

**Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri *Bacillus* sp. Endofitik dari Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)**

***Isolation and Characterization of Morphology and Physiology of Endophytic *Bacillus* sp. from Oil Palm Plants (*Elaeis guineensis* Jacq.)***

**Fifi Puspita<sup>1</sup>, Muhammad Ali<sup>1</sup>, Ridho Pratama<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Riau

Diterima 8 Februari 2017/Disetujui 16 Agustus 2017

**ABSTRACT**

*Endophytic bacteria are bacteria that infect and live in plant tissue, including oil palm plant tissue. There are many species of endophytic bacteria living inside tissue oil palm plant which play a beneficial role for plant. One of the bacteria is Bacillus sp. Bacillus sp. can be used as a biological pesticide and biological fertilizers which is useful for plants. The purpose of the research is to observe the characteristics of the endophytic Bacillus sp. Plants samples was taken by survey method. The location of sampling was at the district of Asahan North Sumatera. Isolation was performed from oil palm plant organs such as root, stems and leaves of oil palm plants. Results showed that the morphological characterization such as colony color, colonies form and colonies edges of the bacteria had similarities each others, but there was a difference on the surface of morphology colony. Six isolates had a convex surface and six isolates had a flat surface. Physiology assay results such as catalase test, oxidase test, starch hydrolysis test, motility test and test of temperature on the growth of the bacteria showed a positive result on the each isolate. Characterization results showed a morphological and physiological similarities to the characteristics of Bacillus subtilis.*

**Keyword:** *Isolation and Characterization, endophytic Bacillus sp. and oil palm plants*

**ABSTRAK**

Bakteri endofitik merupakan bakteri yang berada didalam jaringan tanaman dan salah satunya adalah tanaman kelapa sawit. Pada jaringan kelapa sawit terdapat banyak jenis bakteri endofitik dan memiliki peran yang dapat menguntungkan untuk tanaman tersebut, salah satunya adalah bakteri *Bacillus* sp. endofitik. Isolasi dan karakterisasi secara morfologi dan fisiologi perlu dilakukan bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri *Bacillus* sp. endofitik dan untuk mengetahui spesiesnya berdasarkan karakterisasi morfologi dan fisiologinya. Pengambilan tanaman sampel dilakukan dengan metode survai dengan penentuan lokasi dilakukan secara *purposive sampling*. Penentuan petak sampel seluas 5% dari areal tanam. Isolasi dilakukan pada organ tanaman kelapa sawit seperti akar, pelepah, batang dan daun tanaman kelapa sawit. Hasil karakterisasi morfologi dan fisiologi ini terdapat bakteri *Bacillus* sp. pada semua jaringan organ tanaman kelapa sawit, yang karakterisasinya sama dengan karakteristik dari bakteri *Bacillus subtilis*.

**Kata Kunci :** *Isolasi dan Karakterisasi, Bacillus sp. Endofitik, Tanaman Kelapa Sawit.*

**PENDAHULUAN**

Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Indonesia. Tanaman kelapa sawit khususnya provinsi Sumatera Utara banyak yang terserang penyakit busuk pangkal batang yang disebabkan oleh jamur *Ganoderma boninense* Pat. Hal ini yang menyebabkan Produksi tanaman kelapa sawit selalu menunjukan hasil yang

fluktuatif. Menurut Dinas Perkebunan Provinsi Sumatera Utara (2013), Luas areal tanaman yang terserang penyakit Busuk Pangkal Batang di Kabupaten Asahan, Sumatera Utara seluas 2.428,33 ha.

Pengendalian selama ini yang dilakukan dengan menggunakan fungisida kimiawi tidak memperlihatkan hasil yang memuaskan. Alternatif untuk mengatasi penyebaran penyakit

\*Penulis korespondensi : ridhopratama632@yahoo.com

BPB dapat dilakukan dengan mengisolasi bakteri endofitik dari jaringan tanaman kelapa sawit.

Menurut (Pal, *et al.*, 2012), dengan melakukan penetrasi, bakteri endofitik tersebut akan berkolonisasi sehingga mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen melalui mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi. Bakteri endofitik juga dapat berperan sebagai pupuk hayati. Menurut Setiawati, *et al.* (2009), Bakteri endofitik memiliki beberapa peranan lain seperti penghambat N<sub>2</sub> dari udara, menghasilkan fitohormon seperti Asam Asetat Indole-3 (IAA) dan sitokinin yang dapat memacu pertumbuhan.

Bakteri endofitik yang dapat diisolasi dari organ jaringan tanaman adalah bakteri *Bacillus* sp. Isolasi bakteri *Bacillus* sp. endofitik yang berasal dari tanaman kelapa sawit dapat dilakukan dari bagian akar, batang, pelepah dan daun (Tarabilly *et al.*, 2003).

## METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian dan Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau, Jalan Bina Widya Km 12,5 Simpang Baru Panam, Kecamatan Tampan Kotamadya Pekanbaru. Penelitian berlangsung dari bulan November 2014 sampai dengan April 2015.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian dari tanaman kelapa sawit (akar, batang, daun dan pelepah), kertas tisu gulung, larutan hipoklorit 10%, akuades steril, alkohol 70% dan 95%, kertas saring, plastik *wrap*, *Nutrient Agar* Merck (NA), *Nutrient Broth* Merck (NB), kristal violet, Safranin, Lugol's Iodin. Malasit *Green*, larutan *Hydrogen Peroxide* (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 3 %, larutan Kovac's *Oxydase* 1%, Kalium Iodida, medium pati dan *Yeast Pepton Gliserin* (YPG).

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah parang, dodos, pisau, kantong plastik transparan, autoclaf, cawan petri, tabung reaksi 15 ml, pinset, jarum ose, pipet tetes, pipet tetes mikro, batang pengaduk, bunsen, *laminar airflow cabinet*, kulkas, gelas objek, gelas piala 1 l, erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 10 ml, shaker, inkubator, *hot plate mixer*, mikroskop binokuler, kaca objek dan *test tube*.

Penelitian dilakukan dengan metode survei. Lokasi pengambilan sampel adalah di Kec. Teluk Dalam Kab. Asahan Sumatera Utara. Penentuan lokasi dilakukan secara *purposive sampling* dengan alasan pada lokasi tersebut terdapat

tanaman kelapa sawit yang terserang jamur *G.boninense* Pat. Luas areal tanaman adalah 30 ha, dengan penentuan petak sampel seluas 5% dari luas areal tanaman sehingga didapat luas petak sampel 1,5 ha. Pengambilan tanaman sampel dilakukan secara acak dengan metode diagonal.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Morfologi Makroskopis

Hasil isolasi dari beberapa bagian tanaman kelapa sawit, diperoleh 12 isolat bakteri *Bacillus* sp. endofitik yang berasal dari akar, batang, pelepah dan daun tanaman kelapa sawit yang berasal dari daerah Kec. Teluk Dalam Kab. Asahan Sumatera Utara. Karakteristik makroskopis masing-masing isolat bakteri *Bacillus* sp. endofitik dapat dilihat pada Tabel 1.

Isolat yang diamati memiliki warna keputihan dengan bentuk bulat. Bentuk koloni bulat dan warna koloni putih umumnya menandakan bakteri tersebut berasal dari genus *Bacillus* sp. Menurut Corbin (2004), koloni *Bacillus* sp. memiliki karakteristik umum memiliki warna krem keputihan serta bentuk koloni yang bulat dan tidak beraturan.

Tepian koloni semua isolat rata. Karakterisasi ini menunjukkan 12 isolat adalah berasal dari genus bakteri endofitik yang sama, yaitu genus *Bacillus* sp. Menurut Hatmati (2000), bakteri *Bacillus* spp. memiliki tepi koloni bermacam macam rata dan tidak rata, permukaannya kasar dan tidak berlendir, bahkan ada cenderung kering dan berbubuk, koloni besar dan tidak mengkilat.

Permukaan koloni pada isolat bakteri endofitik yang diisolasi dari tanaman kelapa sawit memiliki perbedaan, ada yang berbentuk cembung dan ada yang berbentuk datar. Isolat bakteri yang menunjukkan permukaan yang cembung adalah TKS-b1p, TKS-b1b, TKS-b2a, TKS-b2p, TKS-b3b, TKS-b3d dan yang menunjukkan permukaan yang datar adalah TKS-b1a, TKS-b1d, TKS-b2b, TKS-b2d, TKS-b3a, TKS-b3p. Permukaan koloni cembung dan datar adalah salah satu karakteristik dari bakteri *Bacillus* sp. secara morfologi. Tipe permukaan bakteri *Bacillus* sp. endofitik sering kali memiliki perbedaan. Menurut Hatmanti (2000), jenis *Bacillus* spp. menunjukkan bentuk koloni yang berbeda beda pada medium agar.

Perhitungan koloni yang telah dilakukan menunjukkan bahwa koloni bakteri *Bacillus* sp. endofitik terdapat pada bagian batang, pelepah dan akar tersebar secara merata. Sampel dari masing-masing blok tanaman memiliki tingkat kepadatan koloni bakteri yang berbeda. Pada blok

1 kepadatan koloni tertinggi pada bagian pelepah, blok 2 kepadatan koloni tertinggi pada bagian

batang sedangkan pada blok 3 kepadatan koloni tertinggi pada bagian akar.

Tabel 1. Karakteristik Makroskopis bakteri *Bacillus* sp. endofitik yang diisolasi dari tanaman kelapa sawit pada medium NA

Kode Isolat	Karakteristik Makroskopis			
	Permukaan	Tepian	Bentuk	Warna
TKS-B1a	Datar	Rata	Bulat	Putih
TKS-B1p	Cembung	Rata	Bulat	Putih
TKS-B1b	Cembung	Rata	Bulat	Putih
TKS-B1d	Datar	Rata	Bulat	Putih
TKS-B2a	Cembung	Rata	Bulat	Putih
TKS-B2p	Datar	Rata	Bulat	Putih
TKS-B2b	Cembung	Rata	Bulat	Putih
TKS-B2d	Datar	Rata	Bulat	Putih
TKS-B3a	Datar	Rata	Bulat	Putih
TKS-B3p	Datar	Rata	Bulat	Putih
TKS-B3b	Cembung	Rata	Bulat	Putih
TKS-B3d	Cembung	Rata	Bulat	Putih

Keterangan: TKS-B1a: Tanaman kelapa sawit blok 1 akar; TKS-B1p: tanaman kelapa sawit blok 1 pelepah; TKS-B1b: tanaman kelapa sawit blok 1 batang; TKS-B1d: tanaman kelapa sawit blok 1 daun; TKS-B2a: tanaman kelapa sawit blok 2 akar; TKS-B2p: tanaman kelapa sawit blok 2 pelepah; TKS-B2b: tanaman kelapa sawit blok 2 batang; TKS-B2d: tanaman kelapa sawit blok 2 daun; TKS-B3a: tanaman kelapa sawit blok 3 akar; TKS-B3p: tanaman kelapa sawit blok 1 pelepah; TKS-B3b: tanaman kelapa sawit blok 1 batang; TKS-B3d: tanaman kelapa sawit blok 3 daun.

### Morfologi Makroskopis

Hasil identifikasi karakteristik mikroskopis bakteri *Bacillus* sp. endofitik dilakukan melalui pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora. Hasil karakterisasi mikroskopis dapat dilihat di Tabel 2.

Sel bakteri endofitik yang diisolasi dari tanaman kelapa sawit berbentuk batang. Hasil ini menunjukkan kesamaan karakteristik secara mikroskopis dengan bakteri *Bacillus* sp. secara umum, yang selnya berbentuk batang dan Gram positif. Menurut Sofyan *et al.* (2009), bakteri *Bacillus* sp. merupakan bakteri Gram positif dengan bentuk batang pendek hingga batang tunggal dengan penataan tunggal.

Hasil pengamatan terhadap 12 isolat bakteri, menunjukkan bahwa selnya berbentuk batang dan Gram positif serta memiliki endospora sehingga bisa dikatakan berasal dari genus *Bacillus* sp. Menurut Hatmanti (2000), sebelum digolongkan menjadi 6 marga, *Bacillus* sp. dikarakteristikan sebagai bakteri Gram positif, sedangkan yang Gram negatif termasuk kedalam marga *Clostridium* sp.

Tabel 2. Karakteristik mikroskopis bakteri *Bacillus* sp. endofitik yang diisolasi dari tanaman kelapa sawit

Kode Isolat	Karakteristik Mikroskopis	
	Gram	Endospora
TKS-B1a	+	+
TKS-B1p	+	+
TKS-B1b	+	+
TKS-B1d	+	+
TKS-B2a	+	+
TKS-B2p	+	+
TKS-B2b	+	+
TKS-B2d	+	+
TKS-B3a	+	+
TKS-B3p	+	+
TKS-B3b	+	+
TKS-B3d	+	+

Keterangan : + = Gram positif (Berwarna Ungu) atau memiliki endospora

Endospora bakteri *Bacillus* sp. endofitik berbentuk bulat dengan sel vegetatif berwarna merah muda. *Bacillus* sp. endofitik merupakan 1 dari 6 genus bakteri yang memiliki endospora. Menurut Thiman (1955), bakteri *Bacillus* sp. mempunyai struktur bentuk kapsul yang berisi polipeptida dari asam D-glutamat yang merupakan bakteri berspora.

### Karakterisasi Fisiologi

Hasil identifikasi berdasarkan karakteristik fisiologis dilakukan dengan beberapa uji yaitu; uji katalase, uji oksidase, uji hidrolisis pati, uji pengaruh suhu dan uji motilitas terhadap 12 isolat bakteri *Bacillus* sp. endofitik ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik fisiologi bakteri *Bacillus* sp. endofitik yang diisolasi dari tanaman kelapa sawit

Kode Isolat	Karakterisasi Fisiologi				
	Uji Katalase	Uji Oksidase	Uji Hidrolisis Pati	Uji Motilitas	Pertumbuhan pada Suhu 37°C
TKS-B1a	+	+	+	+	+
TKS-B1p	+	+	+	+	+
TKS-B1b	+	+	+	+	+
TKS-B1d	+	+	+	+	+
TKS-B2a	+	+	+	+	+
TKS-B2p	+	+	+	+	+
TKS-B2b	+	+	+	+	+
TKS-B2d	+	+	+	+	+
TKS-B3a	+	+	+	+	+
TKS-B3p	+	+	+	+	+
TKS-B3b	+	+	+	+	+
TKS-B3d	+	+	+	+	+

Keterangan : + = reaksi positif atau dapat menghasilkan

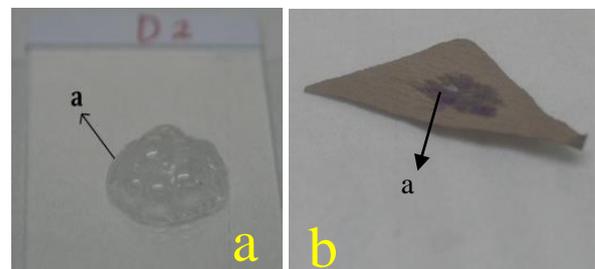
#### Uji Katalase

Hasil uji katalase bakteri *Bacillus* sp. endofitik menunjukkan bahwa 12 isolat *Bacillus* sp. endofitik merupakan katalase positif, yang terlihat dengan adanya gelembung oksigen yang muncul setelah isolat diletakkan di kaca objek yang kemudian ditetesi dengan larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Gambar 1a).

Uji katalase yang positif menandakan *Bacillus* sp. endofitik memiliki enzim katalase. *Bacillus* sp. adalah salah satu genus bakteri yang merupakan bakteri yang bersifat aerob obligat atau aerob fakultatif, dan positif terhadap uji enzim katalase. Menurut Barrow *et al.* (1993), bakteri *Bacillus* sp. endofitik termasuk dalam golongan bakteri bersifat aerob.

#### Uji Oksidase

Uji oksidase yang dilakukan pada 12 isolat bakteri *Bacillus* sp. endofitik menunjukkan hasil yang positif. Hasil ini terlihat dengan adanya perubahan warna pada kertas saring menjadi ungu setelah digoreskan isolat yang berumur 48 jam pada larutan Kovac's Oxydase 1% (Gambar 1b).



Gambar 1. Hasil uji Katalase (a) dan oksidasi (b) oleh bakteri *Bacillus* sp. endofitik. a = reaksi positif

Hasil positif terlihat pada bakteri yang digoreskan pada kertas saring yang telah diberi larutan Kovac's Oxydase 1% yang didiamkan 10 menit dan berubah warna menjadi ungu yang menandakan hasil positif dan memiliki enzim oksidase.

Enzim oksidase pada bakteri *Bacillus* sp. endofitik memegang peranan penting dalam transport elektron selama respirasi aerobik. Enzim oksidase yang dihasilkan oleh bakteri aerob fakultatif seperti bakteri *Bacillus* sp. menyebabkan bakteri ini mampu memanfaatkan sumber karbon yang tersedia (Priyani *et al.* 2006).

### Uji Hidrolisis Pati

Uji hidrolisis pati yang dilakukan terhadap 12 isolat menunjukkan hasil positif. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus* sp. mampu menghidrolisis pati dan memiliki enzim amilase yang terlihat dari zona terang yang terbentuk pada koloni bakteri yang telah ditambahkan garam Iodin.

Zona terang dapat terlihat jelas dengan penambahan indikator garam Iodin. Pati yang tidak mengalami hidrolisis enzim amilase akan berwarna biru kehitaman dengan penambahan garam Iodin. Hasil ini juga menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus* sp. endofitik memiliki enzim amilase. Hal ini didukung oleh pernyataan Carrim *et al.* (2006) bahwa bakteri endofitik yang diisolasi dari jaringan tanaman akan memproduksi enzim amilase yaitu dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*. Bakteri *Bacillus* sp. endofitik akan memproduksi enzim amilase yang keluar dari selnya untuk menghidrolisis pati glukosa. Menurut Winarno (1986), pada mikroorganisme, amilase murni dapat diisolasi salah satunya dari bakteri *Bacillus subtilis*.

### Uji Pengaruh Suhu Terhadap Pertumbuhan Bakteri

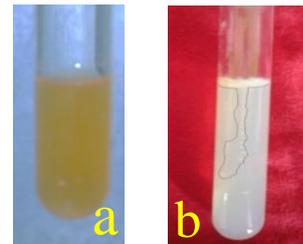
Hasil pengamatan pengaruh suhu terhadap pertumbuhan bakteri pada suhu 25°C, 35°C dan 37°C dinyatakan positif (Gambar 2a). Hasil ini juga memperlihatkan bahwa pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. endofitik adalah optimum pada suhu 25°C, 35°C dan 37°C. Menurut Grauman (2007), bakteri *Bacillus* sp. yang dapat tumbuh optimum pada suhu 25°C dan 35°C adalah bakteri spesies *B. subtilis*.

Suhu optimum ini menunjukkan suhu terbaik untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. endofitik. Pertumbuhan yang baik pada bakteri akan berdampak pada keberadaan populasi dari bakteri *Bacillus* sp. endofitik di dalam jaringan tanaman yang suhunya berkisar 25°C. Hal ini juga akan berdampak pada keberadaan bakteri *Bacillus* sp. endofitik pada masing-masing organ tanaman kelapa sawit. Menurut Ahdianto (2006) *cit.* Pakpahan *et al.* (2013), bahwa faktor suhu memberikan pengaruh positif terhadap laju pertumbuhan bakteri, semakin tinggi suhu interval dari suhu 25°C, 35°C dan 37°C menyebabkan semakin cepat laju pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp.

### Uji Motilitas

Uji motilitas terhadap 12 isolat dari organ tanaman kelapa sawit menunjukkan reaksi positif

(Gambar 2b). Hasil uji ini memperlihatkan adanya pergerakan bakteri dengan adanya alat bantu gerak pada bakteri *Bacillus* sp. endofitik yaitu flagel. Bakteri *Bacillus* sp. mempunyai sifat motil dan juga immotil. Spesies *Bacillus* sp. yang bersifat motil adalah *Bacillus subtilis* dan *Bacillus thurgenensis*. *Bacillus subtilis* dikatakan motil dikarenakan bakteri ini dapat bergerak dengan adanya bantuan sekumpulan flagel yang menempel pada kedua kutub selnya.



Gambar 2. Hasil uji pengaruh suhu (a) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. endofitik dan uji motilitas (b)

Bakteri endofitik menggunakan flagel untuk mendapatkan sumber nutrisi di dalam jaringan tanaman. Reseptor pada permukaan bakteri mampu mendeteksi nutrisi dalam lingkungannya. Semakin jauh dari sumber nutrisi, konsentrasi nutrisi akan berkurang, sehingga menghasilkan gradien. Bakteri mampu mendeteksi gradien ini dengan memutar flagelnya ke arah sumber nutrisi.

### Identifikasi Berdasarkan Karakteristik Morfologi dan Fisiologi

Hasil identifikasi dari 12 isolat *Bacillus* sp. endofitik yang diamati secara karakterisasi morfologi dan fisiologi menyerupai dari karakteristik dari spesies *B. subtilis*. Hasil tersebut meliputi Gram positif, endospora positif, uji katalase positif, uji oksidasi positif, uji hidrolisis pati positif, uji motilitas positif dan suhu pertumbuhan optimum 37°C. Dari kesemua hasil uji menunjukkan karakterisasi yang sama yaitu hasil positif.

Hasil-hasil ini didukung oleh pernyataan Todar (2011), yang menyatakan bahwa bakteri *B. subtilis* adalah bakteri uniseluler yang terbentuk batang, gram positif, hidup secara aerob dan mempunyai endospora yang terbentuk dari sel vegetatif sebagai respon terhadap lingkungan yang ekstrim. Bakteri *B. subtilis* memiliki aktifitas oksidasi yang beragam dan bersifat motil. Penentuan spesies *Bacillus* sp. juga didasarkan pada ciri-ciri karakterisasi secara fisiologi dan membandingkan karakteristik *B. subtilis* yang sama dengan hasil identifikasi spesies *Bacillus* sp. yang menyimpulkan bahwa bakteri memiliki uji

katalase positif, uji hidrolisis pati positif dan suhu optimal pertumbuhannya 37°C.

### KESIMPULAN

1. Sebanyak 12 isolat *Bacillus* sp. endofitik berhasil diisolasi dari jaringan organ tanaman kelapa sawit yang diambil dari daerah Kec.Teluk Dalam Kab. Asahan Sumatera Utara.
2. Semua isolat memiliki kesamaan pada warna koloni dan bentuk koloni, namun berbeda pada permukaan koloni, yakni pada isolat bakteri yang diisolasi dari bagian pelepah dan batang pada blok 1, akar dan pelepah pada blok 2 serta batang dan daun pada blok 3 menunjukkan permukaan yang cembung, sedangkan isolat lainnya menunjukkan permukaan yang datar.
3. Dua belas isolat menunjukkan hasil uji karakteristik fisiologi yang sama, yaitu dengan uji katalase positif, oksidase positif, hidrolisis pati positif, motilitas positif dan suhu pertumbuhan optimum 37°C.
4. Dua belas isolat memiliki kemiripan dengan karakteristik *Bacillus subtilis*, sehingga diduga bahwa spesies dari isolat adalah bakteri *Bacillus subtilis*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Barrow, G.I dan R.K.A. Feltham. 1993. Cowan and Steel's manual for The Identification of Medical Bacteria Third Education. Cambridge: Univesity Press, Australia.
- Carrim, N. M .H. 2006. The Relantionship Amongst Locus of Control, Self Determination and Job Satisfaction in Call Centers, Univesity Pretoria.
- Corbin, B.D. 2004. Identification and Characterization *Bacillus thuringiensis*. J. Bacteriol. 186: 7736–7744.
- Dinas Perkebunan. 2013. Perkebunan Sumatera Utara. Dinas Perkebunan Sumatera Utara. Medan.
- Graumann, P. 2007. *Bacillus*; Cellular and Molecular Biology. Caister Academic Press.
- Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus* spp. Balitbang lingkungan laut LIPI. Jakarta. 15(1):31-41.

Pakpahan, M., C.N. Ekowati dan K. Handayani. 2013. Karakterisasi Fisiologi dan Pertumbuhan Isolat Bakteri *Bacillus thuringiensis* Dari Tanah Naungan di Lingkungan Universitas Lampung. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Lampung. hal. 751-759.

Pal., Babita., Sailesh and D.K.Samanta. 2012. Morphometric and hydrological analysis and mapping for wattut watershed using remote sensing and GIS technique, 2 p 357-368. 2231-1963.

Priyani, N., Liliyanto dan N. Kiki. 2006. Uji Potensi *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli* dalam Mendegradasi Alkhlil Berzen sebagai bahan Aktif Detergen. Jurnal Biologi Sumatera. 1 (2) 35-37.

Purba, T.M. 2013. Isolasi dan Karateristik Bakteri Endofitik dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). Skripsi Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Riau. Pekanbaru. (Tidak dipublikasikan).

Setiawati, M.R., H.A. Dedeh, S. Pujawati dan Ridha. 2009. Formulasi Pupuk Hayati Bakteri Endofitik Penambat N2 dan Aplikasinya Untuk Meningkatkan Hasil Tanaman Padi. Fakultas PertanianUNPAD.Bandug. *Biospecies* 7(1):1-7.

Sofyan, Salmariza, S.Y., dan Ardinal. 2009. Kombinasi sistem anaerobik filter dan Multi Soil Layering (MSL) sebagai alternatif pengolahan limbah cair industri kecil menengah makanan.Jurnal Riset Industri 3(2), 118-127.

Thimann, K.V. 1955. The Life Of Bacteria. New York: The Macmillan Company, p 46-689.

Todar, K. 2011. The Genus *Bacillus*. <http://www.textbookkofbacteriology.net>. (diakses pada tanggal 1 mei 2015).

Winarno, F.G. 1986. Pengantar Teknologi Pangan. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.