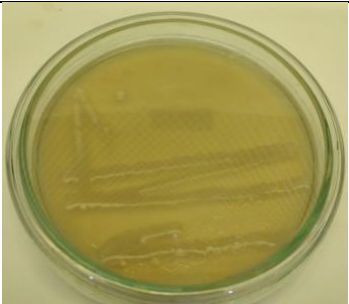
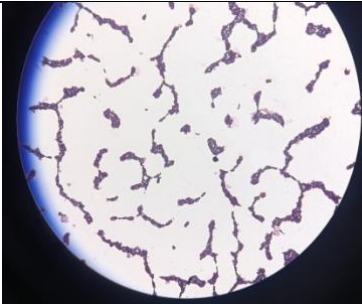
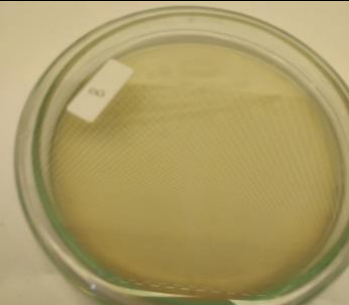
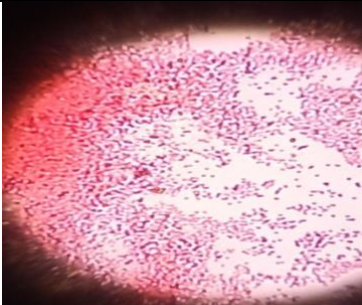
Isolasi Dan Karakterisasi Mikrobial Bintil Akar Putri Malu (*Mimosa Pudica*) Indigenus Dari Lahan Kering Pringgabaya, Lombok Timur

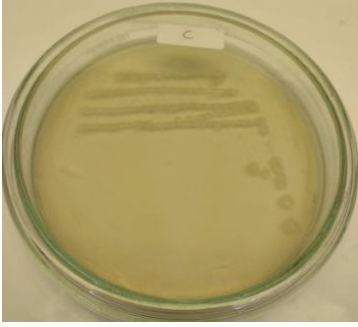
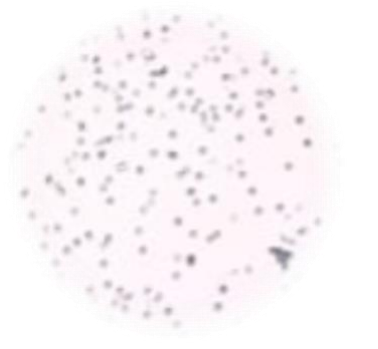
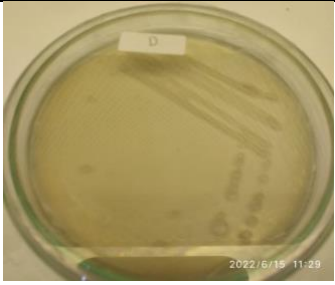
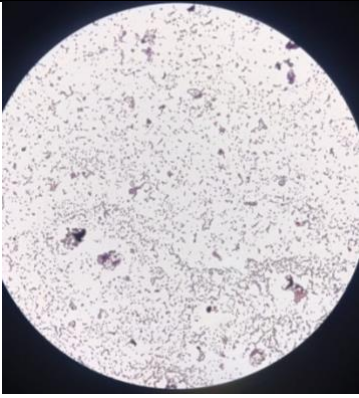
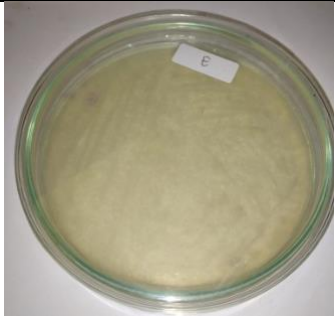
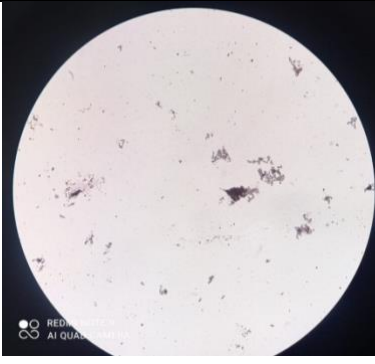
Karakterisasi isolate dengan pewarnaan gram dan pengamatan bentuk sel menunjukkan sebagian besar merupakan mikrobial gram positif (isolate A, C, D, E, dan G) dan didapatkan 2 isolat mikrobial gram negative (B dan F). Hampir seluruh isolat (A, B, C, D, F, dan G) menunjukkan karakteristik sel bakteri yaitu berbentuk bulat (coccus, baik

monococcus dan diplococcus) dan batang (Bacillus). Namun demikian terdapat 1 isolat (E) yang menunjukkan karakteristik seperti actinomycetes yaitu berbentuk tidak beraturan dengan struktur menyerupai hyfa.


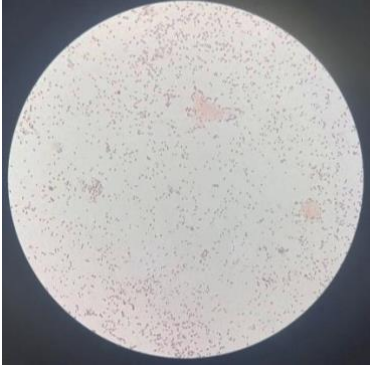

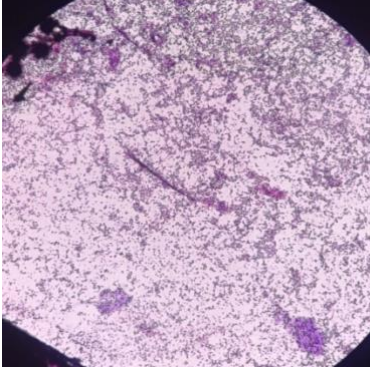
Berdasarkan kenampakan morfologi koloni, ketujuh isolat mikrobial tersebut dideskripsikan pada tabel 1. berikut:

Tabel 1. Deskripsi koloni mikrobial bintil akar Putri Malu

No	Foto Isolat	Foto sel	Deskripsi isolat
1			Isolat A. Bentuk koloni bulat, permukaan koloni mengkilat, tepi koloni utuh, warna koloni putih susu, permukaan koloni cembung. Tipe pertumbuhan <i>fast growing</i> . Bentuk sel batang tunggal, gram positif
2			Isolat B. Bentuk koloni titik, permukaan koloni mengkilat, tepi koloni utuh, warna koloni putih kekuningan, permukaan koloni mencembung. Tipe pertumbuhan <i>fast growing</i> . Bentuk sel batang (<i>bacillus</i>), gram negative.

3			<p>Isolat C. Bentuk koloni bulat, permukaan koloni mengkilat, tepi koloni utuh, warna koloni putih susu, permukaan koloni mencembung. Tipe pertumbuhan <i>fast growing</i>. Bentuk sel batang, gram positif</p>
4			<p>Isolat D. Bentuk koloni bulat, permukaan koloni mengkilat, tepi koloni utuh, warna koloni putih susu dengan pinggiran bening, permukaan koloni cembung. Tipe pertumbuhan <i>fast growing</i>. Bentuk batang (bacillus). Gram positif.</p>
5			<p>Isolat E. Bentuk koloni berbenang, permukaan koloni suram, tepi koloni tidak rata, warna koloni putih kekuningan, permukaan koloni datar. Tipe pertumbuhan <i>fast growing</i>. Sel panjang tidak beraturan, gram positif Kemungkinan</p>

Isolasi Dan Karakterisasi Mikrobial Bintil Akar Putri Malu (*Mimosa Pudica*) Indigenus Dari Lahan Kering Pringgabaya, Lombok Timur

			merupakan actinomycetes
6			Isolat F Bentuk koloni titik, permukaan koloni mengkilat, tepi koloni utuh, warna koloni putih dengan pinggiran bening, permukaan koloni cembung. Tipe pertumbuhan <i>fast growing</i> . Bentuk bulat, gram negatif
7			Isolat G. Bentuk koloni bulat, permukaan koloni mengkilat, tepi koloni utuh, warna koloni putih susu dengan pinggiran bening, permukaan koloni cembung. Tipe pertumbuhan <i>fast growing</i> . Bentuk sel batang, gram positif.

Karakteristik bintil akar yang diperoleh dan digunakan sebagai sampel sumber isolat mikrobial berwarna merah muda. Warna ini disebabkan oleh pigmen merah yang disebut *leghaemoglobin*. Keberadaan pigmen *leghaemoglobin* terkait dengan fiksasi Nitrogen yang dilakukan bakteri pada bintil akar tersebut. Walaupun *leghaemoglobin* tidak berperan langsung dalam pengikatan Nitrogen, pigmen tersebut berperan dalam mengatur pasokan Oksigen bakteri pada kondisi optimum. Keadaan ini memungkinkan enzim Nitrogenase, yang sensitive terhadap Oksigen, dapat berfungsi

secara optimal (Kannan *et al*, 2015 dan Shentilkumar *et al*, 2020).

Hasil karakterisasi koloni secara makroskopis menunjukkan penampakan beberapa koloni yang serupa; bentuk koloni bulat, tepi koloni rata, permukaan koloni cembung dan mengkilat, serta warna koloni putih susu (isolat A, C, D, dan G). Namun demikian, koloni isolat B dan F menunjukkan kenampakan koloni yang sedikit berbeda yaitu, bentuk koloni titik, dimana karakter lainnya serupa dengan isolat A, C, D, dan G. Selain itu, didapatkan isolate E yang kenampakan koloninya jauh berbeda, yaitu

seperti benang, dengan permukaan koloni datar, tepi koloni tidak rata, serta warna koloni putih kekuningan. Berdasarkan hasil tersebut diduga terdapat setidaknya 3 kelompok mikrobia pada bintil akar Putri Malu di Pringabaya.

Untuk menegakkan analisis, dilakukan karakterisasi secara mikroskopis yang disertai dengan pengecatan gram. Hasil pengamatan morfologi dan pengecatan gram menunjukkan adanya 3 kelompok mikrobia yaitu; berbentuk batang, gram positif (isolate A, C, D, dan G); berbentuk batang, gram negative (isolate B); berbentuk bulat, gram negative (isolate F); serta berbentuk seperti batang, ada struktur seperti hyfa, gram positif (isolate E).

Berdasarkan kenampakan makroskopis koloni dan morfologi bakteri secara mikroskopis, diduga mikrobia yang diisolasi dari bintil akar Putri malu termasuk ke dalam genus *Bacillus* (isolate A, D, G, C), *Rhizobium* (isolat D), *Pseudomonas* (isolat F), serta *Actinomyces* karena berbentuk memiliki struktur seperti hyfa dan bentuknya tidak beraturan.

Bakteri yang termasuk ke dalam *Bacillus* memiliki morfologi berbentuk batang, gram positif, koloni berbentuk bulat, permukaan cembung, tepian rata, dan berwarna putih (Puspita *et al*, 2017) seperti yang ditunjukkan oleh mikrobia isolate A, D, C, dan G. Isolat *Rhizobium* pada umumnya menunjukkan kenampakan koloni berbentuk bulat, ukuran besar, berwarna putih susu, permukaan cembung dan mengkilap, bentuk sirkular dengan pinggiran rata, serta marginnya entire, bersifat gram negatif dengan sel berbentuk batang (Sari *et al*, 2018), serupa dengan karakter isolat D. Isolat F menunjukkan karakter makroskopis koloni dan mikroskopis sel sesuai dengan deskripsi bakteri dari genus *Pseudomonas*, yaitu koloni berbentuk sirkular kecil, permukaan cembung, berwarna putih susu/krem,

berbentuk bulat dan bersifat gram negative (Tapia-Garcia, *et al*, 2020). Hasil penelitian yang diperoleh sejalan dengan beberapa hasil penelitian lainnya. Sari *et al*, (2018) menyebutkan berhasil mengisolasi beberapa strain *Rhizobium* dari bintil akar Putri malu pada kebun kacang, Bogor. Tapia-Garcia *et al* (2020) melaporkan temuan keberadaan bakteri *Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp* pada bintil akar Putri malu yang tumbuh di Mexico.

Isolat E menunjukkan karakter morfologi koloni dan sel yang berbeda secara signifikan dengan isolate lainnya; koloni berbentuk seperti kumparan/benang, permukaan koloni datar dengan pinggir koloni tidak rata, warna koloni kekuningan, bentuk sel memanjang dengan struktur seperti hyfa dan bersifat gram positif. Karakteristik tersebut lebih mengarah pada genus *Actinomyces* dibandingkan dengan genus bakteri. Ini sesuai dengan deskripsi Li *et al* (2015). Keberadaan *Actinomyces* dalam bintil akar tanaman legume juga telah dikonfirmasi sejak lama. Sebagai contoh, Gunasekera *et al* (2016) melaporkan terdapat 3 kelompok Genus *Actinomyces* ditemukan pada bintil akar tanaman *Casuarina equisetifolia* yang berperan dalam peningkatan pertumbuhan tanaman tersebut.

Karakteristik morfologi masing-masing isolat dapat menjadi landasan awal dalam identifikasi jenis isolat mikrobia bintil akar Putri malu yang didapat. Namun demikian, untuk menegakkan hasil karakterisasi dan identifikasi isolat, perlu dilakukan analisis lanjutan berupa analisis aktivitas biokimia dan analisis molekuler untuk mengetahui dengan pasti jenis isolat yang ditemukan. Penelitian dapat dilanjutkan untuk mengetahui kemampuan isolat untuk fiksasi Nitrogen, pelarutan posfat, uji antagonis dengan bakteri patogen secara *in vitro* serta kemampuan isolat dalam meningkatkan

Isolasi Dan Karakterisasi Mikrobial Bintil Akar Putri Malu (*Mimosa Pudica*) Indigenus Dari Lahan Kering Pringabaya, Lombok Timur

pertumbuhan dan hasil tanaman dalam skala lapang.

KESIMPULAN

Isolasi dan karakterisasi mikrobial bintil akar tanaman Putri malu (*Mimosa pudica*) menghasilkan 7 isolat. Berdasarkan analisis kenampakan koloni secara makroskopis, pengamatan morfologi sel secara mikroskopis, dan pengecatan gram, diduga isolat tersebut tergolong ke dalam genus *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, dan *Actinomycetes*. Untuk menegakkan hasil karakterisasi dan identifikasi isolat, perlu dilakukan analisis lanjutan berupa analisis aktivitas biokimia, analisis molekuler, kemampuan fiksasi Nitrogen, pelarutan posfat, dan uji antagonis dengan patogen secara *in vitro*, serta kemampuan isolat dalam meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman dalam skala lapang.

ACKNOWLEDGEMENT

Penulis berterimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Mataram yang telah memberikan dukungan dana melalui skim Penelitian Dosen Pemula sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

REFERENSI

BBPOPT. 2020. Manfaat Putri Malu Bagi Petani. Diakses dari: <https://bbpopt.tanamanpangan.pertanian.go.id/index.php/2020/06/09/banyak-yang-tidak-tahu-inilah-manfaat-putri-malu-bagi-petani/> pada 1 Februari 2020

Gunasekera D.T.W, D. Gunawardana dan H. Jayasinghearachchi. 2016. Diversity of Actinomycetes in Nitrogen Fixing Root Nodules of *Casuarinaequisetifolia* and its Impact on Plant Growth. *International Journal of Multidisciplinary Studies (IJMS)* 3(1): 17-24.

Harahap, I.P. 2008. studi pendahuluan isolasi bakteri rhizobium dari bintil akar tanaman putri malu (*mimosa pudica*. l) serta pemanfaatannya sebagai pupuk hayati (biofertilizer) dengan menggunakan bentonit sebagai medium pembawa. Skripsi. Universitas Sumatera Utara.

Kannan, V.R., S. Sithara., S. Chandru. 2015. Proportional analysis of leghaemoglobin concentration in various nodulating plants and intuitive *Rhizobium* species. *European Journal of Experimental Biology* 5(4): 15-23.

Klonowska, A., C. Chaintreul, P.Tisseyre, L.Miche, R. Melkonian, M. Ducousso, G. Laguerre, B. Brunel, L. Moulin. Biodiversity of *Mimosa pudica* rhizobial symbionts (*Cupriavidus taiwanensis*, *Rhizobium mesoamericanum*) in New Caledonia and their adaptation to heavy metal-rich soils. *FEMS Microbiol Ecol*, 81: 618-635

Li, Q., X. Chen, Y. Jiang, C. Jiang. 2015. Morphological Identification of Actinobacteria. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*, D. Dhanasekaran dan Y. Jiang (ed.). DOI 10.5772/60457 Diakses dari <https://www.intechopen.com/books/5056>.

Nivya, R.M. 2015. A Study on Plant Growth Promoting Activity of the Endophytic Bacteria Isolated from the Root Nodules of *Mimosa Pudica* Plant. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 4 (8): 6959-6968

Nurhidayati, 2017. Kesuburan dan Kesehatan Tanah. Intimedia. Malang

Puspita, F., M.Ali, R.Pratama. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri *Bacillus* sp Endofitik dari Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis*

- guinnensis* Jacq.) *Jurnal Agroteknologi Tropika* 6 (2): 44-49.
- Sari, E., A. N.Flatian, Z.I.Sari, E.Sulaeman.2018.Isolasi dan Karakterisasi Thizobium dari Glycine max dan Mimosa pudica. I Ekotonia: *Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi, dan Mikrobiologi*, 3 (2):55-62.
- Shentilkumar, M., N. Amaresan, A. Sankaranarayan. 2020. Quantitative Estimation of Leghemoglobin Content in Legume Root Nodules. *Plant Microbes Interaction, Springer Protocols Handbooks*. Humana, New York
- Tapia-Garcia, E.Y., V. Hernandez-Trejo, J. Guevara-Luna, F.U. Rojas-Rojas, I.Arroyo-Herrera, J. Meza-Radilla, M.S. Vasquez-Murrieta, P. Estrada-De Los Santos. 2020. Plant growth-promoting bacteria isolated from wild legume nodules and nodules of *Phaseolus vulgaris* L. trap plants in central and southern Mexico. *Microbial Research* 23