

# Peningkatan Masa Simpan Aktivator Kompos melalui Variasi Sumber Nitrogen

Arida Wahyu Barselia, dan Endry Nugroho Prasetyo

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

*e-mail:* endry@bio.its.ac.id

**Abstrak**—Kompos merupakan hasil degradasi bahan organik secara aerob maupun anaerob dengan memanfaatkan potensi mikroorganisme sebagai aktivator kompos. Kualitas aktivator kompos sangat tergantung dari kecepatan degradasi yang dimiliki dan lama masa simpannya. Medium pertumbuhan berpengaruh penting terhadap masa simpan aktivator kompos karena untuk mengoptimalkan viabilitas sel dalam waktu yang lama.

Salah satu komponen medium pertumbuhan adalah nitrogen berupa protein atau senyawa peptida yang dapat memengaruhi masa simpan (*life span*) aktivator kompos. Kompleksitas struktur protein menyebabkan pemanfaatan nitrogen untuk pertumbuhan juga berbeda, yang salah satunya berpengaruh terhadap masa simpan aktivator kompos.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh beberapa sumber nitrogen antara lain yeast extract, pepton, susu skim, dan rumput laut, yang berpotensi untuk meningkatkan masa simpan aktivator kompos.

Konsorsium aktivator kompos berupa *Aspergillus niger* dan *Rhizobium* sp. dengan perbandingan 1:1 dikultur pada medium variasi sumber nitrogen dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 2,5% dan 1,25% dengan 3 kali pengulangan. Jumlah koloni dihitung dengan metode TPC (*Total Plate Agar*), Kadar protein terlarut pada medium kultur dianalisis dengan metode Bradford. Hasil kultur aktivator kompos diaplikasikan untuk pembuatan kompos. Data dianalisis secara deskriptif berupa kurva pertumbuhan koloni, kemiringan kurva pertumbuhan aktivator kompos, kadar protein terlarut, suhu kompos, dan tabel analisis rasio C/N. Hasil penelitian didapatkan bahwa medium rumput laut konsentrasi 1,25% mampu meningkatkan masa simpan aktivator kompos karena hasil kemiringan kurva pertumbuhan relatif rendah sehingga diasumsikan jumlah sel yang cenderung stabil. Sedangkan nilai rasio C/N terbaik adalah aktivator kompos pada medium rumput laut konsentrasi 1,25% karena nilai yang didapatkan sebesar 14,15/1. Sehingga medium rumput laut konsentrasi 1,25% dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan masa simpan aktivator kompos.

**Kata kunci**—aktivator kompos, masa simpan, variasi sumber nitrogen.

## I. PENDAHULUAN

KOMPOS merupakan hasil degradasi bahan berbasis molekul organik yang melibatkan mikroorganisme termofilik aerobik dan anaerobik melalui proses oksidasi secara eksotermal [1,2,3]. Kompos mengandung material humus (unsur N, P, K) yang dapat meningkatkan produktivitas tanaman [1]. Komponen penting yang diperlukan dalam pembuatan kompos antara lain substrat dan mikroorganisme

yang termasuk dalam kelompok bakteri mesofilik, termofilik, fungi, dan yeast [4, 5].

Proses pembuatan kompos membutuhkan mikroorganisme yang mampu melakukan degradasi bahan organik dengan menghasilkan berbagai macam enzim hidrolisis [3]. Proses komposting dapat dipercepat dengan penambahan aktivator berupa konsorsium mikroba yang memiliki fungsi sinergis dalam mendegradasi substrat. Konsorsium mikroorganisme tersebut pada umumnya terdiri dari golongan bakteri dan fungi yaitu kelompok *Acetobacter* sp., *Rhizobium* sp., *Lactobacillus* sp., *Streptomyces* sp., dan *Aspergillus* sp. [6,7]. Pada saat ini, aktivator kompos telah banyak dikomersialkan yaitu dengan nama dagang misalnya EM4, Superdec, Orgadec, dan lain-lain. Kualitasnya aktivator kompos sangat tergantung dari kecepatan degradasi yang dimiliki dan lama masa simpannya.

Masa simpan (*life span*) aktivator merupakan lama waktu viabilitas konsorsium mikrobia yang bisa hidup pada kondisi tertentu [8]. Peningkatan waktu simpan aktivator kompos bertujuan untuk mengoptimalkan viabilitas sel dalam waktu yang lama dengan menjaga kestabilan genetik dan mengurangi aktivitas metabolisme [9,10,11]. Peningkatan masa simpan aktivator kompos terjadi ketika sel mengalami kondisi dorman yaitu diawali dengan produksi ppGpp (nukleotida guanosin 3'-5'-bifosfat) yang berperan dalam memodulasi aktivitas ribosom pada proses sintesis protein [12]. Kondisi ini akan mengakibatkan sel berhenti melakukan pertumbuhan dan melakukan perubahan struktur morfologi berupa pembentukan endospora serta perubahan struktur miselium [12].

Medium pertumbuhan mikroorganisme berperan penting dalam pengaturan masa simpan sel untuk jangka waktu yang lama [13, 14]. Salah satu komponen medium pertumbuhan adalah nitrogen berupa protein atau senyawa peptida yang dapat memengaruhi masa simpan aktivator kompos [15]. Kompleksitas struktur protein menyebabkan pemanfaatan nitrogen untuk pertumbuhan juga berbeda, yang salah satunya berpengaruh terhadap masa simpan aktivator kompos [16, 17]. Peningkatan masa simpan (*life span*) dengan variasi sumber protein belum banyak dipelajari pada saat ini, sehingga penelitian ini menguji beberapa sumber nitrogen antara lain yeast extract, pepton, susu skim, dan rumput laut, yang berpotensi untuk meningkatkan masa simpan aktivator kompos selama 2 bulan.

## II. METODOLOGI

### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 12 Oktober 2015 sampai tanggal 31 Desember 2015 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

### B. Metode yang digunakan

Tahapan penelitian diawali dengan peremajaan aktivator kompos yaitu *A. niger* dan *Rhizobium* sp. Aktivator kompos dikonsorsium dengan perbandingan 1:1 pada medium cair. Medium variasi sumber nitrogen dibuat dengan dua konsentrasi yang berbeda yaitu 2,5% dan 1,25% serta pengulangan sebanyak 3 kali. Viabilitas pertumbuhan aktivator kompos dilakukan dengan perhitungan koloni metode *Total Plate Count* (TPC) [178] dan kadar protein terlarut dengan metode Bradford. Aktivitas aktivator kompos diuji dengan pembuatan pupuk sampah pertanian dan dianalisis rasio C/N. Data yang diperoleh disusun dalam bentuk kurva pertumbuhan, tabel analisis C/N, dan kadar protein yang dijelaskan secara deskriptif.

### C. Preparasi Konsorsium Aktivator Kompos

Mikroorganisme yang digunakan merupakan isolat koleksi Laboratorium Bioteknologi dan Mikrobiologi Jurusan Biologi ITS Surabaya yaitu isolat fungi *A. niger* dan bakteri *Rhizobium* sp.

### D. Kultur Konsorsium Pada Medium Cair

Bakteri *Rhizobium* sp. dikultur pada medium cair NB (Nutrient Broth). Sedangkan fungi *A. niger* dikultur pada medium PDB (*Potato Dextrose Broth*). *Rhizobium* sp. diinkubasi selama 24 jam sedangkan fungi *A. niger* selama 72 jam. Masing-masing kultur dimasukkan ke dalam medium NB 500 mL untuk konsorsium dengan perbandingan 1:1.

### E. Pembuatan Medium Variasi Sumber Nitrogen

Medium yang digunakan adalah M9 minimal medium yang terdiri dari komposisi *Disodium Phosphate Heptahydrate* 1 gram/L, *Monopotassium Phosphate* 1 gram/L, *Sodium Chloride* 0,5 gram/L, dan variasi sumber nitrogen [18,19].

Masing-masing medium dibuat dengan variasi sumber nitrogen sebanyak 200 mL. Setiap sumber nitrogen diberi perlakuan 2 konsentrasi yang berbeda yaitu 1,25% dan 2,5%. Medium yang telah dibuat dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dengan sumber nitrogen yang berbeda (*yeast extract*, pepton, rumput laut, dan susu skim). Selanjutnya, konsorsium aktivator kompos diinokulasikan pada medium variasi sumber nitrogen yang telah disterilisasi dan diinkubasi selama 72 jam.

### F. Perhitungan Koloni Mikroba

Kontrol pertumbuhan mikroba dilakukan setiap 7 hari selama 2 bulan. Metode pengukuran pertumbuhan mikroba secara kuantitatif dengan TPC pada medium NA secara *serial*

*dillution* [20]. Masing-masing kultur diencerkan dengan metode *serial dillution* untuk dilakukan proses konsorsium sebanyak 3 kali pengenceran [21].

Pengenceran dengan metode *serial dillution* sebanyak 6 kali. Aktivator kompos pada setiap perlakuan diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL akuades steril. Tabung reaksi kemudian divortex hingga larutan homogen. Tahap ini merupakan pengenceran  $10^{-1}$ . Selanjutnya, 1 mL larutan dari pengenceran  $10^{-1}$  diambil, dimasukkan ke dalam tabung reaksi lain yang berisi 9 mL akuades steril, dan divortex kembali hingga homogen. Tahap ini merupakan pengenceran  $10^{-2}$ . Perlakuan ini dilakukan kembali hingga pengenceran  $10^{-6}$ . Masing-masing seri pengenceran dipipet sebanyak 0,1 mL dan dituangkan ke dalam cawan petri yang telah berisi medium padat dan diratakan dengan spatula drigalsky. Medium yang telah berisi sampel kemudian diinkubasikan pada suhu kamar ( $27-28^{\circ}\text{C}$ ) selama 48 jam untuk dilakukan perhitungan koloni dan hasil perhitungan dengan satuan *Colony Forming unit* (CFU).

### G. Pembuatan Kompos dengan Aktivator Kompos

Uji potensi degradasi kompos dengan aktivator kompos variasi sumber nitrogen dilakukan dengan pembuatan kompos sampah pertanian. Tahapan awal adalah pencampuran bahan kompos berupa sampah sebanyak 500 gram dan ditambahkan aktivator kompos dengan variasi sumber nitrogen sebanyak 150 mL. Campuran kompos diinkubasi secara aerob selama 10 hari dan dilakukan pengukuran suhu kompos dengan menggunakan termometer digital.

### H. Analisis Kandungan C/N

Analisis kandungan C-organik adalah sampel diambil 0,5 gram pupuk kompos, kemudian diayak dengan ayakan 0,5 mm dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 500 mL. Larutan  $\text{K}_2\text{CrO}_7$  1 N dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer sebanyak 10 mL dan 20 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Penentuan N total adalah dengan metode Kjehdal terdiri dari tiga tahapan yaitu destruksi, detilasi, dan titrasi. Metode destruksi dilakukan dengan sampel kompos ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan ke dalam labu Kjehdal dan ditambahkan 3 gram selen serta 30 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat (catatan: untuk blanko tanpa sampel).

### I. Pengukuran Kadar Protein Terlarut

Pengukuran kadar protein terlarut dalam penelitian ini dilakukan berdasarkan metode Bradford (1967) berdasarkan kurva standar *Bovine Serum Albumin* (BSA). Uji kadar protein terlarut dilakukan dengan cara mereaksikan sampel sebanyak 0,1 mL dengan reagen Bradford sebanyak 5 mL. Larutan dihomogenkan menggunakan vortex dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm.

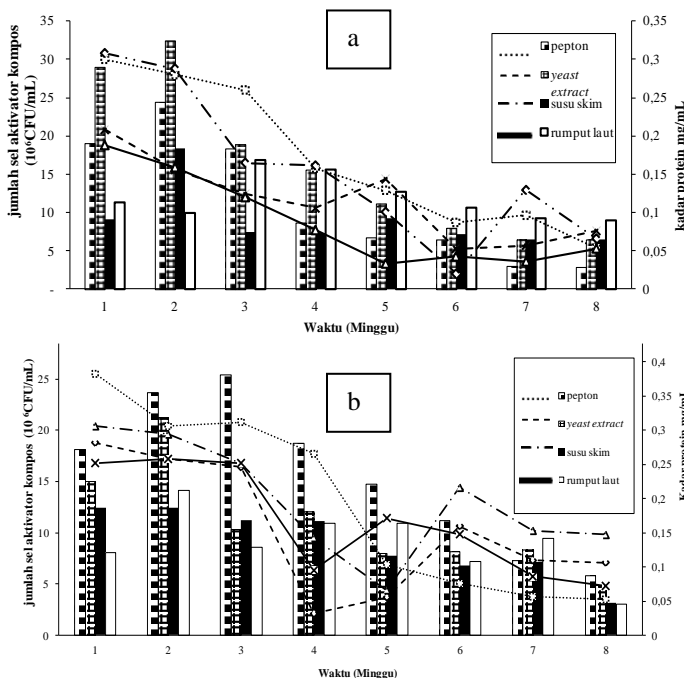
### J. Penyusunan, Pengolahan, dan Analisis Data

Data yang didapat merupakan data kualitatif berupa grafik viabilitas aktivator kompos, tabel kemiringan kurva sebagai indikator pertumbuhan aktivator kompos dengan masa simpan selama 2 bulan, grafik perubahan suhu kompos, dan tabel kandungan rasio C/N kompos dengan variasi aktivator kompos yang dianalisis secara deskriptif [23].

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Viabilitas Aktivator Kompos

Viabilitas aktivator kompos diterjemahkan dalam tingkat pertumbuhan dan pemanfaatan protein selama masa penyimpanan aktivator kompos yang tercantum pada gambar 4.1.



Gambar 1. Jumlah Sel Aktivator Kompos dan Kadar Protein Terlarut. Keterangan gambar: (a) Konsentrasi medium 1,25% (b) Konsentrasi medium 2,5%.

Pada gambar 1 tampak bahwa tingkat pertumbuhan aktivator kompos selama 2 bulan penyimpanan menunjukkan profil jumlah sel dan kandungan protein terlarut yang relatif sama yaitu antara  $5 \times 10^6$  CFU/mL sampai  $30 \times 10^6$  CFU/mL untuk jumlah sel, serta antara 0,05 mg/mL sampai 0,4 mg/mL untuk kadar protein terlarut.

Jumlah sel aktivator kompos dan kadar protein terlarut perlakuan konsentrasi 1,25% (Gambar 1a) menunjukkan penurunan jumlah sel dan penurunan kadar protein terlarut dalam kurun waktu 8 minggu. Penyebab penurunan jumlah sel adalah kadar nutrisi yang terbatas dan kompleksitas protein yang cenderung membutuhkan waktu untuk didegradasi sehingga sel mulai mengurangi aktivitas metabolisme [23]. Aktivator kompos yang tidak mengalami kematian sel tersebut kemungkinannya adalah melakukan pertumbuhan dan melakukan mekanisme dormansi sel. Aktivator kompos melakukan proses regulasi dengan menghasilkan ppGpp (nukleotida guanosin 3'-5'-bifosfat) yang berperan dalam memodulasi aktivitas ribosom pada proses sintesis protein [12].

Profil pertumbuhan dari beberapa variasi aktivator kompos pada Gambar 4.1 sukar untuk dibedakan. Oleh karena itu untuk memudahkan analisis profil pertumbuhan dilakukan penghitungan tingkat kemiringan kurva. Tabel 4.1 menunjukkan kemiringan kurva pertumbuhan aktivator

kompos. Kemiringan kurva pada perlakuan konsentrasi 2,5% lebih rendah dibanding konsentrasi 1,25% dengan kisaran 15-35.

Tabel 1. Kemiringan Kurva Aktivator Kompos

Medium	Kemiringan Kurva Pertumbuhan Aktivator Kompos	
	1,25%	Konsentrasi 2,5%
Pepton	38	35
Yeast Extract	19	17
Susu Skim	35	15
Rumput Laut	21	18

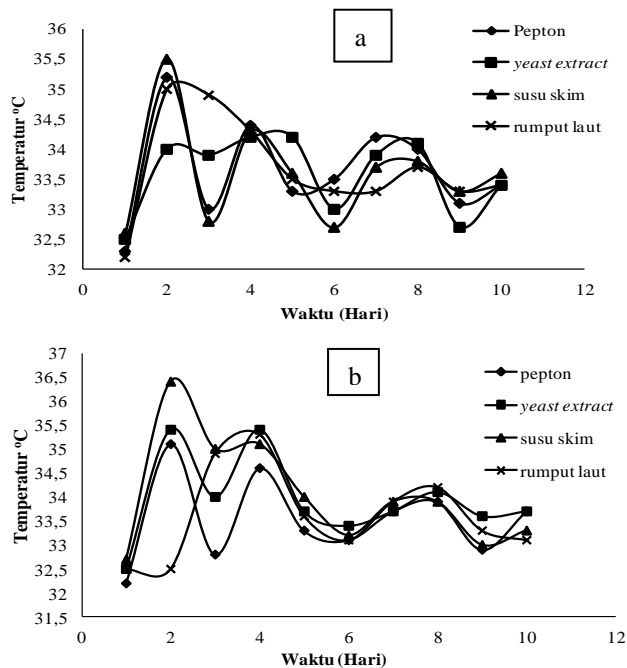
Tabel 1 merupakan hasil dari nilai kemiringan kurva jumlah aktivator kompos berdasarkan pada korelasi pendekatan persamaan linier. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tingkat kemiringan kurva yang dapat menentukan masa simpan aktivator kompos berdasarkan jumlah penurunan sel aktivator kompos. Nilai kemiringan kurva merepresentasikan medium sumber nitrogen yang mampu meningkatkan masa simpan aktivator kompos. Berdasarkan hasil analisis dari segi kemiringan kurva pertumbuhan aktivator kompos, segi ekonomi bahan dalam bidang industri, dan efektivitas dalam pembuatan medium maka rumput laut merupakan medium yang tepat dalam meningkatkan masa simpan aktivator kompos. Rumput laut adalah bahan baku yang ekonomis dan melimpah keberadaannya dengan kandungan nutrisi lengkap untuk meningkatkan masa simpan aktivator kompos [24]. Medium rumput laut konsentrasi 1,25% cenderung memiliki tingkat kemiringan kurva yang relatif rendah yaitu sebesar 21. Hal inilah yang dapat menjadi pertimbangan dalam memanfaatkan rumput laut sebagai variasi sumber nitrogen yang dapat meningkatkan masa simpan aktivator kompos. Rumput laut merupakan medium yang tepat untuk peningkatan masa simpan aktivator kompos pada skala industri produksi aktivator kompos. Rumput laut memiliki kandungan nutrisi yang kompleks untuk didegradasi oleh mikroorganisme. Kompleksitas struktur protein tersebut dapat meningkatkan masa simpan aktivator kompos karena akan terjadi penurunan metabolisme sehingga sel mengalami dormansi [12].

Kemampuan aktivator kompos dalam meningkatkan masa simpan ini disebabkan karena rumput laut memiliki kandungan karagenan berupa rantai polisakarida panjang, kandungan protein, dan asam amino. Aktivator kompos yang terdiri dari *Rhizobium* sp. dan *A. niger* mampu menghasilkan berbagai jenis enzim untuk mendegradasi nutrisi. *Rhizobium* sp. mampu menghasilkan enzim protease untuk mendegradasi kandungan protein di dalam medium rumput laut. Enzim lain yang berperan dalam proses metabolisme protein yaitu aspartase yang mampu mendegradasi aspartat menjadi fumarat dan amonia [25, 26]. *A. niger* juga mampu menghasilkan enzim ekstraseluler berupa enzim amilase, selulase, dan enzim protease. *A. niger* berfungsi untuk mendegradasi protein menjadi peptida rantai pendek atau asam amino yang digunakan untuk memenuhi suplai nutrisi berupa sumber karbon dan nitrogen yang tidak terdapat di dalam sel [18]. Aktivitas enzim protease semakin meningkat apabila kandungan sumber nitrogen juga meningkat. Enzim protease

mampu meningkatkan aktivitas degradasi substrat berupa *yeast extract* dan pepton [27]. Sekresi protease ekstraseluler terjadi pada fase pertumbuhan stasioner.

### B. Pembuatan Kompos dengan Variasi Aktivator Kompos

Pengamatan perubahan suhu dalam pembuatan kompos dengan variasi aktivator kompos tercantum dalam gambar 4.4. Pada gambar 4.4 terlihat dua fase perubahan suhu kompos yaitu fase termofilik dan fase mesofilik. Fase termofilik pada gambar terjadi pada hari ke-1 dengan peningkatan suhu kompos pada hari ke-2. Sedangkan fase mesofilik terjadi pada hari ke-3 sampai hari ke-10.



Gambar 2. Hasil Pengukuran Suhu Kompos.  
Keterangan gambar: (a) Aktivator Kompos Variasi Sumber Nitrogen Konsentrasi 1,25% (b) Aktivator Kompos Variasi Sumber Nitrogen Konsentrasi 2,5%.

Aktivator kompos berperan dalam melakukan degradasi pada fase termofilik berupa kenaikan suhu mencapai 35,5-36,5°C selama proses composting. Parameter pengukuran suhu selama proses komposting bertujuan untuk mengetahui aktivitas aktivator kompos dalam proses degradasi bahan berbasis molekul organik karena suhu merupakan faktor utama yang mempengaruhi aktivitas mikroorganisme dalam proses pengomposan [28]. Suhu kompos mengalami kenaikan pada fase termofilik karena aktivator kompos mulai aktif melakukan proses degradasi bahan organik [28]. Gambar 2 tampak bahwa suhu kompos pada variasi aktivator kompos memiliki perubahan suhu yang cenderung sama dan tidak terjadi perbedaan yang signifikan. Proses komposting tetap berlangsung sampai hari ke-10 yang ditunjukkan dengan penurunan suhu kompos yang cenderung stabil pada kisaran suhu 32-34,5°C. Proses aerasi merupakan upaya yang penting untuk mensuplai kebutuhan oksigen bagi mikroorganisme dalam melakukan respirasi aerob dan mengontrol suhu kompos dengan cara pengadukan.

### C. Rasio C/N Kompos Organik

Hasil pengukuran rasio C/N pada masing-masing perlakuan aktivator kompos tercantum dalam Tabel 2. Rasio C/N tersebut sesuai dengan standar SNI kompos yaitu dengan nilai 10,35/1 -14,15/1. Berdasarkan SNI 19-7030-2004 rasio C/N kompos memiliki nilai minimum dan maksimum sebesar 10:1-20:1(SNI, 2004). Sedangkan rasio C/N untuk ISO 17556 terkait proses pembuatan kompos adalah sebesar 10/1 sampai 20/1.

Tabel 2. Rasio C/N Kompos Sampah Pertanian

Medium	%C	%N	Rasio C/N
Pepton 1,25%	9,68	0,86	11,26
Pepton 2,5%	9,52	0,92	10,35
Yeast Extract 1,25%	8,53	0,68	12,54
Yeast Extract 2,5%	9,41	0,75	12,01
Susu Skim 1,25%	8,91	0,76	11,72
Susu Skim 2,5%	8,93	0,81	11,02
Rumput Laut 1,25%	6,08	0,43	14,15
Rumput Laut 2,5%	6,63	0,48	13,82

Rasio C/N merupakan salah satu parameter kualitas kompos berdasarkan tingkat kematangan kompos. Tingkat kematangan kompos diukur berdasarkan penurunan nilai rasio C/N yang disebabkan oleh aktivitas degradasi aktivator kompos pada bahan berbasis molekul organik [29]. Berdasarkan hasil pengukuran rasio C/N kompos dapat diketahui bahwa aktivator kompos dapat melakukan degradasi bahan organik dengan menurunkan nilai rasio C/N. Proses penurunan rasio C/N juga dapat dilakukan dengan adanya aerasi yang dilakukan selama proses composting.

Nilai optimal rasio C/N terdapat pada aktivator kompos medium rumput laut konsentrasi 1,25% yaitu sebesar 14,15/1. Nilai optimal rasio C/N berkaitan dengan aktivitas aktivator kompos yang dapat memanfaatkan sumber karbon dan nitrogen secara optimal sebagai sumber energi dan komponen pembentukan sel [30].

Nilai rasio C/N dengan aktivator kompos pada medium pepton, *yeast extract*, dan susu skim menunjukkan rasio C/N yang berada pada batas minimal standar. Nilai rasio C/N yang cukup rendah dapat menyebabkan pembentukan amoniak (NH<sub>3</sub>) yang dihasilkan oleh bakteri karena nitrogen tidak dimanfaatkan oleh aktivator kompos sehingga dapat mengakibatkan bau tidak sedap dan kualitas kompos dapat berkurang.

## IV. KESIMPULAN

Rumput laut merupakan medium yang tepat dalam meningkatkan masa simpan aktivator kompos. Medium rumput laut konsentrasi 1,25% dan 2,5% cenderung memiliki tingkat kemiringan kurva yang relatif rendah yaitu sebesar 21 dan 18. Nilai kemiringan yang rendah menunjukkan bahwa tingkat kematian sel setiap waktu cenderung lebih rendah karena diduga sel mengurangi aktivitas metabolisme dengan melakukan regulasi dormansi sel. Selain itu, nilai rasio C/N kompos dengan aktivator pada medium rumput laut memiliki

nilai rasio C/N yang optimal sebesar 14,15/1. Oleh karena itu, rumput laut merupakan medium yang tepat untuk peningkatan masa simpan aktivator kompos pada skala industri produksi aktivator kompos.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis A. W. Barselia ucapkan terima kasih kepada Dr.techn. Endry Nugroho, MT. Selaku dosen pembimbing. Ayahanda Sarbini serta Ibunda Siti Astutik atas semangat, doa dan kasih sayangnya. Keluarga *Aptenodites patagonicus* 2011 dan *Biomaterial and Enzyme Research Team* atas motivasi dan semangatnya.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] J. A. Albuquerque, J. G. Ivez, G. Tortosa, G. Baddi, J. Cegarra, "Evaluation of "alperujo" composting based on organic matter degradation, humification and compost quality". *Journal of Biodegradation Springer Science and Business Media* (2009) 20:257–270.
- [2] O. Fourti, N.Jedidi, dan A. Hassen. "Humic substances change during the co-composting process of municipal solid wastes and sewage sludge". *Journal of Microbiol Biotechnol* (2010) 26:2117–2122.
- [3] A.Kumar, S. Gaind, dan, L. Nain. :Evaluation of thermophilic fungal consortium for paddy straw composting". *Journal of Biodegradation* (2008) 19:395–402.
- [4] R. Li, L. Li, R. Huang, Y. Su, X. Mei, B. Shen, dan Q. Shen. "Variations of culturable thermophilic microbe numbers and bacterial communities during the thermophilic phase of composting". *Journal of World Microbiol Biotechnol* (2013) 30:1737–1746.
- [5] I. Petric, dan V. Selimbis. "Composting of poultry manure and wheat straw in a closed reactor: optimum mixture ratio and evolution of parameters". *Journal of Biodegradation* (2007)19:53–63.
- [6] Gharib, F. A., M Oussa, L. A. , Dan Massoud, Osama. N. "Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plant". *International journal Of Agriculture & Biology* (2008) 1560–8530.
- [7] Partanen, P., Hultman, J., Paulin, L., Auvinen, P. , dan Romantschuk, M. "Bacterial diversity at different stages of the composting process". *Research Article BMC Microbiology* (2010) 10-94 <<http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/94>> [25 Agustus 2015].
- [8] Skinner, C. dan Lin, S. J. "Effects of calorie restriction on life span of microorganisms". *Journal of Appl Microbiol Biotechnol* (2010) 88:817–828.
- [9] Delalibera, I. Jr., Humbler, R. A., Hajek, A. E. "Preservation of in vitro culture of the mite pathogenesis fungus *Neozygites tanajoae*". *Canadian Journal of Microbiology* 8:50 page (2004)579.
- [10] Romano, P., "Laboratory procedures for microorganisms". *Artikel CABRI*. (1998) April 2013.
- [11] Uzunova, T. D., dan Donev, T. "Anabiosis and conservation of microorganisms". *Journal of Culture Collections Volume 4*, (2005) 17-28.
- [12] Mukherjee, T. K., Raghavan, A., dan Chatterji, D. "Shortage of nutrient in bacteria: The Stringent Response". *Review Article Current Science* (1998) Volume 75, No. 7.
- [13] Hubalek, Z. "Protectants used in the cryopreservation of microorganisms". *Review Journal Cryobiology* 46 (2003) 205-229.
- [14] Ooi, T. C., I Ariff, A. B., Halimi, M. S., dan Shamsuddin, Z. H. "Growth kinetics of diazotrophic *Bacillus sphaericus* UPMB 10 cultured using different types and concentrations of carbon and nitrogen sources". *Malaysian Journal of Microbiology*, Vol 4 (2008) 15- 25.
- [15] Uzeh, R. E., Akinola, S. O., dan dan Olatope, S. O. A. " Production of peptone from soya beans (*Glycine max* L merr) and African locust beans (*Parkia biglobosa*)". *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (18), (2006) 1684-1686.
- [16] Ravimannan, N., Arulanantham, R., Pathmanathan, S., dan Niranjana, K. "Alternative culture media for fungal growth using different formulation of protein sources". *Journal of Annals of Biological Research*, 5 (1) (2014) 36-39.
- [17] Masaphy. "Development of Media for Growth and Enumeration of Fungi from Water". *Laboratory Protocols in Fungal Biology: Current Methods in Fungal Biology*, Fungal Biology (2013).
- [18] Braaksma, M., Age, K., Smilde, Marie, Werf, V. D., dan Punt, P. J. "The effect of environmental conditions on extracellular protease activity in controlled fermentations of *Aspergillus niger*". *Journal of Microbiology* 155, (2009) 3430–3439.
- [19] Mujahidy, J. A., "Hassan, M., Rahman, M., dan Rashid, M. Isolation and characterization of *Rhizobium* spp. and determination of their potency for growth factor production". *International Research Journal of Biotechnology* (ISSN: 2141-5153) Vol. 4(7) (2013) 117-123.
- [20] Woome, P. L., Karanja, N., Kisamuli, S. M., Murwira, M., dan Bala, A. "A revised manual for rhizobium methods and standard protocols available on the project website". *A revised manual for rhizobium methods and standard protocols available on the project website* (2011).
- [21] Ching, H. Y., Ahmed, O. H., Kassim, S., dan Majid, N. M. A. "Co-composting of pineapple leaves and chicken manure slurry". *International Journal Of Recycling of Organic Waste in Agriculture* (2013) 2:23.
- [22] Neeraj, Gaurav, S.S., Chatterjee, S.C., Sachin, dan Chandra, M. "Efficient Nitrogen Fixing Rhizobial Isolate Infecting *Vigna radiata* L. *Asian Journal of Agricultural Sciences*" 1(2): (2009) 62-65.
- [23] Maisonneuve, E. dan Gerdes, K. "Molecular mechanisms underlying bacterial persisters". *Leading Edge Review Cell* (2014) 157.
- [24] Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N. M., dan Muhammad, K. "Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*". *Journal of Appl Phycol* (2008) 21:75–80.
- [25] Poole, P. dan Allaway, D. "Carbon and nitrogen metabolism in *Rhizobium*. *advances in microbial physiology*". Volume (2000) 43.
- [26] Dunn, M. F. "Key roles of microsymbiont amino acid metabolism in rhizobia-legume interactions". *Crit Rev Microbiol*, Early Online (2014) 1–41.
- [27] Chancharonpong, C., Huenjit, Hsieh, P. C., dan Sheu, S. C. "Enzyme production and growth of *Aspergillus oryzae* S. On soybean koji fermentation". *APCBEE (Procedia)* 2012) 000–000.
- [28] Barakah, F., Radwan, S., dan Aziz, R. "Using Biotechnology in Recycling Agricultural Waste for Sustainable Agriculture and Environmental Protection". *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 2 (12 : (2013) 446 – 459.
- [29] Tripetchkul, S., Pundee, K., Koonsrisuk, S., dan Akeprathumchai, S. 2012. "Co-composting of coir pith and cow manure: initial C/N ratio vs physico-chemical changes". *International Journal Of Recycling of Organic Waste in Agriculture* (2012) 1:15.
- [30] Sadik, M.W., El Shaer, H.M., Yakot, H. M. "Recycling of agriculture and animal farm wastes into compost using compost activator in Saudi Arabia". *J. Int. Environmental Application & Science*, Vol. 5 (3): (2010) 397-403.