

RESISTENSI AZOTOBACTER TERHADAP MERKURI DAN PENGARUHNYA PADA PERTUMBUHAN JAGUNG (*ZEA MAYS* L.) DI *TAILING* TAMBANG EMAS

Azotobacter Resistance to Mercury and Its Effect on Corn (Zea Mays L.) Growth in Gold Mine Tailings

ALIYA Z. ADAWIAH^{1*}, PUJAWATI SURYATMANA^{2**}, TRIYANI DEWI^{3**}, dan
REGINAWANTI HINDERSAH^{2**}

¹ Program Magister Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

² Departemen Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung-Sumedang KM. 21

³ Research Center for Horticultural and Estate Crops, National Research and Innovation Agency
Jl. Raya Bogor-Jakarta, Cibinong, Bogor, West Java 16915

Korespondensi e-mail: reginawanti@unpad.ac.id

*Kontributor Utama **Kontributor Anggota

ABSTRAK

Rizobakteri dari genera *Azotobacter* pemfiksasi N berpotensi digunakan sebagai agen bioremediasi. *Azotobacter* memproduksi eksopolisakarida (EPS) yang mengkelat logam berat, dan mensintesis metabolit untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis resistensi konsorsium *Azotobacter* yang diisolasi dari *tailing* terkontaminasi merkuri (Hg) dalam mensintesis metabolit sekunder dalam kultur cair terkontaminasi Hg, serta pengaruh konsorsium *Azotobacter* terhadap pertumbuhan jagung pada berbagai komposisi media berbasis *tailing* yang mengandung Hg. Uji ketahanan terhadap Hg dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 100, 200, dan 400 mg/L HgCl₂ di dalam media bebas N. Percobaan rumah kaca dirancang dalam Rancangan Acak Kelompok dengan perlakuan berbagai konsentrasi bahan organik di dalam *tailing*. Hasil penelitian menunjukkan isolat *Azotobacter* mampu bertahan pada kaldu Ashby mengandung Hg hingga 400 mg/L, konsorsium menghasilkan auksin, giberelin, sitokinin, asam oksalat, asam sitrat dan EPS dalam jumlah yang signifikan. Selain itu, *Azotobacter* meningkatkan pertumbuhan jagung di *tailing* terkontaminasi Hg dengan penambahan kompos 6:4 (*tailing*:kompos). *Azotobacter* tahan terhadap Hg hingga 400 mg/L, secara konsorsium mampu menghasilkan metabolit sekunder dan memberikan pengaruh baik pada pertumbuhan jagung di *tailing* mengandung Hg.

Kata kunci: asam organik, eksopolisakarida, fitohormon, konsorsium.

ABSTRACT

Rhizobacteria from the N-fixing Azotobacter genera can be used as bioremediation agents. Azotobacter produces exopolysaccharides (EPS) that chelate heavy metals and synthesize metabolites to promote plant growth. This research aimed to analyze the resistance of the Azotobacter consortium isolated from tailings contaminated with mercury (Hg) in synthesizing secondary metabolites in liquid cultures contaminated with Hg, as well as the effect of the Azotobacter consortium on corn growth in various tailings-based media compositions containing Hg. The Hg resistance test was carried out using a completely randomized design with

100, 200, and 400 mg/L HgCl_2 in N-free media. The greenhouse experiment was designed in a randomized block design to treat various concentrations of organic matter in the tailings. The results showed that *Azotobacter* isolates were able to survive in Ashby broth containing Hg up to 400 mg/L, and the consortium produced significant amounts of auxin, gibberellin, cytokinin, oxalic acid, citric acid, and EPS. In addition, *Azotobacter* increased corn growth in Hg-contaminated tailings with the addition of 6:4 compost (tailings: compost). *Azotobacter* is resistant to Hg up to 400 mg/L; as a consortium, it can produce secondary metabolites and has a good influence on the growth of corn in tailings containing Hg.

Keywords: organic acid, exopolysaccharides, phytohormone, consortium.

PENDAHULUAN

Dampak negatif terhadap lingkungan dari Penambangan Emas Tanpa Izin (PETI) adalah kerusakan habitat flora dan fauna, serta penurunan kualitas tanah dan air. Karakteristik lahan bekas tambang ditandai dengan munculnya tanah berpasir atau berliat, lapisan top soil hampir tidak ada, minim vegetasi dan unsur hara, pH tanah yang tinggi, dan kandungan logam berat yang tinggi (Aryanti dan Hera, 2019). Bahan yang tersisa dari PETI adalah *tailing* yang umumnya ditumpuk di atas permukaan tanah dan berpotensi menurunkan kualitas tanah. *Tailing* hanya mengandung sedikit unsur hara esensial dan karbon organik tetapi mengandung banyak logam dan logam berat sehingga kurang cocok untuk pertumbuhan tanaman (Laker, 2023).

Logam berat yang terkandung dalam *tailing* pertambangan emas salah satunya adalah merkuri (Hg) yang berperan sebagai pembentuk alloy amalgam sebagai pengikat bijih emas dalam proses penambangan emas (Panggabean dkk., 2022). Merkuri merupakan unsur kimia sangat beracun. Lingkungan yang terkontaminasi oleh Hg dapat membahayakan kehidupan manusia dan rantai makanan di tanah. Logam berat secara berlebihan dapat menyebabkan komunitas mikroorganisme berubah, polusi pada air bawah tanah, toksik pada tanaman, dan pengaruh merugikan bagi jaringan tanaman atau mikroorganisme tanah (Ambarwati dan Bahri, 2018).

Volume *tailing* yang semakin banyak mendesak para petani untuk memanfaatkan kembali, salah satunya untuk media tanam (Trisnawati dkk., 2020). *Tailing* merupakan padatan sisa tambang mineral yang sangat miskin unsur hara, dengan pH dan tekstur ekstrim sehingga strategi pengelolaan *tailing* adalah meningkatkan ketersediaan nutrisi tanaman dan perbaikan sifat fisik. Pemberian

bahan organik merupakan salah satu strategi yang dapat dilakukan, karena bahan organik dapat berperan dalam meningkatkan unsur hara di dalam tanah (Anyo dkk., 2021). Selain itu, bahan organik dapat menurunkan kadar logam pada *tailing* melalui pengenceran dan membatasi ketersediaan logam melalui ikatan ionik dengan muatan negatif tanah. Aplikasi mikroba sebagai agen bioremediasi adalah metode yang efektif, mudah dan murah untuk menurunkan kadar logam berat (Hindersah, Nurhabibah dan Harryanto, 2021). Bioremediasi merupakan proses teknologi yang menggunakan sistem biologis untuk meremediasi lingkungan yang tercemar, dapat dilakukan dengan memanfaatkan potensi mikroba yang memiliki resistensi terhadap logam berat (Anggiani, 2020). Mikroba resisten logam berat adalah mikroba yang dapat bertahan hidup di lingkungan habitat yang mengandung logam berat. Bakteri *Azotobacter* adalah mikroba yang resisten terhadap Hg (Hindersah, Mulyani dan Osok, 2017).

Hasil penelitian membuktikan *Azotobacter* yang diisolasi dari lahan terkontaminasi Hg dan memiliki resistensi terhadap konsentrasi HgCl_2 sebanyak 15 mg/L (Hindersah, Mulyani dan Osok, 2017). Resistensi *Azotobacter* terhadap Hg disebabkan oleh eksopolisakarida (EPS) yang dihasilkan dalam jumlah besar. Eksopolisakarida merupakan polimer ekstraseluler yang terikat di dinding sel dan dapat mengkelat logam. Logam dapat diserap oleh tanaman karena kelat EPS-logam bersifat mobil (Hindersah, Nurhabibah dan Harryanto, 2021). *Azotobacter* terkenal sebagai bakteri penambat gas nitrogen (N_2) di atmosfer, mengubah N_2 menjadi ammonia (NH_3). Selanjutnya NH_3 berubah menjadi ammonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-) yang tersedia di tanah untuk tanaman. Selain itu, *Azotobacter* juga menghasilkan fitohormon auksin, giberelin dan sitokinin yang penting untuk pembelahan dan perkembangan sel

serta pertumbuhan tanaman (Das, 2019). Peran Azotobacter sebagai pemfiksasi nitrogen dan terbukti dapat meningkatkan serapan Hg pada tanaman jagung (Hindersah, Nurhabibah dan Harryanto, 2021). Tanaman jagung (*Zea mays* L.) adalah tanaman pangan yang memiliki kemampuan untuk mengakumulasi logam berat (Sumiahadi, 2023). Inokulasi Azotobacter akan berperan penting dalam bioremediasi lahan terkontaminasi Hg berdasarkan dua mekanisme yaitu: Sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang meningkatkan pertumbuhan akar, tajuk, dan biomassa tanaman; dan sebagai agen bioremediator yang meningkatkan akumulasi logam melalui EPS (Hindersah, 2022).

Bioremediasi lahan tambang emas terkontaminasi Hg memerlukan bakteri Azotobacter yang resisten terhadap Hg dan sekaligus berperan sebagai pupuk hayati. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi ketahanan konsorsium Azotobacter pada media terkontaminasi Hg dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman jagung dengan media tanam *tailing* yang miskin unsur hara dan mengandung Hg. Tanaman jagung pada penelitian ini tidak untuk dikonsumsi, hanya untuk tanaman uji.

METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Mei 2024 di Laboratorium Biologi Tanah dan Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran (Unpad). Bakteri yang digunakan adalah Azotobacter S5, S6a, dan S9 koleksi Laboratorium Biologi Tanah Unpad. *Tailing* diambil dari tambang emas Dusun Karangpaningal Kabupaten Tasikmalaya dengan pH 8,08, bertekstur liat, berdebu dengan C-organik yang rendah 1,57%, N-total rendah 0,16%, C/N 9,81, P₂O₅ total tinggi 42,49 mg/100 g dan K₂O total rendah 12,28 mg/100 g, kapasitas tukar kation rendah 3,51 cmol/kg, kejenuhan basa sangat tinggi 63,2%. Bahan organik yang digunakan adalah kompos dengan C/N 0,32, C-Organik 0,57%, N 1,77%, P₂O₅ 0,94% dan K₂O 0,72%.

Penelitian ini terdiri dari tiga percobaan, yang pertama uji resistensi tiga isolat Azotobacter terhadap Hg, analisis metabolit sekunder

konsorsium Azotobacter di media yang dikontaminasi Hg, dan uji efek konsorsium Azotobacter terhadap tanaman jagung di rumah kaca.

Rancangan Percobaan

Uji Resistensi isolat Azotobacter terhadap Hg

Uji ketahanan setiap isolat Azotobacter (S5, S6a, dan S9) dilakukan dalam media cair Ashby mannitol bebas Nitrogen yang dikontaminasi dengan tiga konsentrasi Hg (dalam bentuk HgCl₂) dan tanpa Hg sebagai kontrol. Percobaan dirancang dalam Rancangan Acak Lengkap, 12 kombinasi perlakuan dan enam ulangan. Perlakuan tersebut adalah:

1. Azotobacter S5
2. Azotobacter S5 + Hg 100 mg/L
3. Azotobacter S5 + Hg 200 mg/L
4. Azotobacter S5 + Hg 400 mg/L
5. Azotobacter S6a
6. Azotobacter S6a + Hg 100 mg/L
7. Azotobacter S6a + Hg 200 mg/L
8. Azotobacter S6a + Hg 400 mg/L
9. Azotobacter S9
10. Azotobacter S9 + Hg 100 mg/L
11. Azotobacter S9 + Hg 200 mg/L
12. Azotobacter S9 + Hg 400 mg/L

Masing-masing kultur cair isolat Azotobacter diinokulasikan sebanyak 0,5% (v:v) ke dalam 30 mL media cair Ashby yang diberi kontaminan Hg sesuai perlakuan. Kultur disimpan di atas *shaker* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu kamar (23-25°C). Populasi Azotobacter total dan pH diukur pada saat satu jam setelah inokulasi, 2, 4, dan 6 setelah inokulasi dengan metode plat pengenceran berseri menggunakan media agar Ashby.

Karakterisasi Konsorsium Azotobacter dalam Media dikontaminasi Hg

Daya hidup dan produksi metabolit konsorsium Azotobacter dilakukan pada media cair Ashby tanpa dan dengan Hg 400 mg/L dengan 3 ulangan. Biakan murni Azotobacter diinokulasikan sebanyak 0,5% dengan komposisi 1:1:1 (v:v) ke dalam media cair Ashby Mannitol sebanyak 100 mL dalam Erlenmeyer 250 mL. Kultur diinkubasi di atas *shaker* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu kamar (23-25°C) selama 6 hari.

Populasi *Azotobacter* total dihitung dengan metode plat pengenceran berseri menggunakan media agar Ashby. Hormon sitokinin dan giberelin ditetapkan menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan fasa gerak metanol:air (9:1), panjang gelombang 260 nm dan 254 nm setelah disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Asam organik diukur menggunakan metode HPLC dengan fasa gerak larutan fosfat (KH₂PO₄ 50 mM) dan panjang gelombang 210 nm. Kadar EPS diukur menggunakan metode gravimetri, sebanyak 10 mL inokulan cair disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 15 menit. Supernatan diambil dan ditambahkan aseton sebanyak dua kali volume supernatan, diinkubasi pada suhu 4°C. Suspensi disentrifugasi kembali, supernatan dan EPS dipisahkan dengan cara diambil dari dasar tabung dan diletakan di kertas saring whatman no. 1 yang sudah diketahui bobotnya, dipanaskan pada suhu 35°C selama 30 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Bobot EPS merupakan selisih antara bobot kertas saring dengan EPS dan bobot kertas saring kosong.

Percobaan Rumah Kaca

Percobaan pot dilakukan menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan delapan kombinasi perlakuan komposisi media tanam dan inokulasi konsorsium *Azotobacter* (KA); dengan tiga ulangan. Media tanam yang diuji terdiri atas 3 komposisi. Komposisi volume *tailing* dan pupuk kotoran sapi (PKS) yaitu 7:3, 6:4, dan 5:5; tanpa dan dengan inokulasi KA (Tabel 1). Perlakuan kontrol adalah *tailing* tanpa KA.

Sebanyak 200 g media tanam ditempatkan di pot plastik ukuran 15 cm × 5 cm. Benih jagung varietas hibrida Pertiwi-3 dikecambahkan di dalam cawan Petri dengan alas kassa lembab selama 2 hari sampai radikula tumbuh sepanjang 0,5 cm. Satu kecambah jagung ditanam di dalam pot pada kedalaman 1 cm. Masing-masing isolat diperbanyak terpisah kemudian diinokulasikan sebanyak 0.5% secara konsorsium dalam media cair Ashby dengan komposisi 1:1:1 (v:v) dengan kepadatan 10⁸ CFU/mL. Aplikasi inokulan cair konsorsium *Azotobacter* dilakukan pada 5 hari setelah tanam saat plumula telah tumbuh

sekitar 1 cm. Tanaman dipelihara selama 4 minggu di Rumah Kaca.

Tabel 1. Perlakuan percobaan rumah kaca

Kode Perlakuan	Keterangan
A	<i>Tailing</i> tanpa konsorsium <i>Azotobacter</i> (KA)
B	<i>Tailing</i> dengan 5% KA
C	7:3 (<i>tailing</i> :PKS) tanpa KA
D	7:3 (<i>tailing</i> :PKS) dengan 5% KA
E	6:4 (<i>tailing</i> :PKS) tanpa KA
F	6:4 (<i>tailing</i> :PKS) dengan 5% KA
G	5:5 (<i>tailing</i> :PKS) tanpa KA
H	5:5 (<i>tailing</i> :PKS) dengan 5% KA

Parameter pertumbuhan yang diamati setiap minggu dari 1 sampai 4 minggu setelah tanam (MST) adalah 1) tinggi tanaman dari leher akar sampai titik tumbuh dan 2) jumlah daun. Panjang akar serta bobot basah dan kering akar serta tajuk ditetapkan pada 4 MST.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Resistensi isolat *Azotobacter* terhadap Hg

Secara umum, bakteri tumbuh lebih baik pada media tanpa Hg (Tabel 2). Populasi semua isolat *Azotobacter* pada media tanpa kontaminasi Hg adalah 10³, sedangkan *Azotobacter* pada media terkontaminasi Hg belum menunjukkan adanya pertumbuhan kecuali isolat *Azotobacter* S5, namun populasinya tidak setinggi di media tanpa Hg (Tabel 2). Populasi *Azotobacter* setelah inkubasi 2, 4, dan 6 hari pada media tanpa Hg lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri di media dengan Hg karena logam berat dapat mengganggu berbagai proses metabolisme dalam sel yang mempengaruhi pertumbuhan dan pembelahan sel bakteri (Chen *dkk.*, 2020). Namun, seluruh populasi *Azotobacter* meningkat sampai hari ke 6 yang menandakan bahwa *Azotobacter* resisten terhadap Hg sampai 400 mg/L.

Resistensi *Azotobacter* terhadap Hg telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Khotimah dan Zulaika (2014) melaporkan isolat *Azotobacter* yang diisolasinya resisten terhadap Hg 20 sampai mg/L. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan pertumbuhan dan produksi EPS oleh *Azotobacter* yang dikontaminasi Hg sampai 20 mg/L.

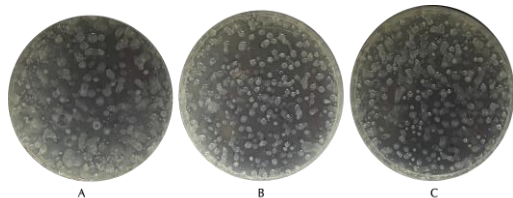
Tabel 2. Populasi Azotobacter total pada media cair dikontaminasi Hg

		Populasi total Azotobacter (log CFU/mL) pada hari ke-			
No	Perlakuan	0	2	4	6
1	Azotobacter S5	3,11 d	5,32 e	6,91 e	8,69 e
2	S5 + Hg 100 mg/L	2,96 d	4,51 cd	6,76 e	6,90 e
3	S5 + Hg 200 mg/L	2,66 c	4,67 d	6,47 c	6,91 c
4	S5 + Hg 400 mg/L	1,82 b	3,40 a	5,92 a	6,82 a
5	Azotobacter S6a	3,20 d	5,18 d	6,83 e	8,52 e
6	S6a + Hg 100 mg/L	0,00 a	4,16 b	6,66 de	6,71 de
7	S6a + Hg 200 mg/L	0,00 a	4,39 bc	6,53 cd	6,83 cd
8	S6a + Hg 400 mg/L	0,00 a	2,70 a	6,21 b	6,67 b
9	Azotobacter S9	3,13 d	5,27 e	6,96 f	8,78 f
10	S9 + Hg 100 mg/L	0,00 a	4,70 d	6,71 e	6,61 e
11	S9 + Hg 200 mg/L	0,00 a	4,51 bcd	6,48 c	7,03 c
12	S9 + Hg 400 mg/L	0,00 a	3,78 bc	6,05 b	6,99 b

* Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha \leq 5\%$.

** Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha \leq 5\%$. Notasi a menunjukkan pengaruh yang rendah, sedangkan notasi d menunjukkan pengaruh yang kuat.

Analisis ragam membuktikan adanya pengaruh pemberian kontaminan Hg pada media pertumbuhan solat Azotobacter S5, S6a, dan S9 namun masih dapat bertahan tumbuh dengan kontaminasi Hg konsentrasi tertinggi yaitu 400 mg/L. Hal ini membuktikan kembali hasil penelitian Suryatmana dkk. (2024) yang berhasil mengisolasi Azotobacter dari *tailing* dan mampu bertahan hidup pada media terkontaminasi Hg 400 mg/L.



Gambar 1. Koloni Azotobacter pada media agar Ashby dengan kontaminasi Hg 400 mg/L (A = Azotobacter S5; B = Azotobacter S6a; C = Azotobacter S9)

Gambar 1 menunjukkan koloni Azotobacter yang tumbuh pada media agar Ashby Mannitol dikontaminasi Hg 400 mg/L. Adanya lendir pada koloni Azotobacter merupakan ciri EPS, mekanisme seluler yang menyebabkan resistensi merkuri pada bakteri melibatkan bioakumulasi, transformasi enzimatis oleh enzim MerA dan MerB, volatilisasi, sekuestrasi antar sel oleh metallothionein, dan sekuestrasi ekstraseluler oleh EPS (Priyadarshane dkk., 2022).

Kemasaman inokulan menurun dari awal sampai hari ke enam setelah inokulasi (Tabel 3). pH setiap kultur dengan ketiga isolat hampir tidak ada perbedaan meskipun secara statistik pH tertinggi terdapat pada isolat S6a + Hg 100 mg/L di hari kedua inkubasi dan pada isolat S5 + Hg 200 mg/L di hari ke enam inkubasi. Penurunan pH pada kultur terjadi karena produksi asam organik yang bersifat asam oleh azotobacter Andhare dkk. (2019), seiring berjalannya waktu pH akan naik kembali karena mikroorganisme akan mengkonversi asam organik yang telah terbentuk dan pH akan mendekati netral (Rohmawati, Komariyah dan Wahyusi, 2023).

Berdasarkan Tabel 2 dan Tabel 3, ketiga isolat resisten terhadap 400 mg/L Hg. Resistensi ini dijadikan dasar untuk penetapan viabilitas konsorsium Azotobacter pada media cair Ashby dikontaminasi Hg.

Karakterisasi Konsorsium Azotobacter dalam Media dikontaminasi Hg

Konsorsium azotobacter dalam media terkontaminasi Hg tumbuh baik dengan populasi hingga 10^5 CFU/mL dengan pH netral (Tabel 4). Populasi konsorsium Azotobacter pada media cair Ashby dengan Hg lebih rendah daripada di media tanpa Hg, namun konsorsium Azotobacter resisten terhadap 400 mg/L Hg meskipun viabilitasnya lebih rendah. Mekanisme resistensi merkuri

Tabel 3. pH Azotobacter pada media dikontaminasi Hg

No	Perlakuan	pH Azotobacter pada hari ke-			
		0	2	4	6
1	Kontrol S5	8,06 ab	7,56 a	7,38 a	6,86 a
2	S5 + Hg 100 mg/L	8,13 ab	7,89 cd	8,12 b	7,13 b
3	S5 + Hg 200 mg/L	8,01 a	7,77 bc	8,08 b	7,34 c
4	S5 + Hg 400 mg/L	8,05 a	7,87 cd	7,58 a	7,63 d
5	Kontrol S6a	8,15 ab	7,95 cde	8,15 b	7,65 d
6	S6a + Hg 100 mg/L	8,13 ab	8,18 f	8,08 b	7,76 d
7	S6a + Hg 200 mg/L	8,01 a	8,14 cde	8,17 b	7,79 d
8	S6a + Hg 400 mg/L	8,13 ab	7,97 a	8,08 b	7,76 d
9	Kontrol S9	8,25 b	7,67 b	7,72 ab	7,33 c
10	S9 + Hg 100 mg/L	8,14 ab	8,02 ab	8,09 b	7,67 d
11	S9 + Hg 200 mg/L	8,01 a	8,22 a	8,09 b	7,78 d
12	S9 + Hg 400 mg/L	8,00 a	8,03 a	8,15 b	7,79 d

* Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha \leq 5\%$.

** Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha \leq 5\%$. Notasi a menunjukkan pengaruh yang rendah, sedangkan notasi f menunjukkan pengaruh yang kuat.

mungkin menggunakan pengikatan dan pencucian biomolekuler. Mekanisme bakteri resisten merkuri didasarkan pada proses demetilasi metil merkuri organik menjadi Hg^{2+} yang dikatalisis oleh enzim *organomercurial lyase*; selanjutnya, Hg^{2+} direduksi menjadi Hg^0 oleh merkuri reduktase, yang kemudian menguap ke udara (Zeyauallah, Islam dan Ali, 2010).

Selain resisten terhadap Hg, konsorsium Azotobacter pada media cair Ashby dengan

400 mg/L Hg juga menghasilkan metabolit sekunder fitohormon yang dapat dilihat pada Tabel 5, auksin sebanyak $2,10 \pm 0,83$ mg/L, giberelin $13,16 \pm 2,60$ mg/L, dan sitokinin sebanyak $1,49 \pm 0,04$ mg/L. Hasil ini sejalan dengan penelitian Suryatmana *dkk.* (2024) yang menunjukkan bahwa produksi fitohormon giberelin hingga 9,30 mg/L pada Azotobacter yang ditumbuhkan pada media terkontaminasi Hg.

Tabel 4. Populasi dan pH kultur cair konsorsium Azotobacter tanpa dan dengan dikontaminasi Hg

Perlakuan	Populasi Azotobacter total (log CFU/mL)	pH
Konsorsium Azotobacter	$8,05 \pm 0,11$	$7,22 \pm 0,02$
Konsorsium Azotobacter + Hg 400 mg/L	$5,98 \pm 0,19$	$7,14 \pm 0,01$

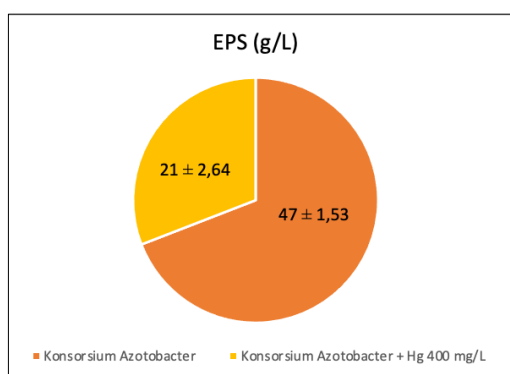
Tabel 5. Kadar Fitohormon kultur cair konsorsium Azotobacter tanpa dan dengan dikontaminasi Hg

Perlakuan	Fitohormon konsorsium Azotobacter (mg/L)		
	Auksin	Giberelin	Sitokinin
Konsorsium Azotobacter	$3,66 \pm 1,12$	$34,10 \pm 2,12$	$1,63 \pm 0,04$
Konsorsium Azotobacter + Hg 400 mg/L	$2,10 \pm 0,83$	$13,16 \pm 2,60$	$1,49 \pm 0,04$

Tabel 6. Kadar Asam organik konsorsium Azotobacter tanpa dan dengan dikontaminasi Hg

Perlakuan	Asam organik konsorsium Azotobacter (mg/L)		
	Asam Laktat	Asam Oksalat	Asam Sitrat
Konsorsium Azotobacter	$1,85 \pm 0,34$	$0,70 \pm 0,13$	$0,14 \pm 0,00$
Konsorsium Azotobacter + Hg 400 mg/L	0	$0,60 \pm 0,02$	$0,53 \pm 0,35$

Metabolit sekunder lain yang dihasilkan oleh konsorsium *Azotobacter* pada media dengan kontaminan Hg yaitu asam organik, pada penelitian ini asam organik yang dihasilkan adalah asam oksalat, dan asam sitrat namun konsorsium *Azotobacter* tanpa Hg menghasilkan asam laktat juga seperti pada Tabel 6. Asam oksalat dan asam sitrat yang dihasilkan oleh konsorsium *Azotobacter* pada media terkontaminasi Hg yaitu $0,60 \pm 0,02$ mg/L dan $0,53 \pm 0,35$ mg/L tidak berbeda jauh dengan kontrol, bahkan asam sitrat yang dihasilkan konsorsium *Azotobacter* pada media dengan kontaminan Hg lebih tinggi daripada kontrol. Asam organik merupakan gugus karboksil di luar sel mikroba yang dapat mengomplekskan logam dengan mekanisme pengkelatan membentuk molekul logam-organik (Suryatmana dkk., 2024). Jumlah eksopolisakarida yang dihasilkan oleh konsorsium *Azotobacter* pada media dikontaminasi Hg lebih kecil dibandingkan dengan kontrol, hampir dua kali lipat perbedaannya (Gambar 2). Hal tersebut terjadi karena konsorsium *Azotobacter* lebih tahan terhadap kondisi yang tertekan, seperti pada penelitian Hindersah, Mulyani dan Osok (2017) setelah 4 hari inkubasi konsentrasi EPS pada *Azotobacter* dalam media dikontaminasi HgCl_2 berkurang secara signifikan apabila dibandingkan dengan *Azotobacter* dalam media bebas HgCl_2 . EPS berperan penting dalam peningkatan toleransi mikroba terhadap stres eksternal (Sharma, Misba dan Khan, 2019).



Gambar 2. Eksopolisakarida konsorsium *Azotobacter* tanpa dan dengan dikontaminasi Hg

Pengaruh konsorsium *Azotobacter* terhadap tanaman jagung

Konsorsium *Azotobacter* terhadap tanaman jagung pada *tailing* yang ditambahkan kompos memberikan efek yang signifikan terhadap tinggi tanaman apabila dibandingkan dengan kontrol setelah 4 minggu tanam (Tabel 7). Perbandingan volume *tailing* dan kompos terbaik pada penelitian ini adalah 6 : 4. Konsorsium *Azotobacter* yang diaplikasikan memiliki banyak peran, terutama adalah sebagai penambat N bebas menjadi tersedia untuk tanaman. Tanaman jagung pada 6 : 4 (*tailing*:kompos) dengan inokulasi 5% konsorsium *Azotobacter* memiliki tinggi tajuk dan jumlah daun pada Tabel 7 dan Tabel 8. Penggunaan *Azotobacter* membantu menyediakan hara pada saat tanaman ada pada fasa vegetatif (Setiawati, Herdiyantoro dan Suryatmana, 2023). Hormon auksin dalam bentuk IAA (*Indole Acid Acetate*) yang dihasilkan oleh konsorsium *Azotobacter* juga membantu pemanjangan sel tanaman (Mentari, 2021).

Media tanam *tailing* tidak mengandung banyak nutrisi, sehingga penambahan kompos akan menambah nutrisi tanaman yang tersedia untuk tanaman. Inokulasi *Azotobacter* pada tanaman jagung dalam *tailing* ini juga dapat berperan sebagai bioremediator Hg yang terkandung pada *tailing*. EPS yang dihasilkan oleh *Azotobacter* membantu mengkelat atau menyerap logam berat pada *tailing* (Hindersah, Mulyani dan Osok, 2017), asam organik pada *Azotobacter* juga mampu mengkelat logam beracun, peningkatan ketersediaan nutrisi, dan memfasilitasi pertumbuhan akar (Suryatmana dkk., 2024).

Perbedaan komposisi PKS berpengaruh terhadap bobot basah akar dan tajuk, bobot kering akar dan tajuk, serta panjang akar tanaman (Tabel 9). Tanaman dengan perlakuan F (6:4 (*tailing*:PKS) dengan 5% konsorsium *Azotobacter*) dengan signifikansi memiliki biomassa yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan lain. Dengan penambahan dosis PKS yang tepat, konsorsium *Azotobacter* meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui mekanisme fiksasi N dan produksi fitohormon. *Azotobacter* adalah bakteri tanah aerob

heterotrof yang memerlukan karbon organik sebagai sumber energi dan karbon. PKS juga tentu berperan dalam membantu pertumbuhan tanaman karena nutrisinya yang baik dan dapat mengatur metilasi Hg. Degradasi bahan organik dapat menyediakan

nutrisi yang lebih mudah tersedia untuk mikroorganisme yang memetilasi sehingga meningkatkan produksi gas MeHg yang terlepas ke udara dan tidak diserap tanaman (Zhang *dkk.*, 2024).

Tabel 7. Tinggi tanaman jagung umur 4 minggu pada berbagai komposisi *tailing* dan kotoran sapi tanpa dan dengan inokulasi *Azotobacter*

Kode Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)			
	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
A	23,33 b	29,00 b	32,33 b	35,67 bc
B	23,00 b	27,00 b	31,00 b	35,67 bc
C	12,00 a	15,33 a	15,33 a	16,00 a
D	23,33 b	28,33 b	29,67 b	30,33 b
E	24,67 b	32,33 b	33,67 b	41,00 cd
F	24,67 b	34,67 b	36,00 b	45,67 d
G	24,00 b	29,33 b	35,33 b	42,67 cd
H	21,33 b	29,33 b	33,33 b	41,33 cd

* Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha \leq 5\%$.

** Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha \leq 5\%$. Notasi a menunjukkan pengaruh yang rendah, sedangkan notasi d menunjukkan pengaruh yang kuat.

Tabel 8. Jumlah daun jagung umur 4 minggu pada berbagai komposisi *tailing* dan kotoran sapi tanpa dan dengan inokulasi *Azotobacter*

Kode Perlakuan	Jumlah daun (helai)			
	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
A	2 a	4 b	4 b	5 b
B	2 a	4 b	4 b	5 bc
C	2 a	3 a	3 a	3 a
D	2 a	4 b	4 b	5 b
E	2 a	4 b	5 c	6 cd
F	2 a	4 b	5 c	6 d
G	2 a	4 b	5 c	5 d
H	2 a	4 b	5 c	6 cd

* Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha \leq 5\%$.

** Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha \leq 5\%$. Notasi a menunjukkan pengaruh yang rendah, sedangkan notasi d menunjukkan pengaruh yang kuat.



Gambar 3. Perbandingan tinggi tanaman dan panjang akar tanaman jagung pada 4 MST

Tabel 9. Data bobot basah dan kering akar, bobot basah dan kering tajuk, dan panjang akar tanaman jagung

Perlakuan	Bobot basah akar (g)	Bobot kering akar (g)	Bobot basah tajuk (g)	Bobot kering tajuk (g)	Panjang akar (cm)
A	1,76 ab	0,78 bc	2,17 b	0,31 b	10,67 ab
B	1,97 ab	0,87 bc	2,06 ab	0,29 b	14,00 bc
C	0,92 a	0,28 a	0,65 a	0,11 a	6,00 a
D	1,30 a	0,42 ab	1,79 ab	0,27 ab	14,33 bc
E	2,99 bc	0,95 c	3,83 c	0,42 bc	18,33 d
F	4,86 d	1,50 d	4,46 d	0,48 c	19,67 d
G	2,99 bc	0,90 c	4,09 d	0,42 bc	15,33 bc
H	3,65 cd	1,10 cd	3,59 d	0,41 bc	17,00 bc

* Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha \leq 5\%$.

** Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha \leq 5\%$. Notasi a menunjukkan pengaruh yang rendah, sedangkan notasi d menunjukkan pengaruh yang kuat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Tiga isolat *Azotobacter* secara tunggal maupun konsorsium mampu bertahan hidup dalam media dikontaminasi Hg 400 mg/L. Ketiga isolat (S5, S6a, dan S9) memiliki resistensi yang relatif sama dilihat dari viabilitas sel di dalam kultur cair Ashby. Populasi *Azotobacter* total di media dengan Hg 20 mg/L yang diinokulasi konsorsium *Azotobacter* adalah 10^5 CFU/mL; lebih rendah daripada populasinya di media cair tanpa Hg. Namun, populasi setiap isolat *Azotobacter* di kultur tunggal lebih tinggi daripada di kultur konsorsium. Di dalam media dengan Hg, konsorsium *Azotobacter* menghasilkan metabolit sekunder seperti fitohormon auksin, giberelin, dan sitokinin; asam oksalat dan asam sitrat, serta EPS. Konsorsium *Azotobacter* meningkatkan pertumbuhan jagung sampai umur 4 minggu di media *tailing* terkontaminasi Hg. Pertumbuhan jagung diperlihatkan oleh tanaman di media campuran *tailing* dan kompos dengan perbandingan 6:4 yang diinokulasi 5% inokulan cair konsorsium *Azotobacter*.

Analisis kadar Hg tanah dan tanaman setelah inokulasi *Azotobacter* diperlukan untuk mengetahui seberapa besar potensi konsorsium *Azotobacter* dalam remediasi logam berat secara kuantitatif. Analisis morfologi dan fisiologi tanaman yang lebih terperinci diperlukan untuk menjelaskan respons tanaman terhadap *Azotobacter* di media berbasis *tailing* tambang emas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini adalah bagian dari penelitian *Academic Leadership Grant* (ALG) yang dibiayai oleh DRPM Unpad. Penulis berterima kasih kepada pimpinan kelompok penambang emas di Dusun Karangpaningal, Desa Karanglayung, Kecamatan Karangjaya, Kabupaten Tasikmalaya yang menyediakan *tailing* untuk percobaan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, Y. dan Bahri, S. (2018) "Review: Fitoremediasi limbah logam berat dengan tumbuhan akar wangi (*Vetiveria zizanioides* L.)," *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 3(02), hal. 139–147. Tersedia pada: <https://doi.org/10.23960/aec.v3.i2.2018.p139-147>.
- Andhare, A.A., Poudel, A.S., Deshmukh, A.J. dan Dargad, J. s (2019) "Isolation of *Azotobacter* and study of its effect as a liquid formulation on seed germination and growth parameters of green gram (*Vigna radiata* L.)," *The Pharma Innovation Journal*, 8(4), hal. 336–341.
- Anggiani, M. (2020) "Potensi mikroorganisme sebagai agen bioremediasi mikroplastik di laut," *Oseana*, 45(2), hal. 40–49. Tersedia pada: <https://doi.org/10.14203/oseana.2020.Vol.45.No.2.92>.

- Anyo, W.C., Sondakh, T.D., Rondonuwu, J.J. dan Ogie, T.B. (2021) "The effect of organic fertilizing kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) and phonska fertilizer against chemical properties of planted tailings soil rice field," *Jurnal Agroekoteknologi Terapan*, 2(2), hal. 32–43. Tersedia pada: <https://doi.org/10.35791/jat.v2i2.35302>.
- Aryanti, E. dan Hera, N. (2019) "Sifat kimia tanah area pasca tambang emas: (Studi kasus pertambangan emas tanpa izin di Kenegerian Kari Kecamatan Kuantan Tengah, Kabupaten Kuantan Singingi)," *Jurnal Agroekoteknologi*, 9(2), hal. 21–26.
- Chen, X., Zhao, Y., Zhao, X., Wu, J., Zhu, L., Zhang, X., Wei, Z., Liu, Y. dan He, P. (2020) "Selective pressures of heavy metals on microbial community determine microbial functional roles during composting: Sensitive, resistant and actor," *Journal of Hazardous Materials*, 398, hal. 122858. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122858>.
- Das, H.K. (2019) "Azotobacters as biofertilizer," in G.M. Gadd dan S. Sariaslani (ed.) *Advances in Applied Microbiology*. 1st Editio. Elsevier Inc., hal. 1–43. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2019.07.001>.
- Hindersah, R. (2022) "Exopolysaccharide-producing Azotobacter for bioremediation of heavy metal-contaminated soil," in *Advances in Agricultural and Industrial Microbiology*. Singapore: Springer Nature Singapore, hal. 103–117. Tersedia pada: https://doi.org/10.1007/978-981-16-9682-4_6.
- 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.
- Hindersah, R., Nurhabibah, G. dan Harryanto, R. (2021) "Inokulasi Azotobacter dan aplikasi kompos untuk bioremediasi tailing terkontaminasi merkuri," *Jurnal Teknologi Mineral dan Batubara*, 17(1), hal. 39–46. Tersedia pada: <https://doi.org/10.30556/jtmb.Vol17.No1.2021.1142>.
- Khotimah, K. dan Zulaika, E. (2014) "Azotobacter sebagai bioakumulator merkuri," *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 3(2), hal. 30–32.
- Laker, M.C. (2023) "Environmental impacts of gold mining—with special reference to South Africa," *Mining*, 3(2), hal. 205–220. Tersedia pada: <https://doi.org/10.3390/mining3020012>.
- Mentari, R.D. (2021) *Pengaruh pemberian urin sapi terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman jagung (Zea mays L.)*. Universitas Borneo Tarakan.
- Panggabean, S.S.P., Rodhiyah, Z., Ilfan, F. dan Ihsan, M. (2022) "Indeks beban pencemar sebagai penentu tingkat pencemaran pada lahan bekas pertambangan emas tanpa izin," *INSOLOGI: Jurnal Sains dan Teknologi*, 1(5), hal. 565–573. Tersedia pada: <https://doi.org/10.55123/insologi.v1i5.942>.
- Priyadarshane, M., Chatterjee, S., Rath, S., Dash, H.R. dan Das, S. (2022) "Cellular and genetic mechanism of bacterial mercury resistance and their role in biogeochemistry and bioremediation," *Journal of Hazardous Materials*, 423, hal. 126985. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126985>.
- Rohmawati, A., Komariyah, N. dan Wahyusi, K.N. (2023) "Fermentasi pupuk organik cair (POC) dari limbah jeroan ikan dan batang pisang dengan bioaktivator," *ChemPro: Journal of Chemical and Process Engineering*, 4(1), hal. 15–22. Tersedia pada: <https://doi.org/10.33005/chempro.v4i1.284>.
- Setiawati, M.R., Herdiyantoro, D. dan Suryatmana, P. (2023) "Aplikasi pupuk organik Azolla dan pupuk hayati terhadap kandungan N tanaman, serapan N tanaman, dan hasil tanaman padi sawah organik pada inceptisols Jatinangor," *Soilrens*, 21(1), hal. 34–43.
- Sharma, D., Misba, L. dan Khan, A.U. (2019) "Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities," *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8, hal. 1–10. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0533-3>.
- Sumiahadi, A. (2023) "Akumulasi logam berat oleh tanaman bahan pangan dan potensi dampak kesehatan yang ditimbulkan," in *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Pertanian UNS Dalam Rangka Dies Natalis ke-47 UNS Tahun 2023*. Surakarta: Fakultas Agrikultur, Universitas Sebelas Maret, hal. 1009–1018.
- Suryatmana, P., Handayani, S., Bang, S. dan Hindersah, R. (2024) "Screening and profiling of mercury-resistant Azotobacter isolated from gold mine tailing in Pongkor, West

- Java," *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 11(2), hal. 5287–5300. Tersedia pada: <https://doi.org/10.15243/jdmlm.2024.112.5287>.
- Trisnawati, I., Prameswara, G., Rozana, K., Petrus, H.M.B., Prasetya, A. dan Mulyono, P. (2020) "Pelindian zirkonium dari tailing magnetik pasir zirkon hasil roasting menggunakan NaOH," *Metalurgi*, 35(3), hal. 83–88. Tersedia pada: <https://doi.org/10.14203/metalurgi.v35i3.558>.
- Zeyauallah, M., Islam, B. dan Ali, A. (2010) "Isolation, identification and PCR amplification of merA gene from highly mercury polluted Yamuna river," *African Journal of Biotechnology*, 9(24), hal. 3510–3514.
- Zhang, S., Xia, M., Pan, Z., Wang, J., Yin, Y., Lv, J., Hu, L., Shi, J., Jiang, T. dan Wang, D. (2024) "Soil organic matter degradation and methylmercury dynamics in Hg-contaminated soils: Relationships and driving factors," *Journal of Environmental Management*, 356, hal. 120432. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120432>.

