

## **KARAKTER ISOLAT RHIZOBIA DARI TANAH BEKAS TAMBANG NIKEL DALAM MEMANFAATKAN OKSIGEN UNTUK PROSES METABOLISMENYA**

**Ramdana Sari dan Retno Prayudyaningsih**

Balai Litbang Lingkungan Hidup dan Kehutanan Makassar  
Jl. P. Kemerdekaan Km 16 Makassar, Sulawesi Selatan, 90243  
Telp. (0411) 554049, Fax (0411) 554058  
Email : ramdana\_sari@yahoo.co.id

### **ABSTRAK**

*Rhizobia merupakan bakteri heterotrof yang memperoleh energi dari proses penguraian bahan makanan, seperti karbohidrat (glukosa), melalui proses respirasi sel. Umumnya Rhizobia bersifat aerob yang membutuhkan oksigen sebagai aseptor elektron dalam sintesa Adenosin triphosfat (ATP). Namun demikian uji penggunaan oksigen dari 27 isolat Rhizobia menunjukkan adanya variasi dalam penggunaan oksigen. Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media Yeast Extract Mannitol Agar (YEMA). Hasil pengujian menunjukkan sebanyak 7 isolat bersifat aerob obligat yang ditandai dengan adanya akumulasi pertumbuhan sel dominan pada permukaan serta kolom media dekat dari permukaan, sebanyak 7 isolat bersifat aerob fakultatif dengan pertumbuhan sel yang merata di dalam media (ditandai dengan media keruh), dan 13 isolat lainnya bersifat mikroaerofilik dengan sel tumbuh pada kolom media dekat dari permukaan. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat variasi kemampuan strain Rhizobia dalam memanfaatkan oksigen pada proses metabolismenya. Informasi mengenai sifat Rhizobia ini diperlukan dalam proses pembuatan inokulum yang akan diaplikasikan sebagai pupuk hayati pada lahan bekas tambang nikel.*

**Kata kunci:** *Rhizobia, aerob obligat, aerob fakultatif, mikroaerofilik.*

### **I. PENDAHULUAN**

Bakteri merupakan salah satu komponen hayati penyusun ekosistem yang berperan dalam siklus hara. Bakteri membutuhkan energi untuk pembentukan organel-organel sel dan melakukan aktivitas kehidupannya. Nutrien dapat berasal dari bahan organik maupun anorganik dari lingkungan yang dapat melewati membran sitoplasma dalam bentuk larutan. Zat-zat ekogen (berasal dari luar

tubuh) yang digunakan bakteri untuk tumbuh, berkembang dan mempertahankan hidup merupakan bentuk kompleks sehingga harus diubah menjadi bentuk sederhana agar dapat masuk ke dalam rangkaian metabolik.

Katabolisme merupakan proses pemecahan senyawa kompleks (organik) menjadi sederhana (anorganik). Energi yang dihasilkan harus diubah menjadi ATP (*Adenosin triphosfat*) sehingga dapat digunakan oleh sel untuk melangsungkan reaksi-reaksi kimia, pertumbuhan, gerak, transportasi maupun reproduksi. Respirasi sel merupakan salah satu contoh katabolisme yang bertujuan menghasilkan energi dari proses penguraian bahan makanan, seperti karbohidrat, asam lemak dan asam amino serta menghasilkan  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan energi. Semua sel hidup (sel hewan, tumbuhan maupun mikroba) melakukan respirasi, akan tetapi berbeda dalam kebutuhan oksigennya. Respirasi yang membutuhkan oksigen untuk memecah molekul organik disebut respirasi aerob sedangkan respirasi tanpa oksigen disebut respirasi anaerob (Susilowarno *et al.*, 2007).

Rhizobia merupakan bakteri fiksasi nitrogen simbiotik yang membantu tanaman untuk memenuhi kebutuhan unsur hara Nitrogen (N). Rhizobia tidak mampu memfiksasi nitrogen tanpa bersimbiosis dengan akar legum, sebaliknya tanaman legum tidak dapat memfiksasi nitrogen sendiri tanpa Rhizobia (Purwaningsih *et al.*, 2012). Bakteri ini bersifat heterotrof dimana makanan yang berupa senyawa organik diperoleh dari lingkungan melalui simbiosis mutualisme dengan akar legum. Nutrien dirombak oleh sel rhizobia melalui proses katabolisme (respirasi) untuk memperoleh energi. Rhizobia merupakan bakteri yang mampu memanfaatkan oksigen dalam proses respirasinya sehingga tergolong ke dalam kelompok bakteri aerob (Somasegaran dan Hoben, 1985).

Penelitian yang dilakukan Prayudyarningsih *et al.* (2015) menunjukkan bahwa uji katalase pada isolat Rhizobia yang berasal dari lahan bekas tambang nikel menunjukkan hasil positif dimana preparat yang ditambahkan reagen  $\text{H}_2\text{O}_2$  menghasilkan gelembung gas. Capuchino dan Sherman (1992) dalam Huda *et al.* (2012) bahwa senyawa  $\text{H}_2\text{O}_2$  pada dasarnya dihasilkan pada respirasi aerob dan bersifat racun bagi sel sehingga dengan bantuan enzim katalase, senyawa ini akan tereduksi menjadi  $\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{O}_2$ . Oleh karena itu, ketika preparat bakteri Rhizobia diberikan reagen  $\text{H}_2\text{O}_2$ , maka enzim katalase yang dimiliki bakteri akan langsung memecah senyawa tersebut.

Tujuan penulisan ini adalah untuk mengetahui karakter isolat *Rhizobia* yang berasal dari tanah bekas tambang nikel dalam menggunakan oksigen untuk proses metabolismenya.

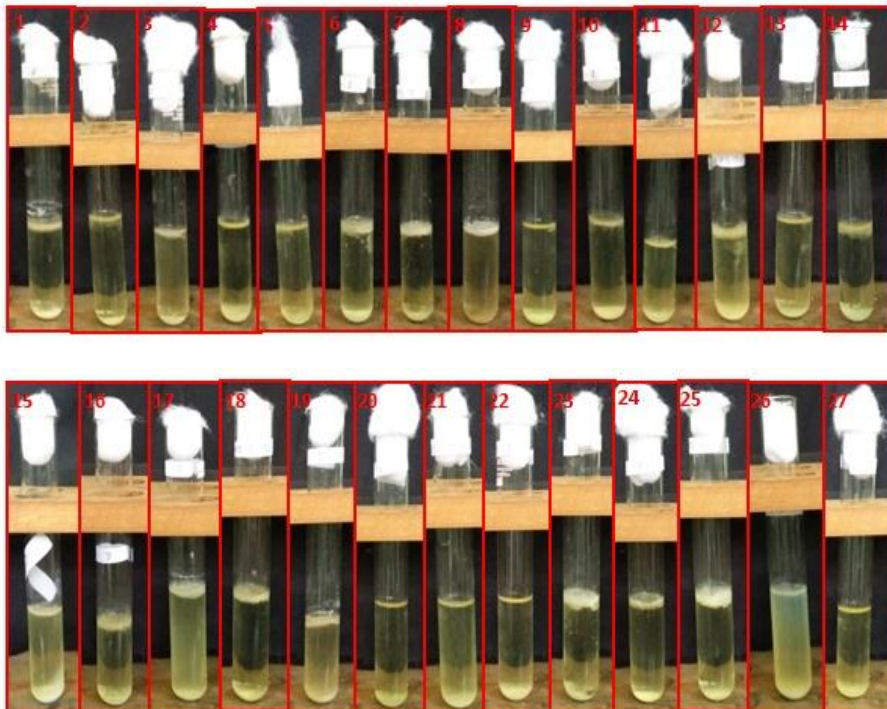
## II. PENGGUNAAN OKSIGEN OLEH BAKTERI RHIZOBIA

Kebutuhan oksigen yang digunakan dalam respirasi sel bervariasi di antara beberapa strain bakteri yang dipengaruhi oleh adanya seperangkat enzim yang dimiliki bakteri. Pertumbuhan bakteri tergantung pada ketersediaan oksigen pada suatu lingkungan. Sifat bakteri berdasarkan kebutuhan oksigen, yaitu (Jeffrey dan Pommerville, 2010) :

- a. Aerob obligat, hanya menggunakan oksigen sebagai aseptor elektron untuk pembentukan energi (ATP).
- b. Mikroaerofilik, mampu bertahan hidup pada lingkungan dengan konsentrasi oksigen yang relatif rendah.
- c. Anaerob, tidak membutuhkan oksigen pada proses metabolisme.
- d. Aerotoleran, tidak menggunakan oksigen untuk hidup tapi tetap bisa hidup dalam lingkungan dengan oksigen.
- e. Anaerob obligat, pertumbuhan mikroba terhambat bahkan mati apabila terdapat oksigen. Hal ini berarti mereka membutuhkan cara lain untuk membentuk ATP. Beberapa jenis bakteri anaerob menggunakan sulfur pada aktivitas metabolismenya sebagai pengganti oksigen, dan menghasilkan hidrogen sulfida ( $H_2S$ ) dan air ( $H_2O$ ) sebagai hasil sampingan dari metabolismenya.
- f. Aerob fakultatif mampu tumbuh baik pada kultur yang mengandung oksigen tapi akan mengubah proses metabolismenya menjadi metabolisme anaerob ketika oksigen tidak ada.
- g. Kapnofilik, membutuhkan karbondioksida lebih banyak dibandingkan oksigen.

Perbedaan sifat respirasi bakteri dapat dilihat dengan menumbuhkan isolat pada media padat maupun cair, tapi umumnya menggunakan media cair. Pada media padat, pertumbuhan bakteri berupa pertumbuhan yang melekat pada permukaan media (*attached growth*), sedangkan pada media cair tipe pertumbuhannya akan menyerupai suspensi larut (*suspended growth*). Pertumbuhan bakteri dapat terlihat dengan mengamati akumulasi sel-sel yang tumbuh dalam media cair (Li dan Fang, 2007).

Isolat Rhizobia diperoleh dari lahan bekas tambang nikel dan hutan alam yang berada di kawasan PT. Stargate Pasific Resources di Kabupaten Konawe Utara Provinsi Sulawesi Tenggara. Lahan bekas tambang nikel terdiri dari lahan *Backfilling* (BF) yang telah ditimbun dengan material *over burden*, lahan yang telah direvegetasi tanpa penaburan top soil (RTTS), lahan yang telah ditimbun dengan material *overburden*, kemudian ditaburi top soil pada permukaan atas dan selanjutnya mengalami suksesi alami (SA) serta lahan yang telah direvegetasi dengan penambahan top soil (RTS). Sedangkan hutan alam terdiri dari hutan lindung yang tidak terganggu (HL) dan hutan lindung yang mengalami kebakaran (HT). Sebanyak 27 isolat Rhizobia yang telah diperoleh ditumbuhkan pada media YEMB (*Yeast Extract Mannitol Broth*), pH 7 dan diinkubasi pada suhu 26°C selama 3 x 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan memperhatikan akumulasi pertumbuhan bakteri pada media seperti Gambar 1.



**Gambar 1:** Perbedaan akumulasi pertumbuhan sel-sel bakteri Rhizobia pada media YEMB.

1. Isolat A2.1 T2; 2. A2.2 T1; 3. A2.4 T8; 4. A.2.1 T5; 5. BF A.2.2.13; 6. BF A.2.2.1; 7. BF A.2.3.4; 8. A1.3.7; 9. A3.3.5; 10. A3.1.1; 11. A1.2.1; 12. A3.3.4; 13. A3.1.2; 14. A6.2.5; 15. A6.3.2; 16. HT 2.6; 17. HT 5.2; 18. HT 3.9; 19. HT 1.5; 20. HT 3.2; 21. HT 4.5; 22. HT 3.4; 23. HT 4.4; 24. HL 5.4; 25. HL 6.7; 26. HL 1.3; 27. HL 4.1

Pertumbuhan ke-27 isolat Rhizobia pada media YEMB menunjukkan penyebaran koloni yang berbeda-beda pada media. Beberapa isolat menunjukkan pertumbuhan pada permukaan media, di seluruh suspensi media, di kolom media, bahkan melekat pada dinding tabung reaksi (terlihat  $\text{CaCO}_3$  yang mengendap di dasar tabung reaksi). Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat membutuhkan oksigen dalam proses metabolismenya. Hasil uji penggunaan oksigen oleh bakteri Rhizobia dapat dilihat pada Tabel 1.

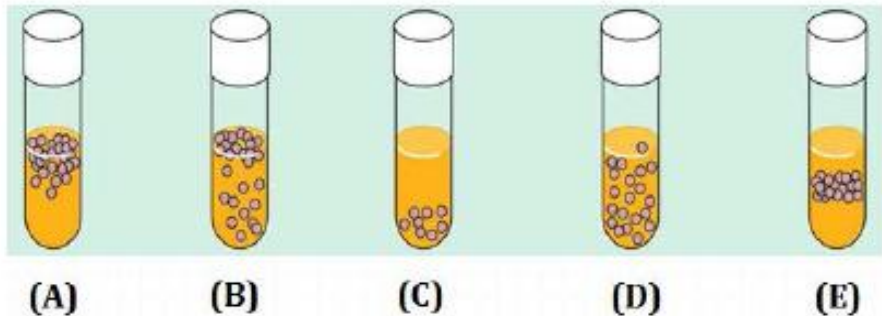
**Tabel 1.** Respon pertumbuhan bakteri Rhizobia pada media YEMB berdasarkan kemampuan penggunaan oksigen

| No. | Asal Isolat                           | Kode Isolat | Keterangan   | Sifat            |
|-----|---------------------------------------|-------------|--|------------------|
| 1   | Suksesi Alami                         | A2.1 T2     | Pertumbuhan bakteri terdapat pada permukaan dan kolom media  | Aerob obligat    |
| 2   |                                       | A2.2 T1     | Pertumbuhan bakteri pada kolom media dan melekat di dinding tabung dekat dari permukaan media          | Mikroaerofilik   |
| 3   |                                       | A2.4 T8     | Media sedikit keruh, pertumbuhan bakteri di seluruh bagian media                                       | Aerob fakultatif |
| 4   |                                       | A2.1 T5     | Koloni bakteri melekat di dinding tabung reaksi  | Mikroaerofilik   |
| 5   | <i>Backfilling</i>                    | BF A2.2.13  | Pertumbuhan bakteri pada kolom media   | Mikroaerofilik   |
| 6   |                                       | BF A2.2.1   | Koloni bakteri terdapat pada permukaan media dan banyak melekat di dinding tabung reaksi               | Aerob obligat    |
| 7   |                                       | BF A2.3.4   | Sedikit pertumbuhan bakteri pada permukaan dan kolom media   | Aerob obligat    |
| 8   | Revegetasi dengan Penambahan Top Soil | A1.3.7      | Media sedikit keruh, koloni bakteri terdapat pada permukaan media dan melekat di dinding tabung reaksi | Aerob fakultatif |

| No. | Asal Isolat                        | Kode Isolat | Keterangan  | Sifat            |
|-----|------------------------------------|-------------|---|------------------|
| 9   |                                    | A3.3.5      | Pertumbuhan bakteri pada kolom media  | Mikroaerofilik   |
| 10  |                                    | A3.1.1      | Koloni bakteri melekat di dinding tabung reaksi   | Mikroaerofilik   |
| 11  |                                    | A1.2.1      | Media keruh   | Aerob fakultatif |
| 12  |                                    | A3.3.4      | Pertumbuhan bakteri pada kolom media  | Mikroaerofilik   |
| 13  |                                    | A3.1.2      | Koloni bakteri banyak melekat di dinding tabung reaksi  | Mikroaerofilik   |
| 14  | Revegetasi tanpa Top Soil          | A6.2.5      | Sedikit pertumbuhan bakteri yang melekat di dinding tabung reaksi   | Mikroaerofilik   |
| 15  |                                    | A6.3.2      | Media keruh, pertumbuhan bakteri dominan pada permukaan media   | Aerob fakultatif |
| 16  | Hutan Lindung Terbakar             | HT 2.6      | Pertumbuhan bakteri pada kolom media dan melekat di dinding tabung reaksi                                     | Mikroaerofilik   |
| 17  |                                    | HT 5.2      | Media sangat keruh  | Aerob fakultatif |
| 18  |                                    | HT 3.9      | Koloni bakteri terdapat pada permukaan media dan menempel pada dinding tabung reaksi dekat dari permukaan     | Aerob obligat    |
| 19  |                                    | HT 1.5      | Pertumbuhan bakteri pada permukaan media dan banyak melekat pada dinding tabung reaksi                        | Aerob obligat    |
| 20  |                                    | HT 3.2      | Koloni bakteri banyak melekat pada dinding tabung reaksi  | Mikroaerofilik   |
| 21  |                                    | HT 4.5      | Media keruh   | Aerob fakultatif |
| 22  |                                    | HT 3.4      | Pertumbuhan bakteri banyak pada kolom media   | Mikroaerofilik   |
| 23  |                                    | HT 4.4      | Pertumbuhan bakteri terdapat pada permukaan media dan melekat pada dinding tabung reaksi dekat dari permukaan | Aerob obligat    |
| 24  | Hutan Lindung yang tidak Terganggu | HL 5.4      | Pertumbuhan bakteri melekat pada dinding tabung reaksi dekat dari permukaan media                             | Mikroaerofilik   |
| 25  |                                    | HL 6.7      | Pertumbuhan bakteri dominan pada permukaan media dan dinding tabung reaksi                                    | Aerob obligat    |

| No. | Asal Isolat | Kode Isolat | Keterangan  | Sifat            |
|-----|-------------|-------------|---|------------------|
| 26  |             | HL 1.3      | Media sangat keruh  | Aerob fakultatif |
| 27  |             | HL 4.1      | Pertumbuhan bakteri banyak melekat pada dinding tabung reaksi | Mikroaerofilik   |

Bakteri dalam keadaan tersuspensi akan tumbuh merata di semua bagian media, baik yang di permukaan, di kolom dan di dasar media. Bakteri yang tumbuh di daerah permukaan yang terpapar langsung dengan udara akan mudah mendapatkan oksigen untuk respirasi. Sedangkan bakteri yang tumbuh di daerah kolom media akan mendapatkan oksigen berupa oksigen terlarut dalam media (Hidayah dan Shovitri, 2012). Hadioetomo (1993) bahwa bakteri aerob akan tumbuh pada permukaan media, bakteri anaerob tumbuh mengelompok pada dasar media, aerob fakultatif tumbuh tersebar di seluruh media dan bakteri mikroaerofilik akan tumbuh mengelompok sedikit di bawah permukaan media.



**Gambar 2.** Ilustrasi pertumbuhan bakteri berdasarkan kebutuhan oksigennya. (A) aerob; (B) Aerob fakultatif; (C) anaerob obligat; (D) anaerob aerotoleran; (E) mikroaerofilik (Cappucino dan Sherman, 1983 dalam Puspitasari *et al.*, 2012).

Uji penggunaan oksigen yang dilakukan menunjukkan bahwa 7 isolat rhizobia bersifat aerob obligat dimana pertumbuhan sel dominan pada permukaan media serta pada kolom media dekat dari permukaan. Sedangkan 13 isolat lainnya bersifat mikroaerofilik yang ditandai dengan pertumbuhan sel bakteri pada kolom media dekat

dari permukaan serta 7 isolat lainnya bersifat aerob fakultatif dimana media keruh yang menandakan pertumbuhan bakteri tersuspensi merata di dalam media. Suryantini (2012) menyatakan bahwa *Rhizobium* bersifat aerob dan jika berada pada kondisi yang tergenang air maka populasinya akan menurun. Sedangkan Tiwari *et al.* (2017) yang mengisolasi *Rhizobium* sp. dari rhizosfer gandum menyatakan bahwa bakteri tersebut hanya dapat menambat nitrogen dari atmosfer ketika berada di bawah kondisi mikroaerofilik, seperti kondisi ketika berada di dalam bintil akar. Somasegaran dan Hoben (1985) menambahkan bahwa beberapa strain dapat tumbuh baik pada tekanan oksigen yang kurang dari 0.01 atmosfer.

Penelitian lain dilakukan oleh Daniel *et al.* (1980) yang menumbuhkan isolat *Rhizobium japonicum* 505 pada kultur dalam kondisi aerob maupun anaerob. Hasil uji menunjukkan bahwa semua isolat mampu tumbuh pada kedua kondisi tersebut bahkan mampu menodulasi kedelai. Chong *et al.* (2009) menyatakan bahwa bakteri aerob fakultatif akan memproduksi energi dalam bentuk ATP ketika oksigen masih tersedia dan mampu bertahan dalam kondisi tidak ada oksigen dengan melakukan fermentasi secara anaerob. Bakteri akan mengaktifkan enzim hidrogenase dan nitrogenase dalam keadaan anaerob yang menghasilkan hidrogen. Hal ini menandakan bahwa ada beberapa strain Rhizobia yang hanya mampu tumbuh dalam kondisi dimana oksigen tersedia, beberapa tumbuh baik pada kondisi oksigen terbatas, dan bahkan ada yang mampu tumbuh dalam keadaan tidak ada oksigen sedikitpun.

### **III. PERAN OKSIGEN DALAM PROSES KATABOLISME BAKTERI RHIZOBIA**

Rhizobia merupakan bakteri heterotrof yang tidak mampu membuat makanannya sendiri. Bakteri ini memanfaatkan bahan organik dari lingkungan sekitar untuk memenuhi kebutuhannya (Maryam, 2010). Rhizobia dapat hidup bebas di dalam tanah sebagai saprofit (hidup pada bahan organik yang sudah lapuk) tetapi hanya mengikat nitrogen apabila berasosiasi dengan tanaman inang (Somasegaran dan Hoben, 1985). Bahan organik seperti gula, asam amino, asam lemak, dan gliserol merupakan sumber utama karbon dan energi untuk pertumbuhan bakteri heterotrof (Kimball, 1992).

Materi yang diperoleh dari lingkungan berupa senyawa kompleks kemudian dipecah menjadi senyawa lebih sederhana,



disebut katabolisme. Proses ini bersifat eksergonik atau eksotermik dimana energi yang dihasilkan dalam bentuk energi kimia dan bukan energi panas. Hal ini disebabkan karena sel tidak mampu menggunakan energi panas, tapi menggunakan energi kimia berupa ATP (*Adenosin Trifosfat*). Pada dasarnya, katabolisme merupakan rangkaian reaksi oksidasi-reduksi senyawa kimia. Senyawa yang teroksidasi akan kehilangan hidrogen atau elektron (donor elektron), sedangkan senyawa yang tereduksi akan bertambah hidrogennya (aseptor elektron). Umumnya senyawa organik bertindak sebagai donor elektron sedangkan aseptor elektron berupa senyawa organik maupun anorganik. Reaksi katabolisme pada dasarnya terbagi ke dalam tiga kelompok, yaitu fermentasi, respirasi aerob, dan respirasi anaerob, dimana perbedaannya berdasarkan kepada aseptor elektron (Suriawiria, 1993).

Fermentasi sebagai bentuk metabolisme mikroba pada suatu bahan pangan dalam keadaan anaerob dan hasil penguraiannya berupa air, karbondioksida, energi, dan asam organik, seperti asam laktat, asam asetat, etanol, serta bahan-bahan organik lainnya yang mudah menguap (Muchtadi dan Ayustaningwarno, 2010). Mikroba yang melakukan fermentasi membutuhkan energi yang umumnya diperoleh dari glukosa. Pada proses fermentasi, tidak terdapat aseptor elektron luar sehingga senyawa organik berfungsi sebagai donor elektron sekaligus aseptor elektronnya (Suriawiria, 1993).

Proses respirasi eukariotik dan prokariotik pada dasarnya sama, yakni terdiri dari respirasi aerob dan anaerob. Perbedaan dari keduanya terletak pada lokasi proses glikolisis berlangsung, dimana glikolisis pada eukariotik terjadi di mitokondria sedangkan pada sel prokariotik yang tidak memiliki mitokondria, glikolisis terjadi di sitoplasma (Sasrawan, 2015). Harniza (2009) menambahkan bahwa transpor elektron pada bakteri terjadi pada membran sel. Pada respirasi aerob, oksigen bebas merupakan satu-satunya aseptor hidrogen dan karbondioksida yang dihasilkan merupakan hasil akhir oksidasi (Suriawiria, 1993). Buckman dan Brady (1982) menambahkan bahwa umumnya dekomposisi material organik secara aerob lebih cepat dibandingkan anaerob. Hal ini disebabkan karena energi yang dihasilkan pada respirasi aerob (688 kkal) jauh lebih tinggi dari respirasi anaerob (429 kkal).

Kadar oksigen yang rendah pada suatu lingkungan menyebabkan mikroba pendekomposisi bekerja pada kondisi anaerob (Azizah *et al.*, 2007). Menurut Buckman dan Brady (1982) hanya

mikroba aerob fakultatif yang mampu berfungsi dengan baik dalam kondisi kekurangan oksigen karena mampu menggunakan oksigen dalam ikatan, sehingga menghasilkan bentuk reduksi dalam bentuk karbondioksida yang tinggi. Pada respirasi ini, senyawa anorganik seperti nitrit, sulfat, karbonat, dan sebagainya digunakan sebagai asektor elektron (Suriawiria, 1993).

Rhizobia mengoksidasi nutrisi yang diperolehnya pada proses respirasi sel untuk menghasilkan energi. Proses ini terbagi ke dalam 3 tahapan, yaitu glikolisis, siklus krebs dan transpor elektron. Rhizobia sebagai bakteri heterotrof dapat menggunakan senyawa organik, seperti karbohidrat, asam organik dan asam lemak, serta asam-asam amino sebagai sumber energi. Meskipun demikian, bakteri umumnya menggunakan karbohidrat, terutama glukosa, yaitu gula berkarbon enam, dalam proses katabolismenya. Perombakan glukosa dapat terjadi melalui glikolisis. Proses ini dapat berlangsung pada sel baik aerob maupun anaerob. Untuk setiap molekul glukosa yang mengalami metabolisme dihasilkan 2 NADH, 2 ATP dan 2 H<sub>2</sub>O (Pelczar dan Chan, 1986). Asam piruvat selanjutnya dioksidasi dengan menggunakan oksigen sebagai oksidatornya (aerob) dalam proses dekarboksilasi oksidatif. Asam piruvat bereaksi dengan koenzim A membentuk asetil koenzim A (Asetil KoA). Hasil akhir dekarboksilasi oksidatif berupa 2 molekul asetil KoA, 2 molekul NADH dan 2 molekul CO<sub>2</sub> (sebagai hasil sampingan). Asetil KoA selanjutnya masuk ke dalam siklus Krebs sebanyak 2 kali (karena ada 2 molekul KoA). Hasil akhir siklus ini berupa 6 molekul NADH, 2 molekul FADH<sub>2</sub>, 2 molekul ATP, dan 4 molekul CO<sub>2</sub> (Toha, 2005 dalam Nugrahani, 2013). Pada transpor elektron, terjadi serangkaian reaksi pemindahan elektron melalui proses reaksi redoks (reduksi-oksidasi). Hidrogen yang terdapat pada molekul NADH serta FADH<sub>2</sub> dibawa ke dalam serangkaian reaksi redoks yang melibatkan enzim, sitokrom, quinon, pirodoksin, dan flavoprotein dimana pada akhir proses, oksigen akan mengoksidasi elektron dan ion hidrogen (H) menghasilkan air (H<sub>2</sub>O) (Pelczar dan Chan, 1986).

Sebanyak 10 molekul NADH dan 2 molekul FADH<sub>2</sub> diperoleh selama tahap glikolisis sampai siklus Krebs dan mengalami oksidasi pada transpor elektron. Oksidasi 1 molekul NADH menghasilkan kira-kira 3 ATP sedangkan oksidasi 1 molekul FADH<sub>2</sub> menghasilkan 2 ATP, sehingga dihasilkan 34 ATP dan H<sub>2</sub>O pada transpor elektron. Selain itu, sebanyak 4 molekul ATP diperoleh dari hasil glikolisis dan siklus krebs, maka secara keseluruhan respirasi sel menghasilkan total 38

ATP dari satu molekul glukosa. Untuk melakukan transpor elektron dibutuhkan 2 ATP sehingga hasil bersih dari setiap respirasi sel adalah 36 ATP (Lehninger, 1990 dalam Nugrahani, 2013).

Oksigen berperan penting agar respirasi sel secara aerob dapat berjalan normal. Molekul ini memiliki peranan sebagai penerima elektron terakhir pada tahap transpor elektron. Oksigen akan bereaksi dengan 4 ion  $H^+$  dan menghasilkan 2 molekul  $H_2O$ . Apabila tidak terdapat molekul oksigen yang menangkap elektron dari sitokrom a (protein kompleks yang terakhir), maka elektron akan tetap berikatan pada protein tersebut. Hal ini menyebabkan molekul NADH tidak mampu mentransfer elektronnya dan tetap dalam bentuk tereduksi sehingga tidak dapat melepas energinya dan tidak dapat kembali lagi ke siklus Krebs. Oleh karena itu, siklus Krebs akan terhenti dan ATP tidak akan diproduksi lagi (Nugrahani, 2013).

#### **IV. RHIZOBIA DENGAN RESPIRASI ANAEROB**

Umumnya bakteri Rhizobia membutuhkan oksigen pada proses respirasi selnya, akan tetapi ada beberapa jenis Rhizobia yang tidak menggunakan oksigen sebagai penerima elektronnya. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hynes *et al.* (1985) yang menumbuhkan isolat *Rhizobium fredii* (jenis *fast-growing* Rhizobia) dan *Bradyrhizobium japonicum* (jenis *Slow-growing* Rhizobia) pada media dengan kondisi anaerob. Hasil uji menunjukkan bahwa semua isolat *R. fredii* mampu hidup pada keadaan anaerob, mereduksi  $NO_3^-$  (5.5 mM) menjadi  $N_2O$  pada keadaan ada atau tanpa  $C_2H_2$ .

Penelitian yang dilakukan oleh Neal *et al.* (1983) menunjukkan bahwa strain *Rhizobium japonicum* (6-3I1b6) mampu tumbuh pada kondisi tanpa oksigen dengan mengoksidasi bahan anorganik, memanfaatkan nitrat sebagai akseptor elektron. Penurunan nitrat terjadi selama pertumbuhan, terbukti dengan hilangnya nitrat dari media dan produksi  $N_2O$ . Hal serupa disampaikan oleh Daniel *et al.* (1982) bahwa dari 46 strain Rhizobia yang ditumbuhkan pada kultur dengan 60  $\mu\text{mol } KNO_3$ , semua isolat mampu tumbuh pada kondisi anaerob dengan menggunakan kemampuan memanfaatkan nitrat,  $N_2O$  dan produksi nitrogen untuk melakukan proses denitrifikasi. Setengah dari isolat yang diuji merupakan bakteri denitrifikasi, termasuk 5 isolat *R. meliloti* yang memproduksi  $N_2$  dari nitrat dan umumnya termasuk *slow-growing* Rhizobia, tapi tidak satupun dari 14 strain *R. trifolii* yang termasuk bakteri denitrifikasi.

## V. KESIMPULAN

Hasil uji penggunaan oksigen yang dilakukan untuk 47 isolat *Rhizobia* yang ditumbuhkan pada media YEMB menunjukkan kemampuan pemanfaatan oksigen yang berbeda-beda pada tiap isolat. Sebanyak 7 isolat memperlihatkan akumulasi pertumbuhan sel dominan pada permukaan serta kolom media dekat dari permukaan (bersifat aerob obligat), sebanyak 7 isolat tumbuh merata di dalam media yang menyebabkan media YEMB menjadi keruh (aerob fakultatif) dan 13 isolat lainnya tumbuh pada kolom media dekat dari permukaan (mikroaerofilik). Informasi mengenai karakter bakteri *Rhizobia* ini penting karena dapat digunakan dalam membuat inokulum *Rhizobia* yang akan diaplikasikan sebagai pupuk hayati pada tanaman di lahan bekas tambang nikel.

## DAFTAR PUSTAKA

- Azizah, T. N. R., Subagyo, dan E. Rosanti. 2007. Pengaruh kadar air terhadap laju respirasi tanah tambak pada penggunaan katul padi sebagai *Priming Agent*. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 12 (2) : 67-72.
- Buckman, H. O. And N. C. Brady. 1982. Ilmu Tanah. Bharata Karya Aksara : Jakarta.
- Chong, M. L., V. Sabaratnam., Y. Shirai, and M. Ali. 2009. Biohydrogen production from biomass and industrial wastes by dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34 (8) : 3277–3287.
- Daniel. R. M., I. M. Smith, J. A. D. Phillip, H. D. Ratcliffe, J. W. Drozd, and A. T. Bull. 1980. Anaerobic growth and denitrification by *Rhizobium japonicum* and other *Rhizobia*. *Journal of General Microbiology*, 120 : 517–521.
- Daniel , R. M., A. W. Limmer, K. W. Steele, and I. M. Smith. 1982. Anaerobic growth, nitrat reduction and denitrification in 46 *Rhizobium* strains. *Journal of General Microbiology*, 128 : 1811-1815.
- Jeffrey, C. dan J. C. Pommerville. 2010. Microbial Growth and Nutrition (Chapter 5). Jones & Bartlett Learning Publisher, Sudbury MA.
- Hadioetomo, R. S. 1993. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek, Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. PT Gramedia Pustaka : Jakarta.
- Harniza, Y. 2009. Pola resistensi bakteri yang diisolasi dari bangsal bedah Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo pada Tahun

- 2003-2006. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Hidayah, N. dan M. Shovitri. 2012. Adaptasi isolat bakteri aerob penghasil gas hidrogen pada media limbah organik. 2012. Jurnal Sains dan Seni ITS, 1 : 16-18.
- Huda, C., Salni, dan Melki. 2012. Penapisan aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan Karang Lunak *Sarcophyton* sp. Maspari Journal, 4 (1) : 69-76.
- Hynes, R. K., Ding, A. L. and Nelson, L. M. 1985. Denitrification by *Rhizobium fredii*. FEMS Microbiology letters, 30 (1-2) : 183-183.
- Kimball, J. W. 1992. Biologi, Jilid 1, Edisi Kelima. Erlangga : Jakarta.
- Li, C. and H. H. P. Fang. 2007. Fermentative hydrogen production from waste water and solid wastes by mixed cultures. Critical reviews in environmental science and technology, 37 (1) : 1-39.
- Maryam, S. 2010. Budidaya super intensif ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) dengan teknologi bioflok : profil kualitas air, kelangsungan hidup dan pertumbuhan. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Muchtadi, T. R. dan F. Ayustaningwarno. 2010. Tekonologi Proses Pengolahan Pangan. Alfabet : Bandung.
- Neal, J. L., Allen, G. C., Morse, R. D. and Wolf, D.D. 1983. Anaerobic nitrate-dependent chemolithotrophic growth by *Rhizobium japonicum*. Canadian Journal of Microbiology, 29(3) : 316-320.
- Nugrahani, W. 2013. Konsumsi minuman oksigen dan dampaknya terhadap performa saat berolahraga, profil lipid, glukosa darah dan SGOT/SGPT. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pelczar, M. J. And E. C. S. Chan. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI Press : Jakarta.
- Prayudyaningsih, R., A. D. Mangopang, B. W. Broto, R. Sari, E. Kurniawan, Hajar, dan F. Ansari. 2015. Laporan Hasil Penelitian Sumber Dana DIPA Tahun 2015. Balai Penelitian Kehutanan Makassar.
- Purwaningsih, O., D. Indradewa, S. Kabirun, dan D. Shiddiq. 2012. Tanggapan tanaman kedelai terhadap inokulasi *Rhizobium*. Agrotop, 2 (1) : 25-32.
- Puspitasari, F. D., M. Shovitri, dan N. D. Kuswytasari. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri aerob proteolitik dari tangki septik. Jurnal Sains dan Seni ITS, 1 (1) : 1-4.

- Sasrawan, H. 2015. Bagaimana proses respirasi eukariotik dan prokariotik?. [hedisasrawan.blogspot.co.id](http://hedisasrawan.blogspot.co.id). diakses pada tanggal 10 Oktober 2017.
- Somasegaran, P. and H. J. Hoben. 1985. *Methods in Legum-Rhizobium Technology*. Departemen of Agronomy and Soil Science. University of Hawaii.
- Suriawiria, U. 1993. *Mikrobiologi Air dan Dasar-dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis*. Penerbit Alumni : Bandung.
- Suryantini. 2012. *Rhizobium* indigenous dan pengaruhnya terhadap keberhasilan inokulasi. *Buletin Palawija*, 24 : 92-98.
- Susilowarno, R. G., Hartono, R. S., Mulyadi, Mutiarsih, E., Murtiningsih, dan Umiyati. *BIOLOGI*. 2007. Jakarta : Grasindo.
- Tiwari, S., R. K. Chauhan, R. Singh, R. Shukla, and R. Gaur. 2017. Integrated effect of *Rhizobium* and *Azotobacter* cultures on the leguminous crop black gram (*Vigna mungo*). *Advances in Crop Science Technology*, 5 (3) : 1-9.