

INOKULASI *AZOTOBACTER* DAN APLIKASI KOMPOS UNTUK BIOREMEDIASI *TAILING* TERKONTAMINASI MERKURI

Azotobacter Inoculation and Compost Amendment for Bioremediation of Mercury-contaminated Tailings

REGINAWANTI HINDERSAH*, GINA NURHABIBAH* dan RACHMAT HARRYANTO**

Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran
Pusat Riset Sumberdaya Wilayah Kepulauan Universitas Padjadjaran
Jalan Raya Bandung-Sumedang Km. 21, Sumedang 45363
e-mail: reginawanti@unpad.ac.id

* Kontributor Utama ** Kontributor Anggota

ABSTRAK

Kadar merkuri (Hg) yang tinggi pada *tailing* tambang emas adalah sumber pencemaran lingkungan termasuk lahan pertanian. Penurunan kadar Hg di *tailing* dengan metode bioremediasi adalah strategi yang efektif, murah dan mudah. *Azotobacter* adalah rizobakteri pemfiksasi nitrogen dan penghasil eksopolisakarida yang mengubah mobilitas logam berat serta memicu pertumbuhan tanaman dengan optimal jika terdapat bahan organik. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh dosis bahan organik dan *Azotobacter strain* resisten Hg terhadap perubahan kadar Hg di *tailing* dan tanaman jagung. Percobaan rumah kaca dirancang dalam Rancangan Petak Terbagi dengan tiga ulangan. Petak utama adalah dosis bahan organik yang terdiri atas 22,5; 30 dan 37,5 g/polibeg. Anak petak adalah *strain* bakteri terdiri atas tanpa inokulan, *Azotobacter* indigen, *A. chroococcum*, dan konsorsium kedua bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulasi *Azotobacter* meningkatkan tinggi dan bobot kering tanaman jagung umur 3 minggu. Aplikasi kompos kotoran sapi 30 g/polibeg disertai inokulasi *A. chroococcum* maupun konsorsium *Azotobacter* menurunkan kadar Hg tanah dan meningkatkan serapan Hg di tanaman. Penelitian ini menjelaskan bahwa inokulasi *Azotobacter* menginduksi serapan Hg oleh tanaman sehingga berpotensi digunakan untuk bioremediasi *tailing* terkontaminasi Hg dengan tanaman fitoakumulator.

Kata kunci: bakteri resisten merkuri, bioremediasi, kompos, *tailing*.

ABSTRACT

High levels of mercury (Hg) in gold mine tailings resulted in environmental pollution including in agricultural soil. Mercury level reduction in tailings by bioremediation is an effective, easy and cheap way. *Azotobacter* is nitrogen-fixing rhizobacteria that produce exopolysaccharides to change heavy metals mobility and promote plant growth when organic matter is available in soil. This study was conducted to determine the effect of organic matter amendment and some Hg-resistant *Azotobacter* inoculation on the change in Hg levels in tailings and maize plant. The greenhouse experiment was arranged in Split Plot Design with three replications. The main plot was organic matter dose consisted of 22.5; 30 and 37.5 g/polybag. Subplots were bacterial strains consisted of native *Azotobacter*, *A. chroococcum*, and consortia of both bacteria. The results showed that *Azotobacter* inoculation increased the height and weight of 3-week old maize. Application of cow dung compost of 30 g/polybag with either *A. Chroococcum* and *Azotobacter* consortium reduced soil Hg levels and increased Hg uptake by plants. This study suggested that *Azotobacter* inoculation induces uptake of Hg by plants so that *Azotobacter* might be used for Hg-contaminated tailings bioremediation combined with phytoaccumulator plants.

Keywords: mercury resistant bacteria, bioremediation, compost, tailings.

PENDAHULUAN

Sumber daya mineral menyumbang devisa negara tetapi penambangan tanpa protokol baku menyisakan tanah dan lingkungan tercemar. Penambangan mineral bisa menghasilkan limbah *tailing* dengan volume yang jauh lebih besar daripada perolehan mineral target. *Tailing* umumnya didominasi fraksi pasir dengan porositas tinggi sehingga kapasitas memegang air rendah dan strukturnya tidak stabil. Kadar unsur hara makro di *tailing* sangat rendah tetapi unsur hara mikro (logam berat) tinggi. Jika mineral diekstraksi dengan logam berat merkuri (Hg) seperti pada tambang emas, maka kadar logam nonesensial Hg di *tailing* meningkat.

Penambangan rakyat ilegal berkontribusi terhadap peningkatan kadar Hg di tanah. Di tambang emas Gunung Botak, Pulau Buru, Maluku sebagian *tailing* dideposisi di lahan pertanian sehingga kadar Hg di sawah adalah < 5 mg/kg (Hindersah *dkk.*, 2018). Kadar Hg di *tailing* tambang emas Kebun Lado, Kabupaten Kuantan Singingi, Provinsi Riau mengandung 0,99-1,31 mg/kg Hg (Amri *dkk.*, 2020). Tanah savana di Bombana Sulawesi Selatan mengandung Hg 390-860 mg/kg (Basri, Sakakibara dan Sera, 2020). Batas kritis Hg di tanah menurut Dutch Maximum Permissible Addition (de Vries *dkk.*, 2002) adalah rendah (< 1 mg/kg; sedang (1-10 mg/kg) dan berat (> 10 mg/kg).

Penurunan kadar logam berat dengan metode bioremediasi dianjurkan karena efektif, murah dan mudah. Bioremediasi *tailing* menghadapi dua kendala yaitu sifat fisik dan kimia *tailing* yang tidak menunjang pertumbuhan tanaman dan potensi keracunan mikroba dan tanaman oleh Hg. Kendala dapat dikurangi dengan aplikasi bahan organik dan mikroba resisten logam berat. Genus bakteri *Azotobacter* pemfiksasi nitrogen (N) dan resisten Hg adalah kandidat untuk bioremediasi *tailing* atau tanah terkontaminasi Hg. Beberapa *strain* *Azotobacter* dapat tumbuh pada kondisi terkontaminasi Hg. Pertumbuhan rizobakteri *A. Chroococcum* baru terhambat pada media dengan 200 µg/mL Hg⁺ (Aleem, Isar dan Malik, 2003). Tiga isolat bakteri *Azotobacter* yang diperoleh dari lahan terkontaminasi Hg bersifat resisten terhadap 15 mg/kg HgCl₂ tetapi

pertumbuhannya menurun pada media dengan 20 mg/kg HgCl₂ (Hindersah, Mulyani dan Osok, 2017).

Resistensi *Azotobacter* terhadap logam berkaitan dengan sintesis ekso polisakarida (EPS) sebagai mekanisme proteksi terhadap keracunan logam berat (Rizvi *dkk.*, 2019) melalui sequestrasi ekstraseluler (Igiri *dkk.*, 2018). Ekso polisakarida terikat lemah di dinding sel dan dapat mengkelat logam. Kelat EPS-logam bersifat mobil sehingga logam dapat diserap oleh tanaman (Brooks, 2000). Ion timbal dan Hg telah diperlihatkan dikelat oleh EPS *Azotobacter* XU1 sampai 40-70% di dalam suspensi pada kemasaman 4-5 (Rasulov, Yili dan Aisa, 2013).

Azotobacter adalah rizobakteri heterotrof yang memicu pertumbuhan tanaman melalui fiksasi nitrogen dan produksi fitohormon (Rubio *dkk.*, 2013; Baral dan Adhikari, 2014; Robson *dkk.*, 2015). Inokulasi *Azotobacter* untuk memobilisasi logam berat dan sekaligus meningkatkan pertumbuhan tanaman fitoakumulator mensyaratkan penambahan bahan organik sebagai sumber karbon dan energi bakteri. Di lain pihak, perbaikan kimia dan fisik tanah oleh bahan organik menyediakan nutrisi N, P dan K untuk tanaman dan pertumbuhan akar (Minardi *dkk.*, 2017; Puli *dkk.*, 2017; Zhang *dkk.*, 2018) sehingga biomassa tanaman dan akumulasi logam di jaringan tanaman dapat meningkat.

Tailing di Pulau Buru terkontaminasi sedang oleh Hg (Hindersah *dkk.*, 2018). *Tailing* tersebut dibuang ke lahan sawah sehingga dapat menurunkan kualitas tanah. Aplikasi bahan organik disertai rizobakteri pemicu pertumbuhan tanaman adalah metode rasional yang mudah, dan diharapkan efektif untuk menurunkan Hg *tailing* dengan tanaman fitoakumulator. Pada penelitian ini, jagung adalah tanaman uji dan bukan tanaman untuk dikonsumsi. Jagung dapat tumbuh di *tailing* terkontaminasi logam berat dan mengakumulasinya tanpa memperlihatkan gejala keracunan (Aajjane, Karam dan Parent, 2014; Armienta *dkk.*, 2020). Tujuan percobaan pot ini adalah mengevaluasi perubahan kadar Hg di *tailing* dan tanaman jagung setelah aplikasi variasi dosis kompos dan inokulasi *Azotobacter* baik secara tunggal maupun konsorsiumnya.

METODE

Penelitian dilakukan di rumah kaca Fakultas Pertanian Unpad yang terletak pada 753 m dpl. *Tailing* tambang emas diambil dari daerah aliran sungai Anthoni di kawasan Gunung Botak, Kabupaten Buru, Maluku dengan pH 2,2; C organik 0,1%, N total 0,04%, P total 0,55 mg/100 g, dan K 11,03 mg/100g, KTK rendah dan KB sangat rendah dengan tekstur lempung berpasir. Kompos kotoran sapi disediakan oleh Instalasi Pengolahan Limbah di Fakultas Peternakan Unpad. Komposisi kompos adalah C-organik 31,3%, kadar air 21,4%, pH 6,19, N total 1,7%, P_2O_5 1,1% dan K_2O 3,4%.

Azotobacter sp. bd3a diisolasi dari *tailing* tambang emas dengan Hg 1,64 mg/kg sedangkan *A. chroococcum* adalah koleksi Lab. Biologi Tanah Fakultas Pertanian Unpad. Kedua *Azotobacter* strain resisten Hg tersebut dipelihara pada media Ashby's bebas N pada pH netral. Inokulan cair dipersiapkan dengan menambahkan 1% inokulan cair biakan murni ke dalam media Ashby cair dan diinkubasikan selama tiga hari pada temperatur ruang di atas *gyratory shaker* 115 rpm.

Rancangan percobaan adalah Petak Terbagi dengan tiga ulangan. Petak utama adalah dosis kompos kotoran sapi yang terdiri atas 22,5 g, 30 g dan 37,5 g per polibeg (setara 45, 60 dan 75 t/ha). Anak petak adalah *strain Azotobacter* yang terdiri atas *Azotobacter* sp. bd3a, *A. chroococcum* dan konsorsiumnya dengan kepadatan 10^9 cfu/mL.

Sebanyak 1 kg *tailing* dimasukkan ke dalam polibeg, dicampur merata dengan kompos kotoran sapi dan diinkubasi selama tiga hari di rumah kaca. Sebanyak 20 mL inokulan *Azotobacter* dicampur dengan 80 mL air tanah sebelum disiramkan ke permukaan *tailing* di polibeg dan diinkubasi selama tujuh hari. Dua butir benih jagung mutiara (*Zea mays* var. *indurata*) ditanam pada jarak 5 cm yang dipelihara selama 21 hari tanpa pemupukan.

Parameter penelitian adalah tinggi, bobot kering tanaman, kadar Hg tanaman dan *tailing*, populasi *Azotobacter*, dan serapan N tanaman jagung pada 3 MST. Analisis tanah dan tanaman mengacu kepada Sulaeman, Suparto dan Eviati

(2005). Kadar Hg tanaman (akar dan tajuk) ditetapkan dengan spektrofotometer serapan atom (SSA) setelah ekstraksi campuran asam pekat HNO_3 dan $HClO_4$. Penetapan kadar Hg tersedia *tailing* dilakukan dengan SSA setelah ekstraksi sampel tanah dengan pengekstrak Morgan.

Bobot kering tanaman diukur setelah pemanasan $70^\circ C$ selama 48 jam sampai berat konstan. Kadar nitrogen tanaman ditetapkan dengan metode Kjeldahl dengan destruksi sampel menggunakan 1 g selenium dan 5 mL H_2SO_4 pekat. Serapan N dan Hg dihitung dengan mengalikan bobot kering dengan kadar N atau Hg tanaman. Populasi *Azotobacter* ditetapkan dari sampel tanah rizosfer dengan metode plat pengenceran berseri (Sanders, 2012) pada media Ashby Manitol bebas N.

Seluruh data dianalisis dengan analisis ragam (uji F) pada $p < 0,05$. Jika Uji F berbeda nyata, maka dilakukan uji jarak berganda Duncan ($p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Tanaman

Uji F memperlihatkan bahwa dosis kompos dan *strain Azotobacter* tidak berinteraksi dengan nyata untuk memengaruhi tinggi tanaman jagung 1-3 minggu setelah tanam (MST) dan bobot kering tanaman pada 3 MST. Hanya *strain Azotobacter* yang dapat meningkatkan tinggi tanaman (Tabel 1). Bobot kering tanaman dapat ditingkatkan dengan pemberian kompos 30 dan 37,5 g/polibeg atau inokulasi *Azotobacter* baik secara tunggal maupun konsorsium (Tabel 1).

Pada 21 hst rata-rata tinggi tanaman hanya 7,31 cm dengan tiga helai daun. Kekerdilan disebabkan oleh ketiadaan unsur hara di *tailing* dan potensi keracunan Hg. Dosis kompos pada penelitian ini ditingkatkan sampai 37,5 g/polibeg (60 t/ha). Sebelum penambahan kompos, kadar C, N, P dan K *tailing* sangat rendah. Kompos mengandung nutrisi tanaman yang lengkap tetapi belum mampu memperbaiki sifat fisik *tailing*, memicu pertumbuhan akar dan menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan vegetatif awal jagung.

Tabel 1. Pengaruh kompos dan inokulan cair *Azotobacter* terhadap tinggi tanaman jagung pada 1-3 minggu setelah tanam (MST) dan bobot kering pada 3 MST

Perlakuan	Tinggi Tanaman (cm)			Bobot Kering (g) 3 MST
	1 MST	2 MST	3 MST	
Kompos (g/polibeg)				
22,5	3,06 a	5,26 a	6,89 a	0,50 a
30	3,20 a	5,66 a	7,20 a	0,68 b
37,5	3,37 a	6,26 a	7,85 a	0,87 c
<i>Azotobacter</i> (A)				
Tanpa <i>Azotobacter</i>	3,03 a	5,33 a	6,73 a	0,51 a
<i>Azotobacter</i> sp. bd3a	3,21 ab	5,78 ab	7,26 b	0,66 b
<i>A. Chroococcum</i>	3,24 b	5,80 b	7,61 c	0,77 c
Konsorsium <i>Azotobacter</i>	3,35 b	5,99 b	7,66 c	0,78 c

Angka yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada $p < 0,05$

Azotobacter menyuplai ketersediaan N untuk diserap oleh tanaman; fitohormon (auksin, sitokinin dan giberelin) sebagai biostimulan pertumbuhan tanaman (Rubio dkk., 2013) sehingga tinggi tanaman meningkat dibandingkan kontrol. Setiap strain *Azotobacter* memiliki kapasitas fiksasi dan produksi fitohormon tertentu (Inawali, Ojha dan Marahatta, 2015) sehingga respons tanaman terhadap inokulasi strain *Azotobacter* baik secara tunggal maupun berganda tidak sama (Tabel 1). Pemberian bahan organik dosis tinggi tidak berpengaruh terhadap tinggi tanaman, tetapi efektif meningkatkan biomassa tanaman karena *tailing* mengandung besi 80,02 mg/kg. Biomassa adalah fotosintat hasil fotosintesis yang diakumulasi tanaman. Besi berperan dalam sintesis klorofil serta mempertahankan struktur dan fungsi kloroplast yaitu fotosintesis. Kadar klorofil di daun secara kuantitatif berkorelasi dengan kadar besi di kloroplast (Terry dan Low, 1982).

Populasi *Azotobacter* di Rizosfer Jagung dan Serapan Nitrogen

Pengaruh dosis kompos terhadap populasi *Azotobacter* maupun serapan N tidak ditentukan oleh inokulasi *Azotobacter*, tetapi kedua parameter tersebut dapat ditingkatkan dengan inokulasi *Azotobacter* baik secara tunggal maupun konsorsium (Tabel 2).

Dibandingkan dengan kontrol, populasi *Azotobacter* dan serapan N tertinggi diperlihatkan pada tanaman dengan perlakuan konsorsium isolat. *Azotobacter* dapat diisolasi kembali dari *tailing* dengan populasi yang lebih rendah daripada saat diinokulasikan (10^7 CFU/g). Penurunan ini menjelaskan bahwa

kondisi *tailing* kurang sesuai untuk proliferasi yang optimal meskipun *Azotobacter* diduga tetap berfungsi memfiksasi N. Kemasaman (pH) *tailing* hanya 2,2 sedangkan *Azotobacter* hidup pada pH 4,8-8,5 (Sah dan Singh, 2015). Inokulasi *Azotobacter* sp. bd3a yang diisolasi dari *tailing* tidak efektif mempertahankan populasi *Azotobacter*. Namun, jika bd3a diaplikasikan bersama *A. chroococcum* maka penurunan populasi tidak sebesar pada inokulasi tunggal.

Tabel 2. Pengaruh mandiri dosis kompos dan jenis *Azotobacter* terhadap serapan N tanaman jagung dan populasi *Azotobacter* pada 3 MST

Perlakuan	Populasi <i>Azotobacter</i> (10^4 CFU/g)	Serapan N (g/tanaman)
Kompos (g/polibeg)		
22,5	76 a	1,71 a
30	78 a	1,89 a
37,5	101 a	2,01 a
<i>Azotobacter</i> (A)		
Tanpa		
<i>Azotobacter</i>	30 a	1,57 a
<i>Azotobacter</i> sp. bd3a	28 a	1,92 b
<i>A. Chroococcum</i>	117 b	1,96 b
Konsorsium	195 c	2,03 c

Angka yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada $p < 0,05$

Interaksi antara *A. chroococcum* dan *Azotobacter* indigen adalah sinergis yang terlihat dari peningkatan populasi ketika kedua strain diinokulasikan dibandingkan dengan kontrol.

Fungsi konsorsium menjadi optimal dalam fiksasi N sehingga meningkatkan N total tanah. Hasil tersebut sesuai dengan peningkatan populasi *Azotobacter*, N total, parameter morfologi dan hasil gandum setelah inokulasi berganda *Azotobacter* penghasil fitohormon (Rajaei, Alikhani dan Raiesi, 2007; Widiyawati dkk., 2014). Konsorsium mikroba akan lebih efektif karena adanya aktivitas metabolisme yang saling melengkapi satu sama lain.

Hg *Tailing* dan Serapan Hg pada Tanaman Jagung

Pengaruh dosis kompos terhadap Hg total *tailing* dan serapan Hg tanaman tergantung dari strain *Azotobacter* (Tabel 3 dan Tabel 4). Sebelum percobaan *tailing* mengandung 1,64 mg/kg Hg. Dua kombinasi perlakuan yang menurunkan Hg *tailing* dan meningkatkan serapan Hg tanaman adalah aplikasi kompos 30 g baik dengan *A. Chroococcum* maupun konsorsium *Azotobacter*. Kedua strain *Azotobacter* yang diinokulasikan menghasilkan EPS, metabolit penting untuk menghindari keracunan logam.

Tabel 3. Pengaruh kompos dan inokulan cair *Azotobacter* terhadap merkuri total di *tailing* setelah penanaman jagung selama 3 minggu

Dosis Kompos (g/polibeg)	Strain <i>Azotobacter</i>			
	Tanpa	bd3a	AC ¹	Bd3a + AC ¹
mg/kg				
22,5	1,07 A a	1,07 A a	1,05 A b	1,05 A b
30	1,07 C a	1,07 A a	0,92 A a	0,98 B a
37,5	1,06 A a	1,03 A a	1,03 A b	1,03 A ab

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 5%. huruf kecil dibaca ke arah horizontal, huruf besar dibaca ke arah vertikal.

¹AC, *A. chroococcum*

Eksopolisakardia di permukaan sel rizobakteri *Azotobacter* membentuk ikatan koordinasi dengan Hg. Kelat EPS-Hg akan terlepas dari permukaan sel dan bersifat mobil sehingga Hg dapat diserap oleh tanaman jagung. Mobilisasi ini merupakan salah satu prinsip fitoakumulator Cd, Cu, Pb, Ni, dan Zn oleh tanaman yang tumbuh di tanah terkontaminasi logam

menggunakan tanaman (Mohsenzadeh dan Mohammadzadeh, 2018). Namun penurunan Hg di *tailing* dapat pula disebabkan oleh fitovolatilisasi Hg ke atmosfer karena *tailing* bersifat sangat masam (pH 2,2). Volatilisasi Hg di tanah masam terkontaminasi 1,5 mg/kg Hg telah diketahui disebabkan oleh *Acidithiobacillus ferrooxidans* SUG 2-2 yang melepaskan 4,1 nmol Hg⁰ (Takeuchi dkk., 2001).

Tabel 4. Pengaruh kompos dan inokulan cair *Azotobacter* terhadap serapan merkuri di tanaman jagung umur 3 minggu

Dosis Kompos (g/polibeg)	Strain <i>Azotobacter</i>			
	Tanpa	bd3a	AC ¹	Bd3a + AC ¹
mg/kg				
22,5	0,84 a (a)	1,99 b (b)	0,86 a (a)	1,07 a (a)
30	1,01 a (a)	1,16 a (a)	1,34 a (a)	1,16 a (a)
37,5	0,86 a (a)	1,33 a (b)	0,90 a (a)	0,81 a (a)

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji Duncan 5%. huruf kecil dibaca ke arah horizontal, huruf besar dibaca ke arah vertikal.

¹AC, *A. chroococcum*

Kadar Hg tertinggi (1,34 mg/kg) terdapat di tanaman jagung yang tumbuh dengan 30 g kompos disertai inokulasi *A. chroococcum* (Tabel 4) yang tidak berbeda nyata dengan Hg di tanaman jagung yang ditanam dengan inokulasi ganda (1,16 mg/kg). Kadar Hg di tanaman terbagi menjadi tiga kategori yaitu tinggi (> 3 mg/kg), rendah-sedang (0,1–3,0 mg/kg), dan rendah (< 0,1 mg/kg) (Vries, 2019). Pada percobaan ini kadar Hg di seluruh tanaman berada pada kisaran sedang dan belum membahayakan metabolisme tanaman.

Merkuri sangat sulit ditransportasikan di dalam sistem tanah-jagung (Xiao-feng dkk., 2015). Tanaman jagung juga tidak mengakumulasi metil merkuri dari tanah sehingga akumulasi Hg di tajuk jagung lebih disebabkan oleh polutan Hg di udara (Sun dkk., 2019). Meskipun demikian, pada penelitian ini kadar Hg tanaman jagung meningkat setelah percobaan yang memperjelas potensi *Azotobacter* dalam bioremediasi tanah terkontaminasi Hg menggunakan tanaman akumulator.

Bioremediasi *tailing* atau lahan terkontaminasi Hg dengan *Azotobacter* belum dilaporkan meskipun resistensinya terhadap Hg telah diteliti (Ghosh *dkk.*, 1996; Hindersah, Mulyani dan Osok, 2017). Hasil percobaan inokulasi *Azotobacter* telah menurunkan kadar Hg di tanah dan meningkatkan serapannya di tajuk. Namun perubahan ini tidak terlalu besar jika dibandingkan dengan penurunan kadar Hg tanah sampai 50% akibat inokulasi *Pseudomonas* sp. DC-B1 and *Bacillus* sp. DC-B2 (Chang *dkk.*, 2019).

KESIMPULAN DAN SARAN

Bahan organik maupun inokulasi *Azotobacter* baik secara tunggal maupun konsorsium *Azotobacter* sp. bd3a dan *A. chroococcum* mampu meningkatkan bobot kering tanaman, tetapi hanya inokulasi *Azotobacter* yang meningkatkan tinggi tanaman sampai 3 MST, serapan N dan populasi *Azotobacter* pada *tailing* emas.

Pemberian kompos disertai inokulan cair *Azotobacter* menurunkan kadar Hg di *tailing* dan berpotensi meningkatkan serapan Hg pada tanaman jagung, sehingga dapat dimanfaatkan untuk ekstraksi Hg dari *tailing* terkontaminasi. Untuk meningkatkan efektivitas *Azotobacter* dalam bioremediasi lahan terkontaminasi Hg, disarankan untuk reformulasi konsorsium bakteri, meningkatkan dosis bahan organik serta menggunakan tanaman uji berupa *legum cover crop* yang bukan tanaman pangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Pusat Unggulan Maluku Corner Universitas Padjadjaran. Kami berterimakasih kepada Pemerintah Daerah Kabupaten Buru, Provinsi Maluku untuk izin memasuki lokasi tambang ilegal di Gunung Botak dan melakukan pengambilan *tailing* di daerah aliran sungai Anthoni untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Aajjane, A., Karam, A. dan Parent, L. E. (2014) "Availability of three phosphorus fertilizers to corn grown in limed acid-producing mine

tailings," *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 5(4), hal. 1000229. doi: 10.4172/2155-6199.1000229.

Aleem, A., Isar, J. dan Malik, A. (2003) "Impact of long-term application of industrial wastewater on the emergence of resistance traits in *Azotobacter chroococcum* isolated from rhizospheric soil," *Bioresource Technology*, 86(1), hal. 7–13. doi: 10.1016/S0960-8524(02)00134-7.

Amri, F., Hindersah, R., Kurnani, B., Sunardi, Cahyandito, M. dan Nursyamsi, D. (2020) "Physical and chemical natures of post artisanal gold mine area at Kebunlodo Village of Riau Province," *Indonesian Mining Journal*, 23(1), hal. 9–19. doi: 10.30556/imj.Vol23.No1.2020.1062.

Armienta, M. A., Beltrán, M., Martínez, S. dan Labastida, I. (2020) "Heavy metal assimilation in maize (*Zea mays* L.) plants growing near mine tailings," *Environmental Geochemistry and Health*, 42(8), hal. 2361–2375. doi: 10.1007/s10653-019-00424-1.

Baral, B. R. dan Adhikari, P. (2014) "Effect of *Azotobacter* on growth and yield of maize," *SAARC Journal of Agriculture*, 11(2), hal. 141–147. doi: 10.3329/sja.v11i2.18409.

Basri, Sakakibara, M. dan Sera, K. (2020) "Mercury in soil and forage plants from artisanal and small-scale gold mining in the Bombana Area, Indonesia," *Toxics*, 8(1), hal. 15. doi: 10.3390/toxics8010015.

Brooks, R. R. (2000) "Phytochemistry of hyperaccumulators," in Brooks, R. R. (ed.) *Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals*. Cambridge: CAB International.

Chang, J., Yang, Q., Dong, J., Ji, B., Si, G., He, F., Li, B. dan Chen, J. (2019) "Reduction in Hg phytoavailability in soil using Hg-volatilizing bacteria and biochar and the response of the native bacterial community," *Microbial Biotechnology*, 12(5), hal. 1014–1023. doi: 10.1111/1751-7915.13457.

Ghosh, S., Sadhukhan, P. C., Ghosh, D. K., Mandal, A. K., Chaudhuri, J. dan Mandal, A. (1996) "Studies on the effect of mercury and organomercurial on the growth and nitrogen fixation by mercury-resistant *Azotobacter* strains," *Journal of Applied Bacteriology*, 80(3), hal. 319–326. doi: 10.1111/j.1365-2672.1996.tb03226.x.

Hindersah, R., Risamasu, R., Kalay, A. M., Dewi, T. dan Makatita, I. (2018) "Mercury contamination

- in soil, tailing and plants on agricultural fields near closed gold mine in Buru Island, Maluku," *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 5(2), hal. 1027–1034. doi: 10.15243/jdmlm.2018.052.1027.
- Hindersah, R., Mulyani, O. dan Osok, R. (2017) "Proliferation and exopolysaccharide production of *Azotobacter* in the presence of mercury," *Biodiversity Journal*, 8(1), hal. 21–26.
- Igiri, B. E., Okoduwa, S. I. R., Idoko, G. O., Akabuogu, E. P., Adeyi, A. O. dan Ejiogu, I. K. (2018) "Toxicity and bioremediation of heavy metals contaminated ecosystem from tannery wastewater: A review," *Journal of Toxicology*, 2018, hal. 1–16. doi: 10.1155/2018/2568038.
- Jnawali, A. D., Ojha, R. B. dan Marahatta, S. (2015) "Role of *Azotobacter* in soil fertility and sustainability—a review," *Advances in Plants & Agriculture Research*, 2(6), hal. 250–253.
- Minardi, S., Harieni, S., Anasrullah, A. dan Purwanto, H. (2017) "Soil fertility status, nutrient uptake, and maize (*Zea mays* L.) yield following organic matters and P fertilizer application on andisol," *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 193, hal. 012054. doi: 10.1088/1757-899X/193/1/012054.
- Mohsenzadeh, F. dan Mohammadzadeh, R. (2018) "Phytoremediation ability of the new heavy metal accumulator plants," *Environmental and Engineering Geoscience*, 24(4), hal. 441–450. doi: 10.2113/EEG-2123.
- Puli, M. R., Prasad, P. R. K., Jayalakshmi, M. dan Rao, B. S. (2017) "Effect of organic and inorganic sources of nutrients on NPK uptake by rice crop at various growth periods," *Research Journal of Agricultural Sciences*, 8(1), hal. 64–69.
- Rajaei, S., Alikhani, H. A. dan Raiesi, F. (2007) "Effect of plant growth promoting potentials of *Azotobacter chroococcum* native strains on growth, yield and uptake of nutrients in wheat," *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 11(41), hal. 285–297.
- Rasulov, B. A., Yili, A. dan Aisa, H. A. (2013) "Biosorption of metal ions by exopolysaccharide produced by *Azotobacter chroococcum* XU1," *Journal of Environmental Protection*, 04(09), hal. 989–993. doi: 10.4236/jep.2013.49114.
- Rizvi, A., Ahmed, B., Zaidi, A. dan Khan, M. S. (2019) "Bioreduction of toxicity influenced by bioactive molecules secreted under metal stress by *Azotobacter chroococcum*," *Ecotoxicology*, 28(3), hal. 302–322. doi: 10.1007/s10646-019-02023-3.
- Robson, R. L., Jones, R., Robson, R. M., Schwartz, A. dan Richardson, T. H. (2015) "*Azotobacter* genomes: The genome of *Azotobacter chroococcum* NCIMB 8003 (ATCC 4412)," *PLOS ONE*. Diedit oleh J.-F. Pombert, 10(6), hal. e0127997. doi: 10.1371/journal.pone.0127997.
- Rubio, E. J., Montecchia, M. S., Tosi, M., Cassán, F. D., Peticari, A. dan Correa, O. S. (2013) "Genotypic characterization of *Azotobacteria* isolated from Argentinean soils and plant-growth-promoting traits of selected strains with prospects for biofertilizer production," *The Scientific World Journal*, 2013, hal. 1–12. doi: 10.1155/2013/519603.
- Sah, S. dan Singh, R. (2015) "Siderophore: Structural and functional characterisation – A comprehensive review," *Agriculture (Polnohospodárstvo)*, 61(3), hal. 97–114. doi: 10.1515/agri-2015-0015.
- Sanders, E. R. (2012) "Aseptic laboratory techniques: Plating methods," *Journal of Visualized Experiments*, (63), hal. e3064. doi: 10.3791/3064.
- Sulaeman, Suparto dan Eviati (2005) *Petunjuk teknis: Analisis kimia tanah, tanaman, air, dan pupuk*. Diedit oleh B. H. Pras et al. Boor: Balai Penelitian Tanah.
- Sun, G., Feng, X., Yin, R., Zhao, H., Zhang, L., Sommar, J., Li, Z. dan Zhang, H. (2019) "Corn (*Zea mays* L.): A low methylmercury staple cereal source and an important biospheric sink of atmospheric mercury, and health risk assessment," *Environment International*, 131, hal. 104971. doi: 10.1016/j.envint.2019.104971.
- Takeuchi, F., Iwahori, K., Kamimura, K., Negishi, A., Maeda, T. dan Sugio, T. (2001) "Volatilization of mercury under acidic conditions from mercury-polluted soil by a mercury-resistant *Acidithiobacillus ferrooxidans* SUG 2-2," *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65(9), hal. 1981–1986. doi: 10.1271/bbb.65.1981.
- Terry, N. dan Low, G. (1982) "Leaf chlorophyll content and its relation to the intracellular localization of iron," *Journal of Plant Nutrition*, 5(4–7), hal. 301–310. doi: 10.1080/01904168209362959.

- de Vries, W., Schütze, G., Lofts, S., Meili, M., Römkens, P. F. A. M., Farret, R., De Temmerman, L. dan Jakubowski, M. (2002) "Critical limits for cadmium, lead and mercury related to ecotoxicological effects on soil organisms, aquatic organisms, plants, animals and humans," in Schütze, G., Lorenz, U., dan Spranger, T. (ed.) *Proceedings Expert Meeting on Critical Limits for Heavy Metals and Methods for Their Application*. Berlin, Germany: Wageningen Environmental Research, hal. 29–78.
- Widiyawati, I., Sugiyanta, Junaedi, A. dan Widyastuti, R. (2014) "Peran bakteri penambat nitrogen untuk mengurangi dosis pupuk nitrogen anorganik pada padi sawah," *Jurnal Agronomi Indonesia*, 42(2), hal. 96–102.
- Xiao-feng, J., Na, Z., Yang, W., Qiang, L. dan Jing-jing, Z. (2015) "Accumulation of mercury in soil-maize system of non-ferrous metals smelting area and its related risk assessment," *Chinese Journal of Environmental Science*, 36(10), hal. 3845–3851.
- Zhang, Y., Li, T., Bei, S., Zhang, J. dan Li, X. (2018) "Growth and distribution of maize roots in response to nitrogen accumulation in soil profiles after long-term fertilization management on a calcareous soil," *Sustainability*, 10(11), hal. 4315. doi: 10.3390/su10114315.