

REPUBLIC INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00202293716, 24 November 2022

Pencipta

Nama : **Yuni Sri Rahayu, Yuliani dkk**
Alamat : Kedurus IV Gang Jambu No. 23, RT/RW 10/03, Kelurahan Kedurus, Kecamatan Karang Pilang, Surabaya, Surabaya, JAWA TIMUR, 60223
Kewarganegaraan : Indonesia

Pemegang Hak Cipta

Nama : **LPPM-Universitas Negeri Surabaya**
Alamat : Gedung Rektorat Kantor LPPM Lantai 6, Kampus Universitas Negeri Surabaya, Lidah Wetan Surabaya, Surabaya, JAWA TIMUR, 60213
Kewarganegaraan : Indonesia
Jenis Ciptaan : **Buku**
Judul Ciptaan : **Optimalisasi Lahan Bekas Tambang Batubara Sebagai Media Tanam: Kajian Interaksi Multisimbiotik Mikroorganisme Dan Dinamika Hara**
Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 1 November 2022, di Surabaya
Jangka waktu perlindungan : Berlaku selama hidup Pencipta dan terus berlangsung selama 70 (tujuh puluh) tahun setelah Pencipta meninggal dunia, terhitung mulai tanggal 1 Januari tahun berikutnya.
Nomor pencatatan : 000409460

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.
Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.



a.n Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual
u.b.
Direktur Hak Cipta dan Desain Industri

Anggoro Dasananto
NIP.196412081991031002

Disclaimer:

Dalam hal pemohon memberikan keterangan tidak sesuai dengan surat pernyataan, Menteri berwenang untuk mencabut surat pencatatan permohonan.

LAMPIRAN PENCIPTA

No	Nama	Alamat
1	Yuni Sri Rahayu	Kedurus IV Gang Jambu No. 23, RT/RW 10/03, Kelurahan Kedurus, Kecamatan Karang Pilang, Surabaya
2	Yuliani	Jalan Manyar Rejo 2/5, RT/RW 01/05, Kelurahan Menur Pumpungan, Kecamatan Sukolilo, Kota Surabaya
3	Mahanani Tri Asri	Karah IV /30 E, RT/RW 002/004, Kelurahan Karah, Kecamatan Jambangan, Kota Surabaya





OPTIMALISASI LAHAN BEKAS TAMBANG BATUBARA

*sebagai Media Tanam Berdasarkan Kajian
Interaksi Multisimbiotik Mikroorganisme dan
Dinamika Hara Tanah*

1. Yuni Sri Rahayu
2. Yuliani

3. Mahanani Tri Asri
Editor : Fida Rachmadiarti

Optimalisasi Lahan Bekas Tambang Batubara Sebagai Media Tanam: KAJIAN INTERAKSI MULTISIMBIOTIK MIKROORGANISME DAN DINAMIKA HARA

Penerbit :



ABSOLUTE MEDIA

Yogyakarta

Optimalisasi Lahan Bekas Tambang Batubara Sebagai Media Tanam:

KAJIAN INTERAKSI MULTISIMBIOTIK MIKROORGANISME DAN DINAMIKA HARA

Oleh:

Yuni Sri Rahayu

Yuliani

Mahanani Tri Asri

Editor:

Fida Rachmadiarti

Edisi Pertama, Cetakan Pertama
September 2022



Diterbitkan oleh :
Absolute Media
Yogyakarta

ISBN 978-602-492-129-3

ISBN



Hak cipta dilindungi oleh Undang-undang. Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan cara apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberi kekuatan, petunjuk dan kemudahan kepada kami sehingga buku monograf yang berjudul *“Model hipotetik: Optimalisasi Lahan Bekas Tambang Batubara Sebagai Media Tanam Berdasarkan Kajian Interaksi Multisimbiotik Mikroorganisme dan Dinamika Hara Tanah”* dapat terselesaikan.

Buku monograf ini dapat digunakan sebagai referensi dan penunjang teori dalam berbagai mata kuliah terkait seperti Fisiologi Tumbuhan, Ilmu Hara, Ekofisiologi, dan Mikrobiologi. Selain itu buku monograf ini dapat digunakan sebagai referensi dalam menunjang pengelolaan lahan bekas tambang batu bara, agar dapat dilakukan bioremediasi sehingga lahan tersebut dapat digunakan sebagai media tanam. Parameter pertumbuhan tanaman yang meningkat melalui kajian multisimbiosis dari berbagai organisme tanah dalam interaksinya dengan tumbuhan dalam meningkatkan ketersediaan unsur hara esensial dan menurunkan senyawa yang “merugikan” pertumbuhan tanaman menjadi bahan diskusi dan pembahasan khusus sehingga tanaman mampu bertahan dengan pertumbuhan yang baik.

Terima kasih kami haturkan kepada Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi dan Universitas Negeri Surabaya yang telah memfasilitasi dalam bentuk penyediaan dana penelitian melalui SK Rektor Universitas Negeri Surabaya No 582/UN38/HK/PP/2022 pada tanggal 30 Mei 2022 sehingga hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai bahan buku monograf ini. Termasuk kepada semua pihak yang turut mendukung penyusunan buku monograf ini. Kami menyadari

bahwa buku monograf ini masih jauh dari sempurna. Untuk itu, berbagai saran dan masukan sangat kami harapkan demi sempurnanya buku monograf ini sesuai dengan yang diharapkan.

Surabaya, September 2022

Penulis

RINGKASAN

Batu bara merupakan salah satu dari bahan bakar fosil yang dapat digunakan untuk kepentingan manusia. Secara umum batu bara dapat diartikan sebagai batuan sedimen yang memiliki sifat mudah terbakar dan terbuat dari proses endapan dari bahan-bahan organik seperti sisa-sisa tumbuhan. Unsur atau mineral utama pembentuk batu bara meliputi karbon (C), hidrogen (H), nitrogen (N), dan oksigen (O). Batubara tergolong dalam batuan organik. Batu bara memiliki karakteristik fisika dan kimia yang kompleks. Potensi dari keberadaan sumberdaya batu bara di Indonesia terbilang sangatlah melimpah, terutama di Kalimantan. Badan Geologi Nasional memperkirakan bahwa Negara Indonesia memiliki setidaknya 160 miliar ton cadangan batu bara yang masih belum terjamah atau belum tereksplorasi. Sebagian besar cadangan batu bara tersebut berada di Kalimantan Timur. Namun upaya eksplorasi batu bara kerap terkendala status lahan tambang. Daerah-daerah tempat cadangan batu bara sebagian besar berada di kawasan hutan konservasi.

Penambangan batubara pada umumnya dilakukan dengan cara melakukan penambangan terbuka. Teknik ini dilakukan dengan cara membuka lahan dengan menggunakan alat berat kemudian mengambil dan memindahkan tanah di wilayah *top soil* sampai penambangan batubara dimungkinkan. Hal ini berakibat pada kerusakan tanah secara fisik, kimia, dan biologi sehingga unsur haranya rendah dengan berbagai faktor pembatas lainnya misalnya bersifat masam.

Salah satu upaya untuk memperbaiki lahan bekas pertambangan batu bara yaitu dengan melakukan teknik bioremediasi. Teknik bioremediasi merupakan salah satu teknik yang dianggap efektif untuk mengubah atau mentransformasi senyawa yang bersifat toksik menjadi senyawa atau produk lain yang bersifat kurang toksik sehingga

tidak erbahaya bagi lingkungan sekitar. Mikroorganismenya yang dapat dimanfaatkan dalam proses bioremediasi minyak bumi diantaranya yaitu mikoriza, bakteri pelarut fosfat, bakteri pendegradasi senyawa hidrokarbon, dan bakteri penambat Nitrogen melalui pemanfaatan multisimbiotik organismenya dengan memanfaatkan tanaman Legum.

Pada simbiosis antara tanaman legum, bakteri bintil akar dan jamur mikoriza (simbiosis tripartit) masing-masing komponen simbiosis memiliki peranan yang berbeda. Tanaman berperan memberi fotosintat baik untuk bakteri *Rhizobium* dan jamur mikoriza, *Rhizobium* memberi N untuk tanaman melalui kegiatan fiksasi N, dan jamur mikoriza memberi P dan unsur hara lainnya untuk tanaman dan *Rhizobium*. Pola interaksi ini memberikan suatu informasi pola mekanisme hubungan simbiosis pada tanaman legum sehingga tanaman mampu bertahan pada kondisi lingkungannya.

Analog dengan pola simbiosis inilah yang akan diterapkan pada kajian yang mendasari pengelolaan tanah bekas tambang batu bara dalam penelitian ini yaitu diawali dengan proses pengisolasi dan mengidentifikasi bakteri *indigenous* yang memiliki kemampuan untuk melarutkan fosfat, mendegradasi senyawa hidrokarbon, termasuk mengisolasi dan mengidentifikasi mikoriza *indigenous* tanah bekas tambang batu bara. Selanjutnya mengkaji bakteri dan mikoriza *indigenous* yang efektif “berperan” di tanah bekas tambang batubara. Kajian berikutnya digunakan untuk mengkaji pola interaksi antara bakteri pendegradasi senyawa hidrokarbon, bakteri pelarut fosfat, bakteri *rhizobium* dan jamur mikoriza yang sudah diperoleh dari kajian sebelumnya, melalui tanaman uji jenis Legum. Kajian ini menggunakan tanah yang termasuk dalam area tanah bekas tambang batu bara di wilayah Kalimantan Timur.

Hasil kajian ini diharapkan dapat digunakan untuk menyusun model bioremediasi tanah bekas tambang batu bara dengan menggunakan keuntungan yang diperoleh dari pola hubungan multisimbiosis antar organisme serta peran masing-masing simbiosis dalam pola hubungan tersebut sehingga tanaman uji sanggup terhadap tanah bekas tambang batu bara. Selain itu, perlu diketahui bahwa selama ini penggunaan tanaman dalam proses bioremediasi tanah bekas tambang batu bara khususnya di daratan jarang dilakukan. Oleh karena itu, dalam kajian ini dicari penjelasan tentang pola hubungan multisimbiotik pada tanaman Legum sebagai tanaman uji yang digunakan untuk menyusun model optimalisasi lahan bekas tambang batu bara. Model ini sangat berguna sebagai pijakan dalam mengelola tanah bekas lahan tambang batu bara agar dapat digunakan sebagai media tanam sehingga tanaman menjadi sanggup di media tanam ini.

Spesies bakteri yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi pada tanah bekas tambang batubara dari penelitian sebelumnya adalah *Bacillus mycoides*; *B. firmus*; *B. brevis*; *B. pantothenicus*; *B. anthracis*; *B. laterosporus*; *B. sphaericus*; *B. stearothermophilus*; dan *B. alvei*. Dari spesies inilah akan diuji terlebih dahulu kemampuan bakteri tersebut dalam melarutkan fosfat, mendegradasi senyawa hidrokarbon dan kemampuan dalam menambat Nitrogen.

Hasil eksplorasi mikoriza pada tanah bekas tambang batubara didapatkan 7 tipe spora mikoriza yaitu *Acaulospora* sp (1 tipe spora) *Glomus* sp (2 tipe spora), *Gigaspora* sp (3 tipe spora) dan *Sclerocystis* sp (1 tipe spora). Tanaman yang dapat bersimbiosis dengan mikoriza yang ditemukan pada tanah bekas tambang batubara banyak ditemukan dari tanaman legum.

Secara umum interaksi multisimbiosis organisme antara mikoriza, bakteri baik bakteri pelarut hidrokarbon maupun

bakteri pelarut fosfat, maupun bakteri rhizobium dan tanaman Legum memberikan hasil yang secara positif menurunkan bahan organik pencemar minyak dengan ditunjukkannya terhadap penurunan *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH), peningkatan berbagai parameter pertumbuhan mikoriza, bakteri penambat N, dan tanaman dibandingkan dengan interaksi organisme coba yang hanya melibatkan tanaman dan mikoriza saja, ataupun bakteri saja. Data ini memberikan penguatan untuk merekomendasikan bahwa model optimalisasi yang disusun pada tanah bekas tambang batu bara seharusnya melibatkan multisimbiotik organisme antara mikoriza, bakteri penambat N, bakteri pelarut fosfat, dan bakteri pendegradasi senyawa hidrokarbon *indigenous* dengan melibatkan tanaman Legum yang dijumpai di sekitar lingkungan sehingga tanaman memiliki potensi besar sebagai tanaman bioremediatory yang sudah teradaptasi dengan lingkungan yang ada di tanah bekas tambang batu bara.

Berdasarkan hasil analisis dan model optimalisasi lahan bekas tambang batu bara yang sudah disusun, maka pola pengelolaan tanah bekas tambang batu bara yang diusulkan meliputi (1). Pemanfaatan mikroorganisme *indigenous* (bakteri dan mikorhiza) daerah lahan bekas tambang batu bara, (2). Pemanfaatan tanaman sebagai agen hayati memiliki peran penting keberhasilan bioremediasi tanah bekas tambang batu bara, yaitu tanaman yang memiliki potensi kemampuan sebagai bioremediator yang berasal dari daerah wilayah lahan bekas tambang batu bara, (3). Pengolahan struktur dan tekstur tanah berdasarkan sifat kimia dan fisika tanah yang memungkinkan berlangsungnya multisimbiosis organisme dapat menjalankan metabolisme dan fungsinya dengan baik sesuai peran masing-masing simbiosis, (4). Memanfaatkan peran simbiosis tripartite antara tanaman Legume, mikoriza, dan bakteri penambat N sehingga terjalin hubungan

multisimbiotik organisme antara tanaman Legume, bakteri pelarut fosfat, bakteri pendegradasi senyawa hidrokarbon, mikoriza, bakteri penambat N. Sebagai konsekuensinya akan terjadi peningkatan proses degradasi senyawa hidrokarbon (akibat tingginya kadar batu bara) dan proses mineralisasi sehingga unsur-unsur esensial yang diperlukan tanaman akan tersedia bagi tanaman, melengkapi peran simbiosis dari mikoriza dan bakteri penambat N. Ketersediaan hara yang baik dan memadai bagi tanaman serta diturunkannya senyawa hidrokarbon yang melebihi ambang batas bagi tanaman akan menyebabkan keberhasilan pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Dengan demikian, pengelolaan tanah bekas tambang batu bara dengan pendekatan yang menekankan interaksi peran yang baik antara tanaman dan organisme tanah akan menjadikan status hara tanaman juga terpelihara dengan baik mengingat media tanam juga mampu menyediakan unsur hara sesuai kebutuhan agar tanaman dapat tenggang dengan baik.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	2
RINGKASAN	4
BAB I PENDAHULUAN.....	13
A. Latar Belakang	13
B. Tujuan.....	14
BAB II KAJIAN PUSTAKA	17
A. Sifat Tanah Bekas Tambang Batu Bara	17
B. Pertumbuhan Tanaman Di Tanah Bekas	23
C. Mikoriza.....	26
D. Bakteri Pelarut Fosfat	33
E. Bakteri Penambat Nitrogen.....	40
F. Bakteri Pendegradasi Senyawa Hidrokarbon.....	46
1. Penambahan fumarate ke rantai.....	52
2. Hidroksilasi independen oksigen.....	53
3. Karboksilasi senyawa Aromatik.....	53
4. Hidrasi alkena/alkil	53
5. Metanogenesis terbalik.....	54
G. Simbiosis Tripartit	54
H. Bioremediasi dan Tanaman Bioremediator	56
I. Pertumbuhan dan Produksi Tanaman	61
J. Bentuk Ketersediaan Unsur Hara bagi Tumbuhan	63

K. Kebutuhan Hara untuk Pertumbuhan.....	65
1. Nitrogen (N)	66
2. Fosfor (P).....	68
3. Kalium (K).....	70
4. Kalsium (Ca).....	73
5. Magnesium (Mg).....	75
6. Sulfur (S).....	76
7. Besi (Fe).....	77
8. Mangan (Mn).....	81
9. Seng (Zn)	83
10. Tembaga (Cu).....	85
11. Boron (Br).....	87
12. Molybdenum (Mo).....	89
13. Chlor (Cl)	90
14. Nikel (Ni).....	91
15. Natrium (Na).....	93
16. Silicon (Si)	94
17. Cobalt (Co).....	97
18. Selenium (Se)	98
19. Aluminium (Al)	100

BAB III RANCANGAN MODEL HIPOTETIK 101

DAFTAR PUSTAKA 104

DAFTAR GAMBAR

Gambar	hal
2.1. Bentuk Tanaman Revegetasi <i>Falcataria moluccana</i>	24
2.2. Zona Bening yang Terbentuk pada Media Pikovskaya....	39
2.3. Siklus Nitrogen di Alam	42
2.4. Bakteri Penambat Nitrogen yang Bersimbiosis.....	43
2.5. Hubungan Antara Suplai Nutrisi dan Pertumbuhan	62
3.1. Model Hipotetik Optimalisasi Lahan Batubara	103

DAFTAR TABEL

Tabel	hal
2.1. Sifat Fisik dan Morfologi Tanah.....	18
2.2. Sifat Kimia Tanah Pada Lahan Bekas Tambang.....	20
2.3. Morfologi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon	49
2.4. Pewarnaan Gram dan Bentuk Sel Bakteri.....	50
2.5. Bentuk Ketersediaan Unsur Hara bagi Tumbuhan	64

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Wilayah Kalimantan, khususnya Kalimantan Timur banyak digunakan untuk usaha pertambangan batubara (<http://green.kompasiana.com/>), meskipun berpotensi sebagai wilayah produktif, sehingga diperlukan penanganan untuk mengatasi faktor pembatas sebelum dimanfaatkan sebagai media tanam karena penambangan batubara umumnya dilakukan dengan teknik penambangan terbuka. Teknik ini dilakukan dengan membuka lahan kemudian mengambil dan memindahkan tanah di wilayah *top soil* sampai penambangan batubara dimungkinkan. Hal ini berakibat pada kerusakan tanah secara fisik, kimia, dan biologi sehingga unsur haranya rendah (Yustika dan Talaohu, 2006) dengan berbagai faktor pembatas lainnya misalnya bersifat masam (Kesumaningwati et al, 2017; Sudaryono, 2009; Mashud dan Manaroinsong, 2014).

Berbagai mikroorganisme tanah berperan penting menjaga hara tanah. Mikoriza (Suharno et al. 2014), mampu memfasilitasi penyerapan unsur hara (Upadhyaya, 2016), membantu memperluas fungsi sistem perakaran (Garg dan Chandel, 2010; Smith dan Read, 2008), membantu penyerapan unsur hara esensial dan menjaga stabilisasi logam berat sehingga tidak membahayakan tumbuhan (Suharno dan Sancayaningsih, 2013). Bakteri pelarut fosfat dapat digunakan sebagai agen hayati karena mampu meningkatkan ketersediaan unsur hara P tanah (Karti et al, 2012), termasuk bakteri pendegradasi hidrokarbon yang berperan mendegradasi senyawa hidrokarbon yang melimpah secara enzimatik menjadi lebih pendek sehingga tidak bersifat toksik serta meningkatkan unsur hara tanah yang berasal dari hasil pemecahan senyawa hidrokarbon (Karti et al, 2012, Kostka et

al., 2011). Bakteri penambat nitrogen dapat dimanfaatkan karena kemampuannya dalam menyediakan nitrogen (Widawati dan Suliasih, 2019; Navarro, 2012) yang diperlukan untuk menyusun protein dan pembentukan hormon pertumbuhan (Bhattacharyya and Jha, 2012). Hal tersebut menjadikan alasan mikroorganisme tanah ini dilibatkan dalam membangun model optimalisasi lahan bekas tambang batubara sebagai media tanam melalui pengkajian interaksi multisimbiotik mikroorganisme dan dinamika unsur hara, dengan menggunakan tanaman berpotensi bioremediasi dari lingkungan asal agar menjamin keberhasilan implementasi model ini dengan mengedepankan konsep keseimbangan lingkungan yang terjaga dan berkelanjutan, serta berdasarkan konsep simbiosis tripartiat Rahayu et al, 2020).

B. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan model hipotetik optimalisasi lahan bekas tambang batubara sebagai media tanam berdasarkan kajian interaksi multisimbiotik mikroorganisme dan dinamika hara tanah yang akan mendasari untuk pengelolaan tanah bekas tambang batu bara. Untuk menguji keberadaan model ini maka penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk memferifikasi model hipotetik yang akan dibangun ini.

Isolasi dan identifikasi isolat bakteri endofit tanah bekas tambang batubara telah dilakukan (Rahayu et al, 2021), sehingga penelitian lanjutan yang akan dilakukan dalam upaya untuk memferifikasi model ini bertujuan untuk: 1) mengkarakterisasi efektifitas bakteri endofit dalam melarutnya fosfat, mendegradasi senyawa hidrokarbon, dan menambat N₂; 2) memetakan dinamika unsur hara dalam kaitannya dengan interaksi bakteri endofit; 3) menyusun model hipotetik

optimalisasi lahan bekas tambang batubara sebagai media tanam berdasarkan kajian interaksi multisimbiotik mikroorganisme dan dinamika unsur hara; 4) menguji efektifitas bakteri pelarut fosfat, bakteri pendegradasi senyawa hidrokarbon, dan bakteri penambat N₂ secara molekuler; 5) mengujicobakan interaksi antara bakteri endofit dan mikoriza yang efektif dengan tanaman yang berpotensi berperan sebagai bioremediator dari lahan bekas tambang batubara sebagai tahap verifikasi model; 6) menentukan model optimalisasi lahan bekas tambang batubara sebagai media tanam berdasarkan kajian interaksi multisimbiotik mikroorganisme tanah dan dinamika hara tanah.

Model ini disusun berdasarkan keberhasilan pengembangan model optimalisasi lahan marginal yang sudah dilakukan sebelumnya oleh peneliti pada tanah tercemar minyak (Rahayu, 2020; Rahayu et al 2018; Rahayu et al, 2019). Selain itu, model ini penting dalam pengembangan kebijakan untuk mengatasi kerusakan lingkungan secara komprehensif agar penyusunan model memiliki dasar kuat. Untuk itu, dalam penelitian ini dipadukan dengan hasil pengkajian efektivitas mikroorganisme endofit secara molekuler. Temuan ini, diharapkan dapat memperkaya IPTEK dalam mengatasi lahan bekas tambang batubara yang memiliki kadar senyawa hidrokarbon tinggi, selain dapat mendukung ketercapaian riset unggulan Universitas Negeri Surabaya (Unesa) dalam bidang Riset Unggulan Sains dan Teknologi, pada topik Teknologi budidaya dan pemanfaatan lahan sub- optimal, sesuai Renstra Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Unesa tahun 2021-2025.

Penelitian ini sebagai verifikasi terhadap model optimalisasi dan bioremediasi lahan marginal sebagai media tanam yang telah dikembangkan dari penelitian sebelumnya untuk mengatasi cekaman akibat kondisi lingkungan dengan memanfaatkan interaksi multisimbiotik mikroorganisme endofit dengan memberdayakan tanaman berasal dari

lingkungan sekitar agar keberlanjutan model yang akan diimplementasikan lebih “diterima” oleh ekosistem. Penelitian ini sekaligus menguatkan *road map* peneliti untuk menghasilkan model yang sudah disusun dan diterapkan pada beberapa tanah marginal seperti tanah tercemar minyak, tanah tercemar logam berat, tanah salin, tanah kapur, tanah dari lumpur Lapindo, dll. Dalam penelitian ini akan dihasilkan model optimalisasi lahan tambang batubara dengan memanfaatkan pola interaksi multisimbiotik mikroorganisme endofit dan kajian dinamika hara dengan tanaman berpotensi sebagai bioremediator sebagai tanaman uji, berlandaskan konsep keseimbangan agroekosistem untuk menghasilkan produksi pertanian yang sehat di lahan marginal yang berpotensi sebagai lahan produktif.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

A. Sifat Tanah Bekas Tambang Batu Bara

Penambangan batubara dilakukan dengan sistem terbuka yaitu dengan melakukan pengerukan lapisan atas tanah dan kemudian dilakukan pengambilan batu bara yang terletak di lapisan dalam tanah. Aktivitas penambangan batubara yang bersiat sistem terbuka memiliki dampak negative bagi tanah dimana tanah kehilangan unsur hara yang dibutuhkan dalam kesuburan tanah dan secara dramatis mengubah struktur fisik dan kimia tanah. Tanah topsoil (lapisan atas) pada penambangan batu bara secara terbuka memiliki kepadatan tanah yang tinggi dengan porositas tanah yang rendah sehingga air tidak mudah untuk diserap oleh tanah. Kadar N dan P pada tanah topsoil tersebut tergolong dalam kategori rendah dan kadar simpanan Ca dan Mg yang tinggi dalam bentuk yang tidak terlarut. Populasi mikroorganisme di dalam tanah juga rendah jika dibandingkan dengan tanah bukan bekas tambang batu bara.

Pada tahun 2016, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Lahan Pertanian Indonesia melakukan survei, pemetaan dan karakterisasi lahan bekas tambang batubara di kabupaten Tapin, Tabalong, Balangan dan Hulu Sungai Selatan, Provinsi Kalimantan Selatan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan tersebut diperoleh hasil berupa sifat fisik dan morfologi tanah pada lahan bekas tambang batubara pada 4 area yang berbeda. Hasil dari penelitian tersebut disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Sifat fisik dan morfologi tanah pada lahan bekas tambang batubara di empat (4) kabupaten Provinsi Kalimantan Selatan (Sukarman and Gani, 2020)

Sifat fisik & morfologi tanah	Wilayah	Topsoil	Subsoil
Warna tanah	Tapin	Coklat tua-kekuningan, coklat keabu-abuan	Coklat keabu-abuan, abu-abu, coklat kekuningan, kuning-kemerahan
	Tabalong	Coklat, abu-abu, abu-abu pekat	Abu-abu tua, abu-abu, coklat
	Balangan	Abu-abu, merah tua, coklat kekuningan	Kuning-kemerahan, coklat tua keabu-abuan
	Hulu Sungai Selatan	Coklat, abu-abu, coklat tua keabu-abuan	Coklat keabu-abuan, abu-abu, kuning kecoklatan
Tekstur tanah	Tapin	Agak halus, halus, sedang	Sedikit baik, baik, sangat baik
	Tabalong	Sedikit baik	Medium
	Balangan	Sedikit baik, baik	Agak kasar, agak halus
	Hulu Sungai Selatan	Sedikit baik	Medium
Struktur	Tapin	Padat dan massif	Padat dan massif
	Tabalong	Padat dan massif	Padat dan massif
	Balangan	Padat dan massif	Padat dan massif
	Hulu Sungai Selatan	Padat dan massif	Padat dan massif
Konsistensi	Tapin	Lengket, sedikit lengket, keras	Lengket, sangat lengket, keras
	Tabalong	Lengket, sedikit lengket, keras	Lengket, sangat lengket, keras
	Balangan	Lengket, sedikit lengket, keras	Lengket, sangat lengket, keras
	Hulu Sungai Selatan	Lengket, sedikit lengket, keras	Lengket, sangat lengket, keras
pH	Tapin	4.0-5.0	4.5-5.5
	Tabalong	4.0-5.0	4.0-5.0
	Balangan	4.5-6.0	5.0-5.5

Sifat fisik & morfologi tanah	Wilayah	Topsoil	Subsoil
	Hulu Sungai Selatan	4.5-5.5	4.0-5.0
Kedalaman	Tapin	sedang, dalam, sangat dalam	Dalam
	Tabalong	sedang, dalam, sangat dalam	Dalam
	Balangan	sedang, dalam, sangat dalam	Dalam
	Hulu Sungai Selatan	sedang, dalam, sangat dalam	Dalam
Pasir (%)	Tapin	42.30 (28.00-61.00)	35.73 (12.00-58.00)
	Tabalong	26.33 (1.00-43.00)	35.16 (23.00-80.00)
	Balangan	31.50 (24.00-44.00)	54.33 (29.00-83.00)
	Hulu Sungai Selatan	13.50 (13.00-14.00)	25.33 (17.00-34.00)
Lumpur (%)	Tapin	30.20 (22.00-36.00)	31.93 (18.00-39.00)
	Tabalong	33.66 (29.00-42.00)	26.5 (8.00-42.00)
	Balangan	33.75 (30.00-40.00)	21.16 (7.00-36.00)
	Hulu Sungai Selatan	40.00 (36.00-44.00)	37.00 (30.00-47.00)
Tanah liat (%)	Tapin	27.50 (13.00-39.00)	32.33 (14.00-51.00)
	Tabalong	40.00 (28.00-57.00)	38.33 (11.00-63.00)
	Balangan	34.75 (26.00-43.00)	24.50 (10.00-45.00)
	Hulu Sungai Selatan	46.50 (42.00-51.00)	37.66 (32.00-46.00)
Klasifikasi tanah menurut USDA	Tapin	Tanah liat, lempung	Tanah liat lempung
	Tabalong	Tanah liat lempung	Tanah liat lempung
	Balangan	Tanah liat lempung	Lempung berlumpur
	Hulu Sungai Selatan	Tanah liat	Tanah liat lempung

Berdasarkan **Tabel 2.1** tersebut, dapat diketahui bahwa empat area bekas tambang batu bara memiliki kadar keasaman yang tergolong asam dengan tekstur tanah besar dan padat sehingga porositas tanahnya rendah dan kurang baik bagi pertumbuhan tanaman. Selain pengamatan sifat fisik fisik dan morfologi, juga dilakukan pengamatan sifat kimia dengan hasil yang ditampilkan pada **Tabel 2.2.** berikut.

Tabel 2.2. Sifat kimia tanah pada lahan bekas tambang batubara di empat kabupaten di Kalimantan Selatan (Sukarman and Gani, 2020)

Sifat Kimia	Wilayah	Topsoil	Subsoil
pH tanah (H ₂ O)	Tapin	4.79 (3.55-5.63) (sangat asam - sedikit asam)	4.66 (3.50-6.03) (sangat asam - sedikit asam)
	Tabalong	6.47 (5.58-7.36) (sedikit asam-netral)	5.37 (4.88-6.37) (asam – sedikit asam)
	Balangan	5.66 (4.39-8.01) (sedikit asam-sedikit alkali)	6.48 (4.46-8.03) (asam-sedikit alkali)
	Hulu Sungai Selatan	4.90 (4.83-4.97) (asam)	4.80 (4.50-5.00) (asam)
C-organik (%)	Tapin	1.46 (0.14-3.70) (sangat rendah - medium)	1.12 (0.09-1.66) (sangat rendah - rendah)
	Tabalong	0.64 (0.09-0.93) (sangat rendah)	0.77 (0.08-1.39) (sangat rendah - rendah)
	Balangan	0.81 (0.59-1.35) (sangat rendah - rendah)	1.03 (0.15-1.65) (sangat rendah - rendah)
	Hulu Sungai Selatan	2.34 (1.39-3.08) (rendah - tinggi)	2.64 (0.70-4.17) (sangat rendah - tinggi)

Sifat Kimia	Wilayah	Topsoil	Subsoil
P ₂ O ₂ total (mg/100 g)	Tapin	34.21 (1.60-184.57) (sangat rendah – sangat tinggi)	21.59 (1.29-61.61) (sangat rendah – sangat tinggi)
	Tabalong	18.95 (13.20-28.69) (sangat rendah - medium)	9.05 (4.14-17.29) (sangat rendah - rendah)
	Balangan	14.74 (2.35-31.34) (sangat rendah - medium)	19.80 (6.17-32.67) (sangat rendah - medium)
	Hulu Sungai Selatan	8.77 (8.35-9.19) (sangat rendah)	8.52 (8.00-9.00) (sangat rendah)
K ₂ O total (mg/100 g)	Tapin	8.85 (1.50-24.34) (sangat rendah - medium)	10.88 (2.25- 39.35) (sangat rendah - medium)
	Tabalong	11.72 (3.92-17.45) (sangat rendah - rendah)	8.48 (2.42-17.66) (sangat rendah - rendah)
	Balangan	6.79 (3.07-12.93) (sangat rendah - rendah)	4.89 (2.81-7.35) (sangat rendah)
	Hulu Sungai Selatan	4.68 (3.48-5.88) (sangat rendah)	4.27 (3.00-5.00) (sangat rendah)
P ₂ O ₂ Bray I (ppm)	Tapin	13.68 (2.41-103.66) (sangat rendah – sangat tinggi)	4.72 (2.70-9.55) (sangat rendah)
	Tabalong	7.66 (5.15-11.69) (sangat rendah - rendah)	4.18 (3.67-4.81) (sangat rendah)
	Balangan	3.23 (1.72-5.00) (sangat rendah)	4.04 (2.98-4.89) (sangat rendah)
	Hulu Sungai Selatan	4.79 (0.62-4.01) (sangat rendah)	5.42 (2.20-8.60) (sangat rendah)
CEC (cmol/100 g)	Tapin	8.27 (2.94-25.29) (sangat rendah – sangat tinggi)	9.98 (3.39-33.56) (sangat rendah - tinggi)
	Tabalong	7.30 (4.93-8.75) (sangat rendah - rendah)	9.24 (2.38-14.38) (sangat rendah - rendah)
	Balangan	9.20 (6.73-11.89) (sangat rendah)	6.84 (4.28-10.22) (sangat rendah - rendah)
	Hulu Sungai Selatan	9.85 (8.78-10.91) (sangat rendah)	7.43 (6.20-9.47) (rendah)

Sifat Kimia	Wilayah	Topsoil	Subsoil
Saturasi basa (%)	Tapin	57.11 (15.07->100) (sangat rendah – sangat tinggi)	63.62 (8.45->100) (sangat rendah – sangat tinggi)
	Tabalong	100 (>100) (sangat tinggi)	68.79 (12.03->100) (sangat rendah – sangat tinggi)
	Balangan	54.91 (7.18->100) (sangat rendah – sangat tinggi)	70.38 (11.06->100) (sangat rendah – sangat tinggi)
	Hulu Sungai Selatan	45.78 (8.52-91.55) (sangat rendah – sangat tinggi)	51.00 (11.00-81.00) (sangat rendah – sangat tinggi)
Al ³⁺ (cmol/kg)	Tapin	3.70 (0.20-9.47) (sangat rendah - medium)	3.18 (0.26-10.43) (sangat rendah - medium)
	Tabalong	Tidak diukur	1.99 (0.16-4.32) (sangat rendah)
	Balangan	6.89 (6.35-7.42) (rendah)	6.01 (5.24-6.77) (rendah)
	Hulu Sungai Selatan	2.98 (0.43-5.53) (sangat rendah - rendah)	1.91 (0.20-5.11) (sangat rendah - rendah)

Tabel 2.2 menunjukkan nilai pH tanah lapisan atas (topsoil), yaitu bagian dari penggalian tanah dan rentang keasaman dari subsoil tergolong dalam sedikit asam (pH: 4,79 - 6,47). Kandungan C organik bervariasi di topsoil dan subsoil yaitu dari rendah ke tinggi (0,09 - 4,17%) begitupun juga dengan karakteristik kimia lainnya. Kadar C organik, P₂O₅ total, total K₂O, CEC, saturasi basa, dan saturasi Al³⁺ cenderung rendah hingga sangat rendah dan bersifat fluktuatif. Berdasarkan karakteristik sifat kimia tanah, menunjukkan bahwa kondisi tanah tidak baik akibat adanya pencucian mineral dan perubahan sifat fisik tanah akibat pembalikan posisi tanah yang terjadi saat proses pengerukan dan penimbunan. Ketika dilakukan penambangan batu bara.

B. Pertumbuhan Tanaman Di Tanah Bekas Tambang Batu Bara

Pemanfaatan lahan bekas tambang batubara yang terbengkalai untuk perluasan areal pertanian merupakan salah satu bentuk alternatif memecahkan masalah ketersediaan lahan pangan dan masalah lahan lingkungan dimana seiring dengan meningkatnya jumlah populasi manusia di Indonesia memiliki dampak negatif pada berkurangnya ketersediaan lahan untuk pertanian. Lahan bekas tambang batu bara memiliki karakteristik baik secara sifat fisik dan kimia yang kurang sesuai untuk pertumbuhan tanaman, dimana telah dipaparkan sebelumnya bahwa tanah bekas pertambangan batu bara memiliki defisiensi unsur hara esensial dan memiliki kandungan Pb serta akumulasi mineral yang justru malah menghambat pertumbuhan tanaman. Untuk dapat memanfaatkan tanah bekas tambang batu bara, diperlukan upaya untuk memperbaiki kualitas tanah sehingga dapat digunakan dalam bidang pertanian.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Yuningsih dan koleganya diperoleh perbandingan analisis karakteristik tanah bekas pertambangan setelah lima (5) tahun dan 10 tahun revegetasi. Karakteristik sifat fisik tanah bekas tambang setelah 5 tahun revegetasi yaitu memiliki kadar pH yang sangat asam, kadar senyawa organik tanah yang juga rendah serta kekurangan unsur N total dan ketersediaan unsur P yang sedang. Sedangkan pada umur 10 tahun setelah revegetasi bersifat asam namun tidak seasam pada kondisi tanah bekas tambang umur 5 tahun revegetasi. Kandungan senyawa organik tanah juga lebih tinggi dari kondisi umur lima (5) tahun revegetasi namun tetap dalam kategori rendah. N total masih dalam kategori rendah dengan ketersediaan P yang berada pada kategori sedang. Kandungan logam berat (Fe, Mn, Al) pada revegetasi setelah lima (5) tahun dan 10 tahun berada

pada kategori tinggi. Kegiatan revegetasi pada areal bekas tambang merupakan bagian dari upaya konservasi yang meningkatkan sifat fisik dan kimia tanah (Yuningsih et al. 2021).



Gambar 2.1. Bentuk tanaman revegetasi *Falcataria moluccana* (panah) di lokasi lanskap Lati (a) dan Sambarata (b) pada lahan bekas tambang pada rentan usia revegetasi 0–2 tahun (Iskandar et al. 2022)

Pertumbuhan tanaman pada proses revegetasi di areal bekas tanah tambang sangat ditentukan oleh kualitas tanah tambang yang dipengaruhi oleh sifat fisik dan kimia tanah asli sebelum pertambangan. Pada artikel yang ditulis oleh Iskandar dan koleganya dan diterbitkan pada tahun 2022. Iskandar dan koleganya memaparkan penelitian yang bertujuan untuk mempelajari peran sifat fisik dan kimia tanah tambang terhadap pertumbuhan tanaman hasil revegetasi sehingga dapat digunakan untuk mengembangkan strategi reklamasi lahan bekas tambang yang berkelanjutan. Dalam penelitian tersebut dilakukan observasi pada dua wilayah bekas tambang

di wilayah Kalimantan Timur, yaitu Lati dan Samarata. Pengamatan visual tanaman revegetasi di dua areal bekas tambang batu bara di Kalimantan Timur (Lati dan Samarata), menunjukkan perbedaan yang sangat jelas pada pertumbuhan tanaman, di mana pertumbuhan tanaman di Samarata menunjukkan hasil yang lebih baik jika dibandingkan dengan pertumbuhan tanaman di Lati (Gambar 2.3).

Pertumbuhan tanaman revegetasi di situs Samarata dibandingkan dengan di situs Lati mengindikasikan kondisi pertumbuhan tanaman yang lebih baik dilihat dari struktur tegakan, diameter batang, dan tinggi tanaman. Kedua area baik Lati maupun Samarata memiliki tekstur tanah yang serupa yang mana disominasi oleh endapan lumpur. Namun dalam hal ini, perbedaan pertumbuhan pada kedua area tersebut bukan dipengaruhi oleh sifat fisik tanah melainkan sifat kimia. Sifat kimia menjadi pengatur atau kunci utama dalam pertumbuhan tanaman hasil revegetasi. Pertukaran kation di area Samarata didominasi oleh Ca^{2+} dan Mg^{2+} , sedangkan di situs Lati didominasi oleh Al^{3+} . Hal ini berkaitan dengan tingginya saturasi, tingkat pH yang sesuai untuk tanaman, ketersediaan C organik, N total, dan ketersediaan P_2O_5 yang menjadikan area Samarata lebih menguntungkan untuk pertumbuhan tanaman dibandingkan dengan area Lati. Oleh karena itu, dalam kegiatan reklamasi di areal bekas tambang, perbaikan kualitas tanah dengan menggunakan kapur, batuan fosfat, dan kompos sangat diperlukan untuk meningkatkan kesuburan tanah dan mempercepat revegetasi yang pada akhirnya dalam peningkatan kualitas lahan bekas tambang perlu memperhatikan perbaikan sifat kimia tanah.

C. Mikoriza

Mikoriza merupakan simbiotik mutualisme antara perakaran tumbuhan dan jamur (Soka dan Ritchie, 2014). Mikoriza merupakan hubungan simbiotik mutualisme antara sistem perakaran tanaman dengan kelompok jamur tanah tertentu yang bersifat obligat (Wahid *et al.*, 2019), karena jamur memperoleh nutrisi hasil fotosintesis tumbuhan dan tumbuhan memperoleh peningkatan penyerapan unsur hara tanah esensial pada kondisi cekaman dan meningkatkan adaptasi tumbuhan terhadap lingkungan miskin unsur hara (Barman, 2016; Hamilton *et al.*, 2016; Torres *et al.*, 2018; Gao *et al.*, 2020; Bücking and Kafle, 2015; Zhu, 2016; Garcia dan Zimmermann, 2014; Zhang *et al.*, 2015; Abu-Elsaoud *et al.*, 2017; Thakur dan Shinde, 2020; Asensio *et al.*, 2012; Fernández-Lizarazo and Moreno-Fonseca, 2016).

Interaksi tanaman inang dan mikoriza merupakan interaksi saling menguntungkan dimana mikoriza memperoleh sumber karbon yang berasal dari produk fotosintesis yang dilakukan oleh tumbuhan, sementara tumbuhan memperoleh bantuan atau kemudahan dalam penyerapan unsur hara tanah (Tran *et al.*, 2019). Jamur mikoriza arbuskular (AMF = *Arbuscular Mycorrhizal Fungi*) mampu meningkatkan deposisi karbon organik tanah melalui sekresi protein tanah terkait glomalin (*Glomalin-Related Soil Protein/GRSP*) dan modulasi partisi karbon tanaman (Zhang *et al.*, 2019).

Jamur mikoriza merupakan kelompok jamur endofit obligat (filum Mucoromycota, subfilum Glomeromycotina) yang membentuk simbiosis dengan sebagian besar tumbuhan darat (Spatafora *et al.*, 2016). Interaksi antara jamur mikoriza dan akar tumbuhan memiliki dampak positif di mana mikoriza dapat meningkatkan serapan hara tanaman, mengurangi stres abiotik tanaman (Auge *et al.*, 2016) dan meningkatkan resistensi tumbuhan terhadap patogen (Jung *et al.*, 2012).

Jamur Arbuskular Mikoriza (*Arbuscular Mycorrhizal Fungi* = AMF) umumnya dikenal sebagai pupuk hayati. Inokulasi AMF dapat meningkatkan toleransi tanaman inang terhadap berbagai situasi yang kurang menguntungkan atau cekaman seperti salinitas, logam berat, kekeringan, dan suhu ekstrem. AMF, sebagai simbion akar alami, menyediakan nutrisi anorganik bagi tanaman, sehingga meningkatkan pertumbuhan dan hasil panen dalam kondisi cekaman. Peran AMF sebagai pupuk hayati berpotensi memperkuat kemampuan adaptasi tanaman terhadap perubahan lingkungan (Begum *et al.*, 2019). Respons tumbuhan terhadap jamur mikoriza berbeda-beda bergantung pada jenis tumbuhan inang (Tran *et al.*, 2019).

Liang *et al.*, (2018) melaporkan bahwa jamur mikoriza dapat memicu pertumbuhan dari *Phragmites australis*. Mikoriza secara signifikan memiliki efek positif terhadap peningkatan massa dan jumlah daun serta pertumbuhan *Phragmites australis*. Bernoula dan Stout (2019) menyelidiki efek inokulasi dengan jamur mikoriza pada tanaman padi di dua tanah yang berbeda kondisi yaitu pada kondisi rumah kaca dan pertanian biasa (sawah). Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa inokulasi dengan jamur mikoriza meningkatkan kolonisasi akar baik di tanah dengan kondisi *greenhouse* maupun pertanian biasa (sawah), terlepas dari ketersediaan P tanah. Selain dampak positif mikoriza pada pertumbuhan tanaman, ternyata mikoriza juga memiliki efek negatif yaitu mikoriza juga meningkatkan kepadatan larva kumbang air beras pemakan akar dan pertumbuhan larva ulat grayak pemakan daun.

Pada umumnya mikoriza lebih banyak ditemukan pada daratan kering daripada daratan basah seperti rawa-rawa. Hal ini disebabkan karena mikoriza memiliki peluang bertahan hidup yang lebih rendah pada daratan basah yang disebabkan karena kondisi anaerob pada daratan basah. Namun pada penelitian Xu *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa mikoriza

dapat tumbuh dan berkembang serta berasosiasi dengan tanaman yang berhabitat di daratan basah. Mikoriza dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman darat karena mikoriza dapat meningkatkan penyerapan unsur hara tanah oleh akar terutama pada lingkungan yang kekurangan (miskin) unsur hara seperti pada tanah tercemar minyak (Tarraf *et al.*, 2017).

Jamur mikoriza memfasilitasi tanaman inang untuk dapat tumbuh di bawah cekaman lingkungan dengan memediasi serangkaian komunikasi seluler kompleks antara sel tumbuhan dan jamur mikoriza yang mengarah ke peningkatan laju fotosintesis dan sifat-sifat terkait pertukaran gas lainnya serta peningkatan penyerapan air (Birhane *et al.*, 2012). Lebih lanjut, jamur mikoriza dapat mempengaruhi fiksasi CO₂ oleh tanaman inang dengan meningkatkan "efek sink" sehingga meningkatkan laju pergerakan fotoassimilasi dari bagian udara ke akar (Begum *et al.*, 2019).

Pada kondisi cekaman P (kadar P yang tersedia rendah), asosiasi antara tanaman dengan mikoriza meningkatkan ketersediaan P pada tumbuhan inang. Garcés-Ruiz *et al.*, (2017) melaporkan bahwa mikoriza meningkatkan laju penyerapan unsur P pada tumbuhan jagung. Selain itu simbiosis antara mikoriza dan tanaman inang secara positif dapat meningkatkan konsentrasi unsur hara N, P, dan Fe pada *Pelargonium graveolens* L. yang tumbuh pada kondisi cekaman air (kekeringan) (Amiri *et al.*, 2017). Selain itu inokulasi mikoriza juga meningkatkan kadar P dan N pada jaringan tumbuhan *Chrysanthemum morifolium* (Wang *et al.*, 2018) dan meningkatkan berat kecambah dengan meningkatkan kadar air, kadar CO₂ sel, kadar P dan N pada tumbuhan *Leymus chinensis* (Jixiang *et al.*, 2017).

Nwoko (2014) melakukan penelitian untuk mendeskripsikan pengaruh jamur mikoriza terhadap kinerja *Phaseolus vulgaris* di bawah tanah yang terkontaminasi minyak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman yang diinokulasi dengan mikoriza secara signifikan memiliki kandungan klorofil yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman non mikoriza. Selain itu *total petroleum hydrocarbon* (TPH) pada tanah tercemar minyak menurun dari kondisi awal setelah diberi perlakuan dengan mikoriza. Hal ini menunjukkan adanya penguraian hidrokarbon yang dipicu oleh peranan mikoriza.

Aplikasi Mikoriza pada tanah bekas tambang batubara dapat meningkatkan kemampuan hidup dan pertumbuhan tanaman karena logam berat dan hidrokarbon hasil penimbunan selama proses penambangan dapat berkurang (Kartika, 2018; Hermawan 2011). Selain itu, Mikoriza mempunyai potensi teknologi mikorizoremediasi logam berat dalam rehabilitasi lahan tambang (Suharno dan Sancayaningsih. 2013). Mikoriza dapat meningkatkan ketahanan tumbuhan terhadap tanah terkontaminasi logam berat (Riaz et al, 2020). Mikoriza tidak hanya memasok senyawa mineral untuk tanaman tetapi juga meningkatkan sifat fisikokimia tanah, dan bertindak sebagai filter untuk memblokir xenobiotik dalam miseliumnya (Wu et al, 2019). Oleh karena itu, mikoriza bertindak sebagai penghalang fisik dan bekerja sebagai selubung tanaman bermikoriza (Ma, 2019) dan mengakumulasi logam berat di akar tanaman (fitostabilisasi) (Wu, 2016).

Mikorizoremediasi merupakan Teknik atau metode yang dapat digunakan sebagai upaya rehabilitasi atau perbaikan kualitas lingkungan pada area bekas tambang. Metode ini dilakukan dengan memanfaatkan sistem perakaran pada tanaman yang diinokulasi dengan kelompok jamur mikoriza arbuscular. Adanya asosiasi antara akar tanaman dengan jamur mikoriza memberikan dampak positif pada

pertumbuhan dan perkembangan tanaman inang. Dimana jaringan hifa mikoriza yang berupa benang-benang halus yang panjang akan melekat pada jaringan akar tanaman dan dapat memperluas bidang penyerapan air serta unsur hara tanaman. Hal ini dikarenakan adanya kemampuan hifa dari mikoriza yang dapat menembus pori-pori tanah hingga pada bagian dengan ukuran mikro. Mikoriza sendiri merupakan interaksi antara fungi dengan akar tanaman yang bersifat mutualisme yaitu saling menguntungkan bagi masing-masing organisme baik bagi tanaman maupun bagi fungi mikoriza itu sendiri (Pulungan, 2018). Mikoriza memperoleh karbon dari tumbuhan dengan cara mengkolonisasi apoplast dan sel korteks tumbuhan inang, sementara tumbuhan akan mendapat unsur hara tanah dari fungi melalui hifa dalam tanah yang dapat menyediakan kebutuhan untuk metabolisme tumbuhan. Menurut Muryati *et al.* (2016) simbiosis antara akar tanaman dengan jamur mikoriza memiliki peranan penting dalam pertumbuhan tanaman serta memberikan dampak positif baik secara ekologis maupun agronomis yaitu dengan meningkatkan kadar serapan unsur hara tanah seperti fosfor, nitrogen, kalium, zink, kobalt, sulfur dan molybdenum dari dalam tanah. Selain itu mikoriza juga membantu meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan, melindungi tanaman dari infeksi patogen akar, memperbaiki agregasi tanah, serta meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme tanah yang bermanfaat bagi pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan inang.

Jamur mikoriza arbuskula memiliki 2 (dua) fase miselium selama masa perkembangannya. Dua fase miselium tersebut yaitu miselium eksternal dan miselium internal. Miselium eksternal berada di dalam tanah dengan spora yang dibentuk dan tersebar di sekitar akar, sedangkan miselium internal berada di dalam akar tanaman yang telah bersimbiosis dengan jamur mikoriza, terdiri atas hifa tidak bercabang yang intraseluler, hifa interseluler, arbuskula, dan vesikula, serta

hifa yang melingkar-lingkar atau hifa gelung (Sukmawaty & Asrian, 2015). Hifa yang dimiliki oleh jamur mikoriza arbuskula terbentuk dari proses perkecambahan spora, yang berperan penting dalam penyerapan air dan unsur hara tanah. Arbuskula memiliki struktur yang menyerupai pohon dengan cabang-cabang dari hifa intraradikal yang terletak diantara dinding sel dan membran sel. Cabang-cabang hifa tersebut berperan penting sebagai tempat pertukaran mineral atau unsur hara dan karbon antara fungi mikoriza arbuskula dan tanaman inang, serta sebagai tempat penyimpanan sementara mineral, nutrisi, dan gula (Muryati *et al.*, 2016).

Jamur mikoriza arbuskula juga memiliki peranan penting dalam proteksi akar tanaman terhadap unsur yang dapat memicu toksisitas seperti logam berat. Mekanisme perlindungan atau proteksi akar oleh mikoriza tersebut dapat dilakukan dengan efek penyaringan (filtrasi) sehingga dapat mengurangi kadar toksisitas logam berat maupun unsur lainnya, selain itu jamur mikoriza juga dapat mencegah terjadinya akumulasi logam dalam tanaman. Mekanisme perlindungan akar tersebut menjadi penyebab meningkatkan ketahanan akar tanaman yang berasosiasi dengan jamur mikoriza terhadap toksisitas logam berat, baik melalui akumulasi logam-logam dalam hifa eksternal sehingga mengurangi serapannya ke dalam tanaman inang maupun mekanisme sekresi logam oleh hifa eksternal.

Mikoriza merupakan hubungan simbiotik mutualisme antara sistem perakaran tanaman dengan kelompok jamur tanah tertentu yang bersifat obligat (Wahid *et al.*, 2019). Interaksi antara tanaman inang dan mikoriza merupakan interaksi saling menguntungkan dimana mikoriza memperoleh sumber karbon yang berasal dari produk fotosintesis yang dilakukan oleh tumbuhan, sementara tumbuhan memperoleh bantuan atau kemudahan dalam penyerapan unsur hara tanah (Tran *et al.*, 2019). Jamur mikoriza arbuskular (AMF = *Arbuscular Mycorrhizal Fungi*) mampu meningkatkan deposisi

karbon organik tanah melalui sekresi protein tanah terkait glomalin (*Glomalin-Related Soil Protein/GRSP*) dan modulasi partisi karbon tanaman (Zhang *et al.*, 2019).

Inokulasi mikoriza arbuskular (AM= *Arbuscular Mycorrhizae*) dapat menghasilkan respons positif, netral atau negatif pada pertumbuhan dan penyerapan nutrisi mineral tanaman inang, khususnya P, Zn, dan nutrisi mikro lainnya. Hal ini bergantung dengan jenis spesies mikoriza dan interaksi yang terjadi dengan tumbuhan inang. Namun secara umum, konsentrasi P, Cu, Zn dan S meningkat dengan inokulasi AMF (Tran *et al.*, 2019). Manfaat lainnya dari jamur mikoriza adalah meningkatkan resistensi tanaman inang terhadap patogen (misalnya Nematoda) (Baum *et al.*, 2015), perbaikan struktur tanah dan mencegah kehilangan nutrisi tanah (Bender *et al.*, 2015; Pellegrino *et al.*, 2015). Jamur mikoriza dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman karena kemampuannya untuk meningkatkan penyerapan unsur hara esensial yaitu fosfor (P), yang merupakan unsur hara makro yang diperlukan oleh tumbuhan dalam jumlah yang besar (Billah *et al.*, 2019).

Mengingat kemampuan jamur mikoriza dalam mengatasi keadaan lingkungan yang kurang menguntungkan (cekaman), termasuk kemampuan meningkatkan serapan hara baik hara makro maupun hara mikro ke tubuh tanaman, menjadikan pemanfaatan jamur mikoriza ini sebagai salah satu alternatif untuk meningkatkan ketahanan tanaman yang ditumbuhkan pada tanah tercemar minyak, yang selanjutnya lebih detil dapat digunakan untuk mengetahui mekanisme ketenggangan tanaman yang toleran terhadap tanah lahan bekas tambang batu bara.

D. Bakteri Pelarut Fosfat

Pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta produksi hasil tanam khususnya pada tanaman-tanaman budidaya memerlukan unsur hara dengan kadar yang sesuai. Salah satu mineral tanah atau unsur hara tanah yang berperan penting bagi tanaman adalah unsur hara fosfor. Fosfat (P) merupakan unsur hara makro yang penting bagi tumbuhan terkait dengan fungsi penting P sebagai unsur penyusun *Adenosine Tri-Phosphate* (ATP) yang berperan dalam metabolisme tumbuhan. Unsur fosfor (P) memiliki peranan dalam penyimpanan energi dan terlibat dalam proses transfer energi serta sebagai unsur pembangun komponen protein dan asam nukleat. Pada dasarnya total jumlah P dalam tanah cukup tinggi, namun sayangnya jumlah P yang tersedia untuk tumbuhan tergolong rendah, hanya 0,01 hingga 0,2 mg/kg tanah (Handayanto dan Hairiah, 2007). Oleh karena itu, dibutuhkan proses pemecahan P kompleks tanah menjadi P yang tersedia bagi tumbuhan.

Kadar ketersediaan unsur hara fosfor (P) pada tanah cenderung rendah. Hal ini disebabkan karena unsur hara yang berada di tanah berada dalam bentuk yang tidak tersedia yang mana tidak dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan. Sebagian besar bentuk fosfat terikat oleh koloid tanah sehingga tidak tersedia bagi tanaman. Oleh karena itu diperlukan suatu cara untuk dapat mengubah bentuk P tidak tersedia menjadi P tersedia.

Tanah merupakan sebuah habitat bagi organisme untuk hidup. Di dalam tanah terdapat makroorganisme seperti cacing tanah dan juga mikroorganisme seperti bakteri, jamur maupun mikroorganisme lainnya. Mikroorganismenya tersebut melakukan berbagai aktivitas di dalam tanah yang dapat bermanfaat bagi kehidupan organisme lain. Dengan kata lain

adanya mikroorganisme tanah tersebut menjadikan tanah menjadi habitat yang menguntungkan dan memungkinkan kelangsungan hidup bagi organisme lain. Oleh karena itu keberadaan unsur hara tanah seperti unsur fosfor menjadi penentu kualitas tanah. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan ketersediaan P dari yang tidak tersedia menjadi tersedia bagi tanaman adalah dengan memberikan bakteri pelarut fosfat pada tanah. Bakteri pelarut fosfat memiliki kemampuan untuk melarutkan unsur hara fosfat (P) dari kondisi yang kompleks menjadi lebih sederhana sehingga dapat diserap oleh tumbuhan (Marista, 2013), sehingga kebutuhan unsur hara fosfat bagi tumbuhan akan terpenuhi (Karpagam dan Nagalakshmi, 2014). Unsur fosfat diperlukan dalam fotosintesis, respirasi, penyimpanan dan transfer energi, pembelahan sel, pembesaran sel dan beberapa proses lain (Sagervanshi, 2012). Bakteri pelarut fosfat mensekresikan senyawa asam organik sehingga berdampak pada penurunan pH tanah dan memecahkan ikatan beberapa senyawa fosfat sehingga meningkatkan ketersediaan fosfat tanah (Atekan, 2014). Efek pelarutan fosfat melalui reaksi antara asam organik dengan pengikat fosfat seperti Al, Fe, dan Ca, atau Mg akan membentuk *chelate* organik yang stabil untuk membebaskan ion fosfat yang terikat (Gupta et al, 2012O).

Bakteri pelarut fosfat ialah bakteri yang dapat melarutkan P menjadi P yang sifatnya dapat diserap oleh akar tumbuhan (*Available phosphate*/P yang tersedia). Arfarita *et al.* (2017) melaporkan bahwa *Pseudomonas plecoglossicida* merupakan salah satu bakteri yang dapat berperan sebagai pelarut P. Bakteri tersebut memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai biofertilizer. Pelarutan P oleh bakteri pelarut fosfat melalui reaksi antara asam organik yang dikeluarkan dari bahan-bahan organik dengan pengikat P seperti Al, Fe, dan Ca, atau Mg untuk membentuk *chelate*

organik yang stabil untuk membebaskan ion P yang terikat (Gupta *et al.*, 2012).

Bakteri pelarut fosfat telah diterapkan pada bidang pertanian untuk memfasilitasi penyerapan unsur hara tanaman dan mencegah adanya penyakit tanaman (Khan *et al.*, 2013). Lin *et al.*, (2018) melaporkan bahwa bakteri pelarut fosfat dapat meningkatkan efisiensi fitoremediasi tumbuhan *W. trilobita* pada tanah yang tercemar logam yaitu tembaga (Cu). Bakteri pelarut fosfat juga memiliki efek positif terhadap mikroflora tanah untuk meningkatkan kualitas tanah yang kemudian dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman *W. trilobita* pada tanah yang tercemar tembaga. Seiring dengan peningkatan pertumbuhan tanaman *W. trilobita* maka terjadi peningkatan penyerapan Cu oleh *W. trilobita* sebagai agen fitoremediasi.

Bakteri pelarut fosfat sendiri dapat dibagi menjadi dua kelas: (1) Mikroorganisme pelarutan P_i yang mengeluarkan asam organik untuk melarutkan senyawa P_i dan (2) Mikroorganisme mikro yang mengeluarkan fosfatase untuk melarutkan senyawa P organik yang dimetabolisme secara enzimatik. Penerapan kedua kelas bakteri pelarut fosfat tersebut dalam tanah menurunkan pH tanah dan membentuk kompleks P anorganik di sekitar rizosfer tanaman, akibatnya meningkatkan pasokan P yang tersedia untuk tanaman dan hal ini akan memperkuat aktivitas mikroorganisme menguntungkan lainnya, seperti *Rhizobium* dan *Trichoderma*. Aplikasi ini mempromosikan penyerapan unsur hara tanah (Chen and Liu, 2019).

Mikroorganisme tanah dalam hal ini secara umum telah ditemukan lebih efektif dalam membuat P tersedia untuk tanaman dari sumber anorganik dan organik melalui proses pelarutan dan mineralisasi senyawa P kompleks (Khan *et al.*, 2014). Dari berbagai strategi yang diadopsi oleh mikroba,

keterlibatan asam organik yang memiliki massa molekul rendah yang disekresikan oleh mikroorganisme telah menjadi teori yang diakui dan diterima secara luas sebagai sarana utama pelarutan P (Marra *et al.*, 2012). Di lingkungan alami atau dalam kondisi *in vitro*, ion mineral *chelate* atau pH yang rendah (asam) dapat memicu pelarutan P. Akibatnya, pengasaman sel mikroba dan sekitarnya menyebabkan pelepasan ion P dari mineral P oleh substitusi H⁺ untuk Ca²⁺ (Khan *et al.*, 2014). Bakteri pelarut fosfat ditemukan menghasilkan asam seperti asam asetat, asam format (asam monokarboksilat); laktat, glukonat, glikolat (hidroksi asam monokarboksilat); 2-keto glukonat (asam keto monokarboksilat); oksalat, suksinat (asam dikarboksilat); malic (asam hidroksi dikarboksilik); dan sitrat (asam hidroksi trikarboksilik) dalam media cair (Prabhu *et al.*, 2019).

Mekanisme utama pelarutan P oleh bakteri adalah melalui pengasaman. Selama proses pengasaman, senyawa organik yang dikeluarkan oleh bakteri pelarut fosfat dapat menurunkan tingkat keasaman dari 7.0 ke 2.0. Di antara asam-asam organik, asam glukonat merupakan asam yang sering dihasilkan oleh bakteri pelarut fosfat. Asam glukonat terutama diproduksi bakteri oleh enzim glukosa dehidrogenase dalam jalur oksidasi langsung glukosa (Suleman *et al.*, 2018). Selain itu, produksi simultan asam organik yang berbeda oleh strain bakteri pelarut fosfat dapat berkontribusi pada potensi yang lebih besar untuk pelarutan Pi.

Selain berperan dalam pelarutan P, bakteri pelarut fosfat juga memiliki peran positif lain bagi tumbuhan. Bakteri pelarut fosfat seperti Gram-negatif *P. fluorescens*, *P. aeruginosa* dan *Chromobacterium violaceum* juga mampu mengeluarkan antibiotik dan memberikan perlindungan bagi tanaman terhadap patogen yang ditularkan melalui tanah. Selain itu

beberapa bakteri pelarut fosfat seperti *Pseudomonas putida* memiliki kemampuan untuk mensintesis enzim kunci yaitu *1-aminocyclopropane-1-carboxylate* (ACC) deaminase yang menghidrolisis ACC menjadi NH_3 dan α -ketobutirat dan dengan demikian mengurangi efek penghambatan dari etilen (C_2H_4) (Khan *et al.*, 2014).

Hubungan simbiosis antara bakteri pelarut fosfat dan tanaman bersifat sinergis karena bakteri memberikan P yang tersedia bagi tanaman dan tanaman memasok senyawa karbon (terutama gula), yang dapat dimetabolisme untuk pertumbuhan bakteri. Bakteri telah dilaporkan melarutkan P di bawah pengaruh tekanan abiotik seperti kekeringan, pH rendah atau tinggi, salinitas, dan suhu (Vassilev *et al.*, 2012). Chen *et al.*, (2019) melaporkan bahwa ko-inokulasi bakteri pelarut fosfat dengan bakteri pemfiksasi nitrogen lebih efektif dalam pelarutan P serta peningkatan pertumbuhan tanaman pada kondisi cekaman lingkungan dibandingkan dengan hanya inokulasi tunggal.

Identifikasi bakteri pelarut fosfat dapat dilakukan dengan menggunakan *bromocresol green* pada suhu 37°C selama 12 hari sebagai indikator untuk pewarna bakteri pelarut fosfat. Pada bakteri yang berwarna hijau pada perlakuan *bromocresol green* ditetapkan sebagai bakteri pelarut fosfat, selain itu karakteristik lain bakteri pelarut fosfat yaitu membentuk zona bening (*halo zone/ clear zone*) pada media pertumbuhan. Untuk memastikan apakah isolat yang diuji adalah pelarut fosfat, maka bakteri akan ditumbuhkan pada media cair yang mengandung asetilena. Bakteri yang dapat melarutkan P akan menurunkan kadar asetilena pada media pertumbuhan (Girigiri *et al.*, 2019).

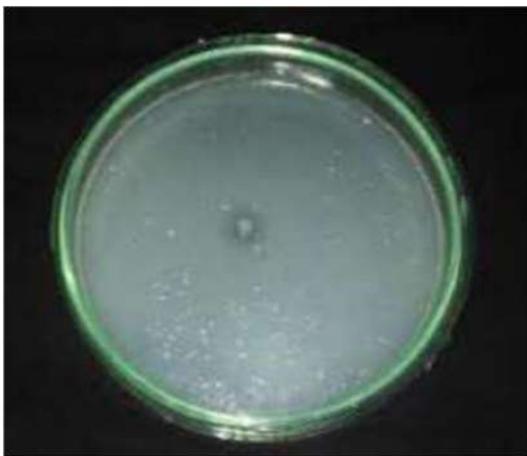
Bahan potensial sebagai sumber isolat bakteri pelarut fosfat dapat diperoleh dari kompos. Penggunaan kompos sebagai sumber isolat bakteri pelarut fosfat memiliki fungsi

ganda, yaitu sebagai sumber bahan organik tanah dan sebagai sumber energi dan pembawa untuk bakteri pelarut fosfat yang sesuai. Atekan *et al.* (2014) melaporkan bahwa isolasi bakteri pelarut fosfat dari kompos limbah tebu secara kuantitatif dan kualitatif sangat potensial dalam melarutkan P dari $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ di media Pikovskaya. Secara umum, peningkatan kelarutan P berkorelasi linier dengan penurunan pH media.

Karakteristik bakteri pelarut fosfat yaitu membentuk zona bening (Gambar 2.4) yang menjadi dasar identifikasi untuk tahapan isolasi bakteri sebelum dilakukan pengaplikasian bakteri pelarut fosfat ke tanah yang membutuhkan khususnya pada proses reklamasi tanah bekas tambang batu bara. Besar kecilnya zona bening yang dihasilkan mengindikasikan bahwa isolate tersebut dapat melakukan aktivitas enzim fosfatase dan dapat menghasilkan kadar asam organik yang tinggi. Situmorang *et al* (2015) menyatakan semakin besar zona bening yang dihasilkan menunjukkan bahwa semakin banyak atau semakin tinggi aktivitas penghasilan enzim yang dilakukan oleh bakteri pelarut fosfat. Hal ini karena zona bening tersebut terbentuk dihasilkan dari adanya fosfat yang terlarut. Semakin banyak pelarutan fosfat oleh bakteri pelarut fosfat dari senyawa fosfat kompleks (tidak terlarut) menjadi fosfat yang tersedia maka zona beningnya akan semakin lebar atau besar. Pelarutan fosfat oleh bakteri dapat terjadi karena bakteri pelarut fosfat dapat menghasilkan enzim fosfatase. Enzim fosfatase tersebut mampu mengkatase terjadinya reaksi mineralisasi hidrolitik secara enzimatik dengan pelepasan fosfat tidak terlarut menjadi terlarut.

Aktivitas isolasi bakteri pelarut fosfat dapat diamati secara semikuantitatif pada medium pikovskaya melalui pembentukan zona bening dengan cara mengukur diameter zona bening disekitar koloni bakteri pelarut fosfat. Media

pikovskaya ini mengandung trikalsium fosfat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Adanya asam-asam organik menyebabkan terjadinya ikatan dengan ion Ca dari $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ pada media pikovskaya sehingga membebaskan H_2PO_4 . Hasil seleksi ditandai dengan adanya zona bening yang terletak disekitar koloni bakteri. Ukuran dari zona bening yang dihasilkan berbeda-beda untuk setiap isolate. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan kemampuan dalam pelarutan fosfat oleh setiap isolate. Hasil ini digunakan untuk mengidentifikasi seberapa besar kelarutan fosfat yang dihasilkan. Terbentuknya zona bening pada medium psikovskaya menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim ekstraseluler.



Gambar 2.2. Zona Bening yang Terbentuk Pada Media Pikovskaya (Utami et al. 2021)

Medium pikovskaya yang digunakan sebagai media tanam mengandung fosfat yang tidak larut sehingga tidak dapat secara langsung dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber makanan (nutrisi) bakteri. Oleh karena itu, sebagai bentuk mekanisme untuk memenuhi kebutuhan nutrisi maka bakteri tersebut mensekresikan enzim ekstraseluler yang dikenal dengan enzim fosfatase. Enzim ini mampu melarutkan fosfat yang tidak larut menjadi larut, maka terbentuklah zona bening di sekitar koloni. Enzim fosfatase ini dikeluarkan oleh mikroorganisme secara ekstraseluler. Enzim-enzim yang termasuk ke dalam kelompok enzim fosfatase adalah enzim fosfomonoesterase, fosfodiesterase dan fitase.

E. Bakteri Penambat Nitrogen

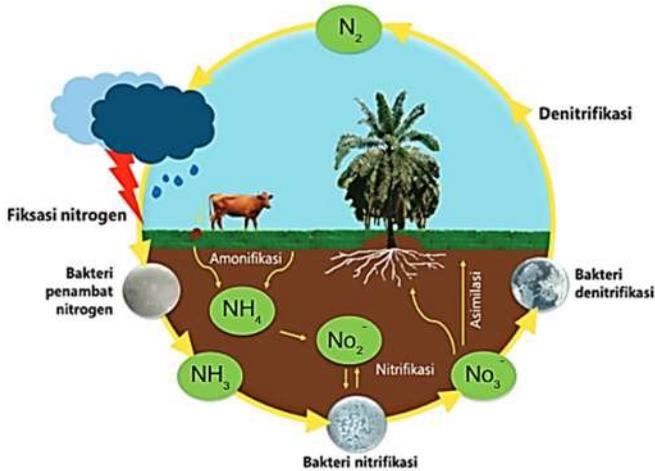
Nitrogen (N) merupakan unsur yang bersifat esensial bagi keberlangsungan hidup organisme baik manusia, hewan dan juga khususnya tanaman. Unsur nitrogen merupakan salah satu komponen penyusun protein dan memiliki peran dalam proses fotosintesis yang dilakukan oleh tumbuhan (Leghari et al., 2016). Nitrogen merupakan unsur yang kadarnya melimpah di atmosfer yaitu berada pada kisaran 78%. Namun walaupun demikian, sebagian besar nitrogen yang berada di atmosfer berada dalam bentuk atau molekul yang tidak reaktif (tidak tersedia) sehingga tidak dapat diserap oleh tumbuhan secara langsung. Oleh karena itu, perlu adanya proses transformasi nitrogen yang berada di atmosfer menjadi bentuk molekul yang dapat diserap oleh tumbuhan. Bentuk atau molekul nitrogen yang dapat diserap oleh tumbuhan meliputi ion amonium (NH_4^+) atau ion nitrat (NO_3^-). Transformasi nitrogen yang ada di udara dapat dilakukan dengan proses fiksasi oleh bakteri penambat nitrogen. Bakteri penambat nitrogen merupakan bakteri yang mampu memfiksasi atau

menambat nitrogen bebas menjadi amonium atau nitrat, sehingga dapat mengubah bentuk nitrogen yang yang tidak tersedia (susah diserap) menjadi bentuk yang tersedia dan dapat diserap oleh tanaman (Martinez-Dalmau et al., 2021).

Penambatan atau fiksasi unsur nitrogen yang dilakukan oleh bakteri memberikan manfaat yang besar bagi tanaman, sehingga pada masa sekarang banyak dimanfaatkan untuk praktek pertanian, karena menjadi alternatif pengganti pupuk anorganik. Pada pertanian konvensional, penambahan nitrogen untuk keperluan tanaman budidaya dapat dilakukan dengan penambahan pupuk anorganik yang mengandung unsur nitrogen. Penggunaan pupuk anorganik pada pertanian secara terus-menerus dapat memberikan efek negatif baik bagi kesehatan tanah maupun lingkungan sekitar. Dampak negative dalam penggunaan pupuk anorganik secara berlebihan yaitu dapat menyebabkan pencemaran tanah, udara, dan air melalui proses *leaching*, mengubah sifat fisik tanah menjadi lebih keras, tidak gembur, dan akumulasi bahan kimia dalam pupuk organik dapat bersifat beracun. Sehingga aplikasi bakteri penambat nitrogen dapat menjadi alternatif yang berdampak positif untuk mengurangi penggunaan pupuk anorganik dan secara positif dapat meningkatkan kadar nitrogen tanah.

Secara umum, di alam terjadi perubahan bentuk nitrogen menjadi senyawa lainnya melalui siklus yang disebut dengan siklus nitrogen (**Gambar 2.1**). Tahapan yang terjadi selama proses daur nitrogen yaitu: (i) proses fiksasi atau penambatan nitrogen secara fisika dengan menggunakan petir sehingga terbentuk amonium dan nitrat, secara kimiawi melalui industri pupuk dan secara biologis yaitu fiksasi nitrogen oleh bakteri. Proses selanjutnya yaitu (ii) amonifikasi, yaitu pembentukan amonium atau dekomposisi (penguraian) organisme yang sudah mati oleh bakteri dan fungi; (iii) nitrifikasi, perubahan amonia menjadi nitrit oleh bakteri

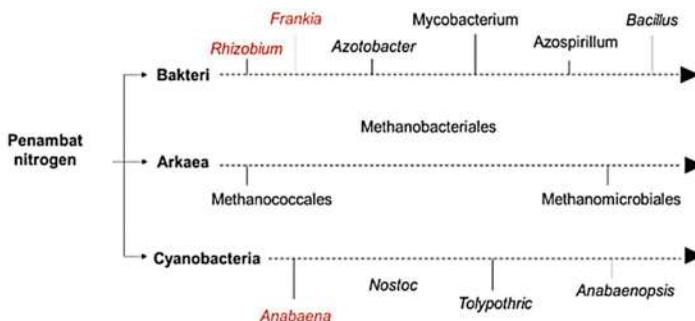
Nitrosomonas dan nitrat oleh bakteri Nitrobacter; (iv) asimilasi nitrogen yang telah tersedia dalam tanah, kemudian diserap oleh akar tanaman; dan (v) denitrifikasi, proses reduksi nitrat menjadi gas nitrogen (Soumare et al., 2020).



Gambar 2.3. Siklus nitrogen di alam (Sapalina et al. 2022)

Bakteri pemfiksasi nitrogen dapat berada pada kondisi berasosiasi atau simbiosis dan juga ada yang bebas. Bakteri penambat nitrogen *Azospirillum* dapat membentuk asosiasi yang erat dengan beberapa famili Poaceae (rumput) yaitu beras, gandum, jagung, oat, dan barley. Sementara itu, bakteri penambat nitrogen yang bersimbiosis membentuk nodul atau bintil akar didalam jaringan akar tanaman seperti *Rhizobium*, *Frankia*, dan *Anabaena*. Bakteri pemfiksasi nitrogen yang bersimbiosis mendapatkan nutrisi melalui eksudat akar yang dihasilkan tanaman. Eksudat akar tersebut diketahui sebagai campuran dari senyawa gula kompleks, seperti glukosa, asam amino, asam organik, asam lemak, dan lainnya. Bakteri

penambat nitrogen tidak selalu berada dalam kondisi simbiosis dengan tanaman melainkan adapula yang hidup bebas dan tidak melakukan asosiasi dengan organisme lain. Bakteri tersebut meliputi kelompok bakteri *Azotobacter*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Klebsiella* dan lainnya. Berikut diagram yang menyajikan kelompok bakteri dengan kemampuan sebagai penambat nitrogen yang disajikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.4. Bakteri penambat nitrogen yang bersimbiosis (genera yang berwarna merah) dan non-simbiosis (genera yang berwarna hitam) (Sumber: Soumare et al., 2020)

Karakteristik bakteri *Rhizobium* yaitu bakteri yang hidup bebas, gram negatif, aerob, dan fakultatif anaerob, motil, serta kemo-heterotrof. *Rhizobium* bertahan di tanah sebagai heterotrof saprofit ketika mereka tidak menginfeksi tanaman legum yang merupakan inang bagi *Rhizobium*. *Rhizobium* adalah bakteri yang menghabiskan sebagian besar hidupnya di tanah, namun *Rhizobium* lebih dikenal karena peranan mereka di dalam nodul akar legum, di mana *Rhizobium* dapat mengubah nitrogen bebas di atmosfer menjadi bentuk yang dapat digunakan oleh tanaman inang. Ketika populasi tanaman legum melimpah maka jumlah *Rhizobium* dalam akar lebih banyak dibandingkan dengan *Rhizobium* yang ada di tanah (Setu *et al.*, 2019).

Genus bakteri *Rhizobium* terdiri dari beragam spesies pengikat nitrogen simbiotik yang berasosiasi dengan akar tanaman dalam keluarga Leguminosae (Gonzales *et al.*, 2019). Simbiosis antara *rhizobium* dan tanaman legum memiliki sumber utama nitrogen bebas yang berasal dari biosfer. Simbiosis tersebut menjadi potensi untuk meningkatkan hasil pertanian dan mengurangi ketergantungan pada pupuk berbasis nitrogen. Adanya potensi tersebut meningkatkan ketertarikan ilmuwan untuk mempelajari lebih lanjut mengenai *Rhizobium* dan proses simbiosisnya pada tanaman. Fiksasi gas N₂ bebas di udara menjadi amonia oleh bakteri bintil akar (*rhizobia*) disebut proses fiksasi N₂ akibat adanya simbiosis (diCenzo *et al.*, 2019). Manfaat proses fiksasi ini dapat dimaksimalkan dalam pertanian dengan dua strategi umum. Yang pertama adalah mengoptimalkan jumlah N₂ yang dapat dimanfaatkan oleh bio-inokulan *rhizobial*. Hal ini akan mengakibatkan peningkatan tidak hanya laju fiksasi N₂ dalam nodul tetapi juga daya saing strain inokulan di tanah dan rhizosfer. Strategi kedua adalah merekayasa sepenuhnya simbiosis pengikat N₂ dengan tanaman non-legum (Oldroyd and Dixon, 2014).

Rhizobia pemfiksasi nitrogen memiliki siklus hidup yang kompleks (Poole *et al.*, 2018). *Rhizobia* ditemukan sebagai bakteri yang hidup bebas di lingkungan tanah umum dan di rhizosfer. *Rhizobia* harus bersaing dengan anggota komunitas mikroba lain untuk membentuk populasi yang stabil (Li *et al.*, 2016). Pada rhizosfer, *rhizobia* dapat menginfeksi inang legum yang kompatibel, di mana kondisi pertumbuhan bervariasi sesuai dengan tahap perkembangan simbiotik. Kondisi ini termasuk kondisi asam dan oksidatif (Hawkins *et al.*, 2017), pertumbuhan linier di sepanjang benang infeksi oksidatif, dan diferensiasi simbiosis setelah dilepaskan ke dalam sel inang. Setiap tahap pertumbuhan bebas dan simbiotik membutuhkan

seperangkat gen dan kemampuan metabolisme yang unik. Pengembangan strain inokulan komersial generasi berikutnya harus menjelaskan hal ini dan sifat biologis lainnya, termasuk pertumbuhan skala industri dan kelangsungan hidup selama pengeringan. (O'Callaghan, 2016).

Rhizobium adalah merupakan kelompok bakteri yang penting untuk menyediakan nitrogen bagi lingkungan dan akar kacang polong (*Legum*) (Tariq *et al.*, 2014). Rhizobium memiliki kapasitas ekologis untuk mengurangi polutan organik dan menjadikannya berguna untuk merehabilitasi tanah yang tercemar. Selain itu Rhizobium juga dapat merangsang kelangsungan hidup dan bekerja dengan bakteri tanah polutan lainnya, sehingga mengurangi konsentrasi dari pencemaran yang ada pada tanah khususnya pencemaran akibat minyak bumi, karena tindakan sinergis dari Rhizobium yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman sehingga dapat meningkatkan toleransi tanaman terhadap tanah yang tercemar (Hao *et al.*, 2014).

Hubungan simbiosis antara tanaman legum dan rhizobia, menarik perhatian peneliti yang terlibat dalam pemulihan tanah yang terkontaminasi logam berat. Logam berat berperan penting dalam fiksasi nitrogen secara simbiotik melalui rhizobium. Khususnya, enzim nitrogenase tergantung pada kofaktor yang mengandung molibdenum dan zat besi (FeMo-co), vanadium dan besi (VFe-co), atau dua molekul besi (FeFe-co). Namun jumlah logam berat yang berlebih malah dapat menghambat nodulasi akar dan menghambat pertumbuhan tanaman (González-Guerrero, 2014).

Famili Leguminosae (*Fabaceae*) adalah salah satu yang paling beragam di antara tanaman darat dan memiliki lebih dari 700 genera dan 20.000 spesies. Legum telah diusulkan sebagai spesies yang relevan untuk fitoremediasi, sebagian besar karena kemampuan mereka

untuk dapat hidup di tanah marginal dan tanah yang miskin unsur hara (Hao *et al.*, 2014). Walaupun demikian kadar logam berat yang tinggi tetap dapat menghambat pertumbuhan tanaman legum. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa tanaman legum yang bersimbiosis dengan rhizobium dapat toleran terhadap logam Cu, Zn, dan Pb (Grison *et al.*, 2015).

Fiksasi nitrogen simbiotik oleh kacang-kacangan bernilai sangat penting karena dapat memasok nitrogen dalam jumlah besar ke ekosistem dan berkontribusi pada produksi tanaman. Hubungan simbiotik antara legum dan rhizobia dimulai dengan saling adanya pengenalan molekul sinyal yang dikeluarkan dari kedua pasangan (tanaman legume dan rhizobia). Di rhizosfer, flavonoid yang dikeluarkan dari tanaman dapat dikenali oleh rhizobia yang kompatibel dan menginduksi produksi sinyal *lipo-chito oligosaccharida*, yang disebut faktor Nod (*Nod Factor = NF*), oleh rhizobia. NF yang dikeluarkan oleh rhizobia dapat dikenali oleh legum, sehingga menghasilkan aktivasi reaksi simbiosis yang mengarah pada infeksi rhizobial dan pembentukan nodul akar (Shimoda *et al.*, 2019).

F. Bakteri Pendegradasi Senyawa Hidrokarbon

Batubara merupakan hasil tambang yang merupakan batuan hidrokarbon padat yang mana dihasilkan dari endapan fosil tumbuhan yang dipengaruhi oleh tekanan dan panas dalam waktu yang lama dan dalam kondisi lingkungan yang bebas oksigen. Pembentukan batubara tersebut memerlukan jangka waktu yang lama hingga sampai jutaan tahun. Pada proses pembentukan itu diawali dengan menghasilkan gambut, lignit, subbituminus, bituminous, dan terakhir terbentuknya antrasit. Unsur utamanya terdiri dari

karbon, hidrogen dan oksigen. Batubara adalah batuan organik yang memiliki sifat – sifat fisika dan kimia yang kompleks yang dapat ditemui dalam berbagai bentuk.

Hidrokarbon yang terdapat pada batubara merupakan senyawa polutan organik yang bersifat karsinogenik dan neurotoksik sehingga dapat terakumulasi dalam tubuh manusia dan menyebabkan penyakit paru-paru, jantung, ginjal bahkan kanker. Pencemaran hidrokarbon merupakan salah satu masalah lingkungan yang serius karena tidak hanya menyebabkan efek buruk pada lingkungan dan ekosistem namun juga merusak kehidupan makhluk hidup. Terlepasnya unsur hidrokarbon ke lingkungan dapat terjadi secara tidak sengaja melalui berbagai aktivitas diantaranya kegiatan eksplorasi, eksploitasi, transportasi, pengolahan dan penyimpanan hidrokarbon tersebut. Pencemaran tanah oleh minyak bumi menyebabkan tanah kehilangan sifat yang berguna seperti kesuburan tanah, kapasitas mengikat air, permeabilitas, agregat, dan kontaminasi terhadap air tanah.

Polutan hidrokarbon dapat didegradasi oleh mikroorganisme seperti bakteri, fungi, yeast dan mikroalga dengan memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber karbon dan energi. Berbagai spesies mikroorganisme telah dilaporkan dapat menurunkan atau mendegradasi hidrokarbon seperti *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Flavobacterium*, *Sporobolomyces*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Thiobacillus*, *Lactobacter*, *Staphylococcus*, *Penicillium* dan *Articulosporium* (Agu et al., 2015). *Bacillus cereus*, *Micrococcus spp*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escheria coli* mampu mendegradasi benzen, toulen dan xilen (Jayanthi & Hemashenpagam, 2015). *Pseudomonas sp.* SA044 mampu mendegradasi 5 jenis hidrokarbon aromatik, yaitu fenantrena, naftalin, bifenil, antrasena dan xilen.

Mikroba yang mampu menguraikan senyawa hidrokarbon dikarenakan kemampuan proses enzimatik pendegradasi hidrokarbon sebut dengan mikroba pendegradasi hidrokarbon (Das dan Chandran, 2011). Pemanfaatan bakteri pendegradasi hidrokarbon dapat mempersingkat waktu bioremediasi karena bakteri tersebut dapat memanfaatkan hidrokarbon untuk proses metabolismenya (Sayuti dan Suratni, 2015; Olawale et al, 2020). Bakteri tersebut memiliki kapasitas enzimatik yang tinggi, sehingga efektif digunakan dalam proses degradasi kompleks hidrokarbon di lingkungan yang tercemar minyak bumi atau batubara. Meningkatnya asam-asam organik tersebut diikuti dengan penurunan pH, mengakibatkan pelarutan P yang terikat oleh Ca (Das dan Chandran, 2011).

Terdapat 10 genus bakteri yang paling baik digunakan untuk degradasi hidrokarbon karena kemampuannya memecah hidrokarbon dan memanfaatkan unsur karbonnya untuk proses metabolisme bakteri Kafilzadeh et al, 2011; Al-Hawash et al, 2018. Bakteri yang umum ditemukan di tambang batubara adalah *Bacillus cereus* dan *Bhargavaea cecembensis* (Wang et al, 2019). Metana (CH₄) terbentuk, terperangkap dan terakumulasi di pori-pori selama pembentukan batubara yang berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber energi alternatif. Bakteri pelarut batubara seperti *Bacillus mycoides*, *Microbacterium* sp dan *Acinetobacter baumannii* mampu melepaskan *humified organic matter (HOM)* melalui biotransformasi batubara (Harlia et al, 2018) sehingga penambahan HOM ke tanah sering digunakan untuk membantu rehabilitasi lahan kritis sehingga penggunaan bakteri pelarut batubara berpotensi memperbaiki tanah bekas tambang batubara (Cubillos-Hinojosa et al, 2017).

Evaluasi isolat dapat dilakukan dengan melakukan pengamatan terhadap kemampuan isolat untuk dapat tumbuh pada medium minimal yang telah diberi perlakuan dengan hidrokarbon sebagai sumber karbon tunggal. Pengamatan morfologi bakteri dilakukan dengan mengamati koloni bakteri yang meliputi bentuk koloni, ukuran, margin, elevasi, pertumbuhan pada media miring dan tegak seperti ditunjukkan pada Tabel 2.3 berikut.

Tabel 2.3 Morfologi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon (Apriliya et al. 2020)

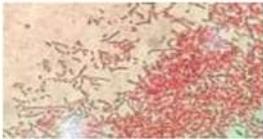
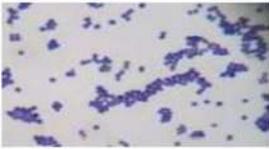
Kode Isolat	Bentuk	Ukuran	Margin	Elevasi	Koloni pada Media Miring	Pertumbuhan Media Agar Tegak
D 10 ⁻⁵ Sp. 2	<i>circular</i>	sedang	<i>Lobate</i>	<i>raised</i>	<i>Echinulate</i>	<i>Papiliate</i>
I 10 ⁻⁴ Sp.14	<i>circular</i>	Kecil	<i>Entire</i>	<i>raised</i>	<i>Echinulate</i>	<i>Echinulate</i>
E 10 ⁻⁴ Sp. 17	<i>circular</i>	Kecil	<i>Undulate</i>	<i>raised</i>	<i>Echinulate</i>	<i>Echinulate</i>

Berdasarkan hasil observasi terhadap morfologi bakteri pendegradasi hidrokarbon menunjukkan bahwa bakteri tersebut memiliki bentuk *circular*, elevasi *raised*, ukuran dari kecil hingga sedang, marginnya juga bervariasi, pada media miring berbentuk *echinuate*, sedangkan media agar tegak berbentuk *echinulate* dan *papiliate*. Identifikasi bakteri pendegradasi hidrokarbon juga dilakukan melalui pewarnaan gram. Hasil pewarnaan Gram dan pengamatan bentuk sel bakteri pendegradasi hidrokarbon menunjukkan bentuk dan warna bervariasi yang ditunjukkan oleh Tabel 2.4.

Hasil dari pewarnaan Gram dan bentuk sel yang disajikan pada Tabel 2.4 menunjukkan bahwa ketiga isolat memiliki bentuk dan warna yang sangat bervariasi yaitu isolat E 10⁻⁴ Sp. 17 merupakan bakteri Gram positif berbentuk coccus, isolat I 10⁻⁴ Sp.14 merupakan Gram negatif berbentuk

coccus, dan D 10⁻⁵ Sp. 2 merupakan bakteri Gram negatif berbentuk basil. Pada umumnya bakteri pendegradasi hidrokarbon minyak bumi termasuk dalam bakteri Gram negatif dan berbentuk coccus. Namun bakteri gram positif lebih berpotensi mendominasi di daerah terkontaminasi senyawa hidrokarbon. Bakteri gram positif memiliki dinding sel lebih kuat dibandingkan dengan bakteri gram negatif dan memungkinkan untuk berkembang dalam lingkungan sedimen intertidal sangat bervariasi. Endospora memiliki ketahanan terhadap kondisi seperti panas, pengeringan, radiasi, oksidan dan protease dan memungkinkan bakteri untuk bertahan dan menjadi mana-mana di lingkungan tanpa kehilangan kapasitas perkecambahan dan perkembangan.

Tabel 2.4. Pewarnaan Gram dan Bentuk Sel Bakteri (Apriliya et al. 2020)

Isolat	Gram	Bentuk	Gambar
D 10 ⁻⁵ Sp. 2	Negatif	Basil	
I 10 ⁻⁴ Sp.14	Negatif	Coccus	
E 10 ⁻⁴ Sp. 17	Positif	Coccus	

Bakteri pendegradasi senyawa hidrokarbon dapat memecah ikatan rantai hidrokarbon pada kondisi aerob maupun anaerob bergantung pada jenis bakteri dan kondisi lingkungan. Bakteri aerob pendegradasi senyawa hidrokarbon dapat melakukan katabolisme hidrokarbon alifatik dengan memutus ikatan rantai hidrokarbon melalui reaksi hidroksilasi yang melibatkan enzim monooksigenase (Das and Chandran, 2011). Hasil hidroksilasi tersebut kemudian memasuki jalur metabolisme perifer dari sel bakteri dan selanjutnya dioksidasi, memecah ikatan C-C pada hidrokarbon secara bertahap, menghasilkan konstituen yang lebih kecil yang memasuki jalur metabolisme utama sel melalui oksidasi (Moreno *et al.*, 2017).

Pada bakteri anaerob pendegradasi senyawa hidrokarbon, memecah rantai hidrokarbon melalui jalur metabolik yang menggunakan akseptor elektron alternatif untuk oksigen (O₂) (mis., Nitrat, ion logam, dan). Jenis akseptor elektron dapat bervariasi bergantung pada zona reduksi-oksidasi yang berbeda, dan mikroorganisme yang ada di dalamnya. Secara umum, akseptor elektron alternatif pertama yang digunakan oleh mikroorganisme untuk proses katabolisme senyawa hidrokarbon setelah penipisan oksigen atmosfer adalah nitrat, karena bakteri pereduksi nitrat pada umumnya merupakan anaerob fakultatif. Mangan, besi, dan sulfat mengandung potensi redoks di bawah nitrat dan dapat digunakan spesies bakteri pereduksi ion anorganik yang sesuai.

Metanogenesis memiliki potensi redoks yang lebih rendah daripada ion logam dan belerang dan bergantung pada produk sampingan yang dihasilkan dari spesies bakteri fermentatif dan asetogenik untuk memasok akseptor elektron (mis., H₂/CO₂, format/asetat) (Ghattas *et al.*, 2017; Abbasian *et al.*, 2016). Lima jalur dominan telah diidentifikasi untuk degradasi hidrokarbon bakteri anaerob. Jalur anaerobik ini meliputi (1) penambahan fumarat ke rantai hidrokarbon, (2)

hidroksilasi rantai hidrokarbon, (3) karboksilasi aromatik, (4) hidrasi alkena/alkin, dan (5) metanogenesis terbalik (Abbasian *et al.*, 2016).

1. Penambahan Fumarate ke Rantai Hidrokarbon

Penambahan fumarate ke rantai senyawa hidrokarbon oleh spesies bakteri anaerob menghasilkan kaskade penataan ulang rantai senyawa hidrokarbon, yang akhirnya diproses melalui jalur oksidasi dan menghasilkan alkilsuksinat. Alkilsuksinat ini kemudian dapat terdegradasi oleh proses ligasi, penataan kembali kerangka karbon, dan beta-oksidasi. Senyawa hidrokarbon alifatik dan aromatik dapat terdegradasi melalui metode ini (Musat *et al.*, 2015).

Mekanisme degradasi senyawa hidrokarbon ini berlangsung dengan sintetase alkilsuksinat yang memfasilitasi pengikatan n-alkana ke karbon subterminal atau terminal (dengan propana) dari fumarate. Produk yang dihasilkan adalah 2- (1-metilalkil) suksinat (atau 2-alkilsuksinat). 2- (1-Methylalkyl) suksinat lalu diatur ulang menjadi (2-metilalkil) -mialilil-KoA, dan didekarboksilasi menjadi turunan 4-metilalkil-CoA yang mengalami oksidasi (Bian *et al.*, 2015),

Sejumlah bakteri nitrifikasi dan pereduksi sulfat (mis., *Thauera aromatic* dan *Desulfobacula toluolica*) dapat memanfaatkan toluena sebagai sumber karbon tunggal dan memecahnya melalui penambahan fumarate ke rantai karbon. Dalam proses ini, benzylsuccinate synthase (BSS) memfasilitasi pengikatan dari toluena ke fumarat, membentuk (R) -benzilsuksinat, yang kemudian dimetabolisme oleh jalur oksidasi (Musat *et al.*, 2015).

2. Hidroksilasi Independen Oksigen dari Rantai Senyawa Hidrokarbon

Untuk degradasi berbagai senyawa aromatik dan heteroaromatik yang tersubstitusi etil dan propil hidrokarbon, hidroksilasi oksigen-independen dari rantai hidrokarbon adalah metode umum yang dilakukan oleh bakteri. Etilbenzena dehydrogenase (EBDH) mengkatalisasi hidroksilasi rantai hidrokarbon dengan H₂O (tidak seperti O₂ dalam sistem aerobik) dan mengubah aromatik mono dan bicyclic yang tersubstitusi dengan cincin senyawa menjadi alkohol (mis., konversi etilbenzena menjadi (S) -1-phenylethanol). Kemudian reaksi dehidrogenase enzimatik, karboksilase, dan ligase dilakukan oleh bakteri sebelum struktur thiolitik dibelah menjadi benzoil-KoA dan asetil-KoA (Rabus *et al.*, 2016).

3. Karboksilasi Senyawa Aromatik

Meskipun kepastian mutlak proses karboksilasi sebagai mekanisme pendegradasi senyawa hidrokarbon dibutuhkan penguatan lebih lanjut dalam literatur, identifikasi karboksilat turunan senyawa hidrokarbon asam aromatik dengan gugus karboksil turunan CO₂ memberikan bukti untuk pendegradasi senyawa hidrokarbon melalui proses karboksilasi (Widdel *et al.*, 2010).

4. Hidrasi Alkena / Alkil

Senyawa hidrokarbon alkena dan alkil dalam kondisi anaerob dapat terdegradasi melalui penambahan molekul air menjadi ikatan rangkap dua atau rangkap tiga, yang mengubah senyawa hidrokarbon menjadi alkohol, keton, atau aldehida (Grossi *et al.*, 2011).

5. Metanogenesis Terbalik

Dekomposisi mikroba terhadap metana sebagian besar difasilitasi melalui proses *reverse methanogenesis* oleh Archaea. Metanotrof anaerob dari domain archaea diperkirakan menggunakan reaksi sebaliknya metil-koenzim M reduktase (enzim kunci dalam proses metanogenesis) untuk aktivasi metana. Namun, bakteri *Methylomirabilis oxyfera* memiliki kapasitas untuk mengubah NO dari nitrit tereduksi menjadi N₂ dan O₂, yang memungkinkan meto monooksigenase untuk mendegradasi metana (Cui *et al.*, 2015).

G. Simbiosis Tripartit

Simbiosis merupakan interaksi antar makhluk hidup yang dalam interaksinya dapat saling menguntungkan atau merugikan. Dalam kajian ini membahas mengenai simbiosis tripartite yang bersifat saling mempengaruhi dan bekerjasama dalam melaksanakan suatu tujuan yang diharapkan berdampak positif khususnya bagi pertumbuhan tanaman dan kesehatan tanah. Simbiosis tripartite merupakan simbiosis yang melibatkan 3 (tiga) organisme dalam interaksi antar sesama. Banyak publikasi melaporkan bahwa ko-inokulasi legum dengan AMF dan kelompok rhizobium menghasilkan manfaat yang lebih besar bagi tanaman dan simbiosis, karena efek sinergis yang dihasilkan dibandingkan dengan dengan pengaplikasian AMF saja (Ossler *et al.*, 2015).

Respons yang diberikan atau dampak yang dihasilkan pada simbiosis tripartite bergantung pada kompatibilitas dan kerentanan hubungan antar spesies yang terlibat. Bisa jadi simbiosis tripartite yang terbentuk bersifat netral negative

maupun positif. Sehingga sangat penting untuk mengetahui kompatibilitas dan peranan masing-masing organisme dalam symbiosis tripartite sebelum melakukan asosiasi dan penerapan pada bidang agrikultur.

Analisis dan evaluasi multifaktorial dari fungsi setiap keragaman dari symbiosis tripartit dapat memberikan dasar teoretis untuk mengoptimalkan aplikasi pupuk hayati pilihan untuk produksi tanaman budidaya. Variasi dari efisiensi penambatan nitrogen secara biologis dan kolonisasi fungi menunjukkan bahwa kompatibilitas dari organisme yang terlibat dalam symbiosis tripartit bergantung pada genotip masing-masing spesies. Variabilitas dari intra dan interspesies memberikan dampak kepada beberapa kemungkinan pasangan dalam pembentukan symbiosis namun hasil akhir yang sesungguhnya dari kolonisasi pada symbiosis tripartite dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Takacs dan koleganya dalam artikel yang dipublikasi tahun 2018. Takacs melakukan perbandingan efektivitas simbiotik dua dengan simbiotik tripartite pada tanaman kedelai (*Glycine max* L. Merr.) dengan kultivar yang diinokulasikan dengan *Bradyrhizobium japonicum* dan AM Fungi. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa symbiosis tripartite secara signifikan memberikan dampak yang positif dan lebih besar dampaknya dibandingkan dengan symbiosis tunggal maupun symbiosis dual. Symbiosis tripartite antara tanaman kedelai, *Bradyrhizobium japonicum* dan AM Fungi memberikan dampak bahwa biomassa tanaman menjadi lebih besar dan tanaman menjadi lebih tahan terhadap stress lingkungan seperti cekaman kekeringan dan cekaman lingkungan yang rendah unsur hara. Dari penelitian tersebut juga diketahui bahwa kadar unsur hara pada tanaman yang telah diaplikasikan dengan symbiosis tripartite dapat meningkatkan

kadar unsur hara tanah seperti penambahan nitrogen dan jangkauan penyerapan air yang lebih luas. Sehingga berdampak pada peningkatan produksi hasil tanaman budidaya (Takacs et al. 2018).

H. Bioremediasi dan Tanaman Bioremediator Lahan Bekas Tambang Batu Bara

Bioremediasi merupakan metode yang dapat dilakukan untuk membersihkan lingkungan yang terkontaminasi hidrokarbon (Varjani, 2017). Bioremediasi merupakan metode remediasi yang ramah lingkungan untuk menghilangkan hidrokarbon minyak bumi karena tidak memerlukan intervensi bahan kimia dan mekanik yang dapat mengganggu struktur tanah (Truskewycz et al., 2019). Bioremediasi adalah proses yang melibatkan mikroorganisme atau enzim mikroorganisme untuk menghilangkan senyawa kontaminan dari wilayah yang mengalami pencemaran (Arellano et al, 2015; FiriAppah et al, 2014), dengan mikroorganisme utama yang berperan dari kelompok jamur dan bakteri (Kang, 2016). Mikroorganisme selama proses bioremediasi memiliki kemampuan bertahan hidup di lingkungan tercemar (Hidayat, 2015) dan memiliki enzim yang mendegradasi senyawa tersebut (Choudhary, 2017). Berbagai jenis mikroorganisme dapat digunakan untuk proses bioremediasi misalnya logam berat yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* (Kumar et al, 2011; Anahid et al, 2011; Igiri et al, 2018; Kulshreshtha et al, 2014). Penggunaan berbagai bakteri lebih efektif dalam melakukan bioremediasi dibandingkan dengan hanya menggunakan satu jenis bakteri. Beberapa faktor yang mempengaruhi dan membatasi efisiensi bioremediasi yaitu suhu, pH, potensial redoks, ketersediaan unsur hara, kelembaban, dan komposisi kimia (Ojewumia et al, 2018).

Remediasi pada wilayah tercemar dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa bentuk pendekatan atau solusi pemecahan masalah, salah satunya yaitu dengan menggunakan tanaman yang disebut dengan teknologi fitoremediasi. Fitoremediasi dapat diartikan sebagai proses pengubahan suatu zat atau senyawa polutan atau penyebab pencemaran yang memiliki rantai molekul kompleks menjadi molekul sederhana dan tidak berbahaya, sehingga dapat berguna untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman itu sendiri maupun dapat pula digunakan sebagai bahan yang memiliki nilai jual sehingga dapat berguna secara ekonomi (Irhamni *et al.*, 2018). Fitoremediasi berasal dari kata “*phyto*” yang berarti tumbuhan dan “*remediation*” yang berarti memulihkan atau membersihkan, sehingga dapat dikatakan bahwa fitoremediasi berarti sistem pada tanaman yang dapat mengubah polutan menjadi substansi yang tidak berbahaya bahkan menjadi bahan yang dapat digunakan kembali (Dwityangsing *et al.*, 2019).

Biostimulasi dan bioaugmentasi merupakan dua pendekatan utama dalam bioremediasi. Biostimulasi meliputi perbaikan nutrisi tanah khususnya N dan P, oksigenasi, pengaturan temperatur dan pH, dan penambahan surfaktan pada wilayah yang terkontaminasi untuk menstimulasi pertumbuhan dari mikroba pendegradasi senyawa hidrokarbon yang ada pada wilayah terkontaminasi dan untuk meningkatkan laju biodegradasi. Bioaugmentasi meliputi penambahan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon pada lingkungan yang terkontaminasi untuk mendukung komunitas mikroba pendegradasi yang ada secara alami di lingkungan terkontaminasi (Abed *et al.*, 2014; Hassanshahian *et al.*, 2014).

Bioremediasi melibatkan proses degradasi, eradikasi, immobilisasi, atau detoksifikasi beragam limbah kimia dan bahan berbahaya fisik yang berada di sekitar mikroorganisme. Mikroorganisme bertindak sebagai pembersih polutan yang ada di tanah, air, dan sedimen. Hal ini disebabkan karena mikroorganisme mampu menghasilkan enzim yang terlibat dalam pendegradasian senyawa polutan dan juga disebabkan karena kemampuan hidup mikroorganisme pada wilayah yang tercemar limbah seperti limbah minyak (Abatenh *et al.*, 2017).

Efisiensi bioremediasi tergantung pada banyak faktor; termasuk, sifat kimia dan konsentrasi polutan, karakteristik fisikokimia lingkungan, dan ketersediaan untuk mikroorganisme. Proses bioremediasi dengan bantuan mikroorganisme dipengaruhi oleh faktor biotik maupun abiotik. Faktor biotik mempengaruhi degradasi senyawa organik melalui persaingan antara mikroorganisme untuk sumber karbon yang terbatas, interaksi antagonis antar mikroorganisme atau pemangsaan mikroorganisme oleh protozoa dan bakteriofag. Faktor abiotik meliputi pH, suhu, kelembaban, struktur tanah, kelarutan dalam air, nutrisi, potensi redoks dan kandungan oksigen, kurangnya sumber daya manusia yang terlatih di bidang ini dan bioavailabilitas fisik-kimia dari polutan (konsentrasi kontaminan, jenis, kelarutan, struktur kimia dan toksisitas). Biodegradasi dapat terjadi pada kisaran pH yang luas; Namun, pH 6,5 hingga 8,5 umumnya optimal untuk biodegradasi di sebagian besar sistem akuatik dan terestrial. Kelembaban memengaruhi laju metabolisme kontaminan karena memengaruhi jenis dan jumlah bahan terlarut yang tersedia serta tekanan osmotik sistem terestrial dan akuatik (Madhavi dan Mohini, 2012).

Tingkat degradasi kontaminan seringkali tergantung pada konsentrasi kontaminan dan jumlah "katalis" yang ada. Dalam konteks ini, jumlah "katalis" mewakili jumlah organisme yang dapat memetabolisme kontaminan serta jumlah enzim yang diproduksi oleh masing-masing sel. Ekspresi enzim spesifik oleh sel dapat meningkatkan atau menurunkan laju degradasi kontaminan (Abatenh *et al.*, 2017).

Takacs *et al.*, (2018) melaporkan bahwa pemanfaatan simbiosis tripartite dengan menggunakan inokulasi bakteri seperti rhizobium, jamur mikoriza, dan tanaman seperti tanaman kacang kedelai lebih efektif dalam proses bioremediasi pada tanah tercemar dibandingkan dengan bioremediasi yang hanya memanfaatkan peran satu jenis mikroorganisme saja. Selain itu bioremediasi dengan multisimbiosis antara bakteri, mikoriza, dan tanaman juga dapat meningkatkan produksi tanaman, laju fotosintesis, dan dapat meningkatkan aktivitas akar dalam proses penyerapan unsur hara tanah sehingga dapat berdampak pada peningkatan pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

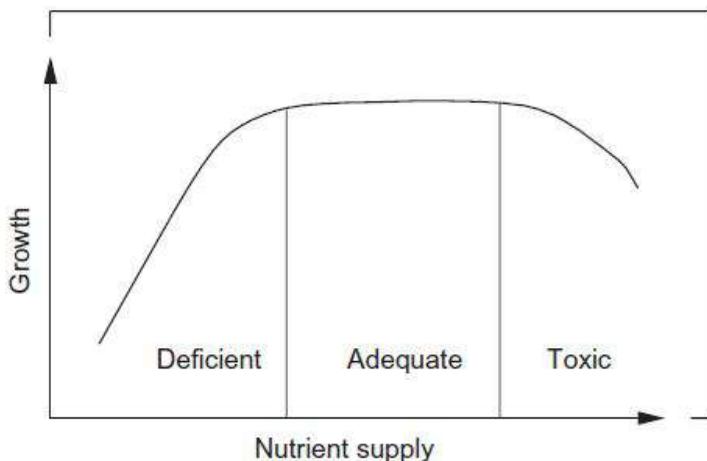
Effendi dan Aminati (2019) menyatakan bahwa penggunaan senyawa oksidan kimia ke dalam proses bioremediasi dengan mikroorganisme dapat meningkatkan laju degradasi hidrokarbon pada tanah tercemar minyak. Senyawa oksidan yang dapat digunakan yaitu fotokatalistik TiO₂ di bawah radiasi sinar matahari. Penambahan fotokatalistik lebih efektif dari pada hanya menggunakan mikroorganisme semata. Namun, peningkatan laju degradasi tidak selalu sebanding dengan peningkatan konsentrasi TiO₂. Proses degradasi dipengaruhi juga oleh aktivitas mikroba asli (*indigenous*) dan energi yang berasal dari sinar UV tetapi tidak dipengaruhi secara signifikan oleh intensitas UV.

Pada proses fitoremediasi menggunakan tanaman yang memiliki kemampuan untuk mengakumulasi logam dalam konsentrasi yang tinggi atau dalam artian lain jenis tanaman tersebut bersifat hiperakumulator. Tanaman hiperakumulator memiliki karakteristik yang berbeda dengan tanaman pada umumnya. Dalam hal pengakumulasian logam, pada umumnya tanaman hanya mampu mengakumulasi logam dalam konsentrasi yang sangat kecil yaitu setara dengan 0,001%, akan tetapi pada tumbuhan hiperakumulator mampu mengakumulasi logam hingga 11% dari berat kering tanaman (Irhamni *et all.*, 2018). Walaupun berada pada lingkungan dengan konsentrasi logam yang tinggi, namun tanaman hiperakumulator tidak mengalami gejala-gejala toksisitas atau keracunan. Hal ini disebabkan karena pada tanaman hiperakumulator memiliki karakteristik yang memungkinkan tanaman tersebut untuk bertahan hidup walau di lingkungan dengan kadar logam tinggi. Karakteristik tanaman hiperakumulator yaitu memiliki ketahanan terhadap logam dengan kadar yang tinggi, tingginya tingkat laju absorbs atau penyerapan logam dibandingkan dengan tanaman pada umumnya, selain itu tanaman hiperakumulator memiliki kemampuan akumulasi, translokasi dan serapan logam yang memadai, toleransi terhadap genangan air dan kondisi kekeringan ekstrim, toleransi terhadap pH dan salinitas tinggi, serta memiliki karakteristik akar dan kedalaman zona akar yang sesuai dengan kondisi lingkungan. Hal sebaliknya yang terjadi pada tanaman non-hiperakumulator yang akan mengalami gejala toksisitas atau keracunan berupa pertumbuhan yang terhambat pada bagian akar, penurunan laju fotosintesis karena adanya penurunan konsentrasi klorofil b, dan penurunan area daun.

Tanaman hiperakumulator memiliki kemampuan dalam hal mempercepat pelarutan logam pada sistem perakaran (risosfer), dimana pada kondisi tanah dengan konsentrasi logam yang tinggi akan menyerang wilayah akar terlebih dahulu sebelum ke jaringan yang lain, oleh karena kemampuannya tersebut tanaman hiperakumulator dapat tahan erhadap toksisitas logam. Kemampuan tanaman hiperakumulator dalam menyerap polutan logam didukung oleh karakteristik morfologi dan fisiologi sistem penetrasi akar yang dalam dan ekstensif sehingga dapat menahan buangan air, serta toleransi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik, seperti kadar keasaman tanah yang tinggi dan toksisitas logam. Logam yang berada di dalam tanah masuk ke dalam tanaman melalui akar dengan cara difusi aktif atau melalui transporter non-spesifik pada konsentrasi logam yang tinggi.

I. Pertumbuhan dan Produksi Tanaman

Kurva respons pertumbuhan menunjukkan hubungan antara pertumbuhan (produksi bahan kering) dan pasokan nutrisi memiliki tiga wilayah yang jelas (Gambar 2.1) yang meliputi (1) pertumbuhan meningkat dengan meningkatnya suplai nutrisi (defisiensi jangkauan unsur hara); (2) pertumbuhan maksimal dan tetap, kurang lebih tidak terpengaruh oleh perubahan suplai nutrisi (unsur hara pada jangkauan yang cukup); (3) pertumbuhan menurun dengan meningkatnya nutrisi pasokan (toksisitas unsur hara).



Gambar 2.5. Hubungan antara suplai nutrisi dan pertumbuhan (Marschner, 2012).

Dalam produksi tanaman, pasokan nutrisi yang optimal pada umumnya dicapai dengan pemberian pupuk. Kesesuaian jumlah pupuk dan estimasi biaya pengaplikasian pupuk membutuhkan informasi tentang ketersediaan hara dalam tanah dan status nutrisi tanaman sehingga dapat memenuhi kebutuhan nutrisi tanaman dalam jumlah yang tepat (Marschner, 2012). Dalam hal ini, tanah merupakan salah satu komponen penting bagi tanaman karena mengandung nutrisi dan kelembaban yang diperlukan untuk pertumbuhan tanaman. Tetapi tanaman tidak dapat tumbuh normal jika terjadi kelebihan atau kekurangan unsur hara serta kelembaban yang tidak mencukupi di tanah (Lee et al. 2017).

Tingkat penyerapan nutrisi pada konsentrasi eksternal tertentu sering ditentukan oleh laju pertumbuhan tanaman yang diperkirakan mempengaruhi penyerapan nutrisi mineral tertentu melalui status nutrisi tanaman. Pada awal pertumbuhan terjadi laju pertumbuhan yang tinggi. Hal ini berkaitan dengan respons tanaman dimana pada awal pertumbuhan jaringan akar secara responsif melakukan penyerapan unsur hara tanah dan pada akhir pertumbuhan tanaman respons akar akan melambat untuk menghindari penyerapan unsur hara secara berlebihan.

Nitrogen dan fosfor merupakan penentu penting pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Pengaplikasian nitrogen dan fosfor berpengaruh secara signifikan terhadap tinggi tanaman, diameter akar, kandungan klorofil, dan morfologi akar. Untuk dapat mengevaluasi efek dari pasokan nutrisi terhadap tanaman maka dapat digunakan parameter berupa pertumbuhan tanaman dan morfologi akar (Razaq et al. 2017).

J. Bentuk Ketersediaan Unsur Hara bagi Tumbuhan

Pada prinsipnya unsur hara dapat masuk ke tubuh tanaman melalui penyerapan akar jika berada dalam kondisi bentuk “tersedia” bagi tanaman (available). Bentuk ketersediaan unsur hara bagi tumbuhan dapat dilihat pada Tabel 2.1. Metode langsung yang dapat dilakukan untuk menentukan ketersediaan nutrisi dalam tanah yaitu dengan mengukur respon pertumbuhan tanaman dengan cara uji coba pemupukan petak lahan.

Tabel 2.5. Bentuk ketersediaan unsur hara bagi tumbuhan

Elemen / Unsur	Bentuk yang diserap	Persentasi dalam berat kering jaringan
Oksigen	CO_2, O_2, H_2O	45.0
Carbon	CO_2	45.0
Hidrogen	H_2O	6.0
Kalium	K^+	1.0
Nitrogen	NO_3^-, NH_4^+	1.5
Kalsium	Ca^{2+}	0.50
Magnesium	Mg^{2+}	0.20
Fosphor	$H_2PO_4^-, HPO_4^-, PO_4^{2-}$	0.20
Sulfur	SO_4^{2-}	0.10
Khlor	Cl^-	0.010
Boron	H_3BO_4	0.0020
Besi	Fe^{3+}, Fe^{2+}	0.0100
Mangan	Mn^{2+}	0.0050
Seng	Zn^{2+}	0.0020
Tembaga	Cu^+	0.0006
Molibdenum	MoO_4^{2-}	0.00001

Pengujian tanah untuk menentukan ketersediaan unsur hara tumbuhan telah dipraktekkan di bidang pertanian dan hortikultura selama bertahun-tahun dengan keberhasilan yang bersifat relatif tinggi. Keefektifan prosedur terkait erat dengan (i) sejauh mana data dapat dikalibrasi dengan uji coba pupuk di lapangan, dan (ii) interpretasi analisis data yang diperoleh.

Pengujian tanah menggunakan berbagai metode ekstraksi konvensional yang melibatkan berbagai bentuk seperti lauran asam, garam, serta air. Tergantung metodenya digunakan, jumlah nutrisi tanaman yang sangat berbeda mungkin diekstraksi dari tanah tertentu. Dalam hal ini analisis tanah memiliki peran penting dalam memberikan indikasi kapasitas tanah untuk memasok nutrisi ke tanaman, namun sayangnya metode analisis tanah ini belum cukup (dan dalam

beberapa kasus tidak sama sekali) untuk menjelaskan mobilitas unsur hara dalam tanah.

Ketersediaan unsur hara esensial tanaman sangat berkorelasi dengan fungsi pH. Ketersediaan unsur hara bagi tanaman bergantung pada kondisi pH diferensial. Unsur hara makro seperti nitrogen, kalsium, kalium, magnesium, dan belerang, dengan pengecualian fosfor, berada pada bentuk yang tersedia pada pH dengan kisaran kisaran 6,5-8. Sedangkan mikronutrien berada dalam bentuk yang tersedia dalam kisaran pH sedikit asam yaitu antara 5-7. Kisaran pH tersebut merupakan kisaran optimal di mana unsur hara berupa bentuk yang tersedia untuk tanaman dalam jumlah yang menguntungkan. Ketersediaan menjadiberkurang atau menurun apabila berada di luar kisaran pH tersebut. Ketika pH meningkat dan mendekati 8, kation terikat kuat ke tanah dan tidak mudah ditukar. Karena itu, ketersediaan mikronutrien, selain molibdenum, menurun dalam kondisi basa. Lebih lanjut, unsur hara Fe, Cu, Mn, Zn dan Ni terikat erat pada pH basa dan karenanya lebih mudah tersedia dalam tingkat pH yang lebih rendah. Hal ini dapat menyebabkan gejala keracunan pada tanaman di tanah masam (Jackson and Meetei, 2018).

K. Kebutuhan Hara untuk Pertumbuhan dan Perkembangan Tumbuhan

Agar tanaman mampu tumbuh dengan baik memerlukan salah satu faktor yaitu unsur hara. Hara yang dibutuhkan untuk keperluan pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan meliputi unsur makronutrien dan mikronutrien. Unsur makronutrien diperlukan tumbuhan dalam jumlah yang relative banyak sementara unsur hara mikronutrien diperlukan dalam jumlah yang relatif sedikit. Termasuk juga

unsur hara unsur yang tergolong dalam unsur hara tambahan yang sifatnya fakultatif pada beberapa tanaman. Berikut ini akan diuraikan tentang unsur hara makronutrien dan mikronutrien dalam hal peran fungsi dan defisiensinya bagi tanaman.

1) Nitrogen (N)

Nitrogen merupakan unsur yang paling melimpah di atmosfer yaitu sekitar 80% penyusun atmosfer. Nitrogen yang berada di atmosfer ditemukan dalam fase gas dimana tidak semua organisme dapat memanfaatkan gas nitrogen tersebut secara langsung. Dalam hal ini organisme yang dapat memanfaatkan gas nitrogen secara langsung yaitu hanya beberapa bakteri dan cyanobacteria (Bhatla dan Lal, 2018). Bakteri tanah yang dapat mengambil nitrogen dari udara dapat membantu menyediakan nitrogen tanah yang dapat diserap oleh tumbuhan (Russo, 2017). Beberapa jenis tumbuhan dapat melakukan fiksasi nitrogen dengan bersimbiosis dengan mikroorganisme seperti Rhizobium. Rhizobium dapat bersimbiosis dengan akar tumbuhan Legum dan membentuk nodul akar (Bhatla dan Lal, 2018).

Nitrat dan ammonium merupakan dua sumber nitrogen pada tumbuhan Non-legum. Pada umumnya nitrogen diserap oleh tumbuhan dalam bentuk derivat nitrogen yaitu nitrat (NO_3^-) yang mana nitrat tersebut kemudian dikonversi menjadi nitrit oleh enzim nitrat reduktase di sitosol. Dalam pengubahan nitrat menjadi nitrit, enzim nitrat reduktase diaktivasi oleh Molibdenum. Kemudian Nitrit ditransport menuju plastida dan kemudian dikonversi menjadi Hydroxilamine (NH_2OH) oleh enzim nitrit reduktase. Pada tahap terakhir Hydroxilamine (NH_2OH) dikonversi menjadi

ammonium (NH_4^+) oleh enzim Hydroxyl aminreductase yang diaktivasi oleh keberadaan unsur Mangan (Mn) (Duca, 2015).

Secara umum peranan nitrogen dapat dirinci sebagai berikut (Duca, 2015): sebagai penyusun asam amino dan protein; bagian dari vitamin dan senyawa aktif lainnya; penyusun asam nukleat seperti DNA dan RNA; merupakan komponen ATP; dan penyusun molekul klorofil yang berperan dalam penyerapan cahaya pada proses fotosintesis.

Nitrogen memiliki peranan penting bagi kelangsungan hidup tumbuhan. Walaupun demikian kadar nitrogen yang dapat berdampak positif adalah kadar nitrogen yang optimal. Kekurangan atau kelebihan nitrogen dapat berdampak negatif bagi tumbuhan. Ketersediaan N tanah yang rendah atau penurunan kapasitas serapan akar akan berdampak negatif pada produktivitas tumbuhan dan daya saing ekologis. Tumbuhan kekurangan nitrogen secara tipikal kerdil, dan daun sempit. Klorosis yang disebabkan oleh defisiensi N dimulai pada daun yang lebih tua karena tumbuhan yang kekurangan N tampak hijau pucat bahkan kuning (Russo, 2017).

Gejala klorosis nampak lebih cepat pada daun yang tua dan gejala nekrosis nampak lebih cepat pada daun muda. Pada defisiensi nitrogen ekstrim, daun seutuhnya berwarna kuning dan kemudian gugur. Defisiensi nitrogen mengakibatkan pertumbuhan yang lambat pada tanaman karena proses pembelahan sel yang terhambat dan tunas lateral yang mengalami dormansi. Klorosis dan penampakan ungu pada petiole dan wilayah bawah daun juga disebabkan oleh defisiensi nitrogen (Bhatla dan Lal, 2018).

Selain defisiensi nitrogen, konsentrasi nitrogen yang berlebih juga memiliki dampak negatif bagi tumbuhan. Pada tumbuhan yang tumbuh pada kondisi kelebihan nitrogen memiliki daun yang berwarna hijau gelap dan struktur daun yang kaku. Pada kondisi kelebihan nitrogen, pertumbuhan dan perkembangan tanaman lebih difokuskan pada wilayah pucuk

(*shoot*) dibandingkan dengan wilayah akar. Kentang yang tumbuh di tanah yang kelebihan nitrogen memiliki jumlah daun yang banyak namun menghasilkan umbi yang kecil. Pada kondisi kelebihan nitrogen tanaman menjadi rentan terhadap penyakit, serangan serangga, dan kekeringan. Selain itu pada kondisi toksisitas nitrogen, pembentukan bunga dan buah juga terhambat (Bhatla dan Lal, 2018).

Tumbuhan telah mengembangkan strategi *multifaset* untuk menanggapi variasi ketersediaan N di tanah, yaitu adaptasi metabolik, fisiologis, dan perkembangan, yang sebagian bergantung pada perubahan ekspresi gen. Ekspresi banyak gen berubah dalam beberapa menit sebagai respons terhadap konsentrasi nitrat (Wang *et al.* 2000).

2) Fosfor (P)

Fosfor merupakan unsur hara esensial kedua setelah nitrogen. Fosfor dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Irfan *et al.*, 2019). Fosfor berperan penting dalam metabolisme karbon, sintesis membran, aktivasi enzim, dan fiksasi nitrogen. Selain itu fosfor merupakan penyusun asam nukleat dan fosfolipid (Marschner, 2012).

Makronutrien seperti fosfor dan nitrogen dibutuhkan tumbuhan dalam jumlah yang besar. Sama halnya dengan nitrogen, fosfor juga memiliki peranan dalam sintesis DNA dan RNA dan molekul penyusun nukleotida lainnya. Fosfor dalam bentuk ATP, ADP, P_{Pi}, NADPH, dan gula nukleotida menyediakan energi yang dibutuhkan oleh tumbuhan untuk melangsungkan metabolisme baik anabolisme maupun katabolisme (Heuer *et al.*, 2017).

Fosfor ditemukan pada konsentrasi ~0.1 sampai 1% dari berat kering jaringan tumbuhan. Bersamaan dengan unsur hara nitrogen (N) dan kalium (K), Fosfor merupakan 3 unsur hara yang melimpah di tumbuhan (Marschner, 2012). Tumbuhan memperoleh unsur fosfor dalam bentuk fosfor anorganik (Pi) yang dalam larutan air berada dalam bentuk anion H_3PO_4 , $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} dan PO_4^{3-} . Pada kondisi pH fisiologi (5-6), di mana asupan Pi maksimum oleh akar tercapai, Ion $H_2PO_4^-$ dan sebagian kecil HPO_4^{2-} , merupakan bentuk Pi yang paling melimpah. Sehingga anion ini ($H_2PO_4^-$ dan HPO_4^{2-}) merupakan bentuk utama di mana Pi diserap oleh tanaman (Hernández dan Munné-Bosch, 2015).

Pada jaringan tumbuhan, fosfor ditemukan dalam bentuk organik yaitu protein, nukleotida, vitamin dan senyawa lainnya serta ditemukan juga dalam bentuk anorganik seperti asam orthofosforik. Kelompok fosfat menentukan kehidrofilik-an dari fosfolipid dimana bagian kepala fosfolipid yang tersusun atas fosfat bersifat hidrofilik dan bagian lemak fosfolipid bersifat hidrofobik. Kondisi yang demikian menyebabkan adanya stabilitas membran dimana orientasi kepala fosfolipid yang tersusun dari kelompok fosfat menghadap ke luar sedangkan kelompok lipofilik tetap stabil berada di dalam lipid bilayer (Duca, 2015).

Fosfor merupakan unsur yang penting dalam penyusunan jaringan tumbuhan seperti asam nukleat, fosfolipid, dan fitin. Pada tumbuhan, P digunakan untuk pembentukan primordia bunga dan organ tumbuhan yang diperlukan untuk reproduksi. Selain sebagai penyusun jaringan tumbuhan, fosfor juga membantu dalam mempercepat proses pemasakan buah pada tumbuhan berbiji, khususnya pada tumbuhan sereal. Walaupun unsur P memiliki peranan yang penting bagi tumbuhan namun kadar P yang berlebihan pada tumbuhan akan dapat berdampak negatif bagi tumbuhan. Kadar P yang berlebihan dapat menurunkan umur tumbuhan sehingga umur tumbuhan yang

kelebihan P akan lebih pendek dibandingkan dengan tumbuhan yang normal. Hal ini disebabkan karena kelebihan unsur P akan memicu toksisitas pada tumbuhan.

Selain efek negatif yang ditimbulkan oleh kelebihan fosfor, kekurangan (defisiensi) fosfor juga memiliki dampak negatif. Defisiensi fosfor memiliki dampak negatif bagi proses vital yang terjadi pada tumbuhan seperti fotosintesis, respirasi, pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Gejala yang timbul pada defisiensi fosfor yaitu perubahan warna daun dari hijau menjadi biru kehijauan dengan bayangan ungu dan emas, yang merupakan hasil dari terhambatnya sintesis protein dan akumulasi karbohidrat. Selain itu pada defisiensi fosfor daun menjadi lebih kecil dan lebih tipis. Selama defisiensi fosfor, terjadi penurunan kecepatan penyerapan oksigen dan penghambatan dalam pembentukan energi dalam respirasi (Duca, 2015).

3) Kalium (K)

Kalium diserap oleh tumbuhan dengan jumlah yang besar dalam bentuk larutan garam anorganik. Konsentrasi kalium di sitoplasma bervariasi dari 80 mM hingga 200 mM. Konsentrasi kalium tersebut bervariasi dalam kompartemen subseluler. Fluktuasi kadar kalium ini diatur oleh akumulasi di dalam vakuola sel tanaman. Dalam hal ini vakuolar kalium dapat ditukar dengan natrium untuk mempertahankan konsentrasi kalium dalam sitosol (Bhatla dan Lal, 2018).

Kalium merupakan unsur hara esensial yang dibutuhkan tumbuhan untuk pertumbuhan dan proses fisiologis. Kalium memiliki fungsi regulasi pada beberapa proses biokimia yang berhubungan dengan sintesis protein, metabolisme karbohidrat, dan aktivasi enzim (Wang *et al.*, 2013). Beberapa

proses fisiologis tumbuhan bergantung pada keberadaan kalium (K) seperti regulasi membuka menutupnya stomata dan fotosintesis. Selain itu kalium memiliki peranan dalam toleransi tumbuhan terhadap cekaman abotik. Pada cekaman garam, K membantu menjaga homeostasis ion dan meregulasi keseimbangan osmosis. Pada kondisi cekaman air (kekeringan), K meregulasi stomata sehingga dapat mengurangi transpirasi air. (Hasanuzzaman *et al.*, 2018).

Pada kondisi cekaman salinitas, efek osmosis dan ion toksisitas menghambat pertumbuhan akar tumbuhan yang berdampak pada penurunan penyerapan unsur hara (Wang *et al.*, 2013). Salinitas memicu depolarisasi membran yang menyebabkan keluarnya ion K^+ melalui protein *channel* K^+ . Mempertahankan konsentrasi K seluler di atas ambang tertentu dan mempertahankan rasio Na^+/K^+ agar tetap rendah penting untuk pertumbuhan tanaman dan toleransi terhadap cekaman salinitas. Dengan demikian aplikasi K meningkatkan konsentrasi K^+ di sel tumbuhan dan menurunkan konsentrasi Na^+ yang berdampak pada peningkatan toleransi tumbuhan terhadap salinitas (Su *et al.*, 2015).

Kalium juga memiliki peranan dalam menurunkan aktivitas oksidasi NADPH dan mempertahankan aktivitas transpor elektron fotosintesis, yang membantu mengurangi ROS (*Reactive Oxygen Species*). Selain itu Kalium memicu aktivasi enzim ATP sintase yang terlibat dalam pembentukan ATP pada transport elektron (Duca, 2015). Di sisi lain kalium juga memiliki peranan penting dalam aktivasi kerja enzim, setidaknya ada sekitar 60 enzim tumbuhan yang membutuhkan K sebagai kofaktor untuk aktivasi enzim (Hawkesford *et al.*, 2012).

Ion K^+ merupakan ion yang bersifat mobil dan dapat menyeimbangkan muatan anion dalam tumbuhan. Pompa ion K^+ dan Na^+ memfasilitasi transport aktif pada tumbuhan. Dalam hal transportasi, K^+ mengatur membuka menutupnya stomata dengan meregulasi aktivitas pompa ion kalium. Dengan adanya regulasi stomata oleh ion K^+ maka dapat mengurangi kadar air yang hilang dari tumbuhan dan meningkatkan toleransi pada cekaman air dan mempertahankan turgiditas sel. Sintesis pati dan protein juga dipengaruhi oleh ion kalium (Bhatla dan Lal, 2018). Pada garis besarnya, fungsi kalium antara lain adalah sebagai berikut: transport karbohidrat dan sintesis karbohidrat, sebagai katalisator dalam sintesis protein, mengatur kegiatan berbagai unsur mineral, menetralkan reaksi dalam sel terutama dari asam organik, menaikkan pertumbuhan jaringan meristem, mengatur pergerakan stomata, memperkuat tegaknya batang (karena turgor) sehingga tumbuhan tidak mudah roboh, mengaktifkan enzim baik langsung maupun tidak langsung, meningkatkan kadar karbohidrat dan gula dalam buah, biji tumbuhan menjadi lebih berisi dan padat, dan meningkatkan perkembangan akar.

Defisiensi kalium dapat mengurangi laju fiksasi CO_2 dalam proses fotosintesis. Hal ini disebabkan karena adanya penghambatan pembukaan stomata akibat defisiensi K. Selain itu pada kondisi defisiensi K, klorofil mengalami degradasi yang berdampak pada pengurangan laju fotosintesis (Waraich *et al.*, 2012). Gejala yang ditimbulkan pada defisiensi K yaitu berupa peningkatan sensitivitas terhadap cahaya, klorosis, dan adanya nekrosis (Hasanuzzaman *et al.*, 2018). Defisiensi K pada tumbuhan dapat menyebabkan disfungsi dari sejumlah proses fisiologis dan biokimia, seperti keseimbangan air, aktivitas enzim, dan menurunnya toleransi tumbuhan terhadap cekaman biotik maupun abiotik (Tu *et al.*, 2017).

Defisiensi K^+ mengakibatkan nekrosis dan klorosis interveinal dan mengarah pada pembentukan ruas pendek dan ujung daun yang nampak seperti terbakar. Defisiensi kalium juga menunjukkan hilangnya dominasi apikal dan aktivitas kambial. Di sisi lain defisiensi K juga meningkatkan risiko serangan patogen, layu, klorosis, dan bercak coklat pada daun. Pada sebagian besar monokotil, sel-sel yang terletak pada ujung dan tepi daun akan mengalami nekrosis terlebih dahulu pada kondisi defisiensi K, yang kemudian nekrosis diikuti secara basipetal sepanjang tepi menuju bagian daun yang lebih muda dan lebih rendah (Bhatla dan Lal, 2018).

4) Kalsium (Ca)

Kalsium merupakan unsur hara yang melimpah di tanah. Kalsium memiliki peran multifungsi bagi tumbuhan yaitu sebagai penyusun dinding sel, sebagai *second messenger* pada transduksi sinyal, dan aktivator enzim. Secara umum, kalsium tersedia secara langsung bagi sebagian besar tumbuhan dalam rentang pH yang luas (Shabala, 2017).

Kalsium diserap oleh tumbuhan dalam bentuk kation divalent (Ca^{2+}). Ca^{2+} tidak dapat menembus membran fosfolipid bilayer secara difusi, sehingga Ca^{2+} masuk ke dalam sel melalui *channel* atau pompa Ca^{2+} . Jalur yang biasa ditembus oleh Ca^{2+} yaitu jalur apoplas dengan melewati bagian dinding sel akar (Gambar 4.1). Kalsium masuk ke dalam xylem akar melalui wilayah apikal ujung akar dimana endodermis belum terdiferensiasi. Hal ini disebabkan karena pita kaspari yang ada pada endodermis menghambat difusi kalsium.

Pada kondisi tanah asam maupun alkalin, Ca^{2+} bebas berada dalam konsentrasi yang rendah. Pada pH asam, terjadi defisiensi Ca karena adanya penurunan pengangkutan kation polivalen seperti Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , dan Mn^{2+} pada apoplasma

dari sel-sel kortikal akar. Selain itu, dengan penurunan pH (asam) menyebabkan adanya penghambatan penyerapan kation (meliputi Ca^{2+}) oleh akar tumbuhan karena adanya ekstrusi H^+ oleh membran plasma yang membentuk H^+ -ATPase (Marschner, 2012).

Pada sel-sel tumbuhan, kalsium ditemukan pada vakuola sentral, retikulum endoplasma, dan mitokondria. Kalsium juga ditemukan dalam bentuk kalsium pektat (*calcium pectate*) yang berikatan dengan dinding sel. Semua organisme mempertahankan konsentrasi yang rendah dari Ca^{2+} bebas di sitosol (~100–200 nM) untuk mencegah pembentukan garam kalsium fosfat yang tidak larut. Pada vakuola dari beberapa tanaman, kalsium diendapkan sebagai kristal kalsium oksalat yang tidak larut dan pada beberapa spesies sebagai fosfat, sulfat, atau karbonat yang tidak larut (Bhatla dan Lal, 2018). Kondisi yang menghambat pengambilan atau penyerapan kalsium tanah melalui akar yaitu kondisi salinitas tinggi, kelebihan atau kekurangan kelembapan, penyakit akar yang disebabkan oleh infeksi pathogen, suhu tinggi, dan rendahnya konsentrasi kalsium di tanah, dapat menyebabkan munculnya gejala defisiensi kalsium pada tumbuhan (Saure 2014).

Gejala defisiensi kalsium pertama kali nampak pada daun yang masih muda. Jaringan meristem akar, batang, dan daun sangat cepat terpengaruh oleh defisiensi kalsium karena pada jaringan meristem kalsium dibutuhkan untuk membentuk lamela tengah pada pembelahan sel. Defisiensi kalsium menyebabkan pembentukan jaringan yang bengkok dan cacat serta adanya penghambatan pertumbuhan, yang menyebabkan kematian yang cepat dari jaringan meristematik terutama meristem akar (Thor, 2019). Gejala defisiensi kalsium paling banyak terlihat pada jaringan muda dan buah karena rendahnya pengangkutan kalsium dari jaringan dewasa ke jaringan muda melalui floem. Hal ini menyebabkan

ketergantungan yang kuat pada pasokan kalsium melalui xilem. Pada kondisi defisiensi kalsium, timbul gejala *tipburn* atau penampakan terbakar pada ujung daun selada dan pembusukan pada ujung bunga pada tanaman tomat (Bhatla dan Lal, 2018).

5) Magnesium (Mg)

Ion Magnesium (Mg^{2+}) merupakan kation yang melimpah pada sel-sel tumbuhan dan terlibat dalam berbagai proses fisiologis seperti fotosintesis, katalisis enzim, dan sintesis asam nukleat (Tanoi dan Kobayashi, 2015). Selain itu, Mg juga berperan penting dalam stabilisasi dari konformasi makromolekul seperti asam nukleat, protein, membran dan dinding sel (Marschner, 2012). Mg juga terlibat dalam aktivitas enzim seperti H^+ -ATPase, kinase dan polimerase (Hermans *et al.*, 2013), serta terlibat dalam homeostasis *Reactive Oxygen Species* (ROS) di bawah cekaman Al (Bose *et al.*, 2013). Mg juga merupakan regulator keseimbangan kation-anion di sel dan merupakan regulator turgor sel bersama dengan K (Marschner, 2012).

Mg merupakan unsur yang penting dalam fotosintesis tumbuhan, dimana Mg merupakan unsur penyusun klorofil (Gambar 4.2) yang berperan dalam penyerapan cahaya pada reaksi terang fotosintesis. Selain sebagai penyusun klorofil, Mg juga terlibat sebagai kofaktor dari berbagai enzim yang terlibat dalam fiksasi karbon fotosintesis (Hermans, 2013).

Mg merupakan unsur penyusun kerak bumi dengan persentase 2%. Namun sebagian besar Mg yang ada di tanah (90-98%) tergabung dalam struktur kristal mineral sehingga tidak tersedia secara langsung untuk tumbuhan. Tumbuhan menyerap Mg dari larutan tanah, yang secara perlahan didaur kembali oleh cadangan tanah. Durasi dan intensitas pelapukan, kelembaban tanah, pH tanah, dan aktivitas

mikroba akar di tanah adalah faktor kunci yang menentukan ketersediaan Mg. Di sisi lain, jumlah Mg yang dilepaskan dari mineral tanah umumnya kecil dibandingkan dengan jumlah yang dibutuhkan untuk mempertahankan hasil dan kualitas panen yang tinggi, sehingga pemupukan Mg perlu dilakukan oleh petani untuk menjaga kuantitas dan kualitas hasil panen (Senbayram *et al.*, 2015).

Magnesium merupakan unsur hara yang bersifat mobil dimana pada kondisi defisiensi, magnesium dapat bergerak dari daun yang lebih rendah ke daun yang lebih tinggi posisinya. Gejala defisiensi magnesium terlihat pada daun-daun pada posisi rendah. Gejala yang paling umum terlihat pada defisiensi magnesium yaitu klorosis daun. Pada tumbuhan pisang gejala klorosis ini terlihat pada daun yang berada pada posisi kedua dari pucuk setelah 35 hari mengalami defisiensi magnesium. Selain klorosis, gejala lain yaitu nekrosis dimana pada tumbuhan pisang nekrosis terjadi pada semua daun yang terletak di posisi tengah (Chen dan Fan, 2018).

Respon fisiologis yang muncul akibat defisiensi magnesium pada tumbuhan yaitu adanya penebaran daun yang mengarah pada pengguguran daun, penurunan kecepatan transpirasi, akumulasi gula dan amilum pada wilayah daun, perubahan dalam kondisi redoks, peningkatan stres oksidatif, perubahan metabolit, dan penurunan aktivitas fotosintesis (Tanoi dan Kobayashi, 2015).

6) Sulfur (S)

Sulfur merupakan makronutrien esensial yang berperan penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan serta proses fisiologi dan biokimia tumbuhan (Bhatla dan Lal, 2018). Sulfur diserap oleh tumbuhan dalam bentuk ion sulfat (SO_4^{2-}). Sulfur merupakan penyusun asam

amino seperti sistein dan metionin. Metionin merupakan asam amino esensial yang memiliki struktur yang unik karena tersusun atas sulfur dan kelompok metil. Metionin merupakan bagian dari penyusun enzim yang terlibat dalam berbagai metabolisme tumbuhan. Di samping itu sulfur juga merupakan penyusun dari senyawa biologis lainnya seperti koenzim A dan beberapa jenis vitamin seperti tiamin dan biotin yang berperan penting dalam berbagai reaksi enzimatik (Duca, 2015).

Sulfur dapat meningkatkan pertumbuhan akar dan produksi biji serta meningkatkan resistensi tumbuhan terhadap suhu dingin. Selain itu sulfur juga ditemukan dalam bentuk protein kompleks FeS yang berperan sebagai akseptor elektron selama proses transport elektron pada peristiwa fotosintesis. Selain itu sulfur juga dapat meningkatkan perkembangan akar dan pembentukan nodul akar tanaman legum (Bhatla dan Lal, 2018).

Sulfur yang tersedia di dalam tanah dapat berasal dari air hujan dan pelapukan batuan yang mengandung sulfur. Secara umum daur sulfur melibatkan peran mikrobia untuk mengkonversi bentuk sulfur teroksidasi dan tereduksi. Konsumsi bahan bakar fosil dan fenomena alam seperti mata air panas mengandung belerang, gunung berapi, dan air mancur panas (*geyser*) melepaskan sejumlah besar oksida sulfur ke atmosfer.

Sulfur merupakan unsur hara esensial penyusun asam amino, kofaktor, koenzim, dan senyawa metabolit sekunder. Defisiensi sulfur dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan tanaman, penurunan laju fotosintesis, dan pembentukan biji pada tanaman legume dan non-legume. Pada tanaman legume, sulfur memicu simbiosis antara akar legume dengan bakteri fiksasi nitrogen, dan defisiensi sulfur dapat mengakibatkan penurunan nodulasi akar, penghambatan simbiosis fiksasi nitrogen, memperlambat metabolisme nodul akar legume. Hal tersebut terjadi karena defisiensi sulfur menyebabkan penghambatan pada biosintesis

enzim nitrogenase, penurunan aktivitas leg-hemoglobin, ferredoxin, ATP, dan glukosa pada nodul akar legume (Becana *et al.*, 2018).

Gejala visual yang muncul pada kondisi defisiensi sulfur yaitu daun yang berubah warna menjadi kuning dan keunguan yang dapat diukur dengan pengukuran reflektansi. Namun gejala tersebut membingungkan diagnostik defisiensi hara karena gejala tersebut juga ditemukan pada kondisi defisiensi nitrogen (Etienne *et al.*, 2018). Gejala defisiensi sulfur muncul pertama kali pada jaringan muda dengan tanda daun yang menguning, pertumbuhan yang terhambat, dan akumulasi antosianin. Pada tumbuhan teh, kondisi defisiensi sulfur mengakibatkan terjadinya defoliasi dan pada tumbuhan legume dapat mengakibatkan penghambatan pembentukan nodul akar (Bhatla dan Lal, 2018).

Chandra dan Pandey (2016) melakukan penelitian dengan mengaplikasikan sulfur pada rentang 1, 2, 4, 6 and 8 meq S L⁻¹. Berdasarkan penelitian tersebut diperoleh hasil bahwa tumbuhan *Glycine max* L. yang diaplikasikan sulfur dengan kadar 4 meq S L⁻¹ menunjukkan pertumbuhan yang optimal, sedangkan pada kondisi defisiensi sulfur (1 dan 2 meq S L⁻¹) dan pada kondisi toksisitas sulfur (6 dan 8 meq S L⁻¹) menunjukkan pertumbuhan tanaman yang terhambat (kerdil) dan penurunan pada berat kering tumbuhan.

7) Besi (Fe)

Besi (Fe) dalam tanaman berkisar antara 0,02-0,08% (20–80 mg/1 kg massa kering). Besi masuk ke dalam tumbuhan dalam bentuk ion Fe²⁺. Fe³⁺ dari larutan tanah dikonversi oleh sistem redoks *plasmalemma* sel *rhizodermis* menjadi Fe²⁺ dan, dalam bentuk ini, besi memasuki tanaman (akar) (Duca, 2015).

Besi memiliki peran penting sebagai komponen enzim yang terlibat dalam transfer elektron (reaksi redoks), seperti sitokrom. Dalam peran ini, Fe teroksidasi secara terbalik dari Fe^{2+} menjadi Fe^{3+} selama transfer elektron (Taiz dan Zeiger, 2010). Selain itu besi diperlukan untuk sintesis banyak protein seperti ferredoksin dan sitokrom yang membawa elektron selama fotosintesis dan respirasi (Bhatla dan Lal, 2018).

Di samping dibutuhkan dalam sistem redoks fotosintesis dan respirasi, besi juga dibutuhkan untuk reduksi nitrat dan untuk fiksasi nitrogen oleh bakteri pada nodul akar tumbuhan. Hal ini disebabkan karena Fe merupakan bagian dari enzim nitrat reduktase dan nitrogenase. Selain itu besi juga mengkatalis fase awal dari sintesis klorofil yaitu pada pembentukan asam β -aminolevulinik dan protoporfirin (Duca, 2015). Besi juga terlibat sebagai kofaktor enzim pada tanaman dan mengaktifkan katalase dan peroksidase (Bhatla dan Lal, 2018). Peroksidase dan katalase, yang mengandung kation besi sebagai kofaktor adalah bagian dari kelompok oksidase. Peroksidase mengoksidasi substrat organik dengan mentransfer proton ke oksigen peroksida yang dihasilkan dari dekomposisi air teroksidasi.

Defisiensi besi pada tanaman sebagian besar disebabkan karena besi tidak mudah larut dalam tanah. Konsentrasi besi terlarut yang optimal untuk sebagian besar tanaman berada dalam kisaran 10^{-4} - 10^{-8} M (tanah optimal biasanya sedikit asam). Namun pada konsentrasi besi terlarut sebesar 10^{-9} M atau lebih rendah (tanah berkapur atau alkali dengan Fe yang tersedia secara biologis rendah) tidak cukup untuk pertumbuhan tanaman, dan tanaman dapat mengalami defisiensi besi (Bhatla dan Lal, 2018).

Gejala khas dari defisiensi besi (Fe) adalah klorosis. Berbeda dengan gejala defisiensi magnesium, gejala ini awalnya muncul pada daun yang lebih muda karena besi tidak mudah dimobilisasi dari daun yang lebih tua. Dalam kondisi

ekstrem atau defisiensi yang berkepanjangan, tulang juga menjadi klorosis, menyebabkan seluruh daun menjadi putih (Taiz dan Zeiger, 2010). Defisiensi besi paling umum terjadi pada anggota pohon Rosaceae, jagung, sorgum, dan buah (Bhatla dan Lal, 2018). Kondisi defisiensi pada tumbuhan dapat menurunkan laju respirasi dan fotosintesis. Zat besi dapat disimpan tidak hanya dalam sistem yang aktif secara katalitik tetapi juga dalam bentuk asosiasi dengan protein seperti ferritin.

Di sisi lain, toksisitas Fe merupakan masalah serius pada produksi tumbuhan pada tanah tergenang air. Ini adalah faktor pembatas hasil paling cepat kedua di padi sawah. Konsentrasi toksisitas kritis di atas 500 mg Fe kg⁻¹ berat kering daun, namun bergantung pada faktor lain seperti konsentrasi nutrisi lainnya (Yamauchi, 1989), toksisitas besi juga dapat terjadi pada kondisi lahan kering. Kekeringan menyebabkan kerusakan pada jaringan fotosintesis disebabkan oleh pembentukan ROS yang dikatalisis Fe dalam kloroplas (Price dan Hendry, 1991). Kerusakan toksisitas besi umumnya terkait dengan pembentukan ROS, dan oleh karena itu induksi enzim antioksidan seperti protein askorbat peroksidase dan Fe-temuan seperti feritin merupakan mekanisme pertahanan seluler yang penting terhadap kerusakan toksin besi (Briat *et al.* 2010).

8) Mangan (Mn)

Mangan terdapat dalam tanah berbentuk senyawa oksida, karbonat, dan silikat dengan nama pyrolusite (MnO₂), manganite (MnO(OH)), rhodochrosite (MnCO₃), dan rhodinite (MnSiO₃). Mn umumnya terdapat dalam batuan primer, terutama dalam bahan Ferro Magnesium. Mn dilepaskan dari batuan karena proses pelapukan batuan. Hasil

pelapukan batuan adalah mineral sekunder, terutama pyrolusite (MnO_2) dan Manganite ($MnO(OH)$). Kadar Mn dalam tanah berkisar antara 300 - 2.000 ppm. Bentuk Mn dapat berupa kation Mn^{2+} atau Mangan oksida, baik bervalensi dua maupun valensi empat. Penggenangan dan pengeringan yang berakibat pada proses reduksi dan oksidasi pada tanah berpengaruh terhadap valensi Mn.

Mangan memiliki peranan penting bagi fisiologis tumbuhan. Mangan diperlukan untuk perkembangan kloroplas dan juga untuk aktivasi berbagai enzim yang terlibat dalam fotosintesis, respirasi, dan metabolisme nitrogen. Mangan juga bertindak sebagai donor elektron untuk klorofil b dan terlibat dalam reaksi dekarboksilasi selama respirasi (Bhatla dan Lal, 2018). Dua enzim dehydrogenase yang terlibat dalam siklus Krebs pada respirasi aerob yaitu malate- dan isocitrate- dehydrogenase diaktifkan oleh ion Mn^{2+} .

Mangan juga diperlukan dalam metabolisme nitrogen sebagai bagian dari kompleks nitrat reduktase dalam reduksi nitrat. Mangan juga penting untuk pertumbuhan sel (Duca, 2015), yang meliputi: kofaktor enzim RNA-polimerase II, yang bertanggung jawab untuk sintesis mRNA; dan kofaktor auksin oksidase — suatu kompleks enzimatik yang menguraikan AIA (asam indol asetat atau auksin).

Defisiensi mangan menyebabkan klorosis interveinal dan bercak abu-abu pada daun. Selain itu juga menimbulkan kelainan warna daun, seperti bintik-bintik pada dedaunan. Berbagai penyakit, seperti "bintik abu-abu" pada tanaman gandum, "bintik coklat" pada kacang polong, dan "bintik kuning" pada bit gula, disebabkan oleh defisiensi mangan. Tidak adanya ion mangan juga menyebabkan disorganisasi membran tilakoid (Bhatla dan Lal, 2018).

Berbeda dengan kisaran konsentrasi defisiensi kritis Mn yang sempit, konsentrasi toksisitas kritis sangat bervariasi di antara spesies tumbuhan dan kondisi lingkungan. Bahkan di dalam suatu spesies, konsentrasi toksisitas kritis dapat bervariasi secara substansial di antara kultivar (Khabaz-Saberi *et al.*, 2010). Dari faktor lingkungan yang mempengaruhi konsentrasi toksisitas kritis, suhu dan keberadaan silikon sangat penting.

Pada suhu tinggi, konsentrasi Mn pada daun seringkali lebih tinggi dari pada suhu rendah atau bila dipasok dengan silikon menunjukkan toleransi jaringan yang lebih besar terhadap Mn. Dalam genotipe jagung yang toleran terhadap toksisitas Mn, silikon secara substansial meningkatkan ketebalan lapisan daun epidermal dimana kelebihan Mn disimpan (Doncheva *et al.*, 2009). Mempertahankan konsentrasi asam askorbat pada apoplas daun dapat berkontribusi terhadap toleransi toksisitas Mn pada kacang, tebu dan kultivar kacang hijau, namun bukan merupakan faktor penentu (Fetch *et al.*, 2006). Meskipun demikian, peningkatan aktivitas enzim antioksidan dan peningkatan konsentrasi antioksidan berkontribusi terhadap pengentasan ketidakstabilan stres pada banyak spesies tumbuhan (Gangwar *et al.*, 2010). Ada pandangan yang bertentangan mengenai efek intensitas cahaya tinggi pada toksisitas Mn.

9) Seng (Zn)

Seng (Zn) merupakan mikronutrien yang berperan penting dalam aktivitas sejumlah enzim seperti dehidrogenase, enolase dan lesitinase. Selain itu seng dalam bentuk ion Zn^{2+} diperlukan untuk biosintesis klorofil pada beberapa tanaman (Taiz dan Zeiger, 2010). Sumber seng dalam tanah yaitu seng oksida, seng sulfat, dan kelat seng. Ini diserap sebagai kation divalen (Zn^{2+}) dari *zinc chelate* (Bhatla dan Lal, 2018).

Zn (seng) adalah bagian dari enzim tertentu, seperti enzim karbohidrase, fosfatase, aldolase, dan karboksipeptidase. Zn memainkan peran penting dalam fotosintesis, karena Zn merupakan bagian dari enzim karbohidrase, yang terlibat dalam fiksasi CO₂. Selain itu Zn juga berperan dalam biosintesis protein, asam nukleat, vitamin tertentu, klorofil dan triptofan (Duca, 2015). Zn memiliki peran dalam pembentukan tryptophan synthase, enzim yang bertanggung jawab untuk sintesis triptofan. Triptofan adalah prekursor AIA (asam indol asetat). Dengan demikian, Zn memiliki peran tidak langsung dalam sintesis auksin (Bhatla dan Lal, 2018). Peran lain dari Zn yaitu memfasilitasi peningkatan jumlah karbohidrat yang larut dalam daun dan mengurangi intensitas respirasi (Duca, 2015). Zn memainkan peran penting sebagai komponen struktural, katalitik, dan pensinyalan yang berfungsi dalam proses fisiologis. Selain itu Zn juga merupakan komponen dari enzim carbonic anhydrase (CA) dan memiliki peranan untuk mengatur transformasi karbohidrat dan konsumsi gula (Bhatla dan Lal, 2018).

Defisiensi seng ditandai dengan reduksi pertumbuhan internodus, dan sebagai hasilnya tanaman menampilkan penampakan pertumbuhan roset di mana daun membentuk kluster melingkar. Ciri lainnya yaitu daun yang kecil dan terdistorsi, dengan pinggiran daun yang tampak keriput. Gejala-gejala ini dapat terjadi akibat hilangnya kapasitas untuk memproduksi asam indole asetat atau auksin dalam jumlah yang cukup (Taiz dan Zeiger, 2010).

Gejala defisiensi seng lainnya meliputi klorosis interveinal dan penghambatan pertumbuhan pada jagung, sorgum, kacang-kacangan, dan pohon buah-buahan (Bhatla dan Lal, 2018). Pada beberapa spesies (jagung, sorgum, kacang-kacangan), daun yang lebih tua dapat mengalami klorosis dan kemudian menunjukkan adanya bintik-bintik nekrotik putih. Klorosis ini merupakan bentuk ekspresi dari kebutuhan seng untuk biosintesis klorofil (Taiz dan Zeiger,

2010). Pada tumbuhan apel, aprikot, plum, ceri, dan anggur, defisiensi seng menyebabkan pembentukan daun kecil dengan bercak klorotik (Duca, 2015).

Toksisitas seng jarang terjadi pada tumbuhan pangan dan terutama terjadi di tanah yang terkontaminasi oleh kegiatan penambangan dan peleburan. Pada pasokan Zn yang sangat tinggi, toksisitas Zn dapat segera diinduksi pada tumbuhan yang tidak toleran dengan penghindaran pemanjangan akar menjadi parameter yang sangat sensitif (Ruano *et al.* 1988). Toksisitas Zn cukup sering menyebabkan klorosis pada daun muda. Ini mungkin merupakan defisiensi yang diinduksi, misalnya Mg atau Fe, karena radius serupa dari ion Zn^{2+} dan Fe^{2+} dan Zn^{2+} dan Mg^{2+} (Sagardoy *et al.* 2009).

Pada tumbuhan kacang, toksisitas Zn menghambat fotosintesis pada berbagai tahap dan melalui mekanisme yang berbeda. Aktivitas karboksilase RuBP yang tertekan mungkin disebabkan oleh persaingan dengan Mg. Tingginya Zn pada tumbuhan bit sangat mengurangi produksi gula pada fotosintesis dengan menghabiskan CO_2 di rubisco sebagai konsekuensi pengurangan konduktansi stomata yang parah (70%) dan konduktansi mesofil (44%) terhadap CO_2 (Sagardoy *et al.* 2009). Kelebihan Zn juga dapat menghambat aktivitas PS II dengan mengganti Mn pada membran tilakoid.

10) Tembaga (Cu)

Aktivitas Cu (tembaga) dalam kehidupan tanaman sangat penting. Unsur ini disebut sebagai unsur “pemberi kehidupan”. Tembaga diserap oleh tanaman dari partikel tanah dalam bentuk ion. Biasanya, transportasi ion Cu^{2+} terjadi ke arah pusat-pusat yang mendominasi seperti organ yang sedang dalam proses pembentukan dan biji yang sedang berkecambah (Duca, 2015). Seperti halnya unsur besi, tembaga juga

berasosiasi dengan enzim yang terlibat dalam reaksi redoks yang teroksidasi secara reversibel dari Cu^+ menjadi Cu^{2+} . Contoh dari enzim tersebut adalah plastocyanin, yang terlibat dalam transfer elektron selama reaksi terang fotosintesis (Taiz dan Zeiger, 2010).

Selain terlibat dalam transpor elektron fotosintesis, tembaga (Cu) juga terlibat dalam pembentukan zat lignin. Di samping itu Cu juga membantu dalam metabolisme akar dan membantu dalam pemanfaatan protein. Superoxide dismutase (SOD) adalah enzim yang mengandung tembaga, yang merupakan antioksidan dan berperan untuk melindungi sel dari oksidasi ROS (*reactive oxygen species*) (Bhatla dan Lal, 2018). Gejala awal defisiensi tembaga adalah produksi daun yang berwarna hijau gelap, yang mengandung bintik-bintik nekrotik. Bintik-bintik nekrotik muncul pertama di ujung daun muda dan kemudian meluas ke arah pangkal daun di sepanjang margin. Di bawah kondisi defisiensi tembaga yang ekstrem, daun mengalami absisi lebih cepat (Taiz dan Zeiger, 2010).

Secara umum gejala defisiensi tembaga (Cu) pada tumbuhan yaitu klorosis, nekrosis ujung daun, dan kulit kayu yang mengeras dan pecah-pecah, selain itu warna daun berubah menjadi hijau gelap dan menampakkan nekrosis. Pada tumbuhan jeruk yang mengalami defisiensi Cu menunjukkan daun muda yang sekarat yang biasa disebut penyakit “*dieback*”. Sedangkan pada kentang, defisiensi Cu menyebabkan menghityanya umbi (Bhatla dan Lal, 2018).

Tingkat racun Cu dapat terjadi pada kondisi alami atau karena input antropogenik. Masukan antropogenik termasuk penggunaan jangka panjang dari fungisida yang mengandung Cu. Kegiatan industri dan perkotaan (polusi udara, limbah perkotaan dan limbah lumpur). Untuk sebagian besar spesies tumbuhan, tingkat keracunan kritis Cu pada daun di atas 20 sampai 30 tahun (Robson dan Reuter, 1981).

Pasokan Cu yang tinggi menghambat pertumbuhan akar sebelum pertumbuhan tunas. Konsentrasi Cu akar meningkat secara proporsional terhadap konsentrasi Cu di media luar, sedangkan pengangkutan ke tunas masih sangat terbatas. Konsentrasi toksisitas kestabilan Cu pada tunas mungkin tidak mencerminkan fleksibilitas Cu pada tumbuhan. Bahkan pada pasokan tinggi, sampai 60% dari total Cu di akar dapat terikat pada fraksi dinding sel dan dinding membran plasma. Selain immobilisasi Cu di akar, atau reduksi serapan melalui pengikatan ekstraselular Cu oleh eksudat akar, mekanisme seluler toleransi Cu termasuk (1) mengikat dinding sel (2) membatasi masuknya melalui membran plasma (3) stimulasi eflux dari sitoplasma, termasuk melalui protein HMA (4) kompartemen Cu dengan ekspor ke vakuola (5) khelasi pada kedua membran plasma dinding sel (6) khelasi intraselular Cu dengan asam organik, glutation yang berasal dari fitokelatin dan metallothionin yang kaya sistein di sitoplasma.

11) Boron (Br)

Boron adalah anggota kelompok metalloid dari unsur-unsur yang juga mencakup silikon (Si) dan germanium (Ge). Unsur-unsur ini bersifat antara logam dan non logam, dan juga memiliki banyak fitur yang umum ditemukan pada tumbuhan. Atom boron kecil dan hanya memiliki tiga valensi. Asam borat adalah asam yang sangat lemah, dengan pKa 9.24, dan pada pH 7.5 ditemukan di sitoplasma. Lebih dari 98% B berbentuk bebas $B(OH)_3$ dan kurang dari 2% sebagai $B(OH)_4^-$. Pada nilai pH 5,5 yang ditemukan pada apoplast, <99,95% boron dalam bentuk $B(OH)_3$ dan kurang dari 0,05% dalam bentuk $B(OH)_4^-$. Asam borat dan borat dapat dengan mudah bereaksi dengan banyak jenis molekul biologis, dan dalam kondisi biologis normal tersedia molekul pengikatan B biasanya akan melebihi

konsentrasi B bebas. Asam borat membentuk ester spontan dengan senyawa mono, di, dan polihidroksi.

Boron merupakan unsur penyusun dinding sel dan merupakan bagian penting dari pektin. Boron diperlukan untuk menjaga stabilitas struktural dinding sel karena dinding primer sel yang kekurangan boron menunjukkan kelainan bentuk. Selain itu boron memainkan peran penting dalam perpanjangan buluh serbuk sari. Pada diatom, boron membentuk bagian dari dinding sel yang kaya silikon. Boron juga terlibat dalam translokasi gula dan merupakan unsur yang penting untuk perkembangan biji dan buah (Bhatla dan Lal, 2018). Boron meningkatkan kandungan karbohidrat, membantu pembungaan, meningkatkan viabilitas serbuk sari, menyerap garam secara aktif, memengaruhi penyerapan nitrogen, meningkatkan kandungan nitrogen dalam air, memfasilitasi pengangkutan fitohormon pada tanaman. Selain itu Boron juga memiliki peran penting dalam proses pembelahan dan pemanjangan sel (Duca, 2015).

Gejala defisiensi boron tidak umum terjadi. Beberapa gejala yang nampak pada defisiensi boron yaitu batang yang nampak pecah-pecah pada tanaman seledri dan bintik-bintik pada apel. Defisiensi boron menyebabkan nekrosis pada daun muda dan juga pengerdilan pertumbuhan (Bhatla dan Lal, 2018). Gejala pertama dari defisiensi boron muncul di akar dan biji yang menyebabkan degradasi meristem. Pada kacang-kacangan, defisiensi boron menyebabkan penurunan pertumbuhan akar. Kelebihan boron memiliki efek toksik, daun menjadi bengkok dan nekrosis muncul di tepinya (Duca, 2015).

Toksisitas Boron paling sering terjadi pada daerah gersang dan semi kering, pada tumbuhan yang tumbuh di tanah yang terbentuk dari bahan induk salin, atau terkait dengan penggunaan air irigasi tinggi (Nable *et al.* 1997). Gejala khas toksisitas B pada daun dewasa adalah klorosis marginal

atau tip atau keduanya, dan nekrosis. Mereka merefleksikan distribusi B pada tunas yang terkait dengan arus transpirasi. Gejala visual toksisitas B pada daun dapat terjadi pada konsentrasi B yang lebih rendah daripada yang diperlukan untuk hasil gabah, misalnya pada gandum (Kluge, 1990). Fisiologi tolok ukur toleransi B tidak dipahami dengan baik. Ada korelasi positif antara konsentrasi kritis dan konsentrasi toksisitas untuk berbagai spesies tumbuhan. Dalam banyak kasus, konsentrasi B dalam daun atau keseluruhan tunas tidak dikaitkan dengan toleransi diferensial terhadap toksisitas B tumbuhan. Dengan demikian, tingkat keparahan gejala daun terhadap toksisitas B dan penurunan pertumbuhan pada tunas dapat menjadi parameter yang lebih baik daripada konsentrasi B dalam daun untuk toleransi terhadap toksisitas B (Choi *et al.* 2006).

12) Molybdenum (Mo)

Molibdenum merupakan unsur hara yang diperlukan dalam jumlah kecil. Untuk dapat melakukan aktivitas biologis, Mo harus bergabung dengan pyranoprotein, dan membentuk kelompok prostetik bernama molibdenum kofaktor (Moco). Moco terlibat dalam menjaga aktivitas lebih dari 60 enzim (Bhatla dan Lal, 2018). Molibdenum diperlukan untuk sintesis leghemoglobin yaitu protein yang mengangkut O₂ dalam nodul akar. Sebagai logam pengaktif, molibdenum diperlukan untuk reaksi aminasi dan transaminasi, untuk merangkai asam amino dalam rantai peptida yang bertujuan untuk aktivitas enzim lainnya (Duca, 2015).

Molibdenum merupakan konstituen enzim nitrat reduktase, yang mereduksi ion nitrat (NO₃⁻) menjadi ion nitrit (NO₂⁻). Enzim lain yang digunakan oleh prokariota untuk fiksasi nitrogen yang ada di atmosfer adalah dinitrogenase, yang juga mengandung molibdenum. Molibdenum

memainkan peran penting dalam pemecahan purin dan merupakan bagian penting dari oksidasi yang mengubah aldehida asam absisat menjadi ABA. Molibdenum juga berperan dalam metabolisme sulfur selama oksidasi sulfid (SO_3^{2-}) menjadi sulfat (SO_4^{2-}) (Bhatla dan Lal, 2018).

Pada kondisi defisiensi molibdenum, sejumlah besar nitrat menumpuk di jaringan, nodul akar tidak berkembang (nodul menjadi abu-abu atau kuning), dan pertumbuhan tanaman terhambat (Duca, 2015). Defisiensi molibdenum meningkatkan banyak lipatan dalam tanah asam karena pengendapan molibdenum oleh besi hidro dan aluminium oksida. Pada tanaman legum kebutuhan molibdenum lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman lainnya. Gejala defisiensi molibdenum pada tanaman legum berupa klorosis, pertumbuhan terhambat, dan nodul akar kecil. Pada spesies dikotil lainnya, defisiensi molybdenum menyebabkan berkurangnya ukuran daun dan menguningnya daun secara drastis. Selain itu defisiensi molybdenum juga menyebabkan pembentukan daun yang sempit dan terdistorsi yang biasanya sedikit menebal, menyebabkan tepi daun melengkung ke atas, gejala yang biasa disebut "*whiptail*" (Bhatla dan Lal, 2018).

Salah satu peran penting molibdenum yaitu terlibat dalam asimilasi nitrat dan fiksasi nitrogen, defisiensi molibdenum dapat menyebabkan defisiensi nitrogen jika sumber nitrogen bagi tumbuhan bergantung pada fiksasi simbiotik nitrogen (Taiz dan Zeiger, 2010). Konsentrasi Mo yang tinggi pada biji memastikan pertumbuhan bibit yang tepat dan hasil gandum yang tinggi pada tumbuhan yang tumbuh di tanah yang rendah Mo. Oleh karena itu, pengaruh penerapan Mo terhadap tanah yang tidak sempurna pada pertumbuhan tumbuhan berhubungan negatif dengan konsentrasi benih Mo dan jumlah Mo yang diterapkan pada tumbuhan benih.

13) Chlor (Cl)

Klor ditemukan pada tanaman dalam bentuk klorida anorganik. Tanaman yang tumbuh di rawa-rawa garam dan tanah salin dapat mentolerir klorida konsentrasi tinggi (Bhatla dan Lal, 2018). Unsur klorin ditemukan dalam tumbuhan sebagai ion klorida (Cl⁻). Klor diperlukan untuk pembelahan sel baik di daun maupun di akar (Taiz dan Zeiger, 2010). Klorin memiliki peran yang sangat penting untuk fotolisis air yang mengarah ke evolusi oksigen selama fotosintesis. Klorin juga berperan untuk perkembangan akar, pembelahan sel dalam daun dan menjaga keseimbangan ion dalam sel. Klor merupakan salah satu unsur yang aktif secara osmotik di vakuola. Klor terlibat dalam pengangkutan kation, seperti potasium, kalsium, dan magnesium, menggunakan antiporter. Klor diperlukan untuk secara kimia menyeimbangkan konsentrasi ion kalium yang meningkat selama pembukaan dan penutupan stomata (Bhatla dan Lal, 2018).

Ion klorida jarang mengalami kekurangan karena kelarutannya yang tinggi dan ketersediaannya di tanah maupun dalam debu atau dalam tetesan air. Defisiensi klorin menyebabkan berkurangnya pertumbuhan, layu dan warna daun yang kecoklatan, dan pembengkakan ujung akar (Bhatla dan Lal, 2018). Defisiensi klorin mengakibatkan munculnya layu pada ujung daun yang diikuti dengan klorosis daun dan nekrosis. Daun juga menunjukkan pertumbuhan yang berkurang pada kondisi defisiensi klorin. Selain itu akar tanaman yang kekurangan klorin juga tumbuh kerdil dan menebal di dekat ujung akar (Taiz dan Zeiger, 2010).

Toksisitas khlor di seluruh dunia merupakan faktor stres umum yang membatasi pertumbuhan tumbuhan terutama di daerah gersang dan semi kering (Teakle dan tyerman, 2010). Rata-rata, konsentrasi Cl dalam larutan luar lebih dari 20 mM dapat menyebabkan toksisitas Cl pada spesies tumbuhan yang

sensitif, sedangkan pada spesies yang toleran, konsentrasi eksternal dapat empat sampai lima kali lebih tinggi tanpa mengurangi pertumbuhan. Perbedaan dalam keracunan toksisitas Cl terutama terkait dengan perbedaan sensitivitas jaringan daun terhadap konsentrasi Cl yang tinggi.

14) Nikel (Ni)

Nikel (Ni), adalah unsur ke-22 paling berlimpah di kerak bumi (Hussain *et al.*, 2013). Unsur hara nikel (Ni) dianggap sebagai mikronutrien yang penting bagi tumbuhan karena Ni bertindak sebagai aktivator enzim urease, di mana enzim urease berperan untuk menghidrolisis urea dalam jaringan tanaman (Fabiano *et al.*, 2015). Dalam fiksasi nitrogen biologis, Ni berperan sebagai komponen hidrogenase (Ni-Fe) yang mendaur ulang H₂, yang merupakan produk obligator (harus ada) untuk pengurangan N₂ (González-Guerrero *et al.*, 2014). Peran lain dari nikel (Ni) yaitu untuk mengaktifkan isoform dari glioksalase I, yang melakukan langkah penting dalam degradasi dari methylglyoxal (MG), senyawa sitotoksik kuat yang diproduksi secara alami oleh metabolisme selular (Mustafiz *et al.*, 2014; Kaur *et al.*, 2013).

Ketersediaan nikel (Ni) di tanah bervariasi sebagai fungsi pH. Tanaman membutuhkan Ni dalam jumlah kecil untuk perkembangan normal, terutama pada kacang-kacangan yang berperan dalam metabolisme nitrogen (N) (de Macedo *et al.*, 2016). Defisiensi Nikel (Ni) pada tumbuhan pertama kali dilaporkan pada tahun 1918, dengan gejala yang dikenal sebagai "telinga tikus," yang menggambarkan gangguan perkembangan ekstrem yang ditunjukkan oleh daun muda pohon kemiri (*Carya illinoensis*) (Wood *et al.*, 2004). Alibakhshi dan Khoshgoftarmansh (2015) melaporkan bahwa pada kondisi defisiensi Ni dapat mengurangi konsentrasi nitrat tanaman dengan peningkatan aktivitas nitrat reduktase (NR).

Gejala yang dapat muncul akibat defisiensi Ni yaitu nekrosis pada ujung daun. Kondisi defisiensi Ni menyebabkan gangguan pada kerja enzim urease, mengingat Ni memiliki peranan penting untuk mengaktifkan urease. Akibatnya terjadi akumulasi urea dan asam organik (oksalat dan laktat) pada tumbuhan (de Macedo *et al.*, 2016). Pada kondisi akumulasi Ni (jumlah Ni berlebih) dapat memicu adanya toksisitas. Dalam kasus toksisitas Ni, beberapa penelitian melaporkan beberapa gejala toksisitas Ni yang meliputi gangguan penyerapan hara (Charles dan Issac, 2014; Fabiano *et al.*, 2015), ketidakseimbangan nutrisi (Saad *et al.*, 2016) dan penurunan konduktansi stomata (Velikova *et al.*, 2011).

15) Natrium (Na)

Natrium (Na) atau yang disebut juga dengan sodium merupakan unsur yang melimpah dengan persentase kurang lebih 3% penyusun kerak Bumi. Lebih lanjut natrium ditemukan hampir di semua permukaan air dan bawah tanah dan jumlah natrium berlimpah di laut di mana kadar natrium dapat mencapai lebih dari 5% (w/w) (Maathuis, 2014). Natrium bukan merupakan unsur hara yang esensial bagi sebagian besar spesies tumbuhan. Unsur ini hanya esensial bagi tumbuhan halofit serta tumbuhan C₄ seperti *Atriplex* sp, dan tumbuhan C₄ lainnya. Pada spesies C₄, natrium berperan dalam proses transport khusus seperti transport piruvat menuju kloroplas oleh kotransporter Na⁺-pyruvate (Furumoto *et al.*, 2011).

Kondisi lingkungan dengan kelebihan natrium seperti pada wilayah dengan salinitas tinggi yang mengandung natrium dan klorida dan jumlah besar memiliki dampak negatif bagi tumbuhan. Cekaman salinitas yang disebabkan karena tingginya kadar Na dan Cl dapat menghambat

pertumbuhan tanaman yang berdampak pada tanaman yang pendek, serta menurunkan massa tanaman (Salachna dan Piechocki, 2016).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Zhang *et al.* (2018) mengenai pengaruh empat jenis cekaman garam sodium (Na_2CO_3 , NaHCO_3 , Na_2SO_4 , dan NaCl) pada pertumbuhan tanaman dan apparatus fotosintetik pada daun tumbuhan sorghum, diperoleh hasil bahwa 4 jenis cekaman garam sodium dengan konsentrasi $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Na}^+$ secara signifikan menghambat pertumbuhan tanaman sorghum. Selain berpengaruh negatif pada pertumbuhan tanaman, perbedaan jenis cekaman garam sodium tersebut juga secara signifikan menghambat aktivitas fotosistem II (PS II) dan fotosistem I (PS I) pada daun sorghum. Secara berurutan dampak yang berbeda secara konsisten ditunjukkan pada jenis garam sodium yang berbeda pada fungsi pertumbuhan dan fotosintesis, dari $\text{Na}_2\text{CO}_3 > \text{NaHCO}_3 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{NaCl}$. Pengaruh tersebut disebabkan karena tingginya kadar natrium (Na) dan alkalinitas.

16) Silicon (SI)

Silicon (Si) merupakan mikronutrien yang bersifat sangat tidak larut atau yang disebut dengan sifat *inert*. Karena sifat dari unsur Si yang tidak larut tersebut menyebabkan unsur ini dianggap tidak penting dan tidak memiliki peranan penting baik dalam proses kimia maupun biokimia. Kadar Si tergolong melimpah dalam tanah namun tidak berada dalam kondisi yang terlarut atau tersedia sehingga Si sering kali diabaikan dan tidak menjadi objek pengamatan Ketika dilakukan observasi pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Indonesia merupakan negara dengan iklim tropis basah dengan temperatur dan rata-rata curah hujan yang relatif tinggi. Pada kondisi tersebut tanah umumnya memiliki kejenuhan basa dan kandungan Si rendah serta mengalami akumulasi aluminium oksida. Proses ini disebut desilikasi. Silika dilepaskan dari mineral-mineral yang terlapuk, kemudian terbawa aliran air drainase atau tumbuhan yang dipanen. Potensi kehilangan Si dari tanah-anah tropika bisa mencapai 54,2 kg per ha setiap tahun atau 200 kali lebih banyak dibandingkan dengan Al yang hilang hanya 0,27 kg per ha dalam setahun (Roesmarkam dan Yuwono, 2002).

Berbeda dengan unsur hara lainnya, kehilangan Si dari tanah jarang sekali dikompensasi melalui pemupukan. Konsentrasi asam monosilikat (bentuk Si yang tersedia bagi tumbuhan) cenderung terus berkurang pada lahan pertanian yang dibudidayakan secara intensif. Degradasi kesuburan tanah akan terjadi seiring dengan penurunan kadar asam monosilikat, terutama karena dua alasan, yakni berkurangnya asam monosilikat akan diikuti dengan dekomposisi mineral Si (fenomena keseimbangan hara tanah), dekomposisi memiliki arti penting dalam mengontrol berbagai sifat tanah; serta penurunan asam monosilikat akan menurunkan ketahanan tumbuhan terhadap hama dan penyakit. Oleh karena itu, dalam rangka menjaga kesuburan tanah pemupukan Si sebenarnya diperlukan (Roesmarkam dan Yuwono, 2002).

Silika merupakan unsur atau mineral non-esensial bagi tumbuhan. Walaupun demikian hampir semua tanaman mengandung Si dengan kadar atau konsentrasi yang berbeda-beda dan bahkan pada konsentrasi yang sering kali sangat tinggi. Walaupun bukan tergolong dalam unsur hara esensial tanaman, namun silika dapat meningkatkan produktivitas tanaman karena Si memiliki peranan dalam memperbaiki sifat fisik tanaman dan dapat berpengaruh pada kelarutan unsur fosfat (P) dalam tanah. Secara teori, unsur hara yang berada

pada jumlah tinggi atau secara konsisten berada pada kadar yang melimpah di tumbuhan memiliki peranan penting bagi tumbuhan. Pada tumbuhan padi misalnya, kadar Si sangat tinggi dan melebihi unsur hara makro (N, P, K, Ca, Mg dan S). Apabila kadar SiO_2 kurang dari 5%, maka tegak tumbuhan padi tidak kuat dan mudah roboh. Robohnya tumbuhan menyebabkan turunnya produksi, sehingga pemupukan Si dianggap dapat menaikkan produksi tumbuhan karena tumbuhan lebih tegak (Roesmarkam dan Yuwono, 2007).

Dalam tanah silika diserap dalam bentuk SiO_2 yang terdapat hampir pada semua batuan tanah. Ketersediaan Si tergantung kecepatan pelapukan batuan tersebut. Kadar Si dalam tanah sering dipengaruhi oleh reaksi adsorpsi, temperatur, air irigasi, dan pH tanah. Air irigasi untuk pertanian sering kali mengandung Si dengan jumlah yang cukup tinggi sehingga dapat mempengaruhi ketersediaan Si dalam tanah. Pada tanah asam, kadar Si dalam tanah cenderung tinggi dan pada pH tinggi umumnya kadarnya rendah. Jumlah Si yang terlarut (*dissolved*) dari tanah meningkat seiring meningkatnya suhu. Hal ini berkaitan dengan tingkat pelapukan batuan yang mengandung mineral silikat. Semakin tinggi suhu, maka tingkat pelapukan semakin tinggi. Pengapuran sering menyebabkan turunnya kadar SiO_2 dalam larutan tanah. Ketersediaan Si dipengaruhi oleh perbandingan Si tersedia terhadap seskuioksida tersedia. Makin tinggi ratio Si/Al atau Si/Fe, makin tinggi pula Si yang dapat diserap oleh tumbuhan padi (Mitani dan Ma, 2005).

Beberapa tumbuhan Graminae membutuhkan Silikon (Si) untuk mencapai kondisi kesehatan maksimum dan ketahanan terhadap hama dan penyakit (Zeyen, 2002). Pemberian Si dapat meningkatkan ketahanan tebu pada beberapa serangan penyakit seperti karat pada daun tebu (*sugarcane rust*), bintik-bintik hitam/coklat (*leaf freckle*), dan noda cincin (*sugarcane ringspot*) (Matichenkov dan Calvert, 2002).

Pada penelitian terbaru, banyak penelitian yang menunjukkan peranan silika (Si) yang penting bagi tumbuhan. Safoora dan koleganya melaporkan bahwa pemberian Si pada tumbuhan yang mengalami defisiensi air (kekeringan) dapat meningkatkan kemampuan hidup tumbuhan. Dimana kondisi kekeringan Si dapat menurunkan transpirasi air, meningkatkan kadar klorofil, meningkatkan efisiensi penggunaan air, sehingga tumbuhan dapat bertahan hidup pada cekaman air (kekeringan) (Safoora *et al.*, 2018). Penelitian terbaru mengenai silika juga dilaporkan oleh Joudmand dan Hajiboland (2019) yang melaporkan bahwa silika (Si) memiliki peranan dalam mengatasi cekaman suhu rendah (suhu dingin) pada tanaman barley melalui modifikasi aktivitas enzim apoplasma dan konsentrasi metabolit. Hu *et al.* (2019) melaporkan bahwa penambahan Si pada tanaman *Euphorbia pulcherrima* dapat meningkatkan kadar Mg pada akar. Mg merupakan unsur hara esensial yang menyusun klorofil sehingga dengan peningkatan penyerapan Mg akan dapat meningkatkan kadar klorofil tanaman. Selain itu penambahan Si pada tanaman *Euphorbia pulcherrima* juga meningkatkan unsur S pada wilayah *shoot* tanaman.

17) Cobalt (Co)

Mineral kobalt banyak terdapat pada tumbuhan berbunga seperti kacang-kacangan dan polong-polongan karena dalam tumbuhan tersebut Co berfungsi sebagai fiksasi nitrogen oleh bakteri di nodul akar serta meredakan penuaan usia di jaringan karena mampu menghambat ACC oksidase dan mengurangi produksi ETH (Vioque dan Castellano, 2006).

Cobalt memiliki peranan penting bagi tumbuhan legume. Cobalt merupakan komponen penyusun cobalamin yang diperlukan untuk aktivitas beberapa enzim dan koenzim dan bertanggungjawab dalam pembentukan leghaemoglobin serta terlibat dalam fiksasi nitrogen pada nodul akar tumbuhan legume (Minz *et al.*, 2018). Cobalt dilaporkan secara signifikan meningkatkan aktivitas nitrogenase yang mana dapat berpengaruh pada peningkatan nodul akar, berat, dan meningkatkan efisiensi pemupukan nitrogen. Selain itu cobalt juga secara signifikan meningkatkan unsur N, P, K, Mn dan Zn (Gad, 2012).

18) Selenium (Se)

Selenium (Se) merupakan salah satu unsur hara yang memiliki beberapa fungsi atau peranan penting dalam hidup baik bagi manusia, hewan dan juga untuk kepentingan tumbuhan. Selenium dapat tersedia dalam berbagai bentuk seperti selenat, selenit, Se organik, dan Se dalam tanah. Penyerapan Se oleh akar tanaman dipengaruhi oleh faktor dari tumbuhan itu sendiri dan karakteristik tanah. Salah satu faktor yang penting dalam pengambilan dan penyerapan Se adalah bentuk dan konsentrasi selenium dalam tanah. Terdapat lima bagian selenium dalam tanah yaitu Se anorganik (Selenat dan selenit), Se organik (terikat asam humat dan asam fulfat) dan Se organik yang memiliki berat molekul rendah (Pazurkiewicz-Kocot, 2003).

Analisis tumbuhan dari tanah seleniferous menunjukkan bahwa sejumlah kecil species tumbuhan yang toleran terhadap Se selalu terkait dengan daerah sangat seleniferous, akumulasi beberapa ribu $\mu\text{g Se/g}$ massa tumbuhan, akar atau daun (Brown dan Shrift, 1982). Tumbuhan lain tumbuh di tanah yang sama menyerap banyak konsentrasi rendah dari unsur ini. Ada 3 kelompok tumbuhan:

indikator utama Se atau akumulasi Se (tumbuhan yang dapat menumpuk beberapa ribu $\text{Se}\mu\text{g/g}$), indikator kedua selenium atau penyerapan selenium (jenis tumbuhan yang menyerap hingga $1000 \mu\text{g Se/g}$), dan tidak mengakumulasi (tidak lebih dari $25\mu\text{g Se/g}$). Pada jenis tumbuhan yang tidak mengakumulasi Se, ada batas toleransi Se dan tingkat dimana Se menjadi racun dan ada juga yang sangat berperan dalam tumbuhan. Pada konsentrasi tinggi (di atas batas toleransi selenium), selenium menjadi racun bagi tumbuhan (Brown dan Shrift, 1982). Tumbuhan lain tumbuh di tanah yang sama menyerap Se yang tinggi menurunkan tingkat pertumbuhan, menurunkan tingkat organogenesis, sintesis protein dan sintesis asam nukleat. Logam Se mempengaruhi distribusi dan kadang-kadang akan meningkatkan pengeluaran racun.

Salah satu faktor yang paling penting dan menentukan pengambilan akumulasi dari nilai nutrisi unsur-unsur dalam jaringan tumbuhan adalah interaksi antara ion-ion beberapa unsur dan efek dari beberapa unsur penting secara fisiologi (Pazurkiewicz-Kocot, 2003). Sumber Se dalam tumbuhan sangat berinteraksi dengan beberapa ion-ion, zat dan kadang-kadang mengurangi racun, khususnya dalam sel-sel hewan. Namun efek Se pada sel tumbuhan dan peran dalam tumbuhan belum banyak diketahui. Indikator primer Se umumnya tumbuh di daerah seleniferous. Indikator sekunder Se tidak terbatas pada daerah seleniferous; mereka tumbuh pada tanah yang mengandung sedikit atau sama sekali tidak ada Se. Pada daun muda umumnya mengandung 30% in organik Se (selenat dan selenit) (Freeman, *et. al.* 2006). Spesies non akumulasi, menampakkan pertumbuhan yang lambat terhadap selenium, dan tumbuhan ini keracunan Se dengan racun dari selenat (SeO_4^{2-}) dan selenit (SeO_3^{2-}).

Untuk sebagian besar tumbuhan dapat terhubung dengan tiga faktor: Pertama; selenat dan selenit yang mudah diserap dari tanah oleh akar dan ditranslokasikan ke bagian lain dari tumbuhan. Kedua; Metabolis reaksi ini anion-anion dikonversi ke bentuk Se organik. Ketiga; Se organik metabolis yang bertindak sebagai analog belerang yang esensial, dengan reaksi biokimia selular. Inkorporasi protein dari asam amino *analogues selenosysteine* dan dalam selenometionin yang setara asam amino mengandung belerang adalah penyebab racun dari Se kecuali Se dari protein dari akumulasi berbasis toleransi Se. Akumulasi dari Se dikaitkan dengan kebutuhan nutrisi untuk Se (Brown dan Shrift, 1982).

Akumulasi ion selenit dalam sel-sel tumbuhan, terutama pada akar tumbuhan. Selain itu ion selenit mempengaruhi pengambilan, distribusi dan akumulasi nutrisi dalam sel-sel tumbuhan dan konsentrasi menimbulkan beberapa perubahan di tumbuhan. Akumulasi Na^+ menunjukkan hasil yang tinggi pada akar dan jaringan mesokotil tumbuhan. Hubungan Se, dengan K, Na, Ca, kemungkinan pengaruh utama selenit pada membran protoplasma dan akhirnya pada proses metabolisme sel. Ada kemungkinan bahwa ion selenit mengubah koefisien permeabilitas dari membran plasmatik untuk beberapa ion-ion dan oleh karena itu mempengaruhi transport ion dalam sel tumbuhan. Perubahan transportasi dari kemampuan beberapa ion-ion adalah salah satu gejala Se yang mempengaruhi tumbuhan.

19) Aluminium (Al)

Aluminum (Al) merupakan logam berwarna putih dengan teksturliat dan mudah untuk ditempa. Bubuk aluminium memiliki warna abu-abu dan aluminium dapat melebur pada suhu 659°C . Aluminium dapat dengan mudah dilarutkan dengan menggunakan larutan asam klorida.

Pelarutan aluminium lebih lambat apabila menggunakan larutan asam sulfat encer atau asam nitrat encer (Vogel, 1990).

Aluminium merupakan salah satu unsur yang melimpah di alam dan pada umumnya berada di tanah. Sekitar 8,3% kerak bumi mengandung aluminium. Hal ini menempatkan aluminium sebagai unsur terbanyak ketika setelah oksigen dan silikon dengan persentase oksigen 45,5% dan silikon 25,7%. Aluminium merupakan logam ringan yang memiliki ketahanan terhadap korosi dengan baik, serta mampu menghantarkan listrik dengan baik. Oleh karena itu, unsur aluminium ini bersifat sangat reaktif khususnya dengan oksigen. Pada umumnya aluminium tidak pernah dijumpai berada pada kondisi bebas di alam, melainkan sebagai senyawa yang merupakan penyusun utama dari bahan tambang bijih bauksit yang berupa campuran oksida dan hidroksida aluminium (Sugiyarto, 2003).

Aluminium memiliki peran yang penting untuk pertukaran zat pada tumbuhan hidrofit. Kation Al diakumulasi oleh teh dan tebu. Dalam hal ini, defisiensi aluminium pada teh menyebabkan adanya klorosis daun. Namun gejala defisiensi tersebut tidak nampak pada tumbuhan lainnya. Pada kondisi kelebihan Al, Al dapat bersifat racun bagi tumbuhan karena toksisitas Al melumpuhkan fosfat sehingga tumbuhan mengalami defisiensi fosfat (Duca, 2015).

Schmitt *et al.* (2016) menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada benih yang diberi Al dan yang tidak diberi Al. Pengangkutan Aluminium diduga melalui sistem transportasi xilem ke dalam daun, hal ini dibuktikan dengan kadar Al yang tinggi pada daun. Transportasi radial melalui parenkim ke jaringan kulit juga diduga berperan dalam pengangkutan Al mengingat konsentrasi Al yang tinggi dalam jaringan kulit.

BAB III

RANCANGAN MODEL HIPOTETIK

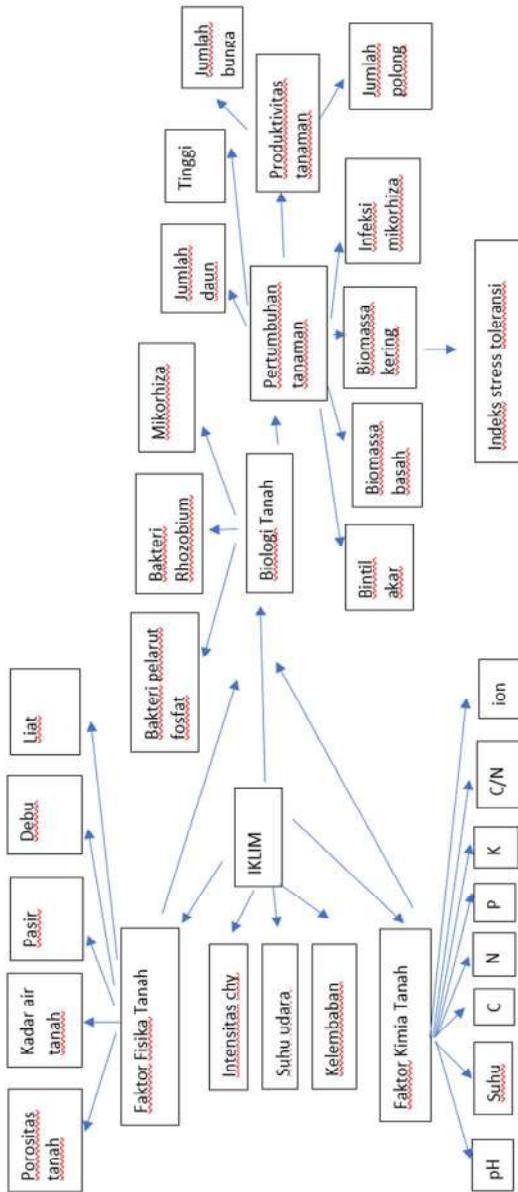
Suatu model struktural digunakan untuk menganalisis multi hubungan dari banyak variabel penelitian. Dalam hal ini uji kontribusi dari satu variabel terhadap variabel yang lainnya. Untuk membuat model digunakan analisis multivariat, yang melibatkan variabel dengan indikator reflektif dan formatif. Berdasarkan analisis multivariate akan diketahui hubungan antara iklim dengan kimia tanah, iklim dengan fisika tanah, iklim dengan biologi Tanah (mikroorganisme tanah), kimia tanah dengan fisika dan biologi tanah, fisika tanah dengan biologi tanah, Biologi tanah dengan pertumbuhan, dan pertumbuhan dengan produktivitas tanaman.

Dalam model hipotetik ini ditentukan variabel-variabel utama yang mempengaruhi pertumbuhan dan produktivitas tanaman uji. Tanaman uji yang dipilih adalah kedelai karena kedelai memiliki kemampuan relatif toleran terhadap cekaman lingkungan (Rahayu, 2020; Rahayu et al, 2020). Variabel-variabel yang mempengaruhi pertumbuhan dan produksi tanaman kedelai di lahan bekas tambang batu bara adalah faktor fisika tanah, faktor kimia tanah, dan faktor Biologi tanah yang dipadu dengan faktor lingkungan. Secara garis besarnya dapat dijabarkan sebagai berikut:

1. Iklim yang mempengaruhi intensitas cahaya, suhu udara, kelembaban udara;
2. Faktor Fisik Tanah, meliputi:
 - a. Porositas tanah
 - b. Kadar air tanah
 - c. Tekstur tanah (pasir, debu, liat)

3. Faktor Kimia Tanah, meliputi:
 - a. pH
 - b. suhu
 - c. Unsur hara: N, P, C/N rasio, Al^{3+} , logam berat Pb, TPH
4. Faktor Biologi Tanah
 - a. Bakteri pelarut fosfat
 - b. Rhizobium
 - c. Mikoriza
 - d. Bakteri Pendegradasi senyawa hidrokarbon
5. Pertumbuhan tanaman yang dijadikan variabel diantaranya adalah biomassa basah (akar, tanaman), biomassa kering (akar, tanaman), jumlah daun, tinggi tanaman, panjang akar, kadar klorofil, luas daun, jumlah dan biomassa bintil akar, biomassa bintil akar efektif.
6. Produksi tanaman yang dijadikan variabel diantaranya adalah jumlah bunga, jumlah polong, berat basah polong, berat kering polong, waktu bunga muncul pertama kali.

Berdasarkan variabel-variabel tersebut, maka disusunlah model hipotetik optimalisasi lahan batubara sebagai media tanam berdasarkan kajian interaksi multisimbiotik mikroorganisme dan dinamika hara tanah. Model ini akan mendasari ketika hasil penelitian untuk menguji kombinasi berbagai variabel ini dilakukan dan diperoleh hasil secara lengkap, selanjutnya akan dilakukan analisis jalur.



Gambar 3.1. Model hipotetik optimalisasi lahan batubara sebagai media tanam berdasarkan kajian interaksi multisimbiotik mikroorganisme dan dinamika hara tanah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Elsaoud, A. M., Nafady, N. A., Abdel-Azeem, A. M. 2017. Arbuscular Mycorrhizal Strategy for Zinc Mycoremediation and Diminished Translocation To Shoots And Grains In Wheat. *PLoS ONE* 12(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188220>.
- Al-Hawash, A. B., DragH, M. A., Li, S., Alhujaily, A., Abbood, H. A., Zhang, X., and Ma, F. 2018. Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. *Egyptian Journal of Aquatic Research* 44 (2018) 71–76.
- Alibakhshi, M., and Khoshgoftarmanesh, A. H. 2015. Effects of nickel nutrition in the mineral form and complexed with histidine in the nitrogen metabolism of onion bulb. *Plant Growth Regul.* 75, 733–740. doi: 10.1007/s10725-014-9975-z.
- Anahid, S., Yaghmaei, S., Ghobadinejad, Z. 2011. Heavy metal tolerance of fungi. *Sci Iran.* 18:502-508.
- Agu, K.C., Edet, B.E., Ada, I.C., Sunday, A.N., Chidi, O.B., Gladys, A.C., Uche, E.C., Uchenna, O.M., & Chinedu, O.A. 2015. Isolation and Characterization of Microorganisms from Oil Polluted Soil in Kwata, Awka South, Nigeria. *American J Current Microbiol.* 3(1): 114.
- Apriliya, I., Pradana, Nosa Tirtajaya dan Dewi, Amanda Kusuma. 2020. Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Oli dari Tanah Tercemar Hidrokarbon dan Rhizosfer Tanaman. *Science Tech: Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.* Volume 6, No. 2, Bulan Agustus, hal. 9-21
- Arellano, P., Tansey, K., Balzter, H., and Tellkamp, M. 2017. Plant Family-Specific Impacts of Petroleum Pollution on Biodiversity and Leaf Chlorophyll Content in the Amazon Rain forest of Ecuador. *PLoS ONE* 12(1): e0169867. doi: 10.1371/journal.pone.0169867.

- Arellano, P., Tansey, K., Balzter, H., and Boyd, D. S. 2015. Detecting the effects of hydrocarbon pollution in the Amazonforest using hyperspectral satellite images. *Environmental Pollution* 205 (2015) 225e239.
- Asensio, D., F. Rapparini, and J. Peñuelas. 2012. AM Fungi Root Colonization Increases The Production Of Essential Isoprenoids Vs. Nonessential Isoprenoids Especially Under Drought Stress Conditions Or After Jasmonic Acid Application. *Phytochemistry* 77, 149-61. Doi: 10.1016/j.phytochem.2011.12.012.
- Atekan, Nuraini, Y., Handayanto, E., and Syekhfani. 2014. The potential of phosphate solubilizing bacteria isolated from sugarcane wastes for solubilizing phosphate. *Journal of Degraded And Mining Lands Management*. Volume 1, Number 4 (July 2014): 175-182.
- Barman, J., Samanta, A., Saha, B., dan Datta, S. 2016. Mycorrhiza: The Oldest Association Between Plant and Fungi. *Resonance*. December 2016.
- Becana, M., Wienkoop, S., and Matamoros, M. A. 2018. Sulfur Transport and Metabolism in Legume Root Nodules. *Frontiers in Plant Science*. 9. doi:10.3389/fpls.2018.01434.
- Bhatla, S. C., and Lal, M. A. 2018. *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Delhi: Springer Nature Pte Ltd.
- Bhattacharyya, P.N., and Jha, D.K. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World J.Microbiol.Biotechnol.* 28(4):1327-1350. DOI: 10.1007/s11274-011-0979-9.
- Bose, J., Babourina, O., Shabala, S., dan Rengel, Z. 2013. Low-pH and aluminum resistance in Arabidopsis correlates with high cytosolic magnesium content and increased magnesium uptake by plant roots. *Plant Cell Physiol.* Vol 54. 1093–1104.
- Briat, J. F., Duc, C., Ravet, K. and Gaymard, F. 2010. Ferritin and storage in plants. *Biochim. Biophys. Acta.* 1800, 806-814.

- Brown, T. A. and Shrift, A. 1982. Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 57., 59-84.
- Bücking, H., and Kafle, A. 2015. Role of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the Nitrogen Uptake of Plants: Current Knowledge and Research Gaps. *Agronomy*, 5, 587-612; doi:10.3390/agronomy5040587.
- Chandra, N., dan Pandey, N. 2016. Role of sulfur nutrition in plant and seed metabolism of *Glycine max* L. *Journal of Plant Nutrition*. 39(8), 1103–1111.
- Charles, I. O., and Issac, U. I. 2014. Effect of nickel concentrations on *Amaranthus spinosus* uptake of nutrients and heavy metals in soil. *J. App. Phytotechnol. Environ. Sanit.* 3, 87–91.
- Chen, H., dan Fan, X. 2018. Effects of magnesium remobilization and allocation on banana plant growth. *Journal of Plant Nutrition*. 41(10), 1312–1320.
- Choi, E. Y., McNeill, A. M., Coventry, D. and Stangoulis, J. C. R. 2006. Whole plant response of crop and weed species to high subsoil boron. *Aust. J. Agric. Res.* 57, 761-770.
- Cubillos-Hinojosa, J. G., Valero, N., and de Jesús Peralta Castilla, A. 2017. Effect of a low rank coal inoculated with coal solubilizing bacteria for the rehabilitation of a saline-sodic soil in field conditions. *Rev.Fac.Nac.Agron.* 8271-8283.
- Choudhary, M., Kumar, R., Datta, A., Nehra, V., & Garg, N. 2017. Bioremediation of Heavy Metals by Microbes. *Bioremediation of Salt Affected Soils: An Indian Perspective*, 233–255. doi:10.1007/978-3-319-48257-6_12.
- Das, N., and Chandran, P. 2011. Review: Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. SAGE-Hindawi Access to Research. *Biotechnology Research International*. Volume 2011, Article ID 941810.

- De Macedo FG, Bresolin JD, Santos EF, Furlan F, Lopes da Silva WT, Polacco JC and Lavres J. 2016. Nickel Availability in Soil as Influenced by Liming and Its Role in Soybean Nitrogen Metabolism. *Front. Plant Sci.* 7:1358. doi: 10.3389/fpls.2016.01358.
- Duca, M. 2015. *Plant Physiology*. Heidelberg: Springer International Publishing.
- Doncheva, S., Poschenrieder, C., Stoyanova, Z., Georgieva, K., Velickhova, M. and Barcelo, J. 2009. Silicon amelioration of manganese toxicity in Mn-sensitive and Mn-tolerance maize varieties. *Environ. Exp. Bot.* 65, 189-197.
- Dwityaningsih, R., Pramita, A., & Syarafina, S. (2019). Review potensi tanaman obat akar wangi (*Vetiveria zizanioides*) sebagai tanaman hiperakumulator dalam fitoremediasi pada lahan tercemar logam. *Jurnal Pengendalian Pencemaran Lingkungan (JPPL)*, 1(1), 51-56.
- El-Fattah, H. 2022. Kaltim Green” Vs “Kaltim Sebagai Lumbung Energi Nasional. Diakses secara online melalui laman <http://green.kompasiana.com/>.
- Etienne, P., Sorin, E., Maillard, A., Gallardo, K., Arkoun, M., Guerrand, J., Cruz, F., Yvin, J. C., and Ourry, A. 2018. Assessment of Sulfur Deficiency under Field Conditions by Single Measurements of Sulfur, Chloride and Phosphorus in Mature Leaves. *Plants.* 7, 37; doi:10.3390/plants7020037.
- Fernández-Lizarazo, J. C., and Moreno-Fonseca, L. P. 2016. Mechanisms for tolerance to water-deficit stress in plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. A review. *Agronomía Colombiana* 34(2), 179-189, 2016.
- Fetch-Cristoffer, M. M., Maier, P., Iwasaki, K., Braun, H. P. and Horst, W. J. 2006. The role of hydrogen peroxide-producing and hydrogen peroxide-consuming peroxidases in the leaf apoplast of cowpea in manganese tolerance, *Plant Physiol.* 140, 1451-1463.

- FiriAppah, C., Okujagu, D. C., Bassey, S. E. 2014. Effects Of Crude Oil Spill In Germination And Growth Of Hibiscus Esculentus (Okra) Inbayelsa State Niger Delta Region Of Nigeria. *The International Journal Of Engineering And Science (IJES)*. Volume 3. Issue 6. Pages: 30-40.
- Freeman J.L., Zhang L.H., Macus M.A., Fakra S, Mc Grath S.P., Pilon-Smith E.A.H. 2006. Spatial imaging, speciation, and quantification of selenium in the hyperaccumulator plant *Astragalus bisulcatus* and *Stanleya pinnata*. *Plant Physiology*. 142: 124-134.
- Furumoto, T., Yamaguchi, T., Ohshima-Ichie, Y., Nakamura, M., Tsuchida-Iwata, Y., Shimamura, M., Ohnishi, J., Hata, S., Gowik, U., Westhoff, P., Bräutigam, A., Weber, A. P., Izui, K. 2011. A plastidial sodium-dependent pyruvate transporter. *Nature*. 476, 472-475.
- Gad, N. 2012. Role and Importance of Cobalt Nutrition on Groundnut (*Arachis hypogaea*) Production. *World Applied Sciences Journal*. 20 (3): 359-367.
- Gangwar, S., Singh, V. P., Prasad, S. M. and Maury, J. N. 2010. Differential responses of pea seedling to indole acetic acid under manganese toxicity. *Acta Physiol. Plant*. 33, 451-462.
- Garcia, K., dan Zimmermann, S. D. 2014. The role of mycorrhizal associations in plant potassium nutrition. *Front. Plant Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00337>.
- Garg, N dan Chandel, S., 2010. Arbuscular Mycorrhizal Networks: Process and Function. A Review. *Agron. Sustain. Dev.* 30:581-599.
- Gao, X., Guo, H., Zhang, Q., Guo, H., Zhang, L., Zhang, C., Gou, Z., Liu, Y., Wei, J., Chen, A., Chu, Z., and Zeng, F. 2020. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) enhanced the growth, yield, fiber quality and phosphorus regulation in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Scientific report*. 10:2084. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59180-3>.

- Gupta, M., Kiran, S., Gulati, A., Singh, B. and Tewari, R. 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. *Microbiological Research* 167: 358– 363.
- Hamilton, C. E., Bever, J. D., Labbé, J., Yang, X., and Yin, H. 2016. Mitigating Climate Change Through Managing Constructed-Microbial Communities In Agriculture. *Agric. Ecosyst. Environ.* 216, 304–308. doi: 10.1016/j.agee.2015. 10.006.
- Harlia, E., Marlina, E. T., Hidayati, Y. A., Kurnani, T. B. A., Rahmah, K. N., Joni, I. M., and Ridwan, R. 2018. Coal Utilization as a Growth Medium of Microbial Consortium from Dairy Cow Feces. *The 3rd ICSAFS*, doi:10.1088/1755-1315/334/1/012028.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Nahar, K., Hossain, M. S., Al Mahmud, J., Hossen, M. S., Masud, A. A. C., Moumita and Fujita, M. 2018. Potassium: A Vital Regulator of Plant Responses and Tolerance to Abiotic Stresses. *Agronomy*. 8, 31; doi:10.3390/agronomy8030031.
- Hermans, C., Conn, S. J., Chen, J., Xiao, Q., dan Verbruggen, N. 2013. An update on magnesium homeostasis mechanisms in plants. *Metallomics*. Vol 5. 1170–1183.
- Hermawan, B. 2011. Peningkatan kualitas lahan bekas tambang melalui revegetasi dan kesesuaiannya sebagai lahan pertanian tanaman pangan. *Pros. Seminar Nasional Budidaya Pertanian*. Bengkulu.
- Hernández, I., and Munné-Bosch, S. 2015. Linking phosphorus availability with photo-oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 66, No. 10 pp. 2889–2900.
- Heuer, S., Gaxiola, R., Schilling, R., Herrera-Estrella, L., Lopez-Arredondo, D., Wissuwa, M., Delhaize, E., and Rouached, H. 2017. Improving phosphorus use efficiency: a complex trait with emerging opportunities. *The Plant Journal*. 90, 868–885.
- Hidayat B. 2015. Remediasi tanah tercemar logam berat dengan menggunakan Biochar. *J Pertan Trop*. 2:31-41.

- Hu, J., Cai, X., and Jeong, B. R. 2019. Silicon Affects Root Development, Tissue Mineral Content, and Expression of Silicon Transporter Genes in Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) Cultivars. *Plants*. 8, 180; doi:10.3390/plants8060180.
- Igiri, B. E., Okoduwa, S. I. R., Idoko, G. O., Akabuogu, E. P., Adeyi, A. O and Ejiogu, I. K. 2018. Toxicity and Bioremediation of Heavy Metals Contaminated Ecosystem from Tannery Wastewater: A Review. *Hindawi Journal of Toxicology*. Volume 2018, Article ID 2568038.
- Irfan, M., Abbas, M., Shah, J. A., Depar, N., Memon, M. Y., Sial, N. A. 2019. Interactive effect of phosphorus and boron on plant growth, nutrient accumulation and grain yield of wheat grown on calcareous soil. *Eurasian J Soil Sci*. 8 (1) 17 – 26.
- Irharni, Pandia, S., Purba, E., & Hasan, W. (2018). Analisis limbah tumbuhan fitoremediasi (*Typha lltifolia*, enceng gondok, kiambang) dalam menyerap logam berat. *Serambi Engineering*, III: 344-351.
- Iskandar, I., Suryaningtyas, Dyah Tjahyandari., Baskoro, Dwi Putro Tejo., Budi, Sri Wilarso., Gozali, Imam., Saridi, Saridi., Masyhuri, Muhammad., and Stefan Dultz. 2022. The regulatory role of mine soil properties in the growth of revegetation plants in the post-mine landscape of East Kalimantan. *Ecological Indicators* 139 (2022) 108877.
- Jackson, K., and Meetei, T. T. 2018. Influence of soil pH on nutrient availability: A Review. *JETIR*, Volume 5, Issue 12.
- Jayanthi, R., & Hemashenpagan, N. 2015. Isolation And Identification of Petroleum Hydrocarbon Degrading Bacteria from Oil Contaminated Soil Samples. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences* Volume 5, 102-106.

- Joudmand, A., and Hajiboland, R. 2019. Silicon mitigates cold stress in barley plants via modifying the activity of apoplasmic enzymes and concentration of metabolites. *Acta Physiologiae Plantarum*. 41(2). doi:10.1007/s11738-019-2817-x.
- Kafilzadeh, F.; Sahragard, P.; Jamali, H.; and Tahery Y. 2011. Isolation and identification of hydrocarbons degrading bacteria in soil around Shiraz Refinery. *African Journal of Microbiology Research* 2011; 4(19) 3084-3089.
- Kang, C. H., Kwon, Y. J., and So, J. S. 2016. Bioremediation of heavy metals by using bacterial mixtures. *Ecological Engineering*, 89, 64–69. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.01.023.
- Karpagam, T., and Nagalakshmi, P.K. 2014. Isolation and characterization of Phosphate Solubilizing Microbes from Agricultural soil. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 3(3): 601-614.
- Karti, P.D.M.H., Yahya, S., Sopandie, D., Hardjosuwignyo, S. and Setiadi, Y. 2012. Isolation and Effect of AI-Tolerant Phosphate Solubilizing Microorganism for Production and Phosphate Absorbption of Grasses and Phosphour Dissolution Mechanism. *Animal Production* 14 (1): 13-22.
- Kartika, E., Lizawati, and Hamzah. 2018. Respons Tanaman Jarak Pagar Terhadap Mikoriza Indigenus dan Pupuk P di Lahan Bekas Tambang Batu Bara. *Biospecies* Vol. 11 No. 1.
- Kesumaningwati, R., Akhsan, N., dan Urnemi. 2017. Penilaian Kesuburan Tanah Dengan Metode Fcc Pada Beberapa Lahan Bekas Tambang Batubara. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi IV*. Fakultas Teknik – Universitas Mulawarman.
- Khabaz-Saberi, H. and Rengel, Z. 2010. Alumunium, manganese, and iron tolerance improves performances of wheat genotypes in water logged acidic soils. *J. Plant Nutr. Soils Sci*. 173, 461-46.
- Kluge, R. 1990. Symptom-related toxic threshold values of plant for the evaluation of excess of Boron (B) in selected crops. *Agribiolog. Res*. 43, 234-243.

- Kostka, J. E., Prakash, O., Overholt, W. A., Green, S. J., Freyer, G., Canion, A., Delgardio, J., Norton, N., Hazen, T. C., and Huettel, M. 2011. Hydrocarbon-Degrading Bacteria and the Bacterial Community Response in Gulf of Mexico Beach Sands Impacted by the Deepwater Horizon Oil Spill. *Applied and environmental microbiology*, Nov. 2011, p. 7962–7974.
- Kumar, A., Bisht B. S, Joshi V. D. 2011. Zinc and cadmium removal by acclimated *Aspergillus niger*: Trained fungus for biosorption. *Int J Environ Sci Res.* 1:27-30.
- Kulshreshtha, S., Mathur, N., Bhatnagar, P. 2014. Mushroom as a product and their role in mycoremediation. *AMB Express.* 4:1-7.
- Lee, E., Han, Y., Lee, S., Cho, K., Park, K., and You, Y. 2017. Effect of nutrient and moisture on the growth and reproduction of *Epilobium hirsutum* L., an endangered plant. *Journal of Ecology and Environment.* 41:35
- Leghari, S. J., Wahocho, N. A., Laghari, G. M., Laghari, A. H., Bhabhan, G. M., Talpur, K. H., Bhutto, T. A., Wahocho, S. A., & Lashari, A. A. 2016. Role of Nitrogen for Plant Growth and Development: A review. *Advances In Environmental Biology*, 10(9), 209–218.
- Ma, Y., Rajkumar, M., Oliveira, R.S., Zhang, C., Freitas, H., 2019. Potential of plant beneficial bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of metal contaminated saline soils. *J. Hazard. Mater.* 379 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120813>.
- Maathuis, F. J. M. 2014. Sodium in plants: perception, signalling, and regulation of sodium fluxes. *Journal of Experimental Botany.* Vol. 65, No. 3, pp. 849–858.
- Mahmud, K., Makaju, S., Ibrahim, R., & Missaoui, A. (2020). Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. *Plants*, 9(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/plants9010097>

- Majumder, P., and Palit, D. 2017. Isolation, Identification and Characterization of Bacteria of Coal Mine Soil at Sonepur Bazari of Raniganj Coalfield, West Bengal. *International Journal of Applied Environmental Sciences*. Volume 12, Number 6. pp. 1131-1140.
- Marcshner, H. 2012. *Mineral nutrition of higher plants*. Academic press is an imprint of elseveir, Publishe. London.
- Marista, E., Khotimah, S., and Linda, R. 2013. Bakteri Pelarut Fosfat Hasil Isolasi dari Tiga Jenis Tanah Rizosfer Tanaman Pisang Nipah (*Musa paradisiacavar. nipah*) di Kota Singkawang. *Protobiont*. Vol 2 (2): 93 -101.
- Martinez-Dalmau, J., Berbel, J., & Ordóñez-Fernández, R. (2021). Nitrogen Fertilization. A Review of the Risks Associated with the Inefficiency of Its Use and Policy Responses. *Sustainability*, 13(5625), 1–15. <https://doi.org/doi.org/10.3390/su13105625>
- Mashud, N., and Manarinsong, E. 2014. Pemanfaatan Lahan Bekas Tambang Batu Bara untuk Pengembangan Sagu. *B. Palma* Vol. 15 No. 1, Juni 2014: 56 – 63.
- Matichenkov, V. V and D. V. Calvert. 2002. Silicon as a Beneficial Element for Sugarcane. *Journal American Society of Sugarcane Technologists*. 22 : 21-30.
- Minz, A., Sinha, A. K., Kumar, R., Kumar, B., Deep, K. P., and Kumar, S. B. 2018. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. Special Issue-7 pp. 2978-2984.
- Mitani, N. and J. F. Ma. 2005. Uptake System of Silicon in Different Plant Species. *Journal of Experimental Botany*. 56 (414) : 1255-1261.
- Muryati, S., Mansur, I., & Budi, S. W. (2016). Keanekaragaman fungi mikoriza arbuskula (FMA) pada rhizosfer *Desmodium* spp. asal PT Cibaliung sumber daya, Banten. *Jurnal Silvikultur Tropika*, 07(3), 188-197.
- Nable, R. O., Banuelos, G. S. and Paull, J. G. 1997. Boron toxicity. *Plant Soil*. 193, 181-197.

- Navarro, N.Y.E., Hernández, M.E, Morales, J.J., Jan, R.J., Martínez, R.E., Hernández, R.C. 2012. Isolation and characterization of nitrogen fixing heterotrophic bacteria from the rhizosphere of pioneer plants growing on mine tailings. *Applied Soil Ecology*. 62:52-60. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.07.011>.
- Olawale, J. T., Edeki, O. G., and Cowan, A. K. 2020. Bacterial degradation of coal discard and geologically weathered coal. *Int J Coal Sci Technol*. 7(2): 405 – 416.
- Ojewumia, M. E., Okeniyib, J. O., Ikotund, J. O., Okeniyie, E. T., Ejemena, V. A., Popoola, A. P. I. 2018. Bioremediation: Data on *Pseudomonas aeruginosa* effects on the bioremediation of crude oil polluted soil. *Data in Brief* 19. 101–113.
- Ossler, J. N., Zielinski, C. A., and Heath, K. D. (2015). Tripartite mutualism: Facilitation or trade-offs between rhizobial and mycorrhizal symbionts of legume hosts. *Am. J. Bot.* 102, 1332–1341. doi: 10.3732/ajb.1500007.
- Pazurkiewicz-Kocot K and A. Kita. 2003. The effect of selenium on accumulation of some metals in *Zea mays* L. Plants treated with indole-3-acetic acid. *Cellular & Molecular Biology Letters*. Vol.8; 97-103.
- Price, A. H. and Hendry. G. A. S. 1991. Iron catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals. *Plant Cell Environ.* 14, 477-484.
- Pulungan, A. S. (2018). Tinjauan ekologi fungi mikoriza arbuskula. *Jurnal Biosains*, 4(1), 17-22.
- Rahayu, Y.S., Yuliani, Trimulyono, G., Ratnasari, E., Dewi, SK. 2018. Role of Nitrogen and phosphate dynamics to increase plant survival grown on oil contaminated soil. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering, Volume 434, (AASEC 2018)*, 012122 doi:10.1088/1757-899X/434/1/012122, halaman 1-8.
- Rahayu, Y.S., Yuliani, Pratiwi, I.A. 2020. Increasing Plant Tolerance Grown on Saline Soil: The Role of Tripartite Symbiosis. *Annals of Botany: Vol 36 (2)*; 346-353.

- Rahayu, Y.S., Yuliani, Asri, M.T. 2021. Isolation and Identification of Endophytic Bacteria Related to Plant Nutrition Level in Coal Mining Site from East Kalimantan Indonesia. *Advanced in Engineering Research*, Volume 209. Pp 485-491.
- Rahayu, Y.S. 2020. Bioremediation model of oil-contaminated soil in Lapindo mud using multisymbiotic organism. *Management of Environmental Quality: An International Journal*. Volume 31 No 3: 586-601.
- Rahayu, Y.S., Yuliani, Mulyono, G. T. 2018. Isolation and Identification of Phosphate Solubilizing Bacteria and Hydrocarbhone Degradation Bacteria in Lapindo Mud Sidoarjo East Java Indonesia. *Journal of Engineering Science and Technology (JESTEC)*, Volume 13, Issue 8: 2318-2327.
- Rahayu, Y.S., Yuliani, Mulyono, G. T. 2019. Isolation and Identification of Phosphate Solubilizing Bacteria and Hydrocarbhone Degradation Bacteria in Oil Contaminated Soil in Bojonegoro, East Java, Indonesia. *Indonesian Journal of Science and Technology (IJoST)*. Volume 4, Issue 1: 134-147.
- Razaq M, Zhang P, Shen H-l, Salahuddin. 2017. Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of Acer mono. *PLoS ONE* 12(2): e0171321. doi:10.1371/journal.pone.0171321
- Riaz, M., Kamran, M., Fang, Y., Wang, Q., Cao, H., Yang, G., Dang, L., Wang, Y., Zhou, Y., Anastropoulus, I., Wang, X. 2020. Arbuscular mycorrhizal fungi-induced mitigation of heavy metal phytotoxicity in metal contaminated soils: A critical review. *Journal of Hazardous Materials*, 123919. doi:10.1016/j.jhazmat. 2020.123919.
- Robson, A. D. And Router, D. J. 1981. *Diagnosis of copper deficiency and toxicity*. In *Copper in Soils and Plants* (J. F. Loneragan, A. D. Robson and R. D. Graham, eds.), pp. 287-312. Academic Press, London and Orlando.
- Roesmarkam, N. W. Yuwono. 2002. *Ilmu Kesuburan Tanah*. Yogyakarta: Kanisius.

- Ruano, A., Poschenrieder, Ch. and Barcelo, J. 1988. Growth and biomass partitioning in zinc-toxic bush bean. *J. Plant. Nutr.* 11, 577-588.
- Russo, V. M. 2017. The Editor's Field – Nitrogen. *International Journal of Vegetable Science*. Vol 23. No 1: 1-3. DOI: 10.1080/19315260.2017.1282743.
- Saad, R., Kobaissi, A., Robin, C., Echevarria, G., and Benizri, E. 2016. Nitrogen fixation and growth of *Lens culinaris* as affected by nickel availability: a prerequisite for optimization of agromining. *Environ. Exp. Bot.* 131, 1–9. doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.06.010
- Safoora, D., Cyrus, G., Bahram, B., Mahdi, G., and Siamak, S. 2018. Effect of Silicon on Growth and Development of Strawberry under Water Deficit Conditions. *Horticultural Plant. Journal* Volume 4, Issue 6, Pages 226-232.
- Sagardoy, R., Morales, F., Lopez-Millan, A. F., Abadia, A. and Abadia, J. 2009. Effect of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics. *Plant Biol.* 11, 339-350.
- Sagervanshi, A., Kumari, P., Nagee, A., and Kumar, A. 2012. Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from Anand Agriculture Soil. *International Journal of Life Sciences and Pharma Research*. 23:256-266.
- Salachna, P., and Piechocki, R. 2016. Effects of Sodium Chloride on Growth and Mineral Nutrition of Purpletop Vervain. *Journal of Ecological Engineering*. Volume 17, Issue 2, pages 148–152.
- Sapalina, Fadilla., Ginting, Eko Noviani dan Hidayat, Fandi. 2022. Bakteri Penambat Nitrogen Sebagai Agen Biofertilizer. *Warta PPKS*, 2022, 27(1): 41-50
- Saure, M. 2014. Why calcium deficiency is not the cause of blossom-end rot in tomato and pepper fruit: a reappraisal. *Scientia Horticulturae*. Vol. 174, No. 1, p. 65-89.

- Sayuti I. dan Suratni. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Limbah Cair Minyak Bumi Gs Cevron Pasifik Indonesia di Desa Benar Kecamatan Rimba Melintang Rokan Hilir. *Prosiding Semirata Universitas Tanjungpura Pontianak*.
- Schmitt, M., Watanabe, T. and Jansen, S. 2016. The effects of aluminium on plant growth in a temperate and deciduous aluminium accumulating species. *AoB PLANTS* www.aobplants.oxfordjournals.org
- Senbayram, M., Gransee, A., Wahle, V., and Thiel, H. 2015. Role of magnesium fertilisers in agriculture: plant–soil continuum. *Crop & Pasture Science*. 66, 1219–1229.
- Shabala, S. 2017. *Plant Stress Physiology, 2nd Edition*. Boston: CABI.
- Smith, S.E., dan Read, D., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Third Edition. Academic Press, Elsevier. New York.
- Soka, G. dan Ritchie, M. 2014. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and ecosystem processes: Prospects for future research in tropical soils. *Open Journal of Ecology*. Vol.4, No.1, 11-22.
- Soumare, A., Diedhiou, A. G., Thuita, M., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Gopalakrishnan, S., & Kouismi, L. 2020. Exploiting Biological Nitrogen Fixation: A Route. *Plants*, 9(2020), 1–22. <https://doi.org/doi:10.3390/plants9081011>
- Su, Y., Luo, W., Lin, W., Ma, L., Kabir, M. H. 2015. Model of cation transportation mediated by high-affinity potassium transporters (HKTs) in higher plants. *Biol. Proced.* 17, 1.
- Sudaryono. 2009. Tingkat Kesuburan Tanah Ultisol Pada Lahan Pertambangan Batubara Sangatta, Kalimantan Timur. *J. Tek. Ling.* 10 (3): 337 – 346.
- Sugiyarto, K. H. 2003. *Dasar-Dasar Kimia Anorganik Logam*. Yogyakarta : Universitas Negeri Yogyakarta

- Suharno, Sancayaningsih, R. P., Soetarto, E. S., dan Kasiamdari, R. S. 2014. Keberadaan Fungi Mikoriza Arbuskula di Kawasan Tailing Tambang Emas Timika Sebagai Upaya Rehabilitasi Lahan Ramah Lingkungan. *J. Manusia dan Lingkungan*, Vol. 21, No.3, November 2014: 295-303.
- Suharno dan R. P. Sancayaningsih. 2013. Fungi Mikoriza Arbuskula: Potensi teknologi mikorizoremediasi logam berat dalam rehabilitasi lahan tambang. *Bioteknologi* 10 (1): 37-48.
- Sukarman and Gani, Rachmat Abdul. 2020. Ex-coal mine lands and their land suitability for agricultural commodities in South Kalimantan. *Journal Of Degraded And Mining Lands Management*. ISSN: 2339-076X (p); 2502-2458 (e), Volume 7, Number 3 (April 2020): 2171-2183.
- Sukmawaty, E., & Asrian. (2015). Keanekaragaman mikoriza arbuskula Indonesia dan peranannya dalam ekosistem. *Jurnal Biotek*, 3(1), 45-51.
- Situmorang.E.C., Prameswara.A.S.H.C., Mathius. N.T and Liwan.T., 2015.Indegenous Phospate Solubilizing Bacteria From Peat Soil for an Eco-Friendly Bioferlitizer in Oil Palm Plantation Renewable Energy and Energy Conversion Conference and Exhibition.Vol 1 : 65-72.
- Utami, S., Lidar, Seprita dan Rizal, Muhammad. 2021. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Dan Jamur Pelarut Fosfat Pada Berbagai Lokasi. *Jurnal Agrotela*. Vol: 1 No: 1 Januari 2021.
- Taiz, L. dan Zeiger, E. 2010. *Plant Physiology*. California: The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc.
- Takács, T., Imre Cseresnyés, Ramóna Kovács, István Parádi, Bettina Kelemen, Tibor Szili-Kovács and Anna Füzy. 2018. Symbiotic Effectivity of Dual and Tripartite Associations on Soybean (*Glycine max* L. Merr.) Cultivars Inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* and AM Fungi. *Front. Plant Sci.*, 13 November 2018
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01631>

- Tanoi, K and Kobayashi, N. I. 2015. Leaf Senescence by Magnesium Deficiency. *Plants*. 4, 756-772. doi:10.3390/plants4040756.
- Teakle, N. L. and Tyerman, S. D. 2010. Mechanisms of Cl-transport contributing to salt tolerance. *Plant Cell Environ.* 33, 566-589.
- Thakur, J., and Shinde, B. P. 2020. Effect of water stress and AM fungi on the growth performance of pea plant. *International Journal of Applied Biology*. Vol 4. No 1.
- Thor, K. 2019. Calcium—Nutrient and Messenger. *Front. Plant Sci.* 10:440. doi: 10.3389/fpls.2019.00440.
- Torres, N., Antolín, M. C., and Goicoechea, N. 2018. Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis as a Promising Resource for Improving Berry Quality in Grapevines Under Changing Environments. *Front. Plant Sci.* Vol 9:897. doi: 10.3389/fpls.2018.00897.
- Tu, B., Liu, C., Tian, B., Zhang, Q., Liu, X., Herbert, S. J. 2017. Reduced abscisic acid content is responsible for enhanced sucrose accumulation by potassium nutrition in vegetable soybean seeds. *J. Plant Res.* 130, 551–558.
- Upadhyaya, H., Panda, S.K., Bhattacharjee, M.K., dan Dutta, S., 2010. Role Arbuscular Mycorrhiza in Heavy Metal Tolerance in Plants: Prospect for Phytoremediation. *Journal of Phytology*. 2(7):16–27.
- Velikova, V., Tsonev, T., Loreto, F., and Centritto, M. 2011. Changes in photosynthesis, mesophyll conductance to CO₂, and isoprenoid emissions in *Populus nigra* plants exposed to excess nickel. *Environ. Pollut.* 159, 1058–1066. doi: 10.1016/j.envpol.2010.10.032
- Vindušková, O., and Frouz, J. 2013. Soil carbon accumulation after open-cast coal and oil shale mining in Northern Hemisphere: A quantitative review. *Environ. Earth Sci.* 2013, 69, 1685–1698
- Vioque, S., dan Castellano, J. M., 2006, Extraction and Biochemical Characterization of 1-aminocyclo propane-1-carboxylic Acid Oxidase from Pear. *J. Physiologia Plantaru.* 90(2); 334-338.
- Vogel. 1990. *Analisis Anorganik Kualitatif Makro Dan Semi Mikro Bagian I*. Jakarta : Kalman Media Pustaka

- Wang, M., Zheng, Q., Shen, Q., Guo, S. 2013. The critical role of potassium in plant stress response. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 7370–7390.
- Wang, Y. X., Wu, P., Wu, Y.R. and Yan, X. L. 2002. Molecular marker analysis of manganese toxicity tolerance in rice under greenhouse conditions. *Plant Soil.* 238. 227–233.
- Wang, B., Wang, Y., Cui, X., Zhang, Y., and Yu, Z. 2019. Bioconversion of coal to methane by microbial communities from soil and from an opencast mine in the Xilingol grassland of northeast China. *Biotechnol Biofuels.* 12:236.
- Waraich, E. A., Ahmad, R., Halim, A., Aziz, T. 2012. Alleviation of temperature stress by nutrient management in crop plants: A review. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 12, 221–244.
- Wood, B. W., Reilly, C. C., and Nyezepir, A. P. 2004. Mouse-ear of pecan: I. Symptomatology and occurrence. *HortScience.* 39, 87–94.
- Wu, S., Zhang, X., Chen, B., Wu, Z., Li, T., Hu, Y., Sun, Y., Wang, Y., 2016. Chromium immobilization by extraradical mycelium of arbuscular mycorrhiza contributes to plant chromium tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 122, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.08.006>.
- Wu, S., Zhang, X., Huang, L., Chen, B., 2019. Arbuscular mycorrhiza and plant chromium tolerance. *Soil Ecol. Lett.* 1, 94–104. <https://doi.org/10.1007/s42832-019-0015-9>.
- Widawati, S., and Suliasih. 2019. Role of Indigenous Nitrogen-fixing Bacteria in Promoting Plant Growth on PostTin Mining Soil. *Makara Journal of Science*, 23/1 (2019),28-38doi: 10.7454/mss.v23i1.10801.
- Yamauchi, M. 1989. Rice broncing in Nigeria caused by nutrient in balance and its control by potassium sulphate application. *Plant Soil.* 117, 275–286.
- Yuningsih, L., Hermansyah, Ibrahim, E and Marsi. 2021. Analysis on The Characteristics Of Ex-Mining Soil After 5 Years and 10 Years of Revegetation. *Media Konservasi* Vol.26 No.3 Desember 2021: 239-247

- Yustika, RD dan Talaohu, SH. 2006. Bisakah Lahan Bekas Tambang Batubara untuk Pengembangan Pertanian. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. vol 28 No 2.
- Zhang, F., Du, P., Song, C. X., and Wu, Q. S. 2015. Alleviation of magnesium deficiency by mycorrhiza in trifoliolate orange: Changes in physiological activity. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 27(10): 763-769. doi: 10.9755/ejfa.2015.05.240.
- Zhang, H., Xu, N., Wu, X., Wang, J., Ma, S., Li, X., and Sun, G. 2018. Effects of four types of sodium salt stress on plant growth and photosynthetic apparatus in sorghum leaves, *Journal of Plant Interactions*. 13:1, 506-513, DOI:10.1080/17429145.2018.1526978.
- Zeyen, R. J. 2002. Silicon in Plant Cell Defense Against Cereal Powdery Mildew Disease. Departement of Plant Pathology University of Minnesota. *Second Silicon in Agriculture Conference*. Tsuruoka, Yamagata. Japan. 11: 15-21
- Zhu, X., Song, F., Liu, S., dan Liu, F. 2016. Arbuscular Mycorrhiza Improve Growth, Nitrogen Uptake, And Nitrogen Use Efficiency In Wheat Grown Under Elevated CO₂. *Mycorrhiza*. 26:133-140. DOI 10.1007/s00572-015-0654-3.



Penerbit :



ISBN 978-602-492-129-3



9 786024 921293