

Uji Resistensi Bakteri Endofit Bambu terhadap Logam Merkuri dan Identifikasi Secara Molekuler dengan Analisis Gen 16S rRNA

Resistance Test of Bamboo Endophytic Bacteria to Mercury Metal and Identification of Mercury Resistant Bacteria Using 16S rRNA Gene Analysis

Widiastini Arifuddin[♥], Maisya Zahra Al Banna

Program Studi Pendidikan Biologi STKIP Pembangunan Indonesia Makassar

[♥]Email korespondensi: widiastiniarifuddin88@gmail.com

Abstract. Mercury is one of the heavy metals that are harmful to the environment. The use of bamboo endophyte bacteria as mercury metal degrading bacteria has not been widely reported so it is necessary to conduct research to obtain mercury metal resistant bamboo endophyte bacteria. This study aims to determine the resistance of bamboo endophyte bacteria to mercury metals. Bacterial isolates used are a collection of isolates of Biology Laboratory STKIP Pembangunan Indonesia, were code KL2 A Hitam, KL2 Rehitam, KL2 Blit2, KL2 Rebatik isolates. In the resistance test, 100 μ L of $HgCl_2$ solution was dropped on a paper disk then grown on Nutrient Agar as a growing medium for bamboo endophytic bacteria for 24 hours at 37 °C. In this test, concentrations of $HgCl_2$ were used at 10, 20, 30, 40 and 50 ppm, respectively. The results showed that the four bacterial isolates could grow on all media containing $HgCl_2$ solution as indicated by the formation of a clear zone around the paper disk. Based on clear zone measurements, KL2 Re Batik isolates form a 13 mm clear zone when grown on a medium containing 10 ppm $HgCl_2$, which is the largest clear zone measured in this study. While the other three isolates, KL2 A Hitam, KL2 Rehitam and KL2 Blit2 form a 10.66 mm and 7.6 mm clear zone respectively on media containing 10 ppm $HgCl_2$. All isolates show a decrease in the size of the clear zone as the concentration of $HgCl_2$ increased. This shows that bamboo endophytic bacteria are resistant to Hg^{2+} ions up to a concentration of 50 ppm. The KL2 Rehitam isolate was chosen for identification using the 16S rRNA gene amplification, where the results showed that the KL2 Re Hitam isolate had a 99% species similarity to *Bacillus cereus*.

Keywords: bamboo, endophytic bacteria, mercury, resistance

Abstrak. Merkuri merupakan salah satu logam berat yang berbahaya bagi lingkungan. Pemanfaatan bakteri endofit bambu sebagai bakteri pendegradasi logam merkuri belum banyak dilaporkan sehingga perlu dilakukan penelitian untuk memperoleh isolat bakteri endofit bambu resisten logam merkuri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui resistensi isolat bakteri endofit bambu terhadap logam merkuri. Isolat bakteri yang digunakan merupakan koleksi isolat Laboratorium Biologi STKIP Pembangunan Indonesia, yang diberi kode KL2 A Hitam, KL2 Rehitam, KL2 Blit2, KL2 Rebatik. Pada uji resistensi, sebanyak 100 μ L larutan $HgCl_2$ diteteskan pada *paper disk* yang ditumbuhkan pada media Nutrient Agar sebagai media tumbuh bakteri endofit bambu selama 24 jam pada suhu 37 °C. Konsentrasi $HgCl_2$ yang digunakan adalah 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Hasil menunjukkan keempat isolat bakteri dapat tumbuh pada seluruh media yang mengandung larutan $HgCl_2$, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar *paper disk*. Berdasarkan pengukuran zona bening, isolat KL2 Rebatik membentuk zona bening sebesar 13 mm pada media mengandung 10 ppm $HgCl_2$ dan merupakan zona bening terbesar. Tiga isolat lainnya, isolat KL2 A Hitam, KL2 Rehitam dan KL2 Blit2 pada media mengandung 10 ppm $HgCl_2$ membentuk zona bening masing-masing 10,66 mm dan 7,6 mm. Seluruh isolat bakteri menunjukkan penurunan ukuran zona bening seiring dengan meningkatnya konsentrasi $HgCl_2$ yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri endofit bambu resisten terhadap ion Hg^{2+} hingga konsentrasi 50 ppm. Isolat KL2 Rehitam dipilih untuk diidentifikasi menggunakan amplikasi gen 16S rRNA. Hasil identifikasi menunjukkan isolat KL2 Rehitam memiliki tingkat kemiripan sebesar 99% dengan *Bacillus cereus*.

Kata kunci: bakteri endofit, bambu, merkuri, resisten

PENDAHULUAN

Logam berat digolongkan menjadi logam esensial dan non esensial berdasarkan karakter strukturnya. Logam esensial seperti tembaga (Cu), seng (Zn), mangan (Mn) dan Kobalt (Co), sedangkan logam non esensial terdiri atas plumbum (Pb), merkuri (Hg), kromium (Cr) dan cadmium (Cd). Logam

non esensial secara signifikan dapat membahayakan kesehatan makhluk hidup karena dapat terakumulasi pada beberapa bagian tumbuhan dan tanaman pertanian. Konsumsi tanaman yang telah terpapar logam berat akan menyebabkan penumpukan logam di dalam organ tubuh

yang dapat membahayakan kesehatan, terutama bagi anak-anak (Qing *et al.*, 2005).

Merkuri merupakan jenis logam berat beracun yang dihasilkan selama kegiatan penambangan maupun industri seperti industri klor alkali, industri pulp kertas, industri amalgamasi, fungisida, industri cat (Li *et al.*, 2009), pengolahan emas secara tradisional (Sugianti *et al.*, 2014), peralatan listrik, dan pertanian. Keberadaan merkuri pada lingkungan tanah memiliki retensi waktu yang panjang sehingga dapat menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan sekitar. Bahaya lain yang juga ditimbulkan oleh merkuri yaitu dapat menyebabkan gangguan pada sistem saraf, otak (Azevedo *et al.*, 2012), merusak hati, ginjal (Sommar *et al.*, 2013), paru-paru, dan sistem imun. Remediasi lingkungan tercemar merkuri merupakan langkah yang amat penting dilakukan, karena merkuri tidak dapat terdegradasi di alam. Beberapa langkah penanggulangan lahan tercemar merkuri dapat ditempuh melalui metode eskavasi, pembuangan, elektro-remediasi, pencucian tanah, dan desorpsi termal, namun metode tersebut membutuhkan biaya pengoperasian yang tinggi (Irawati *et al.*, 2012; Kurniati, 2014). Beberapa jenis bakteri diketahui sebagai agen bioremediasi cemar merkuri pada lingkungan tanah maupun perairan. Pemanfaatan bakteri dalam rehabilitasi lahan dinilai sebagai langkah yang amat menjanjikan karena biaya penanganan yang relatif lebih rendah, proses degradasi merkuri lebih efisien, dan mampu memperbaiki ekosistem yang tercemar dengan mengubah ion Hg ke dalam bentuk senyawa yang tidak beracun (Kapoor dan Kapagunta, 2017). Namun, dalam pemanfaatannya diperlukan jenis bakteri yang resisten terhadap logam merkuri. Bakteri yang resisten terhadap suatu logam berat disebabkan karena proses biosorpsi yang menyerap logam secara pasif sehingga logam tidak merusak struktur sel bakteri dan proses bioakumulasi yang merupakan proses secara aktif sehingga dapat merusak struktur sel bakteri (Chojnacka, 2010).

Dalam penelitian ini digunakan isolat bakteri endofit dari akar beberapa jenis bambu asal Tana Toraja. Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman inang tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit (Bhore dan Sathisha, 2010). Bakteri endofit terdapat hampir pada 300.000 jenis tumbuhan di bumi. Bakteri endofit dapat diperoleh dengan cara diisolasi dari tanaman yang permukaannya telah disterilkan ataupun dapat diekstrak untuk memperoleh bakteri yang terdapat pada jaringan tanaman (Ryan *et al.*, 2008). Keberadaan bakteri endofit di dalam jaringan tanaman juga diketahui dapat memicu pertumbuhan tanaman dan berperan sebagai agen pengendali hayati. Selain itu, bakteri endofit mempunyai banyak keuntungan dalam berbagai aspek kehidupan (de Sousa *et al.*, 2017), senyawa yang dihasilkan bakteri endofit tertentu berpotensi dikembangkan dalam bidang medis dalam bentuk sediaan obat-obatan, pertanian dan remediasi lahan tercemar (Pulungan, 2015) dan industri. Tanaman bambu bagi masyarakat Tana Toraja banyak dimanfaatkan sebagai pengganti kayu untuk konstruksi bangunan, kerajinan tangan, alat musik, serta peralatan dapur. Bambu tergolong pula sebagai tanaman konservasi karena mampu menahan air lebih baik dibandingkan tanaman lainnya, meskipun pengetahuan masyarakat akan hal ini masih minim. Negara Cina sebagai penghasil bambu banyak memanfaatkan tanaman ini dalam fitoremediasi logam berat. Proses rizofiltrasi yang terjadi pada akar bambu dapat menyerap kontaminasi logam yang berada di sekitarnya. Akar pada tanaman bambu dapat melepaskan eksudat berupa protein pengikat logam berat dan menyimpannya dalam struktur vakuola sel akar. Melalui mekanisme ini distribusi molekul logam berat di dalam sel dapat dicegah (Rascio *et al.*, 2011). Pemanfaatan bakteri endofit akar bambu dalam remediasi merkuri di kawasan Sulawesi belum banyak dilaporkan, sehingga perlu dilakukan penelitian dasar yang bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri endofit bambu

yang resisten terhadap logam merkuri agar pemanfaatannya sebagai agen bioremediasi lebih optimal.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan terdiri dari neraca analitik, pH meter, pipet mikro, *incubator shaker* (MAXQ 4000), inkubator (Heraeus), oven (Memmet), autoklaf, sentrifugal, lemari pendingin, *water bath*, alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR) *Thermal Cycler*, seperangkat alat elektroforesis, dan seperangkat alat-alat gelas sedangkan bahan yang digunakan terdiri dari medium padat Nutrient Agar (NA), HgCl₂, larutan buffer PCR, buffer lysis, primer B27F, primer U1492R, ddH₂O, aquades, aquabides, *paper disk*.

Determinasi Resistensi Bakteri Endofit Terhadap Merkuri

Isolat bakteri endofit yang digunakan sebanyak 4 isolat yang diisolasi dari bagian rebung dan akar tiga jenis bambu berbeda yakni jenis bambu hitam, bambu blit, dan bambu batik asal Tanah Toraja yang merupakan koleksi isolat bakteri Laboratorium Biologi STKIP Pembangunan Indonesia. Empat isolat bakteri yang digunakan diberi kode KL2 A Hitam, KL2 Rehitam, KL2 Blit2, KL2 Rebatik. Keempat isolat tersebut ditumbuhkan pada medium padat NA. HgCl₂ yang digunakan sebanyak 100 µL untuk masing-masing konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Masing-masing konsentrasi HgCl₂ tersebut diteteskan pada *paper disk* dan dikeringkan selama 10 menit pada suhu ruang. Isolat bakteri yang telah ditumbuhkan pada medium Nutrient Broth diinokulasikan kembali ke media NA secara merata, selanjutnya *paper disk* yang telah ditetesi HgCl₂ dimasukkan secara aseptik pada media NA. Kemampuan isolat bakteri diamati berdasarkan pengamatan zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri. Jika terbentuk zona bening menunjukkan bahwa bakteri endofit bambu mampu mendegradasi kandungan merkuri

yang ada pada *paper disk* yang diletakkan pada media.

Identifikasi Molekular Isolat Bakteri Endofit

Pada tahap ini dilakukan isolasi dan pemurnian DNA bakteri endofit menggunakan DNA easy mini kit kemudian diamplifikasi gen 16S rRNA menggunakan pasangan primer 27F (5'AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3') dan primer 1492R (5'GGT TAC CTT GTT ACG ACT T 3'). Identifikasi dilakukan dengan metode PCR kemudian hasilnya dianalisis melalui sekuensing DNA. Data sekuens dianalisis menggunakan BLAST dan dilanjutkan dengan rekonstruksi pohon filogeni menggunakan aplikasi Mega 7.

Tahapan-tahapan pada proses identifikasi molekular merupakan hasil rujukan dari Jang-Jih Lu *et al.*, (2000). Pada tahapan isolasi dan pemurnian DNA isolat bakteri endofit digunakan 10 mL kultur bakteri kemudian ditambahkan 1 mL buffer lysis yang mengandung 1 % Triton X-100, 10 mM Tris (pH 8,0), dan 1 mM EDTA kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 5 menit. Setiap pelet yang terbentuk disuspensikan dengan 100 µL buffer lysis dan dipanaskan pada *waterbath* selama 30 menit untuk melepaskan DNA. Puing-puing sel dipisahkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 5 menit kemudian supernatan disimpan untuk proses PCR. Untuk proses pemurnian DNA digunakan *QIAamp Tissue Kit*.

Pada proses amplifikasi gen 16S rRNA isolat bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan larutan buffer PCR (10 mM Tris-HCl, pH 8,3; 50 mM KCl; 2,5 mM MgCl₂; 0,001 % gelatin), 0,2 µM primer B27F (5'AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3') dan 0,2 µM primer U1492R (5'GGT TAC CTT GTT ACG ACT T 3'), 0,2 mM DNA cetakan, dan 2,5 U *Tag* DNA polymerase, dan 5 µL ddH₂O. Proses amplifikasi diawali dengan kondisi denaturasi pada suhu 94 °C selama 10 menit kemudian dilakukan pada kondisi denaturasi

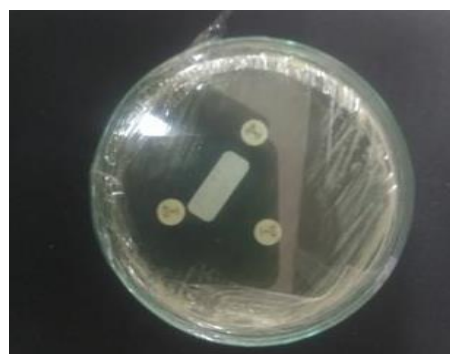
suhu 94 °C selama 1 menit, *annealing* selama 1 menit pada suhu 55 °C, dan *extention* selama 2 menit pada suhu 72 °C dengan jumlah siklus 35 kali selanjutnya diinkubasi selama 10 menit pada suhu 72 °C. 5 µL produk PCR dielektroforesis menggunakan 1% gel agarosa untuk mengetahui ukuran pasang basanya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data Pengujian Daya Hambat Bakteri Endofit Bambu

Berdasarkan hasil pengamatan uji daya hambat isolat bakteri endofit pada hari pertama setelah ditumbuhkan pada media NA yang ditambahkan dengan HgCl₂ dan

diinkubasi selama 1 x 24 jam menunjukkan adanya zona bening di sekitar *paper disk* dengan ukuran penghambatan yang berbeda-beda. Penggunaan senyawa HgCl₂ dalam penelitian ini dikarenakan ion Hg²⁺ dianggap sebagai agen yang sangat toksik. Adanya zona bening yang terbentuk di sekitar *paper disk* menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit dapat tumbuh dan mampu mendegradasi kandungan merkuri atau resisten terhadap merkuri. Keempat isolat bakteri mampu tumbuh pada medium yang mengandung HgCl₂ pada konsentrasi 10-50 ppm. Hasil uji daya hambat yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Zona bening yang terbentuk di sekitar *paper disk*

Pada hasil yang diperoleh pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa bakteri endofit dapat tumbuh pada media yang mengandung HgCl₂ sehingga dapat dikatakan bahwa bakteri endofit resisten terhadap logam

merkuri. Selanjutnya dilakukan pengukuran zona bening yang terbentuk di sekitar *paper disk* sehingga diperoleh data yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran zona bening bakteri endofit terhadap logam merkuri

Konsentrasi HgCl ₂ (ppm)	Hasil Pengukuran Zona Bening (mm)			
	Isolat KL2 A Hitam	Isolat KL2 Rehitam	Isolat KL2 Blit2	Isolat KL2 Rebatik
10	10,6	10,6	7,6	13
20	6,5	2	4,5	6
30	2	2	2	2
40	2,03	2	2	2,06
50	2	3,1	2	2

Pada pengukuran zona bening isolat KL2 A Hitam diperoleh rata-rata tertinggi 10,6 mm pada variasi konsentrasi HgCl₂ 10 ppm sedangkan yang terendah pada variasi konsentrasi HgCl₂ 30 ppm dan 50 ppm.

Pada pengujian isolat KL2 Rehitam diperoleh rata-rata tertinggi 10,6 mm pada variasi konsentrasi HgCl₂ 10 ppm sedangkan yang terendah pada variasi konsentrasi HgCl₂ 20, 30 ppm dan 40 ppm. Pada

pengukuran zona bening isolat KL2 Blit2 diperoleh rata-rata tertinggi 7,6 mm pada variasi konsentrasi HgCl₂ 10 ppm sedangkan yang terendah pada variasi konsentrasi HgCl₂ 30, 40 ppm dan 50 ppm. Sedangkan pada pengujian isolat KL2 Rebatik diperoleh rata-rata tertinggi 13 mm pada variasi konsentrasi HgCl₂ 10 ppm sedangkan yang terendah pada variasi konsentrasi HgCl₂ 30 ppm dan 50 ppm.

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kemampuan bakteri endofit mendegradasi kandungan merkuri optimum pada konsentrasi HgCl₂ 10 ppm sehingga peningkatan konsentrasi HgCl₂ tidak lagi menunjukkan secara signifikan penambahan zona bening. Hal ini sesuai dengan kerja enzim yang memiliki batas optimum dalam mendegradasi substrat yang pada kondisi ini menurut Essa *et al.*, (2002) mekanisme bakteri dapat tumbuh pada media yang mengandung merkuri atau bersifat resisten terhadap merkuri karena adanya enzim yang mereduksi ion Hg²⁺ menjadi ion Hg⁰ yakni flavoenzim merkuri reduktase yang dikode oleh gen merkuri reduktase (*merA*) terletak pada sitoplasma. Adapun mekanismenya yaitu ion Hg²⁺ masuk ke dalam periplasma terikat pada residu sistein pentranspor merkuri (*merP*) kemudian ditransfer ke residu sistein *merT*, *merC*, dan *merF* masuk ke dalam sel. Di dalam sel tepatnya di sitoplasma, ion Hg²⁺ terikat pada sisi aktif enzim merkuri reduktase (*merA*) yang berupa NADPH sehingga ion Hg²⁺ tereduksi menjadi ion Hg⁰. Ion Hg⁰ yang terbentuk sangat volatil yang kemudian keluar dari sel secara difusi lewat membran sel. (Iohara *et*

al., 2001; Sasaki *et al.*, 2006; Dash & Das, 2012).

Isolat bakteri endofit bambu menunjukkan tingkat resistensi yang berbeda-beda jika dilihat dari ukuran zona bening. Perbedaan ini disebabkan karena susunan dan tingkat ekspresi gen *mer* operon yang berbeda-beda setiap isolat. Menurut Ranjard *et al.*, (1997) dan Narita *et al.*, (2003), komponen gen *mer* operon setiap spesies tidak sama, terdapat perbedaan variasi komposisi dan tingkat ekspresi gen-gen penyusunnya.

Hasil Identifikasi Molekuler Isolat Bakteri Endofit

Data identifikasi yang diperoleh hanya isolat dengan kode KL2 Rehitam. Identifikasi bakteri endofit menggunakan metode PCR untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA. Penggunaan gen 16S rRNA yakni salah satu jenis gen yang telah dikarakterisasi dengan baik dinilai lebih akurat dan membutuhkan waktu yang singkat dalam mengidentifikasi suatu mikroorganisme. Hasil amplifikasi selanjutnya disekuensing sehingga diperoleh data urutan nukleotida yang dapat dilihat pada Gambar 3.

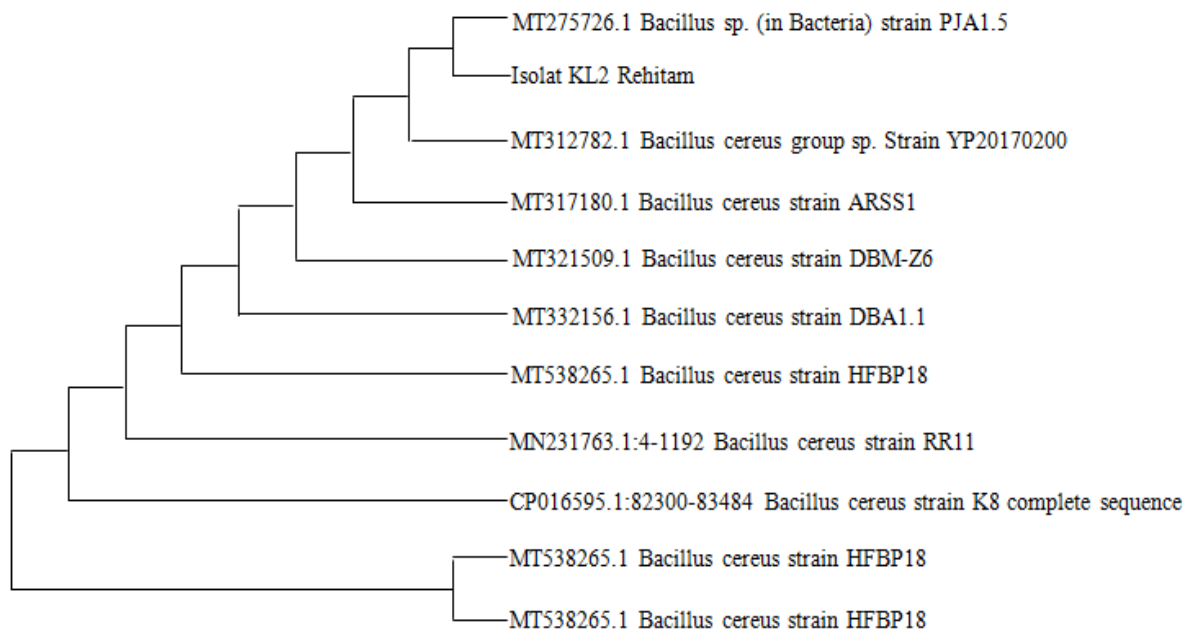
Hasil sekuensing isolat KL2 Rehitam dilacak homolognya dengan membandingkan dengan data sekuens yang ada pada database *GenBank* melalui aplikasi BLAST secara online pada situs <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Hasil BLAST yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil BLAST bakteri endofit isolat KL2 Rehitam

Isolat Bakteri	GenBank		Homologi (%)	Jenis Spesies
	No. Alesi	Asal Isolat		
KL2 Rehitam	CP016595.1	Makanan fermentasi Korea, Korea	99	<i>Bacillus cereus</i> strain K8

Berdasarkan hasil BLAST pada Tabel 2 diperoleh bahwa bakteri endofit isolat KL2 Rehitam memiliki kesamaan dengan jenis bakteri yang terdapat pada database *GenBank* yaitu bakteri *Bacillus cereus* dengan tingkat homologi 99%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat KL2 Rehitam

memiliki tingkat kesamaan spesies 99% dengan *Bacillus cereus* berdasarkan urutan nukleotidanya. Selanjutnya dilakukan rekonstruksi pohon filogenik menggunakan aplikasi Mega 7 yang hasilnya dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar3. Pohon filogenik isolat KL2 Rehitam

Pada desain pohon filogenik Gambar 3 menunjukkan bahwa di semua cabang terdapat jenis bakteri yang merupakan keluarga *Bacillus*. Pada Gambar 3 juga menunjukkan bahwa bakteri endofit isolat KL2 Rehitam memiliki hubungan terdekat dengan bakteri *Bacillus sp* strain PJA1.5.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keempat isolat bakteri endofit yang digunakan resisten terhadap merkuri sehingga selanjutnya dapat digunakan sebagai agen bioremediasi pada lingkungan yang tercemar limbah merkuri. Untuk isolat KL2 Rehitam menunjukkan rata-rata zona bening yang tertinggi yaitu 13 mm pada konsentrasi 10 ppm. Pada hasil identifikasi yang diamplifikasi dengan gen 16S rRNA kemudian dianalisis menggunakan BLAST, bakteri endofit

resisten merkuri isolat KL2 Rehitam merupakan bakteri yang memiliki tingkat kesamaan spesies 99% dengan *Bacillus cereus* berdasarkan urutan nukleotidanya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM), Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan yang telah memberikan dana hibah penelitian hingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

Azevedo, B.F., Furieri, L.B., Pecanha, F.M., Wiggers, G.A., Vassallo, P.F., Simoes, M.R. (2012). Toxic effects of mercury on the cardiovascular and central nervous systems. *J. Biomed. Biotechnol.* doi:10.1155/2012/949048.

- Bhore SJ, and Sathisha G. (2010). Screening of endophytic colonizing bacteria for cytokinin like compounds: crude cell-free broth of endophytic colonizing bacteria is unsuitable in cucumber cotyledon bioassay. *World J. Agric. Sci*, 6(4):345-52.
- Chojnacka, K. (2010). Biosorption and Bioaccumulation The Prospect for Practical Applications. *Environmental International* 36: 299-307
- Dash, H.R., and Das, S. (2012). Bioremediation of Mercury and The Importance of Bacterial mer Genes. *Inter. Biodeterioration and Biodegradation* 75: 207-21. doi:10.1016/j.ibiod.2012.07.023.de
- Sousa, C.P., Serrano, N.F.G. and Lacava, P.T. (2017). Endophytic Microorganisms of the Tropical Savannah: A Promising Source of Bioactive Molecules. In *Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics*. Springer, Cham. pp. 57-70.
- Essa, A M M., Macaskie, L E., Brown, N L. Mechanisms of mercury bioremediation. *Biochemical Society Transactions*. 2002. 30: 672-674
- Iohara, K., Liyama, R., Nakamura, K. (2001). The mer operon of a mercury resistant *Pseudoalteromonas haloplanktis* strain isolated from Minamata Bay, Japan. *Appl Microbiol Biotechnol* 56, 736-741. doi:10.1007/s002530100734.
- Irawati,W, Patricia, Y., Soraya, AH Baskoro. (2012). A study on mercury-resistant bacteria isolated from a gold mine in Pongkor Village, Bogor, Indonesia. *Hayati* 19(4): 197-200.
- Jang-Jih Lu, Cherng-Lih Perng, Shih-Yi Lee, and Chih-Chieng Wan. (2000). *J. of Clin Microbiol*. 38(6): 2076-2080.
- Kapoor, Y and Kapagunta, C. 2017. Mercury Bioremediation Processes to Combat Mercury Contamination. Project Guru. <https://www.projectguru.in/publications/mercury-bioremediation-processes>.
- Kurniati, E. 2014. Bioremediation of mercury contaminated soil using *Aspergillus flavus* strain KRP1 [Disertasi]. Jepang: Yamaguchi University.
- Li P., Feng X. B., Qiu G. L., Shang L. H., Li Z. G. (2009). Mercury pollution in Asia: a review of the contaminated sites. *Journal of Hazardous Materials*. 168(2-3):591–601. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.03.031.
- Narita, M., Chiba, K., Nishizawa, H., Ishii, H., Huang, C.C., Kawabata, Z., Silver, S., and Endo, G. (2003). Diversity of Mercury Resistance Determinants Among Bacillus Strains Isolated From Sediment of Minamata Bay. *FEMS Microbiology Letters* 223 (1): 73-82. doi:10.1016/S0378-1097(03)00325-2
- Pulungan, A.S.S. (2015). Pemanfaatan Mikroorganisme dalam Bioremediasi Senyawa Pencemar. *Jurnal Biosains*, 1(1), pp.75-84.
- Qing, X., Yuting, Z., Shenggao, L. (2015). Assessment of heavy metal pollution and human health risk in urban soils of steel industrial city (Anshan), Liaoning, Northeast China. *Ecotoxic Environ Safety*, 120: 377-385.
- Ranjard, L., Richaume, A., Jocteur-Monrozier, L., and Nazaret, S. (1997). Response of Soil Bacteria to Hg(II) in Relation to Soil Characteristics and Cell Location. *FEMS Microbiology Ecology* 24 (4): 321-331. doi:10.1111/j.1574-6941.1997.tb00449.x
- Rascio N, Navari-Izzo F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Scie* 180: 169-181.
- Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ, Dowling DN. (2008). Minireview: Bacterial Endophytes: Recent Development And Application. *FEMS Microbiol Lett* 278: 1-9.
- Sasaki, Y., Hayakawa, T., Inoue, C. (2006). Generation of Mercury-

Hyperaccumulating Plants through Transgenic Expression of the Bacterial Mercury Membrane Transport Protein MerC. *Transgenic Res* 15, 615. doi:10.1007/s11248-006-9008-4.

Sommar, J.N., Svensson, M.K., Bjor, B.M., Elmstahl, S.I., Hallmans, G., Lundh, T., et al. (2013). End-stage renal disease and low level exposure to lead, cadmium and mercury; a population-based, prospective nested case-referent study in Sweden. *Environ. Health*. doi:10.1186/1476-069X-12-9.

Sugianti, T., Sudjudi, dan Syahri. 2014. Penyebaran Cemaran Merkuri pada Tanah Sawah Dampak Pengolahan Emas Tradisional di Pulau Lombok NTB. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal*. Palembang 26-27 September 2014 ISBN : 979-587-529-9 226.