

Seleksi dan Identifikasi Isolat Cendawan Selulolitik dan Ligno-selulolitik dari Limbah Penyulingan Daun Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron* L.) dari KPH Gundih, Kabupaten Grobogan

Selection and identification of cellulolytic and lignocellulolytic fungi of organic waste of cajuput oil (*Melaleuca leucadendron* L.) from KPH Gundih, Regency of Grobogan

BASTIYAH DEWI ZUMROTININGRUM, ARI SUSILOWATI*, WIRYANTO

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126.

* Korespondensi: Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126. Tel. & Fax.: +62-271-663375. e-mail: cheetos@mipa.uns.ac.id.

Diterima: 4 Nopember 2003. Disetujui: 5 Desember 2003.

Abstract. The aims of this research were to isolate and select fungi degrading cellulose and lignocellulose of organic waste from cajuput oil distillation. The research outline is organic waste from cajuput oil distillation containing cellulose and lignocellulose that cause naturally composting process takes a long time. The difficulty of organic waste decomposition depends on the matter in the tissue. To speed up the decomposition process, it needs microorganisms. Fungi have more ability to degrade cellulose and lignocellulose than bacteria. Because of that, it was necessary to isolate and select fungi that could degrade cellulose and lignocellulose of organic waste from cajuput oil distillation. This research isolated and identified fungi from organic waste from cajuput oil distillation and soil where organic waste from cajuput oil distillation was thrown away. The selection of cellulolytic fungi by inoculating fungi on CMC agar medium and selecting lignocellulolytic fungi by inoculating soil dilution 10⁻⁴ to agar medium, added to organic waste from cajuput oil distillation. The result showed that a total of 6 fungi was isolated from organic waste from cajuput oil distillation and soil, where organic waste from cajuput oil distillation was thrown away. *Aspergillus parasiticus*, *A. nidulans*, and *Trichoderma harzianum* can degrade cellulose. Fungi that can degrade lignocellulose of organic waste from cajuput oil distillation is *A. parasiticus*. *A. parasiticus* potentially degrade cellulose and lignocellulose organic waste from cajuput oil distillation than other fungi found.

Keywords: cellulolytic and lignocellulolytic fungi, organic waste, cajuput oil distillation.

PENDAHULUAN

Kesatuan Pemangku Hutan (KPH) Gundih menanam kayu putih (*Melaleuca leucadendron* L.) sejak tahun 1964. Hal ini dilaksanakan mengingat luasnya tanah kosong bekas tegakan kayu jati yang rusak karena pencurian kayu, kebakaran maupun penggembalaan. Penanaman kayu putih tersebut dilakukan dengan pertimbangan bahwa kayu putih merupakan salah satu komoditi yang dapat diandalkan karena dari proses penyulingan daunnya dapat dihasilkan minyak kayu putih. Hingga saat ini luas areal tanaman kayu putih mencapai 3.167,6 Ha (Sukardjo, 2001).

Produksi biomassa daun kayu putih di KPH Gundih, Dusun Krai, Desa Bandungharja, Kecamatan Toroh, Kabupaten Grobogan, Jawa Tengah setiap tahunnya mencapai 8.000 ton lebih. Dari hasil penyulingan daun kayu putih tersebut setiap tahunnya dihasilkan limbah organik daun kayu putih ± 8.000 ton, dari jumlah tersebut hanya sekitar 50% yang digunakan untuk briket bahan bakar ketel uap dalam proses penyulingan daun kayu putih. Hal ini berarti masih sisa sebanyak 50% limbah yang tidak

digunakan dan bila dibiarkan akan membutuhkan lahan yang cukup luas untuk membuangnya serta dapat menimbulkan kebakaran karena limbah daun kayu putih tersebut mudah terbakar. Limbah yang melimpah tersebut belum dimanfaatkan dan hanya dibiarkan terakumulasi di lahan sekitar pabrik penyulingan kayu putih (Sukardjo, 2001).

Pengomposan limbah organik daun kayu putih secara alami membutuhkan waktu yang lama dan menghasilkan CO₂ dalam tanah sehingga mengganggu pertumbuhan tanaman juga pencemaran udara walaupun relatif rendah (Murbandono, 1999). Lama dekomposisi limbah tersebut secara alami kurang lebih 3 tahun dikarenakan sifat daun yang sangat sulit hancur (Anonim, 2000). Mudah dan sukarnya dekomposisi suatu seresah tergantung dari zat-zat yang terkandung di dalam jaringannya (Ambarwati, 2001). Adanya lignoselulosa pada dinding sel sekunder tanaman menyebabkan lamanya waktu dekomposisi (Beguin dan Aubert, 1992; Fengel dan Wegener, 1995). Menurut Sutedjo dkk., (1991) bahan lignoselulosa tersebut secara alami sulit terdegradasi sehingga untuk mempercepat proses

pengomposan diperlukan mikrobia yang mampu mendegradasinya. Pada umumnya selulosa dapat didegradasi oleh *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fomes*, *Fusarium*, *Myrothecium*, *Penicillium*, *Polyporus*, *Rhizopus*, dan *Verticillium*. Adapun genus *Aspergillus*, *Fusarium*, dan *Penicillium* dapat menggunakan lignin yang berasal dari gandum jerami (Alexander, 1977).

Limbah penyulingan daun kayu putih sukar terdekomposisi. Adanya lignoselulosa pada dinding sel sekunder tanaman menyebabkan lamanya waktu degradasi. Sehingga untuk mempercepat proses tersebut diperlukan mikrobia yang mampu mendegradasinya. Cendawan memiliki kemampuan yang lebih besar daripada bakteri dalam mendegradasi selulosa dan lignoselulosa, maka dengan alasan tersebut perlu dilakukan diisolasi dan diseleksi cendawan dari limbah penyulingan daun kayu putih dan tanah dari tempat pembuangan limbah penyulingan daun kayu putih.

Tujuan Penelitian adalah untuk mengetahui (i) jenis cendawan yang mampu tumbuh pada limbah daun kayu putih dan tanah dari tempat pembuangan limbah penyulingan daun kayu putih KPH Gundih Kabupaten Grobogan, (ii) Isolat cendawan yang berpotensi mendegradasi selulosa dan lignoselulosa limbah penyulingan daun kayu putih, (iii) jenis cendawan yang paling berpotensi dalam mendegradasi selulosa dan lignoselulosa limbah daun kayu putih.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan berupa limbah penyulingan daun kayu putih, tanah dari tempat pembuangan limbah penyulingan daun kayu putih, PDA (*Potato Dextrose Agar*), streptomisin, klortetrasiklin, MEA (*Malt Extract Agar*), agar, CMC (*Carboxymethyl Cellulosa*), K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, NH_4Cl , larutan Iodium, akuades, kapas, spirtus, kertas saring. Alat yang digunakan adalah jarum inokulasi, cawan petri, gelas benda, gelas penutup, gelas beker, bunsen, autoklaf, inkubator, mikroskop, tabung reaksi, timbangan analitik, vortex, stirer, dan spatula.

Cara kerja

Isolasi cendawan

Untuk memperoleh jumlah isolat sebanyak mungkin ditempuh tiga metode isolasi yaitu: *direct transfer*, *moist chamber* dan *direct plating*.

Metode direct transfer. Cendawan yang terdapat pada limbah penyulingan daun kayu putih diambil dengan menggunakan jarum inokulasi steril. Kemudian cendawan tersebut diinokulasikan dalam medium PDA dengan penambahan streptomisin (30 mg/L) dan klortetrasiklin (2 mg/L) kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 72 jam. Setiap 24 jam cendawan yang

tumbuh pada medium PDA diisolasi dan kemudian dikultur murnikan. Isolat cendawan yang diperoleh dipelihara pada medium PDA miring (Malloch, 1940; Haigler dan Paul, 1991).

Metode moist chamber. Gelas beker diisi dengan kapas dan ditambah air. Penambahan air dilakukan sampai dengan seperempat tinggi gelas beker. Kertas saring diletakkan di atas kapas sehingga spesimen tidak berhubungan langsung dengan kapas. Limbah penyulingan daun kayu putih diletakkan di atas kertas saring. Kemudian wadah ditutup dan diinkubasi pada suhu kamar sampai cendawan tumbuh pada seresah daun kayu putih. Dengan menggunakan jarum inokulasi steril, cendawan yang terdapat pada limbah daun kayu putih dipindahkan ke medium PDA dengan penambahan streptomisin (30 mg/L) dan klortetrasiklin (2 mg/L) kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 72 jam. setiap 24 jam cendawan yang tumbuh pada medium PDA diisolasi dan kemudian dikultur murnikan. Isolat cendawan yang diperoleh dipelihara pada medium PDA miring (Malloch, 1940; Haigler dan Paul, 1991).

Metode direct plating. Limbah penyulingan daun kayu putih dan tanah dari tempat pembuangan limbah penyulingan daun kayu putih diletakkan pada medium PDA dengan penambahan streptomisin (30 mg/L) dan klortetrasiklin (2 mg/L) kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 72 jam. setiap 24 jam cendawan yang tumbuh pada medium PDA diisolasi dan kemudian dikultur murnikan. Isolat cendawan yang diperoleh dipelihara pada medium PDA miring (Malloch, 1940; Haigler dan Paul, 1991).

Identifikasi cendawan

Identifikasi cendawan dilakukan dengan mengamati ciri-ciri koloni dan morfologi cendawan. Pengamatan ciri-ciri koloni cendawan dengan cara menumbuhkan Isolat cendawan pada medium MEA, sedangkan untuk pengamatan morfologi cendawan dilakukan dengan menggunakan metode *Henrich's slide culture*. Selanjutnya spesies cendawan dideterminasi.

Seleksi cendawan. Setelah diisolasi, cendawan diseleksi antara cendawan selulolitik dan lignoselulolitik.

Seleksi cendawan selulolitik. Masing-masing Isolat cendawan diinokulasikan pada medium CMC agar. Kemudian cendawan diinkubasi pada suhu kamar selama 72 jam. Pada akhir inkubasi permukaan medium ditetesi larutan I_2KI . Apabila cendawan tersebut mempunyai kemampuan selulolitik, maka akan terlihat zona jernih di sekitar koloni Isolat cendawan tersebut. Selanjutnya setiap koloni cendawan diukur diameter koloni dan diameter zona jernihnya (Aaronson, 1970; Griffin, 1981; Haigler dan Paul, 1991).

Seleksi cendawan lignoselulolitik. Tanah diencerkan dengan akuades hingga 10^{-4} .

Kemudian hasil pengenceran tanah diambil 1 ml lalu diinokulasikan pada medium agar dengan penambahan limbah penyulingan daun kayu putih. Setelah itu medium diinkubasi pada suhu kamar hingga tumbuh cendawan yang koloninya mampu membentuk zona jernih. Kemampuan lignoselulolitik cendawan didasarkan pada pembentukan zona jernih. Kemudian koloni cendawan yang membentuk zona jernih tersebut dikultur murnikan. Isolat cendawan yang diperoleh dipelihara pada medium PDA miring. Identifikasi cendawan dilakukan dengan mengamati ciri-ciri koloni dan morfologi cendawan. Pengamatan ciri-ciri koloni cendawan dengan cara menumbuhkan Isolat cendawan pada medium MEA, sedangkan untuk pengamatan morfologi cendawan dilakukan dengan menggunakan metode *Henrich's slide culture*. Selanjutnya spesies cendawan dideterminasi menggunakan *Compendium of Soil Fungi* (Domsch *et al.*, 1980) dan *Pengenalapan Kapang Tropik Umum* (Gandjar dkk., 1999).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jenis cendawan

Isolasi dari limbah penyulingan daun kayu putih menghasilkan 3 jenis Isolat cendawan dan isolasi dari tanah dari tempat pembuangan limbah penyulingan daun kayu putih menghasilkan 4 jenis Isolat cendawan (Tabel 1).

Tabel 1. Isolat cendawan dari isolasi limbah penyulingan daun kayu putih dan tanah dari tempat pembuangan limbah penyulingan daun kayu putih.

Isolat cendawan	Sumber	
	Daun kayu putih	Tanah
1	•	✓
2	✓	•
3	•	✓
4	✓	✓
5	•	✓
6	✓	•

Keterangan: ✓ = hadir; • = tidak hadir.

Isolat cendawan 4 dapat ditemukan dari isolasi limbah penyulingan daun kayu putih dan dari isolasi tanah dari tempat pembuangan limbah penyulingan daun kayu putih. Jumlah keseluruhan Isolat cendawan yang diperoleh sebanyak 6 Isolat cendawan yang berbeda. Adapun keenam Isolat cendawan tersebut adalah sebagai berikut:

Isolat cendawan 1

Isolat cendawan 1 diidentifikasi sebagai *Aspergillus niger*, dengan ciri-ciri: koloni pada medium MEA mencapai diameter 3,5 cm dalam waktu 3 hari, terdiri dari lapisan basal berwarna

putih dan suatu lapisan konidiofor yang berwarna hitam. Vesikel berbentuk bulat hingga semibulat dan berdiameter 50-100 µm. Fialid terbentuk pada metula dan berukuran (7,0-9,5)x(3-4) µm. Konidia berwarna hitam, berbentuk bulat hingga semibulat, berukuran 3,5-5,0 µm. Berdasarkan ciri-ciri di atas Isolat cendawan 1 merupakan spesies (Gandjar, dkk., 1999).

Isolat cendawan 2

Isolat cendawan 2 diidentifikasi sebagai *Aspergillus oryzae*, dengan ciri-ciri: koloni pada medium MEA mencapai diameter 4,5 cm dalam waktu 3 hari, terdiri dari lapisan basal berwarna putih dan suatu lapisan konidiofor yang berwarna coklat tua. Konidiofor berwarna jernih. Vesikel berbentuk semibulat dan berdiameter 40-80 µm. Fialid terbentuk pada metula dan berukuran (10-15)x(3-5) µm. Metula berukuran (8-12)x(4-5) µm. Konidia berwarna coklat redup, bentuk bulat, berdiameter 4,5-8,0 µm (Gandjar, dkk., 1999).

Isolat cendawan 3

Isolat cendawan 3 diidentifikasi sebagai *Aspergillus parasiticus*, dengan ciri-ciri: koloni pada medium MEA mencapai diameter 4 cm dalam waktu 3 hari, terdiri dari lapisan basal berwarna putih dan suatu lapisan konidiofor yang berwarna kuning. Konidiofor berwarna jernih dan kasar. Vesikel berbentuk bulat hingga semibulat, dan berdiameter 25 sampai 45 µm. Fialid terbentuk langsung pada vesikel dan berukuran (6-10)x(4,0-5,5) µm. Konidia berwarna kuning, berbentuk bulat hingga semibulat, berdiameter 3,6 µm (Klich dan Pitt, 1998).

Isolat cendawan 4

Isolat cendawan 4 diidentifikasi sebagai *Aspergillus nidulans*, dengan ciri-ciri: koloni pada medium MEA mencapai diameter 3,5 cm dalam waktu 3 hari. Lapisan konidiofor berwarna hijau dengan zona pertumbuhan berwarna putih. Konidiofor berwarna kecoklatan, mempunyai panjang 60-130 µm, dan ber dinding halus. Vesikel kurang lebih berbentuk bulat dan berdiameter 8-10 µm. Konidia berwarna hijau kekuningan, berbentuk bulat, ber dinding kasar dan berdiameter 3-3,5 µm (Gandjar, dkk., 1999).

Isolat cendawan 5

Isolat cendawan 5 diidentifikasi sebagai *Trichoderma harzianum*, dengan ciri-ciri: koloni pada medium MEA mencapai diameter 7,5 cm dalam waktu 3 hari, terdiri dari lapisan basal berwarna putih kehijauan dan suatu lapisan konidiofor yang berwarna hijau redup. Konidiofor dapat bercabang menyerupai piramida, yaitu pada bagian bawah cabang lateral yang berulang-ulang, sedangkan ke arah ujung percabangan menjadi bertambah pendek. Konidia berbentuk semibulat hingga oval pendek, berukuran (2,8-

3,2)x(2,5-2,8) µm dan berinding halus (Gandjar, dkk., 1999).

Isolat cendawan 6

Isolat cendawan 6 diidentifikasi sebagai *Rhizopus oligoporus*, dengan ciri-ciri: koloni berwarna abu-abu kecoklatan dan konidiofor mencapai tinggi 1 mm. Pada medium MEA, dalam waktu 3 hari Isolat cendawan ini sudah memenuhi cawan petri. Sporangiofor dapat tunggal atau berkelompok, berwarna jernih hingga kecoklatan, muncul berlawanan arah dengan rhizoid yang sangat pendek, berinding halus atau agak kasar, panjang hingga 1000 µm dan berdiameter 10-18 µm. Sporangia berbentuk bulat berwarna hitam kecoklatan pada saat matang dan berdiameter 100-180 µm. Spora berbentuk bulat, elips atau tidak teratur, memiliki panjang 7-24 µm, membentuk massa berwarna kecoklatan, bila tunggal berwarna jernih dan berinding halus (Gandjar, dkk., 1999).

Isolat cendawan selulolitik

Berdasar nilai perbandingan antara zona jernih dan diameter yang dibentuk oleh masing-masing isolat cendawan, maka diperoleh 3 jenis Isolat cendawan yang dapat mendegradasi selulosa. Ketiga cendawan tersebut yaitu *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nidulans* dan *Trichoderma harzianum*. Adapun nilai perbandingan antara diameter zona jernih dan diameter koloni dapat dilihat dalam Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan antara zona jernih dan diameter koloni.

Cendawan	Diameter Zona Jernih (cm)	Diameter Koloni (cm)	Nilai Perbandingan Diameter
<i>Aspergillus niger</i>	0,0	2,0	0,0000
<i>Aspergillus oryzae</i>	0,0	2,7	0,0000
<i>Aspergillus parasiticus</i>	3,8	3,0	1,2667
<i>Aspergillus nidulans</i>	3,3	2,9	1,1379
<i>Trichoderma harzianum</i>	7,6	7,5	1,0133
<i>Rhizopus oligoporus</i>	0,0	10	0,0000

Cendawan yang paling berpotensi mendegradasi selulosa adalah Isolat cendawan 3. Semakin besar nilai perbandingan diameter zona jernih dan diameter koloni, maka semakin berpotensi cendawan tersebut dalam mendegradasi selulosa (Kader dan Omar, 1998). Cendawan dapat mendegradasi selulosa karena cendawan dapat membentuk dan mensekresikan enzim selulase. Semakin besar jumlah enzim selulase yang

disekresikan oleh cendawan, semakin cepat degradasi selulosa (Bagga dan Sandhu, 1987; Soeka dan Sastroatmadja, 1992).

Cendawan lignoselulolitik

Sebagian besar cendawan yang mendegradasi lignin juga mendegradasi selulosa. Cendawan ini dikenal dengan cendawan lignoselulolitik. Dari seleksi cendawan yang berpotensi dalam mendegradasi senyawa lignoselulosa yang terdapat dalam limbah penyulingan daun kayu putih hanya diperoleh 1 jenis isolat cendawan. Hal ini dikarenakan tidak semua cendawan mampu mendegradasi lignin. Cendawan yang dapat mendegradasi lignin yaitu cendawan yang memiliki lignase (Alexander, 1977; Rothschild *et al.*, 1995). Isolat cendawan yang berpotensi mendegradasi lignoselulosa limbah penyulingan daun kayu putih tersebut, pada medium MEA mencapai diameter 4,5 cm dalam waktu 3 hari, terdiri dari lapisan basal berwarna putih dan suatu lapisan konidiofor yang berwarna kuning. Dari pengamatan mikroskopis menggunakan metode *Henrich's slide culture*. Isolat cendawan tersebut mempunyai ciri-ciri konidiofor berwarna jernih dan kasar. Vesikel berbentuk bulat hingga semibulat, dan berdiameter 25 sampai 45 µm. Fialid terbentuk langsung pada vesikel berukuran (6-10)x(4,0-5,5) µm. Konidia berwarna kuning, berbentuk bulat hingga semibulat, berdiameter 3,6 µm. Berdasarkan ciri di atas Isolat cendawan tersebut merupakan spesies *Aspergillus parasiticus* (Klich dan Pitt, 1998).

KESIMPULAN

Diperoleh 6 jenis Isolat cendawan yang tumbuh pada limbah daun kayu putih dan tanah di tempat pembuangan limbah penyulingan daun kayu putih, yaitu: *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *A. parasiticus*, *A. nidulans*, *Trichoderma harzianum* dan *Rhizopus oligoporus*. *Aspergillus parasiticus*, *A. nidulans* dan *Trichoderma harzianum* mampu mendegradasi selulosa dan *A. parasiticus* mampu mendegradasi lignoselulosa limbah daun kayu putih. Di antara Isolat cendawan yang diperoleh *A. parasiticus* paling berpotensi mendegradasi senyawa selulosa dan lignoselulosa limbah daun kayu putih.

DAFTAR PUSTAKA

- Aaronson, S. 1970. *Experimental Microbial Ecology*. New York: Academic Press.
- Alexander, M. 1977. *Introduction Soil Microbiology*. USA: John Wiley and Sons.
- Ambarwati. 2001. *Biodegradasi Limbah Padat Teh oleh Kultur Mikrobial dari Berbagai Sumber*. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada.

- Anonim. 2000. *Sekilas Pengelolaan Hutan Kayu Putih di KPH Gundih*. Grobogan: Perum Perhutani Gundih.
- Bagga, P.S. and D.K. Sandhu. 1987. Cellulase formation by **Aspergillus nidulans**. *Journal of Fermentation Technology* 64: 118-126.
- Beguín, P. and J.P. Aubert. 1992. Cellulases. In: *Encyclopedia of Microbiology I*. New York: Academic Press.
- Domsch, K.H., W. Gams, and T.H. Anderson. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Volume 2. London: Academic Press.
- Fengel, D. dan G. Wegener. 1995. *Kayu: Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi*. Penerjemah: Sastrohamidjojo, H. Yogyakarta: UGM Press.
- Gandjar, I., R.A. Samson, K.V.D. Tweel-Vermeulen, A. Oetari, dan I. Santoso. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Griffin, D.H. 1981. *Fungal Physiology*. New York: John Wiley and Sons.
- Haigler, C.H. and J.P. Weiner. 1991. *Biosynthesis and Biodegradation of Cellulose*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Kader, A.J. and O. Omar. 1998. Isolation of cellulolytic fungi from Sayap-Kinabalu Park, Sabah. *Article ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEC)* 2: 1-5.
- Klich, M.A. and J.I. Pitt. 1988. *A Laboratory Guide to The Common Aspergillus Species and Their Teleomorphs*. CSIRO. <http://www.aspergillus.man.ac.uk/secure/main.htm>
- Malloch, D. 1940. *Moulds: Their Isolation, Cultivation and Identification*. Toronto: University of Toronto Press.
- Murbandono, L.H.S. 1999. *Membuat Kompos*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rothschild, N., Y. Hader, and C. Doretz, 1995. Lygnolitic System Formation by **Phanerochaeta chrysosporium** in Air. *Applied Environmental Microbiology* 61: 11-23.
- Soeka, Y.S. dan D.D. Sastroatmadja. 1992. *Penambahan Sumber-sumber Nitrogen terhadap Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus niger Terseleksi pada Medium Dedak*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi LIPI. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Hayati 1991/1992.
- Sukardjo, J.S. 2001. *Pengkajian Daya Guna Limbah Organik Daun Kayu Putih KPH Gundih Sebagai Pupuk Organik*. [Tesis]. Surakarta: Program Studi Ilmu Lingkungan Program Pasca Sarjana UNS.
- Sutedjo, M.M., A.G. Kartasapoetra, dan R.D.S. Sastroadmodjo. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. Jakarta: P.T. Rineka Cipta.