

# Production and Effectiveness Experiment: LIQUID FERTILIZER FROM SLUDGE OF BIOGAS INSTALLATION- ENRICHED BY (*Pseudomonas fluorescens*) AS BIO-PROTECTANT

Nur Chamidah, Ria Millati, Agus Prasetya  
Gadjah Mada University

*E-mail: nurchamidah12@gmail.com*

Liquid sludge byproduct of biogas installations is highly potential to be used as a liquid fertilizer. Liquid sludge can also be used as an alternative culture media for growing the *Pseudomonas fluorescens* bacteria that can act as bioprotectant for plants. This study aimed to assess the effect of slaughterhouse waste (abattoir) cattle blood in the content of N, P, and K of the liquid fertilizer obtained from the liquid sludge enriched by bioprotectant. This study also examines the growth of the colony population and the effectiveness of antagonistic *Pseudomonas fluorescens* bacteria to control plant pathogen *Fusarium oxysporum* fungal in liquid sludge culture media which is enriched by abattoir beef blood waste of different concentrations. The experiment was done four treatments, namely the addition of abattoir beef blood waste 0, 2.5%, 5% and 7,5% was applied. Each treatment was repeated three times except for plant trials in testing the effectiveness of antagonistic bacteria on each treatment which was repeated ten times. The variables observed were: total nitrogen, total phosphorus, total potassium, the growth of the colony population, and the effectiveness of antagonist microbia, *Pseodomonas fluorescens*. To determine the effect of treatment, the data were analyzed using ANOVA. Duncan Test was applied to examine the difference among the treatment. The results showed that the sludge byproduct of biogas installations that have been used as a culture media for *Pseudomonas fluorescens* bacterial with additional abattoir beef blood waste 5% and 7,5% organic liquid fertilizer is a good source of N, having average N content of over than 3%. Abattoir beef blood waste concentrations is added to liquid sludge positive influence on linier growth rate of *Pseodomonas fluorescens* bacterial colonies population. Optimum results in the growth rate calculation of *Pseudomonas fluorescens* bacterial colonies population on the liquid sludge ware 27,12 Cfu / ml.hour that occurred at the time of 4 hours. *Pseudomonas*

*fluorescens* bacteria were grown in liquid sludge byproduct of biogas installations with or without the addition of abattoir beef blood waste has the ability to suppress the growth of *Fusarium oxysporum* fungal both in vitro and in vivo in the greenhouse.

Keywords: liquid fertilizer, sludge, biogas, bioprotection, *Pseudomonas fluorescens*

•••

**PUPUK CAIR DARI *SLUDGE* HASIL SAMPING INSTALASI  
BIOGAS KOTORAN SAPI YANG DIPERKAYA BIOPROTEKTAN  
*Pseudomonas fluorescens*  
(Pembuatan dan Uji Efektifitasnya)**

**INTISARI**

*Sludge* cair hasil samping instalasi biogas dapat digunakan sebagai pupuk cair. *Sludge* cair juga dapat digunakan sebagai media biakan alternatif untuk menumbuhkan bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang dapat digunakan sebagai bioprotektan pada tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh darah sapi limbah rumah potong hewan (RPH) terhadap kandungan N, P, dan K pupuk cair. Penelitian ini juga mengkaji pertumbuhan populasi koloni dan efektifitas antagonis bakteri *Pseudomonas fluorescens* untuk mengendalikan patogen tanaman jamur *Fusarium oxysporum* pada media biakan *sludge* cair yang diperkaya darah sapi limbah RPH. Percobaan dilakukan dengan empat perlakuan yaitu penambahan darah sapi limbah RPH 0, 2,5%, 5% dan 7,5%. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali kecuali untuk tanaman uji pada uji efektifitas antagonis bakteri setiap perlakuan diulang sebanyak sepuluh kali. Variable yang diamati nitrogen total, fosfor total, kalium total, pertumbuhan populasi koloni, dan efektifitas antagonis *Pseudomonas fluorescens*. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan, data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA. Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan dilakukan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan *sludge* hasil samping instalasi biogas yang telah digunakan sebagai media biakan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan tambahan darah sapi limbah RPH 5% dan 7,5% merupakan pupuk cair organik sumber N yang baik yaitu dengan kandungan N rata-rata lebih 3%. Konsentrasi darah sapi limbah RPH yang ditambahkan dalam *sludge* cair memberi pengaruh positif terhadap kecepatan pertumbuhan secara linier populasi koloni bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Hasil optimum pada perhitungan kecepatan pertumbuhan populasi koloni bakteri *Pseudomonas fluorescens* 27,12 Cfu/ml.jam yang terjadi pada waktu 4 jam. Bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang dikembangbiakkan dalam *sludge* cair hasil samping instalasi biogas tanpa atau dengan penambahan darah sapi limbah RPH mempunyai kemampuan untuk menekan pertumbuhan penyakit layu *Fusarium* baik secara in vitro maupun in vivo di greenhouse.

Kata kunci: pupuk cair, *sludge*, biogas, bioprotektan, *Pseudomonas fluorescens*

## PENGANTAR

Biogas adalah gas yang dihasilkan dari proses dekomposisi bahan organik secara anaerobik (tertutup dari udara bebas). Gas yang terdapat dalam biogas sebagian besar adalah gas metan (yang memiliki sifat mudah terbakar) dan karbon dioksida (Fahri, 2007). Selain menghasilkan gas-gas mudah terbakar (*combustible gasses*) yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi terbarukan, instalasi biogas juga menghasilkan limbah padat dan cair berupa *sludge*.

*Sludge* yang keluar dari instalasi biogas berupa padatan dan cairan. *Sludge* padat dapat diolah menjadi kompos dengan cara dijemur dan dikemas sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. *Sludge* cair dapat dimanfaatkan sebagai pupuk organik cair. *Sludge* mempunyai kandungan hara yang sama dengan pupuk organik yang telah matang sebagaimana halnya kompos. Oleh karena itu, *sludge* dapat langsung digunakan untuk memupuk tanaman. Menurut Suzuki dkk. (2001) *sludge* yang berasal dari biogas sangat baik untuk dijadikan pupuk karena mengandung berbagai macam unsur yang dibutuhkan oleh tumbuhan seperti N (NH<sub>4</sub>-N) 318 mg/l, P total 99 mg/l, Mg 95 mg/l, Ca 79 mg/l, K 276 mg/l, Cu kurang dari 2,5 mg/l dan Zn kurang dari 1,0 mg/l.

Kandungan unsur hara dalam *sludge* terbilang lengkap tetapi jumlahnya sedikit sehingga perlu ditingkatkan kandungan haranya dengan penambahan bahan lain. Bahan-bahan yang dapat ditambahkan adalah bahan yang mengandung unsur hara yang cukup seperti darah sapi. Darah sapi yang dihasilkan RPH (Rumah Potong Hewan) merupakan limbah yang masih memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi apabila diolah menjadi pakan ternak atau pupuk tanaman. Hal tersebut dikarenakan darah sapi limbah RPH 100 g mengandung energi (104 kkal), protein (21,9 g), lemak (1,1 g), kalsium (7 mg), fosfor (24 mg), dan zat besi (1 mg) dan sedikit unsur lainnya (Kementrian Kesehatan RI, 2012).

Kegagalan budidaya tanaman disamping disebabkan tanaman kekurangan hara juga disebabkan oleh penyakit, salah satunya yang disebabkan oleh jamur. Penyakit ini sulit dikendalikan apabila sudah menyerang tanaman maka langkah pengendalian yang terbaik adalah pencegahan. Pencegahan (proteksi) penyakit tanaman yang bijaksana dalam pengendalian penyakit tanaman dengan menggunakan menggunakan agen

pengendali hayati atau bioprotektan. Karena bahannya berupa bahan hayati maka keberlanjutan bahan ini dapat terjamin.

Agen pengendali hayati yang digunakan salah satu diantaranya adalah bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Untuk memperbanyak bakteri tersebut diperlukan media biakan. Media biakan yang paling mudah digunakan adalah *Nutrien Broth*, tetapi media ini mahal harganya sehingga perlu dicari media biakan alternatif. Salah satu media biakan alternatif untuk bakteri adalah *sludge* cair. Kandungan unsur hara dalam *sludge* hasil pembuatan biogas terbilang lengkap tetapi jumlahnya sedikit sehingga perlu ditingkatkan kandungan dengan penambahan bahan lain. Bahan-bahan yang dapat ditambahkan adalah bahan yang mengandung nutrisi yang cukup bagi pertumbuhan bakteri. Bahan tersebut terutama yang mengandung protein sebagai sumber nitrogen untuk mendukung pertumbuhannya. Disamping itu diharapkan bahan tambahan tersebut juga mengandung zat besi (Fe). Zat besi sangat penting keberadaannya di dalam media pengembang karena mempunyai fungsi utama dalam metabolisme energi mikroorganisme aerobik dan semi aerobik (Sarsito dkk., 2008). Oleh karena itu zat besi dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk menjaga virulensinya (Fensionita dkk., 2009).

Bakteri *Pseudomonas fluorescens* adalah bakteri yang dimanfaatkan untuk agen pengendali hayati yang dapat menekan penyakit terutama yang disebabkan oleh jamur. Menurut Fensionita dkk. (2009) *Pseudomonas fluorescens* dapat menjadi agen antagonis terhadap penyakit *Fusarium oxysporum*. Kemampuan *Pseudomonas fluorescens* menekan populasi patogen diartikan dengan kemampuan untuk melindungi akar dari infeksi patogen tanah dengan cara mengkolonisasi permukaan akar, menghasilkan senyawa kimia seperti hydrogen sianida, siderofor dan antibiotik serta kompetisi ruang dan nutrisi terutama unsur Fe (Sarsito dkk., 2009).

Penelitian ini bertujuan mempelajari pengaruh darah sapi limbah RPH terhadap kandungan N, P dan K *sludge* cair hasil samping instalasi biogas serta pertumbuhan populasi koloni bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan kemampuan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dalam mengendalikan patogen tanaman (jamur *Fusarium oxysporum*) secara in vitro dan in vivo di greenhouse.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

## Bahan

1. *Sludge* cair hasil samping instalasi biogas kotoran sapi yang berwarna hitam dengan pH 7. *Sludge* cair ini mempunyai kandungan N total 0,05%, P total 0,01% dan K total 0,20% ( Lab. Tanah, Jurusan Ilmu Tanah, Fak. Pertanian, UGM, 2013).
2. Darah sapi limbah RPH dalam kondisi segar berwarna merah. Darah sapi limbah RPH ini diambil dari RPH Temanggung. Jln. Gilingsari, Temanggung.
3. Isolat bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Bakteri ini umur 2 bulan dalam penyimpanan dingin (4°C) koleksi Laboratorium Pengamatan Hama dan Penyakit Temanggung, Propinsi Jawa Tengah. Isolat bakteri didapat dari Balai Besar Peramalan Organisme Pengganggu Tumbuhan Jatisari, Karawang, Jawa Barat.
4. Isolat jamur *Fusarium oxysporum*. Isolat jamur ini koleksi Lab. Pengamatan Hama dan Penyakit Temanggung yang didapat dari daerah *rhizofe* tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) di Kecamatan Kledung, Temanggung. Jamur yang digunakan hasil biakan murni inokulum *Fusarium oxysporum* umur 12 hari penyimpanan suhu dingin (4°C).

## Prosedur Penelitian

### a. Prosedur pembuatan pupuk cair dari *sludge* cair

Langkah pertama adalah 20 L *sludge* cair hasil biogas kotoran sapi sebagai bahan baku utama pembuatan pupuk organik cair disaring untuk mendapatkan cairan yang bersih. Langkah selanjutnya diuji fisik berupa warna, bau dan pH. Apabila cairan yang didapat hitam, tidak berbau dengan pH 7 (netral) maka *sludge* cair tersebut didiamkan selama 1 minggu. Apabila *sludge* cair yang dihasilkan masih berwarna kehijauan, berbau, kondisi asam (pH < 7) maka dilakukan fermentasi aerob terlebih dahulu sampai mendapatkan kondisi warna hitam dengan pH netral. Setelah 1 minggu *sludge* dipisahkan cairan dan padatnya yang mengendap. Cairan hasil penyaringan tersebut ditampung dalam wadah, selanjutnya diberi perlakuan aerasi 3 – 4 hari dengan aerator untuk membuang gas-gas yang tersisa dan bau. Pupuk organik cair yang sudah jadi dibiarkan selama 2 hari agar partikel-partikel tersisa mengendap dan cairan yang dihasilkan menjadi bening seperti air teh (Wahyuni, 2012)

### b. Pemiakan Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Pupuk organik cair yang sudah jadi sebanyak 1 L dimasukkan dalam Erlenmeyer 2 L. Selanjutnya diberi bahan tambahan untuk memperkaya nutrisi berupa darah sapi limbah RPH dengan variasi kandungan 0, 2,5%, 5%, dan 7,5% dari volume *sludge*. Bahan tambahan lainnya adalah gula pasir 10 g/L cairan (Fensionita dkk, 2008). Campuran bahan-bahan tadi selanjutnya disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Isolat biakan murni *Pseudomonas fluorescens* diinokulasi ke dalam campuran bahan-bahan yang sudah steril. Selanjutnya difermentasi aerob selama 2 minggu dalam kondisi suhu kamar ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) (Sarsito dkk., 2009).

Biakan bakteri dalam *sludge* sebagai bahan media biakan kemudian diuji pertumbuhan populasi koloninya dan diuji efektifitas antagonisnya dalam laboratorium menggunakan metode ganda pada media (*in vitro*) dan *in vivo* di greenhouse terhadap jamur *Fusarium oxysporum* (Sarsito dkk., 2009). Sementara untuk melihat kandungan unsur hara makro pada pupuk cair yang digunakan sebagai media biakan bakteri diuji kandungan N, P dan K.

### **Variabel Yang Digunakan**

Variabel yang diteliti adalah kandungan N, P dan K pada pupuk organik cair yang berasal dari *sludge* hasil samping instalasi biogas kotoran sapi yang diperkaya dengan darah sapi limbah RPH yang telah ditambahkan bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Selain itu variabel terikat yang digunakan adalah kecepatan pertumbuhan dan uji efektifitas antagonis bakteri *Pseudomonas fluorescens* terhadap jamur *Fusarium* baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

### **Metode Analisis Data**

#### **1. Analisis Laboratorium**

Uji yang dilakukan adalah uji semi mikro Kjeldahl untuk mengetahui kandungan N sementara kandungan P dan K dianalisis menggunakan uji oksidasi basah ( $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ). Sedangkan uji yang dilakukan untuk mengetahui populasi koloni menggunakan metode pengenceran berseri dan untuk mengetahui efektifitas antagonis bakteri *Pseudomonas fluorescens* terhadap jamur *Fusarium* dilakukan menggunakan metode ganda pada media secara *in vitro*. Sedangkan uji efektifitas antagonis secara *in vivo* pada tanaman uji yaitu tanaman tomat (*Solanum lycopersicum*) varitas Permata dilakukan di greenhouse SMK N 1 Temanggung.

## 2. Interpretasi data hasil analisis laboratorium

Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan yaitu tanpa penambahan darah, penambahan 2,5% darah sapi limbah RPH, penambahan 5% darah sapi limbah RPH dan penambahan 7,5% darah sapi limbah RPH. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali kecuali untuk tanaman uji pada uji efektifitas antagonis bakteri setiap perlakuan diulang sebanyak sepuluh kali. Peubah yang diamati nitrogen total, fosfor total, kalium total, kecepatan pertumbuhan populasi koloni, efektifitas antagonis *Pseudomonas fluorescens*. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan, data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA menggunakan software *Statistik Product and Service Solution* (SPSS). Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan dilakukan uji Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Pupuk cair

Pupuk cair ini berasal dari *sludge* cair hasil instalasi biogas kotoran sapi yang telah diperkaya dengan darah sapi limbah RPH. Disamping itu *sludge* cair juga digunakan sebagai media biakan bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

Produksi pupuk organik harus terukur kandungan nutriennya, terutama komponen nutrisi unsur makro (nitrogen, fosfor dan kalium). Oleh karena itu setiap pupuk yang diproduksi harus diuji kandungan unsur nutriennya terutama kandungan unsur N, P dan K. Sebagai pembandingan juga dilakukan pengujian kandungan N, P dan K pada *sludge* cair sebelum diberi perlakuan sebagai pra uji. Hasil pengamatan dan pengukuran selama penelitian diperoleh data kandungan N, P dan K pada *sludge* cair sebelum diberi perlakuan sebagai pra uji yaitu N total 0,05%, P total 0,01% dan K total 0,02%.

### Kandungan Unsur Hara N, P, dan K

Berdasarkan hasil pengamatan dan pengukuran selama penelitian diperoleh data rata-rata kandungan nitrogen total (N total), fosfor total (P total) dan kalium total (K total) dalam pupuk cair yang telah diperkaya dengan bioprotektan menggunakan bakteri *Pseudomonas fluorescens* (Tabel 1).

Tabel 1. Data kandungan nitrogen total (N total), fosfor total (P total), dan kalium total (K total) dalam pupuk cair yang diperkaya dengan bioprotektan menggunakan bakteri *Pseudomonas fluorescens*

No	Konsentrasi Darah sapi limbah RPH (%)	Konsentrasi (%)		
		N total	P total	K total
1	0	2,8 <sup>b</sup>	0,0112 <sup>a</sup>	0,222 <sup>a</sup>
2	2,5	2,9 <sup>b</sup>	0,0119 <sup>b</sup>	0,297 <sup>b</sup>
3	5	3,2 <sup>b</sup>	0,0134 <sup>c</sup>	0,315 <sup>c</sup>
4	7,5	3,3 <sup>b</sup>	0,0183 <sup>d</sup>	0,522 <sup>d</sup>

Keterangan : Huruf yang sama ke arah vertikal pada kolom signifikan menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

Tabel 1 menunjukkan adanya peningkatan terhadap kandungan N total pada *sludge* hasil instalasi biogas kotoran sapi sebelum dan sesudah menjadi pupuk cair sekaligus sebagai bioprotektan dengan variasi penambahan darah sapi limbah RPH. Peningkatan kandungan N total ini diduga disebabkan adanya penambahan bahan berupa darah sapi limbah RPH dimana diketahui sebagai bahan yang berprotein tinggi seperti yang diinformasikan oleh Kementerian Kesehatan RI (2012). Disamping itu, tingginya N total dalam pupuk cair juga disebabkan protein sel tunggal bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Bakteri dikenal dengan protein sel tunggal, sebagian besar mikroorganisme terbangun dari protein sedangkan komponen protein adalah unsur N. Tingginya N total dalam perlakuan juga dikarenakan bakteri *Pseudomonas fluorescens* berperan sebagai pengikat N. Hal ini sesuai yang dikemukakan Fravel (1988) bahwa bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang hidup didaerah perakaran tanaman dapat berperan sebagai jasad renik mengikat nitrogen, dan menghasilkan zat pengatur tumbuh bagi tanaman.

Kandungan N total dalam setiap perlakuan penambahan darah sapi limbah RPH 0, 2,5%, 5%, dan 7,5% pada *sludge* cair yang telah dijadikan bioprotektan yaitu sebesar 2,8%, 2,9%, 3,2% dan 3,3% menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Hal ini diduga karena pengaruh peran bakteri yang sebagai penambat N dan tambahan sel tunggal bakteri lebih dominan mempengaruhi kandungan N total.

Menurut Peraturan Menteri Pertanian (2011) kandungan N total yang dipersyaratkan pupuk organik cair adalah 3%. Melihat pernyataan tersebut maka *sludge* yang diperkaya dengan bioprotektan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan penambahan darah sapi limbah RPH 5% dan 7,5% telah memenuhi persyaratan sebagai pupuk organik cair penyedia N. Hasil yang optimum terjadi pada penambahan darah

sapi limbah RPH 5%. Hal ini karena pada penambahan darah sapi limbah RPH 5% dan 7,5% tidak menunjuknya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05\%$ ), sehingga penambahan dari 5% menjadi 7,5% menjadi tidak efektif.

Tabel 1 juga menunjukkan kandungan P total pada prauji dan perlakuan penambahan darah sapi limbah RPH 0% mempunyai besaran relatif sama yaitu 0,01%. Hal ini disebabkan karena sumber P pada perlakuan penambahan darah sapi limbah RPH 0% hanya dari *sludge* saja sehingga menyebabkan kandungan P total tidak menunjukkan perbedaan. Terdapat perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) kandungan P total dalam setiap perlakuan dengan adanya peningkatan konsentrasi darah sapi limbah RPH yang ditambahkan. Peningkatan pemberian darah sapi limbah RPH ini menyebabkan peningkatan kandungan P total. Hal ini diduga disebabkan adanya penambahan darah sapi limbah RPH yang diketahui sebagai bahan yang mengandung mineral salah satunya adalah P (Kementrian Kesehatan, 2012).

Tabel 1 juga menunjukkan kandungan K total pada prauji dan penambahan darah sapi limbah RPH 0% mempunyai besaran relatif sama yaitu 0,20%. Hal ini disebabkan karena sumber K pada perlakuan penambahan darah sapi limbah RPH 0% hanya dari *sludge* saja sehingga menyebabkan kandungan K total tidak menunjukkan perbedaan. Terdapat perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) kandungan K total dalam setiap perlakuan dengan adanya peningkatan konsentrasi darah sapi limbah RPH yang ditambahkan. Peningkatan pemberian darah sapi limbah RPH ini menyebabkan peningkatan kandungan K total. Hal ini diduga disebabkan adanya penambahan darah sapi limbah RPH dimana diketahui sebagai bahan yang mengandung mineral salah satunya adalah K.

Menurut Peraturan Menteri Pertanian (2011) kandungan P total dan K total yang dipersyaratkan pupuk organik cair adalah 3%. Melihat pernyataan tersebut maka *sludge* yang diperkaya dengan bioprotektan bakteri *Pseudomonas fluorescens* belum memenuhi persyaratan sebagai pupuk organik cair penyedia P dan K.

## **B. Bioprotektan**

*Pseudomonas fluorescens* adalah bakteri yang dapat digunakan sebagai agen antagonis patogen tanaman. Produksi massal bakteri antagonis umumnya menggunakan media cair terutama yang mengandung karbohidrat, protein dan bahan mineral tertentu

dalam jumlah yang cukup. Agen antagonis patogen tanaman juga harus memiliki keefektifan pengendalian patogen tanaman yang stabil baik secara in vitro dan in vivo.

### 1. Kecepatan Pertumbuhan Populasi Koloni Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Kerapatan bakteri dalam media biakan diuji dengan melihat pertumbuhan populasi koloni yang di inkubasikan dalam media PDA. Kecepatan pertumbuhan dan jumlah populasi koloni maksimum bakteri *Pseudomonas fluorescens* hasil pengamatan disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Kecepatan pertumbuhan dan jumlah populasi koloni maksimum bakteri *Pseudomonas fluorescens*

No	Konsentrasi Darah limbah RPH (%)	Kecepatan Pertumbuhan Populasi Koloni ( $\times 10^9$ Cfu/ml.jam)		Jumlah Populasi koloni maksimum ( $\times 10^9$ Cfu/ml)	Tercapai pada jam ke-
		Pada jam ke-1 - 4	Pada jam ke-4 - 7		
1	0	17,83 <sup>a</sup>	4,23 <sup>a</sup>	76 <sup>a</sup>	24
2	2,5	18,23 <sup>a</sup>	4,40 <sup>a</sup>	78 <sup>a</sup>	24
3	5	27,12 <sup>b</sup>	9,27 <sup>b</sup>	129 <sup>b</sup>	26
4	7,5	29,45 <sup>b</sup>	8,93 <sup>b</sup>	135 <sup>b</sup>	24

Keterangan : Huruf yang sama ke arah vertikal pada kolom signifikan menunjukkan tidak berbeda nyata (  $P < 0,05$  )

Tabel 1 menunjukkan kecenderungan pertumbuhan populasi koloni bakteri pada fase pertumbuhan linier di setiap perlakuan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi darah sapi limbah RPH yang ditambahkan pada media *sludge*. Dengan meningkatnya konsentrasi darah sapi dalam media *sludge*, nutrisi terutama protein sebagai sumber nitrogen bagi bakteri akan meningkat. Hal ini menyebabkan meningkatnya kecepatan pertumbuhan populasi koloni bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Hal tersebut sesuai Hajoeningtjas (2012) yang menyatakan bahwa bakteri memerlukan nutrisi seperti karbon, nitrogen, belerang, fosfor dan beberapa unsur logam lainnya seperti magnesium, kalium, tembaga dan seng untuk pertumbuhan dan

fungsinya yang normal. Menurut Kartika (2011) perbanyak populasi koloni bakteri yang dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media alternatif, maka media alternatif tersebut harus media yang mengandung protein yang tinggi. Hal ini berarti bahwa setiap media dengan protein yang semakin tinggi memberi pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri yang semakin baik.

Pertumbuhan populasi koloni pada jam ke-1 sampai jam ke-4 dibandingkan dengan pada jam ke-4 sampai jam ke-7 terjadi penurunan. Kondisi ini terjadi pada semua perlakuan konsentrasi darah sapi limbah RPH. Hal ini disebabkan pada jam ke-4 sampai jam ke-7 sudah mendekati pertumbuhan stasioner atau statis. Pada kondisi ini jumlah populasi koloni mengalami puncaknya, setelah itu jumlahnya tidak mengalami peningkatan tetapi akan mengalami kondisi statis. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Hajoeningtjas (2012) bahwa bakteri yang diinokulasikan pada suatu medium yang sesuai pada keadaan optimum bagi pertumbuhannya maka akan terjadi kenaikan jumlah yang amat tinggi dalam waktu relatif pendek.

Hubungan antara kecepatan pertumbuhan populasi koloni terhadap konsentrasi darah didapatkan dua persamaan garis lurus hubungan antara kecepatan pertumbuhan yang terjadi pada jam ke-1 sampai jam ke-4 yaitu  $y = 1,75x + 16,59$  dan pada jam ke-4 sampai jam ke-7 yaitu sebesar  $y = 0,758x + 3,863$ . Dari persamaan garis linier yang terdapat pada jam ke-1 sampai jam ke-4 dapat digunakan untuk mencari nilai kecepatan pertumbuhan populasi bakteri pada kisaran penambahan konsentrasi darah sapi limbah RPH yang diteliti yaitu 0 – 7,5%. Dengan melihat besarnya kecepatan pertumbuhan populasi bakteri maka dapat juga dicari jumlah populasi koloni yang tumbuh pada jam ke-1 sampai jam ke-4 apabila dilakukan penambahan konsentrasi darah sapi limbah RPH pada kisaran 0 – 7,5%. Akan tetapi apabila akan mencari jumlah populasi sampai maksimum atau terbesar maka disamping melihat populasi koloni yang didapat dengan persamaan pertumbuhan garis linier pada jam ke-1 sampai jam ke-4 maka perlu ditambah dengan persamaan yang terjadi pada data jam ke-4 sampai jam ke-7.

Persamaan garis linier di atas akan optimum apabila diterapkan pada penambahan konsentrasi darah sapi limbah RPH 0 sampai 7,5% akan tetapi apabila diterapkan pada penambahan konsentrasi darah sapi limbah RPH di atas 7,5% mengalami kesalahan yang besar. Hal ini dikarenakan pada penambahan konsentrasi

darah sapi limbah RPH menjadi 7,5% sudah menunjukkan tidak adanya pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan populasi koloni bakteri.

Tabel 2 menunjukkan penambahan darah sapi limbah RPH sebagai sumber protein memberi pengaruh yang nyata ( $P < 0,05\%$ ) terhadap kecepatan pertumbuhan populasi koloni bakteri *Pseudomonas fluorescens* terutama pada penambahan konsentrasi darah sapi limbah RPH 2,5% terhadap penambahan konsentrasi darah sapi limbah RPH 5% dan 7,5%. Hal ini karena kandungan nutrisi pada penambahan darah sapi limbah RPH 2,5% masih rendah sehingga belum mencukupi untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri secara nyata. Sementara dengan adanya penambahan konsentrasi darah sapi limbah RPH menjadi 5% dan 7,5% dapat meningkatkan kecepatan pertumbuhan populasi koloni secara nyata. Hal ini diduga karena nutrisi yang diberikan untuk bakteri pada pemberian darah sapi limbah RPH 5% telah mencukupi untuk meningkatkan pertumbuhannya.

## 2. Kemampuan Antagonis Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Efektifitas agen antagonis terhadap patogen tanaman di uji secara in vitro maupun in vivo. Uji keefektifitas agen antagonis bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara in vitro dilakukan dengan uji metode ganda. Hasil uji metode ganda ini yaitu dengan membandingkan perubahan luas patogen tanaman yang diinkubasi bersama agen antagonis dalam selang waktu yang sama dengan luas pertumbuhan patogen yang dibiakkan secara tunggal (Sarsito dkk., 2008). Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian diperoleh data diameter jamur *Fusarium oxysporum* yang diantagoniskan dengan bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara in vitro yang ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Data rata-rata diameter *Fusarium* yang di antagoniskan dengan bakteri *Pseudomonas fluorescens* setelah 7 hari.

No	Konsentrasi Darah	Diameter Jamur <i>Fusarium</i> (cm)
1	Kontrol negatif <sup>*</sup> )	2,3 <sup>a</sup>
2	0% <sup>**</sup> )	1,2 <sup>b</sup>
3	2,5% <sup>**</sup> )	1,1 <sup>b</sup>
4	5% <sup>**</sup> )	0,8 <sup>b</sup>
5	7,5% <sup>**</sup> )	0,8 <sup>b</sup>

Keterangan : Huruf yang sama ke arah vertikal pada kolom signifikan menunjukkan tidak berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

- \*) : Kontrol negatif adalah perlakuan penanaman jamur *Fusarium* pada media PDA (Potato Dextrose Agar)
- \*\*\*) : Perlakuan penanaman jamur *Fusarium* pada media PDA yang telah ditanami dengan bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang dikembangkan dalam *sludge* yang ditambah gula pasir dan darah sapi limbah RPH dengan konsentrasi  $10^9$ /ml

Tabel 3 menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antara kontrol negatif terhadap perlakuan termasuk juga kontrol perlakuan. Hal ini dikarenakan bakteri yang dikembangkan dalam media *sludge* cair yang ditambah dengan darah sapi limbah RPH mempunyai virulensi yang baik dibandingkan dengan jamur *Fusarium oxysporum*. Media *sludge* cair yang telah ditambah dengan darah sapi limbah RPH mengandung Fe yang cukup untuk dimanfaatkan bakteri untuk menjaga virulensinya. Kondisi ini juga ditunjang dengan kemampuan bakteri *Pseudomonas fluorescens* memproduksi siderofor yang berperan mengikat unsur Fe (Fensionita dkk., 2009). Unsur Fe diperlukan oleh agen antagonis maupun patogen tanaman untuk menjaga virulensinya, karena senyawa Fe mempunyai fungsi utama dalam metabolisme energi mikroorganisme aerobik maupun semi aerobik (Sarsito dkk., 2008). Disamping itu karena dalam perlakuan adanya penghambatan ruang tumbuh dan kompetisi nutrisi terhadap jamur *Fusarium oxysporum* oleh bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Oleh karena itu adanya bakteri *Pseudomonas fluorescens* dapat menekan pertumbuhan patogen tanaman (*Fusarium oxysporum*).

Tabel 3 menunjukkan didalam perlakuan termasuk kontrol perlakuan penambahan darah sapi limbah RPH tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata terhadap perkembangan diameter koloni *Fusarium oxysporum*. Hal ini disebabkan karena jumlah populasi bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang terdapat dalam perlakuan termasuk kontrol merupakan media yang baik dan memenuhi persyaratan sebagai media biakan bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Akan tetapi apabila melihat kecenderungan dari diameter *Fusarium oxysporum* yang tumbuh pada media in vitro yang diantagoniskan dengan bakteri *Pseudomonas fluorescens* pada semua perlakuan menunjukkan adanya penurunan. Dengan melihat rata-rata diameter jamur *Fusarium oxysporum* pada semua perlakuan, yang paling efektif untuk mengantagonis jamur *Fusarium oxysporum* adalah pada perlakuan penambahan darah sapi limbah RPH 5%.

Uji antagonis bakteri *Pseudomonas fluorescens* terhadap jamur *Fusarium oxysporum* juga dilakukan secara in vivo (di greenhouse), pada tanaman tomat (*Solanum lycopersicum*) varitas Permata diaplikasikan pada hari ke-21 hari setelah tanam (HST). Hasil menunjukkan munculnya gejala layu *Fusarium* yang ditandai dengan munculnya kelayuan yang didahului dengan menguningnya daun, terutama daun bagian bawah terjadi pada hari ke-36 HST. Hasil perhitungan prosentasi jumlah tanaman uji yang menunjukkan gejala layu *Fusarium oxysporum* dapat ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Prosentasi jumlah tanaman yang menunjukkan gejala layu *Fusarium oxysporum* pada hari ke 36

No	Jenis Perlakuan	Prosentasi jumlah tanaman yang terjadi gejala kelayuan <sup>***)</sup>
1	Kontrol negatif <sup>*)</sup>	30 <sup>a</sup>
2	Konsentrasi darah 0% <sup>**)</sup>	0 <sup>b</sup>
3	Konsentrasi darah 2,5% <sup>**)</sup>	0 <sup>b</sup>
4	Konsentrasi darah 5% <sup>**)</sup>	0 <sup>b</sup>
5	Konsentrasi darah 7,5% <sup>**)</sup>	0 <sup>b</sup>

Keterangan: Huruf yang sama ke arah vertikal pada kolom signifikan menunjukkan tidak berbeda nyata (  $P < 0,05$  )

\*) : Kontrol negatif adalah perlakuan pada tanaman uji yang hanya di beri jamur *Fusarium oxysporum* saja dengan dosis 100 ml larutan *Fusarium oxysporum* dengan pengenceran  $10^{-4}$

\*\*\*) : Tanaman uji diberi bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan dosis 100 ml larutan *Pseudomonas fluorescens*/tanaman. Larutan *Pseudomonas fluorescens* didapat dengan pengenceran 5 ml biakan/l air, setelah 3 hari kemudian baru aplikasi jamur *Fusarium* dengan dosis 100 ml larutan *Fusarium* dengan pengenceran  $10^{-4}$

\*\*\*) : Jumlah setiap perlakuan 10 tanaman uji

Tabel 4 menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas fluorescens* mempunyai kemampuan untuk menekan pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* di greenhouse pada tanaman uji. Hal ini membuktikan bahwa bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang dikembangkan dalam media *sludge* dengan variasi konsentrasi darah sapi limbah RPH yang ditambahkan juga mempunyai virulensi yang baik secara in vivo di greenhouse.

## KESIMPULAN

1. *Sludge* hasil samping instalasi biogas yang telah digunakan sebagai media biakan bakteri *Pseudomonas fluorescens*, dengan tambahan darah sapi limbah RPH 5% dan 7,5% merupakan pupuk cair organik sumber N yang baik yaitu dengan kandungan N total sebesar rata-rata lebih 3%.
2. Konsentrasi darah sapi limbah RPH yang ditambahkan dalam *sludge* cair memberi pengaruh positif terhadap kecepatan pertumbuhan populasi koloni bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Hasil optimum pada perhitungan kecepatan pertumbuhan populasi koloni bakteri *Pseudomonas fluorescens* adalah 27,12 Cfu/ml.jam yang terjadi pada waktu 4 jam.
3. Bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang dibiakkan dalam *sludge* cair hasil samping instalasi biogas tanpa atau dengan penambahan darah sapi limbah RPH mempunyai kemampuan untuk menekan pertumbuhan penyakit layu *Fusarium* baik secara in vitro maupun in vivo.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Fahri, A. 2010. *Teknologi Pembuatan Biogas Dari Kotoran Sapi*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Riau. Pekanbaru.
- Fensionita, A., E. Suwardiwijaya, E.E. Sasmita., W Sugiarti dan Y. Fauziah. 2009. *Pengenalan dan Pemanfaatan Agen Pengendali Hayati Pada Tanaman Kedelai*. Dirjen Tanaman Pangan. Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan. Jakarta.
- Fravel, D.R. 1988. *Role Of Antibiosis In The Biocontrol Of Plant Diseases*. *Phytopathology* 26:75-91.
- Hajoeningtjas, O.D. 2012. *Mikrobiologi Pertanian*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Kartika, A. 2011. *Teknik Eksplorasi dan Media biakanan bakteri Pseudomonas fluorescens*. Lab.PHP. Banyumas.
- Kementrian Kesehatan RI. 2011. *Informasi Rinci Komposisi Kandungan Nutrisi/Gizi Pada Darah sapi limbah RPH*. Publikasi. <http://keju.blogspot.com>. Diakses pada tanggal 12-3-2011.
- Peraturan Menteri Pertanian Nomor : 70/Permentan/Sr.140/10/2011 Tanggal: 25 Oktober 2011 Lampiran I.2 *Persyaratan Teknis Minimal Pupur Organik Cair*.
- Sarsito, W.G.S., D. Mutiawari, B. Indriastuti KW., BS. Wibowo, A. Fensionita, Y. Fauziah, R. Bustam. 2008. *Patogen Serangga Dan Agen Antagonis Pada Tanaman Padi*. Dirjen Tanaman Pangan. Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan. Jakarta.

- Suzuki, K., W. Takeshi, and Vo Lam. 2001. *Consentranaals And Cristianallization Of Phosphate, Ammonium And Minerals In The Iffluent Of Biogas Digesters In The Mekong Delta, Vietnam*. Jircan and Cantho University, Cantro Vietman. 16:271-276.
- Wahyuni, S. 2011. *Menghasilkan Biogas dari Aneka Limbah*. Agro Media Pustaka, Jakarta. Cet. 1.