**EFEKTIFITAS *Azotobacter* sp. DAN *Pseudomonas* sp.**

**PADA TANAMAN SORGUM ( *Shorgum bicolor* L*.*)**

**DALAM PROSES FITOREMEDIASI LIMBAH MINYAK BUMI**

***Azotobacter* sp. AND *Pseudomonas* sp. EFFECTIVITY ON SORGHUM**

**(*Sorghum bicolor* L.) PLANT IN PETROLEUM WASTE PHYTOREMEDIATION PROCESS**

Pujawati Suryatmana1), Mieke Rochimi Setiawati 2), Reginawanti Hindersah3), Betty Natalie Fitriatin 4), Nadia Nuraniya Kamaluddin5) dan Diyan Herdiyantoro 6)

1,2,3,4,5) Jurusan Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran,

Jl. Raya Bandung-Sumedang Km.21, Jatinangor, Jawa Barat, Indonesia.

\*pujawati@unpad.ac.id

Diterima / Disetujui

**ABSTRAK**

 Interaksi sinergis antara tanaman-bakteri dapat digunakan untuk meningkatkan kinerja fitoremediasi tanah yang terkontaminasi hidrokarbon (HC). Penelitian bertujuan karakterisasi *plant Growth promoting rhizobacteria* : *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. dalam kinerja fitoremediasi minyak bumi menggunakan tanaman sorgum (*Sorghum bicolor* L). Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok pola faktorial (RAK-Faktorial), terdiri: 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 faktor inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap setiap variabel respon. Namun menunjukkan efek mandiri tehadap efisiensi biodegrdasi HC, yaitu inokulasi *Azotobacter* sp dosis 3% berbeda nyata dengan kontrol pada fase ke 4 minggu setelah tanam (MST), tetapi tidak berbeda nyata pada fase 14 MST. Inokulasi *Psedomonas* sp. tidak memberikan efek berbeda nyata antar perlakuan terhadap efisiensi bidegradasi HC pada dua periode pengamatan. Populasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp menurun pada periode 4 MST, lanjutnya meningkat pada periode 14 MST. Pertumbuhan 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* menghambat serapan hidrokarbon oleh akar sorgum.

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

**ABSTRACT**

 The synergism interaction between plant-bacteria can be used to improve phytoremediation performance of soil contaminated by hydrocarbons (HC). The aim of the study was characterisation of the Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp. in phytoremediation performance of petroleum using sorghum (*Sorghum bicolor* L). The research used a randomized block design with 2 factors consisting of *Azotobacter* sp. inoculation: 0%, 1%, 2% and 3% per concentration of total petroleum hydrocarbon (TPH), and *Pseudomonas* sp inoculation: 0%, 1%, 2% and 3% per concentration of TPH. The results showed that it was no interaction between the inoculation of *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp. to each response variable. The independent effect of *Azotobacter* sp. at a dose of 3% 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. While the effect of *Pseudomonas* sp. inoculation did not show a significantly different effect between treatments on the efficiency of hydrocarbon biodegradation in the two observation periods. The population of *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp. decreased at period 4 WAP, then increased at period 14 WAP. The growth of Sorghum was retarded during 14 WAP. Hydrocarbon residues accumulated higher in the roots than in the crown of the plant. *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp. act as a binding agent that can inhibit the uptake of hydrocarbons by sorghum roots.

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

**PENDAHULUAN**

 Minyak bumi pada tanah merupakan kontaminan yang dapat menurunkan produktivitas tanah bagi pertanian. Badan Pusat Statisitik 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. Limbah minyak bumi berasal dari kegiatan industri migas, dari mulai tahap eksplorasi sampai pengolahan dapat menghasilkan limbah. Limbah minyak bumi yang dominan dan wajib dilakukan pengolahan adalah limbah yang terdeposit di lokasi pembuangan dan dapat pula berasal dari kejadian tumpahan. 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). Kewajiban melakukan pengolahan limbah minyak bumi bagi industri migas bertujuan untuk memelihara kelestarian lingkungan, menghindarkan efek toksik dari senyawa hidrokarbon.

 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.

 Pengolahan secara fisik dan kimia untuk mereduksi polutan hidrokarbon telah banyak dilakukan tetapi memerlukan biaya tinggi dan dianggap tidak ramah lingkungan (Mandri & Lin, 2007; van Hamme et al., 2003). 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 dibandingkan di daerah non rizosfer. 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 senyawa polutan tersebut yang bersifat hidrofobik, yaitu akan membatasi ketersediaan tanaman untuk menyerap air dan nutrisi (Tesar et al., 2002); (Peng et al., 2009); (Wyszkowski & Ziólkowska, 2009). Juga dilaporkan bahwa pada tanah yang tercemar, populasi dan keragaman mikroba menurun drastis, sehingga efektifitas mikroorganisme untuk mendegradasi HC sangat rendah, sehingga mengakibatkan mikroba fungsional yang berperan dalam membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman fitoremediator yang digunakan menjadi menjadi tidak efektif (Siciliano et al., 2001); (Zhang et al., 2012). Untuk mengatasi masalah ini, 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); (Tang et al., 2010); (Muratova et al., 2008); (Fernández et al., 2011); (Afzal et al., 2012). Interaksi antara tanaman-bakteri untuk memulihkan tanah terkontaminas merupakan strategi yang potensial untuk diaplikasikan (Germaine et al., 2009); (Weyens et al., 2011); (Glick, 2010). Beberapa laporan menunjukkan bahwa kolonisasi yang berhasil dari kelompok rizobacteria yang diinokulasikan pada kompartemen tanaman yang berbeda merupakan faktor penting untuk meningkatkan efisiensi fitoremediasi (Nie et al., 2011); (Afzal et al., 2012); Tang et al., 2010). Oleh karena itu kajian, interaksi, viabilitas, kompatibiltas inokulan *Plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) sebagai biostimulator pemacu pertumbuhan tanaman fitoremediasi perlu dilakukan. Dan kombinasi pemanfaatan tu mbuhan dan PGPR merupakan konsep yang relatif baru di bidang remediasi tanah yang terkontaminasi hidrokarbon minyak bumi (Zhuang et al., 2007); (Afzal et al., 2012); (Ahmad et al., 2012).

 Tanaman sorgum (*Sorghum bicolor* L) merupakan salah satu tanaman yang potensial digunakan sebagai tanaman fitoremediator, karena memilki sistem perakaran serabut, kuat dan menyebar dalam tanah, adanya eksudat akar pada daerah rizosfer akan meningkatkan populasi mikroba menjadi 5-100 kali lebih banyak yang kemudian meningkatkan terjadinya degradasi senyawa hidrokarbon (Estuningsih et al., 2012). Faktor penting yang perlu dipertimbangkan adalah ketersediaan N dan P untuk mendukung pertumbuhan tanaman Sorgum sebagai agen fitoremedia. Hasil uji tanaman sorgum sebagai tanaman fitoremediator tanpa penambahan agen hayati untuk menghilangkan limbah minyak bumi menunjukkan potensi efisiensi biodegradasi hidrokarbon antara 60 – 65% (Suryatmana et al., 2020). Hasil penelitian (Omara et al., 2017). menunjukkan bhawa sorgum dapat bertahan pada tanah terkontaminasi minyak bumi, akan tetapi dalam penelitian ini tidak diteliti kemampuan sorgum sebagai agen fitoremediasi 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 fitoremeaisi kontaminan hidrokarbon minyak bumi. Salah satu kandidat mikroba yang potensial sebagai *Plant growth promoting rhizobactera* (PGPR) adalah *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp.

 *Azotobacter* sp. adalah bakteri penambat nitrogen aerobik yang mampu menambat nitrogen dalam jumlah yang cukup tinggi (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). Biosurfaktan adalah hasil ekskresi mikroorganisme yang memiliki sifat mirip dengan surfaktan yang berfungsi sebagai pengelmusi, pendispersi dan *foaming* (Thavasi et al., 2009). *Azotobacter* sp. dengan kepadatan populasi 105 CFU ml-1 juga memilki potensi untuk mengekresikan berbagai senyawa eksopolisakarida (EPS) dan biosurfactan (Vermani et al., 1997)~~.~~ *Azotobacter* sp. berperan sebagai *Plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR) karena mampu memproduksi fitohormon (Hindersah et al., 2019); (Sumbul et al., 2020).

 *Pseudomonas* sp. merupakan bakteri gram negatif sebagai bakteri pelarut fosfat, dapat melarutkan fosfat terikat mineral di dalam tanah menjadi fosfat tersedia untuk digunakan tanaman dengan cara melepas P dari ikatan Fe, Al, Ca dan Mg menjadi P tersedia (Fitriatin et al., 2020), berperan sebagai (Sah et al., 2021). Dan pemanfaatan bakteri pelarut fosfat dalam fitoremediasi adalah strategi yang tepat. Seperti menurut (Peng et al., 2009), bahwa jumlah fosfor tanah yang terkontaminasi HC merupakan parameter penting untuk fitoremediasi HC dalam tanah. Dan *Pseudomonas* spp diketahui berperan sebagai petrofilik, (Suryatmana et al., 2007). melaporkan bahwa konsorsium petrofilik secara signifikan dapat mneingkatkan laju biodegradasi hidrokarbon minyak bumi.

 Fokus dari penelitian ini adalah 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 efesiensi biodegradasi limbah minyak bumi, pola biodinamika viabilitas *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. selama proses biodegradasi hidrokarbon berlangsung, pertumbuhan tinggi tanaman sorgum dan tingkat serapan hidrokarbon oleh tanaman sorgum.

**BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini dilaksanakan di rumah kaca di Kebun Percobaan Fakultas Pertanain Universitas Padjadjaran. Rumak kaca ini terletak pada ketinggian 725 meter di atas permukaan laut (dpl). Analisis laboratorium dilakukan di Laboratorium Biologi dan Bioteknologi Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Jatinangor, 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 107 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 Pikovskaya cair. Pupuk anorganik yang digunakan sebanyak 50% dosis anjuran yang terdiri dari Urea 100 kg ha-1 setara 0,5 g pot-1, TSP 50 kg ha-1setara 0.25 g pot-1, KCl 25 kg ha-1 setara 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 digunakans sebagai rancangan penelitian yang terdiri atas: Faktor pertama yaitu inokulasi *Azotobacter* sp. yang terdiri dari 4 taraf. Sedangkan faktor kedua adalah inokulasi *Pseudomonas* sp*.* yang terdiri dari 4 taraf. 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 yang berlangsung selama 14 minggu.

***Perbanyakan kultur Azotobacter sp. dan Pseudomonas sp.***

 Perbanyakan 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 Pikovskaya cair 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.***

 Tanah yang digunakan terlebih dahulu dianalisis sifat kimia dan fisiknya untuk mengetahui karakteristiknya secara umum.

 Contoh tanah yang digunakan dalam percobaan adalah tanah Inceptisols Jatinangor 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 ditambahkan 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 ton ha-1 (25 gram 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 tanampada 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 meliputi : penyiraman, penyulaman, penyiangan dan perlindungan tanaman. Dan pengamatan parameter respons dilakukan dalam interval setiap 2 minggu.

***Analisis Total Petroleum Hydrocarbon dan viabilitas Azotoabcter 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 sample tanah percobaan dilakukan sebagai berikut: sebanyak 10 g sampel tanah percobaan dilarutkan menggunakan pelarut n-Heksan dalam botol ektraksi TPH, selanjutnya dilakukan pengocokan dengan *vortexer* pada putaran maksimum skala vortex untuk memperoleh ekstrak TPH. Hasil ektraksi dipetoleh lapisan teratas yang merupakan minyak bumi terlarut dalam n-Heksan, selanjutnya extrakt 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 45oC sampai n-Hexan hilang dan TPH yang telah terekstrak ditimbang dan dihitung efisiensi degradasi hidrokarbonnya dengan metode Gravimetrik. Perhitungan efisiensi degradasi hidrokarbon dinyatakan dalam persamaan:

 ED% = [TPH] t0 – [TPH]tn X 100%. .…..1).

 [TPH]t0

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 fitorem

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

 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.

***Analisis tatistik***

 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**

**Karakteristik Fisik dan Kimia Inceptisol pada Kebun Percobaan, Jatinangor**

Hasil analisis awal tanah percobaan ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Kimia dan Fisik Tanah percobaan

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Parameter | Satuan | Nilai | Kriteria\*) |
| 1.2.3.4.5.6.7.8.9. | pH H2OpH KCl 1 NpH tanah setelah dikontaminasi minyak bumiC-OrganikN-totalC/N rasioP2O5HCl 25%K2OHCl 25%P2O5Bray I | %%mg 100 g-1mg 100 g-1ppm P | 5,985,246,782,290,1614,3156,2821,054,75 | agak masam-netralsedangrendahsedangtinggisedangrendah |

Sumber penetapan kriteria : \*) Hardjowigeno (2007).

 Hasil analisis tanah awal menggambarkan karakteristik sebagai berikut: memiliki pH (5,98) agak masam, Setelah dikontaminasi meningkat menjadi netral yaitu 6.78, kandungan C-organik (2,29%) sedang, KTK (15,90 cmol kg-1) rendah dan tekstur tanahnya liat berdebu. Kandungan C-organik di dalam tanah katagori sedang, fosfat tersedia rendah, KTK dan kejenuhan basa pada katagori rendah . Sedangkan karakteristik fisik tanah termasuk dalam kategori liat bedebu yaitu teksur pasir 7%, debu 40% dan kandungan liat sebesar 53%, tanah tekstur liat memiliki kemampuan menahan air dan mengikat molekul dengan baik (Arifin et al., 2018).

**Efisiensi Degradasi Hidrokarbon**

Hasil analisis statistik tidak menunjukkan intraksi 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 , data terlampir pada Tabel 2.

Tabel 2. 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 ) |
| *Azotobacter* sp.:Tanpa  *Azotobacter*sp. (Kontrol)1%  *Azotobacter* sp. / [TPH]2%  *Azotobacter* sp./ [TPH]3%  *Azotobacter* sp./ TPH] | 26,62 a25,64 a 31,49 ab37,19 b | 69,959 a76,001 a74,786 a75,578 a |
| *Pseudomonas* sp.:Tanpa *Pseudomonas* sp. (kontrol)1%  *Pseudomonas* sp./ [TPH]2%  *Pseudomonas* sp./ [TPH]3%  *Pseudomonas* sp./ [TPH] | 30,33 a30,91 a 26,92 a 32,79 a  |  71,943 a 73,573 a 74,758 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 perlakaun control (tanpa *Azotobacter*  sp) dengan 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 berbeda dengan perlakuan dosis 2% *Azotobacter* sp. Dosis aplikasi 3% *Azotobacter* sp. memberikan pengaruh yang lebih tinggi secara nyata 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.

Hasil analisis tingkat biodegradasi pada periode minggu ke 14 MST diperoleh efisiensi biodegradasi hidrokarbon yang tidak berbeda nyata antar perlakuan inokulasi *Azotobacter* sp, namun efisiensi biodegradasi akibat perlakuan *Azotobacter* sp. cenderung lebih tinggi. Hal ini dapat disampaikan bahwa *Azotobacter* sp. yang diinokulasikan selama periode potensi menstimulasi proses degradasi hidrokarbon. Namun akibat cekaman toksik dari senyawa *intermediate* (senyawa antara),hasil proses pemecahan hidrokarbon yang belum sempurna menyisakan senyawa resisu hidrokarbon yang bersifat resisten dan bersifat lebih toksik bagi *Azotobacter* sp., sehingga aktifitas *Azotobacter* sp. dalam mendukung proses fitoremediasi menjadi terhambat. Seperti 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. Dalam penelitian ini 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 yang masih bifat erstoksik, dan residu yang resiten, sehingga tingkat efisiensi biodegradasi masih pada taraf 32.79% dan tidak berbeda nyata dengan kontrol maupun perlakuan lainnya. Proses pemecahan hidrokarbon pada fase tersebut menghasilkan senyawa *intermediate* yang masih perlu didegradasi lebih lanjut untuk menghasilkan ATP.

 Efisiensi biodegradasi hidrokarbon pada periode minggu ke 14 akibat inokulasi *Pseudomonas* sp. menunjukkan tingkat efisiensi biodegradasi hidrokarbon cenderung meningakt 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. Hal ini menunjukkan bahwa kompatibilitas atau interaksi antar *Azotobacter* sp, *Pseudomonas* sp. dan tanaman fitoremediator belum optimal, sehingga kedua bakteri belum mampu berkontribusi sebagai biostimulant dalam memacu pertumbuhan tanaman untuk menghasikan eksudat akar yang optimal. Sedangkan keberadaan eksudat akar kunci penting dalam fitoremediasi minyak bumi yaitu untuk memacu proses biodegradasi hidrokarbon minyak bumi terjadi lebih maksimal. Berbeda dengan beberapa hasil penelitian (Afzal et al., 2012)melaporkan 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 (Siciliano et al., 2001); (Germaine et al., 2009); (Weyens et al., 2011); (Afzal et al., 2012). Sementara dalam penelitian ini menunjukkan bahwa peran *Azotobacter* sp maupun *Peudomonsa* sp. tidak dapat berinteraksi secara sinergis diantara keduanya, demikian pula interaksinya dengan tanaman dalam memacu degradasi hidrokarbon tidak menunjukkan hasil yang signifikan. Sementara menurut beberapa penelitian melaporkan bahwa 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 (Muratova et al., 2008); (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 tanah yang terkontaminasi berlangsung untuk mendapatkan bukti yang lebih kuat tentang efektifitas dan aktivitas fungsional mikroorganisme yang diinokulasikan.

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

Hasil analisis ragam menunjukkan tidak terdapat interaksi antara inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. Maka pada kajian ini ditampilkan efek mandiri.

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 berpenaguruh secara nyata pada periode 4 MST dan berpengaruh nyata pada periode 14 MST (Tabel 3).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Perlakuan | Populasi *Azotobacter* sp.(105CFU/g) 2 MST  | Populasi *Azotobacter* sp.(105CFU/g) 4 MST  | Populasi *Azotobacter* sp.(105CFU/g) 14 MST |
| ***Azotobacter* sp.:**Tanpa  *Azotobacter* sp. (Kontrol)1%  *Azotobacter* sp. / [TPH]2%  *Azotobacter* sp./ [TPH]3%  *Azotobacter* sp./ [TPH] | 350,00 a216,70 a666,70 b300,00 a | 170,00 a171,67 a 255,00 ab141,67 a | 466,67 a788,33 b 561,67 ab488,33 a |
| ***Pseudomonas* sp.:**Tanpa *Pseudomonas* sp. (kontrol)1%  *Pseudomonas* sp./ [TPH]2%  *Pseudomonas* sp./ [TPH]3%  *Pseudomonas* sp./ [TPH] | 340,00 a233,00 a271,30 a366,70 a | 170,00 ab 281,67 b198,33 ab 120,00 a | 466,67 a338,33 a565,00 a456,67 a |

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

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) pada periode 2 MST terjadi pada perlakuan inokulasi 2% *Azotobacter* sp. Sedangakn 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 terjadi peningkatan populasi *Azotobacter* sp. secara nyata pada perlakuan inokulasi *Azotobacter* sp. 1% dibandingkan perlakuan lainnya.

 Akibat inokulasi *Pseudomonas* sp. pada periode 2 MST menunjukkan kepadatan populasi *Azotobacter* sp. yang tidak berbeda nyata antar perlakuan. Selanjutnya pada period ke 4 MST hasil analisis menunjukkan bahwa akibat inokulasi *Pseudomonas* sp. dosis 1% menghasilkan populasi lebih tinggi secara signifikan dibandingkan perlakuan *Pseudomonas* sp. 3%, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dan 2% *Pseudomonas* sp. Pada periode ke 14 MST tidak menunjukkan kepadatan populasi yang berbeda nyata 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, sehingga menekan pertumbuhan *Azotobacter* sp., dan juga diakibatkan terjadi penurunan sumber karbon untuk kebutuhan penyediaan energi bagi pertunbuhan dan aktifitasnya *Azotobacter* sp., sehingga mengakibatkan proses regenerasi sel menjadi melambat, sedangkan kematian sel bakteri semakin tinggi. Kondisi yang terjadi adalah dihasilkan *intermediate product* yang kemungkinan lebih toksik dan adanya residu hidrokarbon yang lebih resisten untuk didegradasi. 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 period eke 14. Ini menggambarkan adanya persaingan dalam menggunakakan sumber karbon selama periode ke 4 SMT antar *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa interaksi antara *Azotobacter* sp. - *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 dau spesies atau lebih dalam suatu sistem dapat diakibatkan karena terjadi efek inhibisi diantara spesies, karena salah satu atau kedunya 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 (pln), viscosinamide, xanthobaccin dan zwittermycin-A. Oleh karena uji kompatibilitas isolat yang akan digunakan dalam bioremediasi atau ftoremediasi adalah satu tahap penting yang perlu dilakukan sebelum diaplikasi dalam skala lapangan.

**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 4.

Tabel 4. Pengaruh inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap biodinamika viabilitas populasi Pseudomonas sp. selalama proses degradasi hidrokarbon

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Perlakuan** | **Populasi** ***Pseudomonas* sp.** | **Populasi** ***Pseudomonas* sp.** | **Populasi** ***Pseudomonas* sp.** |
|  | **(106CFU/gram)****2 MST** | **(106CFU/gram)** **4 MST** | **(106CFU/gram)****14 MST** |
| ***Azotobacter* sp.:** |   |   |   |
| Tanpa Azotobacter sp. (Kontrol) | 1618.33 a | 256.00 a | 653.75 a |
| 1% Azotobacter sp./ [TPH] | 1108.33 a | 136.67 a | 633.75 a |
| 2% *Azotobacter* sp./ [TPH] | 1251.67 a | 551.67 a | 727.08 a |
| 3% *Azotobacter* sp./ [TPH] | 2803.33 a | 1771.67 b | 629.58 a |
| ***Pseudomonas* sp**.: |  |  |  |
| Tanpa *Pseudomonas* sp.(kontrol) | 1618.33 a | 270.00 a | 616.67 a |
| 1% *Pseudomonas* sp./ [TPH] | 2475.00 ab | 271.67 a | 677.5 a |
| 2% *Pseudomonas* sp./ [TPH] | 2500.00 ab | 1251.67 b | 707.92 a |
| 3% *Pseudomonas* 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

Pengaruh mandiri perlakuan inokulasi *Azotobacter* sp. terhapap populasi *Pseudomonas* sp. pada periode 2 MST menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan. Selanjutnya pada periode ke 4 SMT ditemukan bahwa populasi *Pseudomnas* 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 1771.67x106 CFU/ g tanah. Hal ini menunjukkan bahwa *Azotobacter* sp. dapat mendorong petumbuhan *Pseudomonas* sp. pada dosis ersebut. Peran *Azotobacter* sp. dapat dikatakan sebagai biostimulan untuk pertumbuhan *Pseudomona*s sp., ini disebabkan karena *Azotobacter* sp. menghasilkan beberapa senyawa biostimulan yang berupa beberapa jenis vitamin B seperti anatra lain Biotin, Feredoksin. Vitamin tersebut berperan dalam menstimulasi pertumbuhan *Pseudomonas* sp yang hidup berdampingan. Sedangkan *Pseudomonas* sp. menyumbangkan sumber karbon bagi *Azotobacte*r sp. berupa senyawa antara (*intermediate product*) hasil degradasi hidrokarbon yang berupa asam lemak dan alkohol (Suryatmana et al., 2007). Selanjutnya pada periode 14 MST menunjukkan kepadatan *Pseudomonas* sp. yang meningkat dibandingkan periode ke 4 MST, tetapi tidak berbeda nyata 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 resisten.

 Inokulasi *Pseudomonas* sp. terhadap kepadatan populasi total *Pseudomonas* sp. pada periode ke 2 MST tidak berbeda nyata antar perlakuan dosis. Dan selanjutnya pada periode ke 4 MST menunjukkan populasi *Pseudomonas* sp. yang menurun dibandingkan dengan populasi pada periode ke 2 MST. Akan tetapi pada perlakuan inokulasi *Pseudomonas* sp 2% masih dapat berkontribusi meningkatkan populasi total *Pseudomonas* sp. secara signifikan (p < 0.05) berbeda nyata dengan perlakuan lainnya yaitu sebesar 1251.67 x106 CFU/ g tanah. Dan selanjutnya pada periode ke 14 MST ditemukan bahwa populasi *Pseudomona*s sp. meningkat lebih tinggi dibandingkan dengan populasi pada periode ke 4MST. 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 4 MST.

**Tinggi Tanaman Sorgum Selama Proses Fitoremediasi Berlangsung.**

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

terhadap tinggi tanaman sorgum , disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengaruh inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. dalam Proses Fitoremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi Terhadap Tinggi Tanaman

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

 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. Akan tetapi tidak berbeda nyata 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 menunjukkan tinggi tanaman sorgum tidak berbeda nyata antar pelakuan inokulasi *Azotobacter* sp., bahkan perlakuan kontrol cenderung menghasilkan tinggi tanaman yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan inokulasi *Azotobacter* sp. Hal ini menunjukkan bahwa Azotobacter indigen (perlakuan kontrol) berpotensi mampu beradaptasi dan dapat lebih berperan sebagai PGPR dalam mendukung pertumbuhan tinggi tanaman sorgum

Semua perlakuan variasi dosis inokulasi *Pseudomonas* sp. menunjukkan peningkatan tinggi tanaman yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol tapi tidak berbeda nyata antar perlakuan inokulasi *Pseudomonas* sp. pada periode ke 2 MST. Fenomena ini menggambarkan bahwa inokulasi *Pseudomona*s 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 pertumbuhan tanaman yang sangat lambat. Hal ini terjadi karena tingkat adaptasi tanaman sorgum menghadapi cekaman toksik hidrokarbon minyak bumi semakin lemah. Adanya hidrokarbon menyebabkan terhambatnya pertumbuhan Sorgum. Dan efek *Pseudomona*s sp. 1% pada fase 14 MST ini menghasilkan tinggi tanaman yang lebih rendah (5.883 cm) dibandingkan kontrol dan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukan bahwa tanaman sorgum tidak mampu berdapatasi dalam cekaman hidrokarbon yang toksik, demikian pula *Pseudomonas* sp. tidak mampu berdapatsi pada kondisi residu hidrokarbon yang belum terdegradasi sempurna, terbukti dari hasil efisiensi degradasi hidrokarbon baru berkisar 71,943% - 75,758% (Tabel 2.), hal ini masih menyisakan hidrokarbon yang belum terdegradasi dan menekan aktifitas *Pseudomonas* sp. dalam menunjang pertumbuhan tanaman sorgum.

Secara umum adanya polutan hidrokarbon mengakibatkan retardasi terhadap pertumbuhan tanaman sorgum, yaitu tinggi tanaman rata-rata hanya 5-14 cm pada umur tanaman 14 MST, sedangkan menurut deskripsi tinggi tanaman sorgum yang normal berkisar 90-100 cm, hal ini menunjukkan bahwa hidrokarbon minyak bumi bersifat sangat toksik yang dapat menekan pertumbuhan tanaman sorgum. Meskipun menurut ~~(Omara et al., 2017),~~ tanaman sorgum berpotensi dapat tumbuh dalam kondisi tanah terkontaminasi minyak bumi, akan tetapi dalam penelitian ini tanaman sorgum varietas Unpad 1,1 menunjukkan adapatasi yang lemah terhadap toksistas dari hidrokarbon minyak bumi yang terdapat di dalam tanah selama periode 14 MST.

Dari hasil percobaan menunjukkan bahwa Azotobacter indigen dan Pseudomonas indigen (perlakuan kontrol) pada 2 minggu pertama setelah tanam belum memberikan kontribusi pada pertumbuhan tanaman yang ditunjukkan pada pertumbuhan yang lebih rendah secara signifikan dengan perlakuan lainnya, sedangkan inokulasi kedua isolat menghasilkan tinggi tanaman yang lebih tinggi secara signifikan. Namun demikian pada minggu ke 14 MST menunjukkan bahwa Azotobacter dan Pseudomonas indigen tampaknya dapat berdaptasi lebih baik pada paparan hidrokarbon selama 14 MST, sehingga dapat membantu memacu pertumbuhan tanaman sorgum lebih baik meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan yang dinokulasi kedua isolat. Hal ini ditunjukkan pertumbuahn tanaman sorgum mengalami pertambahan tinggi yang lebih pesat yaitu dari tinggi rata-rata 2 ,82cm menjadi 10,708 cm – 11,192 cm dibandingkan perlakuan inokulasi kedua isolat yang mengalami pertumbuhan yang lebih ambat.

Berdasarkan karakteristik tanah percobaan (Tabel 1.) yang menggambarkan kandungan P tersedia yang rendah, N total rendah, kejenuhan basa sangat rendah dan KTK rendah ini menunjukkan karakteristik tanah yang kurang optimal dalam menyediakan unsur hara terutama N dan P, sehingga mengakibatkan pertumbuhan tanaman sorgum semakin tertekan, sehingga eksudat akar yang dihasilkan oleh tanaman untuk membantu memacu proses degradasi hidrokarbon minyak bumi menjadi tidak efektif.

**Konsentrasi Serapan Hidrokarbon Pada Tajuk Sorgum**

 Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. dalam proses fitoremedasi 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 6.

Pengaruh mandiri *Azotobacter* sp. terhadap serapan hidrokarbon di akar sorgum menunjukan 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 akar). Sedangkan nilai serapan hidrokarbon di bagian tajuk menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata 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 akar).

 Pada inokulasi *Pseudomonas* sp. dosis 3% menunjukkan tingkat serapan hidrokarbon yang lebih rendah secara signifikan (p< 0.5) dibandingkan perlakuan kontrol yaitu sebesar 32,520 (mg/g akar). Sedangkan serapan hidrokarbon di bagian tajuk tidak menunjukkan perbedaan yang nyata 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 akar). Hal ini terjadi karena sistem perakaran lebih cepat menyerap unsur di dalam tanah namun ditranslokasikan ke bagian tajuk dengan lambat (Akinci and Akinci. 2010), sehingga kandungan hidrokarbon pada akar lebih besar 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), dengan 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 *Pseudomonsa* sp. pada dosis 3% yang mampu menekan serapan hidrokarbon oleh akar. Fenomena ini dapat dijelaskan bahwa tingkat effisiensi biodegradasi hidrokarbon pada perlakuan *Pseudomonas* sp. 3 % menunjukkan nilai yang relatif lebih tinggi dibandingkan kontrol, dan *Pseudomonas* spp. dapat menghasilkan senyawa ekstraseluler berupa biosurfaktan yang juga dapat berperan sebagai binding agent yang dapat membentuk komplex hidrokarbon.

Tabel 6. Pengaruh Inokulasi Azotobacter sp. dan Pseudomonas sp. Terhadap tingkat Serapan Hidrokarbon pada Akar dan Tajuk Tanaman Sorgum umur 14 MST

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Perlakuan | Serapan HC pada Akar Tanaman Sorgum (mg/g akar) | Serapan HC pada Tajuk Tanaman Sorgum (mg/g akar) |
| *Azotobacter* sp.:Tanpa  *Azotobacter*sp. (Kontrol)1%  *Azotobacter* sp. / [TPH]2%  *Azotobacter* sp./ [TPH]3%  *Azotobacter* sp./ [TPH] | 83,333 b65,740 b37,728 a40,556 a | 0.0175 a0.0142 a0.0142 a0.0167 a |
| *Pseudomonas* sp.:Tanpa *Pseudomonas* sp. (kontrol)1%  *Pseudomonas* sp./ [TPH]2%  *Pseudomonas* sp./ [TPH]3%  *Pseudomonas* sp./ [TPH] | 80,139 b54,861 ab59,837 ab 32,520 a | 0,0158 a0,0183 a0,0142 a0,0142 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

**SIMPULAN**

1. Inokulasi *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp. untuk semua variabele yang diuji menunjukkan antara kedua spesies tidak kompatibel bila digunakan secara konsorsium (bersama), namun memberikan efek secara mandiri.
2. Akibat inokulasi *Azotobacter* sp. dosis 3% pada fase 4 MST menunjukkan tingkat efisiensi degradasi hidrokarbon yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol 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. Kedua inokulan mampu berfungsi sebagai biostimulan dalam memacu pertumbuhan tinggi tanaman hanya terjadi pada fase awal degradasi yaitu pada periode 2 MST.
5. Tanaman sorgum menunjukkan sebagai tanaman akumulator hidrokarbon yang didominasi terakumulasikan di bagian akar.
6. *Azotobacter* sp. dan *Pseudomonas* sp secara mandiri berperan sebagai *binding agent* yang dapat menekan serapan hidrokarbon oleh akar sorgum dalam sisten fitoremediasi

**Ucapan Terimakasih**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Padjadjaran yang telah mendanai penelitian ini pada pelaksanaan Program Penelitian RKDU anggaran tahun 2020, dan juga ucapan terima kasih disampaikan 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 (Lollium 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

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

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

Fitriatin, B. N., Fauziah, D., Fitriani, F. N., Ningtyas, D. N., Suryatmana, P., Hindersah, R., Setiawati, M. R., & Simarmata, T. (2020). Biochemical activity and bioassay on maize seedling of selected indigenous phosphate-solubilizing bacteria isolated from the acid soil ecosystem. *Open Agriculture*, *5*(1), 300–304. https://doi.org/10.1515/opag-2020-0036

Germaine, K. J., Keogh, E., Ryan, D., & Dowling, D. N. (2009). Bacterial endophyte-mediated naphthalene phytoprotection and phytoremediation. *FEMS Microbiology Letters*, *296*(2), 226–234. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01637.x

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

Hindersah, R., Risanti, R. R., Haikal, I., Mahfud, Y., & Rachmadi, M. (2019). Effect of Azotobacter application Method on Yield of Soybean (Glycine Max L) on Dry Land. *Agric Jurnal Ilmu Pertanian*, *31*(2), 137–146.

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

Mandri, T., & Lin, J. (2007). Isolation and characterization of engine oil degrading indigenous microrganisms in Kwazulu-Natal, South Africa. *African Journal of Biotechnology*, *6*(1), 23–027. http://www.academicjournals.org/AJB

Muratova, A. Y., Dmitrieva, T. v., Panchenko, L. v., & Turkovskaya, O. v. (2008). Phytoremediation of oil-sludge-contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation*, *10*(6), 486–502. https://doi.org/10.1080/15226510802114920

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.xxxxxxxx.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

Siciliano, S. D., Fortin, N., Mihoc, A., Wisse, G., Labelle, S., Beaumier, D., Ouellette, D., Roy, R., Whyte, L. G., Banks, M. K., Schwab, P., Lee, K., & Greer, C. W. (2001). Selection of Specific Endophytic Bacterial Genotypes by Plants in Response to Soil Contamination. *Applied and Environmental Microbiology*, *67*(6), 2469–2475. https://doi.org/10.1128/AEM.67.6.2469-2475.2001

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., & Wisjnuprapto. (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.

Tang, J. C., Wang, R. G., Niu, X. W., Wang, M., Chu, H. R., & Zhou, Q. X. (2010). Characterisation of the rhizoremediation of petroleum-contaminated soil: Effect of different influencing factors. *Biogeosciences*, *7*(12), 3961–3969. https://doi.org/10.5194/bg-7-3961-2010

Tesar, M., Reichenauer, T. G., & Sessitsch, A. (2002). *Bacterial rhizosphere populations of black poplar and herbal plants to be used for phytoremediation of diesel fuel*. www.elsevier.com/locate/soilbio

Thavasi, R., Subramanyam Nambaru, V. R. M., Jayalakshmi, S., Balasubramanian, T., & Banat, I. M. (2009). Biosurfactant production by Azotobacter chroococcum isolated from the marine environment. *Marine Biotechnology*, *11*(5), 551–556. https://doi.org/10.1007/s10126-008-9162-1

van Hamme, J. D., Singh, A., & Ward, O. P. (2003). Recent Advances in Petroleum Microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *67*(4), 503–549. https://doi.org/10.1128/mmbr.67.4.503-549.2003

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

Vermani, M. v, Kelkar, S. M., & Kamat, M. Y. (1997). Studies in polysaccharide production and growth of Azotobacter vinelandii MTCC 2459, a plant rhizosphere isolate. In *Letters in Applied Microbiology* (Vol. 24).

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

Wyszkowski, M., & Ziólkowska, A. (2009). Role of compost, bentonite and calcium oxide in restricting the effect of soil contamination with petrol and diesel oil on plants. *Chemosphere*, *74*(6), 860–865. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.10.035

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

Zhuang, X., Chen, J., Shim, H., & Bai, Z. (2007). New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation. In *Environment International* (Vol. 33, Issue 3, pp. 406–413). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.12.005