Lampiran 1 Komposisi Media

NO	MEDIA	KOMPOSISI
1	Media Rhizobium	31.8 gr/L Mannitol 10gr Depotasium phosphate 0.5gr Magnesium sulphate 0.2gr Yeast ekstrak 1gr Sodium cholide 0.1gr agar 20gr aquades PH 6.8 1000 ml pH 6,60-7,00 sterilisasi 121^0 C 15 menit

Lampiran 2 Komposisi Pewarnaan Gram, Katalase, dan Pewarnaan Endospora

1. **Pewarnaan Gram**

   a. Gram A (hucker's crystal violet)

   Larutan A

   - Criystal violet indikator 3 g
   - Alkohol 95% 20 ml

   larutan B

   - Ammonium oksalat 0,8 g
   - Akuades 80 ml

   Kedua larutan dilarutkan sendiri lalu dicampur

   b. Gram B (Lugol's iodine)

   - I2 5 g
   - Kl 0,2 g
   - Akuades 100 ml

   c. Gram C (Alkohol Aseton)

   - Alkohol 95% 70 ml
   - Aseton 30 ml

   d. Gram D (Safranin)

   - Safranin 0,5 g
   - Alkohol 95% 10 ml
   - Akuades 100 ml

2. Uji Katalase

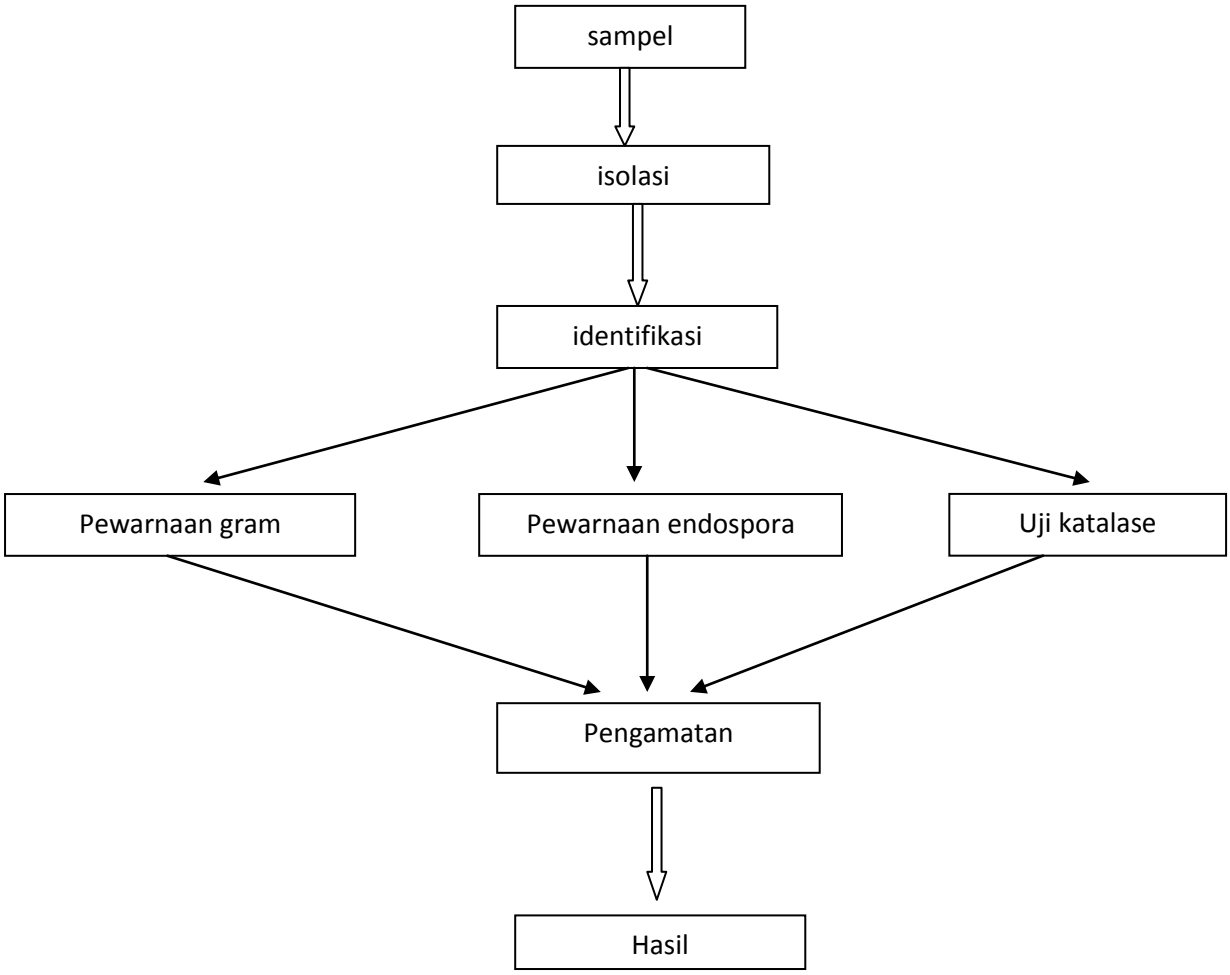
- H_2O_2 3% 20 ml

3. Pewarnaan Endospora (Malachite green 5%)

- Malachite green 5%
- Akuades 100 ml

Lampiran 3 Skema Penelitian

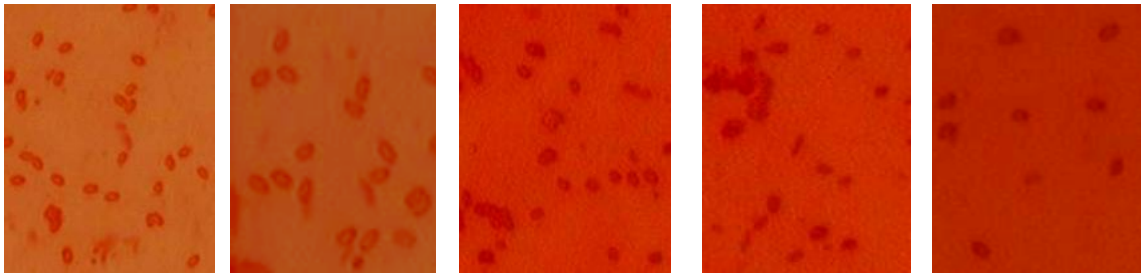
Secara diagramatis, bagian alur penelitian ini dapat terangkum pada bagan dibawah ini:



Lampiran 4 Tahap Isolasi Bakteri Rhizobium Dari Akar

1. Cuci akar tanaman bernodula. Perhatikan dan catat bentuk, distribusi dan jumlah nodula yang ada.
2. Pisahkan nodula yang besar, bernas dan berwarna kemerahan dengan hati-hati jangan sampai terluak tau pecah, nodula kecil dibiarkan melekat di perakatran. Jika memungkinkan pilih bentuk nodula yang gemuk terutama yang berwarna kemerahan (pink)
3. Lakukan sterilisasi permukaan nodula dengan cara sebagai berikut:
    a. Rendam nodula dalam petridish berisi 0,1 % $HgCl_2$ selama 5 menit
    b. Pindahkan nodula ke petridish steril lain yang berisi etanol 70% rendam selama tiga menit.
    c. Pindahkan nodula ke dalam petridish steril berisi akuades dengan menggunakan penjepit steril. Cucilah nodula tersebut.
    d. Pindahkan nodula ke petridish steril lain yang berisi etanol 70% rendam selama tiga menit.
    e. Pindahkan kembali ke petridish berisi aquades dan cuci.
    f. Pindahkan kembali ke petridis kedua yang berisi aquades untuk pencucian terakhir.
4. Tambahkan 15 ml Rhizobium media ke dalam masing-masing petridish. Inkubasikan pada suhu $35^{O}C$ selama 2X 24 jam atau 2 hari.
5. Seleksi koloni *Rhizobium* yang cembung (*mucoid*), datar atau yang mengandung banyak air dari setiap petridish. Pilih satu koloni di antara yang dominan dan pindahkan ke agar miring Rhizobium media. Inkubasikan untuk pengujian lebih lanjut.

Lampiran 5. Bentuk Sel Bakteri Gram Negatif Berbentuk Batang



BA 1 BA 2 BA 3 BA 4 BA 5