

# PENGARUH *Glomus aggregatum* Schenk & Smith emend. Koske YANG DIINOKULASIKAN PADA VETIVER (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) DALAM MENURUNKAN TOTAL PETROLEUM HYDROCARBON

INDRAWAN TAUCHID<sup>†1)</sup>, TUTIK NURHIDAYATI<sup>†)</sup>, BUDHI PRIYANTO<sup>††)</sup>

<sup>†)</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya

<sup>††)</sup> Balai Teknologi Lingkungan - Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi,  
Pusat Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, Tangerang Selatan

## ABSTRAK

Vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) merupakan tanaman yang berpotensi untuk menurunkan Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) dalam tanah yang tercemar *crude oil*. *C. zizanioides* mudah berasosiasi dengan mikoriza *Glomus aggregatum* Schenk & Smith emend. Koske. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi *crude oil* dan penambahan cendawan mikoriza arbuskula *G. aggregatum* terhadap kemampuan *C. zizanioides* dalam melakukan fitoremediasi tanah terkontaminasi PHC. Bioreaktor dibuat dari *polybag* yang diisi dengan campuran tanah dan pasir (2:3). *Crude oil* diambil dari industri rakyat pengeboran minyak bumi di Bojonegoro, Jawa Timur. Parameter pertumbuhan, infeksi mikoriza, jumlah bakteri *bulk soil* dan rizosfer, serta TPH diukur setelah 3 bulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi *crude oil* berpengaruh terhadap kemampuan *C. zizanioides* dalam menurunkan TPH dalam tanah. Namun, penambahan *G. aggregatum* tidak mempengaruhi penurunan TPH. Nilai penurunan TPH tertinggi (54,587 %) terjadi pada perlakuan penambahan *crude oil* 3% tanpa inokulasi *G. aggregatum*. Penambahan *G. aggregatum* memperbesar biomassa akar.

**Kata Kunci:** Fitoremediasi, *crude oil*, TPH, *Chrysopogon zizanioides*, *Glomus aggregatum*

## ABSTRACT

Vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) is a potential plant for reducing Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) in Petroleum Hydrocarbon (PHC) contaminated soil. *C. zizanioides* is able to associate with *Glomus aggregatum* Schenk & Smith emend. Koske. This research aimed to know the effect of crude oil concentration and arbuscular mycorrhizal fungi *G. aggregatum* on *C. zizanioides* potency to remediate PHC contaminated soil. Bioreactor were constructed using polybags filled with a mixture of fine soil and sand (2:3). Crude oil was taken from small scale crude oil drilling industry in Bojonegoro, East Java. Plant growth parameters, mycorrhizal infection, bacterial populations in bulk soils and rhizospheres, and TPH percentages were measured after 3 months. Result shows that *C. zizanioides* was able to reduce TPH concentration in the soil and this was affected by crude oil concentration. The presence of *G. aggregatum* addition had no effect on the reduction of TPH. Highest TPH reduction (54,486%) was achieved in the 3% crude oil treatment without *G. aggregatum* inoculation. However, root biomass of vetiver was higher in the *G. aggregatum* inoculated treatment.

**Keywords:** Phytoremediation, *crude oil*, TPH, *Chrysopogon zizanioides*, *Glomus aggregatum*.

## I. PENDAHULUAN

Pertambangan petroleum baik berupa minyak bumi maupun gas alam merupakan salah satu usaha untuk memperoleh sumber energi dan turunannya. Pada proses pertambangan tersebut, tentunya ada hasil samping yang dapat menjadi polutan yang berbahaya bagi lingkungan, antara lain limbah hidrokarbon petroleum (*petroleum*

*hydrocarbon*/PHC). Petroleum dan turunannya merupakan campuran dari hidrokarbon padat, cair, dan gas. Komponen yang secara alami terbentuk pada reservoir *crude oil* disebut hidrokarbon petroleum. Substansi ini bersifat toksik pada organisme tingkat tinggi (manusia, flora, fauna) dan organisme tingkat rendah seperti mikroorganisme (Atlas, 1981 dalam Ambarukmi dan Sriwuryandari, 2006).

Limbah PHC dapat ditanggulangi dengan bioremediasi. Bioremediasi adalah suatu teknik dengan menggunakan mikroorganisme atau

<sup>1)</sup> Corresponding author.

E-mail address: indrawan.tauchid@gmail.com

tumbuhan untuk detoksifikasi kontaminan. Salah satu alternatif dalam proses bioremediasi adalah dengan menggunakan fitoremediasi. Fitoremediasi didefinisikan sebagai pencucian polutan yang dimediasi oleh tumbuhan, termasuk pohon, rumput-rumputan, dan tumbuhan air. Pencucian bisa berarti penghancuran, inaktivasi atau imobilisasi polutan ke bentuk yang tidak berbahaya (Alarcón, 2006; Robertson *et al.*, 2007). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tanaman untuk fitoremediasi adalah *Chrysopogon zizanioides*.

*C. zizanioides* merupakan rumput-rumputan perenial, dengan helai daun yang padat, dikarakterisasikan dengan batang yang kuat dan tegak dengan helai daun mencapai panjang 75 cm dan lebar 8 cm (World Bank, 1993 dalam Brandt, 2003). *C. zizanioides* memiliki kapabilitas spesifik dalam mereduksi material organik seperti COD, BOD, amonia, dan juga logam seperti Zn (90%), As (60%), Pb (30-71%), dan Hg (13-15%). *C. zizanioides* merupakan tanaman C4, termasuk tanaman perenial yang berumur panjang (10 tahun) dan mampu tumbuh pada rentang suhu -9 sampai 45°C serta toleran terhadap pH 4,5-10,5 (Kong *et al.*, 2000 dalam Ambarukmi dan Sriwuryandari, 2006). *C. zizanioides* memiliki kemampuan untuk mengurangi polutan hidrokarbon dalam tanah serta mampu bertahan hidup dan menumbuhkan tunas baru pada tanah yang telah tercemar hidrokarbon. *C. zizanioides* juga menetralkan alkalinitas dari tanah dan mempertahankan air (Ambarukmi dan Sriwuryandari, 2006). Selain itu, *C. zizanioides* mempunyai kemampuan untuk bersimbiosis dengan mikroflora tanah, yaitu bakteri rizosfer dan cendawan mikoriza arbuskular (CMA) (Leaungvutiviroj *et al.*, 2010).

Mikoriza (akar-cendawan) merupakan gabungan simbiotik dan mutualistik antara cendawan bukan patogen atau patogen lemah dan sel akar hidup, terutama sel korteks dan sel epidermis (Robertson *et al.*, 2007). Mikoriza diduga mampu meningkatkan ketahanan tanaman terhadap lingkungan yang tercemar hidrokarbon dengan cara meningkatkan serapan nutrisi tanaman dan air pada tanah (Alarcón, 2006). Secara umum, fungi dianggap lebih toleran terhadap zat kimia polutan berkonsentrasi tinggi daripada bakteri, kemungkinan hal ini dikarenakan perbedaan struktur dinding selnya (Blakely *et al.* 2002, dalam Robertson, 2007). Salah satu contoh CMA adalah *Glomus aggregatum* yang memiliki adaptasi yang lebih baik daripada mikoriza lain

terhadap tanah yang terkontaminasi minyak dan menunjukkan kapasitas kolonisasi yang tinggi (Cabello, 1997). Dengan penambahan *G. aggregatum* pada *C. zizanioides* diharapkan dapat meningkatkan sebaran akar sehingga diharapkan efek rizosfer bertambah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan cendawan mikoriza arbuskular *G. aggregatum* terhadap kemampuan *C. zizanioides* dalam melakukan fitoremediasi tanah yang terkontaminasi oleh PHC, mengetahui pengaruh penambahan *crude oil* terhadap kemampuan *C. zizanioides* dalam melakukan fitoremediasi tanah yang terkontaminasi oleh PHC, dan mengetahui perlakuan yang menunjukkan tingkat penurunan TPH yang paling banyak dalam masa pengamatan.

## II. METODOLOGI

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2011 sampai Januari 2012. *Crude oil* didapatkan dari hasil eksplorasi dan produksi petroleum di Bojonegoro, Jawa Timur. Penelitian dilaksanakan di Balai Teknologi Lingkungan - Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BTL-BPPT), Pusat Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (PUSPIPTEK), Tangerang Selatan, Banten.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah *polybag*, ember, termometer, soil tester, pipet volumetrik dan pipet gondok, termometer, vortex, erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, aerator, neraca analitik, saringan, soxhlet, inkubator, oven, tabung reaksi, *rotary evaporator*, *still pot*. Bahan yang digunakan adalah tanah latosol, pasir, *crude oil*, spora cendawan mikoriza arbuskular (CMA) *Glomus aggregatum*, tanaman vetiver (*Chrysopogon zizanioides*), pepton, agar-agar, *meat extract*, NaCl, aquades, n-hexana, aseton, Natrium sulfat (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), dan *glass wool*.

### Cara Kerja

#### Tahap Persiapan

##### Uji Viabilitas Mikoriza

Uji Viabilitas inokulum dilakukan dengan seri pengenceran kelipatan 10. Inokulum mikoriza diambil sebanyak 100 g ram dan diletakkan dalam *polybag* dan di atasnya ditumbuhkan biji jagung sebagai inang. Hal ini merupakan inokulum murni (10<sup>0</sup>). Seri pengenceran 10<sup>-1</sup>, diambil 10 gram inokulum dan dicampurkan dengan 90 g ram tanah steril, di

atasnya ditumbuhkan tanaman inang. Seri pengenceran  $10^{-2}$ , diambil 10 gram dari inokulum pengenceran  $10^{-1}$  dan dicampurkan dengan 90 gram tanah steril, di atasnya ditumbuhkan tanaman inang. Seri pengenceran dilakukan hingga  $10^{-10}$ . Setelah  $\pm$  1 bulan, tanaman diambil dari media tanam dan dibersihkan perakarannya dari tanah. Selanjutnya, dilakukan pengamatan infeksi akar dengan menggunakan mikroskop binokuler pada tiap pengenceran.

### **Penyiapan Tanaman**

Tunas *C. zizanioides*, yang didapatkan dari BALITTRO, Bogor, dipisahkan dari tanaman induk dan dipotong dengan ukuran yang sama (daun dengan panjang 20 cm dan akar dengan panjang 2 cm), kemudian ditanam dalam *compound pot* dengan media zeolit selama 2 bulan. Untuk perlakuan dengan penambahan mikoriza, tunas *C. zizanioides* diinfeksi dengan spora *G. aggregatum* yang didapatkan dari BIOTROP, Bogor. Inokulasi mikoriza dilakukan dengan menggunakan sistem lapisan. Media tanam (zeolit) diambil dengan ketebalan 1 cm, kemudian di atasnya dilapisi inokulum mikoriza 4 gram yang telah di campur dengan pasir dan dilapisi dengan media tanam. Tanaman ditumbuhkan pada rumah kaca. Penyiraman dilakukan setiap hari dan dipupuk Hyponex<sup>®</sup> 1 gram/liter.

### **Penyiapan Media Tanam**

Media yang digunakan adalah tanah dan pasir. Tanah latosol dikeringanginkan selama 3 hari kemudian digiling hingga halus dan diayak kasar. Pasir dikeringanginkan selama 3 hari dan diayak dengan saringan mesh 500  $\mu$ m.

### **Penentuan Water-Holding Capacity**

Media tanam berkomposisi pasir:tanah (3:2) dimasukkan ke dalam tabung yang bagian bawahnya berpori. Tabung tersebut dimasukkan ke dalam bak berisi air sehingga sebagian tabung berada di bawah permukaan air dan dидiamkan selama 1 x 24 jam. Pada bagian bawah tabung ditambahkan penopang agar bagian bawah tabung tidak menempel pada permukaan bak. Setelah didiamkan 1 x 24 jam, massa ditimbang. Kemudian media tanam tersebut dikeringkan dalam oven bersuhu 100°C selama 1 x 24 jam dan setelah kering massa kembali ditimbang. *Water-Holding Capacity* dihitung.

### **Perbanyakan Bakteri Hidrokarbonoklastik**

Bakteri hidrokarbonoklastik koleksi dari BTL-BPPT sebanyak 3 isolat masing-masing di

pindahkan ke dalam 200 ml Nutrient Broth (NB) dan diinkubasi dalam inkubator selama 1 x 24 jam. Masing-masing kultur dipindahkan ke dalam 0,75 liter NB dan diaerasi. Setiap 1 x 24 jam diperkirakan populasinya dengan menggunakan optical density (OD) pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 680 nm. Bakteri siap ditambahkan ke media tanam setelah nilai OD di atas 1.

### **Pembuatan Bioreaktor dan Perawatan Tanaman**

#### **Pembuatan Bioreaktor**

Media tanam berkomposisi pasir:tanah (3:2) dengan massa 3 kg di aduk sampai rata sambil ditambahkan air dan *crude oil* sesuai perlakuan. Media dimasukkan ke dalam polybag tanpa lubang dan dimasukkan 2 tanaman vetiver yang telah disiapkan sesuai perlakuan. Konsorsium bakteri ditambahkan ke tiap polybag sebanyak 120 ml. Polybag dimasukkan ke dalam pot yang telah diisi dengan pasir basah sehingga tinggi pasir basah hampir sama dengan tinggi media tanah dalam polybag.

#### **Pengairan dan Pemupukan**

Seluruh bioreaktor disirami air sebanyak 100 ml setiap pengairan. Pemupukan dengan pupuk anorganik Hyponex<sup>®</sup> setelah 2 minggu penanaman tanaman. Pemupukan dilakukan bersamaan dengan pengairan.

#### **Pengukuran**

##### **Kelembaban Tanah**

Nilai kelembaban pada penelitian ini diperoleh dari hasil pengukuran dengan alat *soil tester*. *Soil tester* ini berupa alat yang dapat mengukur nilai kelembaban tanah dengan cara menancapkan bagian ujung yang runcing dari *soil tester*, kemudian ditekan tombol indika-tornya untuk mendapatkan nilai kelembaban. Pada saat tombol ditekan dengan jarum penunjuk pada *soil tester* akan bergerak sesuai dengan kandungan kelembaban dalam sampel.

##### **Analisis pH**

Nilai pH pada penelitian ini diperoleh dari hasil pengukuran dengan alat *soil tester*. *Soil tester* ini berupa alat yang dapat mengukur nilai pH tanah dengan membaca jarum penunjuk yang bergerak pada saat *soil tester* ditancapkan pada bioreaktor. Jarum akan bergerak sesuai dengan kandungan pH dalam bioreaktor.

### **Suhu Tanah**

Pengukuran suhu pada bioreaktor dilakukan dengan alat termometer. Pengukuran suhu dengan termometer ini dilakukan langsung pada bioreaktor tanaman *C. zizanioides* yang ada di dalam ruang kaca. Termometer ditancapkan pada bioreaktor kemudian tunggu hingga  $\pm 5$  menit lalu lakukan pembacaan skala suhu yang tertera pada termometer.

### **Perhitungan Biomassa**

Pengukuran biomassa dilakukan setelah 3 bulan masa penanaman. Tajuk dipisah dari akar. Tajuk dan akar dikeringkan dalam oven pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  sekitar 3 hari, dan ditimbang setelah dikeluarkan dari oven, kemudian dihitung biomassa keringnya.

### **Perhitungan Jumlah Bakteri dengan Total Plate Count**

Jumlah bakteri diperkirakan dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (Angka Lempeng Total). Untuk perhitungan jumlah bakteri tanah, sampel diambil dari tanah yang jauh dari akar. Sedangkan untuk perhitungan jumlah bakteri rizosfer, sampel diambil dari akar dan tanah sekitarnya. Sebanyak 1 gram sampel ditambahkan ke dalam 9 ml media BH kemudian di vorteks sampai terbentuk suspensi sebagai seri pengenceran  $10^{-1}$ . Kemudian dilakukan seri pengenceran dengan menambahkan 1 ml suspensi ke dalam 9 ml media BH sebagai seri pengenceran  $10^{-2}$  dan dilakukan seri pengenceran berikutnya sampai  $10^{-6}$ . Aliquot yang didapatkan dari pengenceran  $10^{-4}$  sampai  $10^{-6}$  diambil 100  $\mu\text{l}$  untuk diperkirakan *Colony Forming Units* (CFU) bakteri dan diratakan ke dalam cawan petri berisi media Nutrient Agar. Cawan Petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$  dalam posisi terbalik. CFU yang dihitung hanya antara 30 sampai 300 CFU (Alarcon, 2006).

### **Perhitungan Infeksi Akar In Vitro**

Perhitungan infeksi akar in vitro dilakukan setelah 3 bulan masa tanam. Infeksi akar dapat dihitung menggunakan metode pembersihan dan pewarnaan akar. Akar dipotong sepanjang 1 cm secara acak, kemudian akar dicuci dengan air, setelah itu dimasukkan ke dalam tabung film lalu direndam dengan KOH 2,5 % dan dimasukkan ke oven selama 10 menit dengan suhu  $90^{\circ}\text{C}$ . Setelah 10 menit dan akar telah berwarna kuning, larutan KOH dibuang dan dicuci lagi dengan air, setelah itu direndam dengan larutan HCl 2 % selama 10 menit, tanpa di oven. Setelah 10 menit akar tidak

dicuci lagi dan langsung diganti dengan larutan *staining* (gliserin dan aquades dengan perbandingan 70 : 30 %), ditambah dengan *trypan blue* 0.25 % selanjutnya di oven selama 10 menit dengan suhu  $90^{\circ}\text{C}$ . Larutan *staining* dibuang dan diganti dengan larutan *distaining* (larutan *staining* tanpa *Trypan blue* yaitu gliserin dan aquades dengan perbandingan 1 : 1) selama semalam. Potongan akar disusun pada kaca preparat sebanyak 10 potong akar. Potongan akar diamati pada kaca preparat untuk setiap bidang pandang. Bidang pandang yang terinfeksi ditunjukkan dengan adanya tanda seperti hifa, arbuskula maupun vesikula. Persentase infeksi mikoriza dihitung

### **Analisis Total Petroleum Hydrocarbon**

Sampel tanah ditimbang seberat  $\pm 5$  gram dan ditambahkan Natrium sulfat, kemudian dimasukkan ke dalam *Whatman*<sup>®</sup> *cellulose thimble* dan ditutupi dengan *glass wool* secukupnya. 75 ml heksana dan 75 ml aseton dimasukkan ke dalam *still pot* dan dirangkai dalam *soxhlet apparatus*. *Soxhlet apparatus* dinyalakan selama 4 jam. Minyak yang telah terekstraksi dialirkan seluruhnya ke *still pot*. Berat kosong *still pot* ditimbang. Pelarut yang ada dalam *still pot* diuapkan dengan *rotary evaporator* selama 5 menit dengan suhu  $80^{\circ}\text{C}$  sampai pelarut menguap dan tertinggal minyak saja. *Still pot* ditimbang kembali setelah suhu stabil. Sampel tanah untuk kadar air ditimbang seberat  $\pm 5$  gram, dan dioven selama 4 jam dengan suhu  $100^{\circ}\text{C}$ . Sampel tanah kering ditimbang ulang dan dihitung kadar airnya. Nilai yang dilaporkan adalah TPH yang dinyatakan dalam persentase (%).

### **Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok Berblok 4 x 2 yang diulang sebanyak 3 kali. Dua faktor dalam penelitian ini adalah: faktor perbandingan konsentrasi tanah terdiri dari 4 taraf (M0 = penambahan *crude oil* 0%; M1 = penambahan *crude oil* 1%; M3 = penambahan *crude oil* 3% M10 = penambahan *crude oil* 10%) dan faktor pemberian mikoriza (G0 = tanpa penambahan CMA; G1 = dengan penambahan CMA). Tiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Analisis statistika menggunakan *Two Way ANOVA* dilanjutkan dengan uji Duncan dengan selang kepercayaan 95%.

### III. ANALISIS DATA DAN PEMBAHASAN

#### Analisis Data

#### Parameter Lingkungan

Penambahan *crude oil* menyebabkan penurunan pH pada tanah. Penurunan pH terjadi dari penambahan *crude oil* 0% sampai 10%, namun penurunan tidak beda nyata pada konsentrasi *crude oil* 1% dan 3%. Pada penambahan *crude oil* 10% penurunan pH sampai pH 5.

**Tabel 4.1** Rerata pH perlakuan

<i>Crude oil</i> yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	6,683 <sup>az</sup>	6,767 <sup>az</sup>
1	6,433 <sup>bz</sup>	6,383 <sup>bz</sup>
3	6,500 <sup>bz</sup>	6,383 <sup>bz</sup>
10	5,817 <sup>cz</sup>	5,850 <sup>cz</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, c, dan d menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.

Penambahan *crude oil* menyebabkan peningkatan kemampuan tanah untuk menahan kelembaban tanah. Kenaikan kelembaban terjadi secara gradual dari *crude oil* 0% sampai 10%. Sedangkan rerata suhu tanah pada tiap perlakuan hampir sama, yaitu 30°C.

**Tabel 4.2** Rerata kelembaban tanah (skala 0-10)

<i>Crude oil</i> yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	7,167 <sup>az</sup>	6,083 <sup>az</sup>
1	9,483 <sup>bz</sup>	9,000 <sup>bz</sup>
3	10,000 <sup>bz</sup>	10,000 <sup>bz</sup>
10	10,000 <sup>bz</sup>	10,000 <sup>bz</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, c, dan d menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.

**Tabel 4.3** Rerata suhu perlakuan (°C)

<i>Crude oil</i> yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	30,000 <sup>bz</sup>	30,722 <sup>bz</sup>
1	29,444 <sup>az</sup>	29,611 <sup>az</sup>
3	29,611 <sup>az</sup>	29,556 <sup>az</sup>
10	29,889 <sup>abz</sup>	30,389 <sup>abz</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, c, dan d menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.

#### Penurunan *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) Setelah Fitoremediasi

Konsentrasi awal *crude oil* (v/w) yang ditambahkan pada media tanah adalah 0%, 1%, 3%, dan 10%. Tidak seluruhnya merupakan komponen hidrokarbon yang dapat terekstraksi dengan metode yang digunakan, hanya 60% saja kandungan TPH yang terekstraksi dari *crude oil* Cepu. Nilai TPH (%) yang terekstraksi adalah 0%, 0,6%, 1,7%, dan 6%.

Fitoremediasi *crude oil* dengan *Chrysopogon zizanioides* selama 12 minggu menunjukkan tidak adanya perbedaan antara penurunan TPH pada *C. zizanioides* yang tidak diinfeksi *Glomus aggregatum* dan yang diinfeksi dengan *G. aggregatum*. Pada perlakuan penambahan *crude oil* 1% TPH turun menjadi 0,432% (tanpa penambahan *G. aggregatum*) dan 0,376% (dengan penambahan *G. aggregatum*) dari TPH awal 0,6% dan pada penambahan *crude oil* 3% nilai TPH telah turun menjadi 0,772% (tanpa penambahan *G. aggregatum*) dan 1,151% (dengan penambahan *G. aggregatum*) dari TPH awal 1,7%. Pada perlakuan penambahan *crude oil* 10%, penurunan TPH sepenuhnya terjadi tanpa ada interaksi dengan tanaman, karena *C. zizanioides* mati pada pekan pertama. Hanya faktor penambahan *crude oil* yang berpengaruh terhadap nilai TPH setelah pekan ke-12, sementara penambahan *G. aggregatum* dan interaksi dua faktor tidak berpengaruh ( $P < 0,05$ ).

**Tabel 4.4** Nilai TPH pada pekan ke-12 masa penanaman *C. zizanioides* (%)

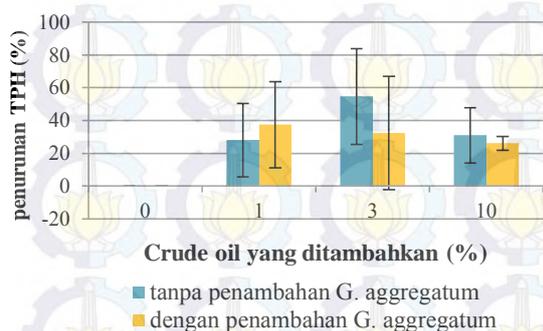
<i>Crude oil</i> yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	0,100	0,031
1	0,432	0,376
3	0,772	1,151
10	4,144	4,433

Nilai penurunan TPH menunjukkan nilai tertinggi pada penambahan *crude oil* 3% dan tanpa penambahan *G. aggregatum* sebesar 54,587% dan nilai terendah pada penambahan *crude oil* 10% dengan penambahan *G. aggregatum* sebesar 26,117%. Namun, pada penambahan 10% tidak ada pengaruh dari *C. zizanioides* karena tanaman tersebut mati pada pekan pertama. Hanya pengaruh penambahan *crude oil* yang berpengaruh terhadap penurunan TPH. Penambahan *G. aggregatum* dan interaksi dua faktor tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan TPH ( $P < 0,05$ ).

**Tabel 4.5** Penurunan TPH pada pekan ke-12 setelah penanaman *C. zizanioides* (%)

Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	0,0000 <sup>az</sup>	0,0000 <sup>az</sup>
1	27,962 <sup>abz</sup>	37,409 <sup>abz</sup>
3	54,587 <sup>bz</sup>	32,287 <sup>bz</sup>
10	30,933 <sup>abz</sup>	26,117 <sup>abz</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, c, dan d menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.



**Gambar 4.1** Nilai penurunan TPH pada pekan ke-12 setelah penanaman *C. zizanioides*

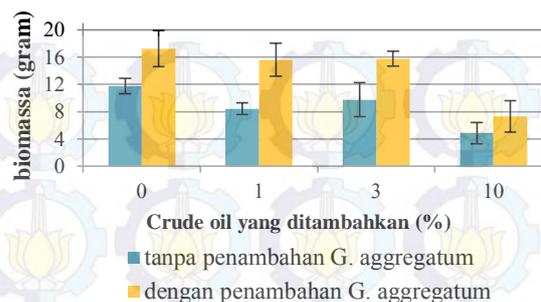
#### 4.1.1 Pengaruh Konsentrasi *Crude Oil* dan Penambahan *G. aggregatum* Terhadap Biomassa *C. zizanioides*

Biomassa tertinggi pada perlakuan penambahan *crude oil* 0% dengan penambahan *G. aggregatum* yaitu 17,261 gram dan biomassa terendah pada penambahan *crude oil* 10% karena tanaman mati pada pekan pertama. Penambahan masing-masing *crude oil* dalam media tanam dan *G. aggregatum* pada *C. zizanioides* menyebabkan terjadinya pengaruh perbedaan biomassa secara nyata pada pekan ke-12 setelah penanaman, namun interaksi antara kedua faktor tidak nyata ( $P < 0,05$ ).

**Tabel 4.6** Biomassa *C. zizanioides* pada pekan ke-12 setelah penanaman (gram)

Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	11,784 <sup>bz</sup>	17,261 <sup>by</sup>
1	8,405 <sup>bz</sup>	15,596 <sup>by</sup>
3	9,743 <sup>bz</sup>	15,751 <sup>by</sup>
10	4,863 <sup>az</sup>	7,283 <sup>ay</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, c, dan d menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.



**Gambar 4.2** Biomassa *C. zizanioides* setelah 12 pekan penanaman.

*C. zizanioides* yang ditambahkan *G. aggregatum* menunjukkan kecenderungan memiliki biomassa yang lebih besar daripada perlakuan tanpa penambahan *G. aggregatum*. Cekaman *crude oil* menyebabkan adanya kemampuan *C. zizanioides* untuk menambah biomassa. Faktor perlakuan yang diberikan memiliki pengaruh yang berbeda terhadap biomassa tajuk dan akar. Kedua faktor perlakuan berpengaruh nyata terhadap biomassa tajuk dan akar, tetapi tidak ada interaksi antar faktor yang berpengaruh.

Biomassa tajuk terbesar pada perlakuan penambahan *crude oil* 0% dengan penambahan *G. aggregatum* yaitu 11,948%. Pada biomassa tajuk, hanya perlakuan penambahan *crude oil* 1% dan 3% yang tidak berbeda nyata terhadap perlakuan lain ( $P < 0,05$ ) sedangkan pada biomassa akar, hanya penambahan *crude oil* 10% yang berbeda dari perlakuan lain karena tanaman mati. Biomassa akar terbesar pada perlakuan penambahan *crude oil* 3% dengan penambahan *G. aggregatum* yaitu 7,134 gram. *C. zizanioides* yang tidak dicekam *crude oil* memiliki proporsi biomassa tajuk lebih tinggi daripada akar. Cekaman *crude oil* menyebabkan kecenderungan *C. zizanioides* untuk menumbuhkan lebih banyak akar sehingga semakin tinggi konsentrasi *crude oil* menyebabkan rasio perbandingan akar dan tajuk semakin mendekati satu. Rasio tajuk:akar tertinggi pada penambahan *crude oil* 0% tanpa penambahan *G. aggregatum* yaitu 2,353. Hanya faktor penambahan *crude oil* yang berpengaruh terhadap rasio tajuk:akar, sementara faktor penambahan *G. aggregatum* dan interaksi antar faktor tidak berpengaruh. Pada faktor penambahan *crude oil*, tiap perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

**Tabel 4.7** Biomassa tajuk *C. zizanioides* pada pekan ke-12 setelah penanaman (gram)

Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	8,369 <sup>cy</sup>	11,948 <sup>cz</sup>
1	5,183 <sup>by</sup>	9,948 <sup>bz</sup>
3	5,803 <sup>by</sup>	8,618 <sup>bz</sup>
10	2,589 <sup>ay</sup>	3,889 <sup>az</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, dan c menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.

**Tabel 4.8** Biomassa akar *C. zizanioides* pada pekan ke-12 setelah penanaman (gram)

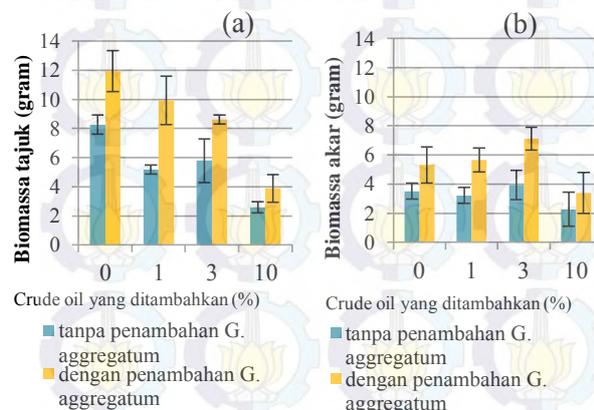
Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	3,515 <sup>by</sup>	5,313 <sup>bz</sup>
1	3,222 <sup>by</sup>	5,648 <sup>bz</sup>
3	3,940 <sup>by</sup>	7,134 <sup>bz</sup>
10	2,274 <sup>ay</sup>	3,394 <sup>az</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, dan c menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.

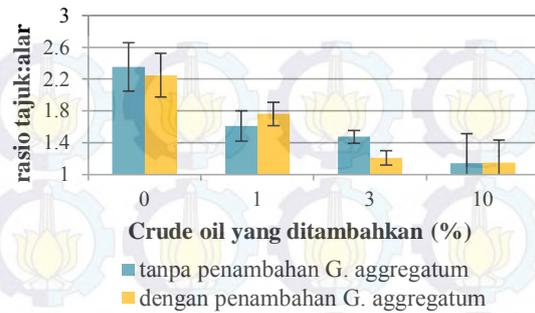
**Tabel 4.9** Rasio biomassa tajuk:akar *C. zizanioides* pada pekan ke-12 setelah penanaman

Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	2,353 <sup>az</sup>	2,249 <sup>az</sup>
1	1,609 <sup>abz</sup>	1,761 <sup>abz</sup>
3	1,473 <sup>bz</sup>	1,208 <sup>bz</sup>
10	1,138 <sup>cz</sup>	1,146 <sup>cz</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, dan c menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.



**Gambar 4.3** Biomassa (a) tajuk dan (b) akar setelah 12 pekan penanaman



**Gambar 4.4** Rasio biomassa tajuk:akar setelah 12 pekan penanaman

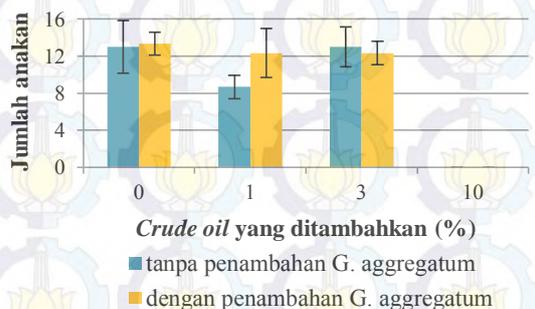
**Pengaruh Konsentrasi Crude Oil dan Penambahan *G. aggregatum* Terhadap Jumlah Tunas *C. zizanioides***

Jumlah tunas tertinggi pada perlakuan penambahan *crude oil* 0% dengan penambahan *G. aggregatum* yaitu rata-rata 13,333, sedangkan jumlah tunas terendah adalah pada perlakuan penambahan *crude oil* 1% dan tanpa penambahan *G. aggregatum* yaitu rata-rata 8,667. Cekaman *crude oil* memberikan pengaruh terhadap jumlah tunas yaitu pada penambahan *crude oil* 10% tunas berjumlah 0 karena tanaman mati. sedangkan penambahan *G. aggregatum* serta interaksi antara dua faktor tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah tunas *C. zizanioides* ( $P < 0,05$ ).

**Tabel 4.10** Jumlah tunas *C. zizanioides* pada pekan ke-12 setelah penanaman

Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i> (gr)	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i> (gr)
0	13,000 <sup>bz</sup>	13,333 <sup>bz</sup>
1	8,667 <sup>bz</sup>	12,333 <sup>bz</sup>
3	13,000 <sup>bz</sup>	12,333 <sup>bz</sup>
10	0,000 <sup>az</sup>	0,000 <sup>az</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, dan c menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.



**Gambar 4.5** Jumlah tunas *C. zizanioides* setelah 12 pekan penanaman

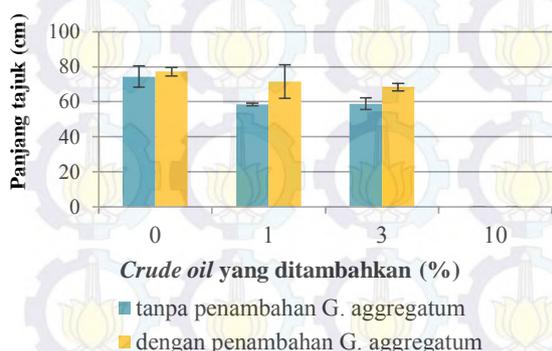
### Pengaruh Konsentrasi Crude Oil dan Penambahan *G. aggregatum* Terhadap Panjang Tajuk *C. zizanioides*

Panjang tajuk *C. zizanioides* yang diinfeksi *G. aggregatum* lebih panjang daripada yang tidak diinfeksi *G. aggregatum* pada perlakuan yang ditambahkan cekaman *crude oil*. Cekaman *crude oil* menyebabkan penurunan panjang tajuk baik pada perlakuan yang ditambahkan *G. aggregatum* dan tanpa penambahan *G. aggregatum*. Tajuk terpanjang pada perlakuan penambahan *crude oil* 0% dengan penambahan *G. aggregatum* yaitu 77,167 cm. Dua faktor perlakuan berpengaruh terhadap panjang tajuk *C. zizanioides*, tetapi interaksi antara dua faktor tidak berpengaruh. Penambahan *crude oil* 0% yang berbeda nyata terhadap perlakuan 1%, 3%, dan 10% ( $P < 0,05$ ). Pada penambahan *crude oil* 10% panjang tajuk 0 cm karena tanaman mati.

**Tabel 4.11** Panjang tajuk *C. zizanioides* pada pekan ke-12 setelah penanaman (cm)

Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	74,333 <sup>cz</sup>	77,167 <sup>cy</sup>
1	58,500 <sup>bz</sup>	71,500 <sup>by</sup>
3	58,833 <sup>bz</sup>	68,333 <sup>by</sup>
10	0,000 <sup>az</sup>	0,000 <sup>ay</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, c, dan d menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.



**Gambar 4.6** Panjang tajuk *C. zizanioides* setelah 12 pekan penanaman

### Pengaruh Konsentrasi Crude Oil dan Penambahan *G. aggregatum* Terhadap Panjang Akar *C. zizanioides*

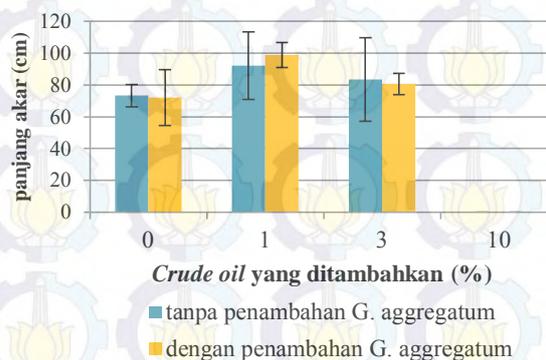
*C. zizanioides* menumbuhkan akar terpanjang pada penambahan *crude oil* 1% baik pada perlakuan dengan diinfeksi *G. aggregatum*

atau tanpa diinfeksi *G. aggregatum* masing-masing 98,833 cm dan 92,167 cm. *C. zizanioides* cenderung menumbuhkan akar lebih panjang pada perlakuan yang ditambahkan *crude oil* 1% dan 3% daripada perlakuan dengan *crude oil* 0%. *C. zizanioides* bereaksi terhadap keberadaan *crude oil* dalam media tanam dengan memanjangkan akar. Penambahan *crude oil* yang berpengaruh nyata sedangkan penambahan *G. aggregatum* serta interaksi antara dua faktor tidak memberikan pengaruh terhadap panjang akar *C. zizanioides* ( $P < 0,05$ ).

**Tabel 4.12** Panjang akar *C. zizanioides* pada pekan ke-12 setelah penanaman (cm)

Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	73,333 <sup>bz</sup>	72,000 <sup>bz</sup>
1	92,167 <sup>cz</sup>	98,833 <sup>cz</sup>
3	83,500 <sup>bcz</sup>	80,667 <sup>bcz</sup>
10	0,000 <sup>az</sup>	0,000 <sup>az</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, c, dan d menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.



**Gambar 4.9** Panjang akar *C. zizanioides* setelah 12 pekan penanaman

### Pengaruh Konsentrasi Crude Oil dan Penambahan *G. aggregatum* Terhadap Jumlah Bakteri Bulk Soil dan Rizosfer *C. zizanioides*

Jumlah bakteri tanah pada pekan ke-1 telah mengalami perbedaan jumlah yang signifikan. Jumlah bakteri *bulk soil* terbanyak pada pekan ke-1 yaitu  $20,766 \times 10^6$  CFU/gram tanah pada penambahan *crude oil* 0% dengan penambahan *G. aggregatum* dan  $10,833 \times 10^6$  CFU/gram tanah pada penambahan *crude oil* 0% tanpa penambahan *G. aggregatum*. Cekaman *crude oil* pada tanah mempengaruhi jumlah bakteri tanah, semakin tinggi persentasi *crude oil* semakin rendah jumlah bakteri tanah. Penurunan jumlah

bakteri terjadi pada seluruh perlakuan pada pekan ke-12. Jumlah bakteri *bulk soil* terbanyak pada pekan ke-12 adalah pada penambahan *crude oil* 1% tanpa penambahan *G. aggregatum* yaitu  $0,697 \times 10^6$  CFU/gram tanah. Penambahan *crude oil*, *G. aggregatum* serta interaksi antara dua faktor tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah bakteri pada *bulk soil* *C. zizanioides*.

Jumlah bakteri rizosfer *C. zizanioides* pada pekan ke-12 lebih banyak daripada jumlah bakteri tanah pada seluruh perlakuan. Jumlah bakteri rizosfer terbanyak pada penambahan *crude oil* 0% tanpa penambahan *G. aggregatum* yaitu  $152,7 \times 10^6$  CFU/gram akar sedangkan jumlah bakteri rizosfer paling rendah terjadi pada penambahan *crude oil* 0% dengan penambahan *G. aggregatum* yaitu  $28,50 \times 10^6$  CFU/gram akar. Pemberian *G. aggregatum* memberikan efek negatif terhadap jumlah bakteri rizosfer pada penambahan *crude oil* 0%. Penambahan *G. aggregatum* tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah bakteri rizosfer. Cekaman *crude oil* serta interaksi antara dua faktor berpengaruh terhadap jumlah bakteri rizosfer.

**Tabel 4.13** Jumlah bakteri *bulk soil* ( $\times 10^6$  CFU/gram tanah)

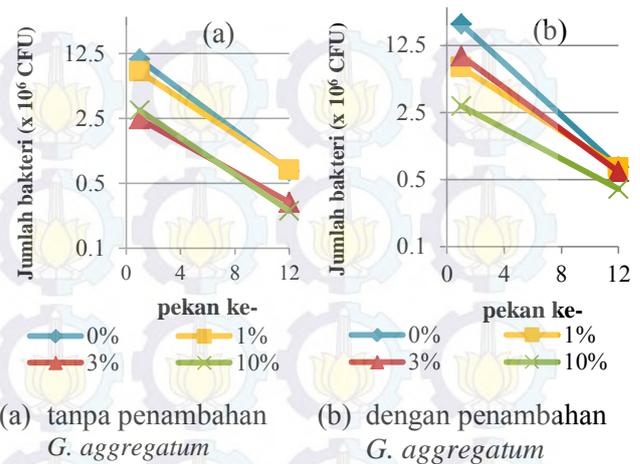
Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>		Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>	
	Pekan ke-1	Pekan ke-12	Pekan ke-1	Pekan ke-12
0	10,833 <sup>bz</sup>	0,680 <sup>az</sup>	20,766 <sup>bz</sup>	0,667 <sup>az</sup>
1	8,000 <sup>az</sup>	0,697 <sup>az</sup>	7,319 <sup>az</sup>	0,663 <sup>az</sup>
3	2,477 <sup>az</sup>	0,312 <sup>az</sup>	9,670 <sup>az</sup>	0,602 <sup>az</sup>
10	3,067 <sup>az</sup>	0,253 <sup>az</sup>	2,912 <sup>az</sup>	0,398 <sup>az</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, c, dan d menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.

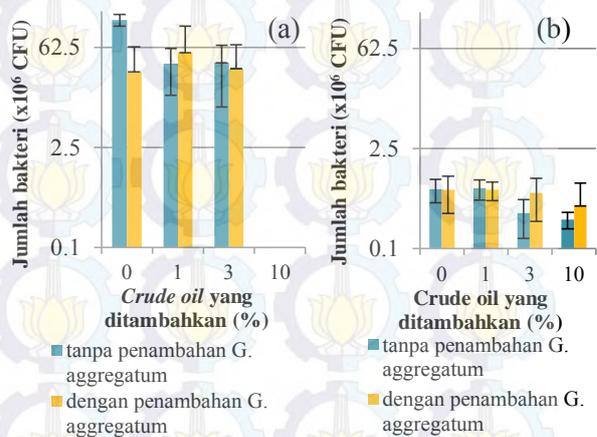
**Tabel 4.14** Jumlah bakteri rizosfer *C. zizanioides* setelah pekan ke-12 penanaman ( $\times 10^6$  CFU/gram akar)

Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	152,7 <sup>bz</sup>	28,50 <sup>az</sup>
1	37,00 <sup>abz</sup>	53,30 <sup>abz</sup>
3	38,40 <sup>az</sup>	31,90 <sup>az</sup>
10	0,000 <sup>az</sup>	0,000 <sup>az</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, c, dan d menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.



**Gambar 4.12** Jumlah bakteri *bulk soil* (CFU/gram tanah) dalam media tanam *C. zizanioides*



**Gambar 4.13** Perbandingan jumlah bakteri (a) rizosfer dan (b) *bulk soil* (CFU) setelah 12 pekan penanaman *C. zizanioides*.

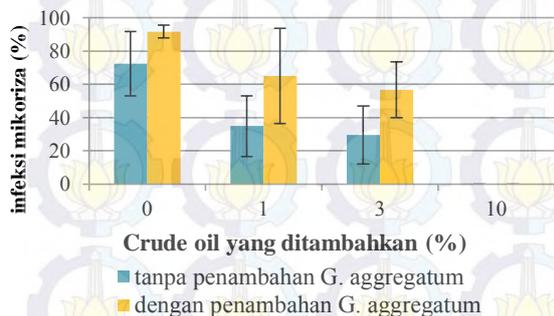
#### 4.1.2 Pengaruh Konsentrasi *Crude Oil* dan Penambahan *G. aggregatum* Terhadap Persentasi Infeksi Mikoriza pada *C. zizanioides*

*C. zizanioides* yang tidak diinfeksi *G. aggregatum* terinfeksi oleh mikoriza liar dalam tanah. Nilai infeksi tertinggi pada penambahan *crude oil* 0% dengan penambahan *G. aggregatum* yaitu 91,733%. Kedua faktor perlakuan berpengaruh terhadap infeksi mikoriza pada akar *C. zizanioides* tetapi interaksi antara dua faktor tidak berpengaruh. *Crude oil* berpengaruh negatif terhadap persentasi infeksi mikoriza pada *C. zizanioides*. Persentasi infeksi mikoriza berupa hifa, spora, dan vesikel mengalami penurunan seiring dengan semakin banyaknya *crude oil* yang ditambahkan. Hanya perlakuan penambahan *crude oil* 0% yang berbeda nyata terhadap perlakuan lain ( $P < 0,05$ ).

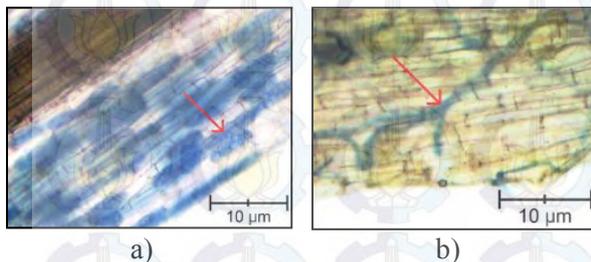
**Tabel 4.15** Infeksi mikoriza pada akar *C. zizanioides* pada pekan ke-12 setelah penanaman (%)

Crude oil yang ditambahkan (%)	Tanpa penambahan <i>G. aggregatum</i>	Dengan penambahan <i>G. aggregatum</i>
0	72,474 <sup>cy</sup>	91,733 <sup>cz</sup>
1	34,845 <sup>by</sup>	65,114 <sup>bz</sup>
3	29,508 <sup>by</sup>	56,853 <sup>bz</sup>
10	0 <sup>az</sup>	0 <sup>az</sup>

**Keterangan:** Huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda nyata dalam uji lanjut Duncan pada selang kepercayaan 95 %. Huruf a, b, c, dan d menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap perlakuan penambahan *crude oil*; huruf y dan z menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap penambahan *G. aggregatum*.



**Gambar 4.14** Persentasi infeksi mikoriza pada *C. zizanioides* setelah 12 minggu masa penanaman



**Gambar 4.15** Infeksi mikoriza a) vesikel dan b) hifa pada akar *C. zizanioides* (perbesaran 100x)

## Pembahasan

### Efek Konsentrasi *Crude Oil* dan Penambahan *G. aggregatum* Terhadap Pertumbuhan *C. zizanioides*

Perlakuan bertujuan untuk mengetahui pengaruh tanah yang dikontaminasi *crude oil* dari Bojonegoro, Jawa Timur serta pengaruh penambahan *G. aggregatum* terhadap pertumbuhan *C. zizanioides* dan penurunan TPH.

*Crude oil* mempengaruhi pertumbuhan *C. zizanioides* secara negatif yang diakibatkan oleh fitotoksisitas *crude oil* (Brandt, 2003). *C. zizanioides* tidak dapat sintas pada level cekaman *crude oil* 10%. Namun masih tetap bisa sintas pada cekaman *crude oil* 5% (Brandt, 2003). Beberapa spesies dari familia Poaceae seperti *Brachiaria brizantha*, *Cyperus*

*aggregatus*, dan *Eleusine indica* juga sintas pada cekaman *crude oil* 5% (Merkl, et al, 2005), sementara *Poa pratensis* tidak sintas pada cekaman *crude oil* 0,1% (Alarcon, 2006). *Vicia faba* bisa menoleransi cekaman *crude oil* sampai 10% (Radwan, 1998, dalam Brandt, 2003). Batas konsentrasi *crude oil* yang umumnya dapat ditoleransi oleh tanaman dari familia Poaceae adalah 4% (Kulakow, 2006 dan Van Epps, 2006).

Hasil menunjukkan bahwa *C. zizanioides* menunjukkan penurunan biomassa seiring dengan penambahan konsentrasi *crude oil*. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Korade dan Fulekar (2008) terhadap *Lolium multiflorum* yang dipaparkan pada anthracene. Ada kemungkinan bahwa kondisi buruk tanaman pada tanah yang terkontaminasi merupakan hasil dari absorpsi komponen PHC yang bersifat toksik, fitotoksisitas dari PHC umumnya berdampak pada penurunan produksi biomassa (Chaîneau et al., 1997; Salanitro et al., 1997 dalam Merkl, 2005). Setelah berada di dalam tanaman, PHC dapat merusak membran sel. Reduksi tingkat transpirasi dan fotosintesis dan peningkatan tingkat respirasi jarang diteliti, namun efek minyak pada tanaman tergantung pada mekanisme epidermal dan seluler dari spesies (Baker, 1970 dalam Brandt, 2003).

Respon *C. zizanioides* terhadap cekaman *crude oil* adalah dengan menurunkan rasio biomassa tajuk:akar. *C. zizanioides* cenderung memperkecil biomassa tajuk ketika ditambahkan *crude oil*. Tajuk berperan dalam proses fotosintesis. Sementara biomassa akar bertambah dengan semakin tingginya konsentrasi *crude oil*. Biomassa akar mempengaruhi volume rizosfer. Penambahan volume rizosfer meningkatkan potensi jumlah populasi bakteri rizosfer bertambah. Dengan bertambahnya populasi bakteri rizosfer diharapkan laju penurunan TPH semakin bertambah akibat aktivitas bakteri rizosfer dalam mendegradasi PHC.

Jumlah tunas tidak terpengaruh oleh penambahan *crude oil*, hal ini merupakan tipikal respons dari *C. zizanioides* dengan mempertahankan kemampuannya untuk menumbuhkan tunas dalam cekaman *crude oil* seperti yang dilaporkan oleh Brandt (2003). Panjang tajuk mengalami penurunan akibat cekaman *crude oil*, namun respons yang berkebalikan tampak pada panjang akar. Akar bertambah panjang dengan penambahan *crude oil* 1% tetapi mengalami penurunan kembali pada penambahan *crude oil* 3%. Panjang akar

berkorelasi dengan kemampuan tanaman untuk mendapatkan air dan nutrisi (Barber, 1995; Bouma et al. 2000 dalam Merkl, 2005). Pemanjangan akar ini dapat diakibatkan karena akar berusaha mendapatkan nutrisi yang berkurang bioavailabilitasnya akibat keberadaan PHC yang bersifat hidrofobik menghambat transfer oksigen, ketersediaan air dan nutrisi dalam tanah (Kirk, et al 2005). Kontaminan hidrofobik seperti PAH mudah teradsorpsi oleh akar (Corgie et al, 2003 dan Schwab, et al, 1998 dalam Gerhardt et al, 2009). Saat akar tumbuh, akar akan melakukan penetrasi ke dalam tanah dan terpapar pada kontaminan yang mungkin sebelumnya tidak terjangkau (Parrish, 2005). Namun konsentrasi *crude oil* yang bertambah dapat menurunkan panjang akar kembali mungkin akibat absorpsi *crude oil* semakin tinggi (Merkl, 2005). Kriteria spesies tanaman yang digunakan untuk fitoremediasi adalah tanaman dengan sistem perakaran yang baik dan bercabang banyak (Glick, 2003 dalam Merkl, 2005). Selain panjang akar, Brandt (2003) menunjukkan bahwa PHC berdampak pada negatif struktur akar, diameter akar, luas permukaan akar, dan volume rizosfer *C. zizanioides*, sementara Merkl (2005) menunjukkan hasil yang serupa pada *Brachiaria brizantha* dan *Cyperus aggregatus* yaitu permukaan akar menjadi lebih kasar dan diameter akar menjadi lebih kecil.

#### **Efek Penambahan *G. aggregatum* pada *C. Zizanioides* dalam Cekaman *Crude Oil***

*C. zizanioides* yang diinfeksi dengan *G. aggregatum* memiliki biomassa lebih tinggi daripada yang tidak diinfeksi dengan *G. aggregatum*. Biomassa pada *C. zizanioides* yang diinfeksi pada *G. aggregatum* lebih tinggi karena mikoriza mampu membantu menyediakan unsur hara bagi tanaman yang terbatas akibat keberadaan PHC melalui ekstensi hifa yang menembus tanah dan memungkinkan terpapar dengan mineral yang dibutuhkan dalam tanah. Keberadaan CMA dalam rizosfer meningkatkan aktivitas dehidrogenase, fosfatase, dan nitrogenase. Aktivitas enzim-enzim ini menyebabkan peningkatan ketersediaan nutrisi dalam tanah. Pada tanah yang terkontaminasi PHC, unsur C sangat berlimpah sementara unsur lain yang larut dalam air terbatas akibat PHC yang bersifat hidrofobik (Robertson, et al, 2007). CMA tidak hanya menyediakan tanaman dengan air dan senyawa mineral serta memperbaiki struktur tanah saja tetapi juga telah dilaporkan

bahwa CMA mampu berfungsi sebagai filter, menghalangi senyawa toksik dengan miselium yang berdampak pada berkurangnya efek toksik bagi tanaman. Selain itu, CMA mempengaruhi fisiologi tanaman inang dengan membuat tanaman tersebut lebih tahan terhadap patogen, polusi, salinitas, kekeringan, dan faktor cekaman lingkungan lainnya (Korade dan Fulekar, 2009).

Wang et al (2005) dalam Wenzel (2009) menunjukkan bahwa peningkatan produksi biomassa *Elsholtzia splendens* pada tanah tercemar PHC yang diinokulasikan dengan strain tunggal CMA (*G. claedonium*) atau campuran dari lima spesies CMA yang berbeda. Efektivitas mikoriza tidak sama pada setiap tanaman yang diinfeksi bahkan pada tiap parameter pertumbuhan dapat menghasilkan respon yang berbeda. Hal ini sesuai dengan pendapat Powell dan Bagyaraj (1984) dalam Alkareji (2008) yang menyatakan bahwa karakteristik pengaruh CMA dalam pengambilan dan transport nutrisi untuk pertumbuhan tanaman berbeda untuk setiap parameter, hal ini tergantung pada distribusi hifa eksternal dalam tanah, kemampuan CMA untuk membentuk infeksi di luar perkembangan sistem akar, kemampuan hifa dalam mengabsorpsi dari tanah dalam jangka waktu mekanisme transport nutrisi di sepanjang hifa ke dalam akar. Namun, beberapa bukti menunjukkan bahwa inokulasi mikoriza pada tanaman yang ditumbuhkan pada tanah tercemar tidak selalu bersifat positif. Sebagai contoh, pada penelitian tentang CMA *G. mossae* yang diinokulasikan ke *Cannabis sativa* yang ditumbuhkan pada tanah yang terkontaminasi logam menunjukkan penurunan biomassa dan penurunan ini terkait dengan tingkat infeksi mikoriza (Citterio et al; 2005 dalam Wenzel, 2009).

Tajuk *C. zizanioides* juga mengalami peningkatan pada perlakuan penambahan *G. aggregatum*. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Punamiya et al. (2010) dengan menambahkan *G. mossae* pada *C. zizanioides* dalam cekaman Pb. Penambahan panjang tajuk berpotensi meningkatkan laju fotosintesis. Selain itu, *C. zizanioides* yang diinfeksi dengan *G. mossae* menunjukkan peningkatan jumlah klorofil a dan b (Punamiya et al, 2010).

Hasil menunjukkan bahwa hifa mikoriza yang berasosiasi pada akar *C. zizanioides* juga terpengaruh secara negatif terhadap konsentrasi *crude oil*. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Cabello (1997). Kirk dan Moutoglis (2005) menunjukkan bahwa pada genus *Glomus* terjadi penurunan hifa ekstraradikal yang terpapar PHC

akibat interferensi toksisitas PHC secara langsung dengan membran fungi, walaupun fungi dianggap lebih toleran terhadap zat kimia polutan daripada bakteri karena struktur dindingnya yang berbeda (Blakely et al, 2002 dalam Robertson et al, 2007). Beberapa organisme seperti *Saccharomyces cerevisiae* dapat beradaptasi terhadap keberadaan kontaminan lipofilik dengan mengubah komposisi membran selnya sehingga mampu menolak kontaminan hidrofobik (Park et al., 1988 dalam Kirk dan Moutoglis, 2005).

Pada *C. zizanioides* yang tidak diinfeksi dengan *G. aggregatum* terdapat infeksi mikoriza lain yang berasal dari media tanah atau sumber lain karena *C. zizanioides* merupakan tanaman yang mudah sekali untuk diinfeksi dengan mikoriza (Leaungvutiviroj, 2010). Namun, angka infeksi tidak sebesar pada *C. zizanioides* yang diinfeksi dengan *G. aggregatum* yang dipengaruhi oleh karakter tanah, jenis tanaman inang (Leaungvutiviroj, 2010) dan lama infeksi awal (Hart dan Reader, 2002).

#### **Efek Konsentrasi Crude Oil dan Penambahan *G. aggregatum* Terhadap Jumlah Bakteri Bulk Soil dan Rizosfer *C. zizanioides***

Pada pekan ke-1 jumlah bakteri bulk soil menunjukkan perbedaan yang signifikan pada perlakuan dengan jumlah bakteri tertinggi masing-masing pada perlakuan penambahan *crude oil* 0% yaitu  $1,0833 \times 10^7$  CFU pada perlakuan tanpa penambahan *G. aggregatum* dan  $2,0766 \times 10^8$  CFU pada perlakuan tanpa penambahan *G. aggregatum*. Peningkatan konsentrasi *crude oil* menyebabkan penurunan jumlah bakteri bulk soil. Penurunan jumlah bakteri ini akibat perubahan media tumbuh bakteri dan sifat hidrofobik dari PHC. Masuknya hidrokarbon ke dalam membran sel mengubah struktur membran dengan mengubah fluiditas dan konformasi protein dan menyebabkan gangguan pada fungsi pemindahan energi, perubahan ikatan membran dan aktivitas enzim yang menyertainya (Van Hamme et al., 2003).

Pada pekan ke-12 perbedaan jumlah bakteri pada penambahan *crude oil* 0%, 1%, 3%, dan 10% tidak signifikan ( $P < 0,05$ ). Hal ini dimungkinkan karena adanya adaptasi bakteri terhadap cekaman *crude oil*. Pada respons cekaman, bakteri mungkin membentuk biofilms, mengubah hidrofobisitas permukaan sel untuk mengatur masuknya hidrokarbon ke dalam sel, sedangkan pada bakteri gram negatif mendapatkan perlindungan lebih dari komponen

lipopolisakarida yang memiliki resistensi transfer tinggi terhadap senyawa lipofilik (Van Hamme et al., 2003). Bakteri membutuhkan lebih banyak energi untuk melakukan mekanisme pemulihan akibat kehilangan integritas membran yang diakibatkan dari pemisahan senyawa lipofilik. Sumber-sumber energi yang dibutuhkan oleh bakteri lebih melimpah pada rizosfer *C. zizanioides* akibat adanya eksudat yang dikeluarkan oleh akar *C. zizanioides*.

Keberadaan akar *C. zizanioides* mampu meningkatkan jumlah bakteri dalam tanah dengan terbentuknya wilayah rizosfer. Setelah 12 pekan penanaman, jumlah bakteri dalam *bulk soil* pada kisaran  $10^5$  CFU sedangkan jumlah bakteri dalam rizosfer ada pada kisaran  $10^7$  dengan nilai tertinggi pada perlakuan penambahan *crude oil* 0% tanpa penambahan *G. aggregatum* yaitu  $1,527 \times 10^8$  CFU. Menurut Piriyaпрin et al., (2002), bakteri dalam rizosfer *C. zizanioides* juga memiliki jumlah yang lebih banyak daripada bulk soil pada tanah yang bersifat salin dan asam. Akar serabut *C. zizanioides* menghasilkan beberapa substansi organik seperti karbohidrat larut, asam organik, asam amino dan hormon pertumbuhan yang berfungsi sebagai sumber energi dan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri rizosfer (Russell, 1982; Lynch, 1990 dalam Piriyaпрin, 2002).

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah bakteri rizosfer lebih banyak dari pada jumlah bakteri bulk soil yang menandakan bahwa ada efek positif akar terhadap jumlah bakteri dalam tanah. Jumlah bakteri rizosfer dan *bulk soil* menurun dengan bertambahnya konsentrasi *crude oil* dalam tanah. Toksisitas PHC menekan aktivitas dan proliferasi dari mikroorganisme rizosfer. Berdasarkan penelitian Cai (2010) menunjukkan hasil yang serupa, yaitu pada bakteri rizosfer pada *Impatiens balsamina* L.

Ketersediaan dan isi nutrisi pada materi organik merupakan faktor kunci yang mempengaruhi biomassa mikroba dan komposisi komunitas (Tiquia et al, 2002). Faktor utama lain yang mempengaruhi distribusi dan kelimpahan komunitas mikroba tanah yaitu: sifat dari lingkungan tanah (seperti pH, suplai  $O_2$  dan ketersediaan air dan nutrisi seperti N, P, Fe); faktor yang mempengaruhi penyebaran (seperti struktur tanah, stabilitas mikro-agregat, dan jalur penyebaran); dan kontrol perubahan populasi (seperti predasi nematoda dan protozoa, kontrol pada enzim litik) (Tiedje et al, 1999 dalam

Robertson et al, 2003). Penambahan PHC mengubah tiga karakteristik fundamental ini. Contoh, suplai O<sub>2</sub> kadang menurun, pergerakan air terhambat dan fauna tanah termasuk nematoda dan protozoa menjadi hilang dari ekosistem yang tercemar.

Pada perlakuan penambahan *G. aggregatum*, jumlah bakteri rizosfer tidak berbeda nyata dengan jumlah bakteri rizosfer pada perlakuan tanpa *G. aggregatum*. *G. aggregatum* hanya mempengaruhi pertumbuhan akar dari *C. zizanioides* yang menyebabkan volume rizosfer bertambah sehingga dimungkinkan bahwa jumlah bakteri rizosfer keseluruhan dalam satu pot perlakuan bertambah. Pada penambahan *crude oil* 0% dengan penambahan *G. aggregatum* terjadi penurunan jumlah bakteri rizosfer. Hal ini dapat diakibatkan karena kompetisi dari CMA yang ditambahkan dengan bakteri rizosfer untuk mendapatkan sumber nutrisi yang berasal dari eksudat akar (Van Hamme, et al., 2003).

#### **Efek Konsentrasi Crude Oil dan Penambahan *G. aggregatum* Terhadap Fitoremediasi PHC oleh *C. zizanioides***

Laju penurunan TPH tertinggi pada perlakuan tanpa penambahan *G. aggregatum* terjadi pada perlakuan penambahan *crude oil* 3% sementara pada perlakuan dengan penambahan *G. aggregatum* terjadi pada perlakuan 1%. Studi yang dilakukan oleh Joner (2001) serta Joner dan Leyval (2003), sebaliknya menunjukkan bahwa penambahan CMA dapat meningkatkan laju degradasi kontaminan organik. Hasil yang berbeda ini mungkin diakibatkan karena konsentrasi nutrisi mineral seperti N dan P turun pada tanah rizosfer dan non-rizosfer yang dikolonisasi oleh CMA (Bending dan Read, 1995; Joner et al., 1995; Dieffenbach dan Matzner, 2000 dalam Joney dan Leyval 2006), dan degradasi dari PAH telah beberapa kali dilaporkan terhambat sampai unsur N dan P dalam tanah tersedia (Carmichael dan Pfaender, 1997; Liebeg dan Cutright, 1999; Joner et al., 2002 dalam Joner dan Leyval, 2006). Hal ini ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna keunguan pada tajuk *C. zizanioides* pada perlakuan penambahan *G. aggregatum* setelah dipaparkan pada *crude oil* yang menunjukkan adanya defisiensi fosfor. Fenomena ini juga diteliti pada mineralisasi material organik alam pada ekosistem hutan. Nitrogen merupakan hara mineral tunggal yang membatasi aktivitas mikroba dalam tanah dan degradasi polutan

organik oleh mikroba dalam tanah (Joner dan Leyval, 2006). Oleh karena itu, perlu penambahan N dan P yang cukup untuk membantu mempercepat degradasi PHC dalam tanah.

*C. zizanioides* mampu melakukan remediasi langsung terhadap PHC dalam tanah melalui mekanisme pengeluaran enzim oleh akar yang mampu mentransformasi kontaminan organik dengan mengkatalisasi reaksi kimia dalam tanah (Frick et al, 1999 dalam Ndimele, 2010). Schnoor et al (1995) dalam Ndimele (2010) mengidentifikasi enzim tanaman yang digunakan sebagai agen pentransformasi kontaminan yaitu termasuk dehalogenase, nitroreduktase, peroksidase, lakkase, dan nitrilase. Proses remediasi langsung lain adalah melalui mekanisme fitovolatilisasi, namun mekanisme ini hanya terjadi pada senyawa karbon sederhana yang mudah menguap (Ndimele, 2010).

Selain itu, tanaman melakukan remediasi PHC secara tidak langsung dengan berasosiasi dengan organisme lain yang berasosiasi dengan akar. Akar memiliki efek positif terhadap proses remediasi tanah karena membantu membentuk energi yang disediakan oleh deposit akar, yang mendorong dan mengubah proses degradasi mikroba yaitu mempermudah pertumbuhan diauksik, ko-oksidasi, dan perubahan tidak spesifik pada komposisi mikroba. Selain itu, keberadaan akar mengubah kondisi fisik dan kimia tanah untuk mendorong degradasi oleh mikroba (seperti memperbanyak ketersediaan O<sub>2</sub>) (Joner, et al, 2006). Kelimpahan jumlah bakteri dalam rizosfer yang lebih banyak daripada dalam *bulk soil* berpotensi meningkatkan degradasi PHC karena mekanisme utama untuk mendegradasi PHC dalam fitoremediasi adalah melalui rizodegradasi (Brandt, 2003; Robertson, et al 2007; Korade dan Fulekar, 2008). *C. zizanioides* memiliki kelimpahan biodiversitas bakteri pada rizosfernya (Siripin, 2000 dan Brandt, 2003). Beberapa jenis mikroorganisme yang ditemukan dalam rizosfer *C. zizanioides* adalah *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp., dan *Aspergillus* sp. (Piriyaprin, 2002).

Namun pada hasil menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh bertambahnya volume rizosfer pada perlakuan yang diinokulasikan dengan *G. aggregatum* terhadap penurunan TPH. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Brandt (2003) bahwa volume rizosfer tidak mempengaruhi penurunan TPH, tetapi rizosfer merupakan sistem yang penting dalam fitoremediasi *crude oil* karena meningkatkan

populasi bakteri yang berpotensi menurunkan PHC. Degradasi PHC telah menurunkan pH dalam tanah yang tercemar PHC karena produksi asam organik sebagai intermediet dari degradasi PHC (Lawlor et al., 1997 dalam Brandt, 2003) sehingga penurunan TPH terakselerasi pada tanah yang terkontaminasi daripada yang tidak terkontaminasi. Asidifikasi meningkat karena keberadaan tanaman. Pertama-tama, tanaman mengeluarkan proton-proton dan asam organik. Kemudian, aktivitas mikroba meningkat akibat adanya efek rizosfer pada tanaman, menyebabkan peningkatan konsentrasi asam karbon dalam tanah (Gisi et al., 1997 dan Brandt, 2003). Peningkatan kelembaban terjadi pada tanah yang tercemar PHC karena air sulit diserap oleh *C. zizanioides* dalam tanah dengan kandungan senyawa hidrofobik yang tinggi (Brandt, 2003).

#### IV. KESIMPULAN DAN SARAN

##### KESIMPULAN

Hasil dari penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut : Nilai laju penurunan TPH tertinggi setelah 3 bulan perlakuan adalah pada penambahan *crude oil* 3% tanpa penambahan *G. aggregatum* yaitu sebesar 54,586%; Konsentrasi *crude oil* berpengaruh terhadap kemampuan *C. zizanioides* dalam fitoremediasi *crude oil*; serta Penambahan *G. aggregatum* mempengaruhi volume rizosfer tetapi tidak mempengaruhi penurunan TPH dan jumlah bakteri rizosfer per gram akar pada *C. zizanioides*.

##### SARAN

Perlu dilakukan penelitian mengenai proses fisiologis fitoremediasi *crude oil* oleh *C. zizanioides* yang ditambahkan mikoriza *G. aggregatum* sehingga diketahui mekanisme fitoremediasi yang diinduksi dengan mikoriza.

##### DAFTAR PUSTAKA

Alarcón, A. (2006). The Physiology of Mycorrhizal *Lolium multiflorum* in the Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soil. *Tesis*. Texas A&M University.

Alkareji. (2008). Pemanfaatan *Mycorrhizal Helper Bacterias* (MHBs) dan Fungi Mikoriza Arbuskula (CMA) untuk Meningkatkan Pertumbuhan Sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen) di Persemaian. *Tugas Akhir*, Institut

Pertanian Bogor, Departemen Silviculture, Bogor.

Brandt, R. (2003). Potential of vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash) for the use in phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils in Venezuela. *Tugas Akhir*, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Institut für Landschaftsökologie, Münster.

Cabello, M. N. (1997). Hydrocarbon pollution: its effect on native arbuscular mycorrhizal fungi (CMA). *FEMS, Microbiol. Ecol.* (22), 233-236.

Chasanah, D. (2008). Studi Awal Pemanfaatan Lumpur Lapindo Sidoarjo sebagai Media Tanam Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn.) yang Berasosiasi dengan Mikoriza Versikula Arbuskula (MVA) *Glomus aggregatum*. *Tugas Akhir*, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Program Studi Biologi, Surabaya.

Gerhardt, K. E., Huang X. D., Glick, B. R., Greenberg, B. M. (2009) Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. *Plant Science*, 176, 20–30.

Hart, M. M., & Reader, R. J. (2002). Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* (153), 335-344.

Joner, E. J., Leyval, C., & Colpaert, J. V. (2006). Ectomycorrhizas impede phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) both within and beyond the rhizosphere. *Environmental Pollution*, 142, 34-38.

Kirk, J. L., Moutoglou, P., Klironomos, J., Lee, H., & Trevors, J. T. (2005). Toxicity of diesel fuel to germination, growth and colonization of *Glomus intraradices* in soil and in vitro transformed carrot root cultures. *Plant and Soil*, 270, 23-30.

Leaungvutiviroj, C., Piriyaapin, S., Limtong, P., Sasaki, K. (2010). Relationships between soil microorganisms and nutrient contents of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash and *Chrysopogon nemoralis* (A.) Camus in some problem soils from Thailand. *Applied Soil Ecology*, (46), 95–102.

Merkel, N., Schultze-Kraft, R., & Infante, C. (2005). Phytoremediation in the tropics – influence of heavy *crude oil* on root morphological characteristics of

- graminoids. *Environ. Pollut.* , 138, 86-91.
- Ndimele, P. E. (2010). A review on the phytoremediation of petroleum hydrocarbon. *Pakistan Journal of Biological Science*, 13, (15), 715-722.
- Parrish, Z., Banks, M., & Schwab, A. (2005). Assessment of contaminant lability during phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon impacted soil. *Environmental Pollution* , 137, 187-197.
- Piriyaprin, S., Sunathapongsuk, V., Limtong, P., Leungvutiviroj, C., & Pasda, N. (2002). Study on soil microbial biodiversity in rhizosphere of vetiver grass in degrading soil. *Presentation paper on 17<sup>th</sup> WCSS*. Thailand.
- Punamiya, P., Datta, R., Sarkar, D., Barber, S., Patel, M., & Das, P. (2010). Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)]. *Journal of Hazardous Materials* (177), 465-474.
- Robertson, S. J., McGill, W. B., Massicotte, H. B., & Rutherford, P. M. (2007). Petroleum hydrocarbon contamination in boreal forest soil: a mycorrhizal ecosystems perspective. *Biological Reviews* (82), 213-240.
- Susilorukmi, A., & Sriwuryandari, L. (2006). Study on application of vetiver grass and enriched culture of microorganisms for phytoremediation of oil sludge on land site. *The 4th International Symposium on Sustainable Sanitation*. Bandung: LIPI-JST.
- Tiquia, S., Lloyd, J., Herms, D., Hoitink, H., & Michel, F. (2002). Effects of mulching and fertilization on soil nutrients, microbial activity and rhizosphere bacterial community structure determined by analysis of TRFLPs of PCR-amplified 16S rRNA genes. *Applied Soil Ecology* , 21, 31-48.
- Van Epps, A. 2006. *Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbon*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC.
- Van Hamme, J., Singh, A., & Ward, O. (2003). Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* (67), 503-549.
- Wenzel, W. W. (2008). Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. *Plant Soil*, 321, 385-408.