



Mitigasi Emisi Gas Metana: Identifikasi Bakteri Metanotrof pada Sistem Agroforestri di Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Pujon Hill

Nugroho Tri Waskitho^{1,a}, Tria Wahidiah^{1,b}, Febri Arif Cahyo Wibowo^{1,*}, Abyan Pradipta^{1,c}, Mokhammad Yusuf Romadloni^{1,d}

⁽¹⁾Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang
Jl Raya Tlogomas No. 246, Malang, Jawa Timur, Indonesia

^aEmail Penulis Pertama: triwaskithon@yahoo.co.id, ^bEmail Penulis Kedua: twahidiah@gmail.com, Email Penulis keempat: ,Email Penulis Kelima: , *Corresponding Author: febriarif14@umm.ac.id

Diterima: 12 Juni 2023; Disetujui: 24 Juli 2023; Diterbitkan: 25 Juli 2023

Abstract

Mitigation of Methane Emissions: Identification of Methanotrophic Bacteria in Agroforestry Systems in Pujon Hill Special Purpose Forest Areas. The role of local communities can solve the problems of environmental crises and poverty. One of the forestry programs that involve the participation of local institutions is production forest. The form of land management in the program uses agroforestri cropping patterns. Agroforestri is developed to benefit humans or improve people's welfare. The purpose of this study is to identify and obtain methanotrophic bacterial isolates which can then be used as biological agents to support efforts to reduce methane gas emissions in agroforestri forest areas. The method of this research is to isolate methanotrophic bacteria from soil samples of the five plots in the Agroforestri forest area using NMS (Nitrate Mineral Salts) selective media. Bacterial colonies were observed macroscopically (color, shape, size, elevation, topography and optical properties), biochemical properties (gram test and catalase test), and supported by a literature search to determine the type of bacteria. The highest abundance of methanotrophic bacterial colonies was Hagr-3-B isolates at 6.9 X 10³, while the lowest methanotrophic bacterial colonies were Hagr-4-B and Hagr-4-C isolates, which were 1.0 X 10⁴. have been identified, namely *Methylophilus* sp., and *Methylobacterium* sp. The methanotrophic bacteria that have been identified are gram negative (-) and catalase positive (+) bacteria.

Keywords: Agroforestri, Methanotrophs, NMS (Nitrate Mineral Salts)

Inti Sari

Peran masyarakat lokal dapat memecahkan masalah krisis lingkungan hidup dan kemiskinan. Adapun salah satu program kehutanan yang melibatkan peran serta masyarakat melalui kelembagaan lokal adalah hutan produksi. Bentuk pengelolaan lahan pada program tersebut menggunakan pola tanam agroforestri. Agroforestri dikembangkan untuk memberi manfaat kepada manusia atau meningkatkan kesejahteraan masyarakat. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengidentifikasi dan memperoleh isolat bakteri metanotrof yang selanjutnya dapat dijadikan sebagai agen hayati dalam mendukung upaya penurunan emisi gas metan di kawasan sistem agroforestri. Metode penelitian ini yaitu melakukan isolasi bakteri metanotrof dari sampel tanah kelima petak di kawasan sistem agroforestri

menggunakan media selektif NMS (Nitrate Mineral Salts). Koloni bakteri yang tumbuh diamati secara makroskopis (Warna, bentuk, ukuran, elevasi, topografi dan sifat optiknya), sifat biokimia (uji gram dan uji katalase), serta didukung dengan telusur pustaka untuk menentukan jenis bakterinya. Kelimpahan koloni bakteri metanotrof tertinggi terdapat pada isolat Hagr-3-B sebesar $6,9 \times 10^3$, sedangkan kelimpahan koloni bakteri metanotrof terendah pada isolat Hagr-4-B dan Hagr-4-C, yaitu sebesar $1,0 \times 10^4$. Jenis bakteri metanotrof yang telah diidentifikasi yaitu *Methylophilus sp.*, dan *Methylobacterium sp.* Bakteri metanotrof yang berhasil diidentifikasi tersebut merupakan bakteri kategori gram negatif (-) dan katalase positif (+).

Kata kunci: Agroforestri, Metanotrof, NMS (Nitrate Mineral Salts)

1. Pendahuluan

Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) merupakan kawasan hutan yang ditetapkan oleh kementerian untuk kepentingan umum seperti penelitian dan pengembangan, pendidikan dan latihan, religi dan budaya dengan tidak mengubah fungsi pokok kawasan hutan yang pengelolaannya dapat diberikan kepada masyarakat hukum adat, lembaga pendidikan, lembaga penelitian, lembaga sosial dan keagamaan (Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 41 Tahun 1999). KHDTK yang dikelola oleh Perguruan Tinggi mempunyai nilai strategis karena berperan penting sebagai media pembelajaran untuk riset dan inovasi kehutanan yang menjadi sumber atau bahan pengambil keputusan pemerintah yang berbasis riset (Nugroho et al., 2017). KHDTK UMM yang dikelola dalam bentuk hutan pendidikan ini berada pada kawasan hutan produksi dan hutan lindung seluas 75.09 Ha. Tanaman kehutanan yang berada di kawasan tersebut didominasi oleh pohon pinus, damar, nangka, alpukat, dan suren, sedangkan tanaman semusim atau tanaman pertanian yang terdapat di kawasan tersebut yaitu, sawi putih, kopi, wortel, bawang merah, serta pepaya.

Pemerintah berdasarkan Peraturan Menteri Kehutanan Nomor: P.01/Menhut-II/2004, Pasal 3 disebutkan bahwa dalam rangka mewujudkan hutan yang lestari dan meningkatkan kesejahteraan masyarakat setempat perlu dilakukan pemberdayaan masyarakat melalui sistem pengelolaan hutan berbasis masyarakat setempat. Menurut (Suharjito, 2014), bahwa peran masyarakat lokal dapat memecahkan masalah krisis lingkungan hidup dan kemiskinan. Adapun salah satu program kehutanan yang melibatkan peran serta masyarakat melalui kelembagaan lokal adalah hutan produksi. Bentuk pengelolaan lahan pada program tersebut menggunakan pola tanam agroforestri. Agroforestri dikembangkan untuk memberi manfaat kepada manusia atau meningkatkan kesejahteraan masyarakat (Suprayogo et al., 2003) dan ekologi (Gunawan et al., 2019). Agroforestri utamanya diharapkan dapat membantu mengoptimalkan hasil suatu bentuk penggunaan lahan secara berkelanjutan guna menjamin dan memperbaiki kebutuhan hidup masyarakat; meningkatkan daya dukung ekologi manusia, khususnya di daerah pedesaan (Mayrowani & Ashari, 2011). Sistem agroforestri merupakan salah satu sistem pengelolaan lahan hutan dengan tujuan untuk mengurangi kegiatan perusakan/perambahan hutan sekaligus meningkatkan pendapatan petani secara berkelanjutan (Oka Suparwata, 2018). Saat ini, potensi agroforestri untuk perbaikan dan konservasi tanah diterima secara umum, agroforestri dengan cepat dikenal sebagai sistem penggunaan lahan yang mampu menghasilkan kayu dan tanaman pertanian sekaligus konservasi waktu dan rehabilitasi ekosistem (P.K. Ramachandran Nair, 1994). Konsep pengelolaan hutan lestari didasarkan atas terpenuhinya kelestarian tiga fungsi utama hutan, yaitu Fungsi ekologis/lingkungan, Fungsi sosial, dan Fungsi ekonomi. Bakteri

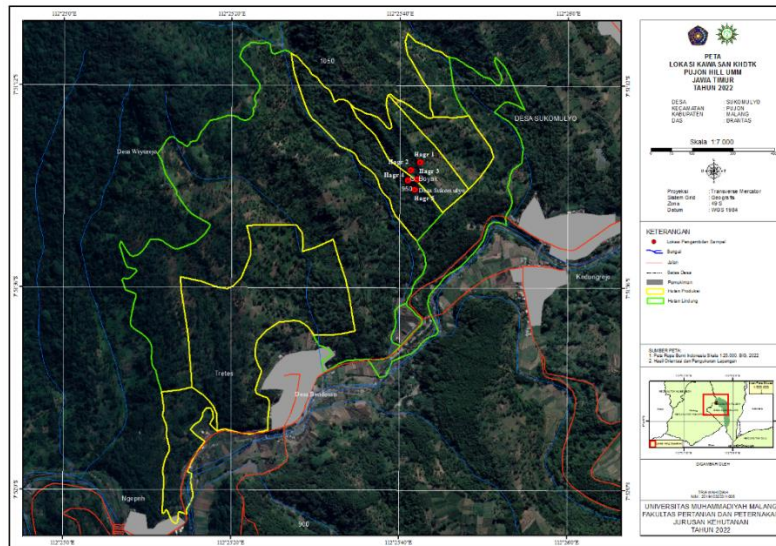
metanotrof berperan dalam memenuhi kelestarian fungsi ekologi/lingkungan (Purbawiyatna et al., 2011). Bakteri ini bisa digunakan sebagai mitigasi perubahan iklim dalam menurunkan pemanasan global.

Peraturan Presiden No 61 Tahun 2011 tentang Rencana Aksi Nasional Penurunan Emisi GRK dan Peraturan Presiden No. 71 Tahun 2011 tentang Penyelenggaraan Inventarisasi Emisi GRK. Aktifitas manusia telah menimbulkan dampak terhadap pemanasan global dan perubahan iklim di bumi. Perubahan iklim global diakibatkan efek emisi gas-gas seperti CO₂, CH₄, N₂O, CF₄, C₂F₆. Gas ini yang menyebabkan terjadinya peningkatan suhu udara di atmosfer yang kemudian dikenal sebagai Gas Rumah Kaca (GRK). GRK ini telah menyebabkan bumi kian menjadi panas, hal tersebut disebabkan oleh kegiatan industri, transportasi dan aktivitas manusia yang mempergunakan sumber energi fosil (batubara, minyak bumi, gas) serta berkurangnya kemampuan hutan dalam menyerap CO₂ akibat deforestasi (Adriantama & Nontji, 2021). Akibatnya terjadi peningkatan suhu udara permukaan yang cukup signifikan. Pemanasan global telah menjadi isu penting saat, salah satu energi GRK (Gas Rumah Kaca) yaitu gas metan (CH₄). Gas CH₄ mampu menyumbang sebesar 15% dari total GRK dan berpotensi 21 kali lebih besar mengakibatkan pemanasan global (Azmi & Arif, 2018). Akibat dari peningkatan suhu bumi, mengakibatkan terjadinya perubahan iklim yang tidak menentu. Dengan adanya permasalahan tersebut, salah satu mikroba yang sangat berperan penting untuk mengurangi gas metan adalah bakteri metanotrof. Kehadiran bakteri metanotrof sangat dibutuhkan untuk mereduksi metan karena bakteri tersebut menggunakan metan sebagai sumber karbonnya (Nonci & Rasyid, 2015). Penelitian ini memberikan kontribusi informasi bagaimana langkah yang dipergunakan dalam menurunkan Gas metan penyumbang GRK (Gas Rumah Kaca) melalui agen hayati. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui kelimpahan koloni bakteri metanotrof pada kawasan sistem agroforestri serta mengidentifikasi dan memperoleh isolat bakteri metanotrof.

2. Metode Penelitian

2.1 Tempat dan Waktu

Pengambilan sampel tanah dilaksanakan di kawasan sistem agroforestri di KHDTK UMM Pujon Kabupaten Malang pada bulan Mei. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kehutanan, Fakultas Pertanian-Peternakan. Universitas Muhammadiyah Malang.



Gambar 1: Peta Pengambilan Sampel Tanah

2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah yang berasal dari kawasan sistem agroforestri di KHDTK UMM Pujon Kabupaten Malang. Alat yang digunakan yaitu meteran, bor tanah, cetok, soil tester, thermomether, GPS, plastik wrap, box ice, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, pipet volume, pipet tetes, batang L, jarum ose, spatula, kaca preparat, neraca digital, autoclaf, LAF (*Laminar Air Flow*), magnetik stirer, bunsen spiritus, plastik petromax, alumunium foil, dan karet.

2.3 Pengambilan Sampel

Sampel tanah diperoleh dari kawasan sistem agroforestri di KHDTK UMM Pujon Kabupaten Malang. Tanah yang diambil sebanyak 5 sampel dengan menggunakan metode *purposive random sampling* (Sofiana et al., 2016). Setiap plot dilakukan pengukuran pH dan kelembaban selanjutnya dilakukan penitikan koordinat dengan menggunakan GPS. Jarak pengambilan tiap sampel tanah minimal berjarak 50 meter, selanjutnya setiap sampel diambil menggunakan metode diagonal (Musyafa et al., 2016). Ukuran petak dalam pengambilan sampel tanah, yaitu 20x20 meter. Sampel tanah diambil dengan menggunakan bor

tanah hingga kedalaman ± 30 cm, selanjutnya tanah yang diperoleh didekomposit dan diambil sebanyak 1 kg. Sampel tanah yang telah diperoleh, dimasukkan ke dalam plastik wrap dan disimpan didalam box ice. Penyimpanan tersebut berguna agar suhu tanah tetap stabil hingga tahapan selanjutnya tersebut dilakukan pengujian di Laboratorium Kehutanan, Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang.

2.4 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Metanotrof

Isolasi bakteri metanotrof berawal dengan tahapan pengambilan sampel tanah yang terdekomposit sebanyak 1 gram, selanjutnya dilakukan pengenceran 10^{-1} sampai dengan pengenceran 10^{-7} . Pada tiap sampel ditumbuhkan menggunakan media selektif NMS (Nitrate Mineral Salts). Komposisi media NMS sebagai berikut 1,3 g/l NaO_3 ; 0,13 g/l MgSO_4 ; 0,65 g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,286 g/l KH_2PO_4 ; 0,0507 g/l $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 2,6 mg/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1,3 ml/l *Trace Metal Solution*. Komposisi

Trace Metal Solution sebagai berikut 500,0 mg/l EDTA; 200,0 mg/l FeSO₄.7H₂O; 10,0 mg/l ZnSO₄.7H₂O; 20,0 mg/l MnCl₂.4H₂O; 30 mg/l H₃BO₃; 20,0 mg/l CoCl₂.6H₂O; 1,0 mg/l CaCl₂.2H₂O; 2,0 mg/l NiCl₂.6H₂O; 3,0 g/l Na₂MoO₄.2H₂O. Dalam pembuatan media NMS agar yaitu dengan tahapan sebagai berikut: NMS cair sebanyak 1 liter ditambahkan *Pure Agar* 20 g. Semua bahan media tersebut dicampur dan diaduk hingga homogen serta dipanaskan dengan menggunakan magnetic stirrer dan dituangkan pada botol untuk di sterilisasi. Media yang sudah steril selanjutnya dituang pada cawan petri di dalam LAF (*Laminar Air Flow*). Setelah media padat selanjutnya dilakukan penanaman sebanyak 0,1 ml pada tiap cawan petri. Sampel yang ditanam sebanyak 5 kali ulangan. Ulangan yang dilakukan berfungsi untuk mengumpulkan data, apakah ada perbedaan yang dihasilkan dari masing-masing cawan petri. Selanjutnya dilakukan pengamatan selama 10 hari pada suhu ruang. Adanya pertumbuhan bakteri metanotrof ditandai dengan koloni bakteri yang berwarna putih, kuning, merah muda, dan oranye. Laju pertumbuhan dan perkembangan koloni pada agar NMS juga bervariasi (Rusmana & Akhdiya, 2009). Koloni bakteri metanotrof yang terbentuk, diambil dengan menggunakan jarum ose dan digores pada media NA dengan metode gores T untuk mendapatkan biakan koloni bakteri tunggal.

2.5 Pengujian Makroskopis Bakteri Metanotrof

Koloni tunggal bakteri metanotrof yang telah dimurnikan selanjutnya diamati secara makroskopis, dimana bagian yang diamati berupa penampakan morfologinya, diantaranya yaitu warna, bentuk, ukuran (mm), elevasi, topografi, dan sifat optik koloni.

2.6 Penghitungan Kelimpahan Bakteri Metanotrof

Dalam perhitungan kelimpahan bakteri metanotrof pada media NMS dilakukan dengan menggunakan metode *Total Plant Count* (TPC). Menurut (Yuspita et al., 2017), pemeriksaan kelimpahan bakteri menggunakan metode perhitungan cawan (*Total Plate Count*). Metode TPC merupakan metode yang digunakan untuk menumbuhkan sel mikroba hidup pada media sehingga sel tersebut dapat hidup dengan baik dan membentuk koloni yang dapat dilihat secara langsung menggunakan mata tanpa menggunakan mikroskop. Rumus perhitungan kelimpahan bakteri: Total Koloni Bakteri = \sum Koloni x Faktor pengencer. Perhitungan kelimpahan bakteri tersebut dilakukan pada akhir pengamatan.

2.7 Seleksi Isolat Bakteri Metanotrof berdasarkan reaksi Gram

Koloni tunggal bakteri metanotrof yang didapatkan selanjutnya dilakukan analisis dengan pengujian reaksi gram untuk mengetahui bakteri yang tergolong kategori gram positif atau gram negatif. Satu tetes KOH dengan konsentrasi 3% diletakkan pada kaca preparat yang sudah disterilkan. Selanjutnya ditambahkan 1 ose biakan tunggal bakteri, kemudian diaduk melingkar selama \pm 5 detik menggunakan jarum ose yang selanjutnya diamati ada tidaknya lendir dengan mengangkat jarum ose secara perlahan dan berulang kali. Apabila isolat bakteri memiliki suspensi yang berlendir maka bakteri tersebut digolongkan ke dalam bakteri gram negatif (reaksi positif), namun jika sebaliknya tidak terbentuk lendir maka bakteri digolongkan ke dalam gram positif (reaksi negatif) (Wassie & Wassie, 2016).

2.8 Seleksi Isolat Bakteri Metanotrof Berdasarkan Pengujian Katalase

Koloni tunggal dari bakteri metanotrof yang telah didapat selanjutnya dianalisis dengan menggunakan pengujian katalase. Satu tetes H₂O₂ dengan konsentrasi 3% diletakkan pada kaca preparat yang telah disterilkan, selanjutnya ditambahkan 1 ose biakan tunggal bakteri, kemudian dilakukan

pengamatan ada tidaknya gelembung. Jika hasil positif (katalase positif), maka akan terbentuk gelembung udara di sekitar koloni dan bila tidak terdapat gelembung udara maka reaksi tersebut negatif (katalase negatif) (Ulfa et al., 2016).

2.9 Analisis Data

Analisis kualitatif menggunakan analisis deskriptif yang digunakan untuk menganalisis data hasil uji makroskopis berupa (warna, bentuk, elevasi, topografi, sifat optik) dan data hasil uji biokimia (uji gram dan uji katalase). Hasil uji makroskopis dan uji biokimia kemudian digunakan untuk mengidentifikasi genus apa saja yang didapat dan menjelaskan fungsi dari metanotrof dengan panduan buku dari Bergey dan Holt (2000) yang berjudul "*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th edition*".

3. Hasil Dan Pembahasan

3.1 Kelimpahan Bakteri Metanotrof pada Sistem agroforestri

Setelah dilakukan isolasi terhadap bakteri metanotrof pada sampel tanah kawasan sistem agroforestri didapatkan 1 isolat dari 25 cawan petri dengan kondisi terkontaminasi oleh jamur. Selanjutnya jumlah koloni bakteri metanotrof yang tumbuh pada media selektif NMS (*Nitrate Mineral Salt*) dihitung setiap cawan petrinya serta dilakukan pengolahan datanya menggunakan rumus kelimpahan koloni yaitu (Total Koloni Bakteri = \sum Koloni bakteri pada cawan petri \times 1/Faktor pengenceran). Berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan, didapatkan jumlah koloni/ μ l pada setiap isolat. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh diatas, dapat diketahui bahwa koloni bakteri metanotrof terbanyak ditemukan pada kawasan agroforestri petak 2. Sedangkan koloni bakteri metanotrof yang ditemukan paling sedikit, terdapat pada kawasan agroforestri petak 4. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh suhu dan pH tanah dimasing-masing kawasannya, serta kadar metan di masing-masing petaknya. (Rusmana & Akhdiya, 2009) mengatakan bahwa, laju pertumbuhan dan perkembangan koloni pada agar NMS juga bervariasi. Butuh waktu hingga 14 hari untuk mengembangkan koloni.

Tabel 2. Tabel Jumlah Koloni Bakteri Metanotrof

No.	Kode Petridish	Bakteri Metanotrof			
		Koloni/Cawan	Cfu/MI	Cfu/MI	Cfu/MI
1	Sistem agroforestri-1-A	2	20,000,000	$2,0 \times 10^7$	20,000 $2,0 \times 10^4$
3	Sistem agroforestri-1-C	2	20,000,000	$2,0 \times 10^7$	20,000 $2,0 \times 10^4$
4	Sistem agroforestri-1-D	15	150,000,000	$1,5 \times 10^6$	150,000 $1,5 \times 10^3$
5	Sistem agroforestri-1-E	21	210,000,000	$2,1 \times 10^6$	210,000 $2,1 \times 10^3$
6	Sistem agroforestri-2-A	16	160,000,000	$1,6 \times 10^6$	160,000 $1,6 \times 10^3$
7	Sistem agroforestri-2-B	22	220,000,000	$2,2 \times 10^6$	220,000 $2,2 \times 10^3$
8	Sistem agroforestri-2-C	43	430,000,000	$4,3 \times 10^6$	430,000 $4,3 \times 10^3$
9	Sistem agroforestri-2-D	34	340,000,000	$3,4 \times 10^6$	340,000 $3,4 \times 10^3$
10	Sistem agroforestri-2-E	28	280,000,000	$2,8 \times 10^6$	280,000 $2,8 \times 10^3$
11	Sistem agroforestri-3-A	54	540,000,000	$5,4 \times 10^6$	540,000 $5,4 \times 10^3$

12	Sistem agroforestri-3-B	69	690,000,000	$6,9 \times 10^6$	690,000	$6,9 \times 10^3$
13	Sistem agroforestri-3-C	30	30,000,000	$3,0 \times 10^7$	30,000	$3,0 \times 10^4$
14	Sistem agroforestri-3-D	50	50,000,000	$5,0 \times 10^7$	50,000	$5,0 \times 10^4$
15	Sistem agroforestri-3-E	40	40,000,000	$4,0 \times 10^7$	40,000	$4,0 \times 10^4$
16	Sistem agroforestri-4-A	9	90,000,000	$9,0 \times 10^7$	90,000	$9,0 \times 10^4$
17	Sistem agroforestri-4-B	1	10,000,000	$1,0 \times 10^7$	10,000	$1,0 \times 10^4$
18	Sistem agroforestri-4-C	1	10,000,000	$1,0 \times 10^7$	10,000	$1,0 \times 10^4$
19	Sistem agroforestri-4-D	3	30,000,000	$3,0 \times 10^7$	30,000	$3,0 \times 10^4$
20	Sistem agroforestri-4-E	7	70,000,000	$7,0 \times 10^7$	70,000	$7,0 \times 10^4$
21	Sistem agroforestri-5-A	7	70,000,000	$7,0 \times 10^7$	70,000	$7,0 \times 10^4$
22	Sistem agroforestri-5-B	7	70,000,000	$7,0 \times 10^7$	70,000	$7,0 \times 10^4$
23	Sistem agroforestri-5-C	12	120,000,000	$1,2 \times 10^7$	120,000	$1,2 \times 10^3$
24	Sistem agroforestri-5-D	12	120,000,000	$1,2 \times 10^7$	120,000	$1,2 \times 10^3$
25	Sistem agroforestri-5-E	5	50,000,000	$5,0 \times 10^6$	50,000	$5,0 \times 10^4$

3.2 Keanekaragaman Jenis Bakteri Metanotrof

Bakteri yang telah tumbuh akan membentuk koloni pada permukaan media selektif NMS (Nitrate mineral salts). Adapun hasil pengamatan koloni bakteri metanotrof secara makroskopis seperti yang tertera pada tabel di bawah ini.

Tabel 3. Uji Makroskopis dan Bio Kimia Koloni Bakteri Metanotrof

No	Isolat	Morfologi						Uji Gram	Uji Katalase
		Warna	Bentuk	Ukuran (mm)	Elevasi	Topografi	Sifat Optik		
1	Hagr-1(A,C,D,E)	Putih	Irregular	± 3	Convex	Licin	Transcluent	-	+
	Hagr-2(A,BC,D,E)								
	Hagr-3(A,B,D,E)								
2	Hagr-3-C	Putih kekuningan	Irregular	± 6	Convex	Licin	Transcluent	-	+
3	Hagr-4(A,B,C,D,E)	Putih	Irregular	± 4	Convex	Licin	Transcluent	-	+
	Hagr-5(A,B,C,D,E)								

Berdasarkan hasil yang diperoleh, menunjukkan bahwa koloni bakteri metanotrof yang dapat teridentifikasi pada isolat HAgr-2-A, HAgr-3-C, HAgr-4-D, dan HAgr-5-E. Perbedaan jumlah koloni bakteri metanotrof di masing-masing isolat disebabkan oleh lokasi pengambilan sampel tanah. Sampel pertama diambil pada kawasan sistem agroforestri-A dengan keadaan lokasi pengambilan sampel tanah tersebut didominasi oleh tanaman rumput gajah. Sampel kedua pada kawasan sistem agroforestri-B dengan keadaan lokasi pengambilan sampel tanah tersebut didominasi oleh tegakan pinus. Jumlah isolat yang ditemukan pada kawasan ini cukup tinggi, hal tersebut sesuai dengan

pendapat (Pangala et al., 2013), bahwa Pinus merupakan salah satu tegakan yang dapat menghasilkan gas metan melalui batangnya. Gas metan yang dihasilkan oleh batang pohon pinus merupakan salah satu faktor pendukung pertumbuhan bakteri metanotrof, dikarenakan bakteri metanotrof membutuhkan gas metan sebagai sumber karbon dan energinya. Sampel ketiga diambil pada kawasan sistem agroforestri-C dengan keadaan lokasi pengambilan sampel tanah tersebut didominasi oleh tanaman monokultur, yaitu tanaman kopi, kol, wortel, dan sawi putih. Jumlah isolat yang diperoleh pada sampel tanah dari kawasan ini, memperoleh nilai tertinggi. Hal tersebut dikarenakan pada kawasan ini terdapat kegiatan pertanian yaitu penggemburan tanah, pemberian pupuk dan perawatan sehingga jumlah bakteri metanotrof yang diperoleh pada kawasan ini cukup banyak. Menurut (Wihardjaka, 2015) penambahan bahan organik segar yang sudah dikomposkan dapat meningkatkan fluks metan pada tanah yang umumnya bahan organik segar tersebut mengandung nisbah C/N yang dapat mengakibatkan terjadinya penguraian secara anaerobik dan meningkatkan hasil metana yang tinggi. Koloni Bakteri Metanotrof didominasi oleh warna putih dengan bentuk rata-rata bulat, ukuran koloni berkisar mulai dari $\pm 2-6$ mm, elevasi koloni sebagian besar flat, bertopografi licin, dan bersifat optik opalescent, opaque, dan translucent. Morfologi koloni bakteri metanotrof tersebut sesuai dengan pernyataan (Amanda et al., 2017a)(Amanda, Artika and Rusmana, 2017) yang menyatakan bahwa bakteri metanotrof berwarna putih, putih kekuningan dan cream. Berbentuk bundar, tepian licin, elevasi datar, untuk warna dan sifat permukaan mengkilap (Pulungan & Tumangger, 2018).




Koloni bakteri metanotrof juga dilakukan pengujian sifat biokimianya sebagai data pendukung untuk proses identifikasi. Morfologi koloni bakteri dan biakan murni dapat digunakan sebagai data proses identifikasi jenis-jenis mikroorganisme, namun untuk memperoleh hasil identifikasi yang sempurna maka harus dilanjutkan dengan pewarnaan gram dan uji biokimia. Adapun hasil uji biokimia (Gram dan katalase) yang telah dilakukan tertera pada tabel di bawah ini.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri yang telah dianalisis memiliki enzim katalase, hal tersebut ditandai dengan reaksi terhadap pemberian H_2O_2 3 %, dimana H_2O_2 berhasil terurai menjadi H_2O dan O_2 (ada gelembung udara yang muncul). Hal tersebut juga dijelaskan oleh Lindawati (2016), bahwa hasil katalase positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung gas oksigen sebagai hasil degradasi H_2O_2 oleh enzim katalase. (Diana Elizabeth Waturangi, et.al, 2011), mengatakan bahwa Bakteri metanotrof merupakan bakteri dengan katalase positif.

Hasil uji Gram dari bakteri metanotrof yaitu Gram negatif, hal ini sesuai pernyataan (Nonci et al., 2015) yang dijelaskan dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th edition* (Bergey, 1994) menggolongkan bakteri metanotrof ke dalam golongan bakteri Gram negatif.. Koloni bakteri metanotrof dapat dikatakan Gram negatif dikarenakan pada dinding selnya terdapat lapisan lemak, dimana lapisan lemak tersebut dapat dipecah dengan menggunakan KOH 3%, sehingga menghasilkan lendir. Hal tersebut juga dijelaskan oleh (Nurhidayati et al., 2015), bahwa Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi.

Identifikasi bakteri metanotrof yang dilakukan berdasarkan hasil pengamatan makroskopis, uji biokimia (uji gram dan uji katalase), dan berdasarkan studi literatur pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th edition*. Adapun hasil identifikasi bakteri seperti tertera pada tabel di bawah ini.

Tabel 5. Genus Bakteri Metanotrof

Isolat	Kenampakan Isolat	Genus
Hagr-1(A,C,D,E) Hagr-2(A,BC,D,E) Hagr-3(A,B,D,E)		<i>Methylophilus sp.</i>
HAgr-3-C		<i>Methylophilus sp.</i>
Hagr-4(A,B,C,D,E) Hagr-5(A,B,C,D,E)		<i>Methylophaga sp.</i>

Media pertumbuhan yang digunakan merupakan media selektif, yang dapat digunakan untuk menumbuhkan suatu jenis bakteri tertentu yang diinginkan. Media selektif yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri metanotrof yaitu media selektif NMS (*Nitrate Mineral Salts*). Menurut (Hanson & Hanson, 1996a), bahwa media selektif yang digunakan untuk analisis bakteri metanotrof merupakan media NMS (*Nitrate Mineral Salts*). Berdasarkan tabel diatas, dapat diketahui bahwa genus bakteri metanotrof yang ditemukan, yaitu *Methylophilus sp.*, dengan warna isolat putih dan *Methylophilus sp.* dengan warna putih kekuningan, serta genus *Methylophaga sp.* Kedua genus bakteri metanotrof tersebut dapat ditemukan pada kawasan yang memiliki suhu dan pH tanah optimum. Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat diketahui bahwa pada kawasan sistem agroforestri titik pengambilan sampel 1-5 memiliki pH dan Suhu yang termasuk kategori optimum sebagai tempat tumbuh atau ditemukannya bakteri metanotrof. Plot pengambilan sampel 1-5 memiliki pH tanah sebesar 6,9 yang termasuk kedalam kategori netral. Sedangkan suhu dimasing-masing plot pengambilan sampel berbeda-beda, dimana pada plot 1 memiliki suhu tanah sebesar 24°C, pada plot 2, 4 dan 5 memiliki suhu tanah yang sama yakni sebesar 25°C, terakhir pada plot ke-3 memiliki suhu tanah sebesar 26°C. Bakteri metanotrof ditemui pada kondisi Suhu tanah berkisar antara 25-35°C dan nilai pH optimum untuk pertumbuhan metanotrof yang paling dikenal dalam kultur murni yakni sebesar (6,0 hingga 7,0) (Hanson & Hanson, 1996a). *Methylophaga* termasuk bakteri terestrial merupakan bakteri yang sering hidup pada area permukaan, biasanya sering ditemukan pada kondisi tanah yang lembab seperti pada kondisi lantai hutan alam yang memiliki nilai kerapatan vegetasi tinggi (Doronina et al., 2004). *Methylophilus sp.*, merupakan bakteri gram negatif aerobik yang terjadi secara tunggal dan berpasangan. Selain metanol dan glukosa, berbagai senyawa karbon lainnya termasuk fruktosa dan metilamin dapat digunakan sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Koloni bakteri genus ini, pada agar methanol-mineral salts berwarna putih keabu-abuan. Sel-selnya bergerak dengan flagela tunggal (Byrom et al., 1987). Bersifat tembus cahaya hingga buram, mengoksidasi metanol menjadi formaldehida (Doronina et al., 2005).

Menurut (Hapsary, 2008), bahwa Bakteri metanotrof menggunakan enzim *Methane Monooxygenase* (MMO) untuk mengoksidasi metana menjadi metanol, dimana enzim tersebut terdiri dari dua jenis MMO, yaitu *Soluble Methane Monooxygenase* (sMMO) dan *Particulate Methane Monooxygenase* (pMMO). Enzim *Particulate Methane Monooxygenase* (pMMO) merupakan enzim yang sangat membutuhkan tembaga dalam aktivitasnya, sedangkan enzim alternatif *Soluble Methane Monooxygenase* (sMMO) digunakan oleh bakteri metanotrof bilamana dalam keadaan terbatas unsur tembaga. Menurut (Hanson & Hanson, 1996a) bahwa proses oksidasi metan menjadi metanol lalu menjadikannya lagi menjadi CO₂ perlu melalui beberapa proses yang panjang dimana oksidasi metanol dibantu dengan enzim metanol *Dehydrogenase* yang akan megubah metanol menjadi formaldehida. Enzim *Formaldehida Dehydrogenase* tersebut akan mengoksidasi *Formaldehida* menjadi format yang kemudian akan dioksidasi menjadi CO₂. *Methylophaga* termasuk bakteri terestrial merupakan bakteri yang sering hidup pada area permukaan, biasanya sering ditemukan pada kondisi tanah yang lembab seperti pada kondisi lantai hutan alam yang memiliki nilai kerapatan vegetasi tinggi (Doronina et al., 2004). *Methylophilus sp.*, merupakan bakteri gram negatif aerobik yang terjadi secara tunggal dan berpasangan. Selain metanol dan glukosa, berbagai senyawa karbon lainnya termasuk fruktosa dan metilamin dapat digunakan sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Koloni bakteri genus ini, pada agar methanol-mineral salts berwarna putih keabu-abuan. Sel-selnya bergerak dengan flagela tunggal (Byrom et al., 1987). Bersifat tembus cahaya hingga buram, mengoksidasi metanol menjadi formaldehida (Doronina et al., 2005).

Bakteri *Methylophaga* memiliki banyak jenis dengan tipe yang berbeda. Beberapa diantaranya heterotrofik yang pertumbuhannya didukung hanya oleh fruktosa, beberapa kasus alkanesulfonat rantai panjang dan heterosiklik sulfur. Beberapa spesies tumbuh secara anaerob dengan denitrifikasi parsial dan aerob obligat, tetapi akan mereduksi nitrat menjadi nitrit di udara (Boden, 2021). Sedangkan genus *Methylophilus sp.*, adalah tipe bakteri Anaerobik (Mulyanto et al., 2020). Sifat tanah berpengaruh kuat terhadap kehidupan mikroanya. Pada budidaya lahan kering, produksi CH₄ terbatas pada site-site anaerob dan kondisinya sangat menunjang pertumbuhan metanotrof sehingga meningkatkan kapasitas serapan CH₄. Serapan CH₄ pada lahan kering sebesar 0.051 - 0.055 mg m⁻² jam⁻¹ (Suprihati et al., 2006). Saat ini, oksidasi metana anaerobik (AOM) dianggap memainkan peran penting dalam melemahkan emisi gas rumah kaca yang kuat ke atmosfer (Wang & Yao, 2021). Bakteri metanotrof dengan tipe Anaerobik mampu mengoksidasi metan menjadi hidrogen sulfida, sulfida, nitrogen, nitrogen oksida, besi dan mangan, sedangkan bakteri metanotrof dengan tipe aerobik mampu mengoksidasi metan menjadi air/embun. Berikut merupakan tahapan dalam proses oksidasi metana pada genus bakteri *Methylophaga* (tipe aerobik) dan *Methylophilus sp.*, (tipe anaerobik).

Mampunya metanotrof dalam mengoksidasi metan dapat dikombinasikan dengan teknik budidaya seperti Agroforestri dimana dapat lebih besar membantu mengurangi terjadinya emisi gas metan pada atmosfer (Supriatin, 2018). Peningkatkan kandungan karbon atau nitrogen dalam tanah guna memberikan sumber utama pakan bakteri metanotrof dengan komposisi yang sesuai guna langkah mitigasi perubahan iklim melalui bakteri metanotrof. Penggunaan tanaman sebagai objek pengaplikasian juga perlu ditentukan dengan kemampuannya dalam menyerap unsur yang ditambahkan agar dapat memaksimalkan dalam kemampuannya untuk mengurangi terjadinya emisi

gas metan. Menurut Fatma (2019) mengatakan pengembangan dalam kombinasi bakteri metanotrof mampu meningkatkan pertumbuhan serta meningkatkan hasil panen terutama pada lahan Agroforestri. Informasi dasar tersebut mampu dijadikan pengembangan dalam pengombinasian bakteri metanotrof sebagai pupuk hayati guna meningkatkan kelestarian.

4. Kesimpulan

Kelimpahan koloni bakteri metanotrof yang ditemukan pada kawasan sistem agroforestri KHDTK UMM Pujon Hill memiliki rata-rata sebesar $1,96 \times 10^5$ Cfu/ μ l. Jenis bakteri metanotrof yang berhasil diidentifikasi dari kawasan sistem agroforestri pada KHDTK Pujon Hill UMM yaitu *Methylophilus sp.*, dan *Methylophaga sp.*

Ucapan Terimakasih

Terima kasih kepada Pimpinan Universitas Muhammadiyah Malang yang telah mendanai penelitian ini serta UPT KHDTK Pujon Hill yang telah memberikan izin dalam pengambilan sampel tanah bahan utama penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Adriantama, S., & Nontji, M. (2021). Isolasi Dan Identifikasi Morfologi Serta Uji Pelarutan Fosfat Terhadap Bakteri Rhizosfer Tanaman Kedelai (*Glycine max* L .) Isolation and Morphological Identification and Phosphate Dissolution Test against Rhizosphere Bacteria in Soybean Plants (*Glycine*. *AGrotekMAS Jurnal Indonesia: Jurnal Ilmu Pertanian*, 2(1), 24–32.
- Amanda, N. W., Artika, I. M., & Rusmana, I. (2017a). Pemanfaatan Bakteri Sebagai Pereduksi Emisi Gas Metana Pada Limbah Cair Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Current Biochemistry*, 4(2), 23–37. <https://doi.org/10.29244/cb.4.2.23-37>
- Amanda, N. W., Artika, I. M., & Rusmana, I. (2017b). Pemanfaatan Bakteri Sebagai Pereduksi Emisi Gas Metana Pada Limbah Cair Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Current Biochemistry*, 4(2), 23–37. <https://doi.org/10.29244/cb.4.2.23-37>
- Azmi, K., & Arif, C. (2018). Analisis sensitivitas emisi gas metana (CH₄) pada sawah dengan metode korelasi rank spearman. *Jurnal Teknik Sipil Dan Lingkungan*, 3(2), 97–110. <https://doi.org/10.29244/jsil.3.2.97-110>
- Bergey, D. H. and J. G. H. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*.
- Boden, R. (2021). *Methylophaga*. *October*, 1–17. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01218.pub2>
- Byrom, D., Jenkins, O., & Joned, D. (1987). *Methylophilus* : a New Genus of Methanol-Utilizing Bacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 37(4), 446–448.

- Doronina, N., Ivanova, E., Trotsenko, Y., Pshenichnikova, A., Kalinina, E., & Shvets, V. (2005). *Methylophilus quaylei* sp. nov., a new aerobic obligately methylotrophic bacterium. *Systematic and Applied Microbiology*, 28(4), 303–309. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.02.002>
- Doronina, N. V., Trotsenko, Y. A., Kolganova, T. V., Tourova, T. P., & Salkinoja-Salonen, M. S. (2004). *Methylobacillus pratensis* sp. nov., a novel non-pigmented, aerobic, obligately methylotrophic bacterium isolated from meadow grass. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(5), 1453–1457. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02956-0>
- Gunawan, G., Wijayanto, N., & Wilarso Budi, S. R. (2019). Karakteristik Sifat Kimia Tanah dan Status Kesuburan Tanah pada Agroforestri Tanaman Sayuran Berbasis Eucalyptus Sp. *Jurnal Silvikultur Tropika*, 10(02), 63–69.
- Hanson, R. S., & Hanson, T. E. (1996a). *Methanotrophic Bacteria*. 60(2), 439–471.
- Hanson, R. S., & Hanson, T. E. (1996b). Methanotrophic bacteria. *Microbiological Reviews*, 60(2), 439–471. <https://doi.org/10.1128/mr.60.2.439-471.1996>
- Hapsary, W. (2008). *Isolasi karakterisasi bakteri metanotrof asal sawah di Bogor dan Sukabumi* (Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Ed.; pp. 1–18). Institut Pertanian Bogor.
- Mayrowani, H., & Ashari, N. (2011). Pengembangan Agroforestry untuk Mendukung Ketahanan Pangan dan Pemberdayaan Petani Sekitar Hutan. *Forum Penelitian Agro Ekonomi*, 29(2), 83. <https://doi.org/10.21082/fae.v29n2.2011.83-98>
- Mulyanto, A., Pratama, R. A., & Nugraha, W. (2020). Biofilter Sebagai Perangkat Bau Pada Unit Pretreatment Sampah. 13(1), 56–70.
- Musyafa, M. N. Al, Afandi, & Novpriansyah, H. (2016). Kajian Sifat Fisik Tanah Pada Lahan Pertanaman Nanas (*Ananas Comosus* L.) Produksi Tinggi dan Rendah Di PT Great Pineapple Lampung Tengah. *Jurnal Agrotek Tropika*, 4(1), 66–69.
- Nonci, M., Baharuddin, B., Rasyid, B., & Pirman, P. (2015). Seleksi Bakteri Methanotrof (Pereduksi Emisi Gas Metan Di Lahan Sawah) Berdasarkan Aktivitas Enzim Methan Monooksigenase. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 13(2), 87. <https://doi.org/10.14710/jil.13.2.87-91>
- Nonci, M., & Rasyid, B. (2015). 10550-23938-1-Sm. 13(2), 86–91.
- Nugroho, A. F., Ichwandi, I., & Kosmaryandi, N. (2017). KHUSUS (*Studi Kasus Hutan Pendidikan dan Latihan Gunung Walat*). 2(2), 51–59.
- Nurhidayati, S., Faturrahman, F., & Ghazali, M. (2015). Deteksi Bakteri Patogen Yang Berasosiasi Dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 1(2), 24–30. <https://doi.org/10.29303/jstl.v1i2.53>

- Oka Suparwata, D. (2018). Pandangan Masyarakat Pinggiran Hutan Terhadap Program Pengembangan Agroforestri. *Jurnal Penelitian Sosial Dan Ekonomi Kehutanan*, 15(1), 47–62. <https://doi.org/10.20886/jpsek.2018.15.1.47-62>
- Pangala, S. R., Moore, S., Hornibrook, E. R. C., & Gauci, V. (2013). Trees are Major Conduits for Methane Egress from Tropical Forested Wetlands. *New Phytologist*, 197(2), 524–531. <https://doi.org/10.1111/nph.12031>
- P.K. Ramachandran Nair. (1994). An Introduction to Agroforestry. In *Outlook on Agriculture* (Vol. 23, Issue 4). <https://doi.org/10.1177/003072709402300413>
- Pulungan, A. S. S., & Tumangger, D. E. (2018). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase Dari Daun Buasbuas (*Premna Pubescens* Blume). *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan)*, 5(1), 71. <https://doi.org/10.31289/biolink.v5i1.1665>
- Purbawiyatna, A., Kartodihardjo, H., Alikodra, H. S., Prasetyo, L. B., Ipb, K., & Bogor, D. (2011). Di Kawasan Berfungsi Lindung (Analysis of Sustainability of Private Forest Management in Protection Area) Sekolah Pascasarjana , Institut Pertanian Bogor , Kampus IPB Dramaga Bogor 16680 Departemen Manajemen Kehutanan , Fakultas Kehutanan Institut Perta. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam Dan Lingkungan*, 1, 84–92.
- Rusmana, I., & Akhdiya, A. (2009). Isolation and characterization of methanotrophic bacteria from rice fields. *Biotropia*, 16(2), 71–78. <https://doi.org/10.11598/btb.2009.16.2.53>
- Sofiana, U. R., Sulardiono, B., & Nitisupardjo, M. (2016). Hubungan Kandungan Bahan Organik Sedimen Dengan Kelimpahan Infauna Pada Kerapatan Lamun Yang Berbeda Di Pantai Bandengan Jepara. *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*, 5(3), 135–141. <https://doi.org/10.14710/marj.v5i3.14400>
- Suharjito, D. (2014). *Devolusi Pengelolaan Hutan dan Pembangunan Masyarakat Pedesaan*.
- Suprayogo, D., Hairiah, K., Wijayanto, N., Sunaryo, & Noordwijk, M. van. (2003). *Peran Agroforestri pada Skala Plot : 1–34*.
- Supriatin, L. S. (2018). Penentuan Musim Tanam, Jenis Varietas, Dan Teknik Budidaya Tanaman Padi Terkait Mitigasi Emisi Metana (CH₄) (Determination of Early Planting Season, Type Varieties, and Cultivation Techniques of Rice as Mitigation to Methane Emission). *Jurnal Manusia Dan Lingkungan*, 24(1), 1. <https://doi.org/10.22146/jml.23077>
- Suprihati, Anas, I., Murdiyarso, D., Sabiham, S., & Djajakirana, G. (2006). *Fluks Metana dan Karakteristik Tanah pada Beberapa Macam Sistem Budidaya Methane Flux and Soil Characteristic in Several Cropping Systems*. 187(34), 181–187.
- Ulfa, A., Suarsini, E., & Henie, M. (2016). Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat : Penelitian Pendahuluan

Isolation and Mercury Sensitivity Test of Bacterias Isolated from Waste Disposal in Gold Mining Area in West S. *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1), 793–799.

Wang, J., & Yao, H. (2021). Applications of DNA/RNA-stable isotope probing (SIP) in environmental microbiology. In *Fluorescent Probes* (1st ed., Vol. 48). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2020.11.004>

Wassie, T., & Wassie, M. (2016). Isolation, Characterization and Identification of Lactic Acid Bacteria from Ready to Consume Shamita: Ethiopian Traditional Fermented Beverage. *International Journal of Life Sciences and Technology*, 9(6), 51–55.

Wihardjaka, A. (2015). Mitigation of Methane Emission Through Lowland Management. *Journal Litbang Pertanian*, 32(2), 95–104.

Yuspita, N. L. E., Putra, I. D. N. N., & Suteja, Y. (2017). Bahan Organik Total dan Kelimpahan Bakteri di Perairan Teluk Benoa, Bali. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*, 4(1), 129. <https://doi.org/10.24843/jmas.2018.v4.i01.129-140>