

Application of Liquid Organic Fertilizer (*Bio-fertilizer*) Enriched Consortium Bacteria and Golden Snail (*Pomacea canaliculata*) in Ciherang Rice Flowering

(Aplikasi pupuk organik cair (*Bio-fertilizer*) diperkaya konsorsium bakteri dan keong mas (*Pomacea canaliculata*) pada pembungaan padi Ciherang)

Agus Setiawan^{1*}, Maria Bintang¹, Syamsul Falah¹

¹*Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia*

Corresponding author: Agus Setiawan; Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; Telp/ Fax. +62251-8423267; E-mail: ayahnya_bintang@yahoo.com

ABSTRACT

*Application of organic fertilizer today has become a necessity, benefits can be felt by farmers using organic fertilizers because increasing content of organic matter and soil nutrition so that increased productivity of agricultural land. Golden snail (*Pomacea canaliculata*) was introduced to Asia in the 1980s from South America as a potential food for humans. Nutritional content of golden snails when added to other ingredients can be a good growth medium for growth of various types of bacteria (consortium) as basic ingredients of liquid organic fertilizer (*Bio-fertilizer*). *Bio-fertilizer* was made from golden snail plus bacterial consortium followed by isolation and calculation of bacterial colonies that grow, test activity of phosphate solvent, nitrogen fixation and effectiveness of Ciherang rice flowering. *Bio-fertilizer* applications made in combination with solid organic fertilizers significantly increase plant height, number of tillers, multiply and accelerate flowering of Ciherang rice.*

Keywords: *bacterial consortium, bio-fertilizer, Ciherang rice, nitrogen fixation, Golden Snail*

ABSTRAK

*Aplikasi pupuk organik saat ini sudah menjadi suatu keniscayaan, manfaat dapat dirasakan petani dengan menggunakan pupuk organik karena meningkatnya kandungan bahan organik dan nutrisi tanah sehingga meningkatkan produktivitas lahan pertanian. Keong mas (*Pomacea canaliculata*) diperkenalkan ke Asia pada tahun 1980an dari Amerika Selatan sebagai makanan potensial bagi manusia. Kandungan nutrisi Keong mas bila ditambahkan bahan lainnya bisa menjadi media pertumbuhan yang baik untuk pertumbuhan berbagai jenis bakteri (konsorsium) sebagai bahan dasar pupuk organik cair (*Bio-fertilizer*). *Bio-fertilizer* dibuat dari keong mas ditambah konsorsium bakteri*

yang selanjutnya dilakukan isolasi dan perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh, pengujian aktivitas pelarut fosfat, fiksasi nitrogen dan keefektifannya pada pembungaan padi Ciherang. Aplikasi Bio-fertilizer yang dibuat dikombinasikan dengan pupuk organik padat secara signifikan meningkatkan tinggi tanaman, jumlah anakan, memperbanyak serta mempercepat pembungaan padi Ciherang.

Kata kunci: konsorsium bakteri, Bio-fertilizer, padi Ciherang, fiksasi nitrogen, *Pomacea canaliculata*

1. PENDAHULUAN

Industri pupuk organik yang berorientasi masyarakat menjadi salah satu potensi unggulan untuk dikembangkan sesuai potensi masyarakat yang tersebar hampir di seluruh wilayah Indonesia. Produktivitas pertanian saat ini sebagian besar didukung oleh penggunaan bahan kimia dan pupuk anorganik yang intensif. Aplikasi pupuk nitrogen sintetik telah memberikan keuntungan nyata pada produksi dan ketahanan pangan dunia dalam jangka pendek. Penggunaan pupuk nitrogen sintetik secara terus menerus akan menyebabkan kerusakan tanah pertanian, antara lain sebagai akibat dari hilangnya bahan organik, pemadatan tanah, peningkatan salinitas, dan pencucian nitrat anorganik (Cummings dan Orr 2010). Penggunaan pupuk organik pada saat ini sudah menjadi suatu keniscayaan, manfaat yang dirasakan petani dengan menggunakan pupuk organik adalah meningkatnya produktivitas dari lahan pertanian karena dapat memperbaiki sifat kimia dan biologi tanah atau lahan pertanian.

Keong mas (*Pomacea canaliculata*) diperkenalkan ke Asia pada tahun 1980an dari Amerika Selatan sebagai makanan potensial bagi manusia. Walaupun keong mas menjadi hama utama padi yang menyebar di beberapa negara Asia seperti Filipina, Kamboja, Thailand, Vietnam, dan Indonesia, kandungan nutrisi pada keong mas (protein 15.58 %, lemak 0.79 %, kalsium 29.33 %, fosfor 0.13 %) (BPTP Kaltim 2001) apabila ditambah dengan bahan-bahan lain dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan beberapa jenis bakteri sebagai bahan dasar untuk pupuk organik cair (*Bio-fertilizer*).

Penelitian ini memanfaatkan keong mas sebagai basis pembuatan pupuk organik cair yang diperkaya konsorsium bakteri.

2. METODOLOGI

Bahan yang digunakan adalah keong mas ukuran diameter ± 2 cm, isolat bakteri *Rhizobium* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Lactobacillus* sp. dari Biogen Bogor, gula merah, terasi udang, pupuk urea, pupuk TSP-36, dedak padi halus, *monosodium glutamat* (MSG), air mineral dan bibit padi varietas Ciherang. Media yang digunakan adalah *nutrient broth*, *Pikovskaya*, *Plate Count Agar* (PCA), *Yeast Mannitol Agar* (YMA), *Kings B*, *Tryptic Soy Agar* (TSA), *deMann Rogosa and Sharpe* (MRS) dan *Nitrogen Free Broth* (NFB).

Inokulasi Konsorsium Bakteri

Sebanyak 2 gram Nutrient broth (NB) dilarutkan dalam 50 ml akuades, disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit kemudian didinginkan dalam suhu $\pm 26-27$ °C selama 24 jam. Isolat bakteri dimasukkan pada 50 ml media NB steril dan dikocok di atas

mesin pengocok selama 36 jam, selanjutnya isolat bakteri yang sudah diremajakan diinokulasikan ke dalam media inokulan alternatif.

Sebanyak 1 liter media inokulan alternatif dibuat dengan komposisi masing-masing terdiri atas 10 gram urea, 5 gram TSP-36, 2.5 gram terasi udang, 10 gram dedak halus, 1 gram *monosodium glutamat* (MSG), 10 gram gula merah dan 1 liter air mineral. Semua bahan dihaluskan lalu dicampur dalam satu wadah, lalu disaring dengan kain saring dan kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Isolat bakteri yang sudah diremajakan dimasukkan pada inokulan alternatif (Richard 2011).

Pembuatan media *Bio-fertilizer* dan Fermentasi *Bio-fertilizer*

Sebanyak 5 liter pupuk organik cair, 500 gram keong mas ukuran diameter ± 2 cm yang sudah bersih digiling semua bagiannya sampai halus, kemudian ditambahkan 50 gram urea, 25 gram TSP-36, 50 gram dedak halus, 5 gram MSG, 50 gram gula merah dan 5 liter air mineral. Semua bahan dicampur, diukur pH nya, seimbangkan pH sampai dengan 7 (tujuh) dengan penambahan kapur dan disaring menggunakan saringan kain kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, didinginkan dalam suhu ruang. Media *Bio-fertilizer* steril sebanyak ± 1 liter untuk kontrol pada uji aplikasi pada pembungaan padi Ciherang, dimasukkan ke dalam tabung fermentor, ditambahkan inokulan konsorsium bakteri yang sudah dibuat dan dilakukan fermentasi selama 2 minggu dengan terus diaerasi dan dikontrol pertumbuhan bakterinya ((Richard (2011), modifikasi penambahan keong mas).

Pemanenan Hasil Fermentasi

Setelah fermentasi 2 minggu, produk dihasilkan adalah pupuk organik cair (*Bio-fertilizer*), produk tersebut dikemas dalam botol steril @500ml, dilakukan karakterisasi morfologi dengan melakukan pengamatan terhadap jumlah koloni, jumlah koloni bakteri pelarut fosfat (BPF), jumlah koloni bakteri yang ditambahkan, uji kualitatif/kuantitatif bakteri pemfiksasi nitrogen dan dilakukan uji aplikasi rumah kaca pada padi varietas Ciherang sampai fase pembungaan.

Isolasi Konsorsium Bakteri

Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri

Sebanyak 10 ml *Bio-fertilizer* dimasukkan ke dalam 90 ml NaCl fisiologis 85 % sehingga menjadi pengenceran 10^{-1} , dan dibuat serial pengenceran sampai 10^{-5} . Sebanyak 1 ml dipipet dari pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} *Bio-fertilizer* dalam cawan steril dituang pada media *Plate Count Agar* (PCA) steril, digoyang-goyang hingga merata dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam, hitung jumlah koloni yang tumbuh.

Isolasi Bakteri *Bacillus* sp.

Bio-fertilizer hasil pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} dipipet ± 10 ml dalam tabung reaksi, diberikan renjatan panas pada suhu ± 90 °C selama ± 2 menit, 0.1 ml tiap pengenceran tadi dituang dan disebar merata di atas permukaan media *Tryptic Soy Agar* (TSA) padat steril dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Indikator yang diamati berupa daerah bening (holozone) yang terbentuk yang berarti *Bio-fertilizer* tersebut positif mengandung bakteri *Bacillus* SP, dan dihitung jumlah koloni bakteri *Bacillus* SP yang tumbuh.

Isolasi Bakteri *Rhizobium* sp.

Bio-fertilizer hasil pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} diambil masing-masing 0.1 ml dituang dan disebar merata di atas permukaan media *Yeast Mannitol Agar* (YMA), diinkubasi pada suhu ruang selama 7 x 24 jam. Indikator diamati daerah bening (holozone) yang terbentuk yang berarti *Bio-fertilizer* tersebut positif mengandung bakteri *Rhizobium* sp, dan dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

Isolasi Bakteri *Pseodomonas* sp.

Bio-fertilizer hasil pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} diambil masing-masing 0,1 ml dituang dan disebar merata di atas permukaan media *Kings B*, inkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Indikator diamati daerah bening (holozone) yang terbentuk yang berarti *Bio-fertilizer* tersebut positif mengandung bakteri *Pseodomonas* sp, dan dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

Isolasi Bakteri *Lactobacillus* sp.

Bio-fertilizer hasil pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} diambil masing-masing 0,1 ml dituang dan disebar merata di atas permukaan media *deMann, Rogosa and Sharpe* (MRS), inkubasi selama 24-48 jam. Indikator diamati ditandai daerah bening (holozone) yang terbentuk yang berarti *Bio-fertilizer* tersebut positif mengandung bakteri *Lactobacillus* sp dan dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

Uji Kemampuan Melarutkan Fosfat

Bio-fertilizer hasil pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} diambil masing-masing 0.1 ml dituang dan disebar merata di atas permukaan media *Pikovskaya* padat steril (T.Sivakumar 2014), inkubasi selama 3-6 hari pada suhu ruang. In-

dikator diamati daerah bening (holozone) yang mengelilingi koloni bakteri yang berarti isolat tersebut mampu melarutkan fosfat (Saraswati *et al.* 2007).

Uji Kemampuan Menambat Nitrogen galur *Bacillus* sp.

Uji kualitatif kemampuan fiksasi N_2 strain *Bacillus* sp dilakukan dengan menumbuhkan bakteri tersebut pada media *Nitrogen Free Broth* (NFB). Sebanyak 100 μ l suspensi isolat dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media NFB dan diinkubasi selama 5-7 hari. Indikator yang diamati yaitu partikel putih yang terbentuk di permukaan media. Uji kuantitatif diamati secara tidak langsung melalui reduksi asetilen menjadi etilen menggunakan *Gas Chromatografi* (GC) (Gothwal *et al.* 2007).

Uji Efektifitas *Bio-fertilizer* pada Pembungaan Padi Ciherang dalam Rumah Kaca

Rancangan Percobaan

Berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu ulangan lima faktor perlakuan, yaitu:

- P0 = tanpa diberi pupuk.
- P1 = diberi *Bio-fertilizer* tanpa diperkaya konsorsium bakteri.
- P2 = diberi *Bio-fertilizer* diperkaya konsorsium bakteri.
- P3 = diberi *Bio-fertilizer* diperkaya konsorsium bakteri + pupuk organik padat.
- P4 = diberi pupuk organik padat merek "*Agrobacto*".

Persiapan

Polybag ukuran 15 x 25 cm (sebanyak 5 buah untuk tiap perlakuan) diisi dengan tanah

kering angin yang berasal dari tanah vertisol atau entisol setinggi 20 cm. Persemaian kering sampai umur bibit 10 hari, varietas padi yang ditanam adalah Ciherang.

Penanaman dan pemupukan

Dua hari sebelum tanam, tanah dalam *polybag* disiram air sampai basah. Perlakuan P3 dan P4 dilakukan sehari sebelum tanam dengan cara memberikan pupuk dasar pupuk organik padat sebanyak 0.5 kg tiap *polybag* (10 ton/ha) (Taslim 2006), bibit ditanam dalam *polybag* pada umur 10 hari setelah semai (HSS), setiap *polybag* ditanam 1 bibit.

Pemeliharaan tanaman

Pengairan, penyiangan dan pemupukan sesuai perlakuan. Pengairan secara rutin dilakukan setiap pagi dan sore dengan cara memberikan air sampai kondisi basah. Pemupukan pertama dilakukan dengan penyemprotan larutan Bio-fertilizer dimulai pada umur 7 hari setelah tanam (HST) dengan dosis 30 ml *Bio-fertilizer* dalam 600 ml air untuk perlakuan P1, P2 dan P3, pemupukan kedua pada umur 15 HST, pemupukan ketiga pada umur 25 HST, pemupukan keempat pada umur 35 HST dan terakhir pemupukan kelima setelah 45 HST setelah padi mulai berbunga.

Parameter pertumbuhan

Pengamatan pertumbuhan dilakukan terhadap tinggi tanaman (diukur dari tanah hingga daun terpanjang) dan jumlah anakan.

3. HASIL

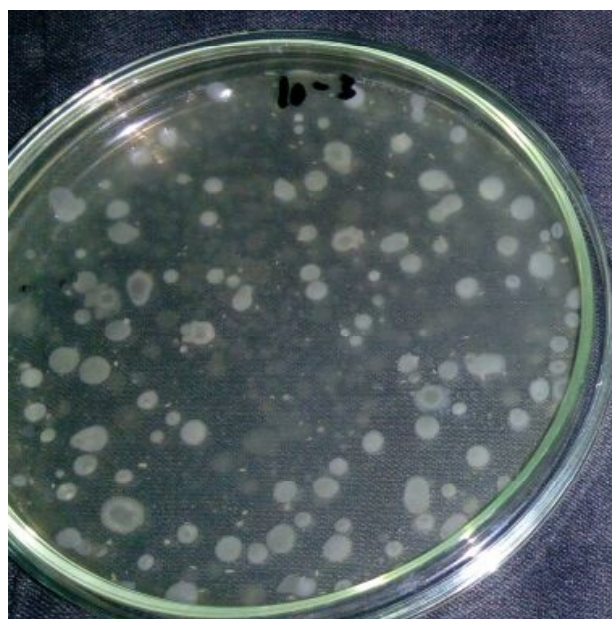
Isolat Konsorsium Bakteri

Jumlah Koloni Bakteri. Pertumbuhan bakteri dalam *Bio-fertilizer* sebesar 5.5×10^7 cfu/ml, jumlah yang cukup banyak untuk standar *Bio-fertilizer*

Isolasi Bakteri *Bacillus* sp. Pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. dalam *Bio-fertilizer* sebesar 3.8×10^6 cfu/ml, jumlah yang baik untuk standar *Bio-fertilizer*.

Hasil pewarnaan Gram dan spora menunjukkan sel bakteri bersifat Gram positif, berbentuk batang dengan ukuran dan penataan yang berbeda serta memiliki endospora dengan bentuk dan letak yang bervariasi.

Isolat Bakteri *Rhizobium* sp dan *Pseudomonas* sp. Hasil isolasi dari *Bio-fertilizer* yang dibuat diperoleh jumlah koloni nol.

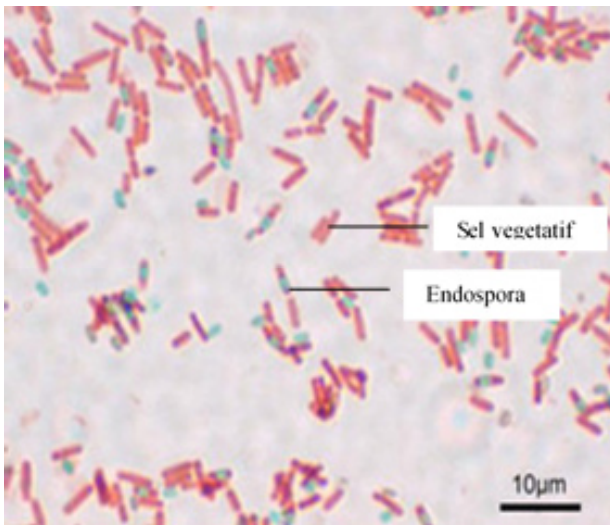


Gambar 1 Hasil penumbuhan jumlah koloni pada media PCA pada pengenceran 10^{-3}

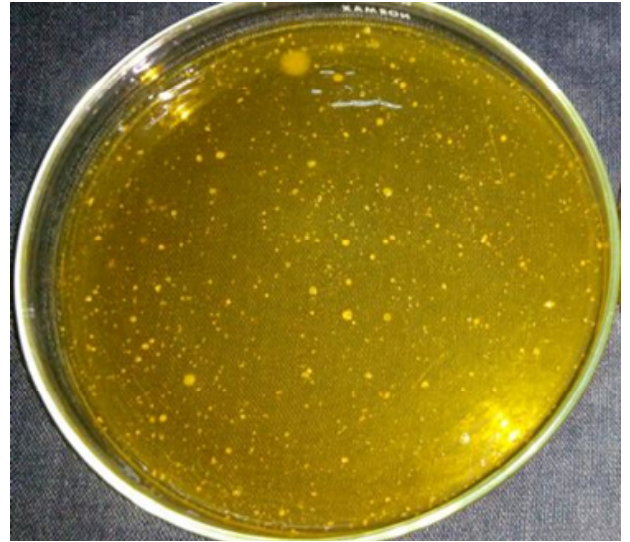


Gambar 2 Hasil penumbuhan *Bacillus* sp pada media TSA pada pengenceran 10^{-3}

Isolat Bakteri *Lactobacillus* sp. Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus* sp. dalam *Bio-fertilizer* sebesar lebih dari 10^5 cfu/ml pada pengenceran 10^{-5} , jumlah yang terlalu banyak untuk standar *Bio-fertilizer*.



Gambar 3 Pewarnaan gram isolat *Bacillus* sp. dengan pembesaran 1000x



Gambar 4 Penumbuhan *Lactobacillus* sp. pada media MRS pada pengenceran 10^{-5}

Isolat Bakteri Pelarut Fosfat. Hasil analisis populasi koloni BPF diperoleh jumlah koloni sebesar 6×10^5 cfu/ml.

Uji Kemampuan Fiksasi Nitrogen galur *Bacillus* sp. Hasil analisis kualitatif pada media *Nitrogen Free Broth* (NFB) tidak ditemukan adanya partikel putih pada permukaan tabung reaksi.

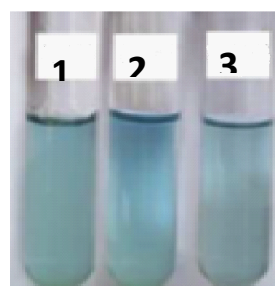
Secara keseluruhan hasil analisa Isolasi dan jumlah koloni konsorsium bakteri pada *Bio-fertilizer* yang dibuat tertuang dalam tabel 1 berikut.

Uji Efektifitas *Bio-fertilizer* pada Pembungaan Padi Ciherang di Rumah Kaca

Pengamatan menunjukkan bahwa tinggi tanaman (Gambar 7A) dan jumlah anakan (Gambar 7B) pada semua perlakuan tidak berbeda nyata pada saat padi berumur 14 HST dan 28 HST. Tinggi tanaman dan jumlah anakan berbeda nyata setelah padi berumur 42 HST-70 HST. Tinggi tanaman dengan perlakuan tanpa diberi pupuk (P0) setinggi 65 cm sedangkan



Gambar 5 Hasil penumbuhan BPF pada media Pikovskaya pada pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5}



Gambar 6 *Bacillus* sp. yang ditumbuhkan pada pengulangan 1, 2 dan 3 pada media NFB

tinggi tanaman pada perlakuan diberi *Bio-fertilizer* diperkaya bakteri ditambah dengan POP (P3) setinggi 87 cm.

Efektifitas *Bio-fertilizer* terlihat pada tinggi tanaman, jumlah anakan dan pembungaan pada perlakuan diberi *Bio-fertilizer* diperkaya bakteri ditambah dengan POP (P3) berbeda nyata dengan perlakuan tanpa diberi pupuk (P0), namun dengan perlakuan diberi *Bio-fertilizer* tanpa diperkaya bakteri (P1) tidak berbeda nyata.

4. PEMBAHASAN

Kandungan nutrisi keong mas (*Pomacea canaliculata*) bila ditambah dengan bahan-

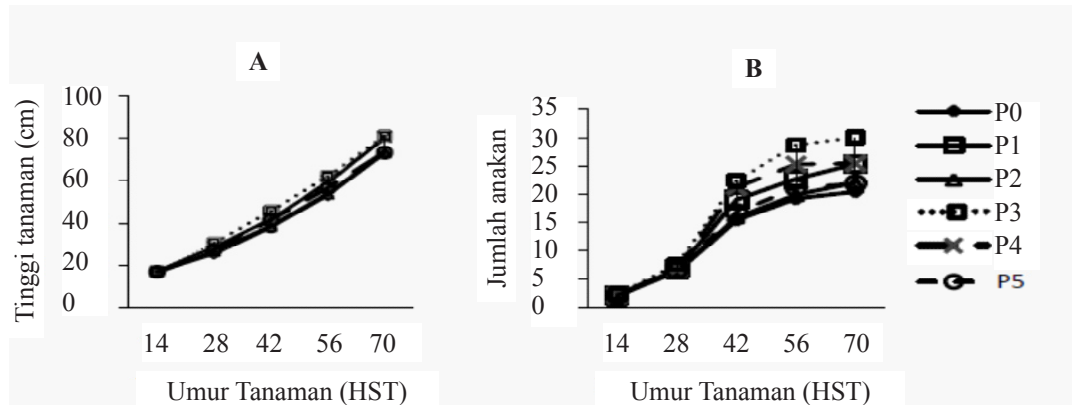
bahan lain dapat menjadi media tumbuh yang baik untuk pertumbuhan berbagai jenis bakteri (konsorsium) sebagai bahan dasar untuk *Bio-fertilizer*. Pertumbuhan bakteri dalam *Bio-fertilizer* sebesar 5.7×10^7 cfu/ml, jumlah tersebut memenuhi syarat untuk jumlah minimum pertumbuhan bakteri yang disyaratkan pemerintah sesuai Permentan No. 70 tahun 2011.

Pertumbuhan jumlah bakteri *Bacillus* sp. dari *Bio-fertilizer* yang dibuat sebesar 3.8×10^6 cfu/ml, seleksi awal bakteri *Bacillus* sp. dilakukan dengan perlakuan heatshock pada air panas ± 90 °C selama ± 2 menit pada sampel hasil pengenceran yang bertujuan untuk seleksi awal isolasi. *Bacillus* sp. akan tahan terhadap pemanasan karena memiliki struktur endospora,

Tabel 1 Hasil analisis Isolasi dan jumlah koloni konsorsium bakteri pada *Bio-fertilizer* yang dibuat

Parameter				
Jenis Bakteri	Jumlah Koloni (CFU ml ⁻¹)	Bentuk	Warna	Gram
TPC	5.7×10^7	Batang	Krem susu	Positif
<i>Bacillus</i> sp.	3.8×10^6	Batang	Krem	Positif
<i>Rhizobium</i> sp.	0	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> sp.	0	-	-	-
<i>Lactobacillus</i> sp.	$> 1.0 \times 10^5$	Batang	Putih Susu	Positif
BPF	6×10^5	Batang	Krem	Positif
Bakteri penambat N ₂	0	-	-	-

CFU ml⁻¹ , Colony Forming Unit per mililiter



Gambar 7 Pertumbuhan tinggi padi Ciherang (A) dan jumlah anakan (B) tanaman padi Ciherang 14 – 70 hari setelah tanam (HST)

sedangkan bakteri lain mati. Isolat tersebut kemudian diamati karakter koloninya secara visual dengan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram dan spora menunjukkan sel bakteri bersifat Gram positif, berbentuk batang dengan ukuran dan penataan yang berbeda serta memiliki endospora dengan bentuk dan letak yang bervariasi.

Isolasi bakteri *Rhizobium* sp. dan *Pseudomonas* sp. dari *Bio-fertilizer* yang dibuat diperoleh jumlah koloni nol, artinya tidak ada bakteri *Rhizobium* sp. dan *Pseudomonas* sp. yang tumbuh pada *Bio-fertilizer* itu, hal ini disebabkan

sebab karena dalam pembuatan *Bio-fertilizer* ini ditambahkan pula bakteri *Lactobacillus* sp. yang mempunyai karakteristik menghasilkan asam laktat (Salminen *et al.* 2004), sehingga produk akhir dari *Bio-fertilizer* yang dibuat memiliki keasaman yang tinggi dengan pH 3.8, sedangkan sifat dari bakteri *Rhizobium* sp. dan *Pseudomonas* sp. tidak akan tumbuh pada kondisi asam (Astuti *et al.* 2006).

Bakteri pelarut fosfat (BPF) merupakan kelompok bakteri tanah yang memiliki kemampuan melarutkan P yang terfiksasi dalam tanah dan mengubahnya menjadi bentuk yang tersedia



Gambar 8 Pembungaan padi varietas Ciherang setelah 70 HST

sehingga dapat diserap tanaman. Genus *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. memiliki kemampuan yang paling besar dalam melarutkan fosfat tak larut menjadi bentuk larut dalam tanah. Pelarutan ini disebabkan oleh adanya sekresi asam organik bakteri tersebut seperti asam formiat, asam asetat, asam propionat, asam laktat, asam glikolat, asam glioksilat, asam fumarat, asam tartarat, asam ketobutirat, asam suksinat, dan asam sitrat (T. Sivakumar 2014). Hasil analisis populasi koloni Bakteri pelarut fosfat (BPF) dan kemampuannya dalam melarutkan fosfat tak larut di media pikovskaya padat pada Sampel *Bio-fertilizer* yang dibuat diperoleh jumlah koloni sebesar 6×10^5 cfu/ml, jumlah tersebut cukup efektif untuk *Bio-fertilizer* (S. Widawati 2015).

Hasil uji kemampuan fiksasi nitrogen galur *Bacillus* sp. dilakukan secara kualitatif dengan menumbuhkan isolat bakteri tersebut pada media *Nitrogen Free Broth* (NFB), perlakuan tersebut dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali dan ternyata tidak ditemukan adanya partikel putih pada permukaan tabung reaksi yang menunjukkan galur tersebut tidak tumbuh dalam media tersebut sehingga analisa kuantitatif untuk efektifitas fiksasi N_2 pada *Bio-fertilizer* yang dibuat tidak dilanjutkan.

Hasil uji aplikasi *Bio-fertilizer* pada pembungaan padi Ciherang menunjukkan kombinasi *Bio-fertilizer* diperkaya konsorsium bakteri dan pupuk organik padat pada perlakuan P3 secara nyata meningkatkan tinggi tanaman, jumlah anakan, dan memperbanyak serta mempercepat pembungaan pada padi Ciherang, sehingga efektifitas dari *Bio-fertilizer* yang dibuat dapat lebih baik apabila dikombinasi dengan pupuk organik padat.

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah pertumbuhan jumlah bakteri, bakteri *Bacillus* sp. dan bakteri pelarut fosfat (BPF) sesuai dengan ketentuan Permentan No. 70 Tahun 2011 yang mensyaratkan teknis minimal pupuk hayati majemuk cair jumlah bakteri sebesar $> 10^7$ dan positif untuk bakteri *Bacillus* sp. dan BPF. Bakteri *Rhizobium* sp. dan *Pseudomonas* sp. tidak dapat tumbuh karena kondisi asam yang timbul dari bakteri *Lactobacillus* sp. Efektifitas *Bio-fertilizer* yang dihasilkan dapat lebih baik apabila dikombinasikan dengan Pupuk Organik padat.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada analis dan staf Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor dan Rumah Kaca Cikabayan Institut Pertanian Bogor yang telah memberikan bantuan dan arahan selama penelitian.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Alam G. 2002. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) sebagai bioassay dalam isolasi senyawa bioaktif dari bahan alam. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 6(2):432-435.
- Awad T, Helgason T, Kristbergsson K, Decker EA, Weiss J, McClements DJ. 2008. Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *Food Biophysics*. 3:146-154.
- Banerjee M, Tripathi LM, Srivastava VM, Puri A, Shukla R. 2003. Modulation of inflammatory mediators by ibuprofen and curcumin treatment during chronic inflammation in rat. *Immunopharmacol. Immunotoxicol*. 25:213-224.

- Bhardwaj V. and Kumar MNVR. 2006. Nanoparticle technology for drug delivery; Polymeric nanoparticles for oral drug delivery. Taylor and Francis Group. New York. E-book. http://ajprd.com/download ebooks_pdf/49.pdf.
- Basnet P and Basnet NS. 2012. Curcumin: A Challenge in cancer treatment-A review. *JNPA*.26(1):19-47.
- Cahyono B, Huda MDK, Limantara L. 2011. Pengaruh proses pengeringan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb) terhadap kandungan dan komposisi kurkuminoid. *Reaktor*. 13(3):165-171.
- Carballo J, Hernandez-Inda ZL, Perez P, and Garcia-Gravalo MD, 2002. A comparison between two brine shrimp assays to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology*. 2(1): 17 pp.
- Dewantari KT, Yuliani S, Yasni S. 2013. Ekstraksi dan karakterisasi nanopartikel ekstrak sirih merah (*Piper crocatum*). *Jurnal Pasca Pannen*. 10(2):58-65.
- Dhule SS, Penfornis P, Frazier T, Walker R, Fieldman J, Tan G, He J, Alb A, John V, Pochampally R. 2012. Kurkumin-loaded gamma(γ)-cyclo-dextrin liposomal nanoparticles as delivery vehicles for osteosarcoma. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 8:440-451.
- Ekambaram P, Sathali AAH, Priyanka K. 2012. Solid lipid nanoparticles: A review. *Sci. Revs. Chem. Commun*. 2(1):80-102.
- Ekaputra HR. 2013. Optimisasi dan karakterisasi nanokurkuminoid tersalut asam palmitat [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Faraouq. 2003. Ekstrak sebagai salah satu pengembangan bentuk obat tradisional. Dalam: Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIII. Jakarta. Hal: 45-52.
- Hwang, J.K. 2006. Xanthorrhizol; A new bioactive natural compound. Departement of Biotechnology, Yonsei University, Yonsei.
- Huda M. 2012. Pembuatan nanopartikel lipid padat untuk meningkatkan laju disolusi kurkumin [Skripsi]. Depok: Universitas Indonesia.
- Jayaprakasha GK, Jaganmohan RL, Sakariah KK. 2002. Improved HPLC method for the determination of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *J Agric Food Chem*. 50:3668-3672.
- Jayaprakasha GK, Rao LJ, Sakariah KK. 2006. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food chemistry*. 98: 720-724.
- Laitinen ML, Julkunen-Tiitto R, Tahvanainen J, Heinen J, Rousi M. 2005. Variation in birch (*Betula pendula*) shoot secondary chemistry due to genotype, environment, and ontogeny. *J. Chem. Ecol*. 31:697717.
- Lerdau, M. 2002. Benefits of the carbon-nutrient balance hypothesis. *OIKOS* 98:534-536.
- Li Y, Gao J, Zhong Z, Hoi P, Lee SM, Wang Y. 2013. Bisdemethoxycurcumin suppresses MCF-7 cells proliferation by inducing ROS accumulation and modulating senescence-related pathways. *Pharmacological Reports*. 65:700-709.
- Lim GP, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy SA, Cole GM. 2001. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an alzheimer transgenic mouse. *J. Neurosci*. 21:8370-7.
- Luo Y, Chen D, Ren L, Zhao X, Qin J. 2006. Solid lipid nanoparticle for enhancing vinpocetine's oral bioavailability. *Journal of Controlled Release*. 114:53-59.
- Matsuda H, Tewtrakul S, Morikawa T, Nakamura A. 2004. Anti-allergic principles from thai zedoary: structural requirements of curcuminoids for inhibition of degranulation and effect on the release of TNF-a and IL-4 in RBL-2H3 cells. *Bioorg. Medicinal Chem*. 12:5891-5898.
- Maulia P. 2014. Aktivitas antiinflamasi sediaan nanopartikel ekstrak kurkuminoid temulawak tersalut asam palmitat secara *in vivo* [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

- Meyer UN, Ferigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, and McLaughlin JL. 1982. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*. 45:31-34.
- Mishra, P. 2009. Isolation, spectroscopic characterization and molecular modeling studies of mixture of *Curcuma longa*, ginger and seeds of fenugreek. *IJPR*. 1(1):79-95.
- Mujib MA. 2011. Pencirian nanopartikel kurkuminoid tersalut lemak padat [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Nurcholis W, Ambarsari L, Sari NLPE, Darusman LK. 2012. Curcuminoid contents, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Curcuma xanthorrhiza* RoxB. and *Curcuma domestica* Val. promising lines from Sukabumi of Indonesia. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*. Surabaya, 25 Pebruari 2012.
- Parhi R, Suresh P. 2010. Production of solid lipid nanoparticles-drug loading and release mechanism. *JCPR*. 2:211–227.
- Permasku G. 2014. Aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dan sitotoksitas ekstrak kurkuminoid rimpang temulawak dari berbagai aksesori (*in vitro*) [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Piantino CB, Salvadori FA, Ayres PP, Kato RB, Srougi V, Leite KR, Srougi M. 2009. An Evaluation of the Anti-neoplastic Activity of Kurkumin in Prostate Cancer Cell Lines. *International Braz J Urol*. Vol. 35 (3): 354-361.
- Pothitirat W and Gritsanapan W. 2005. Quantitative analysis of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in the crude curcuminoid extract from *Curcuma longa* in thailand by tldensitometry. *MUJ Pharm Scien*.32(1-2): 23-30.
- Shah R, Eldridge D, Palombo E, Harding I. 2014. Optimisation and stability assessment of solid lipid nanoparticles using particle size and zeta potential. *Journal of Physical Science*. 25(1):59–75.
- Simanjuntak P, Rachman F, Logawa ED, Hegartika H. 2008. Aktivitas antioksidan ekstrak tunggal dan kombinasinya dari tanaman *Curcuma* spp. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2(6):69-74.
- Sonaje K, Italia JL, Sharma G, Bhardwaj V, Tikoo K, Kumar MN. 2007. Development of biodegradable nanoparticles for oral delivery of ellagic acid and evaluation of their antioxidant efficacy against cyclosporine A-induced nephrotoxicity in rats. *Pharm Res*. 24:899-908.
- Sutrisno, Sukarianingsih D, Saiful M, Putrika A, Kusumaningtyas DI. 2008. Curcuminoids from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb: Isolation, characterization, identification, and analysis of antioxidant activity. *Proceedings of the first international symposium on temulawak*. Bogor, 27–29 Mei 2008.
- Tsuda Akira and Gehr Peter. 2015. Nanoparticles in the lung environmental exposure and drug delivery. CRC Press. Amerika Serikat. E-book. <https://onlybooks.org/nanoparticles-in-the-lung-environmental-exposure-and-drug-delivery-18241>.
- Waghmare AS, Grampurohit ND, Gadhave MV, Gaikwad DD, Jadhav SL. 2012. Solid lipid nanoparticle: A promising drug delivery system. *International Research Journal of Pharmacy*. 4(3):100-107.
- Wahid MBR. 2013. Aktivitas antioksidan nanokurkuminoid varietas temulawak asal balitro pada hati tikus jantan sprague dawley [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wijayanto EA. 2013. Kandungan kurkuminoid dan daya antioksidan aksesori temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) asal Sukabumi [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Yadav V, Vinay P, Sarasija S, Yadav S. 2009. Kurkumin loaded palmitic acid microparticles. *InPharm Communique*. 1:15.
- Yen FL, Wu TH, Lin LT, Cham TM, Lin CC. 2008. Nanoparticles formulation of *Cucuta chinensis* prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 46:1771–1777.