

## Media Produksi Massal Pupuk Hayati Penambat N *Azotobacter sp.* dari Rizosfer di Indonesia

### *Mass Production Media of Biofertilizer N Fixer Azotobacter sp. from Rhizosphere in Indonesia*

Nicky O. Fauziah<sup>1,\*</sup>, Nida N. Rusdiono<sup>2</sup>, Tualar Simarmata<sup>2</sup>, Betty N. Fitriatin<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup> Mahasiswa Magister Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung Sumedang km. 21, Jatinangor, Kabupaten Sumedang 45363, Indonesia

<sup>2</sup> Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung Sumedang KM.21, Jatinangor, Kabupaten Sumedang 45363, Indonesia

\*E-mail Penulis korespondensi: nicky14002@mail.unpad.ac.id

#### ABSTRACT

*Mass production media of biofertilizer must be able to maintain the shelf-life in accordance with provisions of the Regulation of the Minister of Agriculture Number 01 of 2019 concerning Organic Fertilizer, Biofertilizer, and Ameliorant. This paper review aims to provide an overview of the media of mass production Azotobacter biofertilizer in Indonesia. Azotobacter biofertilizer in the form of a single liquid or solid fertilizer must have a minimum population of  $1 \times 10^8$  CFU/g. Isolation of the nitrogen fixer microbe Azotobacter can be carried out through one or more agroecosystems, after that grown at selective media, pick the carrier either liquid or solid carrier and additive that can increase microbial viability. Liquid carriers have more advantages over solid carriers. Before commercializing, it is necessary to check the quality of the biofertilizer referring to applicable regulations.*

**Keywords:** *Azotobacter*; mass production; media; nitrogen fixer

#### ABSTRAK

Media produksi massal pupuk hayati harus dapat mempertahankan daya simpan pupuk hayati sesuai dengan ketentuan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 01 Tahun 2019 tentang Pendaftaran Pupuk Organik, Pupuk Hayati dan Pembenah Tanah. Penulisan artikel ini bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai media produksi massal pupuk hayati *Azotobacter* di Indonesia. Pupuk hayati *Azotobacter* dalam bentuk pupuk tunggal cair maupun padat harus memiliki populasi minimal  $10^8$  CFU/g. Isolasi mikroba penambat N *Azotobacter* dapat dilakukan dengan metode *plate count* atau metode gores yang diambil dari rizosfer dalam satu agroekosistem atau lebih, kemudian ditumbuhkan pada media selektif, setelah itu dilakukan pemilihan bahan pembawa baik cair maupun padat dan zat aditif yang dapat meningkatkan viabilitas mikroba. Bahan pembawa cair memiliki lebih banyak keunggulan dibandingkan bahan pembawa padat. Sebelum pemasaran dilakukan perlu pengujian kualitas pupuk hayati sesuai dengan peraturan yang berlaku.

**Kata kunci:** *Azotobacter*; media; penambat nitrogen; produksi massal

#### PENDAHULUAN

Pupuk hayati atau *biofertilizer* merupakan bahan yang mengandung mikroba hidup, baik itu bakteri, fungi, actinomycetes, algae, yang jika diberikan kepada benih atau permukaan akar tanaman akan memacu pertumbuhan tanaman (Vessey, 2003; Gunawan, 2010). Penggunaan pupuk hayati diharapkan dapat mensubstitusi pupuk anorganik, sehingga penggunaan pupuk anorganik dapat dikurangi (Husnaeni dan Setiawati 2018). Penggunaan 50% pupuk anorganik + pupuk hayati konsorsium *Azotobacter sp.*, *Azospirillum sp.*, bakteri endofitik dan mikroba pelarut fosfat dapat meningkatkan hasil tanaman pakcoy secara signifikan (Husnaeni dan Setiawati, 2018). Penggunaan mikroba penambat N dapat menyuplai kebutuhan pupuk N tanaman hingga 75%, sedangkan mikroba (bakteri dan jamur) pelarut P dapat meningkatkan ketersediaan P hingga 50% (Simarmata *et al.*, 2011). Pentingnya peranan pupuk hayati untuk tanah dan tanaman menjadikan prospek pengembangan pupuk hayati menjadi sangat besar dengan estimasi kebutuhan pupuk hayati per-tahun sebesar 33.700-52.900 t/tahun (Simarmata *et al.*, 2011).

Salah satu mikroba yang dapat digunakan untuk pupuk hayati adalah *Azotobacter*. Bakteri ini merupakan kelompok bakteri yang mampu menambat N dan produksi fitohormon dengan memiliki ciri pleomorfik, permukaan cembung mucoid, berwarna bening kecoklatan dan tepian rata (Setiawati *et al.*, 2014). *Azotobacter* merupakan bakteri heterotrof yang memerlukan bahan organik sebagai sumber karbon dan energi (Hindersah *et al.*, 2018). Terdapat beberapa kendala dalam pengembangan *Azotobacter*, diantaranya adalah pengetahuan tentang pupuk hayati yang masih rendah, keefektifan yang tidak langsung terlihat, serta ketersediaan pupuk hayati yang masih terbatas (Simarmata *et al.*, 2011). Untuk menangani permasalahan tersebut, perlu dilakukan edukasi dengan memberikan pengetahuan cara

produksi masal pupuk hayati dengan media terbaik yang dapat menjaga viabilitas *Azotobacter* dalam jangka waktu tertentu.

Produksi massal pupuk hayati di Indonesia mengaju kepada Peraturan Menteri Pertanian Nomor 01 Tahun 2019 tentang Pendaftaran Pupuk Organik, Pupuk Hayati dan Pembenh Tanah. Saat ini, berbagai jenis pupuk hayati telah beredar di pasaran, baik yang dikomersialkan oleh perusahaan maupun oleh institusi Pendidikan. Pupuk hayati yang ditawarkan pun beragam manfaatnya seperti mengandung mikroba penambat N, pelarut fosfat, pengendali patogen dan lingkungan ekstrim, penghasil fitohormon dan sebagainya (Husen, 2011). Bagi produsen pupuk, sangat penting untuk mengetahui langkah-langkah yang perlu dilalui untuk memproduksi pupuk hayati, terutama media yang digunakan untuk menjaga viabilitas mikroba didalamnya. Media yang digunakan dapat berupa media cair maupun padat.

Penulisan artikel bertujuan untuk memberikan gambaran cara isolasi mikroba pemfiksasi N; peningkatan kualitas menggunakan zat aditif, rekayasa genetika; serta pemilihan bahan pembawa untuk produksi massal *Azotobacter sp.*

## METODE PENULISAN

Metode penulisan yang digunakan pada artikel ini yaitu studi literatur menggunakan data sekunder. Artikel ini memuat pernyataan berdasarkan teori dan penelitian sebelumnya. Penelusuran pustaka pada penulisan artikel ini dilakukan dengan pencarian berbagai literatur mengenai produksi massal *Azotobacter sp* dari 10 tahun terakhir dengan menggunakan berbagai kategori: ilmu tanah, pertanian, mikrobiologi, dan biosains. Mesin pencari yang digunakan untuk mencari literatur terkait adalah google.com dan scholar.google.com.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Mikroba Bakteri Pemfiksasi N

Isolasi mikroba dapat diawali dengan pengambilan sampel dari rhizosfer. Pengambilan sampel dapat diambil dari satu agroekosistem atau lebih. Mazinani *et al.* (2013) melakukan pengambilan sampel dari area yang berbeda dengan kedalaman 10-15 cm. Danapriatna (2016) mengambil sampel tanah untuk isolasi *Azotobacter sp* secara komposit dari lima titik rizosfer pada agroekosistem tanaman padi. Setelah itu, sampel tanah dikompositkan dan di kering anginkan selama 4 jam (Kasa, 2015).

Isolasi *Azotobacter* dilakukan dengan memilih media selektif yang dapat menjadi tempat hidup mikroba tersebut. Metode isolasi dapat dilakukan dengan metode plate count atau metode gore pada media agar Ashby. Sebelum dimasukkan ke dalam media selektif, setiap sampel tanah yang telah dikompositkan tadi diambil 10 g kemudian ditambahkan ke dalam 200 ml air suling steril, di kocok selama satu jam kemudian diencerkan serial  $10^{-8}$  untuk isolasi koloni (Patel *et al.*, 2013). Selain cara tersebut, Ponnurungan *et al.* (2012) mengisolasi inokulan awal dengan media nitrogen Free Jensen yang mengandung 20 g L<sup>-1</sup> sukrosa, 1 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,5 MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,5 NaCl, 0,1 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,005 Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, pH 6,9 kemudian di inkubasi selama satu minggu.

Setelah itu, larutan sampel tanah yang telah di encerkan kemudian dimasukkan ke dalam media selektif. Subba-Rao (1982) melakukan isolasi dengan menggunakan media selektif Ashby cair. Media Ashby bebas N ini dapat juga digunakan sebagai media untuk biakan murni pada agar miring dengan komposisi manitol 20 g L<sup>-1</sup>; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2 g L<sup>-1</sup>; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,2 g L<sup>-1</sup>; NaCl 0,2 g L<sup>-1</sup>; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 g L<sup>-1</sup>; CaCO<sub>3</sub> 15 g L<sup>-1</sup> (Hindersah dan Pratiwi, 2021). Penggunaan media Ashby ini memungkinkan *Azotobacter* untuk hidup namun tidak dengan mikroba lainnya. Selain media Ashby, metode pengayaan dengan menambahkan N dari NH<sub>4</sub>Cl dapat meningkatkan larutan molase, tujuannya untuk mendukung EPS *Azotobacter sp* dapat dilakukan saat isolasi. Penambahan NH<sub>4</sub>Cl ke dalam 1% molase dapat meningkatkan kadar EPS sampai 24% (Hindersah *et al.*, 2017).

*Azotobacter* akan tumbuh pada media tersebut dengan membentuk koloni. Karakterisasi morfologi dari isolate *Azotobacter* yang tumbuh dilakukan berdasarkan bentuk, ukuran, warna, pewarnaan gram, dan produksi pigmen (Jain *et al.*, 2021). Karakterisasi isolat *Azotobacter* dapat dilakukan juga berdasarkan karakteristik morfologis dan biokimia (indole, metil merah, voges proskauer, sitrat, katalase, glukosa, laktosa, manitol, sukrosa, reduksi nitrat, pati hidrolisis) menggunakan metode standar (Ponnurungan *et al.*, 2012).

### Pemilihan Bahan Pembawa (*Carrier*) dan Zat Aditif

Bahan pembawa atau carier merupakan bahan penting yang perlu untuk dipertimbangkan untuk memproduksi *Azotobacter* secara massal. Beberapa bahan pembawa yang digunakan harus dapat meningkatkan viabilitas atau kelangsungan hidup mikroba yang hidup di dalamnya serta meningkatkan aktivitas biologi inokulan dengan melindungi bakteri dari stress baik biotik maupun abiotik (Abd El-Fattah *et al.*, 2013). Carrier (bahan pembawa) atau penambahannya setelah pertumbuhan bakteri dapat memperpanjang kelangsungan hidup sel selama masa penyimpanan (Pastor-Bueis *et al.*, 2017). Bahan pembawa atau *carrier* dapat dibagi menjadi dua, yaitu bahan pembawa cair dan padat. Pemilihan bahan pembawa didasarkan pada beberapa faktor, diantaranya faktor ekonomi dan viabilitas mikroba

yang hidup di dalamnya. Beberapa formulasi bahan pembawa atau carrier dan zat aditif untuk memproduksi *Azotobacter* dalam bentuk cair dan padat dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

**Tabel 1.** Bahan formulasi bahan cair untuk produksi pupuk hayati *Azotobacter*

| Formulasi Bahan   | Hasil   | Referensi                          |
|---|---|------------------------------------|
| Molase 1% + NH <sub>4</sub> Cl + sisteina 0,25% + serina 0,1%   | Pada media d (molase + sistenia 0,25% dan serina 0,1 %) setelah inkubasi selama 2 bulan, Populasi 10 <sup>8</sup> CFU/ml lebih tinggi dibandingkan media control dan lainnya, mampu meningkatkan EPS 2,6 kali lebih banyak.         | Hindersah <i>et al.</i> (2021b)    |
| Biakan Murni dengan Media <b>Jensen's Medium</b> : Mannitol 10, KCl 0,2, MgSO <sub>4</sub> 0,1, MnSO <sub>4</sub> Trace, FeSO <sub>4</sub> Trace, pH 7,2, Temp 30°C | Populasi awal 2×10 <sup>18</sup> , setelah 540 hari di simpan di laboratorium menjadi ×10 <sup>14</sup> , stagnan selama 4 minggu   | Choubey <i>et al.</i> (2018)       |
| <b>Alginate</b>   | Alginate merupakan carrier terbaik yang dapat digunakan untuk kelangsungan hidup <i>Azotobacter</i> namun bahan ini tergolong mahal, sehingga penggunaan tanah liat atau sekam padi dapat menjadi pilihan dari sudut pandang biaya. | Abd El-Fattah <i>et al.</i> (2013) |
| <b>IPB RI-2:</b> Molase dan air + 2% inokulan   | IPB RI-2 menghasilkan 10 kali lipat dibandingkan dengan <i>Nutrient Broth</i> .   | Gunawan <i>et al.</i> (2010)       |

Ketersediaan pupuk hayati cair komersial meningkat karena tidak membutuhkan bahan pembawa (Phua dan Khairuddin, 2010). Penggunaan inokulan cair dengan bahan pembawa memberikan hasil yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol (Maheswari, 2015). Inokulan *Azotobacter* cair dapat memicu pertumbuhan dan hasil tomat dengan memfiksasi nitrogen di dari atmosfer lebih tinggi jika dibandingkan dengan inokulan dengan bahan pembawa dan berbasis gel pada tanaman tomat (Kumaeasan *et al.*, 2019). Selain itu, penggunaan pupuk formulasi cair dapat meningkatkan umur simpan hingga 2 tahun, tingkat kontaminasi minimum, tanpa bahan pembawa, mudah dibawa dan digunakan, kendali mutu cenderung mudah, dan potensi ekspor meningkat karena disukai produsen dan komunitas petani (Krishnaprabu, 2020).

**Tabel 2.** Bahan pembawa atau carrier padat untuk produksi pupuk hayati *Azotobacter*

| Formulasi Carrier   | Hasil   | Referensi                        |
|---|---|----------------------------------|
| <b>Zeolit</b>   | 1% zeolite + 10% inokulan cair da 5% zeolite + 5% inokulan cair dapat meningkatkan populasi <i>Azotobacter</i> sampai 10 <sup>10</sup> sampai 10 <sup>12</sup> CFU/ml, melebihi standar populasi untuk pupuk hayati padat, namun secara statistik tidak menunjukkan hasil yang signifikan | Hindersah <i>et al.</i> (2021a)  |
| Kompos 15-25 t/ha   | Dosis kompos tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman cabai   | Toago <i>et al.</i> (2017)       |
| Kompos <i>Azolla pinnata</i>  | Bahan pembawa kompos <i>Azolla pinata</i> meningkatkan kandungan N-total dan P-total pupuk hayati padat selama masa inkubasi 2 bulan  | Setiawati <i>et al.</i> (2017)   |
| Gambut dan kompos   | Gambut dan kompos +0,5% nutrisi + 35% kultur <i>Azotobacter</i> dan Formulasi C + 1% nutrisi + 30% kultur <i>Azotobacter</i> memberikan hasil terbaik dengan viabilitas tertinggi sampai umur pupuk 42 minggu   | Danapriatna dan Simarmata (2011) |
| <b>IPB RI-1:</b> Pupuk Urea, pupuk SP-36, limbah ikan teri, terasi, dedak, MSG, gula merah, air mineral + 2% inokulan | Media IPB RI-1 menghasilkan populasi <i>Azotobacter</i> 100 kali lipat dibandingkan dengan <i>Nutrient Broth</i> .  | Gunawan <i>et al.</i> (2010)     |
| <b>Zeolit</b>   | Bahan pembawa zeolite dengan metode sterilisasi Sinar Gamma Co-60 memberikan hasil terbaik bagi viabilitas inokulan <i>Azotobacter</i> hingga masa penyimpanan 70 hari.   | Putri <i>et al.</i> (2010)       |

Penggunaan media pembawa padat dapat lebih menguntungkan secara ekonomis, sehingga dapat menjadi alternatif dalam produksi pupuk hayati. Selain pemilihan bahan pembawa atau carrier, viabilitas mikroba akan terjaga apabila ditambahkan zat aditif. Penggunaan zat aditif dapat menurunkan biaya yang dibutuhkan untuk produksi pupuk hayati, berperan sebagai *bulking agent*, atau secara langsung meningkatkan tingkat hidup mikroba selama penyimpanan dan setelah digunakan ke dalam tanaman (Vassilev *et al.*, 2021). Beberapa zat aditif yang biasa digunakan untuk pupuk hayati cair adalah pero-dexin, gum Arabic, Carrageenan, air kelapa, glycerol, polyvinylpyrrolidone, laktosa, sedangkan untuk pupuk hayati padat yaitu alginate, perlite, paraffin, ammonium molybdate, biochar, polyvinyl alcohol dan gliserol (Lobo *et al.*, 2019).

Zat aditif yang dapat digunakan untuk *Azotobacter* dalam bentuk cair disebutkan dalam beberapa penelitian. Penggunaan poly vinyl pyrrolidone (PVP) dengan konsentrasi 4% dapat meningkatkan viabilitas *Azotobacter* menjadi 5,48 x 10<sup>11</sup> jika dibandingkan dengan zat aditif lain seperti gum arabica dan sodium alginate (Mounika *et al.*, 2018). Penelitian Hindersah *et al.* (2021b) menunjukkan bahwa penggunaan molase beserta sistenia dan serina dapat

menggantikan penggunaan media anorganik. Molase berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber karbon untuk sumber energi *Azotobacter* (Devianto *et al.*, 2020).

Berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia No 261/KPTS/SR.310/M/4/2019 tentang Persyaratan Teknis Minimal (PTM) Pupuk Organik, Pupuk Hayati dan Pembenh Tanah, terdapat beberapa ketentuan untuk berbagai formulasi pupuk hayati, baik itu pupuk hayati tunggal maupun majemuk. *Azotobacter* termasuk dalam kategori bakteri, sehingga populasi minimal untuk pupuk hayati tunggal padat adalah  $\geq 1 \times 10^8$  CFU/g bobot kering contoh dan  $\geq 1 \times 10^8$  CFU/ml untuk pupuk hayati tunggal cair (Indonesia, 2019).

Standar kualitas yang ditetapkan oleh Kementerian Pertanian perlu dipertahankan dalam jangka waktu tertentu. Baku mutu pupuk hayati yang perlu diperhatikan oleh produsen pupuk adalah jumlah populasi, keefektifan bahan pembawa, dan masa kadaluarsa (Simanungkalit *et al.*, 2006). Sistem kendali mutu pupuk hayati pra-komersialisasi dijelaskan oleh Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian yang dimulai dari sampling pupuk untuk uji laboratorium dan efektivitas serta penetapan masa kadaluarsa pupuk (Husen, 2011).

Pengujian kualitas pupuk hayati dapat dilakukan pada lembaga uji mutu dan uji efektivitas yang telah ditetapkan pada Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia No 262/KPS/SR.301/M/4/2019 tentang Lembaga Uji Mutu dan Uji Efektivitas Pupuk Organik, Pupuk Hayati dan Pembenh Tanah (Pe. Husen (2011) menjelaskan bahwa pupuk hayati akan diambil 12-15 sampel secara acak, kemudian 5 kemasan ditempatkan dalam ruangan, 5 kemasan di tempat terbuka untuk di uji daya simpan pada 0-12 bulan, kemudian sisanya digunakan untuk uji viabilitas, uji karakter fungsional, uji patogenisitas dan higienisitas pupuk hayati. Hasil uji tersebut adalah keluarnya masa kadaluarsa dan kesesuaian uji efikasi dan lab.

## KESIMPULAN

*Azotobacter* sebagai mikroba penambat N yang dapat digunakan sebagai pupuk hayati memerlukan beberapa tahapan untuk dapat di produksi secara massal. Produsen pupuk hayati perlu mengacu pada Peraturan Menteri Pertanian Nomor 01 Tahun 2019 tentang Pendaftaran Pupuk Organik, Pupuk Hayati dan Pembenh Tanah. Pengambilan sampel *Azotobacter* dapat dilakukan dari beberapa agroekosistem atau dari satu agroekosistem untuk dibuat biakan murni dengan media selektif seperti Ashby dan metode pengayaan, kemudian dilakukan pemilihan media pembawa baik itu cair maupun padat, namun yang lebih banyak digunakan dan dapat meningkatkan daya simpan pupuk hayati lebih lama adalah pupuk hayati formulasi cair. Setelah itu dilakukan pemilihan zat aditif yang dapat menjaga viabilitas mikroba yang hidup didalamnya. Sebelum dipasarkan, perlu dilakukan uji terlebih dahulu untuk mengetahui masa kadaluarsa dan hasil uji laboratorium dan lapangan sesuai dengan Keputusan Menteri Pertanian No 260 dan 261 tahun 2019.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Tualar Simarmata, MS. dan Ibu Dr. Ir. Reginawanti Hindersah, M.P yang telah membimbing dalam penyelesaian artikel review ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Fattah, D. A., Eweda, W. E., Zayed, M. S., & Hassanein, M. K. 2013. Effect of carrier materials, sterilization method, and storage temperature on survival and biological activities of *Azotobacter chroococcum* inoculant. *Annals of Agricultural Sciences* 58(2): 111-118. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aos.2013.07.001>.
- Anjali, P. Sharma, S. Nagpal. 2019. Effect of liquid and charcoal-based consortium biofertilizers amended with additives on growth and yield in chickpea (*Cicel arietinum* L.). *Legume Research* 44: 527-538. DOI: 10.18805/LR-4131.
- Anonim. 2019. *Persyaratan Teknis Minimal Pupuk Organik, Pupuk Hayati dan Pembenh Tanah*. Menteri Pertanian Republik Indonesia: Jakarta (ID).
- Choubey, G., Dhargave, T., & Joshi, Y. 2018. A pilot scale process for the production of high shelf life multi-functional liquid biofertilizers. *International Journal of Bio-Technology and Research* 8(5): 1-10. ISSN: 2249-796X.
- Danapriatna, N. N. 2016. Penjaringan *Azotobacter* sp dan *Azospirillum* sp dari ekosistem lahan sawah sebagai sumber isolat pupuk hayati penambat nitrogen. *Jurnal Agrotek Indonesia (Indonesian Journal of Agrotech)* 1(2): 115-122. <http://dx.doi.org/10.33661/jai.v1i2.342>.
- Devianto, L. A., Latunussa, C. E. L., Helmy, Q., & Kardena, E. 2020. Biosurfactants production using glucose and molasses as carbon sources by *Azotobacter vinelandii* and soil washing application in hydrocarbon-contaminated soil. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 475, No. 1, p. 012075). IOP Publishing. DOI: 10.1088/1755-1315/475/1/012075.
- Gunawan, R., Anas, I., & Hazra, F. 2010. Produksi massal inokulum *Azotobacter*, *Azospirillum* dan bakteri pelarut fosfat dengan menggunakan media alternatif. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*, 12(2): 33-39. <https://doi.org/10.29244/jitl.12.2.33-39>.
- Hindersah, R., Rahmadina, I., Harryanto, R., Suryatmana, P., & Arifin, M. 2021a, February. Bacillus and azotobacter count in solid biofertilizer with different concentrations of zeolite and liquid inoculant. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 667, No. 1, p. 01201S0). IOP Publishing. DOI: 10.1088/1755-1315/667/1/012010.
- Hindersah, R., & Pratiwi, E. 2021b. Media Cair berbasis molase untuk meningkatkan viabilitas dan produksi eksopolisakarida *Azotobacter*. *Jurnal Tanah dan Iklim* 45(1), 39-46. <http://dx.doi.org/10.21082/jti.v45n1.2021.39-46>.

- Hindersah, R., Yulina, H., & Nurbaity, A. 2013. Penggunaan pupuk organik cair sebagai media produksi inokulan *Azotobacter chroococcum*. *Agrologia*, 2(2), 102-108. <http://dx.doi.org/10.30598/a.v2i2.264>.
- Hindersah, R., Rostini, N., & Harsono, A. 2017. Peningkatan populasi, pertumbuhan dan serapan nitrogen tanaman kedelai dengan pemberian azotobacter penghasil eksopolisakarida. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)* 45(1), 30-35. <https://doi.org/10.24831/jai.v45i1.13801>.
- Husen, E. 2011. *Kajian Sistem Kendali Mutu Pupuk Hayati Pra-Komersialisasi*. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian: Bogor (ID).
- Husnaeni, F., & Setiawati, M. R. 2018. Pengaruh Pupuk Hayati dan Anorganik Terhadap Populasi Azotobacter, Kandungan N, dan Hasil Pakcoy Pada Sistem Nutrient Film Technique. *Jurnal Biodjati*, 3(1), 90-98. e-ISSN: 2541-4208.
- Ikhsani, D., Hindersah, R., & Herdiyantoro, D. 2018. Pertumbuhan Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogea* L. Merrill) Setelah Aplikasi Azotobacter chroococcum dan Pupuk NPK. *Agrologia*, 7(1): 1-8. e-ISSN: 2580-9636.
- Jain, D., Sharma, J., Kaur, G., Bhojiya, A. A., Chauhan, S., Sharma, V. & Maharjan, E. 2021. Phenetic and molecular diversity of nitrogen fixating plant growth promoting Azotobacter isolated from semiarid regions of India. *BioMed Research International* 2021(4): 1-9. <https://doi.org/10.1155/2021/6686283>.
- Kasa, P., Modugapalem, H., & Battini, K. 2015. Isolation, screening, and molecular characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolates of Azotobacter and Trichoderma and their beneficial activities. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 6(2):360. DOI: 10.4103/0976-9668.160006.
- Krishnaprabu, S. 2020. Liquid microbial consortium: A potential tool for sustainable soil health. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(2):2191-2199. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6202.1000124>.
- Lobo, C. B., Tomás, M. S. J., Viruel, E., Ferrero, M. A., & Lucca, M. E. (2019). Development of low-cost formulations of plant growth-promoting bacteria to be used as inoculants in beneficial agricultural technologies. *Microbiological research* 219:12-25. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.10.012>.
- Maheswari, N. U., & Kalaiyarasi, M. 2015. Comparative study of liquid biofertilizer and carrier based biofertilizer on green leafy vegetables. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 33(1), 42. ISSN: 0976-044X.
- Mazinani, Z., Aminafshar, M., Asgharzadeh, A., & Chamani, M. 2012. Different methods for isolation and preliminary identification of Azotobacter. *International Journal of Agricultural Science and Research* 3(1): 1-80.
- Mounika, N., Rao, D. M., Uma, A., & Ali, S. 2018. Effect of different chemical additives on growth of Azotobacter vinelandii. *International Journal of Scientific Research and Management* 6(03): B-2018-24-26. <https://doi.org/10.18535/ijstrm/v6i3.b03>.
- Pastor-Bueis, R., Mulas, R., Gómez, X., & González-Andrés, F. 2017. Innovative liquid formulation of digestates for producing a biofertilizer based on *Bacillus siamensis*: Field testing on sweet pepper. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 180(6):748-758. <https://doi.org/10.1002/jpln.201700200>.
- Phua, C. K. H., & Khairuddin, A. R. 2010. Multifunctional liquid bio fertilizer as an innovative agronomic input for modern agriculture. *RnD Seminar 2010*: Malaysia.
- Ponmurugan, K., Sankaranarayanan, A., & Al-Dharbi, N. A. 2012. Biological activities of plant growth promoting *Azotobacter* sp. isolated from vegetable crops rhizosphere soils. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 6(4): 1689-1698. e-ISSN: 2581-690X.
- Ojha, S. K., Bejnamin, J. C., & Singh, A. K. 2016. Mass production of biofertilizer pseudomonas fluorescens. *International Journal of Agricultural Science and Research* 6(6), 415-418. e-ISSN: 2321-0087.
- Setiawati, M. R., Suryatmana, P., & Chusnul, A. 2017. Karakteristik *Azolla pinnata* sebagai pengganti bahan pembawa pupuk hayati padat bakteri penambat N<sub>2</sub> dan bakteri Pelarut P. *Soilrens* 15(1): 46-52.
- Setiawati, M. R., Suryatmana, P., Herdiyantoro, D., & Ilmiyati, Z. 2014. Karakteristik pertumbuhan dan waktu generasi isolat *Azotobacter* sp. dan bakteri endofitik asal ekosistem lahan sawah. *Jurnal Agroekoteknologi*, 6(1): 12-20.
- Simanungkalit, R. D. M., Husen, E., & Saraswati, R. 12. *Baku Mutu Pupuk Hayati Dan Sistem Pengawasannya. Pupuk Organik Dan Pupuk Hayati*, 245. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian: Bogor (ID).
- Simarmata, T., Joy, B., & Danapriatna, N. 2012. Peranan penelitian dan pengembangan pertanian pada industri pupuk hayati (biofertilizer). In *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pemupukan dan Pemulihan Lahan Terdegradasi, Bogor* (pp. 29-30).
- Suriadikarta, D. A., & Setyorini, D. 11. *Baku Mutu Pupuk Anorganik, Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*, 231. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian: Bogor (ID).
- Subba-Rao, N.S. 1982. *Biofertilizers in Agriculture*. Oxford and IBH Publishing Co: New Delhi, Bombay, Calcutta. ISBN: 978-8120401259
- Toago, S. P., Lapanjang, I. M., & Barus, H. N. 2017. Aplikasi kompos dan Azotobacter sp. terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman cabai merah (*Capsicum annum* L.). *Agrotekbis: E-Jurnal Ilmu Pertanian* 5(3), 291-299. ISSN: 2338-3011.
- Patel, P. H., Patel, J. P., & Bhatt, S. A. 2013. Characterization and phylogenetic relatedness of Azotobacter Salinestris. *J Microbiol Biotechnol Res*. 3:65-70. ISSN: 2231-3168.
- Ponmurugan, K., Sankaranarayanan, A., & Al-Dharbi, N. A. 2012. Biological activities of plant growth promoting *Azotobacter* sp. isolated from vegetable crops rhizosphere soils. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 6(4), 1-10. p-ISSN: 0973-7510; e-ISSN: 2581-690X.
- Putri, S. M., Anas, I., Hazra, F., & Citraresmini, A. 2010. Viabilitas Inokulan Dalam Bahan Pembawa Gambut, Kompos, Arang Batok Dan Zeolit Yang Disteril Dengan Iradiasi Sinar Gamma Co-60 Dan Mesin Berkas Elektron. *Jurnal Ilmu Tanah Dan Lingkungan*, 12(1):23-30. ISSN: 1410-7333.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. *Plant Soil* 255:571-586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>.
- Vassilev, N., Vassileva, M., Martos, V., Garcia Del Moral, L. F., Kowalska, J., Tylkowski, B., & Malusá, E. 2020. Formulation of microbial inoculants by encapsulation in natural polysaccharides: Focus on beneficial properties of carrier additives and derivatives. *Frontiers in Plant Science* 11:1-9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00270>.