

EFEKTIFITAS *Azotobacter* sp. DAN *Pseudomonas* sp. PADA TANAMAN SORGUM (*Sorghum bicolor* L.) DALAM PROSES FITOREMEDIASI LIMBAH MINYAK BUMI

***Azotobacter* sp. AND *Pseudomonas* sp. EFFECTIVITY ON SORGHUM (*Sorghum bicolor* L.) PLANT) ON PETROLEUM WASTE PHYTOREMEDIATION PROCESS**

Pujawati Suryatmana *, Mieke Rochimi Setiawati, Nadia Nuraniya Kamaluddin, Diyan Herdiyantoro

Jurusan Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km.21, Jatinangor, Jawa Barat, Indonesia.

*Korespondensi: pujawati@unpad.ac.id

Diterima: 02 September 2022 / Disetujui: 26 November 2022

ABSTRAK

Interaksi sinergis antara tanaman-bakteri dapat digunakan untuk meningkatkan kinerja fitoremediasi tanah yang terkontaminasi hidrokarbon (HC). Penelitian bertujuan untuk karakterisasi *plant growth promoting rhizobacteria*: *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. dalam kinerja fitoremediasi limbah minyak bumi menggunakan tanaman sorgum (*Sorghum bicolor* L.). Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok faktorial (RAK-Faktorial) terdiri dari inokulasi *Azotobacter* sp. sebanyak 0%, 1%, 2%, dan 3% per konsentrasi *total petroleum hydrocarbon* (TPH), dan inokulasi *Pseudomonas* sp. 0%, 1%, 2%, dan 3% per TPH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap seluruh variabel respon. Namun, efek mandiri terlihat pada efisiensi biodegradasi HC, yaitu inokulasi *Azotobacter* sp. dosis 3% berbeda secara signifikan dengan kontrol pada fase ke 4 minggu setelah tanam (MST), tetapi tidak signifikan pada fase 14 MST. Inokulasi *Pseudomonas* sp. tidak memberikan efek yang signifikan antar perlakuan terhadap efisiensi biodegradasi HC pada dua periode pengamatan. Populasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. menurun pada periode 4 MST, selanjutnya meningkat pada periode 14 MST. Pertumbuhan tanaman sorgum mengalami retardasi selama 14 MST. Residu hidrokarbon terakumulasi lebih tinggi di bagian akar daripada di bagian tajuk tanaman. *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. berperan sebagai *binding agent* yang dapat menghambat serapan hidrokarbon oleh akar sorgum.

Kata kunci: *Azotobacter* sp., fitoremediasi, hidrokarbon, *Pseudomonas* sp., *Sorghum bicolor* L.

ABSTRACT

The synergism interaction between plant-bacteria can be used to improve performance of phytoremediation hydrocarbon (HC) contaminated soil. The study aimed to characterize *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp. in petroleum phytoremediation performance using sorghum (*Sorghum bicolor* L.). The research used a randomized block design with two factors: *Azotobacter* sp. inoculation 0%, 1%, 2% and 3% per total petroleum hydrocarbon (TPH) concetra-

tion, and *Pseudomonas* sp inoculation: 0%, 1%, 2% and 3% per TPH concentration. The results showed there was no interaction between *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp. inoculation to each response variable. The independent effect of 3% *Azotobacter* sp. to biodegradation HC efficiency was significantly different from the control at phase 4 weeks after planting (WAP), but not significantly different at phase 14 WAP. *Pseudomonas* sp. effect did not show a significantly different between treatments on the hydrocarbon biodegradation efficiency in the two observation periods. *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp. population decreased at period 4 WAP, then increased at period 14 WAP. The Sorghum growth was retarded during 14 WAP. Hydrocarbon residues accumulated higher in the roots than in shoot. *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp. act as a binding agent that can inhibit the hydrocarbons uptake by sorghum roots.

Key words: *Azotobacter* sp., hydrocarbon, phytoremediation, *Pseudomonas* sp., *Shorghum bicolor* L.

PENDAHULUAN

Limbah minyak bumi menjadi permasalahan yang serius seiring dengan banyaknya industri migas di sekitar area pertanian. Badan Pusat Statistik Republik Indonesia (2020) melaporkan bahwa produksi minyak bumi pada tahun 2019 mencapai 259.246,8 (dalam ribu) barrel dan limbah yang dihasilkan sekitar 37,38% dari angka produksi tersebut. Industri migas diwajibkan merehabilitasi lahan yang tercemar minyak bumi di area pembuangan limbah di beberapa Industri minyak bumi sesuai Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.128, (2003).

Komposisi minyak bumi terdiri atas 85% unsur karbon, 12% unsur hidrogen (H), 0-0,5% nitrogen (N), 0-6% fosfor (P), 0-3,5 % oksigen (O), belerang (S) dan 0-0,1% unsur logam, seperti arsen (As), cadmium (Cd), krom (Cr), raksa (Hg), nikel (Ni), timbal (Pb), tembaga (Cu), dan seng (Zn) (Suryatmana *et al.*, 2007). Kandungan dan sifat hidrokarbon yang sulit terurai dan bersifat toksik juga karsinogenik dikategorikan sebagai senyawa berbahaya yang memerlukan penanggulangan yang tepat.

Salah satu alternatif teknik yang ramah lingkungan untuk mengolah lahan terkontaminasi minyak bumi adalah fitoremediasi. Prinsip fitoremediasi adalah tanaman menyediakan eksudat akar di area rizosfer untuk meningkatkan populasi mikoba fungsional menjadi lebih tinggi. Hal ini dapat meningkatkan terjadinya degradasi senyawa hidrokarbon. Penerapan fitoremediasi untuk menghilangkan polutan organik merupakan strategi yang potensial untuk dikembangkan (Abou Seeda *et al.*, 2020).

Faktor penghambat utama dalam proses biodegradasi hidrokarbon (HC) dalam sistem fitoremediasi adalah faktor toksisitas dan sifat hidrofobiknya, yaitu akan membatasi ketersediaan tanaman untuk menyerap air dan nutrisi (Peng *et al.*, 2009). Pada tanah yang tercemar HC ditemukan populasi dan keragaman mikroba menurun drastis sehingga efektifitas mikroorganisme untuk mendegradasi HC sangat rendah dan perannya dalam membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman fitoremediator menjadi tidak efektif (Zhang *et al.*, 2012). Untuk mengatasi masalah tersebut, pemilihan interaksi antara mikroba dan tanaman yang tepat adalah strategi yang

layak dipertimbangkan. Suatu interaksi yang sinergis berpeluang dapat berperan memacu pertumbuhan tanaman dan menstimulasi proses degradasi HC secara efisien (Weyens *et al.*, 2011; Fernández *et al.*, 2011). Kolonisasi kelompok rizobacteria yang diinokulasikan pada tanaman yang berbeda merupakan faktor penting untuk meningkatkan efisiensi fitoremediasi (Nie *et al.*, 2011; Afzal *et al.*, 2012). Oleh karena itu, kajian interaksi, viabilitas, dan kompatibilitas inokulan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) sebagai biostimulator pemacu pertumbuhan tanaman fitoremediasi perlu dilakukan (Afzal *et al.*, 2012; Ahmad *et al.*, 2012).

Tanaman sorgum (*Sorghum bicolor* L.) merupakan salah satu tanaman yang potensial digunakan sebagai tanaman fitoremediator karena memiliki sistem perakaran serabut, kuat, dan menyebar dalam di dalam tanah. Adanya eksudat akar pada daerah rizosfer akan meningkatkan populasi mikroba menjadi 5-100 kali lebih tinggi yang berperan untuk meningkatkan degradasi senyawa hidrokarbon (Estuningsih *et al.*, 2012). Hasil uji tanaman sorgum tanpa penambahan agen hayati untuk menghilangkan limbah minyak bumi menunjukkan efisiensi biodegradasi hidrokarbon antara 60 - 65% (Suryatmana *et al.*, 2020). Hasil penelitian Omara *et al.* (2017) menunjukkan bahwa sorgum dapat bertahan pada tanah terkontaminasi minyak bumi.

Nitrogen dan fosfor merupakan unsur hara yang penting dalam sistem fitoremediasi. Aplikasi mikroorganisme yang dapat memfiksasi N₂ dan meningkatkan ketersediaan P (pelarut P) di dalam tanah merupakan satu alternatif yang tepat untuk mendapatkan kondisi kecukupan N dan P di dalam sistem fitoremediasi kontaminan

hidrokarbon minyak bumi. Salah satu kandidat mikroba yang potensial sebagai *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) adalah *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp.

Azotobacter sp. adalah bakteri penambat nitrogen aerobik yang mampu menambat nitrogen (Suryatmana, 2006) sehingga diharapkan akan mensubstitusi kebutuhan N yang diperlukan dalam proses biodegradasi hidrokarbon. *Azotobacter vinelandii* mampu mengeksresikan senyawa yang berfungsi sebagai biosurfaktan (Suryatmana *et al.*, 2007). *Azotobacter* sp. mampu memproduksi fitohormon (Sumbul *et al.*, 2020).

Pseudomonas sp. merupakan bakteri gram negatif sebagai bakteri pelarut fosfat, dapat melarutkan fosfat terikat mineral seperti Fe, Al, Ca, dan Mg menjadi fosfat tersedia untuk digunakan tanaman (Sah *et al.*, 2021). Sedangkan menurut Peng *et al.* (2009), kecukupan hara fosfor di dalam tanah terkontaminasi HC yang akan diremediasi merupakan parameter penting untuk meningkatkan kinerja fitoremediasi tanah terkontaminasi HC.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji karakteristik interaksi inokulasi *Azotobacter* sp dan *Pseudomonas* sp., serta kontribusinya terhadap tanaman sorgum dalam meningkatkan proses biodegradasi hidrokarbon minyak bumi. Kajian difokuskan pada beberapa parameter penting, antara lain pola efisiensi biodegradasi limbah minyak bumi, pola biodinamika viabilitas *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. selama proses biodegradasi hidrokarbon berlangsung, pertumbuhan tanaman sorgum dan tingkat serapan hidrokarbon oleh tanaman sorgum.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada Mei hingga September 2021, di rumah kaca di Kebun Percobaan dan Laboratorium Biologi Tanah Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Rumah kaca ini terletak pada ketinggian 725 meter di atas permukaan laut (dpl). Analisis laboratorium dilakukan di Laboratorium Biologi Tanah, Jurusan Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Kabupaten Sumedang, Provinsi Jawa Barat.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain benih tanaman sorgum varietas Unpad 1.1, inokulan *Azotobacter* sp., dan *Pseudomonas* sp. dengan kepadatan 10^7 CFU ml⁻¹ koleksi Laboratorium Biologi dan Bioteknologi Tanah Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, minyak bumi dari Pertamina Balongan, Indramayu, media untuk produksi kultur *Azotobacter* sp. yaitu media cair mineral mengandung molase 2% sebagai sumber karbon, sedangkan media untuk produksi kultur *Pseudomonas* sp. yaitu media cair Pikovskaya. Pupuk anorganik yang digunakan sebanyak 50% dosis anjuran yang terdiri dari Urea 100 kg ha⁻¹ (0,5 g pot⁻¹), TSP 50 kg ha⁻¹ (0,25 g pot⁻¹), KCl 25 kg ha⁻¹ (0,125 g pot⁻¹), dan pupuk kompos kotoran sapi dengan dosis 5 ton ha⁻¹ (25 g pot⁻¹).

Rancangan Percobaan

Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial digunakan sebagai rancangan penelitian yang terdiri dari faktor pertama yaitu inokulasi *Azotobacter* sp. dengan 4 taraf perlakuan, dan faktor kedua adalah inokulasi *Pseudomonas* sp. yang terdiri dari 4

taraf perlakuan. Tiap kombinasi perlakuan diulang 3 kali.

Faktor I: inokulasi dalam variasi konsentrasi *Azotobacter* sp.

a₀ = tanpa pemberian *Azotobacter* sp.

a₁ = *Azotobacter* sp. 1% per [TPH]

a₂ = *Azotobacter* sp. 2% per [TPH]

a₃ = *Azotobacter* sp. 3% per [TPH]

Faktor II: Inokulasi dalam variasi konsentrasi *Pseudomonas* sp.:

b₀ = tanpa pemberian *Pseudomonas* sp.

b₁ = *Pseudomonas* sp. 1% per [TPH]

b₂ = *Pseudomonas* sp. 2% per [TPH]

b₃ = *Pseudomonas* sp. 3% per [TPH]

Pelaksanaan percobaan berlangsung selama 14 minggu.

Perbanyak kultur *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp.

Perbanyak kultur inokulan kedua bakteri dilakukan dengan menggunakan dua macam media, yaitu media cair mineral mengandung molase 2% untuk produksi biomasa kultur *Azotobacter* sp. dan media cair Pikovskaya untuk produksi biomasa kultur *Pseudomonas* sp. Konsentrasi isolat starter yang digunakan adalah 10% dari volume masing-masing jenis media, selanjutnya diinokulasikan ke dalam media masing-masing dan diinkubasi selama 72 jam dengan pengocokan pada kecepatan 100 rpm.

Penyiapan tanah terkontaminasi minyak bumi.

Contoh tanah yang digunakan dalam percobaan adalah tanah inseptisol Jatiningor diklasifikasikan sebagai Fluventic Eutrudepts, berliat, kaolinitik, isohipertermik (Arifin *et al.*, 2018), yang diambil secara komposit, dikeringanginkan dan diayak. Tanah percobaan yang digunakan yaitu

sebanyak 10 kg per pot yang ditambah minyak bumi sebanyak 5% *total petroleum hydrocarbon* (TPH) per berat tanah (wt/wt). Tanah selanjutnya dicampur merata sehingga diperoleh tanah yang terkontaminasi minyak bumi. Selanjutnya, tanah ditambahkan kompos sebanyak 5 t ha⁻¹ (25 g pot⁻¹) yang dicampur secara merata. Media ini digunakan sebagai media tanam sorgum sebagai sistem fitoremediasi, selanjutnya dilakukan pemupukan dasar berupa pupuk anorganik Urea, SP36 dan KCl dengan dosis 50%. Tanah yang telah disiapkan diinokulasi dengan kultur *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. pada lubang tanam pada konsentrasi sesuai perlakuan yaitu 0, 1%, 2% dan 3% inokulan kultur cair per beban limbah (konsentrasi TPH tanah). Tahap selanjutnya adalah penanaman bibit sorgum yang berumur 1 bulan pada tiap lubang tanaman yang telah diinokulasi oleh kultur *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. Pemeliharaan tanaman selanjutnya meliputi penyiraman, penyulaman, penyiangan dan perlindungan tanaman.

Analisis Total Petroleum Hydrocarbon dan viabilitas Azotobacter sp dan Pseudomonas sp. selama proses fitoremediasi berlangsung

Penurunan konsentrasi hidrokarbon diukur dengan menganalisis residu TPH di dalam tanah percobaan menggunakan metode gravimetri n-Heksan. Tahap proses ekstraksi residu hidrokarbon sample tanah percobaan dilakukan dengan 10 g sampel tanah percobaan dilarutkan menggunakan pelarut n-Heksan dalam botol ekstraksi TPH. Selanjutnya, dilakukan pengocokan dengan vortexer pada putaran maksimum skala vortex untuk memperoleh ekstrak residu TPH. Hasil ekstraksi dipetoleh lapisan teratas yang merupakan minyak bumi terlarut dalam

n-Heksan, selanjutnya ekstrak TPH terlarut dalam n-Hexan dituangkan ke dalam botol penampung sampel TPH. Proses ekstraksi diulang sampai TPH terekstraksi sempurna dari partikel tanah, yang diindikasikan dengan n-hexan sebagai pelarut berwarna bening. Sampel TPH hasil ekstraksi dalam botol penampung diuapkan pada suhu 45°C sampai n-Hexan dan TPH yang telah terekstrak ditimbang dengan metode gravimetrik, kemudian dihitung efisiensi degradasi hidrokarbonnya.

Perhitungan efisiensi degradasi hidrokarbon dinyatakan dalam persamaan:

$$ED\% = \frac{[TPH]_{t0} - [TPH]_{tn}}{[TPH]_{t0}} \times 100\% \dots\dots 1).$$

dimana :

ED % = Efisiensi degradasi

[TPH]_{t0} = Hasil penghitungan konsentrasi TPH pada awal sebelum fitoremediasi

[TPH]_{tn} = Hasil penghitungan konsentrasi TPH pada waktu ke n setelah proses fitoremediasi

Pengamatan pertumbuhan sorgum dilakukan dengan mengukur tinggi tanaman sorgum dalam interval 2 minggu. Analisis serapan hidrokarbon pada akar dan tajuk tanaman sorgum menggunakan metode modifikasi (Banks *et al.*, 2003). Tanaman sorgum didestruksi dengan cara memisahkan bagian akar dan tajuk dari seluruh bagian tanaman, selanjutnya dikeringkan dalam oven selama 48 jam pada kondisi suhu 80°C. Masing-masing bagian tanaman diekstraksi untuk tahap analisis konsentrasi serapan hidrokarbon yang ada pada akar tajuk sorgum. Karakteristik isolat direpresentasikan dengan viabilitas isolat. Analisis viabilitas *Azotobacter* sp dan

Pseudomonas sp. dilakukan menggunakan metode *serial dilution Total Plate Count* (TPC) yang dilakukan pada awal percobaan dan setiap interval 2 minggu.

Analisis Statistik

Data percobaan dianalisis menggunakan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 15.0. Analisis varians (ANOVA) dilakukan dan perbedaan signifikan dinilai pada tingkat signifikansi 5% ($p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efisiensi Degradasi Hidrokarbon

Hasil analisis statistik menunjukkan tidak terdapat interaksi antara perlakuan *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. Maka analisis sidik dilanjutkan pada efek mandiri terhadap efisiensi degradasi hidrokarbon yang terjadi pada fase minggu ke-4 dan minggu ke-14 pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap efisiensi degradasi hidrokarbon dalam fitoremediasi hidrokarbon minyak bumi selama fase minggu ke-4 dan minggu ke-14 setelah tanam (MST)

Perlakuan	Efisiensi Degradasi Hidrokarbon (4 MST)	Efisiensi Degradasi Hidrokarbon (14 MST)
<i>Azotobacter</i> sp.:	--- % ---	--- % ---
Tanpa <i>Azotobacter</i> sp. (Kontrol)	26,62 a	69,959 a
1% <i>Azotobacter</i> sp. / [TPH]	25,64 a	76,001 a
2% <i>Azotobacter</i> sp./ [TPH]	31,49 ab	74,786 a
3% <i>Azotobacter</i> sp./ TPH]	37,19 b	75,578 a
<i>Pseudomonas</i> sp.:	---(%)---	---(%)---
Tanpa <i>Pseudomonas</i> sp. (kontrol)	30,33 a	71,943 a
1% <i>Pseudomonas</i> sp./ [TPH]	30,91 a	73,573 a
2% <i>Pseudomonas</i> sp./ [TPH]	26,92 a	74,758 a
3% <i>Pseudomonas</i> sp./ [TPH]	32,79 a	75,578 a

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan menurut Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanam, TPH= *total petroleum hydrocarbon*.

Hasil penelitian selama fase tumbuh tanaman sorgum pada 4 MST menunjukkan bahwa tingkat efisiensi degradasi hidrokarbon tidak berbeda nyata antara perlakuan kontrol (tanpa *Azotobacter* sp) pada perlakuan 1% dan 2% *Azotobacter* sp. Sedangkan perlakuan dosis 3% *Azotobacter* sp. menunjukkan tingkat efisiensi degradasi berbeda nyata secara signifikan ($p < 0.05$) dengan perlakuan kontrol dan perlakuan 1% *Azotobacter* sp., namun tidak signifikan dengan perlakuan dosis 2% *Azotobacter* sp. Dosis aplikasi 3% *Azotobacter* sp. memberi

pengaruh nyata lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kontrol terhadap nilai efisiensi degradasi hidrokarbon yaitu 37.19%. Hasil ini menggambarkan bahwa *Azotobacter* sp. 3% selama periode 4 MST dapat membantu bakteri petrofilik dalam memecah hidrokarbon. Mengacu pada penelitian Suryatmana *et al.* (2007), *Azotobacter vinelandii* menghasilkan biosurfaktan yang dapat meningkatkan kelarutan hidrokarbon sehingga lebih cepat tersedia untuk segera didegradasi oleh petrofilik (*Pseudomonas* sp-06, *Bacillus* sp, *Acinetobacter* sp.),

Hasil analisis tingkat biodegradasi pada periode minggu ke-14 MST diperoleh efisiensi biodegradasi hidrokarbon yang tidak signifikan antar perlakuan inokulasi *Azotobacter* sp, namun efisiensi biodegradasi akibat perlakuan *Azotobacter* sp. cenderung lebih tinggi. Hal ini dapat disampaikan bahwa *Azotobacter* sp. pada proses biodegradasi hidrokarbon selama 14 minggu mengalami penurunan aktifitas sebagai pendegradasi hidrokarbon, disebabkan adanya cekaman toksik dari senyawa *intermediate* (senyawa antara) hasil proses pemecahan hidrokarbon yang belum sempurna dan bersifat resisten dan lebih toksik bagi *Azotobacter* sp. sehingga tidak dapat digunakan sebagai sumber karbon bagi *Azotobacter* yang mengakibatkan aktifitas *Azotobacter* sp. dalam mendukung proses fitoremediasi menjadi terhambat. Menurut Suryatmana *et al.* (2007) lambatnya proses biodegradasi hidrokarbon oleh mikroba disebabkan karena adanya senyawa hidrokarbon dengan tingkat toksisitas yang tinggi dan bersifat resisten seperti golongan polisiklik aromatik.

Inokulasi *Pseudomonas* sp. pada variasi dosis selama periode 4 MST tidak memberikan efek yang signifikan untuk setiap perlakuan. Proses degradasi hidrokarbon dalam sistem fitoremediasi dengan bantuan inokulasi *Pseudomonas* sp. kemungkinan belum terjadi proses degradasi yang sempurna untuk menghasilkan energi, tetapi masih menyisakan senyawa antara sehingga tingkat efisiensi biodegradasi masih pada taraf 32.79%. Senyawa *intermediate* merupakan hasil biodegradasi yang belum didegradasi sempurna antara lain *Cathecol*, *Dihydrodiol*, alkohol, dan kelompok *aldehyde* (Das & Chandran, 2010; Suryatmana *et al.*, 2007). Sedangkan residu hidrokarbon yang bersifat lebih resisten menurut Suryatmana

et al. (2022) antara lain, Pentane 2-methyl (C_6H_{14}), Hexyl hydride (C_6H_{14}), Cyclopentane methyl (C_6H_{12}), Pentane 2.3-dimethyl (C_7H_{16}).

Efisiensi biodegradasi hidrokarbon pada periode minggu ke-14 akibat inokulasi *Pseudomonas* sp. menunjukkan tingkat efisiensi biodegradasi hidrokarbon cenderung meningkat tetapi tidak signifikan antar perlakuan. Hal ini terjadi disebabkan karena *Pseudomas* sp. belum mampu berperan sebagai agen biostimulan yang efektif karena *Pseudomonas* sp. yang diinokulasikan memiliki tingkat adaptabilitas yang rendah terhadap cekaman toksik hidrokarbon yang ada.

Nilai efisiensi biodegradasi yang dihasilkan akibat perlakuan kedua agen hayati tersebut belum menunjukkan kinerja yang optimal dalam memacu proses biodegradasi limbah minyak bumi dan pertumbuhan tanaman. Berbeda dengan hasil penelitian (Weyens *et al.*, 2011; Afzal *et al.*, 2012) bahwa bakteri yang berasosiasi dengan tumbuhan, seperti rizobakteri (RB) telah terbukti berkontribusi terhadap biodegradasi senyawa organik beracun di tanah yang tercemar dan dapat memiliki potensi untuk meningkatkan fitoremediasi.

Interaksi sinergis antara tanaman-komunitas bakteri merupakan faktor penting, dan sangat bergantung pada kelangsungan hidup dan aktivitas dari bakteri eksogen yang membawa gen pendegradasi HC yang diperlukan untuk pemecahan polutan organik (Afzal *et al.*, 2012). Oleh karena itu menurut (Juhanson *et al.*, 2009), hal penting yang perlu dilakukan adalah memantau kelimpahan populasi dan gen ekspresi selama fitoremediasi berlangsung untuk mendapatkan bukti yang lebih kuat tentang efektifitas dan aktivitas fungsional mikroorganisme yang diinokulasikan.

Pola Biodinamika Viabilitas Populasi *Azotobacter* sp. selama 14 minggu

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terjadi efek mandiri akibat dosis *Azotobacter* sp. atau *Pseudomonas* sp.

memberikan pengaruh terhadap peningkatan populasi *Azotobacter* sp. pada periode 2 MST, tetapi tidak berpengaruh secara signifikan pada periode 4 MST dan berpengaruh nyata pada periode 14 MST (Tabel 2.)

Tabel 2. Pengaruh inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap biodinamika viabilitas populasi *Azotobacter* sp. selama proses degradasi hidrokarbon

Perlakuan	Populasi <i>Azotobacter</i> sp. 2 MST	Populasi <i>Azotobacter</i> sp. 4 MST	Populasi <i>Azotobacter</i> sp. 14 MST
<i>Azotobacter</i> sp.:			
Tanpa <i>Azotobacter</i> sp. (Kontrol)	350,00 a	170,00 a	466,67 a
1% <i>Azotobacter</i> sp. / [TPH]	216,70 a	171,67 a	788,33 b
2% <i>Azotobacter</i> sp. / [TPH]	666,70 b	255,00 ab	561,67 ab
3% <i>Azotobacter</i> sp. / [TPH]	300,00 a	141,67 a	488,33 a
<i>Pseudomonas</i> sp.:			
Tanpa <i>Pseudomonas</i> sp. (kontrol)	340,00 a	170,00 ab	466,67 a
1% <i>Pseudomonas</i> sp. / [TPH]	233,00 a	281,67 b	338,33 a
2% <i>Pseudomonas</i> sp. / [TPH]	271,30 a	198,33 ab	565,00 a
3% <i>Pseudomonas</i> sp. / [TPH]	366,70 a	120,00 a	456,67 a

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan menurut Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanam, TPH= total petroleum hydrocarbon.

Kepadatan populasi *Azotobacter* sp. tertinggi secara signifikan ($p < 0.05$) ditemukan pada periode 2 MST dengan perlakuan inokulasi 2% *Azotobacter* sp. Sedangkan pada periode 4 MST akibat perlakuan variasi dosis *Azotobacter* sp. tidak menunjukkan perbedaan peningkatan populasi yang signifikan antar perlakuan. Sedangkan pada akhir pengamatan yaitu periode 14 MST menunjukkan peningkatan populasi *Azotobacter* sp. secara signifikan pada perlakuan inokulasi *Azotobacter* sp. 1% dibandingkan perlakuan kontrol dan 3%, tetapi tidak signifikan dengan perlakuan 2%.

Akibat inokulasi *Pseudomonas* sp. pada periode 2 MST menunjukkan kepadatan populasi *Azotobacter* sp. yang tidak signifikan antar perlakuan. Selanjutnya pada period ke 4 MST menunjukkan bahwa akibat

inokulasi *Pseudomonas* sp. dosis 1% menghasilkan populasi lebih tinggi secara signifikan dibandingkan perlakuan *Pseudomonas* sp. 3%, tetapi tidak signifikan dengan perlakuan kontrol dan 2% *Pseudomonas* sp. Sedangkan pada periode ke-14 MST tidak menunjukkan kepadatan populasi yang signifikan pada setiap perlakuan dosis *Pseudomonas* sp.

Pola biodinamika viabilitas populasi *Azotobacter* sp. dari semua perlakuan secara mandiri menggambarkan adanya penurunan populasi pada minggu ke-4 MST, tetapi meningkat pada minggu ke-14 MST. Fenomena pola dinamika populasi *Azotobacter* sp ini menunjukkan bahwa *Azotobacter* sp. pada periode menuju ke 4 MST mengalami hambatan pertumbuhan. Hal ini dapat terjadi akibat adanya senyawa

antara yang dihasilkan pada proses degradasi hidrokarbon yang bersifat lebih toksik dan resisten sehingga menekan pertumbuhan *Azotobacter* sp. Selanjutnya pada periode ke 14 MST terjadi peningkatan populasi *Azotobacter* sp., hal ini menunjukkan bahwa *Azotobacter* sp. sudah mampu beradaptasi terhadap perubahan lingkungan akibat terjadinya proses biodegradasi yang menghasilkan senyawa-senyawa antara (*intermediate substances*) dan kemungkinan dapat memanfaatkan senyawa tersebut sebagai sumber karbonnya.

Kepadatan *Azotobacter* sp. akibat aplikasi *Pseudomonas* sp. juga menunjukkan pola biodinamika populasi yang sama yaitu populasi menurun pada period ke 4 MST dan meningkat pada periode ke-14. Ini menggambarkan adanya persaingan dalam menggunakan sumber karbon selama periode ke 4 MST antar *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp., hal ini terjadi juga pada penelitian Suryatmana *et al.* (2007). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa interaksi antara *Azotobacter chroococcum* dan *Pseudomonas* sp. tidak kompatibel yang dibuktikan dari hasil analisis statistik menunjukkan tidak terjadi interaksi antara aplikasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. pada setiap variabel yang diuji. Terjadinya efek kompatibilitas yang negatif antara dua spesies dapat diakibatkan karena terjadi efek inhibisi diantara spesies, karena salah satu atau keduanya menghasilkan senyawa ekstraseluler sebagai pertahanan diri terhadap cekaman toksik yang ada. Senyawa ekstraseluler yang dihasilkan dapat bersifat toksik bagi yang lain dan dapat saling menekan pertumbuhan diantara kedua spesies tersebut. Seperti yang dilaporkan (Dey *et al.*, 2017), karakteristik antagonisme dari mikroba rizobacter dapat melalui

mekanisme aktivitas produksi zat anti mikroba yang bersifat antagonis, seperti, butyrolakton, 2-4-diacetylphloro-glucinol, HCN, kanosamin, Oligomisin-A, Oomycin-A, asam phenazine-1-karboksilat (PCA), pyoluterin (Plt), pyrrolnitrin (pIn), viscosinamide, xanthobaccin dan zwittermycin-A. Senyawa toksik ini biasanya diproduksi dalam kondisi stres lingkungan dalam waktu yang lama.

Pola biodinamika kepadatan *Pseudomonas* sp. selama proses degradasi hidrokarbon berlangsung

Hasil analisis terhadap kepadatan populasi *Pseudomonas* sp. akibat perlakuan menunjukkan tidak ada interaksi pada *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. pada proses fitoremediasi hidrokarbon minyak bumi terhadap total populasi *Pseudomonas* sp. pada variasi perlakuan. Maka dilanjutkan dengan analisis efek mandiri yang disajikan pada Tabel 3.

Pengaruh mandiri perlakuan inokulasi *Azotobacter* sp. terhadap populasi *Pseudomonas* sp. pada periode 2 MST menunjukkan tidak signifikan antar perlakuan. Selanjutnya pada periode ke-4 SMT ditemukan bahwa populasi *Pseudomonas* sp. menurun dibandingkan period ke 2 MST, tetapi ditemukan bahwa populasi *Pseudomonas* sp. tertinggi secara signifikan ($p < 0,05$) terjadi pada perlakuan inokulasi *Azotobacter* sp. 3%, yaitu sebesar $1771,67 \times 10^6$ CFU g^{-1} tanah. Hal ini menunjukkan bahwa *Azotobacter* sp. dapat mendorong pertumbuhan *Pseudomonas* sp. pada dosis tersebut. Peran *Azotobacter* sp. sebagai biostimulan untuk pertumbuhan *Pseudomonas* sp. Hal ini disebabkan karena *Azotobacter* sp. menghasilkan beberapa vitamin yang berupa Biotin dan Feredoksin. Vitamin tersebut berperan dalam

menstimulasi pertumbuhan *Pseudomonas* sp. (Suryatmana *et al.* (2007).

Selanjutnya pada periode ke-14 MST menunjukkan kepadatan *Pseudomonas* sp. yang meningkat dibandingkan periode ke 4 MST, tetapi tidak signifikan antar perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa aktifitas

Azotobacter sp. tidak dapat berkontribusi pada peningkatan populasi *Pseudomonas* sp. pada periode waktu yang lebih lama, hal ini diakibatkan karena sumber karbon yang ada bagi kedua bakteri sudah berkurang, dan berupa residu hidrokarbon yang lebih resisten.

Tabel 3. Pengaruh inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap biodinamika viabilitas populasi *Pseudomonas* sp. selama proses degradasi hidrokarbon

Perlakuan	Populasi <i>Pseudomonas</i> sp. 2 MST	Populasi <i>Pseudomonas</i> sp. 4 MST	Populasi <i>Pseudomonas</i> sp. 14 MST
<i>Azotobacter</i> sp.:	---10 ⁶ CFU g ⁻¹ ---	---10 ⁶ CFU g ⁻¹ ---	---10 ⁶ CFU g ⁻¹ ---
Tanpa <i>Azotobacter</i> sp. (Kontrol)	1618,33 a	256,00 a	653,75 a
1% <i>Azotobacter</i> sp./ [TPH]	1108,33 a	136,67 a	633,75 a
2% <i>Azotobacter</i> sp./ [TPH]	1251,67 a	551,67 a	727,08 a
3% <i>Azotobacter</i> sp./ [TPH]	2803,33 a	1771,67 b	629,58 a
<i>Pseudomonas</i> sp.:	---10 ⁶ CFU g ⁻¹ ---	---10 ⁶ CFU g ⁻¹ ---	---10 ⁶ CFU g ⁻¹ ---
Tanpa <i>Pseudomonas</i> sp.(kontrol)	1618,33 a	270,00 a	616,67 a
1% <i>Pseudomonas</i> sp./ [TPH]	2475,00 ab	271,67 a	677,50 a
2% <i>Pseudomonas</i> sp./ [TPH]	2500,00 ab	1251,67 b	707,92 a
3% <i>Pseudomonas</i> sp./ [TPH]	1650,00 a	245,00 a	642,08 a

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanama, TPH = total petroleum hydrocarbon

Inokulasi *Pseudomonas* sp. terhadap kepadatan populasi total *Pseudomonas* sp. pada periode ke-2 MST tidak signifikan antar perlakuan dosis. Selanjutnya pada periode ke-4 MST menunjukkan populasi *Pseudomonas* sp. yang menurun. Namun, pada perlakuan inokulasi *Pseudomonas* sp 2% masih dapat berkontribusi meningkatkan populasi total *Pseudomonas* sp. berbeda secara signifikan ($p < 0,05$) dengan perlakuan lainnya yaitu sebesar 1251,67 x10⁶ CFUg⁻¹ tanah. Pada periode ke-14 MST ditemukan bahwa populasi *Pseudomonas* sp. meningkat lebih tinggi dibandingkan dengan populasi pada periode ke-4 MST. Fenomena ini menunjukkan bahwa *Pseudomonas* sp. yang diinokulasikan maupun indigenus

memerlukan waktu adaptasi selama 14 MST untuk meningkatkan populasinya setelah mengalami penurunan populasi yang drastis pada periode ke-4 MST.

Tinggi Tanaman Sorgum Selama Proses Fitoremediasi Berlangsung.

Hasil analisis menunjukkan tidak terdapat interaksi antara augmentasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. dalam proses fitoremediasi hidrokarbon minyak bumi terhadap tinggi tanaman sorgum. Sehingga analisis dilanjutkan untuk menguji efek mandiri perlakuan terhadap tinggi tanaman sorgum disajikan pada Tabel 4.

Pengaruh mandiri inokulasi *Azotobacter* sp. pada fase 2 MST di semua dosis

perlakuan inokulasi *Azotobacter* sp. terhadap tinggi tanaman sorgum menunjukkan peningkatan secara signifikan ($p < 0.05$) dibandingkan dengan perlakuan kontrol namun tidak signifikan antar perlakuan dosis inokulasi *Azotobacter* sp. Hal ini menunjukkan bahwa *Azotobacter* sp.

mampu berkontribusi memacu pertumbuhan tinggi tanaman sorgum pada awal pertumbuhan tanaman sorgum yaitu 2 MST. Selanjutnya pada periode ke 14 MST peningkatan tinggi tanaman sorgum tidak signifikan antar perlakuan inokulasi *Azotobacter* sp.

Tabel 4. Pengaruh inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. dalam proses fitoremediasi hidrokarbon minyak bumi terhadap tinggi tanaman

Perlakuan	Tinggi tanaman	Tinggi Tanaman
	2 MST	14 MST
<i>Azotobacter</i> sp.:		
Tanpa <i>Azotobacter</i> sp. (Kontrol)	2,80 a	11,192 a
1% <i>Azotobacter</i> sp. / [TPH]	7,53 b	9,125 a
2% <i>Azotobacter</i> sp./ [TPH]	6,73 b	8,083 a
3% <i>Azotobacter</i> sp./ [TPH]	6,97 b	8,842 a
<i>Pseudomonas</i> sp.:		
Tanpa <i>Pseudomonas</i> sp. (kontrol)	2,84 a	10,708 b
1% <i>Pseudomonas</i> sp./ [TPH]	7,17 b	5,883 a
2% <i>Pseudomonas</i> sp./ [TPH]	7,13 b	11,150 b
3% <i>Pseudomonas</i> sp./ [TPH]	7,80 b	9,500 ab

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanama, TPH = total petroleum hydrocarbon.

Semua perlakuan variasi dosis inokulasi *Pseudomonas* sp. menunjukkan peningkatan tinggi tanaman yang signifikan dengan perlakuan kontrol tapi tidak signifikan antar perlakuan inokulasi *Pseudomonas* sp. pada periode ke-2 MST. Fenomena ini menggambarkan bahwa inokulasi *Pseudomonas* sp. menunjukkan peran yang signifikan dalam memacu pertumbuhan tanaman sorgum dalam kondisi tercekam hidrokarbon minyak bumi pada dua minggu pertama pertumbuhan tanaman sorgum (2 MST). Sedangkan periode ke 14 MST hasil pengamatan menunjukkan terjadi tingkat adaptasi tanaman sorgum semakin lemah dalam menghadapi cekaman toksik hidrokarbon. Demikian pula *Pseudomonas*

sp. tidak mampu beradaptasi pada kondisi residu hidrokarbon yang belum terdegradasi sempurna, terbukti dari hasil efisiensi degradasi hidrokarbon baru berkisar 71,943-75,758% (Tabel 1.) sehingga menekan aktifitas *Pseudomonas* sp. dalam menunjang pertumbuhan tanaman sorgum. Hasil penelitian Suryatmana *et al.* (2022) menunjukkan *Pseudomonas* sp. masih menyisakan hidrokarbon yang resisten dari kelompok *Cyclopentane methyl* dan *Pentane 2.3-dimethyl*.

Konsentrasi Serapan Hidrokarbon Pada Tajuk Sorgum

Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara *Azotobacter* sp.

dan *Pseudomonas* sp. dalam proses fitoremediasi hidrokarbon minyak bumi terhadap konsentrasi serapan hidrokarbon pada tajuk sorgum, akan tetapi berpengaruh secara mandiri. Konsentrasi hidrokarbon pada akar dan tajuk sorgum disajikan pada Tabel 5.

Pengaruh mandiri *Azotobacter* sp. terhadap serapan hidrokarbon di akar sorgum menunjukkan terjadi penurunan serapan hidrokarbon di jaringan akar yang signifikan akibat perlakuan *Azotobacter* sp. 2% dan 3% dibandingkan kontrol dan

perlakuan 1%, yaitu masing-masing nilai serapan hidrokarbonnya sebesar 37,728 dan 40,556 (mg g^{-1} akar) sedangkan nilai serapan hidrokarbon di bagian tajuk menunjukkan nilai yang tidak signifikan antar perlakuan, dan tingkat serapan terhadap hidrokarbon ke bagian tajuk lebih rendah dibandingkan di bagian akar yaitu berkisar rata-rata hanya 0,0142 - 0,0175 (mg g^{-1} akar). Hal ini menunjukkan bahwa tanaman Rami dapat dikatakan sebagai tanaman akumulator hidrokarbon yang terbatas pada bagian akar.

Tabel 5. Pengaruh inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap tingkat serapan hidrokarbon pada akar dan tajuk tanaman sorgum umur 14 MST

	Serapan HC pada Akar Tanaman Sorgum	Serapan HC pada Tajuk Tanaman Sorgum
<i>Azotobacter</i> sp.:	--- mg g^{-1} akar ---	--- mg g^{-1} akar ---
Tanpa <i>Azotobacter</i> sp. (Kontrol)	83,333 b	0,0175 a
1% <i>Azotobacter</i> sp. / [TPH]	65,740 b	0,0142 a
2% <i>Azotobacter</i> sp. / [TPH]	37,728 a	0,0142 a
3% <i>Azotobacter</i> sp. / [TPH]	40,556 a	0,0167 a
<i>Pseudomonas</i> sp.:	--- mg g^{-1} akar ---	--- mg g^{-1} akar ---
Tanpa <i>Pseudomonas</i> sp. (kontrol)	80,139 b	0,0158 a
1% <i>Pseudomonas</i> sp. / [TPH]	54,861 ab	0,0183 a
2% <i>Pseudomonas</i> sp. / [TPH]	59,837 ab	0,0142 a
3% <i>Pseudomonas</i> sp. / [TPH]	32,520 a	0,0142 a

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. MST = minggu setelah tanama, TPH = total petroleum hydrocarbon, HC = hydrocarbon

Pada inokulasi *Pseudomonas* sp. dosis 3% menunjukkan tingkat serapan hidrokarbon yang lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan perlakuan kontrol yaitu sebesar 32,520 (mg g^{-1} akar). Sedangkan serapan hidrokarbon di bagian tajuk tidak menunjukkan nilai yang signifikansi antar perlakuan, dan tingkat akumulasi hidrokarbon di bagian tajuk lebih rendah dibandingkan di bagian akar, yaitu berkisar

rata-rata hanya 0,0142-0,0183 (mg g^{-1} akar). Hal ini terjadi karena sistem perakaran lebih cepat menyerap unsur di dalam tanah, namun ditranslokasikan ke bagian tajuk dengan lambat (Akinci & Akinci. 2010) sehingga kandungan hidrokarbon pada akar lebih tinggi dibandingkan dengan tajuk.

Dari penelitian ini ditemukan bahwa pada inokulasi *Azotobacter* sp. pada dosis 2% dan 3% mampu menekan serapan hidrokarbon

oleh akar sorgum, hal ini dapat berkaitan dengan karakteristik metabolik dari *Azotobacter* sp. yaitu memiliki kemampuan menghasilkan senyawa eksopolisakarida (EPS) (Velmourougane *et al.*, 2017). Adanya EPS yang dihasilkan *Azotobacter* sp. dapat berperan sebagai *binding agent* dalam mengikat hidrokarbon menjadi senyawa organik kompleks di permukaan akar, sehingga tidak dapat diserap lebih lanjut oleh akar Sorgum. Demikian pula *Pseudomonas* sp. pada dosis 3% yang mampu menekan serapan hidrokarbon oleh akar. Fenomena ini dapat dijelaskan bahwa *Pseudomonas* sp. dapat menghasilkan senyawa ekstraseluler berupa biosurfaktan yang juga dapat berperan sebagai *binding agent* yang dapat membentuk kompleks hidrokarbon.

SIMPULAN

1. Inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. menunjukkan antara kedua spesies tidak kompatibel bila digunakan secara konsorsium (bersama), namun memberikan efek secara mandiri.
2. Inokulasi *Azotobacter* sp. dosis 3% pada fase 4 MST menunjukkan tingkat efisiensi degradasi hidrokarbon yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol dan aplikasi *Azotobacter* sp. 1% yaitu sebesar 37,19%.
3. Viabilitas *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. menggambarkan pola biodinamika populasi yang sama yaitu pada periode ke 4 MST mengalami penurunan populasi. Namun selanjutnya pada fase 14 MST populasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. mengalami peningkatan kembali.

4. Tanaman sorgum varietas Unpad-1.1 menunjukkan sebagai tanaman akumulator hidrokarbon yang didominasi terakumulasi di bagian akar.
5. *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp secara mandiri berperan sebagai *binding agent* yang dapat menekan serapan hidrokarbon oleh akar sorgum varietas Unpad-1.1 dalam sisten fitoremediasi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Padjadjaran yang telah mendanai penelitian ini pada pelaksanaan Program Penelitian RKDU anggaran tahun 2021, dan juga kepada Manajer Laboratorium Biologi Tanah Departemen Ilmu Tanah dan Pengelolaan Sumber Daya Lahan. Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran yang telah mendukung, mengizinkan dan menyediakan fasilitas Laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Abou Seeda MA, Yassen AA, Abou El-Nour EAA, Gad MM, & Zaghoul SB. (2020). Phytoremediation of heavy metals principles, mechanisms, enhancements with several efficiency enhancer methods and perspectives: A Review. *Middle East Journal of Agriculture Research*. <https://doi.org/10.36632/mejar/2020.9.1.17>
- Afzal, M., Yousaf, S., Reichenauer, T. G., & Sessitsch, A. (2012). The inoculation method affects colonization and performance of bacterial inoculant strains in the phytoremediation of soil contaminated with diesel oil. *International Journal of*

- Phytoremediation*, 14(1), 35–47.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2011.552928>
- Ahmad, F., Iqbal, S., Anwar, S., Afzal, M., Islam, E., Mustafa, T., & Khan, Q. M. (2012). Enhanced remediation of chlorpyrifos from soil using ryegrass (*Lolium multiflorum*) and chlorpyrifos-degrading bacterium *Bacillus pumilus* C2A1. *Journal of Hazardous Materials*, 237–238, 110–115.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.08.006>.
- Akinci, I. E & Akinci, S. (2010). Effect of chromium toxicity on germination and early seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.). *African Journal of Biotechnology*, 9(29), 4589-4594.
- Arifin, M., Darmawan Putri, N., Sandrawati, A., & Rachmat Harryanto. (2018). Pengaruh Posisi Lereng terhadap Sifat Fisika dan Kimia Tanah pada Inceptisols di Jatinangor. *Soilrens*, 16(2), 37–44.
- Banks, M. K., Kulakow, P., Schwab, A. P., Chen, Z., & Rathbone, K. (2003). Degradation of Crude Oil in the Rhizosphere of *Sorghum bicolor*. *International Journal of Phytoremediation*, 5(3), 225–234.
<https://doi.org/10.1080/713779222>
- BPS. (2020). *Statistik pertambangan non minyak dan gas bumi 2014 – 2019*. Jakarta, ID: Badan Pusat Statistik. Retrieved <https://www.bps.go.id/publication/2020/12/21/43e346b8c4f38c2df622a73c/statistik-pertambangan-non-minyak-dan-gas-bumi-2014-2019.html>
- Dey, R., Sarkar, K., Dutta, S., Murmu, S., & Mandal, N. (2017). Role of *Azotobacter* sp. Isolates as a Plant Growth Promoting Agent and their Antagonistic Potentiality against Soil Borne Pathogen (*Rhizoctonia solani*) under in vitro Condition. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 2830–2836.
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.334>
- Estuningsih, S. P., Muharani, & Rynanad, M. (2012). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbon di Sekitar Rizosfer Rumput Belulang (*Eleusine Indica* (L.) Gaertn) yang Berperan dalam Fitoremediasi Limbah Minyak Bumi. *Jurnal Penelitian Sains*, 15, 41–45.
- Fernández, M. D., Pro, J., Alonso, C., Aragonese, P., & Tarazona, J. V. (2011). Terrestrial microcosms in a feasibility study on the remediation of diesel-contaminated soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(8), 2133–2140.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.08.009>
- Glick, B. R. (2010). Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. In *Biotechnology Advances* (Vol. 28, Issue 3, pp. 367–374).
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.001>
- Juhanson, J., Truu, J., Heinaru, E., & Heinaru, A. (2009). Survival and catabolic performance of introduced *Pseudomonas* strains during phytoremediation and bioaugmentation field experiment. *FEMS Microbiology Ecology*, 70(3), 446–455.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00754.x>
- Nie, M., Wang, Y., Yu, J., Xiao, M., Jiang, L., Yang, J., Fang, C., Chen, J., & Li, B. (2011). Understanding plant-microbe interactions for phytoremediation of petroleum-polluted soil. *PLoS ONE*, 6(3).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017961>

- Omara, T., Kalukusu, R., Adupa, E., Owori, T., Kizza, D. M., Obonge, J., & Potential, J. O. (2017). Potential of *Sorghum bicolor* L. (Moench) and the Effect of Enhancements in Remediation of Petroleum-Vitiated Soils of an Automobile Repair Workshop in Urbanite Kampala. *International Journal of XXXXXX*, *x*, x–x. <https://doi.org/10.11648/j.xxx.xxxxxx.x.xx>
- Peng, S., Zhou, Q., Cai, Z., & Zhang, Z. (2009). Phytoremediation of petroleum contaminated soils by *Mirabilis Jalapa* L. in a greenhouse plot experiment. *Journal of Hazardous Materials*, *168*(2–3), 1490–1496. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.036>
- Sah, S., Krishnani, S., & Singh, R. (2021). *Pseudomonas* mediated nutritional and growth promotional activities for sustainable food security. In *Current Research in Microbial Sciences* (Vol. 2). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100084>
- Sumbul, A., Ansari, R., Rizvi, R., & Mahmood, I. (2020). *Azotobacter*: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *30*(40), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.004>
- Suryatmana, P., Kardena, E., Ratnaningsih, E., & Wisjnuaprpto. (2007). Improving the Effectiveness of Crude-Oil Hydrocarbon Biodegradation Employing *Azotobacter chroococcum* as Co-Inoculant. *Microbiology Indonesia*, *1*(1), 5–10. <https://doi.org/10.5454/mi.1.1.2>
- Suryatmana, P., Sabrina, A., Kamaludiin, N. N., Fitriatin, B. N., Hindersah R, & Setiawati, M. R. (2020). Potensi tanaman Sorgum (*Sorghum bicolor* L), *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp, sebagai agen biologis dalam proses Fitoremediasi HC minyak bumi. *Soilrens*, *18*(1), 25–33.
- Suryatmana, P., Mieke Rochimi Setiawati, M. R., Herdiyantoro, D., Fitriatin, B. N., & Kamaluddin, N. N. (2022). Characterization and Potential of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Isolates Capacity Correlating with Their Hydrocarbon Biodegradation Capability. *Agrivita Journal of Agricultural Science*. *44*(3): 559-574.
- Velmourougane, K., Prasanna, R., Singh, S. B., Kumar, R., & Saha, S. (2017). Sequence of inoculation influences the nature of extracellular polymeric substances and biofilm formation in *Azotobacter chroococcum* and *Trichoderma viride*. *FEMS Microbiology Ecology*, *93*(7), 1–13. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix066>
- Weyens, N., Truyens, S., Saenen, E., Boulet, J., Dupae, J., Taghavi, S., van der Lelie, D., Carleer, R., & Vangronsveld, J. (2011). Endophytes and their potential to deal with co-contamination of organic contaminants (toluene) and toxic metals (nickel) during phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, *13*(3), 244–255. <https://doi.org/10.1080/15226511003753920>
- Zhang, Z., Rengel, Z., Chang, H., Meney, K., Pantelic, L., & Tomanovic, R. (2012). Phytoremediation potential of *Juncus subsecundus* in soils contaminated with cadmium and polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs). *Geoderma*, *175–176*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2012.01.020>