

Aplikasi Konsorsium Bakteri sebagai Upaya Mitigasi Penurunan Emisi Gas Rumah Kaca di Lahan Sawah

Application of Consortium Bacteria as a Mitigation Option for Reducing of Greenhouse Gas Emissions in Paddy Fields

Terry Ayu Adriany^{1,2}, Syaiful Anwar¹, Alina Akhdiya², Anicetus Wihardjaka², Mas Teddy Sutriadi²

¹ Magister Bioteknologi Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Jl. Kamper, Gedung PAU Lt. 1 Kampus IPB Darmaga, Bogor, Jawa Barat 16680

² Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta-Bogor Km 46, Cibinong, Bogor, Jawa Barat 16911

INFORMASI ARTIKEL

Riwayat artikel:

Diterima: 22 Maret 2022

Disetujui: 15 Juni 2022

Dipublikasi online: 19 Juli 2022

Kata Kunci:

Emisi CH₄

Emisi N₂O

Bakteri pengoksidasi metana

Bakteri pendenitrifikasi

Keywords:

CH₄ emission

N₂O emission

Methane oxidizing bacteria

Denitrifying bacteria

Direview oleh:

Etty Pratiwi, Ai Dariah

Abstrak. Budi daya padi sawah berkontribusi terhadap pelepasan emisi gas rumah kaca (GRK) ke atmosfer, terutama CH₄ dan N₂O. Salah satu upaya mitigasi untuk menekan emisi GRK di lahan sawah yaitu dengan memanfaatkan bakteri pereduksi GRK (CH₄ dan N₂O). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh aplikasi konsorsium bakteri dan bahan organik terhadap penurunan emisi CH₄ dan N₂O. Penelitian dilaksanakan di Kebun Percobaan Balai Penelitian Lingkungan Pertanian, Pati, Jawa Tengah. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok dengan dua faktor dan tiga ulangan. Faktor pertama konsorsium bakteri yaitu R0 = tanpa pemberian mikroba, R1 = SI5, OF4, BD4; R2 = SI5, TH6, OF4; dan R3 = SI5, BD4, *Bacillus aryabhatai*. Faktor kedua pemberian bahan organik yang terdiri dari O0 = tanpa bahan organik dan O1 = pupuk kandang sapi 2 ton ha⁻¹. Kondisi air tergenang terus menerus dipertahankan pada ketinggian air 3-5 cm diatas permukaan tanah. Parameter utama yang diamati adalah emisi CH₄ dan N₂O yang dikeluarkan dari budi daya padi sawah. Parameter lain yang diamati yaitu hara tanah, jumlah total populasi bakteri metanotrof dan pendenitrifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsorsium bakteri R3 (*Amorphomonas oryzae*, *Bordetella petrii*, *B. aryabhatai*) mampu menekan emisi CH₄ dengan penurunan 19,63% dibandingkan perlakuan tanpa pemberian bakteri (R0). Pemberian konsorsium bakteri (R1, R2, dan R3) mampu menurunkan emisi N₂O sekitar 27,05% sampai 33,49% dibandingkan perlakuan R0. Konsorsium bakteri R3 mampu menekan pelepasan emisi CH₄ dan N₂O di lahan padi sawah, sehingga dapat menjadi salah satu opsi mitigasi prospektif dalam mewujudkan sistem pertanian ramah lingkungan.

Abstract. Rice cultivation practices contribute significantly to greenhouse gas (GHG) emissions to the atmosphere, mainly CH₄ and N₂O. One of the mitigation options to reduce GHG emissions (CH₄ and N₂O) in paddy fields is to utilize GHG reducing bacteria. The study aimed to determine the effect of bacterial consortium and organic matter applications on reducing CH₄ dan N₂O emissions. The research was conducted at the experimental station of the Indonesian Agricultural Environment Research Institute, Pati, Central Java, Indonesia. Eksperimental design used a randomized block design with two factors and three replications. The first factor was bacterial consortium, namely R0 = without microbes; R1 = SI5, OF4, BD4; R2 = SI5, TH6, OF4; and R3 = SI5, BD4, *Bacillus aryabhatai*. The second factor was organic matter application, O0 = without organic matter and O1 = farmyard manure 2 ton ha⁻¹. Water level condition was maintained at 3-5 cm on the soil surface. The main parameters were CH₄ and N₂O emissions released from the rice cultivation. Other observed parameters were soil nutrients, total population of methanotrophic and denitrifying bacteria. The results showed that the bacterial consortium R3 (*Amorphomonas oryzae*, *Bordetella petrii*, *B. aryabhatai*) reduced CH₄ emissions by 19.63% compared to treatment without microbes (R0). The application of bacterial consortium (R1, R2, and R3) decreased N₂O emissions by 27.05% to 33.49% compared to the R0 treatment. Bacterial consortium R3 could reduce both CH₄ and N₂O emissions in paddy fields, so it can be recommended as a prospective mitigation option in realizing an environmentally friendly agricultural system.

Pendahuluan

Lahan sawah berkontribusi melepaskan emisi gas rumah kaca (GRK) ke atmosfer seperti metana (CH₄),

dinitrogen oksida (N₂O) dan karbon dioksida (CO₂) (Wassman *et al.* 2004). Pengukuran emisi CH₄ dan N₂O selama periode tanaman padi menjadi fokus utama dalam perhitungan emisi GRK di lahan sawah yang meningkat

* Corresponding author: terryayu@apps.ipb.ac.id

seiring penerapan teknologi budi daya dan aplikasi pemupukan. Gas CH₄ dan N₂O di atmosfer masing-masing memiliki potensi pemanasan global 34 kali dan 298 kali potensi pemanasan global dibandingkan CO₂ (IPCC 2013).

Budi daya padi pada kondisi lahan sawah tergenang, kondisi oksigen terbatas (anaerob), dan redoks potensial tanah yang rendah merupakan kondisi optimum pembentukan gas CH₄. Pembentukan CH₄ melibatkan *Archaea* metanogen yang menghasilkan CH₄ sebagai produk akhir metabolismenya. *Archaea* metanogen memanfaatkan sumber karbon sebagai sumber energi seperti karbon dioksida (CO₂), metil alkohol (CH₃OH), asetat (CH₃COO⁻) dan mengubahnya menjadi CH₄ (Serrano-Silva *et al.* 2014). Sebagian besar pelepasan CH₄ ke atmosfer pada tanaman padi sawah melalui jaringan aerenkim tanaman padi (Cheng *et al.* 2006; Das dan Baruah 2008; Iqbal *et al.* 2020).

Kegiatan budi daya tanaman padi sawah tidak terlepas dari pemberian pupuk nitrogen (N) ke dalam tanah, baik berupa pupuk organik ataupun pupuk sintetis. Pemberian pupuk N bertujuan untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Nitrogen adalah salah satu unsur penting bagi pertumbuhan tanaman. Namun di sisi lain, pemberian pupuk N menjadi sumber pelepasan emisi N₂O ke atmosfer. Emisi N₂O yang besar dari tanah pertanian dihasilkan dari akumulasi N₂O selama proses denitrifikasi. Peningkatan aplikasi pupuk N dapat meningkatkan emisi N₂O dari lahan budi daya tanaman (Richardson *et al.* 2009; Kim *et al.* 2021). Lebih dari dua pertiga emisi N₂O berasal dari proses nitrifikasi dan denitrifikasi oleh bakteri dan jamur di dalam tanah, yang sebagian besar sebagai akibat dari aplikasi pupuk N (Thomson *et al.* 2012). Selain meningkatkan emisi N₂O, pupuk N juga dapat menstimulasi peningkatan emisi CH₄ ke atmosfer (Dong *et al.* 2017).

Upaya yang dapat dilakukan untuk menekan emisi GRK di lahan sawah yaitu dengan pengelolaan air basah kering (*alternate wetting and drying/AWD*) yang mampu menurunkan emisi GRK 35-38% (Setyanto *et al.* 2017; Islam *et al.* 2020). Sistem irigasi ini menciptakan kondisi yang kaya oksigen pada perakaran tanaman padi sawah, menekan pertumbuhan *Archaea* metanogen dan meningkatkan pertumbuhan bakteri metanotrof pengoksidasi metana (*methane-oxidizing bacteria/MOB*) yang bersifat aerobik. Bakteri ini memanfaatkan CH₄ atau metanol sebagai sumber karbon dalam proses metabolismenya (Hanson dan Hanson 1996). Keberadaan bakteri metanotrof mampu menurunkan emisi CH₄ (Lee *et al.* 2014), dengan gen-gen penyandi enzim metana monooksigenase (MMO) yang mampu mengkatalis CH₄

menjadi CO₂ dan H₂O pada kondisi aerob (Hanson dan Hanson 1996; Serrano-Silva *et al.* 2014; Wang *et al.* 2021). Aplikasi bakteri pengoksidasi CH₄ di lahan sawah dengan kombinasi bakteri penambat N₂ dan bakteri pelarut fosfat dapat menurunkan emisi CH₄ hingga 60% (Davamani *et al.* 2020). Di sisi lain, upaya yang dapat dilakukan untuk menurunkan emisi N₂O dari tanah yaitu dengan mengurangi input pupuk nitrogen ke dalam tanah. Namun, upaya tersebut dikhawatirkan dapat menurunkan produktivitas tanaman. Beberapa upaya yang dapat dilakukan untuk menekan pelepasan emisi N₂O yaitu dengan penggunaan bahan alami penghambat nitrifikasi (Upadhyay *et al.* 2011; Susilawati *et al.* 2021), aplikasi biochar (Zhang *et al.* 2020; Rittel *et al.* 2021), penggantian pupuk urea dengan kalsium amonium nitrat (Harty *et al.* 2016), dan aplikasi pupuk N yang lebih rendah. Selain itu, aplikasi bakteri yang memiliki aktivitas enzim *nitrate-*, *nitrite-*, *nitrous oxide reductase* dapat menurunkan emisi N₂O (Itakura *et al.* 2012).

Emisi GRK di lahan sawah akan meningkat seiring dengan penerapan teknologi budi daya dengan sistem irigasi tergenang terus-menerus dan aplikasi pupuk N berlebih. Oleh karena itu, diperlukan upaya mitigasi emisi GRK di lahan sawah dengan pemanfaatan bakteri yang potensial dalam menekan emisi GRK dan ramah lingkungan. Laboratorium Balai Penelitian Lingkungan Pertanian, Pati, Jawa Tengah memiliki koleksi bakteri yang potensial untuk menurunkan emisi gas CH₄ dan N₂O dari tanah sawah yang diisolasi dari agroekosistem yang berbeda yaitu SI5, TH6 dan OF4 (Adriany *et al.* 2021a), BD4 yang diisolasi dari *slurry* biodigester, dan *Bacillus aryabhatai* yang diisolasi dari tanah tercemar residu pestisida yang dapat meningkatkan total populasi bakteri penambat N₂ non simbiotik dan meningkatkan produktivitas tanaman (Wahyuni *et al.* 2018). Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh aplikasi konsorsium bakteri-bakteri tersebut dan bahan organik terhadap penurunan emisi GRK di lahan sawah.

Bahan dan Metode

Rancangan Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Kebun Percobaan Balai Penelitian Lingkungan Pertanian, Kabupaten Pati, Provinsi Jawa Tengah pada musim kemarau (MK I) yaitu dari bulan Maret sampai Agustus 2021. Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak kelompok dengan dua faktor dan tiga ulangan. Pengelompokan dilakukan berdasarkan tinggi muka lahan sawah yang berbeda antarkelompok. Faktor pertama adalah konsorsium bakteri

untuk menekan emisi GRK yaitu R0 = tanpa mikroba, R1 = SI5, OF4, BD4; R2 = SI5, TH6, OF4; dan R3 = SI5, BD4, *B. aryabhatai*. Informasi bakteri isolat ditampilkan pada Tabel 1. Faktor kedua adalah pemberian bahan organik, O0 = tanpa bahan organik dan O1 = pupuk kandang sapi (pukan sapi) 2 ton ha⁻¹ dengan C/N rasio sebesar 24 dan pH 8,21.

Bibit tanaman varietas padi Inpari 32 ditanam pindah saat berumur 15 hari setelah semai (HSS) dengan jarak tanam 20 cm x 20 cm pada masing-masing petak berukuran 6 m x 6 m. Takaran pupuk sintetis yang digunakan yaitu 120 kg N + 45 kg P₂O₅ + 60 kg K₂O per hektar. Dosis tersebut merupakan rekomendasi pemupukan dari hasil kandungan hara tanah. Pemupukan diberikan pada 7 hari setelah tanam (HST) untuk pupuk pertama ($\frac{1}{3}$ N + $\frac{1}{3}$ K + P), pupuk kedua ($\frac{1}{3}$ N + $\frac{1}{3}$ K) 28 HST, pupuk ketiga ($\frac{1}{3}$ N + $\frac{1}{3}$ K) 49 HST. Selama periode pertumbuhan tanam padi, ketinggian muka air dipertahankan 3-5 cm di atas permukaan tanah untuk menciptakan kondisi optimum dalam pembentukan emisi CH₄.

Tiga tahapan aplikasi konsorsium bakteri adalah *seed treatment*, fase vegetatif (30 HST), dan fase generatif (55 HST). Aplikasi *seed treatment* dilakukan dengan perendaman bibit tanaman padi (15 HSS) dengan inokulum formulasi bakteri 500 ml ha⁻¹ kepadatan 10⁵ CFU ml⁻¹ (CFU = *colony forming unit*) sebelum ditanam pada lahan sawah. Aplikasi konsorsium bakteri pada fase vegetatif dan awal generatif diberikan dengan cara penyemprotan larutan inokulum di atas permukaan tanah

pada dosis 6 liter ha⁻¹ dengan kerapatan sel 10⁵ CFU ml⁻¹. Pengenceran larutan inokulum konsorsium bakteri dilakukan dengan melarutkan dalam air pada perbandingan 1:100 (v/v).

Pengukuran Emisi GRK

Pengukuran fluks harian CH₄ dan N₂O dilakukan setiap satu minggu sekali dengan menggunakan sungkup tertutup (*closed chamber*) selama periode pertumbuhan tanaman. Sungkup terbuat dari plastik mika transparan, ketebalan 0,8 mm dengan rangka aluminium berukuran 50 cm x 50 cm x 100 cm dan dilengkapi dengan penampang bawah berukuran 50 cm x 50 cm. Sampel gas diambil dengan *syringe* 20 ml dan dimasukkan ke dalam botol vial 10 ml (vakum) dengan interval pengambilan yaitu setiap 0, 10, 20, 30 dan 40 menit.

Konsentrasi gas CH₄ dan N₂O dalam botol sampel dianalisis menggunakan gas *chromatography* (GC) Shimadzu 2014 yang dilengkapi dengan *flame ionization detector* (FID) untuk menentukan konsentrasi gas CH₄ dan *electron capture detector* (ECD) untuk menentukan konsentrasi gas N₂O. Fluks (F)/Emisi harian (E) dari CH₄ dan N₂O yang lepas dari satu luasan tanah sawah dihitung berdasarkan persamaan yang diadopsi dari IAEA (1992) sebagai berikut:

$$E = (dc/dt) \times (V/A) \times (MW/MV) \times (273/273+T)$$

Keterangan :

$$E \quad : \text{Fluks CH}_4 \text{ dan N}_2\text{O (mg m}^{-2} \text{ hari}^{-1}\text{)}$$

Tabel 1. Karakteristik bakteri

Table 1. *Bacteria characteristics*

No	Isolat bakteri	Asal Isolat	Karakteristik	Warna koloni
1.	SI5 <i>Amorphomonas oryzae</i>	Lahan sawah (irigasi teknis), Desa Brati, Pati, Jawa Tengah	Gram negatif, aerobik,	Kuning-krem
2.	OF4 <i>Ciceribacter sp.</i>	Lahan sawah <i>organic farming</i> , Desa Tambahmulyo, Pati, Jawa Tengah	Gram negatif, aerobik,	Coklat tua
3.	BD4 <i>Bordetella petrii</i>	Biodigester, Balingtan, Pati, Jawa Tengah	Gram negatif, anaerobik fakultatif	Putih-krem
4.	TH6 (belum teridentifikasi)	Lahan sawah tadah hujan, Desa Sidomukti, Pati, Jawa Tengah	Gram negatif, aerobik	Coklat
5.	<i>Bacillus aryabhatai</i>	Lahan sawah tercemar residu pestisida, Desa Sukamenak, Karawang, Jawa Barat	Gram positif, aerobik, penambat N ₂	Putih

Keterangan: warna koloni diamati pada media NMS + 1% metanol

- dc/dt : Laju perubahan konsentrasi per satuan waktu CH₄ (ppm menit⁻¹), N₂O (ppb menit⁻¹)
- V : Volume sungkup (m³)
- A : Luas sungkup (m²)
- MW : Berat molekul CH₄ dan N₂O (gram)
- MV : Volume molekul CH₄ dan N₂O (liter)
- T : Temperatur rata-rata selama pengambilan contoh gas (°C)
- 273 : Standar suhu Kelvin

Perhitungan total emisi CH₄ dan N₂O selama periode pertumbuhan tanaman padi menggunakan *trapezoidal integration method* yang merupakan interpolasi linear dan integrasi numerik antara waktu pengambilan sampel GRK yang dilakukan selama periode pertumbuhan tanaman padi (Minamikawa *et al.* 2015).

Analisis Tanah dan Kelimpahan Mikrob Tanah

Analisisa hara tanah dilakukan dengan pengambilan sampel tanah pada kedalaman lapisan olah tanah 0-20 cm untuk tanah awal (Tabel 2) dan pascapanen. Unsur hara tanah yang dianalisis yaitu: C organik, (Walkey dan Black), NH₄ dan NO₃ (ekstrak Morgan Wolf), P tersedia (Bray), K tersedia (ekstrak Morgan Wolf), dan pH tanah (H₂O). Jenis tanah sawah pada penelitian ini diklasifikasikan sebagai *silt loam, Aeris Endoaquaps*.

Metode penghitungan jumlah total populasi bakteri metanotrof menggunakan *most probable number* (MPN) dengan hasil positif terbentuk gas di dalam tabung Durham (Davamani *et al.* 2020) pada media *Nitrate Mineral Salt* (NMS) + 1% metanol. Populasi bakteri denitrifikasi menggunakan metode MPN pada media *Nutrient Broth*

(NB) dan KNO₃ dengan hasil positif adanya gas yang terbentuk di dalam tabung Durham. Metode MPN menggunakan lima seri tabung untuk setiap pengenceran dan penentuan jumlah populasi bakteri sesuai tabel MPN (Trolldenier 1996). Perhitungan total populasi bakteri dihitung dengan rumus sebagai berikut (Haryanti *et al.* 2014):

$$\text{Total populasi (CFU g}^{-1} \text{ tanah)} = \frac{a}{v} \times \frac{1}{fp}$$

Keterangan:

CFU : *Colony forming unit*

a : Rata-rata jumlah koloni

v : Volume suspensi yang dibiakkan

fp : Faktor pengenceran

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan lapang dan laboratorium dianalisis secara statistik dengan aplikasi *software* MINITAB versi 19 menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perlakuan dan interaksi dari dua faktor yang dicobakan. Apabila terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan dan interaksi dari kedua faktor akan dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf $\alpha = 5\%$.

Hasil dan Pembahasan

Penurunan Emisi CH₄ di Lahan Sawah

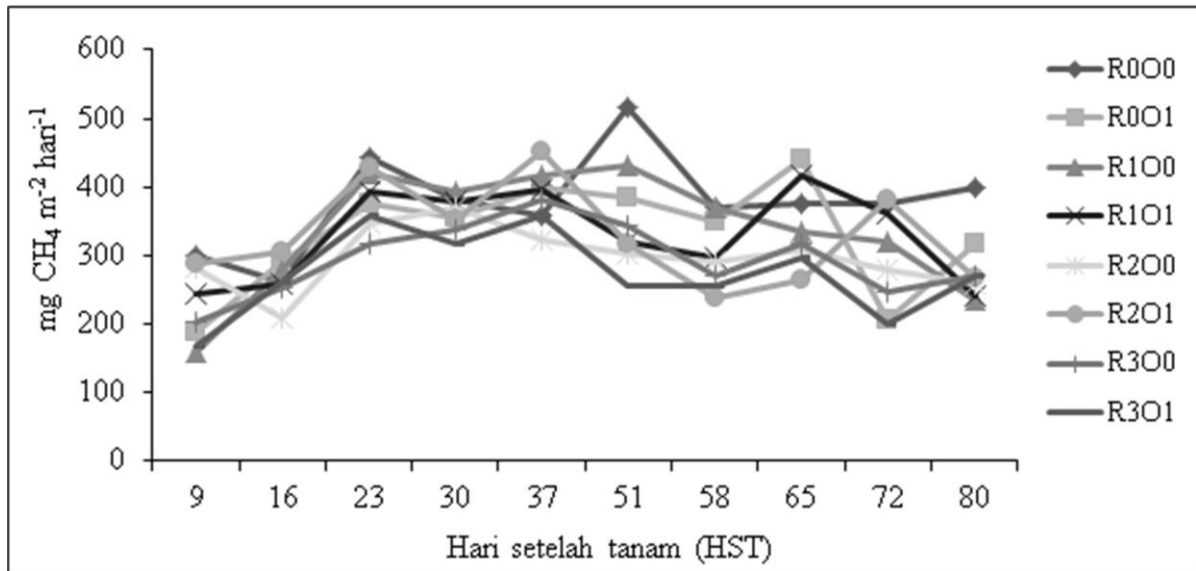
Hasil pengukuran fluks harian CH₄ dengan perlakuan aplikasi konsorsium bakteri dan bahan organik ditampilkan pada Gambar 1. Rata-rata fluks CH₄ harian

Tabel 2. Kandungan hara dan pH tanah pada awal pertanaman padi

Table 2. Soil nutrient and pH at initial rice cultivation

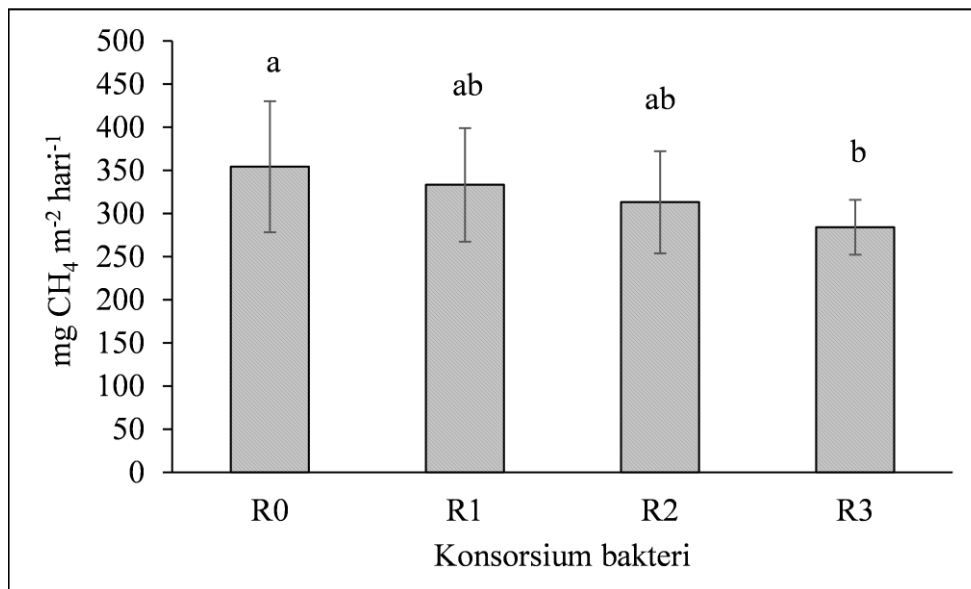
Hara tanah	Kandungan	Metode	Kriteria hasil analisis tanah*	
C organik	%	0,48	Walkey dan Black	Sangat rendah
N-NH ₄ ⁺	mg kg ⁻¹	1,97	Ekstrak morgan wolf	Rendah
N-NO ₃ ⁻	mg kg ⁻¹	9,34	Ekstrak morgan wolf	Sedang
P tersedia	mg kg ⁻¹	114,81	Bray	Sangat tinggi
K tersedia	mg kg ⁻¹	41,99	Ekstrak morgan wolf	Tinggi
pH		5,53	H ₂ O	Masam

*Sumber: Balai Penelitian Tanah, 2005



Gambar 1. Fluks harian CH₄ selama pertumbuhan tanaman varietas padi Inpari 32

Figure 1. Daily fluxes of CH₄ during rice growing season of Inpari 32 variety



Gambar 2. Rata-rata fluks harian CH₄ berdasarkan aplikasi konsorsium bakteri. Garis di atas batang menunjukkan simpangan baku (n=3). Huruf yang sama pada diagram batang menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada $\alpha = 5\%$

Figure 2. Average daily CH₄ fluxes based on bacterial consortium application. The line above each bar indicates standard deviation (n=3). The same letter in histogram showed not significant difference based on Tukey's HSD at $\alpha = 5\%$

pada seluruh perlakuan memiliki tren yang relatif sama. Peningkatan fluks CH₄ terjadi pada fase anakan aktif tanaman (23 HST) dan seiring dengan peningkatan pertumbuhan tanaman hingga memasuki fase generatif (51 HST). Penurunan emisi CH₄ terjadi pada fase pengisian biji hingga menjelang panen (80 HST). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa aplikasi konsorsium bakteri

R3 menghasilkan rata-rata fluks CH₄ harian lebih rendah sebesar 284 mg CH₄ m⁻² hari⁻¹ dibandingkan tanpa pemberian konsorsium bakteri (R0) selama periode pertumbuhan tanaman Inpai 32 (Gambar 2).

Hasil perhitungan total emisi CH₄ yang dilepaskan dari sistem budi daya padi sawah menunjukkan bahwa faktor pemberian konsorsium bakteri memiliki pengaruh yang

nyata terhadap emisi CH₄, sedangkan bahan organik dan interaksi kedua faktor tidak berpengaruh nyata terhadap emisi CH₄. Hasil perhitungan total emisi CH₄ berdasarkan jenis konsorsium bakteri R0, R1, R2 dan R3 masing-masing sebesar 270, 257, 240 dan 217 kg ha⁻¹ musim⁻¹ (Tabel 3). Aplikasi konsorsium bakteri menghasilkan emisi CH₄ terendah pada perlakuan R3 dan tertinggi pada perlakuan R0 (tanpa mikrob). Kehadiran bakteri potensial untuk menurunkan emisi GRK dari lahan sawah diharapkan dapat memberikan dampak positif bagi lingkungan. Hasil analisis statistika dengan uji BNJ pada taraf nyata 5% menunjukkan bahwa aplikasi konsorsium bakteri R3 (SI5, BD4, dan *B. aryabhatai*) mampu menghasilkan total emisi CH₄ terendah dengan penurunan emisi CH₄ sebesar 19,63% dibandingkan perlakuan tanpa aplikasi konsorsium bakteri (Tabel 3).

Penurunan emisi CH₄ pada perlakuan pemberian konsorsium bakteri merupakan indikasi kemampuan konsorsium bakteri tersebut dalam menekan pelepasan CH₄ ke atmosfer. Selain itu, dengan aplikasi konsorsium bakteri mampu meningkatkan kelimpahan bakteri pengoksidasi metana sebagai sumber karbon. Mekanisme oksidasi CH₄ menjadi CO₂ dan H₂O oleh bakteri pengoksidasi CH₄ dikatalis oleh beberapa enzim yaitu metana monooksigenase/MMO, metanol dehidrogenase, formaldehida dehidrogenase dan format dehidrogenase (Hanson dan Hanson 1996; Serrano-Silva *et al.* 2014;

Wang *et al.* 2021). Enzim MMO terdiri atas 2 tipe yaitu *soluble* MMO (sMMO) dan *particulate* MMO (pMMO). Proses oksidasi CH₄ lebih banyak dikatalisis oleh enzim pMMO, sedangkan sMMO dalam ekspresi aktivitas enzim yang dipengaruhi oleh keberadaan ion Cu (tembaga) dalam media pertumbuhannya. Enzim pMMO ditemukan pada sebagian besar bakteri pengoksidasi CH₄ (Semrau *et al.* 2010).

Penurunan Emisi N₂O di Lahan Sawah

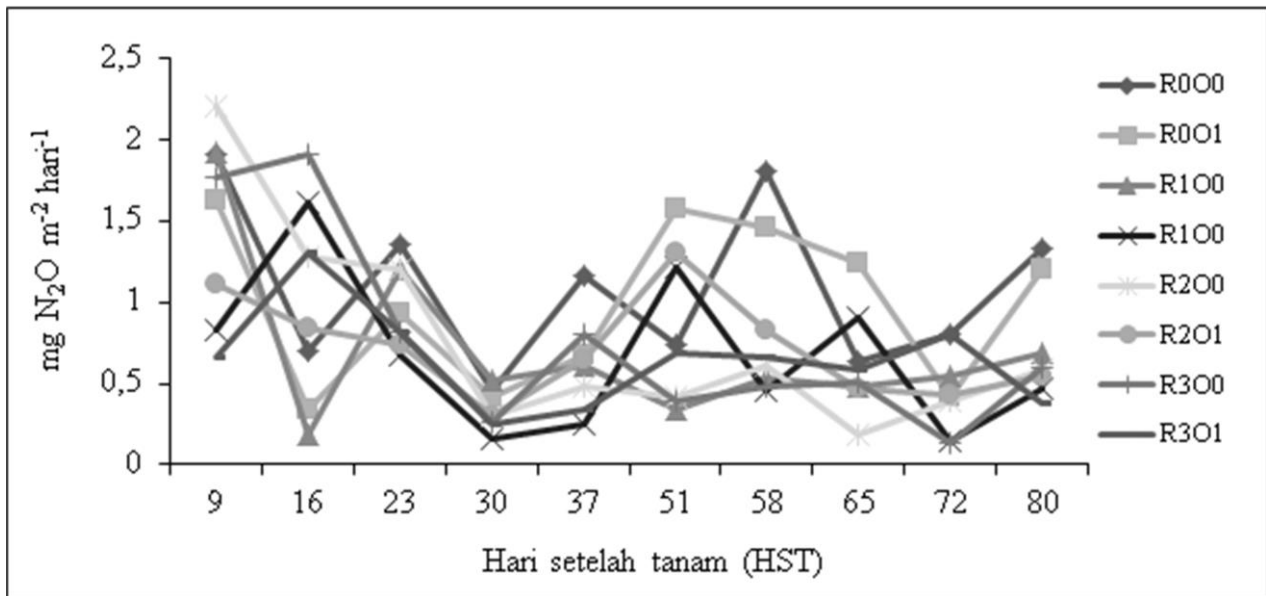
Proses pelepasan emisi N₂O sangat dipengaruhi oleh proses mikrobiologis nitrifikasi dan denitrifikasi dalam tanah (Thomson *et al.* 2012). Kondisi tanah kaya oksigen menguntungkan dalam proses nitrifikasi pembentukan NO₃⁻ (nitrat), sedangkan pada kondisi tanpa oksigen akan terjadi proses denitrifikasi yang menghasilkan N₂O sebagai hasil samping. Kedua proses tersebut diatur oleh faktor biotik dan abiotik serta interaksinya. Pihlatie *et al.* (2004) menyatakan bahwa pengatur utama dari pembentukan N₂O adalah kelembaban tanah, suhu, karbon organik, dan tekstur tanah. Selain itu, pemberian pupuk organik dan sintesis juga dapat meningkatkan aktivitas enzimatik mikrob tanah dan menyediakan unsur hara di dalam tanah (Saha *et al.* 2008), sehingga proses mikrobiologis tanah seperti nitrifikasi dan denitrifikasi akan meningkat dan meningkatkan pelepasan N₂O ke atmosfer.

Tabel 3. Total Emisi GRK dengan aplikasi konsorsium bakteri dan bahan organik

Table 3. Total GHG emissions with bacterial consortium and organic manure applications

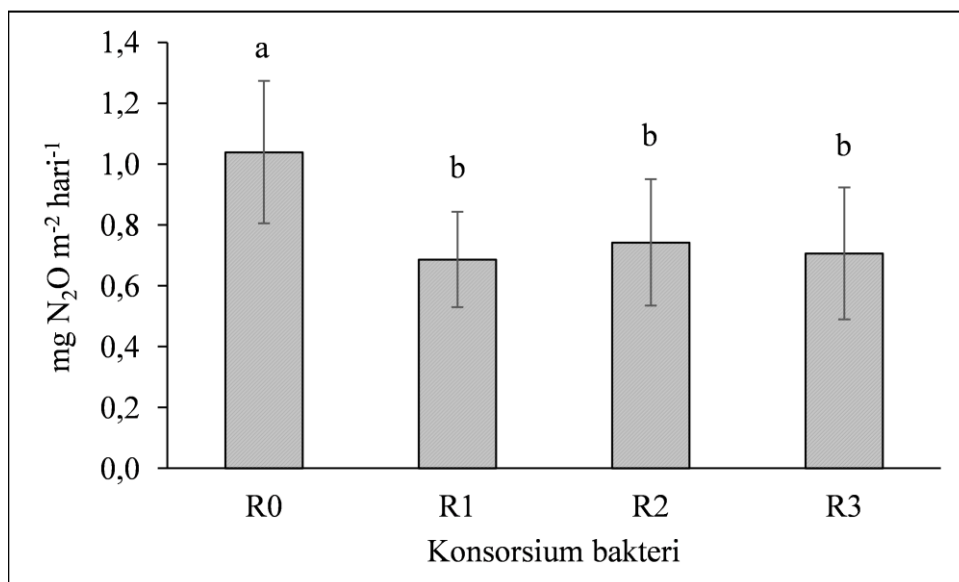
Perlakuan	O0 (tanpa BO)	O1 (BO)	Rerata
Emisi CH ₄ (kg CH ₄ ha ⁻¹)			
R0 (tanpa mikrob)	288,14 ± 60,99	252,10 ± 56,21	270,12 ± 50,05 ^a
R1 (SI5, OF4, BD4)	261,22 ± 59,38	253,34 ± 53,60	257,28 ± 50,77 ^{ab}
R2 (SI5, TH6, OF4)	226,50 ± 57,67	253,94 ± 41,98	240,22 ± 47,55 ^{ab}
R3 (SI5, BD4, <i>B. aryabhatai</i>)	226,31 ± 28,97	207,88 ± 26,22	217,10 ± 26,69 ^b
Rerata	250,54 ± 29,96 ^a	241,82 ± 22,64 ^a	
CV (%)	19,48		
Emisi N ₂ O (kg N ₂ O ha ⁻¹)			
R0 (tanpa mikrob)	0,81 ± 0,18	0,75 ± 0,19	0,78 ± 0,17 ^a
R1 (SI5, OF4, BD4)	0,53 ± 0,04	0,52 ± 0,17	0,52 ± 0,11 ^b
R2 (SI5, TH6, OF4)	0,57 ± 0,11	0,57 ± 0,20	0,57 ± 0,14 ^b
R3 (SI5, BD4, <i>B. aryabhatai</i>)	0,58 ± 0,19	0,49 ± 0,11	0,53 ± 0,15 ^b
Rerata	0,62 ± 0,07 ^a	0,58 ± 0,20 ^a	
CV (%)	28,86		

Keterangan: Angka di kanan simbol ± menunjukkan simpangan baku. Nilai pada setiap baris diikuti huruf yang sama antar perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf 5%.



Gambar 3. Fluks harian N₂O selama pertumbuhan tanaman varietas padi Inpri 32

Figure 3. Daily fluxes of N₂O during rice growing season of Inpri 32 variety



Gambar 4. Rata-rata fluks N₂O harian berdasarkan aplikasi konsorsium bakteri. Garis di atas batang menunjukkan simpangan baku (n=3). Huruf yang sama pada diagram batang menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey pada $\alpha = 5\%$

Figure 4. Average daily N₂O fluxes based on bacterial consortium application. The line above each bar indicates standard deviation (n=3). The same letter in histogram showed not significant difference based on Tukey's HSD at $\alpha = 5\%$

Hasil pengukuran fluks harian N₂O dengan aplikasi konsorsium bakteri disajikan pada Gambar 3. Peningkatan fluks harian N₂O dipengaruhi oleh waktu pemberian pupuk dan kondisi lingkungan dalam perakaran tanaman yang dapat meningkatkan emisi N₂O ke atmosfer (Broucek 2017). Rata-rata fluks harian N₂O tertinggi selama pertumbuhan tanaman padi Inpri 32 yaitu pada perlakuan

tanpa konsorsium bakteri (R0) sebesar 1,04 mg N₂O m⁻² hari⁻¹, sedangkan aplikasi konsorsium bakteri (R1, R2 atau R3) menghasilkan fluks N₂O harian lebih rendah (Gambar 4).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa faktor pemberian konsorsium bakteri berpengaruh nyata terhadap emisi N₂O, sedangkan pemberian bahan organik dan

interaksi kedua faktor yang dicobakan tidak berpengaruh nyata terhadap emisi N₂O. Hasil perhitungan total emisi N₂O menunjukkan bahwa pemberian konsorsium bakteri (R1, R2 atau R3) mampu menurunkan emisi N₂O di lahan padi sawah dibandingkan tanpa aplikasi konsorsium bakteri. Total emisi N₂O yang dilepaskan pada perlakuan R0, R1, R2 dan R3 masing-masing sebesar 0,78; 0,52; 0,57; 0,53 kg N₂O ha⁻¹ musim⁻¹ (Tabel 3). Hasil uji BNJ dengan taraf nyata 5% menyatakan bahwa aplikasi konsorsium bakteri (R1, R2, dan R3) nyata menurunkan emisi N₂O sebesar 27,05 – 33,49% dibandingkan perlakuan tanpa pemberian konsorsium bakteri (R0) (Tabel 3). Penurunan fluks maupun emisi N₂O dari lahan padi sawah disebabkan oleh adanya penambahan konsorsium bakteri yang memiliki kemampuan dalam mengkonversi N₂O menjadi N₂.

Potensi Konsorsium Bakteri dalam Penurunan Emisi GRK

Hasil pengukuran emisi GRK (CH₄ dan N₂O) di lahan sawah dengan aplikasi konsorsium bakteri R1 (SI5, OF4, BD4), R2 (SI5, TH6, OF4), dan R3 (SI5, BD4, *B. aryabhatai*) memberikan pengaruh nyata terhadap emisi GRK, dibandingkan tanpa aplikasi konsorsium bakteri (R0). Tiga isolat yang terdiri atas SI5, OF4, dan TH6 merupakan bakteri potensial dalam menurunkan emisi GRK di lahan padi sawah. Hasil penelitian dengan pengukuran konsentrasi gas CH₄ pada media NMS cair + 1% metanol + gas standar CH₄, ke tiga isolat secara tunggal mampu menurunkan konsentrasi CH₄ pada medium uji dibandingkan dengan kontrol (Adriany *et al.* 2021a). Isolat BD4 merupakan isolat bakteri potensial untuk menekan pelepasan GRK yang diisolasi dari *slurry* biodigester yang tergolong Gram negatif dan bersifat anaerobik fakultatif. *B. aryabhatai* yang dikombinasikan merupakan bakteri Gram positif yang berperan sebagai menambat N₂ non simbiotik dan mampu meningkatkan produktivitas tanaman (Wahyuni *et al.* 2018). Konsorsium bakteri R3 mampu menghasilkan total emisi CH₄ terendah, sedangkan konsorsium R1, R2 dan R3 memberikan pengaruh yang nyata terhadap penurunan emisi N₂O di lahan padi sawah (Tabel 3).

Bakteri *A. oryzae* (SI5) dan *Ciceribacter sp.* (OF4) merupakan kelompok bakteri Gram negatif yang tergolong ke dalam kelas *Rhizobiaceae* yang mampu memfiksasi nitrogen non simbiotik (Yousuf *et al.* 2014; Siddiqi *et al.* 2018). Keunggulan bakteri *A. oryzae* memiliki kemampuan tumbuh pada tanah netral hingga dengan kadar garam tinggi (*saline soil*) dan memiliki kemampuan untuk hidup beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang

kering dan stres lingkungan (Yousuf *et al.* 2014). Hasil penelitian Kathiravan *et al.* (2013) menyatakan bahwa genus *Ciceribacter* dapat hidup pada pH netral, penambat N₂, dan positif katalase. Isolat bakteri TH6 yang diisolasi dari perakaran tanaman padi di lahan sawah tadah hujan tergolong bakteri Gram negatif dan bersifat aerobik. Kemampuan isolat tunggal TH6 dapat menurunkan rata-rata konsentrasi CH₄ 23% selama 15 hari inkubasi pada medium uji (Adriany *et al.* 2021a) dan konsentrasi N₂O 37% selama 15 hari inkubasi pada inkubasi tanah non steril + urea dibandingkan dengan kontrol (Adriany *et al.* 2021b).

B. petrii (BD4) merupakan satu-satunya spesies dalam genus *Bordetella* yang ditemukan di lingkungan yang memiliki gen yang mengkode *nitrate-*, *nitrite-*, *nitrous oxide reductases* yang berperan penting dalam proses denitrifikasi untuk mengubah nitrat menjadi N₂O dan N₂ (Gross *et al.* 2008). Hasil penelitian pada skala laboratorium, isolat BD4 mampu menurunkan rata-rata konsentrasi CH₄ 4% dan N₂O 34% selama 15 hari inkubasi pada inkubasi tanah non steril + urea (Adriany *et al.* 2021b). Selain itu, hasil penelitian lain menyatakan bahwa bakteri ini memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa aromatik seperti *1,2,4-trichlorobenzene* yang tergolong senyawa organoklorin (Wang *et al.* 2007), residu endosulfan (Odukkathil dan Vasudevan 2016; Kong *et al.* 2018). Aplikasi bakteri ini diharapkan mampu menekan emisi N₂O di lahan sawah juga dapat mendegradasi senyawa agrokimia dari penggunaan pestisida di lahan sawah.

B. aryabhatai merupakan bakteri yang memberikan manfaat bagi pertumbuhan tanaman. Bakteri ini termasuk ke dalam *plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR) yang mampu menghasilkan fitohormon seperti asam absisat, asam indol asetat, sitokinin, asam gibberelat, toleran terhadap stres oksidatif yang disebabkan oleh H₂O₂ dan stres nitrosatif (Park *et al.* 2017). Hasil penelitian Shen *et al.* (2019) menyatakan bahwa *B. aryabhatai* memiliki kemampuan sebagai penambat N₂, endofit pada tanaman padi yang memiliki karakteristik sebagai *plant growth-promoting* (PGP), toleran terhadap fungisida dan dapat mendorong pertumbuhan tanaman padi. Hasil pengujian isolat bakteri *A. oryzae*, *Ciceribacter sp.* dan *B. aryabhatai* memiliki aktivitas nitrogenase melalui metode asai reduksi asetilen (ARA) dan mampu memproduksi IAA masing-masing sebesar 4,11; 6,60; 6,72 mg kg⁻¹ (data belum dipublikasikan).

Ketiga bakteri yang digunakan dalam konsorsium R3 tidak termasuk ke dalam 13 bakteri metanotrof yang telah dikenal terlebih dahulu (*Methylomonas*, *Methylosphaera*,

Methylocrobum, *Methylosarcina*, *Methylobacter*, *Methylocaldum*, *Methylococcus*, *Methylohalobius*, *Methylosoma* *Methylocystis*, *Methylocella*, *Methylocapsa* dan *Methylosinus*), Namun, konsorsium ketiga bakteri tersebut mampu menurunkan total emisi CH₄ di lahan sawah. Kemampuan tersebut diduga karena ketiga bakteri memiliki enzim yang berperan dalam metabolisme metana. Hasil penelitian Jhala *et al.* (2014) menyebutkan bahwa bakteri-bakteri PGRR memiliki gen-gen fungsional seperti *pmoA* (pengkode enzim pMMO), *mmoX* (sMMO), dan *mxoF* (*methanol dehydrogenase*) yang berperan dalam proses metabolisme metana.

Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian memiliki kemampuan dalam memanfaatkan CH₄ sebagai sumber karbon, penambat N₂, tergolong ke dalam PGPR yang mampu menghasilkan fitohormon, dan mampu mengkonversi N₂O menjadi N₂, sehingga dapat menekan pelepasan GRK ke atmosfer. Potensi konsorsium bakteri *A. oryzae*, *B. petrii* dan *B. aryabhatai* (R3) dari beberapa hasil penelitian lainnya menyebutkan bahwa bakteri tersebut memiliki kemampuan dalam beradaptasi pada kondisi cekaman lingkungan dan sebagai agen bioremediasi senyawa berbahaya. Aplikasi konsorsium bakteri R3 merupakan formulasi terbaik dalam upaya mitigasi untuk menekan emisi GRK di lahan padi sawah. Selain itu, pemanfaatan dan pengembangan bakteri konsorsium ini dapat memberikan nilai tambah dalam menciptakan lingkungan yang lebih baik.

Tabel 4. Hasil analisis hara dan pH tanah pascapanen

Table 4. Soil nutrients and pH analysis after transplanting

Perlakuan	pH	C-organik %	P-tersediamg kg ⁻¹	K-tersedia	N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻
Konsorsium bakteri (R)						
R0 (tanpa)	5,71 a	0,67 a	117,74 a	37,81 a	2,50 a	7,63 b
R1 (SI5, OF4, BD4)	5,84 a	0,69 a	109,75 a	37,66 a	2,71 a	8,86 ab
R2 (SI5, TH6, OF4)	6,35 a	0,69 a	119,72 a	38,83 a	2,13 a	9,96 a
R3 (SI5, BD4, <i>B. aryabhatai</i>)	5,54 a	0,72 a	116,84 a	37,73 a	2,37 a	9,75 ab
Bahan organik (O)						
O0 (tanpa)	5,7 a	0,71 a	106,87 a	39,13 a	2,45 a	8,87 a
O1 (2 ton ha ⁻¹)	6,03 a	0,67 a	125,15 a	36,89 a	2,41 a	9,23 a
Pr>F						
Konsorsium bakteri (R)	0,35	0,89	0,88	0,87	0,45	0,03
Bahan organik (O)	0,32	0,37	0,07	0,07	0,88	0,49
R x O	0,72	0,10	0,76	0,51	0,92	0,50
CV (%)	12,97	17,46	20,35	7,93	25,02	16,19

Keterangan: Nilai pada setiap baris diikuti huruf yang sama antar perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNJ pada taraf 5%.

Hubungan Pelepasan Emisi GRK terhadap Hara Tanah, pH dan Kelimpahan Mikrob Tanah

Aplikasi konsorsium bakteri dan bahan organik pada sistem budi daya tanaman padi tidak memberikan pengaruh nyata pada kandungan C organik, P tersedia, K tersedia, N tersedia dalam bentuk NH₄⁺ untuk tanah akhir (pascapanen). Namun, hasil analisis statistik dari aplikasi konsorsium bakteri memberikan pengaruh nyata pada kandungan N tersedia dalam bentuk NO₃⁻ dibandingkan tanpa konsorsium bakteri (Tabel 4). Konsentrasi nitrogen dalam tanah dalam bentuk N-NO₃⁻ lebih banyak dibandingkan konsentrasi N-NH₄⁺. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas bakteri nitrifikasi dalam sistem perakaran lebih tinggi dibandingkan proses amonifikasi.

Kadar C-organik tanah merupakan faktor yang menentukan kualitas tanah. Kandungan C-organik tanah yang tinggi berkorelasi positif dengan peningkatan kualitas tanah. Bahan organik tanah sangat berperan dalam memperbaiki sifat fisik kimia tanah, meningkatkan aktivitas biologis tanah, menyediakan hara serta meningkatkan pertumbuhan tanaman (Hartatik *et al.* 2015). Kandungan C-organik, NH₄⁺ tanah meningkat pada akhir pertumbuhan tanaman padi pada seluruh perlakuan, sedangkan NO₃⁻ cenderung lebih rendah pada perlakuan R0 dan R1 dibandingkan hasil analisis tanah awal (Tabel 4).

Tabel 5. Korelasi antara emisi GRK dengan kandungan hara, pH tanah, dan kelimpahan bakteri tanah (n=3)

Table 5. Correlation between GHG emissions with soil nutrients, pH, and soil bacterial density (n=3)

Parameter	Emisi CH ₄	Emisi N ₂ O	pH	C-organik	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	P-tersedia	K-tersedia	MPN metanotrof
Emisi N ₂ O	0,256								
pH	0,155	-0,271							
C-organik	-0,144	-0,117	-0,350						
N-NO ₃ ⁻	-0,057	-0,409*	0,122	0,046					
N-NH ₄ ⁺	0,020	-0,409*	-0,090	0,188	0,007				
P-tersedia	-0,133	0,312	0,109	-0,081	-0,056	-0,274			
K-tersedia	-0,219	-0,153	-0,069	0,214	-0,018	0,128	-0,455*		
MPN metanotrof	-0,293	-0,380	-0,090	0,051	0,369	0,124	0,122	-0,301	
MPN denitrifikasi	-0,528*	0,005	-0,313	0,239	0,221	0,078	0,338	0,014	0,536*

*adanya hubungan korelasi yang signifikan dengan *p-value* <0.05

Kemasaman tanah (pH) memegang peranan penting dalam menentukan ketersediaan unsur hara esensial bagi pertumbuhan tanaman dan aktivitas mikrob dalam tanah, sehingga akan mempengaruhi produksi biomassa secara tidak langsung (Wang *et al.* 2012). Produksi gas CH₄ dan N₂O dari aktivitas biologis tanah juga dipengaruhi oleh variasi pH tanah. Aktivitas *Archaea* metanogen dalam pembentukan CH₄ memiliki rentang pH yang cukup luas dapat optimal pada pH netral, masam hingga basa (Serrano-Silva *et al.* 2014), sedangkan pembentukan N₂O dalam tanah akan meningkat pada kondisi pH tanah lebih masam (Wang *et al.* 2017).

Hasil korelasi antara emisi GRK dengan hara tanah dan kelimpahan mikrob tanah ditampilkan pada Tabel 5. Terdapat hubungan korelasi negatif dengan nilai *p-value* <0,05 yaitu antara kandungan NO₃⁻ dan NH₄⁺ dengan emisi N₂O. Kandungan N-NO₃⁻ dan N-NH₄⁺ tanah yang semakin meningkat akan menekan pelepasan emisi N₂O dari lahan sawah. Hal tersebut dikarenakan bahwa N tersedia dalam tanah dimanfaatkan oleh tanaman dalam proses pertumbuhan. Peningkatan serapan N oleh tanaman akan menekan pelepasan emisi N₂O ke atmosfer. Hasil penelitian Wang *et al.* (2016) pada kondisi lahan sawah yang tergenang terus menerus akan menekan proses nitrifikasi dan akan meningkatkan akumulasi NH₄⁺ tanpa meningkatkan produksi N₂O. Di sisi lain, kandungan NO₃⁻ dalam tanah sawah akan berkurang dengan keterbatasan oksigen dalam tanah dan menyebabkan peningkatan pelepasan N₂O ke atmosfer.

Kesuburan tanah sangat penting untuk mendukung pertumbuhan tanaman. Salah satu penentu kesuburan tanah adalah aspek biologi tanah. Kualitas biologi tanah

meningkat dengan adanya mikrob tanah terutama pada rhizosfer. Total populasi mikrob tanah dipengaruhi oleh aplikasi konsorsium bakteri dan bahan organik yang dicobakan. Setiap spesies bakteri memiliki kemampuan adaptasi yang berbeda tergantung pada kondisi tanah sebagai habitat hidup bakteri tersebut. Kandungan bahan organik tanah (C-organik) merupakan salah satu indikator untuk kesuburan tanah dan dapat menstimulasi peningkatan jumlah mikrob dalam tanah (Hartatik *et al.* 2015). Kelimpahan bakteri metanotrof dan pendenitrifikasi sangat menentukan emisi GRK yang dilepaskan dari lahan padi sawah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya hubungan korelasi negatif antara kelimpahan bakteri metanotrof dan pendenitrifikasi dengan emisi CH₄ yang dilepaskan dari lahan padi sawah (Tabel 5). Sejalan dengan penelitian Davamani *et al.* (2020) bahwa terdapat hubungan korelasi negatif antara kelimpahan bakteri metanotrof dengan emisi CH₄ yang dilepaskan ke atmosfer. Peningkatan jumlah populasi bakteri metanotrof akan menekan emisi CH₄ yang dikeluarkan dari pertanaman padi sawah dengan memanfaatkan CH₄ sebagai sumber karbon.

Kesimpulan

Aplikasi konsorsium bakteri R3 yang terdiri dari bakteri *Amorphomonas oryzae* (SI5), *Bordetella petrii* (BD4), *Bacillus aryabhatai* mampu mereduksi emisi CH₄ dibandingkan kontrol tanpa aplikasi bakteri (R0). Pemberian formulasi konsorsium bakteri (R1, R2 atau R3) mampu menurunkan emisi N₂O dibandingkan R0. Aplikasi bahan organik berupa pukan sapi 2 ton ha⁻¹ tidak memberikan perbedaan emisi GRK yang dilepaskan dari

budi daya padi di lahan sawah. Pemanfaatan konsorsium bakteri *A. oryzae*, *B. petrii*, *B. aryabhatai* yang berperan sebagai penambat N₂ yang tergolong dalam PGPR penghasil fitohormon merupakan formula terbaik untuk diaplikasikan di lahan padi sawah sebagai upaya mitigasi GRK dari lahan sawah sehingga dapat mendukung penerapan pertanian ramah lingkungan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan penghargaan dan terima kasih kepada Kementerian Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian dan Balai Penelitian Lingkungan Pertanian sebagai penyandang dana kegiatan penelitian. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada analis laboratorium Balai Penelitian Lingkungan Pertanian yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan kegiatan penelitian di lapang ataupun di laboratorium.

Daftar Pustaka

- Adriany TA, Santoso AA, Akhdiya A, Wihardjaka A. 2021a. Preliminary study of methane oxidizing bacteria isolation and selection on three rice agroecosystems. In Husen E, Minasny B, Masunaga T, Paing TN, Anda M, Singh K (Ed.) 1st International Conference on Sustainable Tropical Land Management, Jakarta, Indonesia, 16-18 September 2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 648 (2021) 012173. doi: 10.1088/1755-1315/648/1/011001.
- Adriany TA, Jumari, Duri, Wihardjaka A. 2021b. Seleksi isolat bakteri pereduksi gas rumah kaca untuk menurunkan konsentrasi GRK pada skala laboratorium. hlm. 234-239. Dalam Rohman *et al.* (Ed.). Prosiding Seminar Nasional: Hasil Penelitian Pertanian XI. Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 20 November 2021.
- Broucek J. 2017. Nitrous oxide production from soil and manure application: A review. *Slovak J. Anim. Sci.* 50(1): 21–32.
- Cheng W, Yagi K, Sakai H, Kobayashi K. 2006. Effects of elevated atmospheric CO₂ concentrations on CH₄ and N₂O emission from rice soil: An experiment in controlled environment chambers. *Biogeochemistry*. 77: 351-373. doi: 10.1007/s10533-005-1534-2.
- Das K, Baruah KK. 2008. Methane emission associated with anatomical and morphophysiological characteristics of rice (*Oryza sativa*) plant. *Physiologia Plantarum*. 134(2): 303–312. doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01137.x.
- Davamani V, Parameswari E, Arulmani S. 2020. Mitigation of methane gas emissions in flooded paddy soil through the utilization of methanotrophs. *Science of the Total Environment*. 726. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138570.
- Dong W, Guo J, Xu L, Song Z, Zhang J, Tang A, Zhang X, Leng C, Liu Y, Wang L, Wang L, Yu Y, Yang Z, Yu Y, Meng Y, Lai Y. 2017. Water regime-nitrogen fertilizer incorporation interaction: Field study on methane and nitrous oxide emissions from a rice agroecosystem in Harbin, China. *Journal of Environmental Sciences*. 64: 289–297. doi: 10.1016/j.jes.2017.06.007.
- Gross R, Guzman CA, Sebahia M, Martins VAP, dos Santos, Pieper DH, Koebnik R, Lechner M, Bartels D, Buhrmester J, Choudhuri JV, Ebensen T, Gaigalat L, Herrmann S, Khachane AN, Larisch C, Link S, Linke B, Meyer F, Mormann S, Nakunst D, Rückert C, Schneiker-Bekel S, Schulze K, Vorhölter F-J, Yevsa T, Engle JT, Goldman WE, Pühler A, Göbel UB, Goesmann A, Blöcker H, Kaiser O, Martinez-Arias R. 2008. The missing link: *Bordetella petrii* is endowed with both the metabolic versatility of environmental bacteria and virulence traits of pathogenic *Bordetellae*. *BMC Genomics*. 9: 449. doi: 10.1186/1471-2164-9-449.
- Hanson R, Hanson TE. 1996. *Metanotrophic bacteria*. *J. Microbiol Reviews*. 60: 439-471.
- Hartatik W, Husnain, Ladiyani R, Widowati. 2015. Peranan pupuk organik dalam peningkatan produktivitas tanah dan tanaman. *Jurnal Sumberdaya Lahan*. 9(2): 107-120.
- Harty MA, Forrestal PJ, Watson CJ, McGeough KL, Carolan R, Elliot C, Krol D, Laughlin RJ, Richards KG, Lanigan GJ. 2016. Reducing nitrous oxide emissions by changing N fertiliser use from calcium ammonium nitrate (CAN) to urea based formulations. *Science of the Total Environment*. 563–564: 576–586. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.04.120.
- Haryanti D, Zul D, Fibriarti BL. 2014. Formulasi pupuk hayati serbuk menggunakan bakteri pelarut fosfat indigenus asal tanah gambut Riau dalam berbagai bahan pembawa. *JOM FMIPA*. 1(2): 562-570. <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFMIPA/article/view/4013>.
- [IAEA] International Atomic Energy Agency. 1992. Manual of measurement of Methane and Nitrous Oxide Emissions from Agricultural. IAEA-TECDOC-674. IAEA, Vienna.
- [IPCC] Intergovernmental Panel on Climate Change. 2013. Climate Change 2013: The Physical Science Basic, Contribution of Working Group I to the Fifth

- Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. doi: 10.1017/CBO9781107415324.018.
- Iqbal MF, Liu S, Zhu J, Zhao L, Qi T, Liang J, Luo J, Xiao X, Fan X. 2020 Limited aerenchyma reduces oxygen diffusion and methane emission in paddy. *Journal of Environmental Management*. doi: 10.1016/j.jenvman.2020.111583.
- Islam SMM, Gaihre YK, Islam Md R, Akter M, Al Mahmud A, Singh U, Ole Sander B. 2020. Effects of water management on greenhouse gas emissions from farmers rice fields in Bangladesh. *Science of the Total Environment*. 734. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139382.
- Itakura M, Uchida Y, Akiyama H, Hoshino YT, Shimomura Y, Morimoto S, Tago K, Wang Y, Hayakawa C, Uetake Y *et al.* 2012. Mitigation of nitrous oxide emissions from soils by *Bradyrhizobium japonicum* inoculation. *Nature Climate Change*. 3(3): 208–212. doi: 10.1038/nclimate1734.
- Jhala YK, Vyas RV, Shelat HN, Patel HK, Patel HK, Patel KT. 2014. Isolation and characterization of methane utilizing bacteria from wetland paddy ecosystem. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 30(6): 1845-1860. doi:10.1007/s11274-014-1606-3.
- Kathiravan R, Jegan S, Ganga V, Prabavathy, VR, Tushar L, Sasikala Ch, Ramana, ChV. 2013. *Ciceribacter lividus* gen. nov., sp. nov., isolated from rhizosphere soil of chick pea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 63: 4484–4488. doi: 10.1099/ijs.0.049726-0.
- Kim GW, Kim PJ, Khan MI, Lee S-J. 2021. Effect of rice planting on nitrous oxide (N₂O) emission under different levels of nitrogen fertilization. *Agronomy*. 11. 217. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020217>.
- Kong L, Zhang Y, Zhu L, Wang J, Wang J, Du Z, Zhang C. 2018. Influence of isolated bacterial strains on the in situ biodegradation of endosulfan and reduction of endosulfan contaminated soil toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 160: 75-83. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.05.032.
- Lee HJ, Kim SY, Kim PJ, Madsen EL, Jeon CO. 2014. Methane emission and dynamics of methanotrophic and methanogenic communities in a flooded rice field ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology*. 88(1): 195–212. doi: 10.1111/1574-6941.12282.
- Minamikawa K, Tokida T, Sudo S, Padre A, Yagi K. 2015. Guidelines for Measuring CH₄ and N₂O Emissions from Rice Paddies by a Manually Operated Closed Chamber Method. Tsukuba: National Institute for Agro-Environmental Sciences, Japan.
- Odukkathil G, Vasudevan N. 2016. Residues of endosulfan in surface and subsurface agricultural soil and its bioremediation. *Journal of Environmental Management*. 65: 72–80. doi: 10.1016/j.jenvman.2015.09.020.
- Park YG, Mun BG, Kang SM, Hussain A, Shahzad R, Seo CW, Kim AY, Lee SU, Yeol Oh K, Lee DY, Lee IJ, Yun BW. 2017. *Bacillus aryabhatai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. *PLoS ONE*. 12(3). doi: 10.1371/journal.pone.0173203.
- Pihlatie M, Syväsalö E, Simojoki A, Esala M, Regina K. 2004. Contribution of nitrification and denitrification to N₂O production in peat, clay and loamy sand soils under different soil moisture conditions. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 70: 135–141. doi: 10.1023/B:FRES.0000048475.81211.3c.
- Richardson D, Felgate H, Watmough N, Thomson A, Baggs E. 2009. Mitigating release of the potent greenhouse gas N₂O from the nitrogen cycle - could enzymic regulation hold the key?. *Trends in Biotechnology*. 27(7): 388–397. doi: 10.1016/j.tibtech.2009.03.009.
- Rittl TF, Oliveira DMS, Canisares LP, Sagrilo E, Butterbach-Bahl K, Dannenmann M, Cerri CEP. 2021. High application rates of biochar to mitigate N₂O emissions from a N-fertilized tropical soil under warming conditions. *Frontiers in Environmental Science*. 8: 611873. doi: 10.3389/fenvs.2020.611873.
- Saha S, Prakash V, Kundu S, Kumar N, Mina BL. 2008. Soil enzymatic activity as affected by long term application of farm yard manure and mineral fertilizer under a rainfed soybean-wheat system in N-W Himalaya. *European Journal of Soil Biology*. 44(3): 309–315. doi: 10.1016/j.ejsobi.2008.02.004.
- Semrau JD, Dispirito AA, Yoon S. 2010. Methanotrophs and copper. *Federation of European Microbiological Societies. Microbiol Reviews*. 34: 496–531. doi: 10.1111/j.1574-6976.2010.00212.x.
- Serrano-Silva N, Sarria-Guzman Y, Dendooven L, Luna-Guido M. 2014. Methanogenesis and methanotrophy in soil: A review. *Pedosphere*. 24(3): 291-307. doi: 10.1016/S1002-0160(14)60016-3.
- Setyanto P, Pramono A, Adriany TA, Susilawati HL, Tokida T, Padre AT, Minamikawa K. 2017. Alternate wetting and drying reduces methane emission from a rice paddy in Central Java, Indonesia without yield loss. *Soil Science and Plant Nutrition*. 64(1): 23–30. doi: 10.1080/00380768.2017.1409600.

- Shen FT, Yen JH, Liao CS, Chen WC, Chao YT. 2019. Screening of rice endophytic biofertilizers with fungicide tolerance and plant growth-promoting characteristics. *Sustainability*. 11(4). doi: 10.3390/su11041133.
- Siddiqi MZ, Choi GM, Im WT. 2018. *Ciceribacter azotifigens* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from activated sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 68(2): 482–486. doi: 10.1099/ijsem.0.002438.
- Susilawati HL, Wihardjaka A, Nurhasan, Setyanto P. 2021. Potensi bahan alami dalam menekan produksi CH₄ dan N₂O dari tanah sawah. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 26(4): 499–510. doi: 10.18343/jipi.26.4.499.
- Thomson AJ, Giannopoulos G, Pretty J, Baggs EM, Richardson DJ. 2012. Biological sources and sinks of nitrous oxide and strategies to mitigate emissions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 367(1593): 1157–1168. doi: 10.1098/rstb.2011.0415.
- Trollenier G. 1996. Denitrifiers by MPN method. p. 28–31. In Schinner F, Öhlinger R, Kandeler E, Margesin R (Eds). *Methods in Soil Biology*. Springer, Germany. doi: 10.1007/978-3-642-60966-4_3.
- Upadhyay RK, Patra DD, Tewari SK. 2011. Natural nitrification inhibitors for higher nitrogen use efficiency, crop yield, and for curtailing global warming. *Journal of Tropical Agriculture*. 49: 19–24.
- Wahyuni S, Paradifan, Kurnia A, Indratin. 2018. Pengaruh pemberian *Bacillus aryabhatai* terhadap peningkatan populasi bakteri penambat N simbiotik dan peningkatan produksi tanaman bawang daun. *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*. 16(2): 211–218.
- Wang F, Grundmann S, Schmid M, Dörfner U, Roherer S, Munch JC, Hartmann A, Jiang X, Schroll R. 2007. Isolation and characterization of 1,2,4-trichlorobenzene mineralizing *Bordetella* sp. and its bioremediation potential in soil. *Chemosphere*. 67: 896–902. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.11.019.
- Wang S, Liu Q, Li J, Wang Z. 2021. Methane in wastewater treatment plants: status, characteristics, and bioconversion feasibility by methane oxidizing bacteria for high value-added chemicals production and wastewater treatment. *Water Research*. 198. doi: 10.1016/j.watres.2021.117122.
- Wang W, Lai DYF, Wang C, Tong C, Zeng C. 2016. Effects of inorganic amendments, rice cultivars and cultivation methods on greenhouse gas emissions and rice productivity in a subtropical paddy field. *Ecological Engineering*. 95: 770–778. doi: 10.1016/j.ecoleng.2016.07.014.
- Wang Y, Fusuo ZF, Petra MP. 2012. Soil pH is the main factor influencing growth and rhizosphere properties of wheat following different pre-crops. *Plant and Soil*. 360: 271–286. doi: 10.1007/s11104-012-1236-1.
- Wang Y, Gou J, Vogt RD, Mulder J, Wang J, Zhang X. 2017. Soil pH as the chief modifier for regional nitrous oxide emissions: New evidence and implication for global estimates and mitigation. *Wiley, Global Change Biology*. 24: e617–e626. doi: 10.1111/gcb.13966.
- Wassman R, Neue HU, Ladha JK, Aulakh MS. 2004. Mitigating greenhouse gas emissions from rice and wheat cropping system in Asia. *Environment, Development and Sustainability*. 6: 65–90. doi: 10.1023/B.
- Yousuf B, Kumar R, Mishra A, Jha B. 2014. Differential distribution and abundance of diazotrophic bacterial communities across different soil niches using a gene-targeted clone library approach. *FEMS Microbiology Letters*. 360(2): 117–125. doi: 10.1111/1574-6968.12593.
- Zhang Q, Xiao J, Xue J, Zhang L. 2020. Quantifying the effects of biochar application on greenhouse gas emissions from agricultural soils: A global meta-analysis. *Sustainability*. 12(3436). doi: 10.3390/SU12083436.