

PENGARUH PUPUK HAYATI DAN DOSIS *AZOTOBACTER* SP. DALAM FITOREMEDIASI MENGGUNAKAN TANAMAN RAMI (*BOEHMERIA NIVEA* L. GAUD) PADA TANAH TERCEMAR HIDROKARBON MINYAK BUMI

Gea Anggun Pratiwi¹, Diyan Herdiyantoro², Pudjawati Suryatmana³

¹Mahasiswa Departemen Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

^{2,3}Dosen Departemen Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

Email : pujawati@unpad.ac.id

ABSTRACT

Phytoremediation in soil contaminated with petroleum hydrocarbon is a technology to remediate contaminant using plant as nutrient availability facilitator for degrading microbials in the rhizosphere. Phytoremediation can be promoted by biofertilizers containing nitrogen fixer, phosphate solubilizer, and mycorrhizal for improving soil fertility, also Azotobacter sp. which produces biosurfactant. The purpose of this research was to determine the effects of biofertilizers and doses of Azotobacter sp. on enhancing of petroleum hydrocarbon biodegradation efficiency, nitrogen fixing bacteria and phosphate solubilizing bacteria population, and total chlorophyll content in ramie leaves. This research was carried out from September 2016 to April 2017 at Laboratory of Soil Biology, Laboratory of Soil Fertility and Plant Nutrition, also Greenhouse and Field Station Faculty of Agriculture Universitas Padjadjaran. This research used factorial randomized complete block design with two factors consisted of biofertilizers (control, nitrogen fixing bacteria, phosphate solubilizing bacteria, phosphate solubilizing fungi, mycorrhizal, and biofertilizer consortium) and doses of Azotobacter sp. (control, 1%, and 2%). The results of experiment showed there was an interaction effect between biofertilizer of phosphate solubilizing fungi and 2% dose of Azotobacter sp. on the enhancement of total chlorophyll content in ramie leaves.

Keywords— Azotobacter sp., Biofertilizers, Petroleum hydrocarbon, Phytoremediation

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil minyak bumi. Rata-rata produksi minyak bumi Indonesia pada tahun 2015 sebesar 783.000 barel per hari (Satuan Kerja Khusus Pelaksana Kegiatan Usaha Hulu Minyak dan Gas Bumi, 2015). Proses produksi minyak bumi seperti pada kegiatan eksplorasi, eksploitasi, pengilangan (*refinery*), maupun transportasi seringkali menimbulkan pencemaran lingkungan akibat adanya tumpahan minyak mentah (*crude oil*) (Nugroho, 2006). Pencemaran minyak bumi di lingkungan dapat mengakibatkan rusaknya ekosistem. Hal ini karena minyak bumi tergolong dalam limbah bahan berbahaya dan beracun (B3), sehingga diperlukan penanganan yang cukup intensif salah satunya melalui teknik penanganan secara biologis yaitu teknologi bioremediasi (Kementerian Lingkungan Hidup, 2003).

Bioremediasi hidrokarbon minyak bumi merupakan suatu proses untuk mengurangi sifat toksik kontaminan minyak bumi dengan memanfaatkan mikroba tanah yang dapat mengubah rantai hidrokarbon kompleks menjadi lebih sederhana (Pinka dan Marcin, 2005). Aplikasi teknologi bioremediasi juga dapat menggunakan tanaman yang berperan dalam menyediakan nutrisi berupa eksudat akar bagi mikroba pendegradasi hidrokarbon minyak bumi (mikroba petrofilik). Teknologi ini dikenal dengan fitoremediasi (Kamath *et al.*, 2004; Rhodes, 2013). Tanaman yang dapat digunakan dalam fitoremediasi salah satunya adalah rami (*Boehmeria nivea* L. Gaud.). Rami merupakan tanaman penghasil serat yang memiliki biomassa batang cukup tinggi, tahan pada berbagai kondisi iklim dan organisme pengganggu tanaman, mudah dibudidayakan, dan sistem perakaran yang kuat (Musaddad, 2007; Yang *et al.*, 2010).

Fitoremediasi hidrokarbon minyak bumi dapat dibantu dengan penambahan pupuk hayati yang dapat membantu dalam meningkatkan ketersediaan unsur hara di dalam tanah terutama unsur N dan P. Pupuk hayati yang ditambahkan antara lain bakteri pemfiksasi nitrogen, bakteri dan jamur pelarut fosfat, serta mikoriza. Ketersediaan nutrisi yang cukup bagi tanaman dapat memacu tanaman untuk tumbuh dan memproduksi eksudat akar dengan baik. Eksudat akar yang dihasilkan oleh tanaman merupakan sumber nutrisi bagi mikroba yang hidup di dalam tanah, sehingga kondisi ini

dapat meningkatkan degradasi hidrokarbon. Komponen eksudat akar yang dihasilkan antara lain karbohidrat, asam organik, asam amino, asam lemak, enzim, protein, dan vitamin (Frick *et al.*, 1999; Rohrbacher dan St-Arnaud, 2016). Penambahan bakteri *Azotobacter* sp. yang dapat menghasilkan biosurfaktan juga sangat diperlukan untuk meningkatkan kelarutan minyak bumi di dalam air, sehingga kondisi ini dapat mempercepat proses pemecahan rantai hidrokarbon oleh mikroba pendegradasi minyak bumi (petrofilik) (Nugroho, 2006; Sianipar *et al.*, 2016). Oleh karena itu, penggunaan teknologi fitoremediasi dengan pemanfaatan inokulan pupuk hayati (bakteri pemfiksasi nitrogen, bakteri pelarut fosfat, jamur pelarut fosfat, dan mikoriza), serta bakteri penghasil biosurfaktan (*Azotobacter* sp.) pada tanah tercemar hidrokarbon minyak bumi perlu dikaji untuk mengetahui pengaruh antar faktor perlakuan terhadap efisiensi biodegradasi hidrokarbon minyak bumi, populasi bakteri pemfiksasi nitrogen dan pelarut fosfat, serta jumlah klorofil daun tanaman rami.

METODOLOGI PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Tanah, Laboratorium Kesuburan Tanah dan Nutrisi Tanaman, Rumah Kaca dan Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Kecamatan Jatinangor, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September 2016 hingga April 2017.

B. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : *laminar air flow*, *autoclave*, *incubator*, mikroskop, tabung reaksi, erlenmeyer 250 ml, botol vial ukuran 25 ml dan 100 ml, petridish, saringan mikoriza, oven, *polybag* kapasitas 10 kg, alat Konika Minolta SPAD 520-plus, Inceptisols Jatinangor, *crude oil* yang berasal dari Pertamina Balongan Indramayu, tanaman rami klon Lembang, inokulan pupuk hayati (bakteri pemfiksasi nitrogen, bakteri dan jamur pelarut fosfat, serta *Azotobacter* sp.) koleksi Laboratorium Biologi Tanah Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, mikoriza yang berasal dari Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia-Bogor, media Ashby's, media Pikovskaya, kompos dari tanaman rami, pupuk anorganik (urea, SP-36, KCl), dan bahan-bahan kimia untuk penghitungan *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) (n-heksan, akuades, dan natrium sulfat).

C. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial yang terdiri dari dua faktor percobaan. Faktor pertama adalah pupuk hayati (kontrol, bakteri pemfiksasi nitrogen, bakteri pelarut fosfat, jamur pelarut fosfat, mikoriza, dan konsorsium bakteri pemfiksasi nitrogen + BPF + JPF + Mikoriza) dengan masing-masing dosis 2% berdasarkan bobot *crude oil*, dan faktor kedua adalah dosis *Azotobacter* sp. (0%, 1%, dan 2%). Penelitian ini menggunakan 18 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak tiga kali, sehingga total unit percobaan sebanyak 54 *polybag* yang diletakkan secara acak di dalam rumah kaca.

D. Prosedur Percobaan

Analisis tanah awal yang dilakukan terhadap Inceptisols Jatinangor meliputi sifat kimia (pH H₂O, pH KCl, C-Organik, N-total, C/N, P₂O₅ Bray I, P₂O₅ HCl 25%, KTK, Al_{dd} dan H_{dd}), fisika (tekstur tanah), dan biologi tanah (populasi mikroba indigenus yaitu : bakteri pemfiksasi nitrogen, bakteri dan jamur pelarut fosfat, serta mikoriza). Pengambilan contoh tanah dilakukan secara komposit pada kedalaman 0 - 20 cm dari permukaan tanah. Contoh tanah dibersihkan dari sisa-sisa tanaman, dikeringanginkan, dihaluskan, kemudian disaring menggunakan saringan berukuran 2 mm. Kompos rami yang digunakan pada penelitian ini juga dilakukan analisis terhadap sifat kimia (C-organik, N-total, C/N, dan P₂O₅ Olsen), dan biologi tanah (populasi bakteri pemfiksasi nitrogen, bakteri pelarut fosfat, jamur pelarut fosfat dan *Azotobacter* sp.).

Inokulan pupuk hayati yang digunakan dalam penelitian ini merupakan inokulan hasil seleksi yang sebelumnya ditumbuhkan selama satu bulan pada media cair yang diberi penambahan *crude oil* 1%. Inokulan pupuk hayati dan *Azotobacter* sp. kemudian diperbanyak pada media yang berbeda, yaitu *Trypticase Soy Agar* (TSA) (untuk bakteri pemfiksasi nitrogen), molase 2% (untuk bakteri pelarut fosfat), Pikovskaya padat + antibiotik (untuk jamur pelarut fosfat), dan basal glukosa (untuk

Azotobacter sp.). Perbanyakkan inokulan bakteri dilakukan dengan cara mengambil inokulan sebanyak 10% dari volume media yang digunakan pada tahap produksi, kemudian inokulan bakteri dimasukkan ke dalam masing-masing tabung erlenmeyer yang berisi media produksi. Campuran media dan inokulan dikocok selama 5 hari pada kecepatan 100 rpm. Inokulan jamur pelarut fosfat hasil seleksi diproduksi dengan cara menumbuhkan JPF pada media Pikovskaya padat + antibiotik. Jamur yang sudah ditumbuhkan pada media padat kemudian diencerkan dengan menggunakan 50 mL NaCl fisiologis dan ditempatkan dalam erlenmeyer.

Tanah sebanyak 10 kg dicampurkan dengan *bulking agent* (kompos tanaman rami) dengan dosis 5% berdasarkan bobot tanah. Campuran tanah dan kompos tanaman rami diinkubasi selama 7 hari, kemudian dilakukan aplikasi *crude oil* (untuk membuat tanah tercemar hidrokarbon minyak bumi). Konsentrasi TPH yang digunakan pada setiap *polybag* yaitu 7% yang ditentukan dari konsentrasi TPH awal. Campuran tanah, *bulking agent* dan *crude oil* diinkubasi selama 1 hari.

Stek rhizoma ditanam di dalam *polybag* yang berisi media untuk pembibitan yaitu tanah dan kompos (perbandingan 1:1) selama 3 minggu. Tiga buah rhizoma yang sudah tumbuh menjadi bibit diinokulasi dengan dosis 2% mikoriza (untuk perlakuan yang diberi mikoriza). Inokulasi mikoriza dilakukan dengan cara mengaplikasikan mikoriza pada media tanam di sekitar perakaran bibit rami. Perlakuan tersebut diinkubasi selama 7 hari. Bibit tanaman rami yang sudah berumur 28 hari pembibitan langsung ditanam dalam *polybag* berisi campuran media tanah, *crude oil*, dan *bulking agent*.

Pupuk hayati bakteri pemfiksasi nitrogen, BPF, dan JPF, serta *Azotobacter* sp. diaplikasikan dengan cara dituangkan pada media tanam yang sudah dicampurkan dengan *crude oil*. Pupuk anorganik yang digunakan dalam penelitian ini yaitu urea 125 kg, SP-36 35 kg, dan KCl 75 kg (1/2 dosis anjuran). Pupuk urea, SP-36, dan KCl diaplikasikan sebanyak 1/4 dosis pada awal tanam, kemudian 1/4 dosis selanjutnya diaplikasikan dalam rentang waktu satu bulan setelah pemupukan pertama. Aplikasi pupuk dilakukan dengan cara dibenamkan pada media tanam di samping tanaman.

Parameter pengamatan yang diukur terdiri dari efisiensi biodegradasi hidrokarbon minyak bumi, populasi bakteri pemfiksasi nitrogen dan pelarut fosfat, serta jumlah klorofil daun tanaman rami. Pengukuran efisiensi biodegradasi hidrokarbon minyak bumi dilakukan pada saat awal dan akhir percobaan, dihitung menggunakan rumus : $(\text{Konsentrasi TPH awal} - \text{TPH akhir}) / \text{TPH awal}$. Penghitungan populasi bakteri pemfiksasi nitrogen dan pelarut fosfat dilakukan dengan metode *Total Plate Count* pada akhir penelitian, sedangkan penghitungan jumlah klorofil daun dilakukan menggunakan alat Konika Minolta SPAD 520-plus pada akhir penelitian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Efisiensi Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi

Faktor pupuk hayati dan dosis *Azotobacter* sp. tidak menunjukkan adanya interaksi maupun pengaruh mandiri terhadap efisiensi biodegradasi hidrokarbon minyak bumi. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti kelembaban udara, kelembaban tanah, dan ketersediaan substrat yang kurang mendukung untuk pertumbuhan tanaman rami dan biodegradasi hidrokarbon minyak bumi.

Tanaman rami memerlukan kelembaban udara sebesar 83-89% untuk pertumbuhannya, tetapi kelembaban udara di dalam rumah kaca selama fitoremediasi hanya sebesar 79,18% (Wulandari, 2015). Kelembaban udara yang lebih rendah daripada kelembaban udara untuk tanaman rami berpengaruh kurang baik bagi produksi eksudat akar. Hal ini karena proses produksi eksudat akar oleh tanaman tergantung dari proses fotosintesis. Eksudat akar dihasilkan sebanyak 10-20% dari hasil fotosintesis tanaman (Salt et al., 1998). Proses fotosintesis yang terhambat akibat rendahnya kelembaban udara di rumah kaca berdampak kurang baik bagi aktivitas mikroba pendegradasi hidrokarbon minyak bumi karena eksudat akar berperan sebagai sumber energi mikroba (Kusumastuti, 2013; Marsandi dan Estuningsih, 2016).

Rata-rata kelembaban tanah selama fitoremediasi sebesar 28,31%. Nilai kelembaban tersebut kurang cocok untuk biodegradasi hidrokarbon minyak bumi karena proses degradasi oleh mikroba petrofilik akan berlangsung dengan baik pada kelembaban tanah 30-90% (Vidali, 2001). Kondisi ini menyebabkan biodegradasi oleh mikroba berlangsung kurang optimal. Ketersediaan substrat karbon yang berasal dari tanah juga kurang memenuhi kebutuhan substrat untuk mikroba. Nilai C-organik sebesar 1,66% (rendah) pada saat analisis tanah awal dapat membatasi ketersediaan substrat pertama bagi mikroba sebelum mendegradasi hidrokarbon minyak bumi (Cookson, 1995), sehingga hal ini

menyebabkan faktor pupuk hayati dan dosis *Azotobacter* sp. yang digunakan kurang berpengaruh dalam meningkatkan nilai efisiensi biodegradasi hidrokarbon minyak bumi.

Tabel 1. Pengaruh Pupuk Hayati dan Dosis *Azotobacter* sp. terhadap Efisiensi Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi.

Perlakuan	Efisiensi Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi (%) ± Standar Deviasi
Pupuk Hayati (A)	
a ₀ = Tanpa Pupuk Hayati	77,60 ± 14,44
a ₁ = 2% Bakteri Pemfiksasi Nitrogen	78,60 ± 16,19
a ₂ = 2% Bakteri Pelarut Fosfat	81,58 ± 17,82
a ₃ = 2% Jamur Pelarut Fosfat	62,05 ± 32,97
a ₄ = 2% Mikoriza	65,35 ± 21,18
a ₅ = 2% Konsorium (Bakteri Pemfiksasi Nitrogen + Bakteri Pelarut Fosfat + Jamur Pelarut Fosfat + Mikoriza)	79,12 ± 19,66
Dosis <i>Azotobacter</i> sp. (B)	
b ₀ = Tanpa <i>Azotobacter</i> sp.	74,26 ± 17,33
b ₁ = 1% <i>Azotobacter</i> sp.	75,12 ± 23,55
b ₂ = 2% <i>Azotobacter</i> sp.	72,77 ± 24,39

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang tidak diberi notasi huruf menandakan faktor perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap respon berdasarkan analisis ragam pada taraf nyata 5%.

B. Populasi Bakteri Pemfiksasi Nitrogen

Faktor pupuk hayati dan dosis *Azotobacter* sp. tidak menunjukkan adanya pengaruh interaksi maupun pengaruh mandiri terhadap populasi bakteri pemfiksasi nitrogen. Hal ini disebabkan oleh keterbatasan substrat karbon dan kelembaban tanah.

Tabel 2. Pengaruh Pupuk Hayati dan Dosis *Azotobacter* sp. terhadap Populasi Bakteri Pemfiksasi Nitrogen.

Perlakuan	Populasi Bakteri Pemfiksasi Nitrogen (1x10 ¹¹ cfu g ⁻¹) ± Standar Deviasi
Pupuk Hayati (A)	
a ₀ = Tanpa Pupuk Hayati	2,18 ± 2,50
a ₁ = 2% Bakteri Pemfiksasi Nitrogen	4,28 ± 1,98
a ₂ = 2% Bakteri Pelarut Fosfat	2,88 ± 2,41
a ₃ = 2% Jamur Pelarut Fosfat	3,95 ± 2,68
a ₄ = 2% Mikoriza	4,34 ± 2,39
a ₅ = 2% Konsorium (Bakteri Pemfiksasi Nitrogen + Bakteri Pelarut Fosfat + Jamur Pelarut Fosfat + Mikoriza)	2,77 ± 1,86
Dosis <i>Azotobacter</i> sp. (B)	
b ₀ = Tanpa <i>Azotobacter</i> sp.	3,48 ± 2,23
b ₁ = 1% <i>Azotobacter</i> sp.	3,12 ± 2,76
b ₂ = 2% <i>Azotobacter</i> sp.	3,60 ± 2,17

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang tidak diberi notasi huruf menandakan faktor perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap respon berdasarkan analisis ragam pada taraf nyata 5%.

Ketersediaan substrat karbon yang terbatas bagi bakteri pemfiksasi nitrogen pada percobaan ini dapat terjadi karena adanya mekanisme kompetisi. Menurut Mohapatra (2008), mikroba-mikroba yang terdapat di dalam tanah dapat melakukan mekanisme kompetisi untuk memperoleh sumber nutrisi yang sama. Mekanisme kompetisi pada percobaan ini dapat terjadi antara mikroba pemfiksasi nitrogen dengan mikroba lainnya yang terdapat di dalam media tanam untuk memperoleh sumber energi berupa substrat karbon. Substrat karbon yang terbatas bagi bakteri pemfiksasi nitrogen mengakibatkan pembentukan biomassa sel bakteri menjadi terhambat karena unsur karbon diperlukan oleh mikroba sebesar 50% untuk pembentukan selnya (Atlas dan Bartha, 1985 dalam Nugroho, 2006).

Kelembaban tanah yang sangat rendah pada awal percobaan yaitu 16,34 - 21,22% dapat mengurangi kemampuan mikroba untuk hidup pada kondisi tanah tercemar hidrokarbon minyak bumi. Hal ini karena mikroba yang digunakan pada fitoremediasi hidrokarbon minyak bumi dapat hidup pada batas antara minyak dan air (Nugroho, 2006). Kelembaban tanah yang rendah menyebabkan potensial air intraselular mikroba menjadi menurun. Selain itu, kondisi ini juga dapat menghambat aktivitas enzimatis dan metabolisme mikroba (Stark dan Firestone, 1995; Cookson, 1995; Mubiru *et al.*, 2000).

C. Populasi Bakteri Pelarut Fosfat

Faktor pupuk hayati dan dosis *Azotobacter* sp. tidak menunjukkan adanya pengaruh interaksi, tetapi kedua faktor menunjukkan adanya pengaruh mandiri terhadap populasi bakteri pelarut fosfat (BPF).

Tabel 3. Pengaruh Pupuk Hayati dan Dosis *Azotobacter* sp. terhadap Populasi Bakteri Pelarut Fosfat.

Perlakuan	Populasi Bakteri Pelarut Fosfat (1×10^{11} cfu g ⁻¹)
Pupuk Hayati (A)	
a ₀ = Tanpa Pupuk Hayati	7,16 b
a ₁ = 2% Bakteri Pemfiksasi Nitrogen	6,50 b
a ₂ = 2% Bakteri Pelarut Fosfat	5,09 ab
a ₃ = 2% Jamur Pelarut Fosfat	5,47 ab
a ₄ = 2% Mikoriza	6,68 b
a ₅ = 2% Konsorium (Bakteri Pemfiksasi Nitrogen + Bakteri Pelarut Fosfat + Jamur Pelarut Fosfat + Mikoriza)	3,80 a
Dosis <i>Azotobacter</i> sp. (B)	
b ₀ = Tanpa <i>Azotobacter</i> sp.	7,04 b
b ₁ = 1% <i>Azotobacter</i> sp.	5,34 a
b ₂ = 2% <i>Azotobacter</i> sp.	4,97 a

Keterangan : Nilai rata-rata perlakuan yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

Pengaruh mandiri pupuk hayati terhadap populasi BPF menunjukkan bahwa taraf faktor perlakuan a₀ (tanpa pupuk hayati), a₁ (2% bakteri pemfiksasi nitrogen), dan a₄ (2% mikoriza) menghasilkan nilai yang lebih tinggi dan berbeda nyata dengan taraf faktor perlakuan a₅ (2% konsorium). Pengaruh mandiri dosis *Azotobacter* sp. terhadap populasi BPF menunjukkan bahwa taraf faktor perlakuan b₀ (tanpa *Azotobacter* sp.) menghasilkan nilai yang lebih tinggi dan berbeda nyata untuk populasi BPF dibandingkan taraf faktor perlakuan b₁ (1% *Azotobacter* sp.) dan b₂ (2% *Azotobacter* sp.).

Taraf faktor perlakuan a₀ (tanpa pupuk hayati) menghasilkan populasi bakteri pelarut fosfat yang lebih tinggi dibandingkan dengan taraf faktor perlakuan a₅ (2% konsorium). Hal ini diduga karena adanya interaksi yang saling menguntungkan antara mikroba petrofilik pemfiksasi nitrogen indigenus dengan bakteri pelarut fosfat yang saling bersinergi dalam meningkatkan ketersediaan nutrisi. Mikroba petrofilik pemfiksasi nitrogen indigenus dapat memfiksasi nitrogen di atmosfer, sehingga kondisi ini dapat meningkatkan ketersediaan nitrogen bagi bakteri pelarut fosfat (Saikia *et al.*, 2012). Sementara itu, bakteri pelarut fosfat dapat meningkatkan ketersediaan fosfat dari proses pelarutan fosfat (Gottschalk, 1986).

Nilai populasi bakteri pelarut fosfat yang tinggi pada taraf faktor perlakuan a₁ (2% bakteri pemfiksasi nitrogen) juga disebabkan oleh terbentuknya mekanisme sinergisme antara bakteri pemfiksasi nitrogen dan bakteri pelarut fosfat. Mekanisme sinergisme terjadi karena adanya proses pertukaran nutrisi N dan P, serta kemampuan bakteri pemfiksasi nitrogen (*Acinetobacter* sp.) dalam menghasilkan senyawa metabolit yang berguna bagi bakteri pelarut fosfat (*Pseudomonas* sp.). *Acinetobacter* sp. mampu memproduksi senyawa metabolit alkil benzene yang berfungsi sebagai substrat bagi *Pseudomonas* sp. untuk mendegradasi hidrokarbon aromatik (Komukai-Nakamura *et al.*, 1996). Kondisi ini diduga dapat meningkatkan populasi bakteri pelarut fosfat karena *Acinetobacter* sp. dapat meningkatkan ketersediaan substrat bagi *Pseudomonas* sp.

Nilai populasi bakteri pelarut fosfat yang tinggi juga terdapat pada taraf faktor perlakuan a₄ (2% mikoriza). Hal ini disebabkan oleh kemampuan fungi mikoriza dalam mengkoloni perakaran tanaman rami. Kolonisasi fungi mikoriza pada perakaran tanaman rami menyebabkan bidang serapan akar tanaman rami terhadap nutrisi dan air di dalam tanah menjadi lebih luas (Hernandez-Ortega *et al.*, 2012). Nutrisi yang mencukupi dapat berpengaruh baik terhadap kualitas dan kuantitas eksudat akar karena fotosintesis dapat berlangsung dengan baik (Kusumastuti, 2013). Kondisi ini dapat memacu pertumbuhan populasi bakteri pelarut fosfat yang terdapat di rhizosfer karena adanya sumber energi yang berasal dari eksudat akar.

Nilai populasi bakteri pelarut fosfat terendah terdapat pada taraf faktor perlakuan a₅ (2% konsorsium) karena terbentuknya mekanisme antagonisme. Mekanisme antagonisme dapat terjadi antar mikroba yang terdapat pada taraf faktor perlakuan konsorsium untuk memperoleh keuntungan yaitu berupa nutrisi seperti C, N dan P (Singh dan Dwivedi, 2004). Hidrokarbon yang terbatas pada akhir penelitian kemungkinan dapat memacu terjadinya mekanisme antagonisme karena ketersediaan substrat karbon menjadi terbatas. Kondisi ini berpengaruh terhadap penurunan populasi bakteri pelarut fosfat.

Populasi bakteri pelarut fosfat yang tinggi pada taraf faktor perlakuan b₀ (tanpa *Azotobacter* sp.) dibandingkan taraf faktor perlakuan b₁ (*Azotobacter* sp. 1%) dan b₂ (*Azotobacter* sp. 2%) disebabkan oleh tingkat kompetisi yang rendah antar mikroba tanah dalam menggunakan faktor-faktor lingkungan. Penambahan dosis *Azotobacter* sp. 1% dan 2% kemungkinan memacu terjadinya antagonisme dengan mikroba lainnya, sehingga penambahan dosis *Azotobacter* sp. 1% dan 2% dapat menurunkan populasi bakteri pelarut fosfat. Selain itu, kandungan biosurfaktan yang dihasilkan oleh *Azotobacter* sp. kemungkinan mengandung senyawa antibakteri, sehingga hal ini dapat menurunkan populasi bakteri pelarut fosfat (Suryatmana, 2006).

D. Jumlah Klorofil

Interaksi antara pupuk hayati dan dosis *Azotobacter* sp. berpengaruh nyata terhadap jumlah klorofil. Jumlah klorofil daun yang paling tinggi terdapat pada perlakuan a₃b₂ (2% jamur pelarut fosfat + dosis *Azotobacter* sp. 2%), a₁b₁ (2% bakteri pemfiksasi nitrogen + dosis *Azotobacter* sp. 1%), dan a₂b₀ (2% bakteri pelarut fosfat + dosis *Azotobacter* sp. 0%) masing-masing sebesar 25,33 cci, 22,39 cci, dan 22,26 cci. Nilai jumlah klorofil yang tinggi pada perlakuan a₁b₁ (2% bakteri pemfiksasi nitrogen + dosis *Azotobacter* sp. 1%) disebabkan oleh adanya senyawa biosurfaktan yang dihasilkan *Azotobacter* sp.

Tabel 4. Pengaruh Pupuk Hayati dan Dosis *Azotobacter* sp. terhadap Jumlah Klorofil (cci).

Pupuk Hayati (A)	Dosis <i>Azotobacter</i> sp. (B)		
	b ₀	b ₁	b ₂
a ₀	19,50 (a) BC	16,68 (a) A	21,31 (a) AB
a ₁	16,37 (a) AB	22,39 (b) A	15,24 (a) A
a ₂	22,26 (a) C	17,39 (a) A	19,58 (a) AB
a ₃	19,32 (b) BC	14,59 (a) A	25,33 (c) B
a ₄	14,53 (a) A	15,59 (a) A	19,26 (a) AB
a ₅	19,33 (a) BC	15,99 (a) A	14,54 (a) A

Keterangan: Angka yang diikuti huruf sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%. Huruf kecil dibaca arah horizontal (baris) dan huruf kapital dibaca arah vertikal (kolom).

Biosurfaktan dapat mengubah tegangan permukaan antara air dan minyak bumi menjadi menurun, sehingga kondisi ini menyebabkan terbentuknya emulsi minyak dan air (Crawford dan Crawford, 1996 dalam Suryatmana, 2006). Biosurfaktan menyebabkan sel bakteri lebih mudah dalam menggunakan substrat hidrokarbon karena permukaan sel bakteri menjadi lebih hidrofobik (Al-Tahhan *et al.*, 2000). Penggunaan substrat karbon yang lebih mudah oleh bakteri pemfiksasi nitrogen sebagai

sumber energi memudahkan bakteri pemfiksasi nitrogen untuk melakukan fiksasi nitrogen dari atmosfer. Ketersediaan nitrogen yang cukup pada perlakuan a_1b_1 (2% bakteri pemfiksasi nitrogen + 1% *Azotobacter* sp.) dapat meningkatkan jumlah klorofil daun tanaman rami karena nitrogen merupakan unsur yang berperan penting dalam pembentukan klorofil (Patti *et al.*, 2013).

Nilai jumlah klorofil yang tinggi pada perlakuan a_2b_0 (2% bakteri pelarut fosfat + dosis *Azotobacter* sp. 0%) disebabkan oleh aktivitas bakteri pelarut fosfat (BPF) dalam meningkatkan unsur fosfat tersedia bagi tanaman rami. Fosfat merupakan salah satu unsur yang dibutuhkan oleh tanaman untuk pembentukan nukleotida. Nukleotida tersebut berperan penting dalam sintesis protein yang kemudian digunakan sebagai komponen penyusun klorofil (Lodish *et al.*, 2000; Mudyantini, 2008). Hal ini menyebabkan jumlah klorofil pada perlakuan a_2b_0 (2% bakteri pelarut fosfat + dosis *Azotobacter* sp. 0%) menjadi meningkat.

Perlakuan a_3b_2 (2% jamur pelarut fosfat + dosis *Azotobacter* sp. 2%) dapat memudahkan jamur pelarut fosfat dalam menggunakan minyak bumi sebagai sumber karbon. Hal ini karena perlakuan a_3b_2 menghasilkan biosurfaktan yang lebih tinggi, sehingga jumlah minyak yang terlarut lebih banyak. Menurut Suryatmana (2006), dosis *Azotobacter* sp. 2% dapat mengubah ukuran partikel minyak bumi yang kecil (*micelle oil*) menjadi lebih banyak. Ketersediaan sumber karbon yang mencukupi bagi bakteri pelarut fosfat dapat berpengaruh pada peningkatan jumlah klorofil tanaman. Hal ini karena bakteri pelarut fosfat berperan penting dalam melarutkan fosfat, sehingga perlakuan a_3b_2 menghasilkan nilai jumlah klorofil yang lebih tinggi pada fitoremediasi hidrokarbon minyak bumi.

KESIMPULAN

Faktor pupuk hayati dan dosis *Azotobacter* sp. tidak menunjukkan adanya pengaruh interaksi terhadap parameter efisiensi biodegradasi hidrokarbon minyak bumi, populasi bakteri pemfiksasi nitrogen, dan populasi bakteri pelarut fosfat. Kedua faktor perlakuan menunjukkan adanya pengaruh mandiri terhadap populasi bakteri pelarut fosfat, dan pengaruh interaksi terhadap jumlah klorofil daun tanaman rami. Interaksi pupuk hayati jamur pelarut fosfat dengan dosis *Azotobacter* sp. 2% memberikan hasil terbaik terhadap peningkatan jumlah klorofil daun tanaman rami. Faktor-faktor lingkungan seperti kelembaban udara dan tanah, serta ketersediaan substrat karbon yang kurang mendukung menyebabkan penambahan pupuk hayati dan dosis *Azotobacter* sp. kurang berpengaruh dalam meningkatkan efisiensi biodegradasi hidrokarbon minyak bumi, populasi bakteri pemfiksasi nitrogen dan pelarut fosfat.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Tahhan, R. A., Todd, R. S., Adria, A. B., dan Raina, M. M. 2000. Rhamnolipid-induced removal of lipopolysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa*: effect on cell surface properties and interaction with hydrophobic substrates. *Jurnal Applied and Environmental Microbiology* 66(8) : 3262-3268.
- Cookson, J. T. 1995. *Bioremediation Engineering : Design dan Application*. New York: Mc Graw – Hill. Inc.
- Frick, C. M., Farrel, R. E., dan Germida, J. J. 1999. *Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites*. Canada : University of Saskatchewan.
- Gottschalk, G. 1986. *Bacterial metabolism*. New York : Springer.
- Hernandez-Ortega, H.A., Alarcon, A., Ferrera-Cerrato, R., Zavaleta-Mancera, H.A., Lopez-Delgado, H.A., dan Mendoza-Lopez, R. M. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrient status, and total antioxidant activity of *Melilotus albus* during phytoremediation of a diesel-contaminated substrate. *Jurnal Environmental management* 95 : 319-324.
- Kamath, R., Rentz, J. A., Schnoor, J. L., dan Alvarez, P. J. J. 2004. *Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils: principles and applications*. Pdf. [Internet]. Available at : https://www.researchgate.net/publication/251457589_Phytoremediation_of_hydrocarboncontaminated_soil_Principles_and_applications. [Diunduh 2016 Mei 02].
- [Kemen LH] Kementerian Lingkungan Hidup. 2003. Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 128 tahun 2003 tentang Tatacara dan Persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminasi oleh Minyak Bumi secara Biologis. [Internet]. Available at

- : <http://skpd.batamkota.go.id/dampaklingkungan/files/2012/01/Kepmen-No.128-th-2003-Limbah-Minyak-Bumi.pdf>. [Diunduh 2016 Mei 02].
- Komukai-Nakamura, S., Keiji, S., Yukie, Y., Haruhisatoki, Kasthuri, V., Satoshi, Y., Hiroki, T., dan Shigeaki, H. 1996. Construction of bacterial consortia that degrade arabian light crude oil. *Jurnal Fermentation and Bioengineering* Vol. 82 : Hal. 570-574. No.6.
- Kusumastuti, A. 2013. Aktivitas mikroba tanah, pertumbuhan dan rendemen nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) pada berbagai aras bahan organik serta lengas tanah di Ultisols. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan* Vol. 13 : Hal. 78-84. No. 2.
- Lodish, H., Arnold, B., Lawrence, Z., Paul, M., David, B., dan James, D. 2000. *Molecular Cell Biology*, 4th Edition. New York : W. H. Freeman.
- Marsandi, F. dan Estuningsih, S. P. 2016. Asosiasi konsorsium bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* dan *Micrococcus luteus* dengan lamtoro (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) De Wit) dalam upaya meningkatkan bioremediasi minyak bumi. *Proceeding Biology Education Conference* Vol. 13: Hal. 807-813. No. 1.
- Mohapatra, P. K. 2008. *Textbook of Environmental Microbiology*. New Delhi : I. K. International Publishing House Pvt. Ltd.
- Mubiru, D. N., Coyne, M. S., dan Grove, J. H. 2000. Mortality of *Escherichia coli* O157:H7 in two soils with different physical and chemical properties. *Jurnal Environmental Quality* Vol. 29 : Hal. 1821-1825. No. 6.
- Mudyantini, W. 2008. Pertumbuhan, kandungan selulosa, dan lignin pada rami (*Boehmeria nivea* L. Gaudich) dengan pemberian asam giberelat (GA3). *Jurnal Biodiversitas* Vol. 9 : Hal. 269-274. No. 4.
- Musaddad, M. A. 2007. *Agribisnis Tanaman Rami*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Nugroho, A. 2006. *Bioremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Patti, P. S., Kaya, E., dan Silahooy, Ch. 2013. Analisis stasiun nitrogen tanah dalam kaitannya dengan serapan N oleh tanaman padi sawah di Desa Waimital, Kecamatan Kairatu, Kabupaten Seram bagian barat. *Jurnal Agrologia* Vol. 2 : Hal. 51-58. No. 1.
- Pinka, M. dan Marcin, M. 2005. Remediation of soil contaminated with hydrocarbons-new ecological approach in oil and gas industry. *Jurnal Wiertnictwo Nafta Gaz* : Hal. 247-251.
- Rhodes, C. J. 2013. Applications of bioremediation and phytoremediation. *Jurnal Science Progress* Vol. 96 : Hal. 417-427. No. 4.
- Rohrbacher, F. dan St-Arnaud, M. 2016. Root exudation: the ecological driver of hydrocarbon rhizoremediation. *Jurnal Agronomy* 6(19) : 1-27.
- Saikia, S. P., Bora, D., Goswami, A., Mudoi, K. D., dan Gogoi, A. 2012. A review on the role of *Azospirillum* in the yield improvement of non leguminous crops. *Jurnal Microbiology Research* Vol. 6 : Hal. 1085-1102. No. 6.
- Salt, D. E., Smith, R. D., dan Raskin, I. 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49 : 643-668.
- Satuan Kerja Khusus Pelaksana Kegiatan Usaha Hulu Minyak dan Gas Bumi. 2015. Produksi minyak bumi naik. [Internet]. Available at : <http://www3.esdm.go.id/berita/migas/40-migas/7693-produksi-minyak-bumi-naik.html>. [Diunduh 2016 Mei 02].
- Sianipar, M., Edwan, K., dan Syarif, H. 2016. The application of biosurfactant produced by *Azotobacter* sp. for oil recovery and reducing the hydrocarbon loading in bioremediation process. *Jurnal Environmental Science and Development* Vol. 7 : 494-498. No. 7.
- Singh, D. P. dan Dwivedi, S. K. 2004. *Environmental Microbiology and Biotechnology*. New Delhi : New Age International Ltd., Publishers.
- Suryatmana, P. 2006. Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi dengan Penambahan *Azotobacter chroococcum* AC04 sebagai Bakteri Penghasil Biosurfaktan [Disertasi]. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Stark, J. M., dan Firestone, M. K. 1995. Mechanisms for soil moisture effects on activity of nitrifying bacteria [Abstrak]. *Jurnal Appl. Environ. Microbiol* Vol. 61 : Hal. 218-221. No. 1.
- Vidali, M. 2001. Bioremediation : an overview. *Jurnal Pure and Applied Chemistry* Vol. 73 : Hal. 1163-1172. No. 7.
- Wulandari, A. P. 2015. *Rami : Prospekti Serat dan Limbah*. Bandung : Unpad Press.

Yang, B., Zhou, M., Shu, W. S., Lan, C. Y., Ye, Z. H., Qiu, R. L., Jie, Y. C., Cui, G. X., dan Wong, M. H. 2010. Constitutional tolerance to heavy metals of a fiber crop, ramie (*Boehmeria nivea*), and its potential usage. Jurnal Environmental Pollution Vol. 158 : Hal. 551-558. No. 2.