



## DETEKSI KEBERADAAN BAKTERI RESISTEN LOGAM MERKURI (Hg) PADA PENAMBANGAN EMAS TANPA IZIN (PETI) DI SIMPI, SEKADAU, KALIMANTAN BARAT

Abdullah<sup>1\*</sup>, Luqmanul Hakim<sup>1</sup>, Edi Fitriandi<sup>1</sup>, dan Rahmawati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi,  
Pontianak, Indonesia

\*Corresponding author: [abdullah.dullah13@student.untan.ac.id](mailto:abdullah.dullah13@student.untan.ac.id)

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 07 July 2018

Accepted 20

November 2018

Available online

30 December 2018

#### Keywords:

Bacteria, Degradation,  
Mercury, NA-HgCl,  
Resistant

### ABSTRACT

The purpose of this research is to know the existence of mercury metal degradation bacteria in the activity of illegal gold mining (PETI) in Simpi Village, Belitang Hilir sub-district, Sekadau District, West Kalimantan. The samples were taken from one location with three different sampling points. Isolation of bacteria by *pour plate* method in NA-HgCl medium. Detection of bacteria by paper disc method based on inhibit zone resistant of *Mueller-Hinton Agar* (MHA) with mercury levels such as 10 mg/L, 20 mg/L and 30 mg/L. The results showed that it was found that one pure isolate (PP) showed the most resistant isolate to the mercury stress of 10 mg/L can be detected.

© 2018 IJoPAC. All rights reserved

## 1. Pendahuluan

Kelurahan Simpi, kecamatan Belitang Hilir, Kabupaten Sekadau, Kalimantan Barat merupakan salah satu lokasi yang memiliki potensi penghasil barang tambang berupa emas yang patut diperhitungkan keberadaannya. Kegiatan pengolahan emas yang dilakukan di Kelurahan Simpi masih dilakukan secara tradisional dengan penggunaan merkuri (Hg) dalam proses pengolahannya. Penggunaan merkuri ini sangat dikhawatirkan memberikan dampak buruk baik bagi manusia, hewan, tumbuhan maupu makhluk hidup lainnya yang memiliki habitat di daerah tersebut.

Merkuri merupakan salah satu logam berat yang paling berbahaya dan berada di lingkungan dalam berbagai bentuk senyawa. Penggunaan merkuri (Hg) sebagai bahan pemisah antara biji emas dengan batuan (pemurni emas) dapat memicu kerusakan lingkungan hidup. Senyawa merkuri dalam bentuk Hg<sup>2+</sup> dapat terikat pada residu sistein protein manusia sehingga protein akan kehilangan aktivitasnya<sup>[1]</sup>. Senyawa merkuri selain Hg<sup>2+</sup> yang paling berbahaya bagi kesehatan manusia adalah senyawa merkuri organik, khususnya metil merkuri dan fenil merkuri. Senyawa ini sangat reaktif dan mempunyai mobilitas tinggi dibandingkan Hg<sup>0</sup> dan Hg<sup>2+</sup>, juga dapat menyerang saraf manusia melalui peredaran darah. Selain itu, merkuri yang terakumulasi didalam jaringan tubuh organisme yang hidup dikawasan tercemar logam berat merkuri ini melalui proses metabolisme. Mikroorganisme yang dimanfaatkan langsung oleh komunitas yang berada di lingkungan tersebut secara tidak langsung akan terus menerus sehingga terciptanya suatu rantai makanan. Hal ini tentu saja akan menyebabkan semakin luasnya distribusi cemaran merkuri didalam tubuh organisme hidup<sup>[2]</sup>.

Upaya untuk mencegah bahaya yang ditimbulkan akibat pencemaran logam berat merkuri telah banyak dilakukan baik secara buatan maupun alami dengan menggunakan bantuan kinerja dari aktivitas metabolisme mikroorganisme berupa bakteri yang dikembangkan melalui program mikrobiologi terapan dan biologi molekuler. Kedua cabang ilmu yang menjadi Pengagas utama dalam upaya untuk mengembangkan teknologi bioremediasi menggunakan agen pengurai limbah logam berat merkuri menggunakan bakteri. Bioremediasi merupakan suatu cara untuk memperbaiki kualitas lingkungan menjadi lingkungan yang lebih stabil dan memiliki daya dukung dengan memanfaatkan aktivitas makhluk hidup pada tingkat seluler sebagai agen untuk mengubah komponen bahan pencemar lingkungan yang berbahaya menjadi bentuk yang tidak berbahaya<sup>[2]</sup>.

Menurut<sup>[3][4]</sup> bahwa bakteri memiliki kemampuan yang dapat digunakan untuk mereduksi logam merkuri dengan cara mentransformasikan logam merkuri melalui proses oksidasi, reduksi, metilasi, dan dimetilasi yakni dimulai dari sifat ketahanan terhadap  $Hg^{2+}$  yang dapat diubah menjadi  $Hg^0$  dengan adanya enzim merkuri reduktase yang mampu melepaskan ion  $Hg^0$  dari limbah yang telah tercemar. Bakteri dari genus *Bacillus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Shigella*, and *Sarcina* yang diisolasi dari tambak ikan di Calcutta, India tergolong dalam bakteri yang memiliki kemampuan untuk melakukan mekanisme degradasi terhadap logam merkuri<sup>[5]</sup>. Sedangkan hasil studi<sup>[6]</sup> menemukan 17 isolat bakteri tahan merkuri dari Kali Mas Surabaya dan berdasarkan karakter biokimia ke-17 isolat tersebut masuk ke dalam tujuh genus yang berbeda, yaitu ada kecenderungan merupakan anggota genus *Providencia*, *Neisseria*, *Shigella*, *Lampropedia*, *Serratia*, *Enterobacter* dan *Bacillus*. Ketujuh belas isolat tersebut secara individu mampu hidup pada 10 ppm  $HgCl_2$  dan mereduksi 43%-75% ion  $Hg^{2+}$  menjadi ion  $Hg^0$ . Kemampuan dari 17 isolat ini untuk bertahan dalam cekaman merkuri 10 mg/L dikarenakan adanya peranan *mer operon* yang mampu mengatur siklus dan tahapan metabolisme seluler sel bakteri untuk tetap bertahan hidup dan berupaya untuk memanfaatkan sumber tersebut sebagai cadangan karbon ketika kadar karbon pada lingkungan sekitar tidak bisa atau tidak cukup untuk diserap. Sebagian besar bakteri ada yang memiliki kemampuan untuk memanfaatkan sumber cadangan karbon bebas dan ada yang hanya memiliki kemampuan untuk memanfaatkan karbon ketika sudah berada dalam bentuk berikatan dengan senyawa lain seperti logam berat.

Proses perubahan merkuri yang bersifat toksik menjadi bentuk non toksik atau yang biasa dikenal dengan detoksifikasi biasanya dilakukan oleh bakteri yang memiliki sifat resistensi terhadap merkuri dengan adanya *mer operon*. Menurut pendapat<sup>[2]</sup> Struktur *mer operon* tersusun atas beberapa sub gen didalamnya yakni salah satunya adalah gen merkuri reduktase (*merA*) dan organomercuriase liase (*merB*). Gen merkuri reduktase (*merA*) berfungsi sebagai katalisis reduksi  $Hg^{2+}$  menjadi bentuk  $Hg^0$  (non toksik) yang selanjutnya berpindah secara difusi keluar dari sel. Gen organomercuri liase (*merB*) berperan sebagai pemutus ikatan merkuri-karbon sehingga menghasilkan senyawa organik dan ion Hg berbetuk garam tiol..

## **2. Bahan dan Metode**

### **2.1. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Nutrient Agar* (NA) merk Oxoid, medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) merk Oxoid, alkohol 90 % (v/v), alkohol 96 %, raksa (II) Klorida ( $HgCl_2$ ) (mg/L), spiritus, minyak imersi (*Imersi oil*), masker, sarung tangan lateks, kapas.

### **2.2. Metode**

#### ***Pengambilan Sampel***

Sampel diambil dari wilayah lokasi penambangan emas tanpa izin yang di wilayah Kelurahan Simpi, kecamatan Belitang Hilir, Sekadau, Kalimantan Barat. Pengambilan sampel dilakukan secara sampling bebas dikarenakan struktur lingkungan yang relatif homogen (hampir sama) yakni berupa

tanah lapang dengan kawah-kawah hasil penambangan emas didalamnya. Sampel diambil pada dua titik lokasi yakni pada bagian tepian danau dan tengah dengan kedalaman 0 m, kurang dari 1 meter dan lebih dari 1 meter berupa sampel air. Selain itu, juga diambil sampel berupa sedimen. Sampel diambil pada 3 waktu, yakni pagi (06:00 WIB-07:00 WIB), siang (11:30 WIB-12:30 WIB) dan malam (20:00 WIB-21:00 WIB). Masing-masing sampel diambil sebanyak 500 mL kemudian dimasukkan ke dalam botol reagen gelap.

### **Isolasi Bakteri**

Proses isolasi bakteri resisten merkuri dilakukan menggunakan metode pengenceran berdasarkan seri tabung yakni sampel air dan tanah yang terdapat di dalam botol reagen gelap, dikocok terlebih dahulu agar homogen lalu diambil masing-masing sebanyak 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan sebanyak 9 mL akuades steril lalu dihomogenkan menggunakan vortex selama 30 detik, kemudian diberi label tabung dengan seri  $10^{-1}$ . Hal yang sama dilakukan dari seri pengenceran bertahap  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  dan  $10^{-4}$ . Kemudian dipipet sebanyak 1 mL sampel hasil pengenceran  $10^{-4}$  kemudian dimasukkan ke dalam medium *Nutrient Agar* (NA) yang telah diperkaya dengan campuran  $HgCl_2$  sebanyak 0,2 mg (1 mg/L) dengan metode tuang (*Pour plate method*) yakni dengan menuangkan terlebih dahulu sampel yang akan ditumbuhkan kemudian diikuti dengan penuangan medium pertumbuhan di atasnya. Selanjutnya masing-masing sampel diinkubasi di dalam inkubator selama 1x24 jam dengan suhu 37°C. Sebanyak 1 ose dari koloni bakteri yang telah tumbuh kemudian diinokulasi ke dalam medium *Nutrient Agar* (NA) yang telah diperkaya dengan campuran  $HgCl_2$  sebanyak 1 mg/L dengan menggunakan metode goresan (*streak method*). Selanjutnya diinkubasi didalam inkubator selama 2x24 jam pada suhu 37°C.

Setelah dilakukan isolasi, selanjutnya isolat yang telah tumbuh dimurnikan lagi dengan tujuan untuk mendapatkan biakan bakteri yang seragam. Pemurnian dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ose dari koloni bakteri yang telah tumbuh kemudian diinokulasi kedalam medium *Nutrient Agar* (NA) yang telah diperkaya dengan campuran  $HgCl_2$  sebanyak 1 mg/L dengan menggunakan metode goresan (*streak method*) yakni dengan menggoreskan isolat yang akan dimurnikan dengan cara membuat garis-garis zig-zag yang salingberhubungan pada permukaan medium NA. Selanjutnya diinkubasi didalam inkubator selama 2x24 jam pada suhu 37°C.

### **Deteksi Bakteri Resistensi Merkuri**

Deteksi bakteri resisten merkuri dilakukan dengan metode cakram (*disc diffusion*) menggunakan kertas saring *Whatman* nomor 1. Terlebih dahulu kertas saring *Whatman* di potong dengan cara melubanginya menggunakan alat pembolong kertas dengan diameter 2,06 mm yang kemudian direndam di dalam larutan dengan berbagai macam variasi konsentrasi merkuri 10 mg/L, 20 mg/L dan 30 mg/L. Isolat murni diambil menggunakan kapas steril kemudian diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi 20 mL medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) steril baru yang telah memadat dengan metode *swabbing* di bagian permukaannya. Selanjutnya, cakram (*disc*) yang telah direndam ke dalam larutan pada berbagai variasi konsentrasi  $HgCl_2$  yakni 10 mg/L, 20 mg/L dan 30 mg/L diletakkan secara aseptis pada permukaan medium yang telah berisi inokulum tersebut diinkubasikan selama 1x24 jam pada suhu 37°C, kemudian diukur zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong digital agar hasil pengukuran lebih spesifik dan presisi dengan tingkat kesalahan (*human error*) yang relatif lebih kecil<sup>[7]</sup>.

## **3. Hasil dan Diskusi**

### **3.1. Hasil**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka didapat hasil yang menunjukkan bahwa semua isolat berpotensi sebagai bakteri pendegradasi merkuri yang dibuktikan dengan kemampuan tumbuh pada perlakuan dengan kadar konsentrasi merkuri sebesar 1 mg/L, namun isolat yang paling resisten terhadap cekaman merkuri yaitu isolat PP karena pada media dengan konsentrasi **Merkuri**

**(II) Klorida (HgCl<sub>2</sub>)** 10 (mg/L) tidak terdapat zona bening (0 mm) (Tabel 1 dan Gambar 1). Isolat PP diperoleh dari sampel berupa air yang diambil pada pukul 06:00 pagi.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening (mm) sebagai Indikator Bakteri Resisten Merkuri

No	Kode Isolat	Diameter zona bening (mm)			
		Kontrol	10 (mg/L)	20 (mg/L)	30 (mg/L)
1	MT	0	3,38	20,48	21,30
2	MP	0	4,21	5,01	9,49
3	MD	0	3,42	7,19	7,75
4	PD	0	4,41	8,21	8,49
5	PP	0	0	3,38	3,89



Gambar 1. Deteksi Kemampuan Isolat PP Resisten Merkuri pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan konsentrasi Merkuri (II) Klorida (HgCl<sub>2</sub>) 10 (mg/L), 20 (mg/L), dan 30 (mg/L)

### 3.2. Pembahasan

Hasil pengukuran terhadap diameter daya hambat bakteri pendegradasi merkuri dengan perlakuan pada beberapa tingkat konsentrasi merkuri yakni 10 mg/L, 20 mg/L dan 30 mg/L dengan menggunakan metode difusi cakram. Tingkat resistensi bakteri terhadap cekaman merkuri didapatkan dengan cara mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc* yang telah direndam terlebih dahulu di dalam larutan HgCl<sub>2</sub>. Hasil pengukuran diameter hambatan pada beberapa variasi konsentrasi cekaman merkuri terhadap pengujian bakteri pendegradasi merkuri menunjukkan bahwa isolat dengan kode MT, MP, MD dan PD terhambat pertumbuhannya yang ditunjukkan dengan adanya zona bening (tidak ada bakteri yang tumbuh) di sekitar kertas cakram pada media MHA sedangkan isolat PP menunjukkan sifat atau ketahanan terhadap cekaman merkuri yang lebih tinggi dibandingkan dengan ke empat isolat lainnya.

Isolat PP memperlihatkan bakteri mampu tumbuh pada cekaman konsentrasi merkuri hingga 10 mg/L, akan tetapi pada konsentrasi 20 mg/L dan 30 mg/L pertumbuhan bakteri mulai terhambat. Menurut <sup>[7]</sup> suatu jenis bakteri bisa dikatakan resisten terhadap logam berat terutama merkuri jika hasil pengukuran zona hambat pada pengujian metode difusi cakram sebesar  $\leq 1$  mm. Isolat bakteri MT, MP, MD dan PD memperlihatkan kemampuan mendegradasi merkuri yang lebih rendah dibandingkan dengan isolat bakteri PP yang dibuktikan dengan zona bening yang terbentuk melebihi ukuran diameter  $> 1$  mm.. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan masing-masing isolat berbeda dalam menghadapi cekaman merkuri. Bakteri pendegradasi logam merkuri dengan tingkat ketahanan rendah terhadap merkuri pada dasarnya cenderung hanya proses mekanisme metabolisme sel saja yang terhambat, sehingga lama kelamaan kemampuan ini akan berkurang yang menyebabkan partikel toksik merkuri ikut berdifusi bersama dengan cairan yang masuk ke dalam

sel, sehingga menyebabkan proses metabolisme yang berada di dalam sel terganggu, dan sel-sel bakteri tidak mampu lagi mengadakan pertumbuhan atau mengalami fase kematian<sup>[8]</sup>.

Isolat PP diduga merupakan isolat yang paling resisten terhadap cekaman merkuri. Isolat bakteri PP memiliki kemampuan yang lebih tahan terhadap merkuri dibandingkan ke empat isolat lainnya hingga pada tingkatan konsentrasi merkuri 10 mg/L (Tabel 1). Isolat ini mampu bertahan karena adanya keberadaan gen resistensi merkuri. Menurut<sup>[3][4]</sup> bahwa bakteri memiliki kemampuan bertahan terhadap cekaman logam merkuri dengan cara mentransformasikan logam merkuri melalui proses oksidasi, reduksi, metilasi, dan dimetilasi yakni mulai dari sifat ketahanan gennya terhadap  $Hg^{2+}$  yang memiliki kemampuan dapat diubah menjadi  $Hg^0$  dengan adanya enzim merkuri reduktase yang mampu melepaskan ion  $Hg^0$  dari limbah pencemar. Keberadaan gen ini tentu saja dipengaruhi oleh aktivitas respon berupa adaptasi terhadap lingkungan pertambangan yang baik sehingga sifat unggul dari gen ini terekspresikan dalam wujud aktivitas seluler yang dilakukan oleh sel bakteri. Gen ini diekspresikan setelah bakteri menerima suatu ancaman bagi kehidupannya di habitat aslinya berupa cekaman logam merkuri sehingga dengan adaptasi yang maksimal maka gen sebagai alat untuk mendegradasi senyawa merkuri yang semulanya bersifat toksik berupa merkuri organik menjadi bentuk yang tidak toksik atau yang biasa dikenal dengan merkuri anorganik<sup>[8]</sup>. Studi serupa juga pernah dilakukan oleh<sup>[6]</sup> yang menemukan 17 isolat bakteri tahan merkuri dari Kali Mas Surabaya dan berdasarkan karakter biokimia ke-17 isolat tersebut masuk ke dalam tujuh genus yang berbeda, yaitu ada kecenderungan merupakan anggota genus *Providencia*, *Neisseria*, *Shigella*, *Lampropedia*, *Serratia*, *Enterobacter* dan *Bacillus*. Ketujuh belas isolat tersebut secara individu mampu hidup pada 10 ppm  $HgCl_2$  dan mereduksi 43%-75% ion  $Hg^{2+}$  menjadi ion  $Hg^0$ .

Menurut pendapat<sup>[10]</sup> bahwa terdapat 2 macam mekanisme resistensi bakteri terhadap habitat dengan cekaman logam berat yakni bioabsorpsi dan bioakumulasi. Bioabsorpsi merupakan suatu mekanisme yang berkaitan dengan penggunaan eksopolisakarida yang terdapat pada dinding sel bakteri guna melekatkan logam berat pada permukaan sel. Dinding sel bakteri memiliki sifat sifat anionik dari peptidoglikan yang merupakan salah satu komponen penyusun dinding sel yaitu N-asetilmuramik yang kaya akan komponen karboksil sebagai tempat terjadinya reaksi dalam proses penyerapan logam sedangkan bioakumulasi merupakan suatu mekanisme yang berhubungan dengan adanya peran dari gen mer operon yang bersesuaian dengan logam yang diakumulasi. Melalui kedua mekanisme ini, bakteri pendegradasi logam merkuri memiliki sifat dan ketahanan yang unggul sehingga mampu untuk menguraikan senyawa merkuri organik yang dalam hal ini berupa  $Hg^{2+}$  didalam bentuk  $HgCl_2$ <sup>[11]</sup>.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka berhasil diperoleh satu isolat murni dengan kode PP yang menunjukkan paling tahan terhadap cekaman merkuri dan diduga memiliki kemampuan untuk mendegradasi logam merkuri.

#### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah membantu mendanai penelitian ini sehingga dapat diselesaikan dengan baik.

#### Referensi

- [1]. Fatimawali., Badaruddin, F., Yusuf, I. (2011). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri Dari Muara Sungai Sario Yang Dapat Digunakan Untuk Detoksifikasi Limbah Merkuri, *Jurnal Ilmiah Sains*, 11, 283.
- [2]. Rasmussen, L. D. C., Zawadsky, S. J., Binnerup, G. O. S. J., Sorensen., Kroer, N. (2008). Cultivation of Hard-To-Culture Subsurface Mercury-Resistant Bacteria and Discovery of New merA Gene Sequences, Department of Environmental Chemistry and Microbiology, National Environmental Research Institute, University of Aarhus, Frederiksborgvej 399, 4000 Roskilde,

- Denmark, Institute of Biology, University of Copenhagen, Solvgade 83H, 1307 Copenhagen K, Denmark. *App. Environ. Microbiol*, 12, 3795-3803.
- [3]. Gadd, G. M. (1992). Metals and Microorganisms: A Problem of Definition. *FEMS Microbiol Lett*, 100, 197-204.
- [4]. Priyadarshini, S. (2011). Isolation, Identification and biochemical analysis of Mercury Resistant Bacteria (MRB) from the effluent water of Rourkela Steel Plant, Orissa. Department of Life Science
- [5]. Nakamura, K. M., Sakamoto, F., Uchiyama., Yagi, O. (1990). Organomercurial Volating Bacteria in the Mercury-Polluted Sediment of Minamata Bay, Japan. *Appl. Environ Microbiol*, 56, 304-311.
- [6]. Shovitri, M., Zulaika, E., Koentjoro, M. P. (2010). Bakteri Tahan Merkuri dari Kali Mas Surabaya Berpotensi sebagai Agen Bioremediasi Merkuri. *Jurnal Berkala Penelitian Hayati Ed. Khusus 4F*. 1-6.
- [7]. Ulfa, A., Suarsini, E., Muhdhar, M. H. I. (2016). Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong B, arat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan, *Proceeding Biology Education Conference*, 3, 398-399.
- [8]. Smit, E., Wolters, A., Elsa, J. D. V. (1998). Self-Transmissible Mercury, Resistance Plasmid with Gene Mobilizing Capacity in Soil Bacterial Population, Influence of Wheat Roots and Mercury Addition, *Appl. Environ. Microbiol*, 64, 1210-1219.
- [9]. Pemerintah Republik Indonesia. Peraturan Pemerintah Nomor 82 tahun 2001 Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, Jakarta. 2001
- [10]. Nithya, C., Gnanalakshmi, B., Pandian, S. S. (2011). Assessment and characterization of Heavy Metal Resistant in Palk Bay Sediment Bacteria, *Marine Environmental Research*, 71, 283-294.
- [11] Silver, S. (1996). Bacterial Resistances to Toxic Metal Ion –a review 1, *gene*, 179, 9-19.