

EKSPLORASI DAN UJI DAYA HAMBAT AKTINOMISETES ASAL TANAH GAMBUT CAGAR BIOSFIR GIAM SIAK KECIL -BUKIT BATU RIAU TERHADAP BAKTERI DAN JAMUR

Rodesia Mustika Roza, Tetty Marta Linda, Atria Martina dan Fahrizawati
Lab. Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau Kampus Bina Widya Jl. HR
Subrantas Panam Pekanbaru RIAU

ABSTRAK

Cagar Biosfir Giam Siak Kecil-Bukit Batu Riau (Cagar Biosfir GSK-BB) merupakan hutan gambut dataran rendah. Tanah gambut ini merupakan habitat utama mikroba teresterial salah satunya adalah aktinomisetes. Aktinomisetes memiliki kemampuan menghasilkan berbagai metabolit sekunder. Oleh karena itu, dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengeksplorasi aktinomisetes asal tanah gambut Cagar Biosfir GSK-BB dan melakukan uji daya hambat aktinomisetes terhadap bakteri dan jamur. Sebanyak 33 isolat aktinomisetes yang diisolasi dari sampel tanah gambut menggunakan metode *pour plate* dalam medium *Starch Casein Agar*, 2 isolat (GSK.5.7 dan GSK.5.10) mampu menghambat *S. Pyogenes* dan 1 isolat (GSK.4.9) mampu menghambat *E. coli*, 2 isolat (GSK.4.3 dan GSK.4.5) mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*, dan 11 isolat (GSK.1.1, GSK.4.1, GSK.4.4, GSK.4.6, GSK.4.7, GSK.4.8, GSK.4.10, GSK.4.12, GSK.5.5, GSK.5.6, dan GSK.5.9) mampu menghambat pertumbuhan *Ganoderma* sp. BTA1.

Kata kunci : Aktinomisetes, antibakteri, antifungi, Cagar Biosfir, Giam Siak Kecil-Bukit Batu

PENDAHULUAN

Tanah gambut merupakan timbunan-timbunan residu tanaman atau bahan organik yang telah terdekomposisi secara tidak sempurna (Sutedjo 1996). Tanah gambut ini merupakan habitat utama mikroba teresterial sekaligus sumber utama mikroba seperti bakteri, jamur dan aktinomisetes. Tiap-tiap tanah memiliki sifat fisiokimia yang berbeda sehingga menyebabkan kekhasan mikroba yang berbeda pada masing-masing tempat.

Aktinomisetes memiliki kemampuan menghasilkan berbagai metabolit sekunder yang berbeda-beda seperti antibiotik, herbisida, pestisida, antiparasit dan enzim seperti selulosa dan xilanase. Oskay *et al.* (2004) telah berhasil mengisolasi kelompok aktinomisetes yang berasal dari lahan pertanian-Turki. Isolat yang berhasil diisolasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogenik *Bacillus substilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Sarcina lutea*.

Abbas (2006) berhasil mengisolasi 60 isolat aktinomisetes halotoleran yang diisolasi dari sampel tanah di wilayah El-Keran Kuwait. Dipihak lain, Nonoh *et al.* (2010) berhasil mengisolasi dan mengkarakterisasi aktinomisetes dari tanah yang berasal dari Kakamega, Ruma dan Taman Nasional di Kenya. Sebanyak 23 Isolat yang dihasilkan memiliki aktivitas antifungi terhadap jamur *Fusarium oxysporum*, dan *Colletotrichum kahawae*, dan 5 isolat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Salah satu tanah gambut yang terdapat di Provinsi Riau berada di Cagar Biosfir Giam Siak Kecil Bukit Batu (GSK-BB). Cagar Biosfir GSK-BB merupakan hutan gambut dataran rendah dengan beberapa danau alam. Kawasan itu diapit Suaka Margasatwa Bukit Batu (SM-BB) dan Suaka Margasatwa Giam Siak Kecil (SM-GSK). Gambut Suaka Margasatwa Giam Siak Kecil memiliki luas 84.000 ha dan Suaka Margasatwa Bukit Batu seluas 21.500 ha. Kawasan ini merupakan bagian dari *eco-region* hutan Sumatera yang dihuni oleh 159 jenis burung, 10 jenis mamalia, 13 jenis ikan, 8 jenis reptil dan 52 jenis tumbuhan langka dan dilindungi (LIPI 2009).

Keragaman isolat aktinomisetes yang telah diisolasi dari tanah gambut mendorong peneliti untuk melakukan eksplorasi aktinomisetes asal tanah gambut Cagar Biosfir GSK-BB dan melakukan uji daya hambat aktinomisetes tersebut terhadap pertumbuhan bakteri dan jamur.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel, Pengukuran Suhu, pH dan Kelembaban Sampel Tanah Gambut

Sampel tanah gambut diambil dari 6 lokasi dari kawasan Cagar Biosfir GSK-BB, Propinsi Riau. Lokasi pengambilan sampel terdiri dari: (1) perbatasan antara lahan yang ditanami karet dengan kelapa sawit, (2) lahan yang ditanami karet, (3) Hutan Tanaman Industri (HTI) akasia, (4) hutan pasca kebakaran, (5) lahan yang berdekatan dengan pemukiman penduduk dan (6) hutan sekunder. Pengambilan sampel tanah gambut dilakukan secara random dari kedalaman 5-15 cm untuk tiap-tiap titik sampel (Oskay *et al.* 2004). Sebelum tanah gambut diambil, dilakukan pengukuran suhu dan pH tanah.

Penghitungan Total Populasi Mikroba

Penghitungan total populasi mikroba dilakukan pada medium PCA dan diinkubasi 1-2 hari pada suhu ruang. Selanjutnya dihitung jumlah koloni bakteri, jamur dan aktinomisetes yang tumbuh pada masing-masing media.

Isolasi Aktinomisetes

Isolasi aktinomisetes dari sampel tanah gambut dilakukan dengan teknik *pour plate* menggunakan medium *Starch Casein Agar*. Kemudian diinkubasi selama 7-14 hari pada suhu kamar. Koloni yang tumbuh kemudian dimurnikan dengan metode *streak plate*. Selanjutnya dilakukan pengamatan morfologi dari isolat yang tumbuh, meliputi bentuk koloni, tepian, elevasi, warna koloni, konsistensi, bau dan diameter koloni (Oskay *et al.* 2004).

Uji Daya Hambat Isolat Aktinomisetes terhadap Bakteri dengan Metode Agar Disk

Masing-masing isolat aktinomisetes berumur 7 hari yang tumbuh di medium SCA dipotong dengan ukuran 6x6 mm². Kemudian potongan agar aktinomisetes ditransfer ke cawan NA. Masing-masing *petridish* telah diinokulasikan isolat *S. pyogenes* dan *E. coli* dengan jumlah inokulum 10⁶/ml secara *pour plate*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari. Aktivitas terlihat dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni (Aghighi *et al.* 2004).

Uji Daya Hambat Isolat Aktinomisetes terhadap Jamur dengan Metode Agar Disk

Isolat aktinomisetes ditumbuhkan pada medium SCA pada suhu kamar selama 7 hari. *Ganoderma* sp. BTA1 dan *F. oxysporum* diinokulasi secara *pour plate* ke dalam medium PDA. Aktinomisetes yang telah diinokulasi selama 7 hari dipotong dengan ukuran 6x6 mm² lalu ditransfer ke cawan PDA yang masing-masing telah diinokulasikan 10⁶ sel/ml spora *Ganoderma* sp BTA1 dan *F. oxysporum*. Selanjutnya kultur diinkubasi pada suhu kamar selama 7 hari. Aktivitas antifungi dilihat dengan mengukur diameter zona hambatnya (Aghighi *et al.*, 2004).

Analisis Data

Data disajikan dalam bentuk tabel dan disajikan secara deskriptif. Aktivitas senyawa antimikroba menggunakan metode agar disk dilakukan dengan mengukur zona bening yang terbentuk. Uji antimikroba dilakukan uji nilai tengah (median) dan diurutkan berdasarkan kemampuan aktinomisetes dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. pyogenes*, *F. oxysporum* dan *Ganoderma* sp. BTA1 dan dikelompokkan menjadi kriteria tinggi, sedang, atau rendah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Faktor Fisika dan Kimia Tanah Gambut

Hasil pengukuran faktor fisika kimia tanah gambut asal Cagar Biosfir GSK-BB Riau meliputi suhu, pH dan kelembaban yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi faktor fisika dan kimia tanah gambut

Lokasi	Suhu (°C)	pH	Kelembaban (%)
Perbatasan antara lahan yang-			
ditanami karet dengan kelapa sawit	30	4	50
Lahan Karet	29	4	50
Hutan Tanaman Industri (HTI) akasia	28	4	55
Hutan pasca Kebakaran	30	4,6	10
Lahan dekat pemukiman Penduduk	29	4,2	10
Hutan Sekunder	*	*	*

Keterangan: * = pH dan suhu tanah gambut tidak diukur

Tabel 1. menunjukkan bahwa hasil pengukuran suhu tanah gambut asal Cagar Biosfir GSK-BB berkisar antara 28 °C- 30 °C. Suhu tertinggi ditemukan di lokasi perbatasan antara lahan yang ditanami karet dengan kelapa sawit dan di lokasi hutan pasca kebakaran yaitu 30 °C. Suhu terendah terdapat di lokasi HTI akasia yaitu 28 °C. Sedangkan suhu yang terdapat di lokasi lahan karet dan lahan dekat pemukiman

penduduk memiliki suhu yang sama yaitu 29 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu yang tinggi pada lokasi yang sedikit vegetasinya dibandingkan dengan lokasi yang bervegetasi. Menurut Radjagukguk (2000), tanah gambut memiliki kemampuan menyerap panas yang tinggi dengan daya hantar panas yang rendah pada saat tanah gambut diolah. Suhu tinggi di lokasi perbatasan antara lahan yang ditanami karet dengan kelapa sawit disebabkan karena kondisi cuaca panas ketika pengambilan sampel, sehingga menyebabkan suhu tanah pada lokasi ini menjadi tinggi. Secara umum hasil pengukuran pH tanah asal Cagar Biosfir GSK-BB menunjukkan pH asam yang berkisar antara 4-4,6. Menurut Agus *et al.* (2008) rendahnya nilai pH disebabkan oleh tingginya konsentrasi ion H^+ di tanah. Tanah gambut mengandung bahan-bahan organik dalam jumlah besar dan proses dekomposisi yang lambat, hal ini mengakibatkan terjadinya penumpukan asam-asam organik yang besar pada tanah gambut, sehingga tanah gambut menjadi asam.

Penghitungan Total Populasi Mikroba per gram Tanah Gambut

Total populasi mikroba pada medium PCA berkisar antara $6,8 \pm 3,5 \times 10^4$ CFU/g tanah hingga $96 \pm 31,7 \times 10^4$ CFU/g tanah. Total populasi mikroba tanah tertinggi diperoleh di lokasi lahan yang berdekatan dengan pemukiman penduduk sebesar 96×10^4 CFU/g tanah dan total populasi terendah diperoleh di lokasi hutan pasca kebakaran yaitu $6,8 \times 10^4$ CFU/g tanah.

Tingginya total populasi mikroba di lokasi ini diduga disebabkan karena di lokasi tersebut banyak ditumbuhi vegetasi bawah berupa rumput teki, ilalang, paku-pakuan, tenggek burung (*Tetractomia tetrandrum*), mahang (*Macaranga sp.*) dan kangkung gilo (bahasa daerah). Menurut Valpassos *et al.* (2001), vegetasi rumput memberikan perbaikan struktur tanah melalui sistem perakarannya yang menyebar. Sistem perakaran ini dapat memperbaiki struktur tanah dengan membentuk mikroagregat antara akar dan bakteri serta makroagregat antara akar dan jamur. Selain itu eksudat akar yang dihasilkan oleh vegetasi tumbuhan juga merupakan nutrisi tambahan bagi mikroba tanah. Semakin banyak tumpukan serasah yang terdapat di tanah gambut semakin banyak pula terdapat mikroba pendegradasi serasah tersebut. Golongan utama yang menyusun populasi mikroba tanah terdiri dari bakteri, aktinomisetes, fungi, dan ganggang (Rao, 1994).

Isolasi Aktinomisetes

Sebanyak 10 sampel tanah gambut yang diambil dari 6 lokasi yang berbeda di Cagar Biosfir GSK-BB telah berhasil diperoleh sebanyak 33 isolat aktinomisetes yang diisolasi dengan menggunakan medium SCA (*Starch Casein Agar*). Berdasarkan hasil pengamatan makroskopik dan mikroskopik, semua isolat tersebut menunjukkan ciri-ciri aktinomisetes.

Isolat aktinomisetes paling banyak ditemukan pada lokasi hutan pasca kebakaran yaitu sebanyak 12 isolat dengan kondisi lingkungan di lokasi tersebut yang memiliki suhu 30°C dan pH 4,6.. Aktinomisetes mendominasi pertumbuhan mikroba pada lingkungan yang memiliki pH tinggi. Nurkanto (2007) telah berhasil mengisolasi sebanyak 91 isolat aktinomisetes dari tanah hutan pasca kebakaran Bukit Bangkirai Kalimantan Timur.

Isolat aktinomisetes yang paling sedikit ditemukan pada lokasi perbatasan antara lahan yang ditanami karet dengan kelapa sawit, dan lahan yang ditanami karet. Masing-masing lokasi ditemukan sebanyak 1 isolat aktinomisetes. Sedikitnya isolat aktinomisetes yang ditemukan pada kedua lokasi ini ada kemungkinan disebabkan karena kondisi lingkungan yang terlalu asam yaitu dengan pH 4 sehingga kurang baik untuk pertumbuhan aktinomisetes.

Karakterisasi Aktinomisetes

Semua isolat aktinomisetes yang diperoleh menunjukkan permukaan yang bertepung, konsistensi yang melekat erat pada permukaan dan berbau serasah. Tepung ini mulai terlihat pada isolat aktinomisetes yang berumur 7 hari. Tepung yang muncul pada permukaan isolat aktinomisetes ini merupakan kumpulan dari spora-spora aktinomisetes itu sendiri. Holt *et al.* (1994) menyatakan bahwa aktinomisetes ini memiliki miselium aerial yang sporanya membutuhkan waktu 7-14 hari untuk berkembang. Semakin lama tepung ini akan tampak semakin jelas menyelubungi seluruh permukaan isolat aktinomisetes. Semua isolat aktinomisetes memiliki warna yang beragam. Lo *et al.* (2002) menyatakan bahwa keanekaragaman warna aktinomisetes disebabkan adanya pigmen rantai spora yang dimiliki aktinomisetes. Warna-warna yang dihasilkan dari masing-masing isolat aktinomisetes akan berubah jika umur koloni makin dewasa. Menurut Sutedjo *et al.* (1996) perubahan warna ini

terjadi karena aktinomisetes mampu menghasilkan zat-zat warna hasil pigmentasi yang dapat melarut ke dalam medium dengan warna dan insentisitas yang berbeda-beda tergantung dari komposisi medium. Semua isolat menunjukkan konsistensi yang melekat pada medium agar dan mengeluarkan bau seperti bau serasah. Menurut Alexander (1977), bau serasah atau tanah yang dikeluarkan oleh isolat aktinomisetes merupakan hasil metabolisme yang terbentuk selama pertumbuhannya berupa gas yang disebut geosmin yang merupakan salah satu ciri khas yang dapat membedakan aktinomisetes dari mikroba lain.

Uji Daya Hambat Isolat Aktinomisetes Terhadap Bakteri Target

Hasil uji diperoleh dua isolat (GSK.5.7 dan GSK.5.10) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri target Gram positif (*S. pyogenes*) dan satu isolat (GSK.4.9) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri target Gram negatif (*E. coli*) yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar isolat uji.

Hasil uji daya hambat aktinomisetes terhadap *S. pyogenes* dengan metode agar disk diperoleh diameter zona bening terbesar pada isolat (GSK.5.10) yaitu sebesar 1,43 cm dan yang terendah pada isolat (GSK.5.7) yaitu sebesar 1,33 cm. Sedangkan untuk uji daya hambat aktinomisetes isolat (GSK.4.9) terhadap *E. coli* diperoleh diameter zona bening sebesar 1,38 cm.

Uji Daya Hambat Isolat Aktinomisetes Terhadap Jamur Target

Ke-33 isolat aktinomisetes yang diuji dengan metode agar disk diperoleh 13 isolat yang mampu menghambat pertumbuhan jamur target. Dua isolat (GSK.4.3 dan GSK.6.4) mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum*, sedangkan 11 isolat lainnya yaitu: GSK.1.1, GSK.4.1, GSK.4.4, GSK.4.6, GSK.4.7, GSK.4.8, GSK.4.10, GSK.4.12, GSK.5.5, GSK.5.6, dan GSK.5.9 mampu menghambat pertumbuhan *Ganoderma* sp. BTA1.

Pengelompokkan isolat aktinomisetes berdasarkan uji nilai tengah (median) untuk mengetahui tingkatan kriteria rendah, sedang dan tinggi dari masing-masing diameter zona bening yang dihasilkan terhadap jamur target *Ganoderma* sp. BTA1 dapat dilihat pada Tabel 2.

Zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya suatu senyawa metabolit sekunder isolat aktinomisetes yang mampu menghambat jamur target *F. oxysporum* dan *Ganoderma* sp. BTA1. Menurut Aghigi *et al.* (2004) senyawa yang dihasilkan tersebut dapat berupa enzim, herbisida, pestisida, antiparasit dan antibiotik yang dihasilkan sebagai biokontrol melawan fungi tanaman patogen tanah.

Tabel 2. Kriteria isolat aktinomisetes berdasarkan uji nilai tengah (median) terhadap pertumbuhan *Ganoderma* sp. BTA1 menggunakan metode agar disk dalam medium PDA pada suhu kamar.

Kode Isolat	Zona Bening (cm)	Kriteria
GSK.4.6	2,30	Tinggi
GSK.4.4	1,75	Tinggi
GSK.5.6	1,23	Sedang
GSK.4.7	1,18	Sedang
GSK.5.9	1,13	Sedang
GSK.4.1	1,10	Sedang
GSK.4.8	1,10	Sedang
GSK.5.5	1,08	Sedang
GSK.1.1	1,05	Sedang
GSK.4.12	1,00	Sedang
GSK.4.10	0,85	Rendah

Antibiotik dan zat penghambat lainnya yang dihasilkan oleh isolat aktinomisetes merupakan salah satu mekanisme untuk menghambat mikroba lain yang berkompetisi dengan isolat aktinomisetes dalam mendapatkan nutrisi dari medium (Madigan *et al.* 2003). Menurut Augustine *et al.* (2005) aktinomisetes dalam memproduksi metabolit sekunder dipengaruhi oleh komposisi medium dan kondisi kultur seperti aerasi, agitasi, pH dan temperatur. Media produksi senyawa bioaktif yang memiliki nutrisi tidak lengkap dan tidak cocok dapat mempengaruhi daya kerja mikroba dalam menghasilkan metabolit sekunder.

Menurut Nonoh *et al.* (2010) aktinomisetes menghambat pertumbuhan jamur patogen dengan menghasilkan metabolit sekunder berupa enzim degradatif seperti kitinase dan glukonase. Enzim kitinase ini dapat mendegradasi kitin yang terdapat pada dinding sel jamur.

KESIMPULAN

1. Populasi mikroba di tanah gambut Cagar Biosfir Giam Siak kecil-Bukit Batu Propinsi Riau bervariasi. Jumlah populasi tertinggi diperoleh dari lokasi lahan yang terletak dekat pemukiman penduduk di Desa Sepahat Bukit Batu yaitu $96 \pm 31,7 \times 10^4$ CFU/gram sampel tanah. Sedangkan jumlah populasi mikroba terendah diperoleh dari lokasi hutan pasca kebakaran yaitu $6,8 \pm 3,5 \times 10^4$ CFU/gram tanah.
2. Berhasil diisolasi sebanyak 33 isolat aktinomisetes yang ditumbuhkan dalam medium SCA.
3. Isolat aktinomisetes yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*S. pyogenes*) adalah isolat GSK.5.7 dan GSK.5.10, sedangkan isolat yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif (*E. coli*) adalah isolat GSK.4.9.
4. Isolat aktinomisetes yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *F. oxysporum* ada 2 isolat yaitu: GSK.4.3 dan GSK.4.5 sedangkan isolat yang mampu menghambat pertumbuhan *Ganoderma* sp. BTA1 ada 11 isolat yaitu: GSK.1.1, GSK.4.1, GSK.4.4, GSK.4.6, GSK.4.7, GSK.4.8, GSK.4.10, GSK.4.12, GSK.5.5, GSK.5.6, dan GSK.5.9.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas I . 2006. A biological and biochemical studies of actinomycetes isolated from Kuwait saline soil- Kuwait. *Journal of Applied Science Research* 2(10): 806-815.
- Aghighi S, Bonjar SGH, Rawashdesh R, Saadoun I, 2004. First of antifungal spectra of Irania actinomycetes strain against *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Phytophthora megasperma*, *Verticillium dahliae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Asian Journal of Plant Sciences* 3:463-467.
- Agus, F. dan Subiksa, I.G.M. 2008. Lahan gambut potensi untuk pertanian dan aspek lingkungan. Balai Penelitian Tanah dan World Agroforestry Center (ICRAF)

- Alexander M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. Second Edition. New York: Cornell University.
- Augustine SK, Bhavsar SP, Kapadnis BP. 2005. Production of a growth dependent metabolite active against dermatophytes by *Streptomyces rochei* AK 39. *Indian Journal Medical Research* 121: 164-170.
- Holt JG, Krieng NR, Sneath PHA, Staley Jt, William ST. 1994. Bergey's Manual Of Determination Bacteriology. Ed. Ke-9. William and Wilkins. Baltimore.
- LIPI, 2009. LIPI-Propinsi Riau : Kelola cagar biosfer giam Siak Kecil Bukit Batu. Daftar data siaran pers tahun 2009. <http://lipi.go.id/masuk.cgi?siaran-pers>.
- Lo CW, Lai NS, Cheach HY, Wong NKI, Ho CC. 2002. Actinomycetes isolated from soil sample from crocker range Sabah. *Asean Review of Biodiversity Ang Environmental Conservation (ARBEC)*.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2003. Biology of Microorganisms. New York: Prentice Hall International inc.
- Nonoh J O, Lwande W , Masiga D, Herman R. 2010. Isolation and characterization of streptomyces species with antifungal activity from selected national parks in Kenya. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 4(9): 856-864.
- Nurkanto, A. 2007. Identifikasi aktinomisetes tanah hutan pasca kebakaran bukit bangkirai Kalimantan Timur dan potensinya sebagai pendegradasi selulosa dan pelarut fosfat. *Biodiversitas* 8 (4): 314-319.
- Oskay M, Tamer AU, Azeri C. 2004. Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming of Turkey. *African Journal og Bacteriology* 3: 441-446.
- Radjagukguk B. 2000. Perubahan sifat-sifat fisik dan kimia tanah gambut akibat reklamasi lahan gambut untuk pertanian. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan* 1(2): 1-15.
- Rao, S. 1994. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. Jakarta: UI-Press.
- Sutedjo MM, Kartasapoetra AG, Sastroatmodjo S. 1996. Mikrobiologi Tanah. Jakarta: Rineka Cipta.
- Valpassos MAR, Eloiza GSC, Ana MRC, Marlene CA. 2001. Effects of soil management systems on soil microbial activity, bulk density and chemical properties. *Pesa Agropec Brasilia* 36(12): 1539-1545.