



**PENGARUH BAHAN PEMBAWA LIMBAH PADAT BLOTONG DAN
PUKUP KANDANG SAPI TERHADAP KERAPATAN SEL BAKTERI
HASIL FORMULASI *Mycorrhiza Helper Bacteria* (*Pseudomonas
diminuta* dan *Bacillus subtilis*) DAN PEMANFAATANNYA
SEBAGAI LEAFLET**

SKRIPSI

Oleh

**Rizka Haqi Abadi
NIM. 120210103100**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**PENGARUH BAHAN PEMBAWA LIMBAH PADAT BLOTONG DAN
PUKUK KANDANG SAPI TERHADAP KERAPATAN SEL BAKTERI
HASIL FORMULASI *Mycorrhiza Helper Bacteria (Pseudomonas
diminuta dan Bacillus subtilis)* DAN PEMANFAATANNYA
SEBAGAI LEAFLET**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan

Oleh
Rizka Haqi Abadi
NIM. 120210103100

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah- Nya, tak lupa shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah menuntun kita pada jalan yang benar. Saya persembahkan skripsi ini dengan segala rasa cinta kasih kepada:

1. Orang tua tercinta, yaitu Ayahanda Baihaqi Azkar dan Ibunda Asthaning Wuri Andayani beserta keluarga besar saya yang selama ini memberikan kasih sayang, dukungan, kesabaran, pengorbanan, perhatian dan doa;
2. Adik Fikri Haqi Zulqarnain yang selalu memberikan motivasi dan menghibur dalam suka maupun duka;
3. Bapak dan ibu guru dari TK, SD, SMP, SMA sampai Perguruan Tinggi yang telah memberikan bekal ilmu yang bermanfaat dan bimbingan dengan sepenuh hati;
4. Almamater Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember yang kubanggakan.

MOTTO

Khairunnas Anfauhum Linnas

(Sebaik- baiknya manusia yaitu bermanfaat bagi orang lain)

[H.R. Thabrani Daruqutni.'an jabir r.a.]



Sumber: Kitab shahibul jami'

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rizka Haqi Abadi

NIM : 120210103100

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengaruh Bahan Pembawa Limbah Padat Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri Hasil Formulasi *Mycorrhiza Helper Bacteria* (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) dan Pemanfaatannya Sebagai Leaflet” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang telah saya sebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 26 Mei 2016

Yang menyatakan,

Rizka Haqi Abadi
NIM. 120210103100

SKRIPSI

**PENGARUH BAHAN PEMBAWA LIMBAH PADAT BLOTONG DAN
PUPUK KANDANG SAPI TERHADAP KERAPATAN SEL BAKTERI
HASIL FORMULASI *Mycorrhiza Helper Bacteria* (*Pseudomonas
diminuta* dan *Bacillus subtilis*) DAN PEMANFAATANNYA
SEBAGAI LEAFLET**

Oleh

Rizka Haqi Abadi

NIM 120210103100

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utam : Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P.

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Imam Mudakir, M.Si.

PERSETUJUAN

**PENGARUH BAHAN PEMBAWA LIMBAH PADAT BLOTONG DAN
PUPUK KANDANG SAPI TERHADAP KERAPATAN SEL BAKTERI
HASIL FORMULASI *Mycorrhiza Helper Bacteria (Pseudomonas
diminuta dan Bacillus subtilis)* DAN PEMANFAATANNYA
SEBAGAI LEAFLET**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana
Pendidikan

Oleh

Nama : Rizka Haqi Abadi
NIM : 120210103100
Jurusan/Program : Pendidikan MIPA / P. Biologi
Angkatan Tahun : 2012
Daerah Asal : Jombang
Tempat dan Tanggal Lahir : Jombang, 15 Desember 1994

Disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II,

Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P.
NIP. 19730614 200801 2 008

Dr. Ir. Imam Mudakir, M.Si.
NIP. 19640510 199002 1 00

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Bahan Pembawa Limbah Padat Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri Hasil Formulasi *Mycorrhiza Helper Bacteria* (*Pseudomonas Diminuta* dan *Bacillus Subtilis*) dan Pemanfaatannya Sebagai Leaflet” ini telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 26 Mei 2016

tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Dr. Iis Nur Asyiah, S.P., M.P.
NIP. 19730614 200801 2 008

Dr. Ir. Imam Mudakir, M.Si.
NIP. 19640510 199002 1 001

Anggota I,

Anggota II,

Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si.
NIP. 19571028 198503 1 001

Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd.
NIP. 19880120 201212 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Jember

Prof. Dr. Sunardi, M.Pd.
NIP. 19540501 198303 1 005

RINGKASAN

Pengaruh Bahan Pembawa Limbah Padat Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri Hasil Formulasi *Mycorrhiza Helper Bacteria* (*Pseudomonas Diminuta* dan *Bacillus Subtilis*) dan Pemanfaatannya Sebagai Leaflet; Rizka Haqi Abadi; 120210103100; halaman 62; Program Studi Pendidikan Biologi; Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Serangan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) yang meliputi organisme hama, penyakit dan tumbuhan gulma merupakan kendala utama dalam budidaya tanaman. Andalan utama dalam pengendalian yang selama ini dilakukan yaitu menggunakan pestisida kimia. Penggunaan pestisida kimia telah menimbulkan dampak negatif pada kesehatan manusia dan lingkungan, juga menyebabkan resisten OPT. Dalam pengaplikasian dilapang diperlukan pengendalian OPT yang ramah lingkungan dan memiliki harga yang terjangkau, yaitu dengan pengendalian agen hayati yang memanfaatkan mikoriza dengan bantuan *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB). Kestabilan persediaan agen pengendali hayati perlu dilakukan proses formulasi. Proses formulasi sangat dipengaruhi oleh bahan pembawa dan bahan aktif berupa bakteri. Bahan aktif yang dapat dimanfaatkan yaitu bakteri *Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis* sedangkan bahan pembawa yang digunakan adalah limbah padat blotong dan pupuk kandang sapi. Dalam penelitian sebelumnya *P. diminuta* dan *B. subtilis* telah terbukti mampu mengendalikan *P. coffeae*, sedangkan kedua limbah yaitu limbah padat blotong dan pupuk kandang sapi banyak tersedia di masyarakat. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh bahan pembawa limbah padat blotong dan pupuk kandang sapi terhadap jumlah kerapatan sel bakteri dalam formulasi MHB.

Penelitian ini dilakukan di Sub Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Jember. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan yang terdiri atas formulasi MHB (*B. subtilis* dan *P. diminuta*) dalam limbah blotong dengan kerapatan awal sel bakteri 10^8 (p_1),

formulasi MHB (*B. subtilis* dan *P. diminuta*) dalam limbah blotong dengan kerapatan awal sel bakteri 10^9 (p_2), formulasi MHB (*B. subtilis* dan *P. diminuta*) dalam pupuk kandang sapi dengan kerapatan awal sel bakteri 10^8 (p_3), formulasi MHB (*B. subtilis* dan *P. diminuta*) dalam pupuk kandang sapi dengan kerapatan awal sel bakteri 10^9 (p_4). Pengamatan dilaksanakan pada hari ke-3, hari ke-7, hari ke-30 dan hari ke-60 setelah formulasi. Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan jumlah kerapatan sel bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* serta pengamatan pH.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa masing-masing formula bahan pembawa menunjukkan kemampuan yang berbeda dalam menopang pertumbuhan dan kelangsungan hidup *P. diminuta* dan *B. subtilis* selama 60 hari periode penyimpanan. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kerapatan sel bakteri *B. subtilis* pada hari ke-7 pengamatan menunjukkan ($\text{sig.} < 0,05$), yaitu limbah padat blotong dengan kerapatan 10^8 (p_1) berpengaruh secara nyata terhadap kerapatan sel bakteri *B. subtilis* jika dibandingkan ketiga perlakuan lainnya, sedangkan analisis statistik untuk kerapatan sel bakteri *P. diminuta* dan kerapatan total pada masing-masing perlakuan menunjukkan hasil berpengaruh secara tidak nyata ($\text{sig.} > 0,05$) Pada hari ke-3, hari ke-7, hari ke-30 dan hari ke-60. Berdasarkan data rata-rata kerapatan sel bakteri (CFU) pada keempat formulasi masih menunjukkan daya simpan pada batas minimum inokulan yang harus ada pada media pembawa.

Kesimpulan dari hasil analisis dan pembahasan adalah perlakuan bahan pembawa padat limbah blotong dengan kerapatan 10^8 memiliki kemampuan yang terbaik dalam menopang kelangsungan hidup bakteri target dibandingkan tiga formula bahan pembawa yang lain dengan memenuhi persyaratan minimum suatu bahan pembawa yaitu memiliki jumlah kerapatan sel bakteri $\geq 10^7$ CFU/g dan pH dalam kisaran 7,6.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas karunia dan kebesaran-Nya sehingga penulisan skripsi yang berjudul “Pengaruh Bahan Pembawa Limbah Padat Blotong dan Pupuk Kandang Sapi terhadap Kerapatan Sel Bakteri Hasil Formulasi *Mycorrhiza Helper Bacteria* (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) dan Pemanfaatannya Sebagai Leaflet” dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi ini banyak menerima bantuan, bimbingan, serta dorongan dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Sunardi, M.Pd., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Ketua Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
3. Prof. Dr. Suratno, M.Si., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
4. Dr. Iis Nur Asyiah, SP.MP., selaku Dosen Pembimbing Akademik, Dosen pembimbing Utama dan pemberi dana penelitian melalui proyek penelitian yang didanai oleh KKP3N Litbang Deptan tahun 2015;
5. Dr. Ir. Imam Mudakir, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
6. Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si. dan Mochammad Iqbal, S.Pd., M.Pd. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran-saran dalam penulisan skripsi ini;

7. Semua dosen FKIP Program Studi Pendidikan Biologi, atas semua ilmu yang diberikan selama menjadi mahasiswa Pendidikan Biologi;
8. Teknisi laboratorium di Program Studi Pendidikan Biologi;
9. Keluarga besarku yang selalu memberi semangat, doa, dan dukungan baik moral maupun materi;
10. Keluarga besar Muhammad Roy Fayzal Ramadhan yang selalu memberikan semangat dan dukungan;
11. Sahabat-sahabatku Yenny Rahma, Vidyan Sanggara, Sigit Pratama, Wulan Anggraeni, Luthfiyatul Hasanah dan Sandy Pradipta yang selalu mendoakan, memberikan semangat serta motivasi saya;
12. Teman-temanku angkatan 2012 Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, yang telah memberikan dukungan, motivasi, dan kenangan terindah yang tak pernah terlupakan;
13. Teman-teman satu tim penelitian KKP3N, mbak Rifa, mas Dodik, Ikrom yang membantu dalam menyelesaikan penelitian;
14. Ir. Soekarto, MS. Dan Ika lia Novenda selaku validator leaflet;
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap, semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, 26 Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
HALAMAN PEMBIMBING	iv
PERNYATAAN	v
PERSETUJUAN	vi
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1. 1 Latar Belakang	1
1. 2 Rumusan Masalah	5
1. 3 Batasan Masalah	5
1. 4 Tujuan Penelitian	6
1. 5 Manfaat Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	8
2. 1 Mychoriza Helper Bacteria (MHB)	8
2. 1. 1 Deskripsi <i>Mychoriza Helper Bacteria</i> (MHB)	8
2. 1. 2 Jenis-jenis <i>Mycorhriza Helper Bacteria</i> (MHB)	9
2. 1. 3 <i>Bacillus subtilis</i>	9
2. 1. 4 <i>Pseudomonas diminuta</i>	11

2. 1. 5 Peranan bakteri MHB (<i>P. diminuta</i> dan <i>B. subtilis</i>) dalam membantu efektifitas peranan mikoriza.....	12
2. 1. 6 Peranan bakteri MHB sebagai <i>Plant Growth Promoting Rhizobacteri</i>	15
2. 2 Formulasi	15
2. 2. 1 Perbanyakkan masal	15
2. 2. 2 Formulasi	16
2. 2. 3 Bahan Pembawa	17
2. 2. 4 Pupuk kandang Sapi	17
2. 2. 5 Limbah blotong	19
2. 2. 6 Syarat Mutu Pupuk	20
2. 3 Leaflet	20
2. 3. 1 Pengertian dan Ciri-ciri Leaflet	20
2. 3. 2 Macam-macam Leaflet	21
2. 3. 2 Macam-macam Leaflet	21
2. 3. 3 Kelebihan dan Kelemahan Leaflet	21
2. 3. 4 Hal-hal yang Perlu Diperhatikan Dalam Pembuatan Leaflet	22
2. 4 Kerangka Berpikir	22
2. 5 Hipotesis Penelitian	23
BAB 3. METODE PENELITIAN	25
3. 1 Jenis Penelitian	25
3. 2 Tempat dan Waktu	25
3. 3 Variabel Penelitian	25
3. 3. 1 Variabel bebas	25
3. 3. 2 Variabel terikat	25
3. 3. 3 Variabel kontrol.....	25
3. 4 Definisi Operasional	26

3. 5 Desain Penelitian	27
3. 6 Alat dan Bahan Penelitian	27
3. 6. 1 Alat penelitian	27
3. 6. 2 Bahan penelitian	28
3. 7 Prosedur Penelitian	28
3. 7. 1 Identifikasi bakteri (Pewarnaan gram)	28
3. 7. 2 Pembuatan Propagul Mikroba (Peremajaan isolat)	28
3. 7. 3 Pembiakan masal MHB	29
3. 7. 4 Formulasi agen hayati	30
3. 7. 5 Pengamatan	30
3. 8 Parameter Penelitian	31
3. 8. 1 Kerapatan sel	31
3. 8. 2 pH	31
3. 9 Penyusunan Leaflet	31
3. 9. 1 Pembuatan Leaflet	31
3. 9. 2 Uji Validasi Leaflet	32
3. 10 Analisis Data	32
3. 10. 1 Analisis Data Penelitian	32
3. 10. 2 Analisis Validasi Leaflet	32
3. 11 Alur Penelitian	34
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4. 1 Hasil Penelitian	35
4. 1. 1 Identifikasi bakteri dan Pembuatan propagul	35
4. 1. 2 Pembiakan masal MHB dan pembuatan formula	36
4. 1. 3 Pengamatan daya simpan	37
4. 1. 4 Hasil Uji Leaflet	45
4.2 Pembahasan	46

4. 2. 1 Pengaruh Bahan Pembawa Limbah Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap <i>Mycorrhiza Helper Bacteria</i> (MHB)	46
4. 2. 2 Kelayakan Leaflet	51
BAB 5. PENUTUP	53
5. 1 Kesimpulan	53
5. 2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Jenis dan kandungan zat hara pada beberapa kotoran ternak padat dan cair.....	18
Tabel 2.2 Komposisi Kandungan Hara Pupuk Blotong	19
Tabel 3.1 Desain Penelitian	27
Tabel 3.2 Skor Terendah dan Tertinggi Analisis Leaflet	32
Tabel 3.3 Kualifikasi kelayakan	33
Tabel 4.1 Pengaruh blotong dan pupuk kandang sapi terhadap rerata kerapatan sel bakteri dan pH Hari ke-3	37
Tabel 4.2 Pengaruh blotong dan pupuk kandang sapi terhadap rerata kerapatan sel bakteri dan pH Hari ke-7	39
Tabel 4.3 Pengaruh blotong dan pupuk kandang sapi terhadap rerata kerapatan sel bakteri dan pH Hari ke-30	40
Tabel 4.4 Pengaruh blotong dan pupuk kandang sapi terhadap rerata kerapatan sel bakteri dan pH Hari ke-60	42
Tabel 4.5 Hasil Penilaian Leaflet	45
Tabel 4.6 Perbaikan Leaflet.....	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Bagan Kerangka Berpikir 23
Gambar 3.1	Alur penelitian 34
Gambar 4.1	Bakteri <i>Pseudomonas diminuta</i> dan Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> 36
Gambar 4.2	Grafik pengaruh blotong dan pupuk kandang sapi terhadap rerata kerapatan sel bakteri dan pH Hari ke-3 38
Gambar 4.3	Grafik pengaruh blotong dan pupuk kandang sapi terhadap rerata kerapatan sel bakteri dan pH Hari ke-7 40
Gambar 4.4	Grafik pengaruh blotong dan pupuk kandang sapi terhadap rerata kerapatan sel bakteri dan pH Hari ke-30 41
Gambar 4.5	Grafik pengaruh blotong dan pupuk kandang sapi terhadap rerata kerapatan sel bakteri dan pH Hari ke-60 42
Gambar 4.6	Grafik Pertumbuhan Kerapatan Sel Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> pada Setiap Pengamatan 43
Gambar 4.7	Grafik Pertumbuhan Kerapatan Sel Bakteri <i>Pseudomonas diminuta</i> pada Setiap Pengamatan 44
Gambar 4.8	Grafik Pertumbuhan Kerapatan Sel Bakteri Total pada Setiap Pengamatan 44
Gambar 4.9	Desain Leaflet Sebelum Perbaikan (Tampak Depan) 46
Gambar 4.10	Desain Leaflet Sebelum Perbaikan (Tampak Belakang) ... 46
Gambar 4.11	Desain Leaflet Sebelum Perbaikan (Tampak Depan) 47
Gambar 4.12	Desain Leaflet Sebelum Perbaikan (Tampak Belakang) ... 47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A	Matriks Penelitian..... 63
Lampiran B	Tata Letak Unit Percobaan Penelitian 65
Lampiran C	Leaflet..... 66
C1	Instrumen Validasi Leaflet 66
C2	Leaflet..... 73
C3	Hasil Validasi Leaflet 74
Lampiran D	Hasil Analisis Data Anova 78
D1	Hasil Anova Pengaruh Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri <i>B. subtilis</i> 78
D2	Hasil Anova Pengaruh Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri <i>P. diminuta</i> 81
D3	Hasil Anova Pengaruh Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri Total 84
D4	Hasil Anova Perhitungan Rerata pH 87
Lampiran E	Dokumentasi Penelitian..... 90
Lampiran F	Hasil Analisis Blotong..... 95

BAB 1. PENDAHULUAN

1. 1 Latar Belakang

Serangan Organisme Pengganggu tanaman (OPT) yang meliputi organisme hama, penyakit dan tumbuhan gulma merupakan kendala utama dalam budidaya tanaman. Secara keseluruhan diperkirakan serangan OPT dapat menurunkan tidak kurang dari 14,2% dari potensi produksi pertanian dan kehutanan di Asia termasuk Indonesia. Andalan utama pengendalian yang selama ini dilakukan ialah menggunakan pestisida kimia (Purnomo, 2010). Penggunaan pestisida kimia dalam mengendalikan organisme pengganggu tanaman (OPT) telah menimbulkan dampak negatif pada kesehatan manusia dan lingkungan, juga menyebabkan resistensi OPT. Oleh karena itu dibutuhkan pengembangan metode pengendalian alternatif dengan non-kimia, salah satunya adalah dengan pengendalian agen hayati.

Pengendalian agen hayati adalah proses pengurangan kepadatan inokulum atau aktivitas patogen dalam menimbulkan penyakit yang berada dalam keadaan aktif maupun dorman oleh satu atau lebih organisme baik secara aktif maupun dengan manipulasi lingkungan dan inang, dengan menggunakan agen antagonis atau dengan mengintroduksi satu atau lebih organisme antagonis (Baker & Cook, 1974). Agen hayati digunakan dengan tujuan lebih ramah lingkungan dan memiliki harga yang terjangkau jika dibandingkan dengan pengendalian secara kimia, dapat memanfaatkan mikoriza. Mikoriza adalah asosiasi saling menguntungkan antara fungi dan akar tanaman yang membentuk struktur simbiotik dan menghasilkan sifat morfologi yang baru (Siddiqui dan Pichtel, 2008). Untuk membantu mikoriza dalam menjalankan perannya dapat menggunakan *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB), yaitu kelompok bakteri yang mampu meningkatkan kolonisasi akar atau pertumbuhan hifa (Garbaye, 1994). Bakteri dapat dikatakan MHB ketika bakteri itu bersifat endofit dengan kata lain bakteri tersebut harus berada di salah satu bagian tubuh mikoriza, dan berperan terhadap perkembangan mikoriza. Di alam, simbiosis mikoriza dan akar tanaman tidak

hanya sebagai sebuah interaksi antara tanaman dan fungi saja, tetapi juga harus mengikutsertakan bakteri pendukung (FreyKlett dan Garbaye, 2005).

MHB yang membantu mikoriza diantaranya dari genus *Pseudomonas* dan *Bacillus*. *Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis* adalah 2 contoh MHB yang dapat berasosiasi dengan mikoriza dengan baik dan memberikan efek negatif terhadap patogen akar (Rigamonte *et al.*, 2010). MHB (*P. diminuta* dan *B. subtilis*) akan berasosiasi dengan mikoriza untuk mengendalikan pertumbuhan populasi nematoda parasit. *P. diminuta* dan *B. subtilis* adalah beberapa dari bakteri MHB yang telah diteliti mampu mengendalikan populasi nematoda *P. coffeae* dan meningkatkan pertumbuhan tanaman Kopi Arabika (Fauzi, 2014). Bakteri *B. subtilis* dan bakteri *P. diminuta* menghasilkan sekresi berupa enzim protease, selulase, kitinase dan juga sebagai pelarut fosfat. Enzim-enzim ini berguna untuk mengendalikan nematoda (Harni, 2007). Kedua jenis bakteri tersebut di atas selain dapat berfungsi sebagai MHB, juga dapat berfungsi sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacter*). PGPR adalah beberapa jenis *rhizobakteria* yang dapat membantu pertumbuhan tanaman secara langsung maupun tidak langsung dengan beberapa mekanisme, diantaranya adalah : 1) Peningkatan penyerapan nutrisi mineral dan fiksasi nitrogen; 2) pengendalian terhadap patogen dalam tanah termasuk nematoda dan patogen lainnya (dengan produksi senyawa tertentu); 3) menambah ketahanan tumbuhan terhadap cekaman kekeringan, tingkat keasaman, dan pencemaran logam; 4) produksi fitohormon (Figueiredo *et al.*, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Fauzi (2014), bahwa inokulasi *Bacillus subtilis* dengan kerapatan sel 10^8 CFU dapat menekan populasi nematoda sebesar 71,3% dan inokulasi *Pseudomonas diminuta* dengan kerapatan 2.10^8 mampu menekan populasi *Pratylenchus coffea* sebesar 64,2%. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas diminuta* yang diinokulasikan secara tunggal mampu mengendalikan nematoda, sedangkan berdasarkan hasil penelitian Handayani (2015) menunjukkan bahwa inokulasi ganda MHB (*P. diminuta* dan *B. subtilis*) dan *Glomus* spp. dapat mengendalikan populasi

nematoda *P. coffea* berkisar antara 87,4%-97,02%, sedangkan berdasarkan hasil penelitian Asyiah dan Soekarto (2010) menunjukkan bahwa kombinasi MHB *P. diminuta* dengan *Phosphate Solubilizing Bacteria* (PSB) (*P. mallei* dan *B. mycooides*) mampu meningkatkan penurunan jumlah juvenil Nematoda Sista Kuning (NSK) pada akar kentang sampai 10% dibandingkan dengan *P. diminuta* yang diaplikasikan tunggal. *P. mallei* dan *B. mycooides* tidak menghambat pertumbuhan *P. diminuta*. Berdasarkan berbagai hasil penelitian tersebut maka dapat diketahui bahwa dalam pengaplikasian *Basillus subtilis* dan Bakteri *Pseudomonas* sp. dapat dilakukan secara tunggal maupun kombinasi, namun dalam pengaplikasian pada tanaman perlu dilakukan formulasi (Harni, 2007).

Sebelum dilakukan formulasi perlu dilakukan perbanyakan masal. Untuk kestabilan persediaan agen pengendali hayati maka teknik produksi masal dan prosedur formulasi harus distandarisasi. MHB baik *P. diminuta* maupun *B. subtilis* yang telah terbukti mampu mengendalikan *P. coffea* perlu diformulasikan dalam bentuk padat atau cair dengan menggunakan senyawa organik atau anorganik sebagai pembawa agar bisa diaplikasikan di lapangan. Sampai saat ini belum ada informasi mengenai formula yang tepat untuk agen hayati yang mengandung MHB. Formulasi sangat dipengaruhi oleh bahan pembawa dan bahan aktif (*P. diminuta* dan *B. subtilis*). Bahan pembawa merupakan bahan yang dicampurkan dengan organisme, dan apabila dilengkapi dengan bahan tambahan untuk memaksimalkan kemampuan bertahan hidup dipenyimpanan disebut dengan formulasi.

Telah dinyatakan bahwa formulasi terdiri dari bahan pembawa dan bahan aktif. Bahan aktif yang digunakan adalah *P. diminuta* dan *B. subtilis* sedangkan bahan pembawa yang akan digunakan adalah Limbah padat Blotong dan bahan organik dari kotoran ternak yang banyak tersedia di masyarakat dengan harga yang murah. Berdasarkan beberapa hasil penelitian, manfaat blotong nyata pada pertumbuhan tinggi tanaman, diameter batang, jumlah tanaman/rumpun, jumlah anakan, bobot kering tanaman, luas daun, produksi tebu, rendemen, bahkan produksi gula kristal. Hal ini dipengaruhi oleh kemampuan blotong dalam meningkatkan kapasitas menahan air,

menurunkan laju pencucian hara, menyediakan unsur hara, memperbaiki drainase tanah, melarutkan fosfor sehingga ketersediaan P dalam tanah lebih tersedia. Blotong juga mampu membantu mengatasi masalah kelangkaan pupuk kimia dan sekaligus mengatasi masalah pencemaran lingkungan (Leovici, 2012) sedangkan menurut Ismayana (2010) blotong banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku kompos, pakan ternak, dan sebagai media tanam untuk jamur. Untuk kotoran ternak seperti kotoran sapi menurut Hartatik dan Widowati (2010) banyak mengandung unsur nitrogen dimana unsur tersebut sangat dibutuhkan untuk mikroorganisme dalam perkembangannya. Unsur hara nitrogen digunakan oleh mikroorganisme untuk sintesis protein dan pembentukan protoplasma. 40-50% protoplasma tersusun dari senyawa yang mengandung unsur hara nitrogen.

Selama ini, banyak penelitian yang dilakukan dan hasilnya belum diketahui oleh masyarakat luas terutama pihak-pihak yang terlibat langsung dengan bionematisida. Salah satu cara untuk menginformasikannya adalah melalui media cetak, salah satunya adalah Leaflet. Leaflet adalah media yang baik untuk menyampaikan informasi, selain karena bentuknya yang sederhana, praktis, komunikatif, dan juga memuat informasi inti sehingga masyarakat terutama petani tidak merasa enggan untuk membacanya. Leaflet diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat bagi masyarakat umumnya dan petani khususnya mengenai hasil penelitian ini.

Berdasarkan latar belakang di atas maka perlu dilakukan formulasi bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* untuk mendapatkan agen hayati yang memiliki manfaat maksimal dalam menekan pertumbuhan nematoda dan perbanyak akar tanaman. Sedangkan agar bakteri dapat tetap hidup memerlukan bahan tumbuh yang mengandung nutrisi tertentu dengan viabilitas (kerapatan dan pH) yang terbaik dan bahan yang murah, mudah didapat, dan kurang dimanfaatkan oleh masyarakat saat ini yaitu dapat memanfaatkan limbah padat blotong dan pupuk kandang sapi. Dengan demikian maka dilakukan penelitian dengan judul “Pengaruh Bahan Pembawa Limbah Padat Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri Hasil

Formulasi *Mycorrhiza Helper Bacteria* (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) dan Pemanfaatannya sebagai Leaflet”.

1. 2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

- a. Adakah pengaruh bahan pembawa (Limbah blotong dan pupuk kandang sapi) terhadap kerapatan sel bakteri (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*)?
- b. Bahan pembawa padat manakah yang terbaik terhadap kerapatan sel bakteri (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*)?
- c. Berapakah kerapatan sel awal bakteri (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) yang memiliki nilai tertinggi?
- d. Layakkah hasil penelitian tentang Pengaruh bahan pembawa padat terhadap Kerapatan sel bakteri hasil formulasi MHB (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) digunakan sebagai bahan penyusunan Leaflet ?

1. 3 Batasan Masalah

Untuk mempermudah pembahasan dan mengurangi kerancuan dalam menafsirkan masalah yang digunakan dalam penelitian ini maka diberi batasan masalah sebagai berikut:

- a. Jenis MHB yang dipakai *B. subtilis* yang digunakan untuk penelitian yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Tanah UNPAD dan *P. diminuta* diperoleh koleksi Sub Laboratorium Mikrobiologi FKIP UNEJ.
- b. Bahan padat yang digunakan adalah Limbah Blotong yang diperoleh dari Pabrik Gula Gending, Jl. Sebaung Gending, Probolinggo. Limbah yang diambil adalah limbah pabrik gula padat yang merupakan buangan sisa dari produksi pabrik gula, sedangkan pupuk kandang sapi dari Jl. Situbondo, Desa Kenanga, Kec. Wonosari, Kab. Bondowoso yang merupakan limbah kotoran sapi yang tidak dimanfaatkan.
- c. Umur isolat bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* adalah 24 jam.

- d. Ukuran serbuk untuk limbah yang digunakan adalah 100 mesh.
- e. Viabilitas ditentukan berdasarkan kerapatan sel bakteri CFU per ml.
- f. Jumlah formulasi untuk dicampurkan pada limbah blotong 27,5 ml dalam 150 g, pupuk kandang sapi 27,3 ml dalam 150 g.
- g. Leaflet yang dihasilkan berupa selembar kertas yang dilipat menjadi beberapa bagian, berisi hasil penelitian penulis yang disajikan dalam tulisan dan gambar.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas maka tujuan penelitian ini ialah sebagai berikut:

- a. Mengetahui pengaruh bahan pembawa (Limbah blotong dan pupuk kandang sapi) terhadap kerapatan sel bakteri (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*).
- b. Menentukan bahan pembawa padat yang terbaik terhadap kerapatan sel bakteri (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*).
- c. Menetapkan kerapatan sel awal bakteri (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) yang memiliki nilai tertinggi.
- d. Menghasilkan Leaflet tentang Pengaruh bahan pembawa padat terhadap Kerapatan sel bakteri hasil formulasi MHB (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*).

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

- a. Bagi peneliti, dapat mengetahui bahan yang tepat dari hasil formulasi untuk bahan pertumbuhan *Mycorrhiza Helper Bacteria* (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) pada bahan pembawa dalam bentuk padat limbah blotong dan pupuk kandang sapi.
- b. Bagi peneliti lain, dapat memberikan sumbangan pemikiran sebagai motivasi dalam meneliti lebih lanjut mengenai efektivitas formulasi agen hayati *Mycorrhiza Helper Bacteria* (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) pada akar tanaman.

- c. Bagi lembaga atau pengembangan keilmuan adalah dapat memberikan tambahan pengetahuan dan wawasan tentang adanya efek positif dari kombinasi *P. diminuta* dan *B. subtilis* sebagai MHB dan memberi alternatif cara pengendalian dengan menggunakan pengendalian biologis sehingga dapat terjadi pengurangan penggunaan pupuk anorganik dan menghasilkan bionematisida yang ramah lingkungan.



BAB. 2 TINJAUAN PUSTAKA

2. 1 *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB)

2. 1. 1 Deskripsi *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB)

Mikoriza merupakan suatu bentuk simbiosis mutualistik antara jamur dan akar tanaman (Brundrett, 1996). Hampir pada semua jenis tanaman terdapat bentuk simbiosis ini. Mikoriza dapat berfungsi sebagai alat untuk pertanian berkelanjutan karena mempunyai kemampuan dalam meningkatkan pertumbuhan sistem perakaran tanaman, meningkatkan vigor tanaman dan kualitas tanah. Hifa dari mikoriza memperluas bidang perakaran serta mengeluarkan enzim, membantu penyerapan nutrisi secara efisien dan dapat berperan sebagai kontrol patogen. Dengan demikian, mikoriza sangat berperan dalam produktivitas tanaman (Siddiqui dan Pichtel, 2008).

MHB merupakan istilah yang digunakan bagi bakteri yang dapat membantu mikoriza menjalankan perannya. Bakteri dikatakan MHB ketika bakteri itu bersifat endofit dengan kata lain bakteri tersebut harus berada di salah satu bagian tubuh mikoriza, dan berperan terhadap perkembangan mikoriza. Simbiosis mikoriza bukan hanya hubungan antara fungi pembentuk mikoriza dan tanaman inang namun melibatkan organisme pendukung lainnya seperti bakteri.

Mycorrhiza Helper Bacteria (MHB) mensekresikan beberapa asam organik yang mengandung sumber karbon berupa glukosa yang baik bagi pertumbuhan fungi (Nazir *et al.*, 2010). Selama proses pembentukan mikoriza, kehadiran bakteri pada rhizosfir sebelum simbiosis meningkatkan penerimaan atau kepekaan akar terhadap mikoriza (Aspray *et al.*, 2006). Kehadiran MHB tersebut dapat mendorong pertumbuhan sel dan pertumbuhan vegetatif, memperbanyak jumlah umbi, meningkatkan kandungan protein umbi, dan indeks panen (Nazir *et al.*, 2010).

Eksudat MHB sering kali merangsang perkecambahan spora fungi. Xavier dan Germida (2003) mengamati bahwa sebagian besar bakteri dari dinding sel spora FMA mampu meningkatkan perkecambahan spora *G. clarum* ketika terjadi kontak langsung

antara spora dan bakteri, sementara sebagian isolate bakteri menghambat perkecambahan spora dengan menghasilkan volatil antagonistik.

2. 1. 2 Jenis-jenis *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB)

Hasil penelitian Nunang (2011) menunjukkan bahwa ada 12 bakteri yang berhasil diisolasi dari spora MVA, 7 bakteri dari *Gigaspora* sp. dan 5 bakteri dari *Glomus* spp. Delapan jenis bakteri yaitu: *P. diminuta*, *B. licheniformis*, *B. laterosporus*, *E. hormaechei*, *B. brevis*, *B. subtilis*, *B. cereus* (GG), dan *B. firmus* mampu menstimulir perkembangan hifa mikoriza. Ada 7 bakteri yang mempunyai potensi aktivitas enzimatis selulase dan protease yaitu: *B. subtilis*, *B. cereus* (GG), *B. laterosporus*, *B. pasteurii*, *P. penneri*, *B. firmus*, dan *B. cereus* (GL), dan ada 4 bakteri (*B. subtilis*, *P. diminuta*, *P. penneri*, dan *E. hormaechei*) yang dapat menghambat pertumbuhan patogen *Rhizoctonia* sp., *Sclerotium* sp., dan *Ganoderma* sp.

2. 1. 3 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis merupakan bakteri Gram positif, berbentuk batang, dapat tumbuh pada kondisi aerob dan anaerob. Sporanya tahan terhadap panas (suhu tinggi), mampu mendegradasi Xylandan karbohidrat. *Bacillus* spp. mempunyai sifat: (1) mampu tumbuh pada suhu lebih dari 50°C dan suhu kurang dari 5°C, (2) mampu bertahan terhadap pasteurisasi, (3) mampu tumbuh pada konsentrasi garam tinggi (>10%), (4) mampu menghasilkan spora dan (5) mempunyai daya proteolitik yang tinggi dibandingkan mikroba lainnya. *Bacillus* adalah salah satu genus bakteri yang berbentuk batang dan merupakan anggota dari divisi Firmicutes. *Bacillus* merupakan bakteri yang bersifat aerob obligat atau fakultatif, dan positif terhadap uji enzim katalase (Hatmanti, 2000).

Menurut Backman *et al.*, (1997) *Bacillus* memiliki keunggulan dibanding dengan bakteri lain, yaitu mampu menghasilkan endospora yang tahan terhadap panas dan dingin, juga tahan terhadap pH yang ekstrim, pestisida, pupuk, dan waktu penyimpanan. *Bacillus* merupakan salah satu genus yang sangat penting untuk

pengendalian hayati pada permukaan daun dan buah, disamping untuk penyakit pada perakaran maupun penyakit pasca panen. Di samping itu bakteri ini sangat berpotensi karena sangat mudah diformulasikan dan relatif dapat mengkolonisasi berbagai spesies tanaman.

Mekanisme penghambatan antagonis *B. subtilis* terhadap mikroorganisme lain disebabkan adanya aktivitas antibiotik yaitu dihasilkannya macam-macam zat antibiotik (Sastrosuwignyo, 1998 dalam Utami, 2001). Menurut Loeffler *et al.*, (1986) dalam Setiawan (2002), *B. subtilis* dapat menghasilkan antibiotik seperti *baclysin* dan *fengymycillo* yang bersifat antifungal dan beberapa isolate *B. subtilis* memproduksi antibiotik iturin yang memiliki kisaran aktivitas cukup luas, baik terhadap bakteri maupun jamur.

Menurut MacDonald *et al.*, (2010) bentuk koloni dari bakteri *B. subtilis* yaitu bentuk tidak teratur dan memiliki garis pinggir berombak. Kedudukan *B. subtilis* dalam sistematika (taksonomi) bakteri diklasifikasikan sebagai berikut:

Domain : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacili
Order : Bacillales
Family : Bacillaceae
Genus : Bacillus
Species : *Bacillus subtilis*

(Heekyung, 2013).

Menurut Baehaki (2011), *Bacillus sp.* merupakan salah satu jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan protease. Protease merupakan satu diantara tiga kelompok enzim komersial yang diperdagangkan sebagai katalisator hayati. *B. subtilis* merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang, memiliki endospora, bersifat motil dan tergolong ke dalam bakteri aerob atau fakultatif anaerob. Genus *Bacillus* merupakan bakteri yang sangat baik digunakan sebagai kandidat agen biokontrol karena dapat menghasilkan beberapa metabolik aktif seperti antibiotik,

proteinase dan bakteriosin. Pada umumnya antimikroba yang dihasilkan *Bacillus* merupakan polipeptida seperti bakteriosin dan antibiotik.

2. 1. 4 *Pseudomonas diminuta*

Kelompok bakteri *Pseudomonas* termasuk bakteri gram negatif, kelompok bakteri ini memiliki bentuk batang lurus atau batang agak melengkung, tetapi tidak membentuk heliks. Begitu juga dengan bakteri *Pseudomonas diminuta* yang memiliki bentuk batang lurus dengan panjang 1,5-5 μm . Bakteri ini juga tidak membentuk pertunasan ditubuhnya, dan juga tidak memiliki selubung disekitar tubuhnya. Pergerakan bakteri *P. diminuta* dilakukan dengan menggunakan 1 flagella ditubuhnya (Holt *et al.*, 1994).

Inokulasi ganda *P. diminuta* dan mikoriza MVA dalam mengendalikan nematoda parasit perlu dikaji lebih lanjut pada nematoda parasit lainnya seperti *P. coffeae*. *P. diminuta* selain sebagai agen pengendali nematoda parasit, *P. diminuta* juga merupakan MHB dan PGPR sehingga mempunyai potensi besar dalam mengendalikan nematoda *P. coffeae* yang menyerang akar tanaman kopi. Rizobakteria dari kelompok *Pseudomonas spp.* dapat berfungsi sebagai penyubur, sebagai sarana pengendali hayati patogen tanaman dan mampu meningkatkan ketahanan tanaman *Induced Systemic Resistance* (ISR) (McMilan, 2007). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *Pseudomonas spp.* dapat meningkatkan hasil dan melindungi tanaman gandum dari patogen *Phytium spp.* melalui perlakuan benih (Cook, 1986). MVA mampu melindungi tanaman kacang tanah dari patogen layu dan akar *Sclerotium rolfsii* (Ganesan dan Gnanamanickam, 1986) dan dapat menginduksi ketahanan tanaman mentimun terhadap serangan patogen *Colletotrichum orbiculare* melalui perlakuan pada akar.

P. diminuta merupakan bakteri gram negatif yang sudah terbukti mampu menurunkan populasi nematoda sista kuning (*Globodera rostochiensis*) pada tanaman kentang (Asyiah *et al.*, 2010). Selain itu *P. diminuta* juga termasuk bakteri pemacu pertumbuhan tanaman (PGPR= *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) karena menghasilkan gibberelin dan sitokinin (Asyiah *et al.*, 2010).

Serfoji *et al.*, (2010) menunjukkan bahwa MHB *Bacillus coagulans* bersama dengan *Glomus aggregatum* mampu mereduksi nematoda puru akar (*Meloidogyne incognita*).

Domain : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Alphaproteobacteria
Order : Caulobacterales
Family : Caulobacteraceae
Genus : *Pseudomonas*
Species : *Pseudomonas diminuta*

(Heekyung, 2013)

Klasifikasi *P. diminuta* ternyata ada beberapa perubahan akibat adanya suatu penelitian yang dilakukan oleh Segers *et al.*, (1994) menyatakan bahwa posisi taksonomi dari strain yang sebelumnya disebut *P. diminuta* terdapat kekeliruan, setelah dilakukan melalui pemeriksaan dengan pendekatan polypasik. Hasil dari studi hibridisasi DNA-rRNA menyatakan bahwa *P. diminuta* termasuk 35 dalam genus yang berbeda dalam α subclass dari proteobacter, sehingga diusulkan nama genus *Brevundimonas*.

2. 1. 5 Peranan bakteri MHB (*P. diminuta* dan *B. subtilis*) dalam membantu evektifitas peranan mikoriza.

Pengendalian hayati adalah proses pengurangan kepadatan inokulum atau aktivitas patogen dalam menimbulkan penyakit yang berada dalam keadaan aktif maupun dorman oleh satu atau lebih organisme baik secara aktif maupun dengan manipulasi lingkungan dan inang, dengan menggunakan agen antagonis atau dengan mengintroduksi satu atau lebih organisme antagonis (Baker & Cook, 1974). Proses pengendalian hayati berjalan dengan lambat tetapi dapat berlangsung dalam periode yang cukup panjang, relatif murah dan tidak berbahaya bagi kehidupan. Agen antagonis adalah mikroorganisme yang dapat mempengaruhi kemampuan bertahan

atau berpengaruh negatif terhadap aktivitas patogen dalam menimbulkan penyakit. Bahkan, agen antagonis dapat berasal dari strain patogen avirulen yang dapat menghambat perkembangan patogen (Agrios, 1997).

Genus *Bacillus* digunakan sebagai agen biokontrol secara luas, menghasilkan zat antimikroba berupa bakteriosin. Bakteriosin adalah zat antimikroba polipeptida atau protein yang diproduksi oleh mikroorganisme yang bersifat bakterisida. Bakteriosin membunuh sel targetnya dengan menyisip pada membran target dan mengakibatkan fungsi membran sel menjadi tidak stabil sehingga menyebabkan sel lisis (Compant *et al.*, 2005).

Eksudat MHB sering kali merangsang perkecambahan spora fungi. Xavier dan Germida (2003) mengamati bahwa sebagian besar bakteri dari dinding sel spora MVA mampu meningkatkan perkecambahan spora *G. clarum* ketika terjadi kontak langsung antara spora dan bakteri, sementara sebagian isolat bakteri menghambat perkecambahan spora dengan menghasilkan *volatile antagonistic*.

Duponnois dan Garbaye (1990) telah mampu menganalisis bagaimana MHB mempengaruhi konsentrasi senyawa antagonistik yang diproduksi oleh fungi mikoriza. Mereka mendapati bahwa bakteri tersebut mampu mendetoksifikasi bahan cair dari metabolit fungi yang bersifat menghambat. Bakteri MHB kemungkinan juga dapat menekan produksi senyawa toksik oleh mikroba tanah. Vivas *et al.*, (2005) melaporkan bahwa bakteri MHB memiliki dampak positif yang kuat terhadap perkecambahan spora dan pertumbuhan fungi prasimbiosis dalam larutan yang terkontaminasi logam berat.

Bakteri MHB memiliki efek yang mendasar pada daerah perakaran (Rhizosfer). Bakteri MHB mempunyai empat teknik dalam membantu efektivitas infeksi mikoriza terhadap tanaman Kopi Arabika. Empat teknik tersebut adalah:

a. Efek MHB pada daya penerimaan akar

Pada teknik ini, bakteri yang berkembang biak di rhizosfer sebelum ada campuran dari jamur simbiosis, dapat meningkatkan tingkat penerimaan dari akar ke pembentukan mikoriza. Penjelasan dari hipotesis yaitu ada 2 kemungkinan dari *Helper Bacteria Effect* yaitu bakteri menginisiasi pembentukan IAA untuk membentuk akar

pendek agar memungkinkan meningkatnya kemungkinan interaksi. Selanjutnya adalah bakteri mampu menghasilkan enzim yang mampu melunakkan dinding sel sehingga endomikoriza arbuskular dapat berinteraksi dengan baik oleh akar.

b. Efek MHB pada pengenalan akar dengan jamur

MHB memberikan efek berupa bahan terhadap biomolekul akar dan juga jamur, seperti yang kita ketahui bisa juga akar dan jamur melakukan pengenalan dari enzim atau zat kimia yang dihasilkan masing masing oleh jamur atau akar, tetapi MHB disini dapat berperan mempermudah pengenalan tersebut dengan menghasilkan senyawa senyawa tertentu seperti auksin dan enzim lainnya.

c. Efek MHB pada pertumbuhan jamur

Efek MHB lebih ditekankan pada pertumbuhan jamur pada teknik ketiga ini karena bakteri berinteraksi dengan jamur lebih baik karena keterkaitan pada saat pengkulturan jamur dan bakterium sama-sama menggunakan bahan sederhana yang hampir sama. MHB disini memberikan stimulasi nutrisi pada jamur sehingga dapat mendapatkan pertumbuhan yang lebih baik dengan nutrisi yang lebih baik.

d. Modifikasi tanah rizosfer oleh MHB

Mekanisme ini dianggap mekanisme secara tidak langsung karena MHB mempengaruhi tanah rizosfer dimana jamur dan akar tersebut berada. Bakteri akan memodifikasi komponen psiko-kimia dari tanah untuk memfasilitasi pembentukan interaksi antara jamur dan akar (Garbaye, 1994).

Menggunakan modal 4 teknik tersebut bakteri MHB mampu membantu meningkatkan infeksi mikoriza di akar tanaman. Semakin efektifnya infeksi mikoriza maka akan mengakibatkan optimalnya MVA dalam mengendalikan nematoda di dalam akar. Berkurangnya nematoda menyebabkan kerusakan akar berkurang sehingga suplai air dan hara untuk kebutuhan tanaman dapat terserap baik (Harni, 2007). Apabila kebutuhan tanaman terpenuhi maka mengakibatkan hasil dari fotosintesisnya pun tinggi dan mampu disebar ke seluruh organ tanaman sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman tersebut.

2. 1. 6 Peranan bakteri MHB sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteri*

Bakteri MHB ternyata bukan hanya memiliki peranan sebagai membantu dalam evektifitas infeksi mikoriza terhadap akar tanaman tetapi Bakteri MHB juga sebagai agen pengendali hayati, dan sebagai agen biokontrol. Beberapa diantaranya yakni bakteri dari Genus *Bacillus* dan Genus *Pseudomonas* juga mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman yang dikenal dengan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR), karena mampu meningkatkan ketersediaan nutrisi, menghasilkan hormon pertumbuhan (Bacon dan Hinton, 2007) serta dapat menginduksi ketahanan tanaman yang dikenal dengan *Induced Systemic Resistance* (ISR).

Bakteri PGPR mampu meningkatkan pertumbuhan, seperti berat tajuk dan akar, disebabkan oleh karena bakteri endofit dapat merangsang pembentukan akar lateral dan jumlah akar sehingga dapat memperluas penyerapan unsur hara. Bacon dan Hinton (2007) melaporkan bahwa bakteri endofit ini dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan cara meningkatkan ketersediaan nutrisi tanaman, seperti nitrogen, fosfat fosfor, dan mineral lainnya, serta merangsang pertumbuhan dengan memproduksi hormon pertumbuhan, seperti auksin, dan sitokinin.

2. 1 Formulasi

Pada proses formulasi terdapat dua tahap yaitu tahap pembiakan masal dan tahap formulasi itu sendiri. Komponen dalam melakukan formulasi minimal ada dua yaitu media pembawa dan bahan aktif. Media pembawa cair yang dapat digunakan yaitu limbah molase sedangkan limbah padat yaitu Limbah padat blotong selain itu juga kotoran ternak. Bahan aktif yang digunakan adalah bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis*.

2. 2. 1 Perbanyakkan masal

Proses Perbanyakkan masal adalah fase di mana patogen yang masa produksi dan pengembangan produk dari mikroba sebagai agen kontrol diproduksi secara masal dan termasuk jenis bioreaktor. Pada prosesnya diperlukan pemilihan propagul,

biasanya propagul yang dihasilkan propagul murni. Setelah dihasilkan suatu produk setengah ini akan dirumuskan lebih lanjut dengan melakukan suatu formulasi sebagai hasil akhir. Tergantung pada patogen, proses dan sistem produksi atau bioreaktor akan sangat bervariasi (Ravensberg, 2011). Perbanyakkan masal dilakukan dengan tujuan untuk memproduksi atau menumbuhkan bakteri dalam jumlah banyak yang akan digunakan pada tahap formulasi, produksi ini dilakukan secara in vitro (Johnson *et al.*, 2001).

2. 2. 2 Formulasi

Formulasi adalah pencampuran antara bahan pembawa dengan organisme hidup dan seringkali dilengkapi dengan bahan tambahan untuk memaksimalkan kemampuan bertahan hidup organisme di suatu penyimpanan. Produk formulasi bionematisida mikroba didefinisikan sebagai produk yang mengandung biomassa agen pengendali hayati dan kandungan lainnya (senyawa pembawa dan perekat) untuk meningkatkan daya hidup dan efektivitas mikroba. Formulasi bionematisida mikroba dapat berupa cair maupun kering. Formulasi cair mengandung suspensi biomassa dalam air, minyak atau kombinasi keduanya (emulsi). Formula kering mengandung biomassa aktif atau inaktif dalam bentuk powder maupun granula. Formula kering dapat langsung digunakan pada target maupun disuspensikan dalam air untuk disemprotkan pada organisme target (Schisler *et al.*, 2004 dalam Ravensberg, 2011).

Fungsi dilakukannya formulasi adalah untuk stabilisasi, efisiensi dan keramahan penggunaan, perlindungan dan keberlanjutan, keamanan (Ravensberg, 2011).

Empat tujuan dari formulasi pada mikroorganisme:

- a. Untuk menstabilkan propagul yang dikumpulkan dari proses produksi dengan cara proses hilir sehingga mereka akhirnya dapat dikemas, disimpan dan dikirim ke pengguna akhir.
- b. Untuk membuat produk yang ramah dalam penggunaannya yang dapat diterapkan secara ekonomi oleh pengguna akhir dan dapat secara efektif disampaikan ke target.

- c. Untuk melindungi propagul, dapat diterapkan sekali, meminimalisir terhadap bahaya lingkungan dan pengaruhnya, dengan demikian mempertahankan dan bahkan meningkatkan usaha di situs target.
- d. Untuk meminimalkan risiko paparan aplikator selama pemuatan, pencampuran dan menerapkan produk serta pekerja di tanaman, dan untuk konsumen dalam kasus tanaman pangan .

2. 2. 3 Bahan Pembawa

Bahan pembawa merupakan bahan yang dicampurkan dengan organisme dilengkapi dengan bahan tambahan untuk memaksimalkan kemampuan bertahan hidup di penyimpanan disebut dengan formulasi. Adapun fungsi dasar dari formulasi adalah untuk stabilisasi organisme selama produksi, distribusi dan penyimpanan, mengubah aplikasi produk, melindungi agen dari faktor lingkungan yang dapat menurunkan kemampuan bertahan hidupnya serta meningkatkan aktivitas dari agen untuk mengendalikan organisme target. Formulasi terdiri dari dua tipe, yaitu produk berbentuk padatan (tepung dan butiran) serta berbentuk suspensi (berbahan dasar minyak atau air, dan emulsi) (Jones & Burges, 1998).

2. 2. 4 Pupuk kandang Sapi

Kotoran sapi memiliki nilai ekonomis karena termasuk pupuk organik yang dibutuhkan oleh semua jenis tumbuh- tumbuhan. Sebagian besar kotoran hewan dapat digunakan untuk pupuk setelah mengalami pengomposan yang matang, yaitu bila secara fisik (warna, rupa, tekstur dan kadar air) tidak serupa dengan bahan aslinya, secara kimia memiliki kandungan bahan organik: 60-70%, N: 2%, P₂O₅: 1%, K₂O: 1%. Jenis kotoran hewan yang umum digunakan adalah kotoran sapi, kerbau, kelinci, ayam, dan kambing. Secara umum kotoran sapi banyak digunakan sebagai pupuk kandang karena ketersediaannya lebih banyak dibandingkan kotoran hewan lain. (Setiawan, 1998).

Semakin banyak kandungan unsur hara nitrogen bahan baku semakin cepat terurai. Hal ini disebabkan jasad renik pengurai memerlukan unsur hara nitrogen untuk perkembangannya. Unsur hara nitrogen digunakan oleh mikroorganisme untuk sintesis protein dan pembentukan protoplasma. 40-50% protoplasma tersusun dari senyawa yang mengandung unsur hara nitrogen. Kotoran sapi mengandung unsur hara makro seperti nitrogen, fosfor, dan kalium tiap kotoran memiliki kandungan unsur hara yang berbeda. Kandungan unsur hara dari berbagai kotoran ternak tertera pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Jenis dan kandungan zat hara pada beberapa kotoran ternak padat dan cair

Ternak dan bentuk kotorannya	Nitrogen (%)	Fosfor (%)	Kalium (%)	Air (%)
Kuda-padat	0.55	0.30	0.40	75
Kuda-cair	1.40	0.02	1.60	90
Kerbau-padat	0.60	0.30	0.34	85
Kerbau-cair	1.00	0.15	1.50	92
Sapi-padat	0.40	0.20	0.10	85
Sapi-cair	1.00	0.50	1.50	92
Kambing-padat	0.60	0.30	0.17	60
Kambing-cair	1.50	0.13	1.80	85
Domba-padat	0.75	0.50	0.45	60
Domba-cair	1.35	0.05	2.10	85
Babi-padat	0.95	0.35	0.40	80
Babi-cair	0.40	0.10	0.45	87
Ayam-padat dan cair	1.00	0.80	0.40	55

Sumber: (Affandi, 2008).

Di antara jenis pupuk kandang, pupuk kandang sapi yang mempunyai kadar serat yang tinggi seperti selulosa, pupuk kandang sapi dapat memberikan beberapa manfaat yaitu menyediakan unsur hara makro dan mikro bagi tanaman, mengemburkan tanah, memperbaiki tekstur dan struktur tanah, meningkatkan porositas, aerasi dan komposisi mikroorganisme tanah, memudahkan pertumbuhan akar tanaman, daya serap air yang lebih lama pada tanah. Tingginya kadar C dalam pupuk kandang sapi menghambat penggunaan langsung ke lahan pertanian karena akan menekan pertumbuhan tanaman utama. Penekanan pertumbuhan terjadi karena mikroba dekomposer akan menggunakan N yang tersedia untuk mendekomposisi bahan organik tersebut sehingga tanaman utama akan kekurangan N. Untuk

memaksimalkan penggunaan pupuk kandang sapi harus dilakukan pengomposan dengan rasio C/N di bawah 20 (Hartatik dan Widowati, 2010).

2.2.5 Limbah blotong

Blotong adalah hasil endapan dari nira kotor (sebelum dimasak dan dikristalkan menjadi gula pasir) yang disaring di *rotary vacuum filter*. Blotong merupakan limbah pabrik gula berbentuk padat seperti tanah berpasir berwarna hitam, mengandung air, dan memiliki bau tak sedap jika masih basah. Bila tidak segera kering akan menimbulkan bau busuk yang menyengat. Blotong masih banyak mengandung bahan organik, mineral, serat kasar, protein kasar, dan gula yang masih terserap di dalam kotoran itu (Purwaningsih, 2011).

Berikut adalah komposisi kandungan hara yang terdapat dalam blotong yang telah mengalami proses pengomposan.

Tabel 2.2 Komposisi Kandungan Hara Pupuk Blotong

Kandungan	Nilai
Kadar Air (%)	8,5
Ph	8,53
C organik (%)	1,82
N total (%)	0,35
P ₂ O ₅ (%)	7,04
K ₂ O (%)	7,71
S (%)	2,4
Ca (%)	4,49
Mg (%)	0,66
Fe (%)	1,01
Mn (%)	0,14
Cu (%)	0,010
Zn (%)	0,034

Sumber: BST PG Madukismo

Blotong merupakan limbah biomassa dari industri gula tebu pada stasiun pemurnian nira. Nira tebu menurut Filianty *et al.*, (2010) memiliki kandungan sukrosa

10,29%, glukosa 2,43%, fruktosa 0,94%, dekstran 1,41% dan nilai pH 5-10. Jumlah blotong yang banyak dan pemanfaatan yang minim, menjadi masalah yang serius bagi pabrik gula tebu dan lingkungan masyarakat sekitar. Menurut Dewi (2009) tumpukan blotong di musim hujan akan menjadi basah, sehingga menyebarkan bau busuk dan mencemari lingkungan. Selama ini blotong banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku kompos, pakan ternak, dan sebagai bahan tanam untuk jamur.

2.2.6 Syarat Mutu Pupuk

Syarat-syarat mutu yang harus dipenuhi oleh suatu pupuk hayati agar fungsi mikroba yang terkandung dalam pupuk hayati dapat memberikan pengaruh positif terhadap tanaman yang diinokulasi. Karakteristik mikroba yg menentukan mutu pupuk hayati adalah:

- a. Jumlah populasi: minimal yang hidup sebelum kadaluarsa
- b. Keefektifan: unggul merupakan hasil seleksi
- c. Bahan pembawa: lingkungan hidup bagi mikroba sebelum diaplikasikan
- d. Masa kadaluarsa: umur inokulan, jumlah mikroba sudah tidak memenuhi syarat minimal.

Menurut Peraturan Menteri Pertanian Nomer: 70/Permentan/SR.140/10/2011, Persyaratan pupuk hayati majemuk dalam bentuk tepung atau serbuk yaitu kerapatan sel bakteri yang digunakan $\geq 10^7$ CFU/g, Kadar Air (%): ≤ 35 , pH: 5,0 – 8,0.

2.2 Leaflet

2.3.1 Pengertian dan Ciri-ciri Leaflet

Menurut Kementerian Pendidikan Nasional (2010:26), Leaflet atau biasa disebut pamflet merupakan media yang digunakan untuk memberikan informasi dan mengkomunikasikan produk, jasa, layanan, proses ataupun prosedur. Leaflet berupa selambar kertas yang dilipat menjadi lebih sederhana. Ciri-ciri Leaflet adalah sebagai berikut:

- a. Setiap Leaflet terdiri dari dua muka (halaman), dan dirancang sesuai bentuk lipatan kertasnya.
- b. Jumlah lipatan sesuai kebutuhan, dapat dua, tiga, atau empat.
- c. Ukuran sesuai kebutuhan, A4, Folio atau 20 cm x 30cm.
- d. Informasi yang terkandung didalamnya singkat, padat dengan bahasa komunikatif.
- e. Umumnya berisi tulisan 200 – 400 kata.

2.3.2 Macam-macam Leaflet

Menurut Saefudin dan Setiawan (2006) dilihat dari segi fungsi media komunikasi secara umum, Leaflet dapat dibedakan antara lain:

- a. Leaflet berfungsi informatif merupakan Leaflet dibuat dengan tujuan untuk menginformasikan suatu dari suatu lembaga yang menerbitkan tersebut;
- b. Leaflet berfungsi edukatif merupakan Leaflet yang mengandung informasi dan mengandung aspek edukatif. Isinya disusun sehingga memenuhi unsur pendidikan, biasanya dibuat di perpustakaan dan lembaga penelitian;
- c. Leaflet yang berfungsi rekreatif merupakan Leaflet yang bersifat menghibur atau setidaknya mengandung unsur menghibur;
- d. Leaflet yang berfungsi persuasif merupakan Leaflet yang bersifat menarik minat, biasanya dibuat karena kepentingna bisnis, sosial maupun agama;
- e. Leaflet yang berfungsi promosi atau iklan: Leaflet jenis ini lebih mengarah kepada unsur-unsur bisnis dan bertujuan komersial.

2.3.3 Kelebihan dan Kelemahan Leaflet

Beberapa kelebihan Leaflet menurut Pakpahan (2014:20) adalah:

- a. Praktis dan mengurangi kebutuhan mencatat;
- b. Dapat dilihat pada saat santai;
- c. Ekonomis; dan
- d. Mudah dibuat, diperbanyak dan diperbaiki serta mudah disesuaikan dengan kelompok sasaran.

Kelemahan Leaflet menurut Lucie (2005) dalam Pakpahan (2014:20) antara lain adalah:

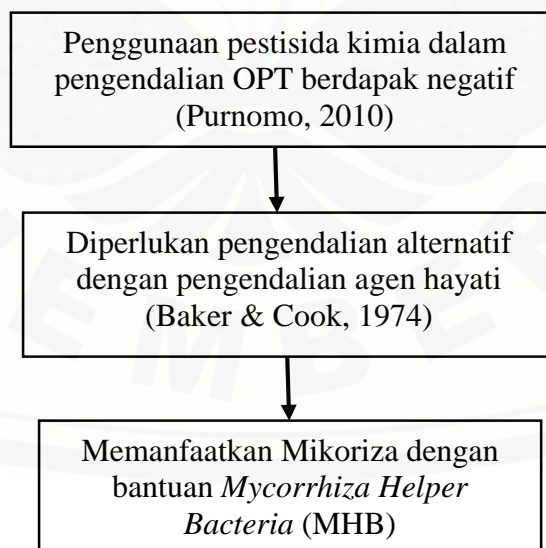
- a. Tidak tahan lama dan mudah hilang;
- b. Menjadi percuma jika sasaran tidak diikutsertakan secara aktif, dan
- c. Perlu proses penggandaan yang baik.

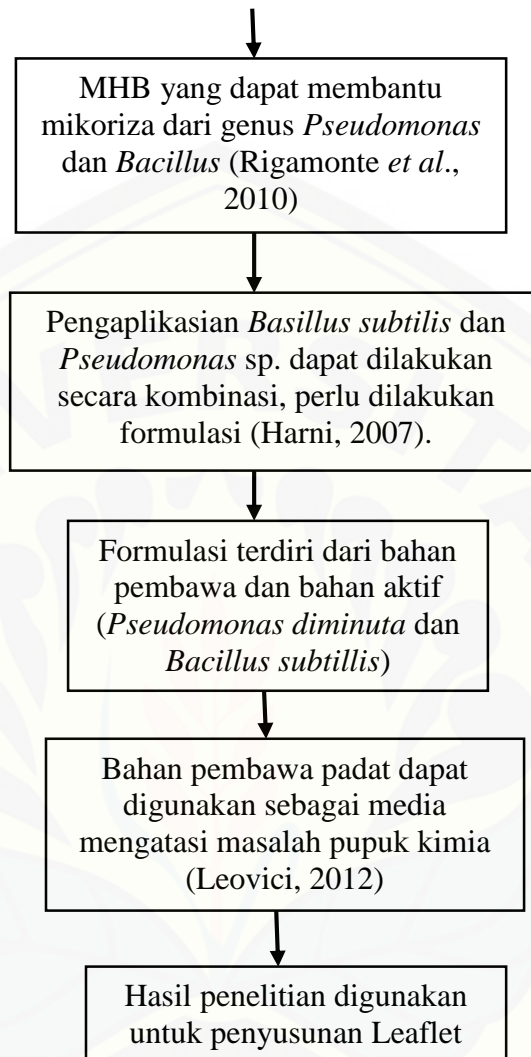
2.3.4 Hal-hal yang Perlu Diperhatikan Dalam Pembuatan Leaflet

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pembuatan Leaflet adalah a) menentukan kelompok sasaran yang ingin dicapai, b) menuliskan tujuannya, c) menentukan isi singkat hal-hal yang akan ditulis dalam Leaflet, d) mengumpulkan subyek yang akan disampaikan, e) membuat garis-garis besar cara penyajian pesan, termasuk didalamnya bagaimana bentuk tulisan gambar serta tata letaknya (Vega, 2011).

2.3 Kerangka Berpikir

Hipotesis dalam penelitian ini dirumuskan berdasarkan kerangka teoritis berikut.





Gambar 2. 1 Bagan Kerangka Berpikir

2. 5 Hipotesis Penelitian

Dalam penelitian ini maka dapat dijabarkan sementara berdasarkan rumusan masalah diantaranya yaitu:

- Bahan pembawa limbah padat blotong dan pupuk kandang sapi berpengaruh terhadap kerapatan sel bakteri.
- Bahan pembawa padat yang mempunyai kerapatan sel bakteri (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) terbaik adalah Limbah blotong.

- c. Kerapatan sel awal bakteri (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) yang memiliki nilai tertinggi yaitu 10^8 dan 10^9 .
- d. Hasil penelitian tentang pengaruh bahan pembawa padat terhadap kerapatan sel bakteri hasil formulasi MHB (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) layak digunakan sebagai bahan penyusunan Leaflet



BAB 3. METODE PENELITIAN

3. 1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang kemudian dilanjutkan dengan penyusunan Leaflet.

3. 2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Sub Laboratorium Mikrobiologi FKIP Universitas Jember. Waktu penelitian ini dilaksanakan pada 15 November 2015 hingga 16 Februari 2016.

3. 3 Variabel Penelitian

Adapun variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kerapatan awal sel bakteri yang digunakan yaitu 10^8 dan 10^9 , Perbedaan bahan pembawa yang digunakan yaitu limbah blotong dan pupuk kandang sapi.

3. 3. 2 Variabel terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kerapatan sel akhir bakteri *P. diminuta* dan *B. subtillis*.

3. 3. 3 Variabel kontrol atau variabel kendali

Variabel kontrol atau variabel kendali adalah variabel yang dikendalikan sehingga variabel bebas dan terikat tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Bahan perbanyakkan bakteri yang digunakan berupa padat yang diambil ditempat yang sama pada waktu yang sama. Tingkat pengenceran bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* untuk formulasi yaitu 10^{-6} .
- b. Biakan bakteri yang digunakan yaitu *P. diminuta* dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Tanah UNPAD dan *B. subtilis* diperoleh dari koleksi Sub Laboratorium Mikrobiologi FKIP UNEJ.
- c. Metode yang digunakan untuk menanam bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* pada cawan petri yaitu metode *spread plate* dengan volume 0,01 ml.
- d. Medium yang digunakan pada saat *spread plate* yaitu menggunakan medium selektif *Pseudomonas* dan *Bacillus*.
- e. Tempat penyimpanan. Formulasi dilakukan dan hasilnya disimpan pada suhu ruang.

3.4 Definisi Operasional

Peneliti memberikan pengertian untuk menjelaskan operasional penelitian agar tidak menimbulkan pengertian ganda terhadap pembaca. Adapun definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Bakteri MHB adalah kumpulan bakteri yang mampu membantu mikoriza bersimbiosis dengan sel-sel korteks akar tanaman. Bakteri MHB yang digunakan pada penelitian ini adalah *P. diminuta* dan *B. subtilis*
- b. Formulasi adalah persiapan produk atas bahan aktifnya dengan penggabungan antar bahan aktif atau bahan aktif dengan bahan pembawa. Formulasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah mencampur bahan pembawa limbah padat blotong dan pupuk kandang sapi dengan bakteri (*P. diminuta* dan *B. subtilis*) dengan perbandingan volume 2:3 dengan kerapatan awal 10^8 dan 10^9 .
- c. Bahan pembawa adalah bahan yang dicampurkan dengan organisme dilengkapi dengan bahan tambahan untuk memaksimalkan kemampuan bertahan hidup di penyimpanan. Bahan pembawa yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah padat blotong dan pupuk kandang sapi.

- d. Limbah merupakan bahan yang sudah tidak digunakan lagi atau dibuang karena telah berkurang nilai manfaatnya. Limbah blotong yang diambil adalah limbah padat yang merupakan buangan sisa dari industri gula tebu pada stasiun pemurnian nira. Pupuk kandang sapi adalah limbah kotoran ternak sapi yang telah berubah tekstur dan warna secara fisiknya.
- e. Kerapatan sel bakteri total adalah jumlah kerapatan sel bakteri *P. diminuta* dengan kerapatan sel bakteri *B. subtilis*.

3.5 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan percobaan dengan jenis percobaan RAL dengan 4 perlakuan dan setiap bahan pembawa berupa padat menggunakan kerapatan terbaik 10^8 dan 10^9 , setiap perlakuan memiliki 3 pengulangan, untuk setiap ulangan digunakan serial pengenceran 10^{-7} dan dari setiap serial pengenceran tersebut terdiri atas 2 sampel perhitungan koloni bakteri pada cawan dengan metode *spread plate*. Pengamatan kerapatan sel dilakukan pada hari ke-3, hari ke-7, hari ke-30, hari ke-60. Perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1 Taraf Penelitian

Bahan Pembawa Padat	Perlakuan
p ₁	Formulasi MHB (<i>P. diminuta</i> dan <i>B. subtilis</i>) 27,5 ml dalam Limbah Blotong dengan kerapatan 10^8
p ₂	Formulasi MHB (<i>P. diminuta</i> dan <i>B. subtilis</i>) 27,5 ml dalam Limbah Blotong dengan kerapatan 10^9
p ₃	Formulasi MHB (<i>P. diminuta</i> dan <i>B. subtilis</i>) 27,3 ml dalam Pupuk kandang sapi dengan kerapatan 10^8
p ₄	Formulasi MHB (<i>P. diminuta</i> dan <i>B. subtilis</i>) 27,3 dalam Pupuk kandang sapi dengan kerapatan 10^9

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan antara lain adalah cawan petri, mikropipet, tip kuning dan tip biru, *laminar air flow*, *shaker*, tabung reaksi, lemari es (kulkas), oven, gelas ukur 15 ml, gelas ukur 50 ml, beaker glass 100 ml, beaker glass 500 ml, erlenmeyer

100 ml, autoklaf, timbangan analitik, timbangan digital, kaca perata, pengaduk/spatula, *vortex*, kompor listrik, inkubator, pH meter, bunsen, inkubator, gelas arloji, sendok, bak.

3.6.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu *P. diminuta* (koleksi Sub Laboratorium Mikrobiologi FKIP UNEJ) dan *B. subtilis* (koleksi Laboratorium Mikrobiologi Tanah UNPAD), *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), Bahan selektif *Pseudomonas* dan *Bacillus*, limbah blotong, pupuk kandang sapi, Aquades, *plasti wrap*, *alluminium foil*, karet, kertas kayu, tissue, label, masker, kapas, Alkohol.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Identifikasi bakteri (Pewarnaan gram)

Melakukan Pewarnaan gram dengan terlebih dahulu menyiapkan isolat pada medium miring, kemudian menyiapkan ose dan gelas benda yang sudah bersih dan ditetesi air. Mengambil sedikit isolate pada medium miring dengan menggunakan ose dan membuat sediaan lalu kemudian di fiksasi, setelah selesai difiksasi kemudian sediaan ditetesi kristal violet selama 1 menit, lalu dibilas dengan aquades. Tetesi dengan alkohol 96% selama 10 detik, kemudian bilas dengan aquades. Tetesi dengan safranin selama 5-10 menit, dibilas dan diamati dibawah mikroskop.

3.7.2 Pembuatan Propagul Mikroba (Peremajaan isolat)

Mempersiapkan Propagul mikroba MHB dengan cara sebagai berikut: menumbuhkan biakan murni *B. subtilis* dan *P. diminuta* masing-masing pada bahan nutrient agar miring pada tabung dengan metode *streak*. Setelah disimpan pada suhu ruang selama 24 jam, mensuspensikan dengan melurulkannya menggunakan 5 ml aquades steril, dicampur menggunakan vorteks supaya homogen sehingga terbentuk suspensi. Sebanyak 1 ml suspensi isolat tersebut diencerkan hingga 10^{-6} kemudian

mengambil 1 ml dan memasukkan ke dalam 100 ml bahan *Nutrient Broth* (NB) dalam erlenmeyer berkapasitas 100 ml, kemudian dishaker selama 24 jam.

3.7.3 Pembiakan masal MHB

Bahan perbanyak masal yaitu bahan pembawa biopestisida harus bersifat organik dengan harga murah dan terjangkau. Berdasarkan penelitian dari UNPAD (2015) dijelaskan bahwa kandungan molase yang baik digunakan sebagai media pembiakan masal yaitu molase 2 % yang dibiakkan selama 72 jam. Prosedur pembuatannya ialah sebagai berikut, mengambil limbah molase sebanyak 2 ml kemudian mencampurkan ke dalam aquades steril hingga volumenya menjadi 100 ml. Sehingga akan didapatkan konsentrasi limbah molase. Kemudian melakukan penyetaraan pH menggunakan penambahan KOH 1M atau HCl 1M hingga mencapai pH netral (pH=7) lalu disterilkan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C hingga tekanan 16 atm. Bakteri *B. subtilis* dan *P. diminuta* yang telah dishaker 24 jam pada tahap pembuatan propagul diambil 1 ml untuk dimasukkan ke dalam aquades steril 98 ml dalam Erlenmeyer berkapasitas 100 ml. 1 ml limbah molase yang telah disiapkan sebelumnya, yaitu limbah molase dengan konsentrasi 2%, juga dimasukkan ke dalam aquades steril 98 ml dalam Erlenmeyer yang telah berisi 1 ml bakteri. Kemudian dishaker selama 72 jam. Pengamatan pH dan kerapatan sel dilakukan pada hari ke-3 yaitu 72 jam.

Pengamatan pH dengan mengukur menggunakan pH meter digital dan pengamatan kerapatan sel bakteri dilakukan melalui pengenceran berseri menggunakan metode Hsu *et al.*, (1994) yang dimodifikasi. Inokulasi pada medium *Nutrient agar* dalam cawan dilakukan dengan metode spread plate. Sebelum diinokulasikan dilakukan pengenceran hingga 10^{-6} dan 10^{-7} setiap serial pengenceran dilakukan duplo penanaman dalam cawan petri. Kemudian dilakukan inkubasi dalam suhu ruang selama 24 jam. Pengamatan kerapatan sel bakteri dilakukan dengan perhitungan koloni. Cara menghitung sel relatif / CFU per ml sebagai berikut:

$$\sum \text{sel} = \sum \text{koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

3.7.4 Formulasi Agen Hayati

Setelah dilakukan pembiakan awal dan telah dilakukan pengamatan maka akan diperoleh data yang memiliki viabilitas tertinggi untuk pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *P. diminuta*. Melakukan pencampuran *B. subtilis* dan *P. diminuta* dengan serial perbandingan volume yang memiliki viabilitas tertinggi yaitu perbandingan 2:3 dan dilakukan pencampuran hasil konsorsium dengan masing- masing bahan pembawa dalam bentuk padat yaitu limbah blotong, pupuk kandang sapi dan pupuk kandang kambing dengan berat masing- masing limbah 150 g. Sebelum menggunakan limbah perlu dilakukan pengovenan untuk mengetahui kadar air yang terdapat pada masing- masing limbah. Proses mengoven dilakukan sampai angka stabil. Setelah diketahui berat kering maka dilakukan penghitungan jumlah formulasi yang dibutuhkan untuk dicampurkan pada masing- masing limbah. Kandungan air yang tersedia dalam limbah harus 20% menurut peraturan pertanian (hal ini hanya dilakukan sekali pada awal penelitian) Selanjutnya dilakukan pengamatan pada hari ke-3, hari- 7, hari ke-30, hari ke-60. Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan kerapatan sel dan pH.

3.7.5 Pengamatan

Pengamatan formula dilakukan terhadap viabilitas bahan aktif. Viabilitas bahan aktif dalam bahan pembawa merupakan tolak ukur masa kadaluarsa biopestisida tersebut. Apabila viabilitas bahan aktif semakin lama, maka masa kadaluarsa biopestisida tersebut semakin lama pula. Melakukan cara pengujian dengan melalui pengenceran berseri menggunakan metode Hsu *et al.*, (1994) yang dimodifikasi. Biopestisida disimpan pada suhu ruang ($25 \pm 20^{\circ}\text{C}$) dan viabilitas bahan aktif diamati pada hari ke-3, hari ke-7, hari ke-30, hari ke-60, setelah konsorsium. Selama pengamatan melakukan perhitungan koloni untuk menentukan kerapatan sel dan pengukuran pH. Bahan yang digunakan pada saat penanaman pada cawan petri yaitu bahan selektif *Pseudomonas* dan *Bacillus*. Cara menghitung sel relatif / CFU per ml sebagai berikut:

$$\sum \text{sel} = \sum \text{koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

3.8 Parameter Penelitian

Parameter dilakukan terhadap viabilitas bakteri (kerapatan sel dan pH) pada hari ke-3, hari ke-7, hari ke-30, hari ke-60. Perhitungan viabilitas tersebut sebagai berikut

3.8.1 Kerapatan sel

Melakukan pengambilan data kerapatan sel setelah formulasi, mengamati pada hari ke-3, hari ke-7, hari ke-30, hari ke-60. Cara pengujian dilakukan melalui pengenceran berseri menggunakan metode Hsu *et al.*, (1994) yang dimodifikasi. Pengenceran dimulai 10^{-1} sampai 10^{-7} dan pengenceran yang digunakan untuk ditanam pada cawan petri yaitu 10^{-6} dan 10^{-7} Kemudian ditanam pada cawan petri dengan metode spread plate dan di inkubasi 24 jam, setelah itu melakukan perhitungan kerapatan sel dengan rumus $\sum \text{sel} = \sum \text{koloni} \times 1/\text{Faktor pengenceran}$. Jumlah koloni yang digunakan yaitu 30 -300 koloni bakteri.

3.8.2 pH

Melakukan pengukuran pH dengan menimbang hasil formulasi bahan pembawa dalam bentuk padat sebanyak 1 gr dan memasukkan 100 ml Aquades steril kemudian dilakukan pengukuran pH dengan menggunakan pH meter digital pada masing- masing perlakuan dan ulangan.

3.9 Penyusunan Leaflet

3.9.1 Pembuatan Leaflet

Leaflet merupakan bentuk penyampaian informasi atau pesan- pesan melalui lembaran yang dilipat. Isi informasi dapat dalam bentuk kalimat maupun gambar, atau kombinasi yang berfungsi untuk menyampaikan informasi hasil penelitian terutama pada masyarakat dan petani. Tahap penyusunan Leaflet dilaksanakan setelah penelitian selesai dilakukan. Leaflet yang disusun terdiri dari selebar kertas yang dilipat menjadi 3 bagian membentuk 6 sisi, berisi hasil penelitian dilengkapi dengan gambar sebagai informasi tambahan.

3. 9. 2 Uji Validasi Leaflet

Leaflet yang disusun divalidasi oleh 2 dosen ahli dari Universitas Jember (satu dosen ahli materi dan satu dosen ahli media). Hasil uji validasi yang dilakukan digunakan untuk menganalisis kelayakan Leaflet sebagai media penyampai informasi. Hasil uji validasi berupa angka dan saran-saran yang akan menyempurnakan Leaflet. Uji validasi dilakukan dengan mempertimbangkan beberapa kriteria.

3. 10 Analisis Data

3. 10. 1 Analisis Data Penelitian

Untuk membuktikan adanya pengaruh media padat blotong dan pupuk kandang sapi terhadap jumlah kerapatan sel bakteri *B. subtilis* dan *P. diminuta* dilakukan analisis dengan SPSS versi 17.0. Analisis data yang digunakan adalah ANOVA satu arah dengan taraf signifikansi 95% ($p < 5\%$). Jika hasilnya signifikan maka dilanjutkan dengan membandingkan hasil yang diperoleh dari tiap perlakuan menggunakan uji LSD dengan derajat kepercayaan 95%.

3. 10. 2 Analisis Validasi Leaflet

Analisis validasi Leaflet dilakukan setelah memperoleh nilai dari para validator. Nilai yang diberikan memiliki rentangan 1-4, disajikan pada Tabel 3.2 berikut:

Tabel 3.2 Skor Terendah dan Tertinggi Analisis Leaflet

Kategori	Skor	Skor Maksimum
Kurang	1	1 x 11 = 11
Cukup	2	2 x 11 = 22
Baik	3	3 x 11 = 33
Sangat Baik	4	4 x 11 = 44

Selanjutnya dihitung rentang skor untuk menentukan skor kriteria validasi Leaflet berikut:

Interval skor: skor tertinggi – skor terendah = $44 - 11 = 33$

Rentang skor: $\frac{\text{interval}}{\text{jumlah kategori skor}} = \frac{33}{4} = 8,25 = 8$

Perhitungan hasil uji dihitung dengan rumus presentase. Selanjutnya data persentase penilaian yang diperoleh diubah menjadi data kuantitatif deskriptif yang menggunakan kriteria penilaian tabel 3.3 berikut ini. Rumus menghitung nilai uji validasi adalah sebagai berikut:

$$\text{Persentase skor (P): } \frac{\text{skor yang diperoleh}}{\text{skor maksimal}} \times 100\%$$

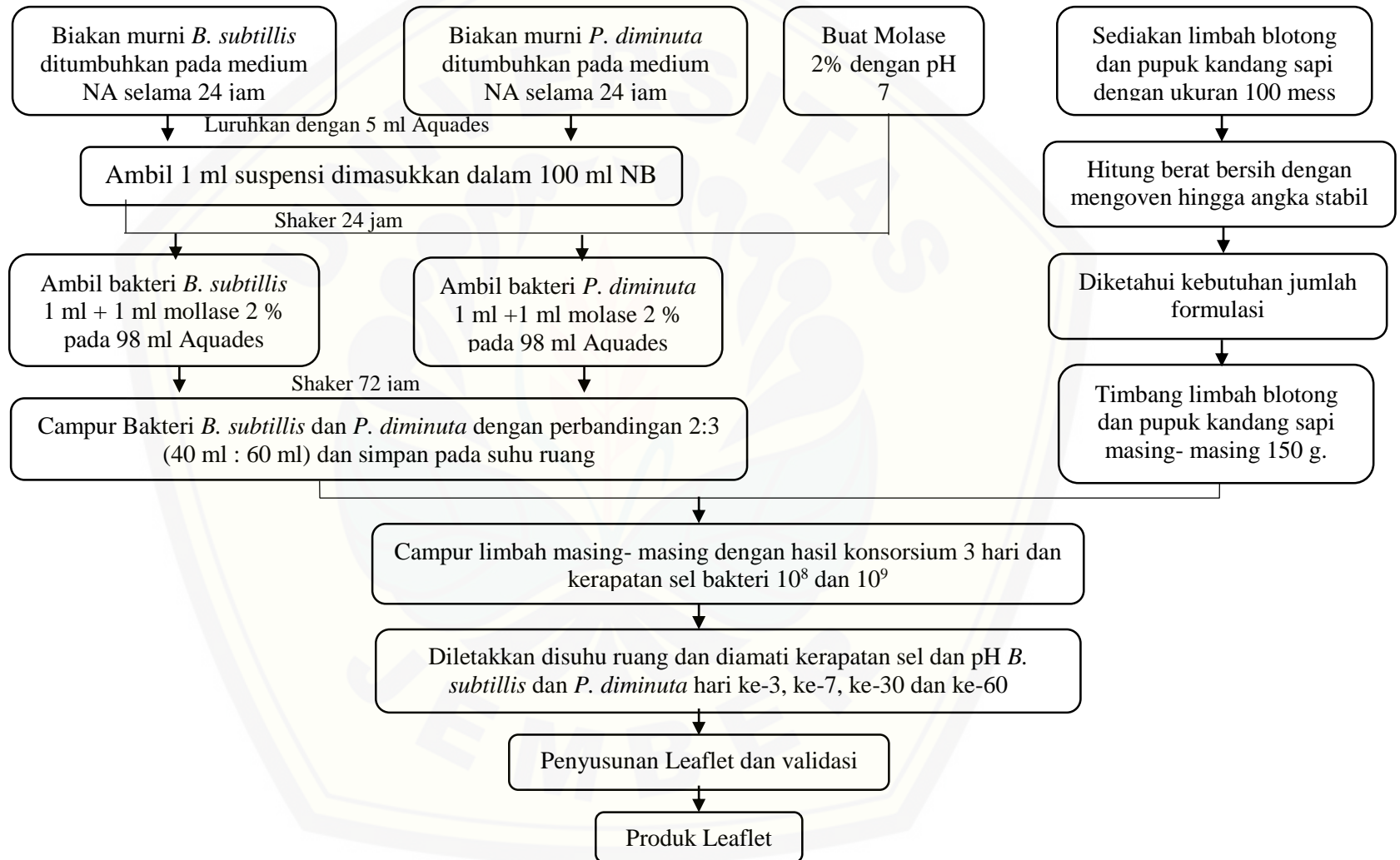
Tabel 3.3 Kriteria Penilaian

Kualifikasi	Skor	Keputusan
Kurang Layak	11- 18 ^a (25-42%) ^b	Masing-masing item pada unsur yang dinilai tidak sesuai dan ada kekurangan dengan produk ini sehingga sangat dibutuhkan pembenaran agar dapat digunakan sebagai Leaflet
Cukup Layak	19- 26 ^a (43-62%) ^b	Semua item pada unsur yang dinilai kurang sesuai dan ada sedikit kekurangan dan atau banyak dengan produk ini dan perlu pembenaran agar dapat digunakan sebagai Leaflet
Layak	27- 34 ^a (61-78%) ^b	Semua item pada unsur yang dinilai sesuai, meskipun ada sedikit kekurangan dan perlu pembenaran dengan produk ini, namun tetap dapat digunakan sebagai Leaflet
Sangat Layak	35- 44 ^a (79-100%) ^b	Semua item pada unsur yang dinilai sangat sesuai dan tidak ada kekurangan dengan karya ilmiah populer sehingga dapat digunakan sebagai Leaflet

Keterangan:

Nilai ^a) pada kolom nilai merupakan skor hasil penjumlahan keseluruhan item pada lembar uji produk buku, sedangkan nilai ^b) merupakan skor persentase (P)

3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- a. Blotong dan pupuk kandang sapi berpengaruh secara tidak signifikan ($p \geq 0,05$) terhadap jumlah kerapatan sel bakteri *P. diminuta*, *B. subtilis* maupun jumlah kerapatan sel bakteri total.
- b. Bahan pembawa blotong memiliki kualitas lebih baik dibandingkan dengan bahan pembawa pupuk kandang sapi, karena blotong telah memenuhi syarat minimal fermentasi yaitu memiliki kerapatan sel $\geq 10^7$ dan pH kisaran 7-8. Pupuk kandang sapi tidak memenuhi syarat dalam hal pH yang terlalu tinggi.
- c. Formulasi MHB dalam Limbah blotong dengan kerapatan awal sel bakteri 10^8 (p_1) memiliki jumlah rerata kerapatan lebih baik pada *P. diminuta*, *B. subtilis* dan total. Hasil kerapatan sel yang diperoleh tidak terjadi penurunan yang sangat signifikan dan masih terjadi keseimbangan antara jumlah kerapatan sel *P. diminuta* dan *B. subtilis*.
- d. Leaflet mengenai formulasi pupuk hayati padat berbahan aktif *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB) layak digunakan sebagai sumber informasi bagi masyarakat umum.

5.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas, terdapat saran- saran sebagai berikut:

- a. Formulasi dengan menggunakan bahan pembawa pupuk kandang sapi perlu dilakukan reformulasi untuk menurunkan pHnya.
- b. Penelitian ini perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk aplikasi dilapang pada tanaman uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi. 2008. *Pupuk Organik Cair dari Kotoran Ternak*. [http: affandi21xanga.com/644038359/pemanfaatan-urine-sapi yangdifermentasi-sebagai-nutrisi tanaman/.pdf](http://affandi21xanga.com/644038359/pemanfaatan-urine-sapi%20yangdifermentasi-sebagai-nutrisi%20tanaman/.pdf). [30 Maret 2015].
- Agrios G.N. 1997. *Plant pathology (5th edition)*. San Diego, USA, 922 p: Academic Press.
- Aspray TJ., Frey-Klett P, Jones JE, Whipps JM, Garbaye, and Bending GD. 2006. *Mycorrhization helper bacteria: a case of specificity for altering ectomycorrhizal architecture but not ectomy corrhiza formation*. *Mycorrhiza* 16: 533-541.
- Asyiah, N. I., Soekarto, M. Husain, Reginawanti H. 2010. *Biocontrol Of Potato Cyst Nematode Globodera rostochiensis By Rhizobacter Isolates On Potato. Dalam Suharsono (ed). Proceeding of Internasional Biotechnology Seminar: UMM*.
- Asyiah, N. I., Harni, R., Hindersah R., Rahayu D. S. 2015. *Optimalisasi Peranan Mikoriza (Glomus Sp. Dan Gigaspora Sp.) Dalam Mengendalikan Nematoda Pratylenchus Coffeae (>80%) Dan Meningkatkan Ketersediaan P Tanah Pada Tanaman Kopi Dengan Penambahan Mycorrhiza Helper Bacteria (Pseudomonas Diminuta Dan Bacillus Subtilis) Dan Phosphate Solubilizing Bacteria (P. Mallei Dan B. Mycooides)*. Surat perintah kerja pelaksanaan penelitian: Universitas Jember.
- Backman, JM, Andrade G, Biancioto V, Dowling D, LohkreS, Bonfante P, O'Gara F, Azcon-Aguilar C. 1997. *Impact on arbuscular mycorrhiza formation*. Canada: Mycologue Publications.
- Bacon, C.W. and S.S. Hinton. 2007. *Bacterial Endophytes: The Endophytic Niche its Occupants and its Utility*. Plant-Associated Bacteria. Berlin: Springer.
- Baehaki, A., Rinto dan B. Arif. 2011. *Isolasi dan Karekterisasi Protease dari Bakteri Tanah Rawa Indralaya, Sumatera Selatan. J. Teknologi dan Industri Pangan*, Vol. XXII (1): 10-16.
- Baker, K.F dan Cook, R.J. (1974). *Biocontrol of plant pathogens*. The American Phytopathology Society. St. Paul MN.

- Barea JM, Azco'n-Aguilar C. 1997. *Applying Mycorrhiza Biotechnology to Horticulture: Significance and Potentials*. Sci hortic. 68:1–24.
- Bianciotto V, Bandi C, Minerdi D, Sironi M, Tichy HV, Bonfante P. 1996. *An obligately endosymbiotic mycorrhizal fungus itself harbors obligately intracellular bacteria*. Appl Environ Microbiol. 62:3005–3010.
- Brundrett, MC., Melville L., and Peterson L. 1996. *Practical Methods In Mycorrhiza Research*. Mycologue Publications. Ontario, Canada. 161 pp.
- Chong, Mei Ling., Sabaratnam, Vikyneswary., Shirai Yoshihito., Hassan, Mohd Ali. 2009. Biohydrogen Production From Biomass And Industrial Wastes By Dark Fermentation. *Int J of Hydrogen Energy* 34: 3277-3287.
- Cook, R.J dan Baker, K.F. (1986). *The Nature and practice of biological control of plant pathogens*. The American Phytopathology Society. St. Paul MN.
- Compant S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C. dan Barka, E., A. 2005. Mini review: Use Of Plant Growth – Promoting *Rhizobacteria* for Biocontrol Of Plant Diseases: Principles, Mechanism Of Action and Future Prospect. *Appl Environ Microbiol*. 71:4951-4959.
- Dewi IM. 2009. Isolasi bakteri dan uji aktivitas kitinase termofilik kasar dari sumber air panas Tinggi Raja, Simalungan Sumatera Utara. *Tesis*. Medan: Pascasarja Universitas Sumatera Utara.
- Duponnois R., Garbaye J. 1990. *Some mechanisms involved in growth stimulation of ectomycorrhizal fungi by bacteria*. Can J Bot 68:2148–2152.
- Fauzi, Z. I. 2014. *Pengaruh Micorrhiza Helper Bacteria (Pseudomonas diminuta dan Bacillus subtilis C.) Terhadap Populasi Nematoda Parasit (Pratylenchus coffea Z.) dan Pertumbuhan Tanaman Kopi Arabika*. Skripsi. Jember: Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember.
- Fernando D, Nakkeeran, Zhang Yilan. 2005. biosynthesis of antibiotics by PGPR and its relation in biocontrol of plant diseases dalam: Z.A. Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization* 67-109. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Figueiredo, M., Seldin, L., Araujo, F. F., Mariano, R. R. 2010. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Fundamentals and Applications. *Microbiology Monographs*. 18: 21-43.

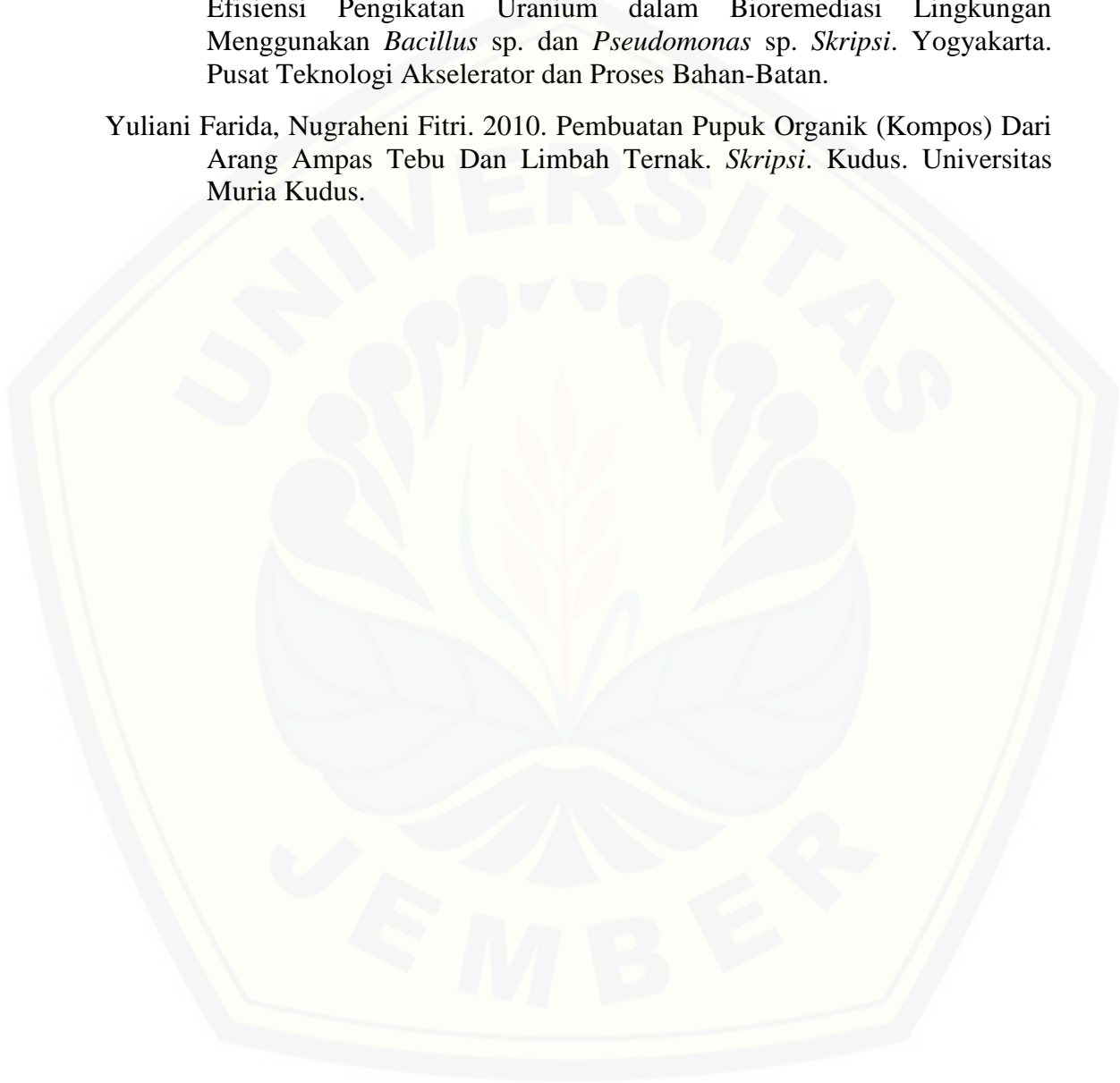
- Filianty F., Raharja S dan Suryadarma P. 2010. Perubahan Kualitas Nira Tebu (*Saccharum officinarum*) Selama Penyimpanan dengan Penambahan Akar Kawao (*Millettia Sp.*) dan Kulit Batang Manggis (*Gaecinia mangostana L.*) Sebagai Bahan Pengawet. *J. Tek. Ind. Pert.* 20 (1): 57-64.
- Fitriatin, B. N., D. H. Arief., T. Simarta, D. A. Santosa and B. Joy. 2011. Phosphatase-producing Bacteria Isolated from Sanggabuana Forest and their Capability to Hydrolyze Organic Phosphate. *J. Soil Sci. Env.Manag.* 2 (10): 299-303.
- Frey-Klett, P., J. Garbaye, and Tarkka. 2005. *The mycorrhiza helper bacteria revisited.* New pHytologist 176: 22-36.
- Gamalero E, Lingua G, Capri` FG, Fusconi A, Berta G, Lemanceau P. 2004. *Colonization pattern of primary tomato roots by Pseudomonas fluorescens A6RI characterized by dilution plating, flow cytometry, fluorescence, confocal and scanning electron microscopy.* FEMS Microbiol Ecol 48:79–87.
- Ganesan, P., and S.S Gnanamanickam. 1986. *Biological control of Sclerotium rolfsii Sacc. In peanut by inoculation with Pseudomonas fluorescens Centre of advances study in Botany.* India: University of Madras.
- Garbaye J. 1994. *Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis.* New PHytol 128:197-210.
- Handayani, Nur Rohmah Heny. 2015 *Pengaruh Inokulasi Ganda Mycorrhiza Helper Bacteria (MHB) Dan Mikoriza (Glomus spp.) Dalam Mengendalikan Populasi Nematoda Pratylenchus coffeae Z. Dan Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Kopi Arabika (Coffea Arabica L.).* Jember: Universitas Jember
- Harni. R., Munif, A., Supramana, Mustika, I. 2007. *Potensi Bakteri Endofit.* <http://ditjenbun.deptan.go.id/bbpptpmedan/berita178pengenalan-nematodaparasit-akar-pada-tanaman-kopi.html> Diakses tanggal 25 Februari 2015.
- Hartatik dan Widodoati. 2010. *Pupuk Kandang.* (Serial on line) <http://balittanahlitbang>. [20 September 2015].
- Hatmanti A. 2000. *Pengenalan Bacillus Spp.* Oseana, 25(1): 31-41.
- Heekyung, L. 2013. *Classification of Brevundimonas diminuta.* [Serial on line]. <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Brevundimonasdiminuta>. [26 Maret 2015].

- Holt, J.G, et.al. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th Ed. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Hsu, S.T., C.C. Chen, H.Y. Liu, and K.C. Tzeng. 1994. *Colonization of Roots and Kontrol of Bacterial Wilt of Tomato by Pseudomonas fluorescens*. In Hartman, G. L, and A.C. Hayward. (Eds.). Bacterial Wilt. Proceeding Of an International Conference Aciar. 45: 305-311.
- Ismayana, Andesdan Afriyanto, M. R. 2010. Pengaruh Jenis Dan Kadar Bahan Perekat Pada Pembuatan Briket Blotong Sebagai Bahan Bakar Alternatif. *J. Tek. Ind. Pert.* Vol. 21 (3): 186-193.
- Jenkins, RO. 1992. *Control of environment factors in fluencing growth*. Dalam in Vitro Cultivation of Microorganisms. Cartledge, TG. (Ed.)
- Johnson, Arthur. G dkk. 2001. *Mikrobiologi dan Immunologi*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Jones, K.A and Burges, H.D. 1998. *Technology of formulation and application*. In: H.D. Burges (ed.). Formulation of Microbial Biopesticides- Beneficial Microorganism, Nematodes and Seed Treatment. Kluwer Academic Publ. Dordrcht. Pp. 7-30.
- Kementerian Pendidikan Nasional. 2010. Pedoman Sosialisasi Prosedur Operasi Standar (Pos). [Serial on line]. luk.staff.ugm.ac.id/atur/rbi/SosialisasiPOS.pdf. [30 Maret 2015].
- Krieg, N.R. & Holtt, J.G. 1984-1989. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore and London.
- Kusumatingtyas, Resti. 2015. Efektivitas Formulasi Bakteri Berbahan Aktif Pseudomonas Diminuta, Pseudomonas Mallei, Dan Bacillus Mycoides Pada Berbagai Bahan Pembawa Sebagai Bionematisida Untuk Mengendalikan Nematoda Sista Kentang (*Globodera rostochiensis*). *Skripsi*. Jember: Fakultas Pertanian Universitas Jember.
- Leovici, Helena. 2012. Pemanfaatan Blotong Pada Budidaya Tebu (*Saccharum officinarum* L.) di lahan kering. *Makalah Seminar Umum*. Yogyakarta. Agronomi Universitas Gadjah Mada. litbang. [20 September 2015].
- MacDonald Bryan, Adams Christopher, Smith Kyle. 2010. *Unknown isolate morphology (Enlarged view)*. ASMMicrobeLibrary. <http://www.microbelibrary.org/library/2-associated-figure-resource/2092-unknown-isolate-morphology-enlarged-view>. [20 September 2015].

- McMilan, S. 2007. *Promoting Growth with PGPR the Canadian Organics Grower*. SoilFoodweb Canada Ltd. Soil Biology Lab & Learning Centre.
- Muraleedharan, H., Seshadri, dan K. Perumal. 2010. *Biofertilizer Phosphobacteria*. Shri AMM MurugappaChettiar Research Centre Chennai.
- Nazir, R, Jan A. Warmink, HiddeBoersma, and Jan Dirk van Elsas. 2010. Mechanism that promote bacterial fitness in fungal-affected soil microhabitats. *FEMS Microbiol Ecol*. 71: 169-185.
- Nunang, L.M. 2011. Diversitas Bakteri Asal Spora Fungi Mikoriza Arbuskula Gigaspora Sp. Dan Glomus Sp. Serta Potensinya Sebagai Mycorrhiza Helper Bacteria. *Tesis Sekolah Pascasarjana IP*. Bogor. 63p.
- Pakpahan, P. R. 2014. *Skripsi Keefektifan Media Booklet Terhadap Peningkatan Pengetahuan Dan Sikap Tentang Rokok Dan Bahayanya Di SDN 01 Panjang Selatan Kecamatan Panjang Bandar Lampung*. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Lampung.
- Purnomo, Imam. 2010. Pemanfaatan Limbah Tahu Menjadi Produk Nata De Soya, Solusi Penanganan Lingkungan. *Biofarm Jurnal Pertanian*, 13(9):73-80.
- Purwaningsih, E. 2011. *Pengaruh pemberian kompos blotong, legin, dan mikoriza terhadap serapan hara N dan P tanaman kacang tanah*. Widya Warta No 02 Tahun XXXV.
- Rao, N. S. 1982. *Biofertilizers in Agriculture*. Oxford & IBH Publishing Co. Oxford.
- Ravensberg, Willem. J. 2011. *A Roadmap to the Successful Development and Commercialization of Microbial Pest Control Products for Control of Arthropods*. New York: Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- Rigamonte, T.A., Pylro, V.S., Duarte, G.F. 2010. The Role of Mycorrhiza Helper Bacteria in the Establishment and Action of Ectoycorrhizae Associations. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41: 832-840.
- Rogers, Julie, Dowsett, Dennis, Lee dan Keevil. 1994. Influence of Plumbing Materials on Biofilm Formation and Growth of *Legionella pneumophila* in Potable Water Systems. *Applied and Environmental Microbiology*. American Society for Microbiology. Vol 60. No.6

- Saefudin dan Setiawan. 2006. *Teknik Pembuatan Leaflet Untuk Kegiatan Marketing Informasi di Perpustakaan*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Jawa Barat.
- Segers, P., Vancanneyt, M., Pot, B., Torck, U., Hoste, B., Dewettinck, D., Falsen, E., Kersters, K., Vos, P.D. 1994. *Classification of Pseudomonas diminuta Leifson and Hugh 1954 and Pseudomonas vesicularis Busing, Doll, and Freytag 1953 in Brevundimonas gen. nov. as Brevundimonas diminuta comb. nov. and Brevundimonas vesicularis comb. nov.*, Respectively. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44(3): 499-510
- Serfoji, P., Rajeshkumar, S., dan Selvaraj, T. 2010. *Management of root-knot nematoda, Meloidogyne incognita on tomato cv Pusa Ruby*. by using Perkebunan Surabaya.
- Setiawan, A. I. 1998. *Memfaatkan Kotoran Ternak*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Setiawan, A.I. 2002. *Memfaatkan Kotoran Ternak*. Jakarta: Cetakan ke tiga Penebar Swadaya.
- Shehata, Fawzy S, Borollosy AM. 2008. Induction of resistance against Zucchini yellow mosaic potyvirus and growth enhancement of squash plants using some plant growth promoting rhizobacteria. *Australian Journal of basic and applied sciences* 2: 174-182.
- Siddiqui, A.Z dan Pichtel. 2008. *Mycorrhizae: an Overview, Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry*. Verlag Berlin Heidelberg: Springer.
- Utami, 2001. Isolasi dan Identifikasi Fungi Mikoriza Arbuskular (Fma) secara Mikroskopis pada Rhizosfer Tanaman Jeruk (Citrus sp.) di Desa Kerta, Kecamatan Payangan, Kabupaten Gianyar. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. ISSN: 2301-6515.
- Utami, J. 2011. Pengaruh Konsentrasi Induser Dan Penambahan Kofaktor Enzim Terhadap Produksi Ekstrak Kasar Enzim Lipase Ekstraseluler Oleh *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatra Utara.
- Vega, R. 2011. *Leaflet dan Pamphlet* [Serial on line]. <http://id.scribd.com/doc/57196210/LeafletDan-Pamphlet#scribd>. [30 Maret 2015].
- Vivas A, Barea JM, Azcon R. 2005. *Brevibacillus brevis isolated from cadmium- or zincontaminated soils improves in vitro spore germination and growth of Glomus mosseae under high Cd or Zn Concentrations*. *Microbial Ecol* 49:416-424.

- Xavier LJC, Germida JJ. 2003. *Bacteria associated with Glomus clarum spores influence mycorrhizal activity*. Soil Biol Biochem 35:471-478.
- Yazid M, Bastianudin Aris. 2010. Pengaruh Stimulan Asam Asetat Terhadap Efisiensi Pengikatan Uranium dalam Bioremediasi Lingkungan Menggunakan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. *Skripsi*. Yogyakarta. Pusat Teknologi Akselerator dan Proses Bahan-Batan.
- Yuliani Farida, Nugraheni Fitri. 2010. Pembuatan Pupuk Organik (Kompos) Dari Arang Ampas Tebu Dan Limbah Ternak. *Skripsi*. Kudus. Universitas Muria Kudus.

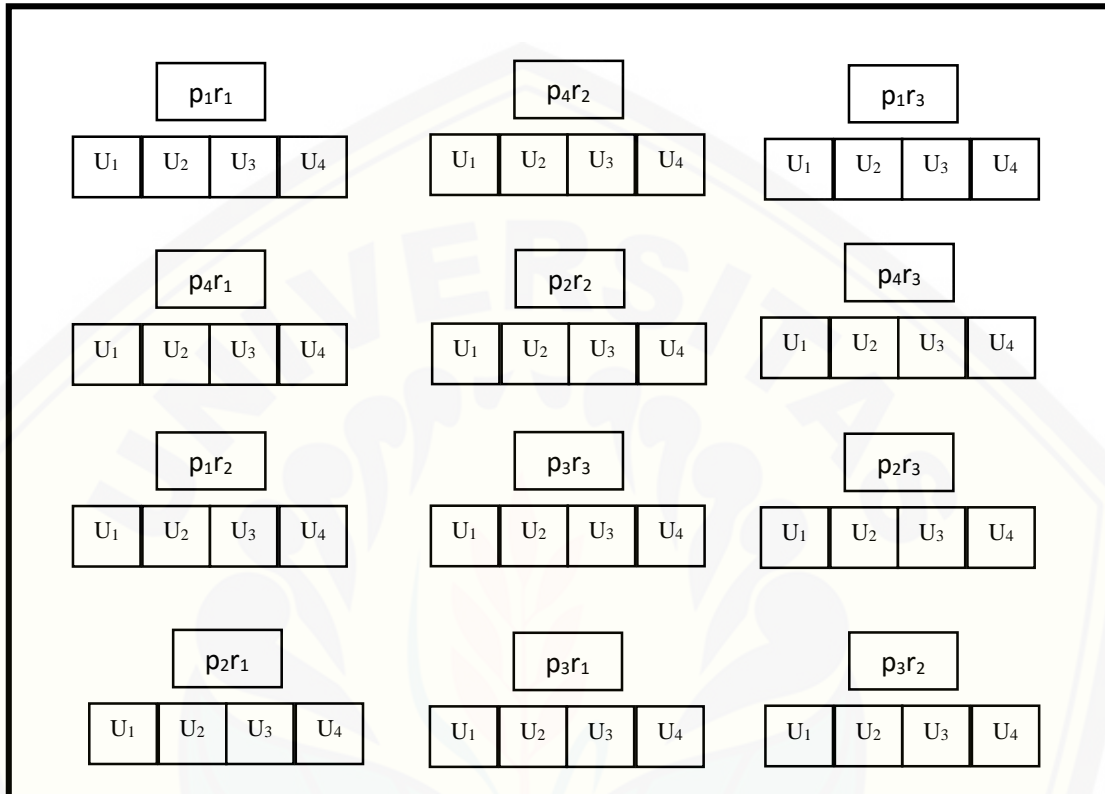


Lampiran A. Matriks Penelitian

Judul	Latar Belakang	Rumusan Masalah	Variabel	Indikator	Sumber Data	Metode Penelitian
<p>PENGARUH BAHAN PEMBAWA LIMBAH PADAT BLOTONG DAN PUPUK KANDANG SAPI TERHADAP KERAPAN SEL BAKTERI HASIL FORMULASI <i>Mycorrhiza Helper Bacteria (Pseudomonas diminuta dan Bacillus subtilis)</i> DAN</p>	<p>Serangan organisme pengganggu tanaman (OPT) yang meliputi organisme hama, penyakit dan tumbuhan gulma merupakan kendala utama dalam budidaya tanaman. Andalan utama pengendalian yang selama ini dilakukan ialah menggunakan pestisida kimia (Purnomo, 2010). Penggunaan pestisida kimia telah menimbulkan dampak negatif pada kesehatan manusia dan lingkungan, juga menyebabkan resistensi OPT. Oleh karena itu dibutuhkan pengendalian agen hayati.</p> <p>Agen hayati yang dapat digunakan agar lebih ramah lingkungan dan harga yang terjangkau dapat memanfaatkan mikoriza. <i>Mycorrhiza Helper Bacteria</i> (MHB), yaitu kelompok bakteri yang mampu meningkatkan kolonisasi akar atau pertumbuhan hifa (Garbaye, 1994).</p> <p>MHB yang membantu mikoriza diantaranya dari genus</p>	<p>e. Adakah pengaruh bahan pembawa (Limbah blotong dan pupuk kandang sapi) terhadap kerapatan sel bakteri (<i>Pseudomonas diminuta</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>)?</p> <p>f. Bahan pembawa padat manakah yang terbaik terhadap kerapatan sel bakteri (<i>Pseudomonas diminuta</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>) ?</p> <p>g. Berapakah kerapatan sel awal bakteri (<i>Pseudomonas diminuta</i> dan</p>	<p>a. Variabel bebas: V kerapatan awal sel bakteri yang digunakan yaitu 10^8 dan 10^9, Perbedaan bahan pembawa yang digunakan yaitu limbah blotong dan pupuk kandang sapi.</p> <p>b. Variabel terikat: kerapatan sel akhir bakteri <i>P. diminuta</i> dan <i>B. subtilis</i>.</p> <p>c. Variabel kontrol:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bahan perbanyakan bakteri • Tingkat pengenceran bakteri <i>P. diminuta</i> dan <i>B. subtilis</i> untuk 	<p>Viabilitas (kerapatan sel dan Ph bakteri <i>P. diminuta</i> dan <i>B. subtilis</i>) selama 3 hari, 7 hari, 30 hari, 60 hari dengan Bahan Pembawa Limbah Padat Blotong dan Pupuk Kandang Sapi</p>	<p>Hasil pengukuran kadar air pada limbah serta hasil pengukuran viabilitas bakteri dengan mengukur pH dan menghitung kerapatan sel bakteri.</p>	<p>1. Jenis penelitian: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dilanjutkan dengan penyusunan leaflet.</p> <p>2. Tempat penelitian: Laboratorium sub Mikrobiologi FKIP Biologi Universitas Jember.</p> <p>3. Waktu penelitian: Dilaksanakan pada 15 November</p>

<p>PEMANFAATANNYA SEBAGAI LEAFLET</p>	<p><i>Pseudomonas</i> dan <i>Bacillus</i>. <i>Pseudomonas diminuta</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> Apabila ingin memanfaatkan MHB khususnya bakteri <i>Pseudomonas diminuta</i> dan <i>Bacillus subtilis</i> sebagai penanganan secara organik terhadap serangan Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT), kita membutuhkan media pembawa sebagai tempat pertumbuhan bakteri. Media pembawa merupakan bahan yang dicampurkan dengan organisme dilengkapi dengan bahan tambahan untuk memaksimalkan kemampuan bertahan hidup dipenyimpanan. Formulasi biopestisida mikroba dapat berupa cair maupun kering. Dengan demikian dilakukan penelitian dengan judul “Pengaruh Bahan Pembawa Limbah Padat Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri Hasil Formulasi Mycorrhiza Helper Bacteria (<i>Pseudomonas diminuta</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>) dan Pemanfaatannya sebagai Leaflet”.</p>	<p><i>Bacillus subtilis</i>) yang memiliki nilai tertinggi? h. Layakkah hasil penelitian tentang Pengaruh bahan pembawa padat terhadap Kerapatan sel bakteri hasil formulasi MHB (<i>Pseudomonas diminuta</i> dan <i>Bacillus subtilis</i>) digunakan sebagai bahan penyusunan Leaflet ?</p>	<p>formulasi yaitu 10^{-6}.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Biakan bakteri • Metode yang digunakan untuk menanam bakteri <i>P. diminuta</i> dan <i>B. subtilis</i> pada cawan petri yaitu metode spread plate dengan volume 0,01 ml. • Medium yang digunakan pada saat spread plate yaitu menggunakan medium selektif <i>Pseudomonas</i> dan ATTC. • Tempat penyimpanan. Formulasi 		<p>2015 hingga 16 Februari 2016.</p>
--	--	--	--	--	--------------------------------------

Lampiran B. Desain Tata Letak Unit Percobaan Penelitian



Keterangan:

- p_{1r_1} : Formulasi MHB dalam limbah blotong 10^8 ulangan 1
- p_{1r_2} : Formulasi MHB dalam limbah blotong 10^8 ulangan 2
- p_{1r_3} : Formulasi MHB dalam limbah blotong 10^8 ulangan 3
- p_{2r_1} : Formulasi MHB dalam limbah blotong 10^9 ulangan 1
- p_{2r_2} : Formulasi MHB dalam limbah blotong 10^9 ulangan 2
- p_{2r_3} : Formulasi MHB dalam limbah blotong 10^9 ulangan 3
- p_{3r_1} : Formulasi MHB dalam pupuk kandang sapi 10^8 ulangan 1
- p_{3r_2} : Formulasi MHB dalam pupuk kandang sapi 10^8 ulangan 2
- p_{3r_3} : Formulasi MHB dalam pupuk kandang sapi 10^8 ulangan 3
- p_{4r_1} : Formulasi MHB dalam pupuk kandang sapi 10^9 ulangan 1
- p_{4r_2} : Formulasi MHB dalam pupuk kandang sapi 10^9 ulangan 2
- p_{4r_3} : Formulasi MHB dalam pupuk kandang sapi 10^9 ulangan 3
- U₁: Pengamatan untuk hari ke-3
- U₂: Pengamatan untuk hari ke-7
- U₃: Pengamatan untuk hari ke-30
- U₄: Pengamatan untuk hari ke-60

Lampiran C.

C 1. Instrumen Validasi Leaflet

“Formulasi Pupuk Hayati Padat Berbahan Aktif *Mycorrhiza Helper Bacteria* (MHB)”

I. Identitas Peneliti

Nama : Rizka Haqi Abadi
NIM : 120210103100
Jurusan/Program Studi : Pendidikan MIPA/Pendidikan Biologi
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
(FKIP) Universitas Jember

II. Pengantar

Dalam rangka menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada program studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, penulis melaksanakan penelitian sebagai salah satu bentuk tugas akhir dan kewajiban yang harus diselesaikan. Judul penelitian yang dilakukan penyusun adalah “Pengaruh Bahan Pembawa Limbah Padat Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri Hasil Formulasi *Mycorrhiza Helper Bacteria* (*Pseudomonas diminuta* dan *Bacillus subtilis*) dan Pemanfaatannya sebagai Leaflet”.

Untuk mencapai tujuan tersebut, penulis dengan hormat meminta kesediaan Bapak/Ibu untuk membantu dalam menilai produk Leaflet dengan melakukan pengisian lembar uji validitas yang peneliti ajukan sesuai dengan keadaan sebenarnya. Kerahasiaan jawaban serta identitas Bapak/Ibu akan dijamin oleh kode etik dalam penelitian. Penulis menyampaikan banyak terima kasih atas perhatian dan kesediaan Bapak/Ibu untuk mengisi lembar validitas uji produk edukatif yang sudah diajukan.

Hormat saya, penulis

I. Identitas Validator (Materi)

Nama :

Alamat :

No. Telp/Hp :

Pekerjaan :

II. Keterangan Skor Penilaian

Kualifikasi	Skor	Penilaian
Kurang	1	Semua unsur yang ada tidak sesuai dan banyak kekurangan sehingga perlu banyak perbaiki untuk dijadikan Leaflet
Cukup	2	Terdapat beberapa kesalahan ataupun kekurangan dari unsur yang dituliskan atau materi yang disajikan, sehingga perlu perbaiki untuk digunakan sebagai Leaflet
Baik	3	Semua unsur sudah sesuai walaupun terdapat beberapa kesalahan didalamnya, namun tetap dapat dijadikan sebagai Leaflet
Sangat Baik	4	Semua unsur sangat sesuai dan tidak ada kekurangan maupun kesalahan didalamnya, sehingga sangat layak untuk dijadikan Leaflet

III. Petunjuk

1. Mohon Bapak/Ibu memberikan penilaian dengan memberi tanda *checklist* (v) pada kolom nilai yang disediakan.
2. Mohon memberikan saran pada bagian komentar di bagian akhir instrumen validasi ini.

IV. Instrumen Penilaian

No	Indikator	Skor			
		1	2	3	4
1	Materi yang disajikan aktual dan bermanfaat				
2	Materi yang disampaikan sesuai dengan keadaan yang berhubungan dengan kehidupan sehari-hari				
3	Materi yang disampaikan berisi Sampul Leaflet, Unsur dasar atau pendahuluan, Pustaka Singkat, dan Isi Leaflet (Pembahasan)				
4	Materi yang disampaikan bersifat informatif bagi masyarakat				
5	Penyajian materi/isi disusun secara sistematis, lugas, dan mudah dipahami oleh masyarakat				
6	Materi merupakan karya orisinal (bukan hasil plagiat)				
7	Materi memiliki kebenaran keilmuan, sesuai dengan perkembangan ilmu yang akurat.				
8	Ilustrasi (gambar, foto, diagram atau tabel) yang digunakan sesuai				
9	Bahasa (EYD, kata, kalimat, dan paragraf) digunakan dengan tepat, lugas, dan jelas sehingga mudah dipahami masyarakat				
10	Penyajian materi sebagai pengembangan pengetahuan untuk menambah wawasan yang lebih luas				
11	Penyajian materi mengembangkan keterampilan, dan memotivasi untuk berinovasi				
TOTAL SKOR					

V. Komentar:

.....

.....

.....

.....

Kesimpulan:

Dilihat dari semua aspek, apakah Leaflet layak atau tidak layak untuk digunakan pada masyarakat?

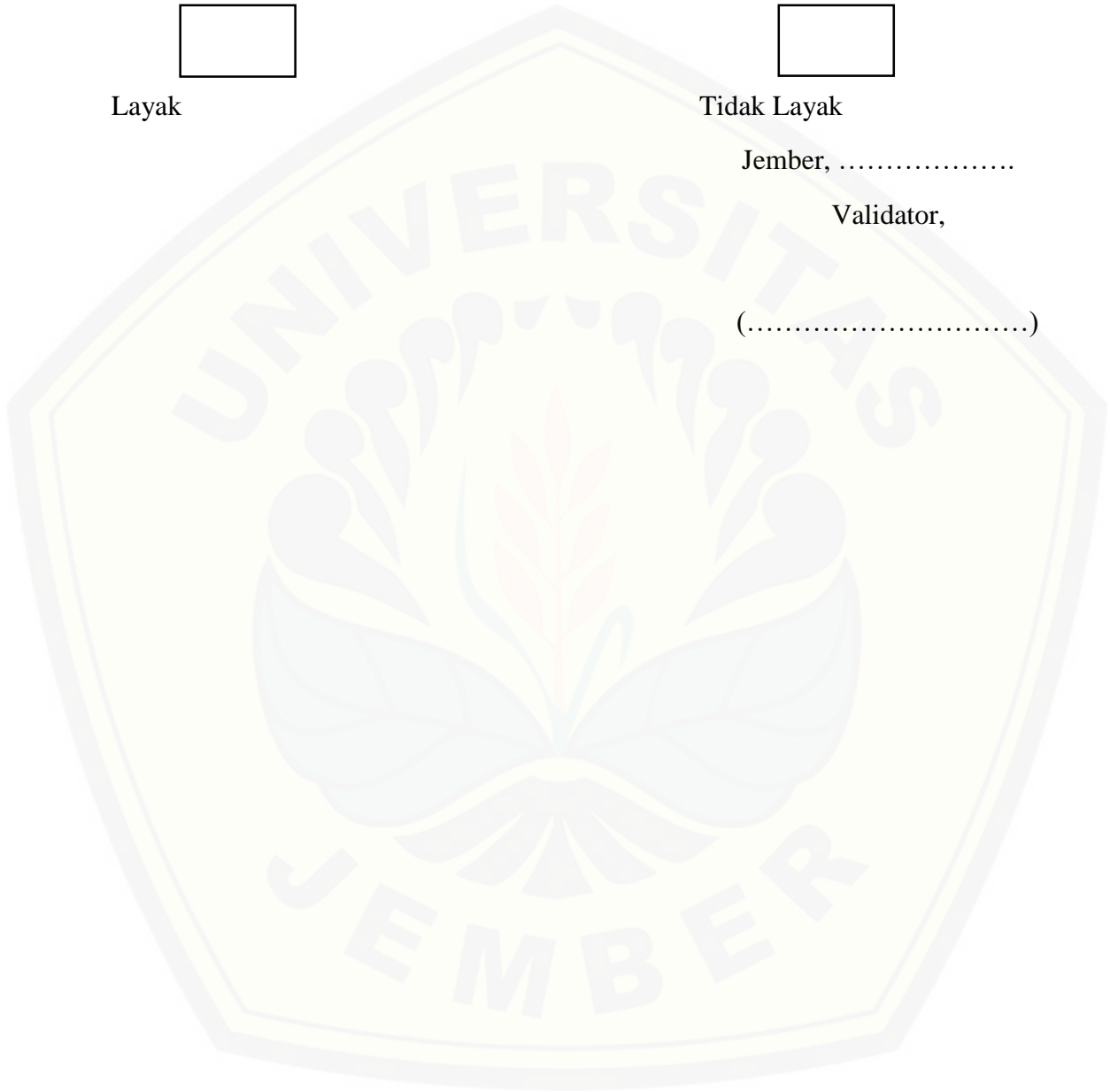
Layak

Tidak Layak

Jember,

Validator,

(.....)



I. Identitas Validator (Media)

Nama :
 Alamat :
 No. Telp/Hp :
 Pekerjaan :

II. Keterangan Skor Penilaian

Kualifikasi	Skor	Penilaian
Kurang	1	Semua unsur yang ada tidak sesuai dan banyak kekurangan sehingga perlu banyak perbaiki untuk dijadikan Leaflet
Cukup	2	Terdapat beberapa kesalahan ataupun kekurangan dari unsur yang dituliskan atau materi yang disajikan, sehingga perlu perbaiki untuk digunakan sebagai Leaflet
Baik	3	Semua unsur sudah sesuai walaupun terdapat beberapa kesalahan didalamnya, namun tetap dapat dijadikan sebagai Leaflet
Sangat Baik	4	Semua unsur sangat sesuai dan tidak ada kekurangan maupun kesalahan didalamnya, sehingga sangat layak untuk dijadikan Leaflet

III. Petunjuk

1. Mohon Bapak/Ibu memberikan penilaian dengan memberi tanda *checklist* (v) pada kolom nilai yang disediakan.
2. Mohon memberikan saran pada bagian komentar di bagian akhir instrumen validasi ini.

IV. Instrumen Penilaian

No	Indikator	Skor			
		1	2	3	4
1	Desain fisik dan pemilihan warna tiap bagian terlihat serasi.				
2	Kemenarikan Layout				
3	Kesinambungan transisi halaman				
4	Ketepatan penggunaan gambar, ilustrasi, dan foto serta kesesuaiannya dengan materi yang dibahas				
5	Kesesuaian penggunaan variasi jenis, ukuran, dan bentuk huruf untuk judul dan uraian materi.				
6	Keruntutan penyajian bersifat sistematis				
7	Narasi yang disajikan padat dan jelas				
8	Jenis kertas yang digunakan sesuai standar minimal Leaflet				
9	Ukuran Leaflet sesuai dengan standar minimal Leaflet				
10	Desain tidak menimbulkan masalah SARA				
11	Penyajian bahasa yang digunakan terlihat etis, estetis, komunikatif, informatif sesuai dengan sasaran pembaca.				
TOTAL SKOR					

V. Komentar

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Kesimpulan:

Dilihat dari semua aspek, apakah Leaflet layak atau tidak layak untuk digunakan pada masyarakat?

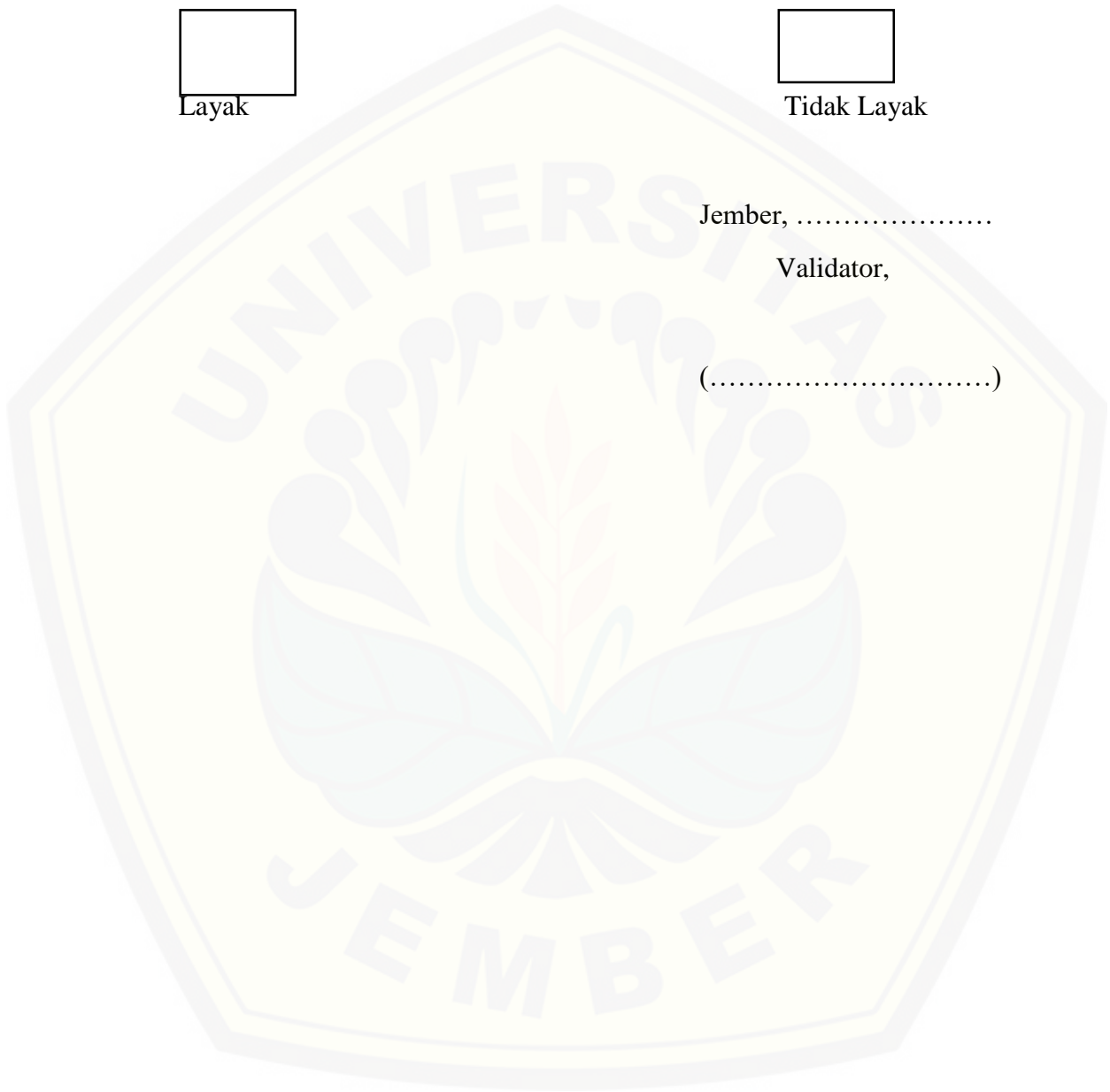
Layak

Tidak Layak

Jember,

Validator,

(.....)



Lampiran C 2. Leaflet



Lampiran C 3. Hasil Validasi Leaflet

Validator Materi

IV. Instrumen Penilaian

No	Indikator	Skor			
		1	2	3	4
1	Materi yang disajikan aktual dan bermanfaat			✓	
2	Materi yang disampaikan sesuai dengan keadaan yang berhubungan dengan kehidupan sehari-hari				✓
3	Materi yang disampaikan berisi Sampul leaflet, Unsur dasar atau pendahuluan, Pustaka Singkat, dan Isi leaflet (Pembahasan)			✓	
4	Materi yang disampaikan bersifat informatif bagi masyarakat				✓
5	Penyajian materi/isi disusun secara sistematis, lugas, dan mudah dipahami oleh masyarakat			✓	
6	Materi merupakan karya orisinal (bukan hasil plagiat)			✓	
7	Materi memiliki kebenaran keilmuan, sesuai dengan perkembangan ilmu yang akurat.				✓
8	Ilustrasi (gambar, foto, diagram atau tabel) yang digunakan sesuai			✓	
9	Bahasa (EYD, kata, kalimat, dan paragraf) digunakan dengan tepat, lugas, dan jelas sehingga mudah dipahami masyarakat			✓	
10	Penyajian materi sebagai pengembangan pengetahuan untuk menambah wawasan yang lebih luas				✓
11	Penyajian materi mengembangkan keterampilan, dan memotivasi untuk berinovasi			✓	
TOTAL SKOR					

V. Komentar:

Apakah Mycorrhiza selalu ada dan beraturan
 di permukaan kalau tidak apa perlu di cek kultur
 di bawah mikroskop?

Kesimpulan:
Dilihat dari semua aspek, apakah leaflet layak atau tidak layak untuk digunakan pada masyarakat?

Layak

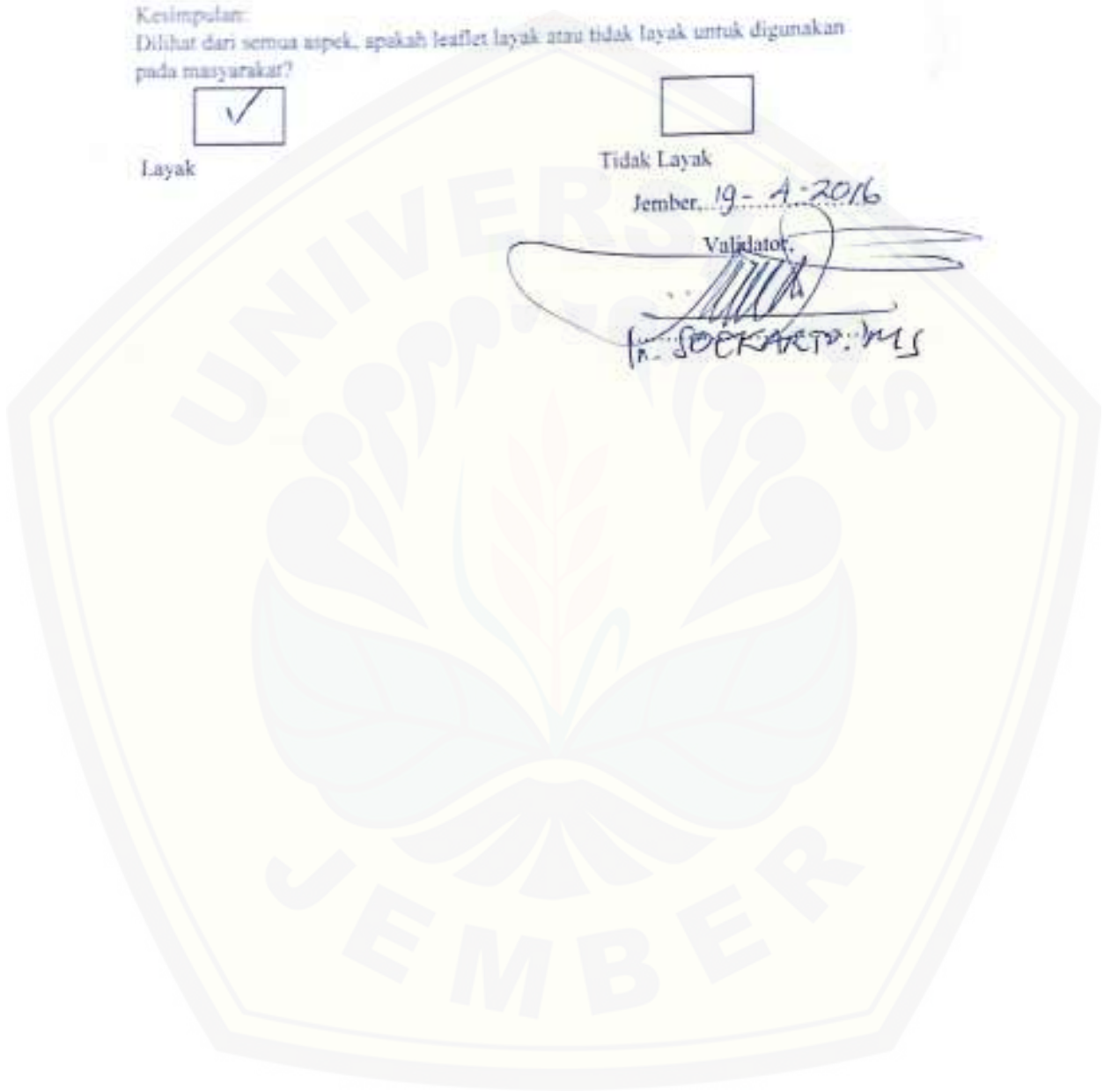
Tidak Layak

Jember, 19 - A - 2016

Validator,



In. SOEKARNO, M.S.



Validator Media

IV. Instrumen Penilaian

No	Indikator	Skor			
		1	2	3	4
1	Desain fisik dan pemilihan warna tiap bagian terlihat serasi.				✓
2	Kemenarikan Layout				✓
3	Kesinambungan transisi halaman			✓	
4	Ketepatan penggunaan gambar, ilustrasi, dan foto serta kesesuaiannya dengan materi yang dibahas				✓
5	Kesesuaian penggunaan variasi jenis, ukuran, dan bentuk huruf untuk judul dan uraian materi.			✓	
6	Keruntutan penyajian bersifat sistematis				✓
7	Narasi yang disajikan padat dan jelas				✓
8	Jenis kertas yang digunakan sesuai standar minimal leaflet			✓	
9	Ukuran leaflet sesuai dengan standar minimal leaflet				✓
10	Desain tidak menimbulkan masalah SARA				✓
11	Penyajian bahasa yang digunakan terlihat etis, estetik, komunikatif, informatif sesuai dengan sasaran pembaca.				✓
TOTAL SKOR				9	32 = 41

V. Komentar

- Beberapa salah tulis, alihkan perbaikan
- Balok P. dminuta, B. Subtilis, cantumkan perbedaan konsep
- Nama Penulis... ditambahkan ya
- Tuktan ket gambar kesetimbangan... piple kayati padat... tidak jelas

Kesimpulan:

Dilihat dari semua aspek, apakah leaflet layak atau tidak layak untuk digunakan pada masyarakat?

Layak

Tidak Layak

Jember, 14 April 2016.

Validator,

(Ka. Ua. Novenda Dpd., M. Pd)

Lampiran D. Hasil Data Anova

Lampiran D1. Hasil Anova Pengaruh Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri *B. subtilis*

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H1 P1	3	1,6350E8	2,52991E8	1,46064E8	-4,6496E8	7,9196E8	10000000,00	4,56E8
P2	3	4,4167E7	2,23178E7	1,28852E7	-1,1274E7	9,9607E7	20000000,00	64000000,00
P3	3	3,5167E7	3,12823E7	1,80609E7	-4,2543E7	1,1288E8	11000000,00	70500000,00
P4	3	4,2833E7	2,02752E7	1,17059E7	-7,5330E6	9,3200E7	22000000,00	62500000,00
Total	12	7,1417E7	1,22787E8	3,54455E7	-6,5984E6	1,4943E8	10000000,00	4,56E8
H2 P1	3	1,1033E8	4,08728E7	2,35979E7	8,7997E6	2,1187E8	64500000,00	1,43E8
P2	3	5,1000E7	1,45258E7	8,38650E6	1,4916E7	8,7084E7	37000000,00	66000000,00
P3	3	2,8167E7	2,17332E7	1,25477E7	-2,5822E7	8,2155E7	8500000,00	51500000,00
P4	3	1,1667E7	1,43643E7	8,29324E6	-2,4016E7	4,7350E7	1000000,00	28000000,00
Total	12	5,0292E7	4,46005E7	1,28750E7	2,1954E7	7,8629E7	1000000,00	1,43E8
H3 P1	3	7,6167E7	2,17505E7	1,25576E7	2,2135E7	1,3020E8	60500000,00	1,01E8
P2	3	3,0333E7	1,88171E7	1,08641E7	-1,6411E7	7,7078E7	12500000,00	50000000,00
P3	3	1,1500E7	1,16512E7	6,72681E6	-1,7443E7	4,0443E7	2000000,00	24500000,00
P4	3	4,6833E7	6,74117E7	3,89201E7	-1,2063E8	2,1429E8	3500000,00	1,24E8
Total	12	4,1208E7	4,02020E7	1,16053E7	1,5665E7	6,6751E7	2000000,00	1,24E8
H4 P1	3	4,8167E7	2,37504E7	1,37123E7	-1,0833E7	1,0717E8	21000000,00	65000000,00
P2	3	4,4833E7	2,19108E7	1,26502E7	-9,5961E6	9,9263E7	20500000,00	63000000,00
P3	3	1,3700E8	1,42982E8	8,25505E7	-2,1819E8	4,9219E8	49500000,00	3,02E8
P4	3	5,6167E7	3,58829E7	2,07170E7	-3,2971E7	1,4530E8	33000000,00	97500000,00
Total	12	7,1542E7	7,56149E7	2,18281E7	2,3498E7	1,1959E8	20500000,00	3,02E8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
H1 Treatment	3,406E16	3	1,135E16	,689	,584
Error	1,318E17	8	1,647E16		
Total	1,658E17	11			
H2 Treatment	1,676E16	3	5,587E15	8,729	,007
Error	5,120E15	8	6,401E14		
Total	2,188E16	11			
H3 Treatment	6,764E15	3	2,255E15	1,638	,256
Error	1,101E16	8	1,377E15		
Total	1,778E16	11			
H4 Treatment	1,734E16	3	5,781E15	1,015	,435
Error	4,555E16	8	5,694E15		
Total	6,289E16	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
H1 LSD	P1	P2	1,19333E8	1,04795E8	,288	-1,2232E8	3,6099E8
		- P3	1,28333E8	1,04795E8	,256	-1,1332E8	3,6999E8
		P4	1,20667E8	1,04795E8	,283	-1,2099E8	3,6232E8
	P2	P1	-1,19333E8	1,04795E8	,288	-3,6099E8	1,2232E8
		- P3	9,00000E6	1,04795E8	,934	-2,3266E8	2,5066E8
		P4	1,33333E6	1,04795E8	,990	-2,4032E8	2,4299E8
	P3	P1	-1,28333E8	1,04795E8	,256	-3,6999E8	1,1332E8
		- P2	-9,00000E6	1,04795E8	,934	-2,5066E8	2,3266E8
		P4	-7,66667E6	1,04795E8	,943	-2,4932E8	2,3399E8
	P4	P1	-1,20667E8	1,04795E8	,283	-3,6232E8	1,2099E8
		- P2	-1,33333E6	1,04795E8	,990	-2,4299E8	2,4032E8
		P3	7,66667E6	1,04795E8	,943	-2,3399E8	2,4932E8
H2 LSD	P1	P2	5,93333E7	2,06569E7	,021	1,1698E7	1,0697E8
		- P3	8,21667E7	2,06569E7	,004	3,4532E7	1,2980E8
		P4	9,86667E7	2,06569E7	,001	5,1032E7	1,4630E8
	P2	P1	-5,93333E7	2,06569E7	,021	-1,0697E8	-1,1698E7
		- P3	2,28333E7	2,06569E7	,301	-2,4802E7	7,0468E7
		P4	3,93333E7	2,06569E7	,093	-8,3016E6	8,6968E7
	P3	P1	-8,21667E7	2,06569E7	,004	-1,2980E8	-3,4532E7
		- P2	-2,28333E7	2,06569E7	,301	-7,0468E7	2,4802E7
		P4	1,65000E7	2,06569E7	,447	-3,1135E7	6,4135E7
	P4	P1	-9,86667E7	2,06569E7	,001	-1,4630E8	-5,1032E7
		- P2	-3,93333E7	2,06569E7	,093	-8,6968E7	8,3016E6
		P3	-1,65000E7	2,06569E7	,447	-6,4135E7	3,1135E7
H3 LSD	P1	P2	4,58333E7	3,02965E7	,169	-2,4030E7	1,1570E8
		- P3	6,46667E7	3,02965E7	,065	-5,1971E6	1,3453E8
		P4	2,93333E7	3,02965E7	,361	-4,0530E7	9,9197E7
	P2	P1	-4,58333E7	3,02965E7	,169	-1,1570E8	2,4030E7
		- P3	1,88333E7	3,02965E7	,551	-5,1030E7	8,8697E7
		P4	-1,65000E7	3,02965E7	,601	-8,6364E7	5,3364E7
	P3	P1	-6,46667E7	3,02965E7	,065	-1,3453E8	5,1971E6
		- P2	-1,88333E7	3,02965E7	,551	-8,8697E7	5,1030E7
		P4	-3,53333E7	3,02965E7	,277	-1,0520E8	3,4530E7
	P4	P1	-2,93333E7	3,02965E7	,361	-9,9197E7	4,0530E7
		- P2	1,65000E7	3,02965E7	,601	-5,3364E7	8,6364E7
		P3	3,53333E7	3,02965E7	,277	-3,4530E7	1,0520E8

H4	LSD	P1	P2	3,33333E6	6,16110E7	,958	-1,3874E8	1,4541E8
			- P3	-8,88333E7	6,16110E7	,187	-2,3091E8	5,3242E7
			P4	-8,00000E6	6,16110E7	,900	-1,5008E8	1,3408E8
		P2	P1	-3,33333E6	6,16110E7	,958	-1,4541E8	1,3874E8
			- P3	-9,21667E7	6,16110E7	,173	-2,3424E8	4,9909E7
			P4	-1,13333E7	6,16110E7	,859	-1,5341E8	1,3074E8
		P3	P1	8,88333E7	6,16110E7	,187	-5,3242E7	2,3091E8
			- P2	9,21667E7	6,16110E7	,173	-4,9909E7	2,3424E8
			P4	8,08333E7	6,16110E7	,226	-6,1242E7	2,2291E8
		P4	P1	8,00000E6	6,16110E7	,900	-1,3408E8	1,5008E8
			- P2	1,13333E7	6,16110E7	,859	-1,3074E8	1,5341E8
			P3	-8,08333E7	6,16110E7	,226	-2,2291E8	6,1242E7

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		H1	H2	H3	H4
N		12	12	12	12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	7,1417E7	5,0292E7	4,1208E7	7,1542E7
	Std. Deviation	1,22787E8	4,46005E7	4,02020E7	7,56149E7
Most Extreme Differences	Absolute	,420	,196	,207	,368
	Positive	,420	,196	,207	,368
	Negative	-,308	-,135	-,165	-,250
Kolmogorov-Smirnov Z		1,454	,678	,718	1,274
Asymp. Sig. (2-tailed)		,029	,748	,680	,078

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran D2. Hasil Anova Pengaruh Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri *P. diminuta*

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
h1 P1	3	8,5500E7	1,10761E8	6,39479E7	-1,8965E8	3,6065E8	3500000,00	2,12E8
P2	3	2,3667E7	1,45974E7	8,42780E6	-1,2595E7	5,9929E7	14500000,00	40500000,00
P3	3	2,3333E7	5,50757E6	3,17980E6	9,6518E6	3,7015E7	17000000,00	27000000,00
P4	3	3,0000E7	1,46031E7	8,43109E6	-6,2761E6	6,6276E7	16500000,00	45500000,00
Total	12	4,0625E7	5,52589E7	1,59519E7	5,5151E6	7,5735E7	3500000,00	2,12E8
h2 P1	3	7,8167E7	5,03620E7	2,90765E7	-4,6940E7	2,0327E8	20500000,00	1,14E8
P2	3	5,8667E7	5,96999E7	3,44678E7	-8,9636E7	2,0697E8	21000000,00	1,28E8
P3	3	3,4667E7	1,10943E7	6,40529E6	7,1069E6	6,2226E7	25500000,00	47000000,00
P4	3	2,5000E7	1,77764E7	1,02632E7	-1,9159E7	6,9159E7	5000000,00	39000000,00
Total	12	4,9125E7	4,07381E7	1,17601E7	2,3241E7	7,5009E7	5000000,00	1,28E8
h3 P1	3	7,6667E7	2,22280E7	1,28333E7	2,1449E7	1,3188E8	56500000,00	1,00E8
P2	3	1,0833E8	7,73116E7	4,46359E7	-8,3719E7	3,0039E8	60000000,00	1,98E8
P3	3	1,0533E8	1,64284E8	9,48491E7	-3,0277E8	5,1344E8	75000000,00	2,95E8
P4	3	6,4833E7	8,42115E7	4,86196E7	-1,4436E8	2,7403E8	13000000,00	1,62E8
Total	12	8,8792E7	8,80254E7	2,54108E7	3,2863E7	1,4472E8	75000000,00	2,95E8
h4 P1	3	4,4000E7	3,48174E7	2,01018E7	-4,2491E7	1,3049E8	20500000,00	84000000,00
P2	3	5,4167E7	3,23818E7	1,86957E7	-2,6274E7	1,3461E8	27000000,00	90000000,00
P3	3	2,7000E7	1,64848E7	9,51753E6	-1,3951E7	6,7951E7	16500000,00	46000000,00
P4	3	6,4000E7	3,60555E7	2,08167E7	-2,5567E7	1,5357E8	24000000,00	94000000,00
Total	12	4,7292E7	3,00185E7	8,66560E6	2,8219E7	6,6365E7	16500000,00	94000000,00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
h1 Treatment	8,140E15	3	2,713E15	,853	,503
Error	2,545E16	8	3,181E15		
Total	3,359E16	11			
h2 Treatment	5,177E15	3	1,726E15	1,055	,420
Error	1,308E16	8	1,635E15		
Total	1,826E16	11			
h3 Treatment	4,130E15	3	1,377E15	,136	,936
Error	8,110E16	8	1,014E16		
Total	8,523E16	11			
h4 Treatment	2,247E15	3	7,490E14	,782	,537
Error	7,665E15	8	9,581E14		
Total	9,912E15	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	
h1	LSD	P1	P2	6,18333E7	4,60519E7	,216
			- P3	6,21667E7	4,60519E7	,214
			P4	5,55000E7	4,60519E7	,263
		P2	P1	-6,18333E7	4,60519E7	,216
			- P3	3,33333E5	4,60519E7	,994
			P4	-6,33333E6	4,60519E7	,894
		P3	P1	-6,21667E7	4,60519E7	,214
			- P2	-3,33333E5	4,60519E7	,994
			P4	-6,66667E6	4,60519E7	,888
		P4	P1	-5,55000E7	4,60519E7	,263
			- P2	6,33333E6	4,60519E7	,894
			P3	6,66667E6	4,60519E7	,888
h2	LSD	P1	P2	1,95000E7	3,30139E7	,571
			- P3	4,35000E7	3,30139E7	,224
			P4	5,31667E7	3,30139E7	,146
		P2	P1	-1,95000E7	3,30139E7	,571
			- P3	2,40000E7	3,30139E7	,488
			P4	3,36667E7	3,30139E7	,338
		P3	P1	-4,35000E7	3,30139E7	,224
			- P2	-2,40000E7	3,30139E7	,488
			P4	9,66667E6	3,30139E7	,777
		P4	P1	-5,31667E7	3,30139E7	,146
			- P2	-3,36667E7	3,30139E7	,338
			P3	-9,66667E6	3,30139E7	,777
h3	LSD	P1	P2	-3,16667E7	8,22109E7	,710
			- P3	-2,86667E7	8,22109E7	,736
			P4	1,18333E7	8,22109E7	,889
		P2	P1	3,16667E7	8,22109E7	,710
			- P3	3,00000E6	8,22109E7	,972
			P4	4,35000E7	8,22109E7	,611
		P3	P1	2,86667E7	8,22109E7	,736
			- P2	-3,00000E6	8,22109E7	,972
			P4	4,05000E7	8,22109E7	,636
		P4	P1	-1,18333E7	8,22109E7	,889
			- P2	-4,35000E7	8,22109E7	,611
			P3	-4,05000E7	8,22109E7	,636

h4 LSD	P1	P2	-1,01667E7	2,52738E7	,698
		- P3	1,70000E7	2,52738E7	,520
		P4	-2,00000E7	2,52738E7	,452
	P2	P1	1,01667E7	2,52738E7	,698
		- P3	2,71667E7	2,52738E7	,314
		P4	-9,83333E6	2,52738E7	,707
	P3	P1	-1,70000E7	2,52738E7	,520
		- P2	-2,71667E7	2,52738E7	,314
		P4	-3,70000E7	2,52738E7	,181
	P4	P1	2,00000E7	2,52738E7	,452
		- P2	9,83333E6	2,52738E7	,707
		P3	3,70000E7	2,52738E7	,181

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		h1	h2	h3	h4
N		12	12	12	12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4,0625E7	4,9125E7	8,8792E7	4,7292E7
	Std. Deviation	5,52589E7	4,07381E7	8,80254E7	3,00185E7
Most Extreme Differences	Absolute	,382	,271	,238	,245
	Positive	,382	,271	,238	,245
	Negative	-,251	-,158	-,178	-,153
Kolmogorov-Smirnov Z		1,322	,938	,824	,849
Asymp. Sig. (2-tailed)		,061	,342	,506	,466

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran D3. Hasil Anova Pengaruh Blotong dan Pupuk Kandang Sapi Terhadap Kerapatan Sel Bakteri Total

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
H1 P1	3	2,4900E8	3,62967E8	2,09559E8	-6,5266E8	1,1507E9	13500000,00	6,67E8
P2	3	6,7833E7	2,80639E7	1,62027E7	-1,8813E6	1,3755E8	36000000,00	89000000,00
P3	3	5,8500E7	2,60720E7	1,50527E7	-6,2665E6	1,2327E8	37000000,00	87500000,00
P4	3	7,2833E7	2,04593E7	1,18122E7	2,2010E7	1,2366E8	50000000,00	89500000,00
Total	12	1,1204E8	1,76483E8	5,09464E7	-90525,1993	2,2417E8	13500000,00	6,67E8
H2 P1	3	1,8850E8	8,96925E7	5,17840E7	-3,4309E7	4,1131E8	85000000,00	2,44E8
P2	3	1,0967E8	5,98129E7	3,45330E7	-3,8917E7	2,5825E8	64500000,00	1,78E8
P3	3	6,2833E7	3,12903E7	1,80655E7	-1,4896E7	1,4056E8	40000000,00	98500000,00
P4	3	3,6667E7	2,41730E7	1,39563E7	-2,3382E7	9,6716E7	11000000,00	59000000,00
Total	12	9,9417E7	7,76483E7	2,24151E7	5,0081E7	1,4875E8	11000000,00	2,44E8
H3 P1	3	1,5283E8	4,24421E7	2,45040E7	4,7401E7	2,5827E8	1,24E8	2,02E8
P2	3	1,3867E8	9,49820E7	5,48379E7	-9,7282E7	3,7462E8	72500000,00	2,48E8
P3	3	1,1683E8	1,56117E8	9,01343E7	-2,7098E8	5,0465E8	21500000,00	2,97E8
P4	3	1,1167E8	1,51608E8	8,75311E7	-2,6495E8	4,8828E8	16500000,00	2,86E8
Total	12	1,4575E8	6,31691E7	1,82354E7	1,0561E8	1,8589E8	72500000,00	2,48E8
H4 P1	3	9,2167E7	5,40147E7	3,11854E7	-4,2013E7	2,2635E8	41500000,00	1,49E8
P2	3	9,9000E7	5,27944E7	3,04809E7	-3,2149E7	2,3015E8	47500000,00	1,53E8
P3	3	1,6067E8	1,39203E8	8,03691E7	-1,8513E8	5,0647E8	66000000,00	3,20E8
P4	3	1,2017E8	5,50689E7	3,17940E7	-1,6632E7	2,5697E8	62000000,00	1,72E8
Total	12	1,1883E8	7,65341E7	2,20935E7	7,0206E7	1,6746E8	41500000,00	3,20E8

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
H1 Treatment	7,535E16	3	2,512E16	,752	,551
Error	2,673E17	8	3,341E16		
Total	3,426E17	11			
H2 Treatment	3,995E16	3	1,332E16	4,040	,051
Error	2,637E16	8	3,296E15		
Total	6,632E16	11			
H3 Treatment	3,318E15	3	1,106E15	,076	,971
Error	1,164E17	8	1,455E16		
Total	1,197E17	11			
H4 Treatment	8,560E15	3	2,853E15	,406	,753
Error	5,499E16	8	7,029E15		
Total	6,443E16	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
H1	LSD	P1	P2	1,81167E8	1,49238E8	,259	-1,6298E8	5,2531E8
			- P3	1,90500E8	1,49238E8	,238	-1,5364E8	5,3464E8
			P4	1,76167E8	1,49238E8	,272	-1,6798E8	5,2031E8
	P2	P1	P1	-1,81167E8	1,49238E8	,259	-5,2531E8	1,6298E8
			- P3	9,33333E6	1,49238E8	,952	-3,3481E8	3,5348E8
			P4	-5,00000E6	1,49238E8	,974	-3,4914E8	3,3914E8
	P3	P1	P1	-1,90500E8	1,49238E8	,238	-5,3464E8	1,5364E8
			- P2	-9,33333E6	1,49238E8	,952	-3,5348E8	3,3481E8
			P4	-1,43333E7	1,49238E8	,926	-3,5848E8	3,2981E8
	P4	P1	P1	-1,76167E8	1,49238E8	,272	-5,2031E8	1,6798E8
			- P2	5,00000E6	1,49238E8	,974	-3,3914E8	3,4914E8
			P3	1,43333E7	1,49238E8	,926	-3,2981E8	3,5848E8
H2	LSD	P1	P2	7,88333E7	4,68788E7	,131	-2,9269E7	1,8694E8
			- P3	1,25667E8	4,68788E7	,028	1,7564E7	2,3377E8
			P4	1,51833E8	4,68788E7	,012	4,3731E7	2,5994E8
	P2	P1	P1	-7,88333E7	4,68788E7	,131	-1,8694E8	2,9269E7
			- P3	4,68333E7	4,68788E7	,347	-6,1269E7	1,5494E8
			P4	7,30000E7	4,68788E7	,158	-3,5103E7	1,8110E8
	P3	P1	P1	-1,25667E8	4,68788E7	,028	-2,3377E8	-1,7564E7
			- P2	-4,68333E7	4,68788E7	,347	-1,5494E8	6,1269E7
			P4	2,61667E7	4,68788E7	,592	-8,1936E7	1,3427E8
	P4	P1	P1	-1,51833E8	4,68788E7	,012	-2,5994E8	-4,3731E7
			- P2	-7,30000E7	4,68788E7	,158	-1,8110E8	3,5103E7
			P3	-2,61667E7	4,68788E7	,592	-1,3427E8	8,1936E7
H3	LSD	P1	P2	1,41667E7	6,00636E7	,819	-1,2434E8	1,5267E8
			- P3	,00000	6,00636E7	1,000	-1,3851E8	1,3851E8
			P4	1,41667E7	6,00636E7	,819	-1,2434E8	1,5267E8
	P2	P1	P1	-1,41667E7	6,00636E7	,819	-1,5267E8	1,2434E8
			- P3	-1,41667E7	6,00636E7	,819	-1,5267E8	1,2434E8
			P4	,00000	6,00636E7	1,000	-1,3851E8	1,3851E8
	P3	P1	P1	,00000	6,00636E7	1,000	-1,3851E8	1,3851E8
			- P2	1,41667E7	6,00636E7	,819	-1,2434E8	1,5267E8
			P4	1,41667E7	6,00636E7	,819	-1,2434E8	1,5267E8
	P4	P1	P1	-1,41667E7	6,00636E7	,819	-1,5267E8	1,2434E8
			- P2	,00000	6,00636E7	1,000	-1,3851E8	1,3851E8
			P3	-1,41667E7	6,00636E7	,819	-1,5267E8	1,2434E8
H4	LSD	P1	P2	-6,83333E6	6,76962E7	,922	-1,6294E8	1,4927E8
			- P3	-7,18333E7	6,76962E7	,320	-2,2794E8	8,4274E7
			P4	-2,80000E7	6,76962E7	,690	-1,8411E8	1,2811E8
	P2	P1	P1	6,83333E6	6,76962E7	,922	-1,4927E8	1,6294E8
			- P3	-6,50000E7	6,76962E7	,365	-2,2111E8	9,1108E7
			P4	-2,11667E7	6,76962E7	,763	-1,7727E8	1,3494E8

P3	P1	7,18333E7	6,76962E7	,320	-8,4274E7	2,2794E8
	- P2	6,50000E7	6,76962E7	,365	-9,1108E7	2,2111E8
	P4	4,38333E7	6,76962E7	,535	-1,1227E8	1,9994E8
P4	P1	2,80000E7	6,76962E7	,690	-1,2811E8	1,8411E8
	- P2	2,11667E7	6,76962E7	,763	-1,3494E8	1,7727E8
	P3	-4,38333E7	6,76962E7	,535	-1,9994E8	1,1227E8

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		H1	H2	H3	H4
N		12	12	12	12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1,1204E8	9,9417E7	1,4575E8	1,1883E8
	Std. Deviation	1,76483E8	7,76483E7	6,31691E7	7,65341E7
Most Extreme Differences	Absolute	,467	,255	,244	,162
	Positive	,467	,255	,244	,162
	Negative	-,288	-,139	-,145	-,156
Kolmogorov-Smirnov Z		1,619	,882	,844	,562
Asymp. Sig. (2-tailed)		,011	,418	,475	,910

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran D4. Hasil Anova Perhitungan Rerata pH

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
H1	P1	3	7,5667	,11547	,06667	7,2798	7,8535	7,50	7,70
	P2	3	7,6000	,10000	,05774	7,3516	7,8484	7,50	7,70
	P3	3	8,5000	,00000	,00000	8,5000	8,5000	8,50	8,50
	P4	3	8,5333	,05774	,03333	8,3899	8,6768	8,50	8,60
	Total	12	8,0500	,49267	,14222	7,7370	8,3630	7,50	8,60
H2	P1	3	7,5667	,11547	,06667	7,2798	7,8535	7,50	7,70
	P2	3	7,6333	,11547	,06667	7,3465	7,9202	7,50	7,70
	P3	3	8,5333	,05774	,03333	8,3899	8,6768	8,50	8,60
	P4	3	8,5667	,05774	,03333	8,4232	8,7101	8,50	8,60
	Total	12	8,0750	,50295	,14519	7,7554	8,3946	7,50	8,60
H3	P1	3	7,4667	,05774	,03333	7,3232	7,6101	7,40	7,50
	P2	3	7,4000	,10000	,05774	7,1516	7,6484	7,30	7,50
	P3	3	8,5667	,15275	,08819	8,1872	8,9461	8,40	8,70
	P4	3	8,5333	,11547	,06667	8,2465	8,8202	8,40	8,60
	Total	12	7,9917	,59154	,17076	7,6158	8,3675	7,30	8,70
H4	P1	3	7,7000	,00000	,00000	7,7000	7,7000	7,70	7,70
	P2	3	7,6000	,10000	,05774	7,3516	7,8484	7,50	7,70
	P3	3	8,5667	,20817	,12019	8,0496	9,0838	8,40	8,80
	P4	3	8,5667	,05774	,03333	8,4232	8,7101	8,50	8,60
	Total	12	8,1083	,49075	,14167	7,7965	8,4201	7,50	8,80

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
H1	Treatment	2,617	3	,872	130,833	,000
	Error	,053	8	,007		
	Total	2,670	11			
H2	Treatment	2,716	3	,905	108,633	,000
	Error	,067	8	,008		
	Total	2,783	11			
H3	Treatment	3,749	3	1,250	99,978	,000
	Error	,100	8	,012		
	Total	3,849	11			
H4	Treatment	2,536	3	,845	59,667	,000
	Error	,113	8	,014		
	Total	2,649	11			

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
H1	LSD	P1	P2	-,03333	,06667	,631	-,1871	,1204
			- P3	-,93333 ^a	,06667	,000	-1,0871	-,7796
			P4	-,96667 ^a	,06667	,000	-1,1204	-,8129
		P2	P1	,03333	,06667	,631	-,1204	,1871
			- P3	-,90000 ^a	,06667	,000	-1,0537	-,7463
			P4	-,93333 ^a	,06667	,000	-1,0871	-,7796
		P3	P1	,93333 ^a	,06667	,000	,7796	1,0871
			- P2	,90000 ^a	,06667	,000	,7463	1,0537
			P4	-,03333	,06667	,631	-,1871	,1204
		P4	P1	,96667 ^a	,06667	,000	,8129	1,1204
			- P2	,93333 ^a	,06667	,000	,7796	1,0871
			P3	,03333	,06667	,631	-,1204	,1871
H2	LSD	P1	P2	-,06667	,07454	,397	-,2385	,1052
			- P3	-,96667 ^a	,07454	,000	-1,1385	-,7948
			P4	-1,00000 ^a	,07454	,000	-1,1719	-,8281
		P2	P1	,06667	,07454	,397	-,1052	,2385
			- P3	-,90000 ^a	,07454	,000	-1,0719	-,7281
			P4	-,93333 ^a	,07454	,000	-1,1052	-,7615
		P3	P1	,96667 ^a	,07454	,000	,7948	1,1385
			- P2	,90000 ^a	,07454	,000	,7281	1,0719
			P4	-,03333	,07454	,667	-,2052	,1385
		P4	P1	1,00000 ^a	,07454	,000	,8281	1,1719
			- P2	,93333 ^a	,07454	,000	,7615	1,1052
			P3	,03333	,07454	,667	-,1385	,2052
H3	LSD	P1	P2	,06667	,09129	,486	-,1438	,2772
			- P3	-1,10000 ^a	,09129	,000	-1,3105	-,8895
			P4	-1,06667 ^a	,09129	,000	-1,2772	-,8562
		P2	P1	-,06667	,09129	,486	-,2772	,1438
			- P3	-1,16667 ^a	,09129	,000	-1,3772	-,9562
			P4	-1,13333 ^a	,09129	,000	-1,3438	-,9228
		P3	P1	1,10000 ^a	,09129	,000	,8895	1,3105
			- P2	1,16667 ^a	,09129	,000	,9562	1,3772
			P4	,03333	,09129	,724	-,1772	,2438
		P4	P1	1,06667 ^a	,09129	,000	,8562	1,2772
			- P2	1,13333 ^a	,09129	,000	,9228	1,3438
			P3	-,03333	,09129	,724	-,2438	,1772
H4	LSD	P1	P2	,10000	,09718	,334	-,1241	,3241
			- P3	-,86667 ^a	,09718	,000	-1,0908	-,6426
			P4	-,86667 ^a	,09718	,000	-1,0908	-,6426
		P2	P1	-,10000	,09718	,334	-,3241	,1241
			- P3	-,96667 ^a	,09718	,000	-1,1908	-,7426
			P4	-,96667 ^a	,09718	,000	-1,1908	-,7426

P3	P1	,86667*	,09718	,000	,6426	1,0908
	- P2	,96667*	,09718	,000	,7426	1,1908
	P4	,00000	,09718	1,000	-,2241	,2241
P4	P1	,86667*	,09718	,000	,6426	1,0908
	- P2	,96667*	,09718	,000	,7426	1,1908
	P3	,00000	,09718	1,000	-,2241	,2241

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		H1	H2	H3	H4
N		12	12	12	12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8,0500	8,0750	7,9917	8,1083
	Std. Deviation	,49267	,50295	,59154	,49075
Most Extreme Differences	Absolute	,319	,301	,297	,297
	Positive	,261	,272	,297	,297
	Negative	-,319	-,301	-,255	-,224
Kolmogorov-Smirnov Z		1,107	1,043	1,029	1,030
Asymp. Sig. (2-tailed)		,173	,227	,240	,239

a. Test distribution is Normal.

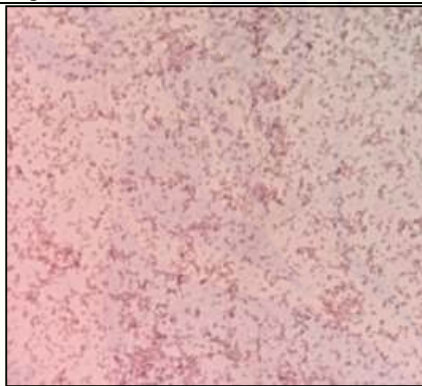
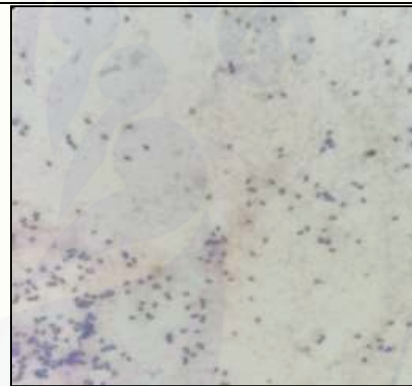
b. Calculated from data.

Lampiran E. Dokumentasi Penelitian

1.1 Identifikasi Bakteri

Gambar 1. Isolat bakteri *P. diminuta* dan *B. subtilis* yang digunakan dalam formulasi.

Gambar 2. Proses pewarnaan gram bakteri.

Gambar 3. Hasil pengamatan pewarnaan gram *P. diminuta*.Gambar 4. Hasil pengamatan pewarnaan gram *B. subtilis*.

1.2 Pembuatan Propagul



Gambar 5. Membuat molase 2% sebagai media perbanyakian masal.



Gambar 6. Meluruhkan isolat untuk diinokulasi dalam NB.



Gambar 7. Pembuatan medium NB untuk medium berkembang biakan.



Gambar 8. Memasukkan 1 ml isolat bakteri kedalam NB.



Gambar 9. Rak dan Tabung digunakan untuk pengenceran



Gambar 10. Menshaker isolat bakteri agar homogen.

1.3 Perbanyakkan masal



Gambar 11. Bakteri dalam NB yang telah dishaker 3 hari , molase 2 % dan aquades steril.



Gambar 12. Memasukkan 1 ml bakteri kedalam aquades steril.



Gambar 13. Konsorsium bakteri *P.diminuta* dan *B.subtilis*.



Gambar 14. Hasil konsorsium bakteri dengan kerapatan 10^8 dan 10^9 .

1.4 Formulasi



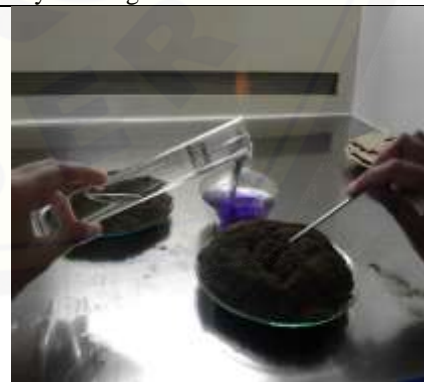
Gambar 15. Mengayak bahan pembawa dengan ayakan ukuran 100 mesh.



Gambar 16. Menimbang bahan pembawa sebanyak 150 g.



Gambar 17. Bahan pembawa yang telah disterilkan menggunakan autoclave.



Gambar 18. Mencampur bahan pembawa dengan bakteri.



Gambar 19. Menuangkan hasil formulasi



Gambar 20. Meletakkan hasil formulasi pada plastik wrap dan menggulungnya hingga rapat.

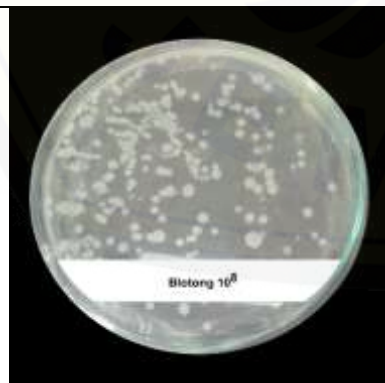


Gambar 21. Menghitung pH menggunakan pH meter.

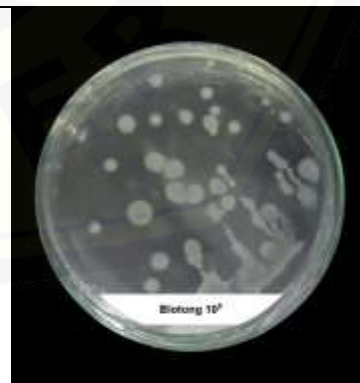


Gambar 22. Hasil Formulasi bahan pembawa dan MHB kerapatan 10^8 dan 10^9

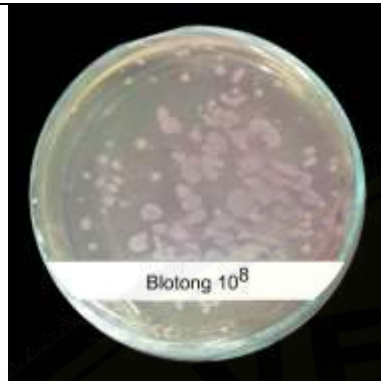
1.5 Pengamatan Daya Simpan



Gambar 23. Koloni bakteri *P. diminuta* Limbah Blotong kerapatan 10^8



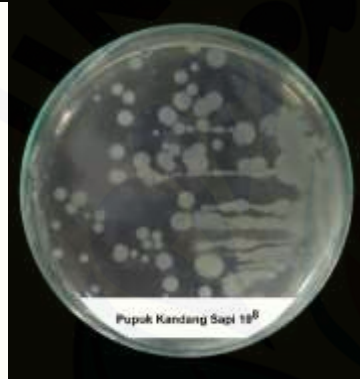
Gambar 24. Koloni bakteri *P. diminuta* Limbah Blotong kerapatan 10^9



Gambar 25. Koloni bakteri *B. subtilis* Limbah Blotong kerapatan 10⁸.



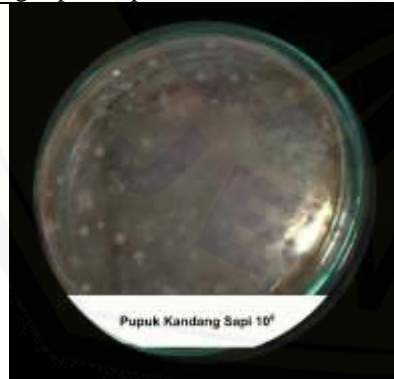
Gambar 26. Koloni bakteri *B. subtilis* Limbah Blotong kerapatan 10⁹.



Gambar 27. Koloni bakteri *P. diminuta* pupuk kandang sapi kerapatan 10⁸.



Gambar 28. Koloni bakteri *P. diminuta* pupuk kandang sapi kerapatan 10⁹.



Gambar 29. Koloni bakteri *B. subtilis* pupuk kandang sapi kerapatan 10⁸.



Gambar 30. Koloni bakteri *B. subtilis* pupuk kandang sapi kerapatan 10⁹.

Lampiran F. Hasil Analisis Blotong

B. Blotong

NO	PARAMETER	SATUAN	HASIL ANALISA
1	N - Total	%	1,89
2	P - Total	mg/ 100 g	24,7
3	K ₂ O	%	1,58
4	C - Org	%	29,09
5	C/N Ratio	-	15,39