

## Uji Viabilitas dan Kemampuan Fungi Pelarut Fosfor pada Media Pembawa Dedak Padi selama Masa Penyimpanan

### *Test of Viability and Ability of Phosphorus Solubilizing Fungi on Rice Bran Carrier Media during Storage Period*

Desak Ketut Tristiana Sukmadewi\*, I Nengah Muliarta

Program Studi Agroteknologi, Universitas Warmadewa, Indonesia

#### INFORMASI

*Riwayat naskah:*

Accepted: 04 - 10 - 2023

Published: 31 - 12 - 2023

*Keyword:*

Fosfor

Fungi

Dedak padi

Pupuk hayati

Viabilitas

*Corresponding Author:*

Desak Ketut Tristiana Sukmadewi

Universitas Warmadewa

\*email:

[tristianasukmadewi@yahoo.com](mailto:tristianasukmadewi@yahoo.com)

#### ABSTRAK

Mutu pupuk hayati sangat ditentukan berdasarkan proses formulasi menggunakan bahan pembawa yang tepat dengan mikroba yang digunakan. Bahan pembawa yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan salah satunya adalah dedak padi. Tujuan penelitian ini adalah mengkaji potensi dedak padi sebagai bahan pembawa untuk menjaga viabilitas dan kemampuan fungi pelarut P selama masa penyimpanan. Tahapan dari penelitian ini terdiri dari persiapan bahan pembawa dedak padi, uji viabilitas fungi pelarut P pada bahan pembawa dedak padi dan pengujian kemampuan mikroba pelarut P pada bahan pembawa dedak padi selama masa penyimpanan. Dedak padi memiliki kadar air sebesar 9,1%, kadar abu 15,76%, kadar serat kasar 13,69%, kadar lemak 4,54%, kadar protein 8,29%, kadar karbohidrat 48,62%, kandungan karbon organik (C) 36,85%, Nitrogen (N) 1,82%, C/N 20,2. Dedak padi memiliki potensi untuk menjaga viabilitas dan kemampuan dari fungi pelarut P. Bahan pembawa dedak padi mampu menjaga viabilitas fungi pelarut sampai minggu ke-12 dengan jumlah populasi akhir fungi pada media PDA sebesar  $\log 6,55$  ( $3,6 \times 10^6$  CFU/g) dan populasi akhir fungi pada media Pikovskaya sebesar  $\log 6,54$  ( $3,53 \times 10^6$  CFU/g). Kemampuan fungi dalam melarutkan P cenderung fluktuatif pada minggu ke-3 (192,01 ppm) sampai dengan minggu ke-6 (123,247 ppm) dan cenderung stabil pada minggu ke-9 (173,04 ppm) sampai dengan minggu ke-12 (165,69 ppm).

#### ABSTRACT

The quality of biofertilizer determined based on the formulation process using the suitable carrier material with the microbes used. One of the carriers that potential to be developed is rice bran. The purpose of this study was to examine the potential of rice bran as a carrier material to maintain the viability and ability of P solubilizing fungi during storage. The methods of this research consisted of preparation of the rice bran carrier material, testing the viability of P solubilizing fungi on the rice bran carrier material and testing the ability of P solubilizing microbes during storage. Rice bran has a moisture content of 9.1%, ash content 15.76%, crude fiber content 13.69%, fat content 4.54%, protein content 8.29%, carbohydrate content 48.62%, organic carbon content (C) 36.85%, Nitrogen (N) 1.82%, C/N 20.2. Rice bran has the potential to maintain the viability and ability of P solubilizing fungi. Rice bran carrier material can maintain the viability of solubilizing fungi up to week 12 with last population of fungi on PDA media of  $\log 6.55$  ( $3.6 \times 10^6$  CFU/g) and the last fungal population on Pikovskaya media was  $\log 6.54$  ( $3.53 \times 10^6$  CFU/g). The ability of fungi solubilizing P tends to fluctuate in the week 3 (192.01 ppm) to the week 6 (123.247 ppm) and tends to be stable from the week 9 (173.04 ppm) to the week 9 (165.69 ppm).

## PENDAHULUAN

Pupuk hayati merupakan salah satu alternatif untuk mengurangi ketergantungan terhadap penggunaan pupuk sintetis. Pupuk hayati merupakan bahan yang mengandung sel hidup atau mikroba yang memiliki kemampuan untuk menambat nitrogen, melarutkan kalium, penghasil hormon pertumbuhan maupun melarutkan fosfor (P) yang sukar larut (Putri *et al.*, 2010). Penggunaan pupuk hayati memanfaatkan mikroba dalam mempercepat proses mikrobiologi untuk meningkatkan ketersediaan hara sehingga dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Pupuk hayati mampu mengaktifkan serapan hara oleh tanaman, mempercepat proses pengomposan, memperbaiki struktur tanah, dan menghasilkan substansi aktif yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman (Anas, 2016).

Mutu pupuk hayati sangat ditentukan berdasarkan proses formulasi menggunakan bahan pembawa yang tepat dengan mikroba yang digunakan. Empat karakteristik mikroba yang menentukan mutu pupuk hayati, pertama adalah jumlah populasi. Jumlah populasi merupakan minimal populasi mikroba yang hidup pada waktu produksi tanaman. Kedua adalah keefektifan mikroba dalam inokulan merupakan mikroba pilihan (unggul) hasil seleksi, pengujian sistematis baik di laboratorium, rumah kaca maupun di lapang. Ketiga adalah bahan pembawa yang dapat memberikan lingkungan yang sesuai bagi mikroba selama dalam proses penyimpanan, transportasi maupun sebelum mikroba tersebut digunakan. Keempat adalah terkait umur inokulan yang masih dapat digunakan (Ginting *et al.*, 2006).

Penelitian terdahulu umumnya berfokus pada fisiologi dan genetika mikroba atau inokulan yang akan digunakan dalam pupuk hayati. Formulasi inokulan dengan bahan pembawa yang tepat untuk produksi komersial pupuk hayati sangat diperlukan. Petani memerlukan pupuk hayati yang berkualitas untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman (Stephens dan Rask, 2000; Xavier *et al.*, 2004). Viabilitas mikroba pada bahan pembawa menjadi syarat penting untuk menjaga mutu pupuk hayati karena terkait dengan populasi minimum mikroba hidup yang dapat memberikan pengaruh bagi pertumbuhan tanaman (Ginting *et al.*, 2006). Berdasarkan hal tersebut terlihat bahwa, bahan pembawa memiliki peran yang sangat krusial terhadap efektifitas pupuk hayati. Bahan pembawa yang kurang tepat akan menurunkan efektifitas pupuk hayati. Bahan pembawa yang baik adalah bahan pembawa yang mampu mempertahankan kelangsungan hidup mikroba selama penyimpanan (Herrmann dan Lesueur, 2013; Jayadi, 2013). Bahan pembawa yang baik untuk digunakan memiliki beberapa karakteristik yaitu kapasitas menahan air yang tinggi, kapasitas penyangga pH yang baik, pH yang mudah disesuaikan, mudah disterilkan, bebas dari bahan beracun, dapat terurai secara hayati, berkelanjutan secara ekonomi dan lingkungan (Bashan, 1998; Herridge, 2008; Malusá *et al.*, 2012).

Bahan pembawa yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan salah satunya adalah dedak padi. Dedak padi merupakan limbah hasil pertanian yang ketersediaannya cukup banyak dan mudah untuk didapatkan. Dedak padi juga memiliki harga yang relatif murah. Tujuan penelitian ini adalah mengkaji potensi dedak padi sebagai bahan pembawa untuk menjaga viabilitas dan kemampuan fungsi pelarut P selama masa penyimpanan. Fungsi pelarut difokuskan pada penelitian ini karena sampai saat ini kebutuhan hara P di Indonesia masih dipenuhi dengan mengimpor dari luar negeri. Efektivitas pemupukan P dengan pupuk sintetis juga masih rendah karena kondisi tanah di Indonesia umumnya memiliki pH tanah yang masam.

## METODE

Penelitian dilakukan dari bulan Maret-September 2022. Pengujian viabilitas mikroba pelarut P pada bahan pembawa dedak dilakukan di Laboratorium Analisis Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Warmadewa. Pengujian kemampuan mikroba pelarut P selama penyimpanan dilakukan Laboratorium Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana. Uji karakteristik dedak padi dilaksanakan di Laboratorium Analisis Pertanian Fakultas Pertanian, Universitas Warmadewa dan Laboratorium Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana.

### **Persiapan Bahan Pembawa Dedak Padi**

Dedak yang akan digunakan berasal dari tanaman padi dengan varietas Ciherang. Dedak yang akan digunakan dihaluskan dan dikeringkan terlebih dahulu. Pengukuran pH-H<sub>2</sub>O bahan pembawa dilakukan menggunakan pH-meter. Pengukuran kadar air dilakukan dengan pemanasan menggunakan oven suhu 105 °C selama 24 jam. Bahan pembawa kemudian dikemas dalam plastik tahan panas. Sterilisasi dilakukan menggunakan autoclave dengan suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi dilakukan sebanyak dua kali (Putri *et al.*, 2010). Bahan pembawa dedak yang akan digunakan juga dianalisis kadar abu, kadar serat kasar, kadar lemak, kadar protein, kadar karbohidrat, kandungan karbon (C), nitrogen, serta C dan N rasio.

### **Uji Viabilitas Mikrob Pelarut P pada Bahan Pembawa Dedak Padi**

Mikrob yang diuji viabilitasnya dalam bahan pembawa dedak adalah fungi pelarut P (FPF4) yang teridentifikasi *Aspergillus costaricensis* (*A. costaricensis*). Fungi yang akan digunakan diremajakan terlebih dahulu dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Fungi yang telah diremajakan kemudian ditumbuhkan dalam medium *Potato Dextrose Broth* (PDB). Populasi sel fungi yang digunakan 10<sup>6</sup> CFU/ml. Kadar air dalam bahan pembawa diatur menjadi 25%. Suspensi fungi yang digunakan sebanyak 12,5 ml yang diinokulasikan ke dalam bahan pembawa dengan berat 50 g. Penghitungan populasi mikrob untuk mengetahui viabilitasnya pada bahan pembawa dilakukan setiap tiga minggu selama 12 minggu. Penghitungan total populasi fungi dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan teknik *spread plate* sampai pengenceran 10<sup>-4</sup> pada media Pikovskaya dengan sumber P sukar larut AlPO<sub>4</sub>. Hal ini untuk mengetahui viabilitas fungi pada bahan pembawa dedak padi. Data yang didapatkan selama 12 minggu diolah menggunakan program excel, sehingga bisa didapatkan grafik viabilitas dari mikrob yang diuji (Sukmadewi *et al.*, 2020; Sukmadewi *et al.*, 2021).

### **Pengujian Kemampuan Mikrob Pelarut P yang Diinokulasikan pada Bahan Pembawa Dedak Selama Masa Penyimpanan**

Pengujian kemampuan fungi dalam melarutkan P menggunakan media cair Pikovskaya dan diulang sebanyak 3 kali setiap 3 minggu. Pengujian kemampuan melarutkan P pada media cair dilakukan dengan menginokulasikan fungi ke dalam media Pikovskaya cair dengan sumber AlPO<sub>4</sub> dan pada media PDA. Perlakuan dalam media Pikovskaya cair sebanyak 40 ml yang diinokulasi dengan fungi pelarut P dengan konsentrasi atau populasi 10<sup>6</sup> CFU/ diinkubasi selama 144 jam. Sampel yang telah diinkubasi selama 144 jam kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit. Supernatan yang didapatkan kemudian dipipet sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan larutan pereaksi PB (asam borat 0,5%; amonium molibdat 0,38%; HCl 7,5%) kemudian ditambahkan 5 tetes larutan pereduksi. Larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS 1280 Shimadzu dengan panjang gelombang 660 nm. Data yang didapatkan diolah menggunakan program excel, sehingga bisa didapatkan grafik kemampuan mikrob dalam melarutkan P setiap 3 minggu selama 12 minggu.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Potensi Dedak Padi sebagai Bahan Pembawa untuk Menjaga Viabilitas Fungi Pelarut P Selama Masa Penyimpanan**

Berdasarkan pengukuran karakteristik dedak padi yang didapatkan dari padi varietas Ciherang pada Tabel 1. menunjukkan dedak padi memiliki kadar air sebesar 9,1%, kadar abu 15,76%, kadar serat kasar 13,69%, kadar lemak 4,54%, kadar protein 8,29%, kadar karbohidrat 48,62%, kandungan karbon

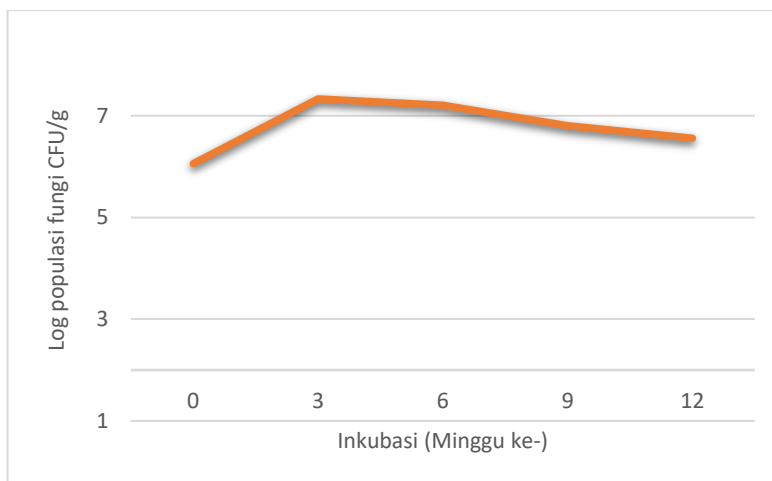
organik (C) 36,85%, Nitrogen (N) 1,82 %, C/N 20,21. Umumnya, dedak padi mengandung 15-20% lipid, 12-16% protein, 7-11% serat kasar, 34-52% karbohidrat dan 7-10% abu (Yunardi *et al.*, 2019). Apabila hasil yang didapatkan dibandingkan dengan penelitian Yunardi *et al.*, 2019, tersebut menunjukkan kadar lipid dan protein yang didapatkan pada dedak padi yang digunakan pada penelitian ini lebih rendah. Kadar serat kasar, kadar abu serta kadar karbohidrat menunjukkan hasil yang lebih tinggi, dibandingkan kandungan dedak padi pada umumnya. Kandungan C dan N pada dedak padi ini tergolong sangat tinggi.

Pertumbuhan fungi pelarut P yang diinokulasikan pada bahan pembawa dedak padi selama 12 minggu disajikan pada Gambar 1. Waktu inkubasi ke-0 merupakan populasi awal fungi pada media *Potato Dextrose Broth* (PDB) yang akan diinokulasikan pada bahan pembawa dedak padi. Populasi awal pada minggu ke-0 adalah log 6,05 ( $1,14 \times 10^8$  CFU/g). Populasi ini naik setelah diinkubasi pada bahan pembawa di minggu ke-3 menjadi log 7,3 ( $2,14 \times 10^7$  CFU/g). Populasi fungi dari minggu ke-3 menuju minggu ke-6 log 7,2 ( $1,61 \times 10^7$  CFU/g) terlihat cenderung stabil. Viabilitas populasi fungi menunjukkan tren yang menurun dari minggu ke-6 menuju minggu ke-12.

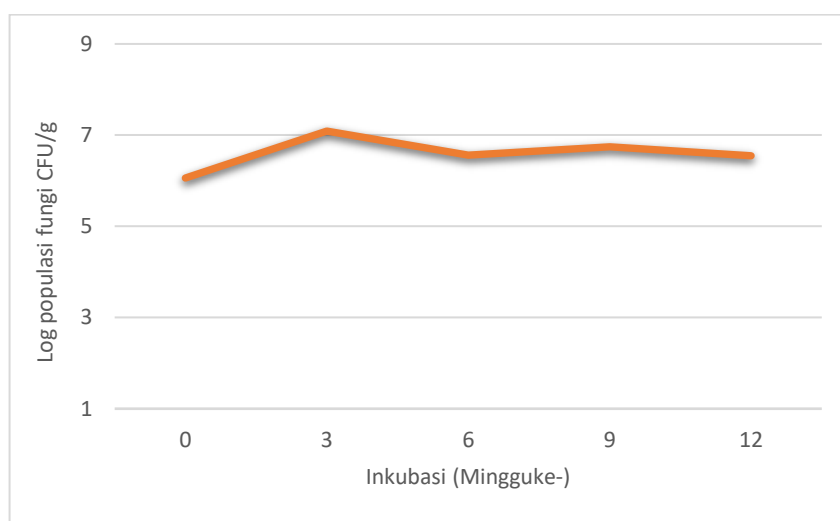
Hasil TPC fungi pada media Pikovskaya menunjukkan pada minggu ke-0 (log 6,05) menuju minggu ke-3 (log 7,3) populasi fungi meningkat, sedangkan pada minggu ke-3 (log 7,08) menuju minggu ke-6 (log 6,56 CFU/g) terjadi penurunan populasi (Gambar 2.) Populasi fungi terlihat cenderung stabil yaitu pada minggu ke-6 (log 6,56) sampai dengan minggu ke-12 (log 6,54). Perbedaan tren populasi fungi saat TPC pada media PDA dibandingkan pada media Pikovskaya diduga disebabkan karena media PDA mengandung nutrisi yang lebih tinggi, sehingga populasi fungi yang lebih tinggi akan tetapi tren populasinya cenderung menurun dari minggu ke-6 (log 7,2) sampai ke-12 (log 6,5). Pada media Pikovskaya yang mengandung sumber P sukar larut menunjukkan populasi fungi terlihat lebih rendah akan tetapi tren populasinya cenderung lebih stabil pada minggu ke-6 (log 5,56) sampai dengan minggu ke-12 (log 5,54). Perhitungan di lakukan di dua media PDA dan Pikovskaya. Hal ini untuk memastikan kestabilan populasi dan kemampuan fungi pelarut P selama masa penyimpanan.

Tabel 1. Karakteristik dedak padi

No	Karakteristik	Hasil
1	Kadar air	9,1 %
2	Kadar abu	15,76 %
3	Kadar serat kasar	13,69 %
4	Kadar lemak	4,54 %
5	Kadar protein	8,29 %
6	Kadar karbohidrat	48,62 %
7	Karbon (C)	36,85 %
8	Nitrogen (N)	1,82%
9	C/N	20,21



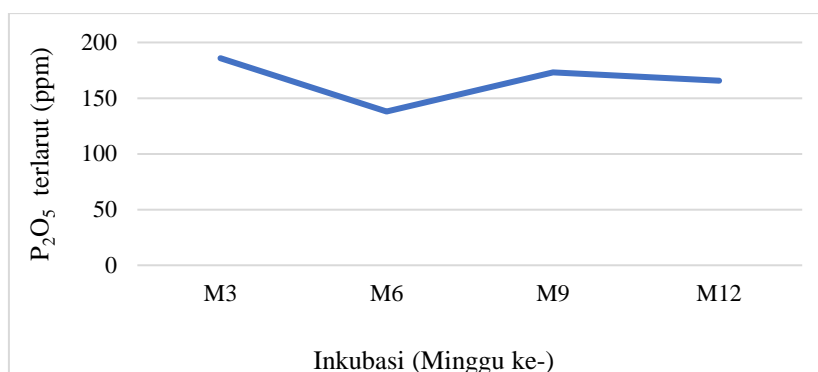
Gambar 1. Populasi fungi pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA)



Gambar 2. Populasi fungi pada media *Pikovskaya*

### Kemampuan Fungi Pelarut P yang Diinokulasikan pada Bahan Pembawa Dedak selama Masa Penyimpanan

Kemampuan fungi pelarut P yang diinokulasi pada bahan pembawa dedak padi selama masa penyimpanan diuji kemampuannya dalam melarutkan P setiap 3 minggu selama 12 minggu (Gambar 3). Kemampuan melarutkan P diuji pada media *Pikovskaya* dengan sumber P dari aluminium fosfat ( $AlPO_4$ ). Pengujian kemampuan fungi dalam melarutkan P dilakukan untuk mengetahui kestabilan kemampuan fungi selama masa penyimpanan. Berdasarkan hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa kemampuan fungi dalam melarutkan P mengalami penurunan dari minggu ke-3 (192,013 ppm) menuju minggu ke-6 (123,247 ppm). Hal ini diduga pada minggu awal terjadi proses penyesuaian fungi dalam bahan pembawa, sehingga kemampuannya dalam melarutkan P cenderung menurun. Pada minggu ke-6 menuju minggu ke-9 (173,043 ppm) kemampuan fungi meningkat kembali mendekati kemampuan awal (kemampuan minggu ke-3) dalam melarutkan P dan cenderung stabil pada minggu ke-12 (165,692).



Gambar 3. Kemampuan fungi dalam melarutkan P selama masa penyimpanan

## Pembahasan

Berdasarkan hasil yang didapatkan sampai dengan penghitungan populasi pada minggu ke-12 menunjukkan populasi fungi pada tahap awal cenderung mengalami peningkatan dari populasi awal yang diinokulasikan. Hal ini diduga disebabkan karena kadar karbohidrat, kadar serat kasar, kadar abu serta kandungan C dan N yang tinggi menyebabkan fungi mengalami siklus pertumbuhannya yang meningkat pada fase awal. Kandungan nutrisi dedak padi (Tabel 1) mampu menstimulasi pertumbuhan miselium dan sporulasi cendawan agen hayati (Panjaitan *et al.*, 2019). Bahan pembawa yang baik adalah bahan pembawa yang mampu mempertahankan populasi mikroba tetap stabil, tidak mengalami fase pertumbuhan seperti saat mikroba ditumbuhkan pada media yang memiliki nutrisi tinggi.

Bahan pembawa dalam pupuk hayati berpengaruh terhadap kualitas dan masa simpan pupuk karena berfungsi sebagai lingkungan mikro untuk mikroorganisme (Phiromtan *et al.*, 2013). Jenis pembawa mempengaruhi populasi rhizobia yang berkembang dan bertahan hidup selama proses inkubasi (Deaker *et al.*, 2012). Kelangsungan hidup mikroorganisme dipengaruhi oleh kondisi sel awal, terutama kelembaban, umur, kemurnian dan strain yang digunakan (Deaker *et al.*, 2004). Penggabungan mikroorganisme dalam bahan pembawa memungkinkan penanganan yang mudah, penyimpanan jangka panjang dan efektivitas pupuk hayati yang tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan mikroba yang memiliki sifat menguntungkan akan lebih menjanjikan sebagai kandidat sebagai pupuk hayati bila digunakan dengan bahan pembawa (Mukhtar *et al.*, 2017).

Karakteristik dari media pembawa yang bagus untuk pupuk hayati antara lain, tidak bersifat racun pada strain mikroba maupun tanaman, memiliki daya kemampuan penyerapan yang bagus, mudah untuk diproses, mudah dalam proses sterilisasi menggunakan autoklaf atau radiasi gamma, murah, bahan yang digunakan tersedia dalam jumlah yang memadai, dan mempunyai kemampuan sebagai media penyangga pH (Maftuah, 2020).

Bahan pembawa akan sangat mempengaruhi kemampuan fungi dalam menjaga kestabilan kemampuan dalam masa penyimpanan. Bahan pembawa dedak padi yang digunakan menunjukkan pada awal inkubasi atau masa awal penyimpanan (minggu ke-3 sampai dengan minggu ke-6) kemampuan fungi mengalami penurunan. Kemampuan fungi kembali meningkat pada minggu ke-9 menuju minggu ke -12. Perbedaan yang terjadi dalam melarutkan P selama masa penyimpanan diduga dipengaruhi oleh kemampuan fungi dalam menghasilkan asam-asam organik dalam periode waktu penyimpanan tersebut. Perbedaan terkait jumlah dan jenis asam organik yang dihasilkan akan mempengaruhi kemampuan fungi tersebut dalam melarutkan P. Setiap asam organik memiliki tingkat kemampuan berbeda dalam meningkatkan kelarutan sumber P sukar larut pada sumber P yang berbeda seperti  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{AlPO}_4$ , (Sharma *et al.*, 2013). Fungi tanah mampu menghasilkan dan mengeluarkan lebih banyak asam organik seperti glukonat, sitrat, laktat, 2-ketoglukonat, oksalat, tartarat, dan asam asetat dibandingkan bakteri (Sharma *et al.*, 2013).



Dua mekanisme utama dalam proses pelarutan P yaitu melalui penurunan pH dan melalui pengkkelatan kation-kation yang mengikat P (Whitelaw 2000; Khan *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2013). Pada penelitian ini diduga proses pelarut P terjadi karena fungi *A. costaricaensis* yang digunakan menghasilkan asam organik yang dapat menurunkan pH. Pelarutan P melalui penurunan pH terjadi pertukaran ion H<sup>+</sup> dengan ion pengikat P seperti Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, dan Al<sup>3+</sup> sehingga P terlepas dan menjadi tersedia bagi tanaman. Pada proses pelarutan P, melalui mekanisme pengkkelatan kation mekanisme yang terjadi yaitu gugus karboksil dapat membentuk kompleks dengan kation-kation pengikat P seperti Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, dan Al<sup>3+</sup> sehingga P terlepas dan menjadi tersedia bagi tanaman (Rodriguez dan Fraga, 1999; Whitelaw, 2000; Sharma *et al.*, 2013). Mekanisme lain dari pelarutan mineral fosfat oleh mikroorganisme adalah produksi asam anorganik (sulfat, nitrat, dan karbonat) asam) dan sekresi agen pengkelat. Efektivitas asam anorganik dan agen chelating dalam pelepasan fosfor ke dalam tanah lebih rendah daripada organik asam (Zhu *et al.*, 2011). Mekanisme lain dari pelarutan fosfat mikroba dilaporkan sekresi enzim (Kim *et al.*, 1997).

## SIMPULAN

Dedak padi memiliki potensi untuk menjaga viabilitas dan kemampuan dari fungi pelarut P. Bahan pembawa dedak padi mampu menjaga viabilitas fungi pelarut sampai minggu ke-12 dengan jumlah populasi akhir fungi pada media PDA sebesar log 6,55 (3,6 x 10<sup>6</sup> CFU/g) dan populasi fungi pada media Pikovskaya sebesar log 6,54 (3,53 x 10<sup>6</sup> CFU/g). Kemampuan fungi dalam melarutkan P cenderung fluktuatif pada minggu ke-3 (192,01 ppm) sampai dengan minggu ke-6 (123,247 ppm) dan cenderung stabil pada minggu ke-9 (173,04 ppm) sampai dengan minggu ke-12 (165,69 ppm).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Pusat Penelitian, Universitas Warmadewa yang telah mendanai penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anas, I. (2016). Pentingnya Bioteknologi Tanah dalam Mencapai Sistem Pertanian yang Berkelanjutan (*The Role of Soil Biotechnology in Achieving Sustainable Agriculture System*). Bogor. Institut Pertanian Bogor
- Bashan, Y. (1998). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnol.Adv.*, 16(4):729–770. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(98\)00003-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(98)00003-2)
- Deaker, R., E. Hartley., Gemell, G. (2012). Conditions affecting shelf-life of inoculated legume seed. *Agriculture.*, 2(1):38–51. <https://doi.org/10.3390/agriculture2010038>
- Deaker, R., R.J. Roughley, I.R. Kennedy. (2004). Legume seed inoculation technology - A review. *Soil Biol. Biochem.*, 36(8): 1275–1288. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.04.009>.
- Ginting, R.C.B., R. Saraswati, E. Husen. (2006). Mikroorganisme Pelarut Fosfat . In R.D.M. Simanungkalit, D. A. Suriadikarta, R. Saraswati, D. Setyorini, W. Hartatik (Eds.), *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati Organik* (pertama, pp. 141–158). Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian.
- Herridge. (2008). Nitrogen Fixation: Origins, Applications, and Research Progress. In M. J. Dilworth, E. K. James, J.I. Sprent, William E. Newton (Eds.), *Nitrogen-fixing Leguminous Symbioses*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3548-7>
- Herrmann, L., D. Lesueur. (2013). Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. *Applied Microbiology and Biotechnology.*, 97(20): 8859–8873. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5228-8>.
- Jayadi, M. (2013). In Vitro Selection of Rock Phosphate Solubility by Microorganism from Ultisols in South Sulawesi, Indonesia. *Am.j.agric.for.*, 1(4):68-73. <https://doi.org/10.11648/j.ajaf.20130104.14>.

- Khan, M.S., A. Zaidi, P.A. Wani. (2009). Role of Phosphate Solubilizing Microorganisms in Sustainable Agriculture, in: Lichtfouse *et al.* (eds). Sustainable Agriculture. Media, New York: Springer Science Business. p 551-570.
- Kim, K.Y., G.A. McDonald, D. Jordan. (1997). Solubilization of hydroxyapatite by *Enterobacter agglomerans* and cloned *Escherichia coli* in culture medium. *Biol. Fertil. Soils.*, 24: 347–352.
- Maftuah, E. M.M. Saleh, E. Pratiwi. (2020). The potentials of biochar from agricultural waste as a carrier material of biofertilizer for swamplands. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering.*, 980(1):1-8. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/980/1/012064>.
- Malusá, E., L. Sas-Paszt, J. Ciesielska. (2012). Technologies for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. *The Scientific World Journal.*, 1–12. <https://doi.org/10.1100/2012/491206>.
- Mukhtar, S., I. Shahid, S. Mehnaz, K.A. Malik. (2017). Assessment of two carrier materials for phosphate solubilizing biofertilizers and their effect on growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Microbiol Res.*, 205:107–117. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.011>
- Panjaitan, F.J., S. Wiyono, R. Widyastuti. (2019). Seleksi Komposisi Medium Pertumbuhan dan Bahan Pembawa untuk Formulasi Cendawan Agens Hayati *Fusarium oxysporum* Non-Patogenik P21a. *Jurnal Fitopatologi Indonesia.*, 15(2):44–52. <https://doi.org/10.14692/jfi.15.2.44-52>.
- Phiromtan, M., T. Mala, P. Srinives. (2013). Effect of various carriers and storage temperatures on survival of *Azotobacter vinelandii* NDD-CK-1 in powder inoculant. *Mod. Appl. Sci.*, 7(6):81–89. <https://doi.org/10.5539/mas.v7n6p81>
- Putri, S.M., I. Anas, F. Hazra, A. Citraresmini. (2010). Viabilitas Inokulan dalam Bahan Pembawa Gambut, Kompos, Arang Batok dan Zeolit yang Disteril dengan Iradiasi Sinar Gamma Co-60 Dan Mesin Berkas Elektron. *JITL.*, 12(1): 23-30. <https://doi.org/10.29244/jitl.12.1.23-30>.
- Rodríguez, H., R. Fraga. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol Adv.*, 17:319–339. doi: 10.1016/s0734-9750(99)00014-2.
- Sharma, S.B., R.Z. Sayyed, M.H. Trivedi, T.A. Gobi. (2013). Phosphate solubilizing microbe: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus.*, 2 (587): 1-14. doi: 10.1186/2193-1801-2-587.
- Stephens, J.H.G., H.M. Rask. (2000). Inoculant production and formulation. *Field Crops Res.*, 65(2–3):249–258. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00090-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00090-8).
- Sukmadewi, D.K.T., I. Anas, R. Widyastuti, S. Anwar. (2020). The Viability of Phosphorus and Potassium Solubilizer Multifunctional Microbes in Peat and Rice Husk Charcoal Carrier Materials that Sterilization Using Gamma Irradiation. *International Conference on Nuclear Science, Technology, and Application (ICONSTA).*, 1: 19–24.
- Sukmadewi D.K.T., I. Anas, R. Widyastuti, S. Anwar, A. Citraresmini. (2021). The effectiveness of application of phosphorous and potassium solubilizing multifunctional microbes (*Aspergillus costaricensis* and *Staphylococcus pasteurii* mutants) on maize growth. *J. Degrade. Min. Land Manage.*, 8(2):2681–2688. <https://doi.org/10.15243/jdmlm.2021.082.2681>.
- Xavier, I.J., G. Holloway, M. Leggett. (2004). Development of Rhizobial Inoculant Formulations. *Crop Management.*, 3(1):1–6. <https://doi.org/10.1094/cm-2004-0301-06-rv>.
- Whitelaw, M.A. (2000). Growth promotion of plant inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Adv Agron.*, 69:99-147. doi: 10.1016/s0065-2113(08).
- Yunardi, Y., H. Meilina, U. Fathanah, R. Mahadina, A. Rinaldi, J. Jauharlina. (2019). Potential of edible oil production from rice bran in Indonesia: A Review. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering.*, 845(1):1–6. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/845/1/012030>.
- Zhu, F., L. Qu, X. Hong, X. Sun. (2011). Isolation and Characterization of a Phosphate-Solubilizing Halophilic Bacterium *Kushneriasp.* YCWA18 from Daqiao Saltern on the Coast of Yellow Sea of China. *Evid. Based Complementary Altern.*, 2011:1-6. DOI: 10.1155/2011/615032.