

# Aktivitas Enzim Antioksidan Pada Akar *Eleocharis dulcis* (Burm.F.) Trin. Ex Henschel Dalam Fitoremediasi Air Asam Tambang Batubara Di Wetland Air Laya 02

## *The Activity of Antioxidant Enzyme in Root of Eleocharis dulcis (Burm.F.) Trin. Ex Henschel On Phytoremediation Acid Mine Drainage at Wetland Air Laya 02*

Wike Agung Safitri & Juswardi\*

Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Sriwijaya, Indonesia

Diterima: 20 Januari 2023; Direview: 14 Februari 2023; Disetujui: 30 Maret 2023

\*Corresponding Email: [juswardi@yahoo.co.id](mailto:juswardi@yahoo.co.id)

### Abstrak

Air asam tambang (AAT) terbentuk dari penambangan terbuka dapat menimbulkan dampak lingkungan jika dibuang langsung ke perairan karena mempunyai pH yang rendah dan mengandung logam berat. Upaya yang untuk menetralkan pH dan menyerap logam berat pada AAT dapat dilakukan dengan fitoremediasi menggunakan *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. Ex Henschel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas PO, PPO, dan CAT pada akar *E. dulcis* dalam fitoremediasi AAT dan upaya evaluasi peninjauan keberhasilan fitoremediasi AAT. Pengambilan sampel menggunakan metode convenience sampling. Pengukuran kadar logam Fe, dan Mn dengan spektrofotometer serapan atom (SSA). Ekstraksi protein menggunakan sentrifugasi dingin, pengukuran kadar protein total dengan BSA, dan aktivitas PO, PPO dan CAT menggunakan spektrofotometer uv-vis. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan *E. dulcis* mampu meningkatkan pH dari 5,6 menjadi 7,7 serta menurunkan kadar Fe dari 7,88 mg/l menjadi 0,25 mg/l, Mn 1,71 mg/l menjadi 0,75 mg/l. Respons fisiologi yang ditunjukkan *E. dulcis* dalam fitoremediasi AAT berupa peningkatan aktivitas enzim antioksidan PO 178,98 U/mg protein/menit, PPO 388,96 U/mg protein/menit dan CAT 184,34 U/mg protein/menit. Berdasarkan penelitian *E. dulcis* termasuk tumbuhan yang toleran terhadap cekaman pH dan logam berat sehingga berpotensi digunakan dalam fitoremediasi AAT.

**Kata Kunci:** Fitoremediasi; Enzim Antioksidan; *Eleocharis dulcis*; Cekaman Logam Berat

### Abstract

Acid mine drainage (AMD) formed from open pit mining can cause environmental impacts if discharged directly into the waters because it has a low pH and contains heavy metals. Attempts to neutralize the pH and absorb heavy metals in AMD can be carried out by means of phytoremediation using *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. Ex Henschel. This study aims to determine the activity of PO, PPO, and CAT on the roots of *E. dulcis* in AMD phytoremediation and evaluate the success of AMD phytoremediation. Sampling using convenience sampling method. Measurement of metal content of Fe and Mn with atomic absorption spectrophotometer (AAS). Protein extraction using refrigerated centrifugation, measurement of total protein content with BSA, and activity of PO, PPO and CAT using a uv-vis spectrophotometer. Based on research that has been done, *E. dulcis* is able to increase the pH from 5.6 to 7.7 and reduce Fe levels from 7.88 mg/l to 0.25 mg/l, Mn 1.71 mg/l to 0.75 mg/l. The physiological response shown by *E. dulcis* in AMD phytoremediation was an increase in antioxidant enzyme activity PO 178.98 U/mg protein/minute, PPO 388.96 U/mg protein/minute and CAT 184.34 U/mg protein/minute. Based on research, *E. dulcis* is a plant that is tolerant to pH stress and heavy metals, so it has the potential to be used in AMD phytoremediation.

**Keywords:** Phytoremediation; Antioxidant Enzyme; *Eleocharis dulcis*; Heavy Metal Stress

**How to Cite:** Safitri, W.A. & Juswardi (2023). Aktivitas Enzim Antioksidan Pada Akar *Eleocharis dulcis* (Burm.F.) Trin. Ex Henschel Dalam Fitoremediasi Air Asam Tambang Batubara Di Wetland Air Laya 02. *Journal of Natural Sciences*. 4 (1): 10-21.



## PENDAHULUAN

Pertambangan batubara secara umum menggunakan penambangan terbuka atau *open pit mining* atau *open cut mining*. Menurut Fadli (2015) bahwa penambangan terbuka dilakukan dengan menggali bahan deposit baik batubara, mineral, ataupun bahan fosil yang terdapat pada batuan. Unsur sulfur mengalami oksidasi pada batuan yang tersingkap, bereaksi dengan air sehingga membentuk air asam tambang (AAT).

Air asam tambang yang terbentuk merupakan dampak dari penambangan biasa dilakukan pengelolaan sebelum dibuang ke perairan umum. Perusahaan tambang memiliki cara tersendiri dalam menangani permasalahan lingkungan ini dengan melihat karakteristik AAT. Pengolahan AAT secara pasif dengan sistem lahan basah buatan (*constructed wetlands*), terjadi perubahan pH pada inlet, wetland dan outlet. pH AAT dapat berkisar antara 1,2-4, yang mengakibatkan logam berat tertentu dapat larut seperti logam Fe, Mn, Al, Cd, Sn, Zn, As, dan Hg (Nasir *et al.*, 2014).

Pengolahan AAT secara pasif salah satunya dengan fitoremediasi. Tujuan utama fitoremediasi adalah untuk memperkecil dan detoksifikasi polutan baik berupa logam berat dan mineral yang tinggi terkandung di suatu lahan atau perairan dengan menggunakan tumbuhan (Priyanti & Etny, 2013). Tumbuhan yang digunakan dalam fitoremediasi AAT diantaranya Eceng gondok (*Eichhornia crassipes* Mart.), Ekor kucing (*Typha angustifolia* L.), Purun tikus (*Eleocharis dulcis*) dan beberapa tumbuhan air lain. Purun tikus mempunyai kemampuan adaptasi yang baik pada kondisi asam karena mampu memfiltrasi Fe dan Mn yang ada di lingkungan (ADN *et al.*, 2014; Herafi *et al.*, 2022).

Karakter AAT yang memiliki pH rendah dan kandungan logam berat terlarut tinggi mengakibatkan tumbuhan mengalami stress atau cekaman. Purun tikus dalam melakukan fitoremediasi memberikan respons sebagai mekanisme fisiologi terhadap cekaman. Organ utama pada tumbuhan yang bersentuhan langsung dengan ion logam yang beracun adalah akar (Muradoglu *et al.*, 2015).

Toksisitas logam dapat mengakibatkan tumbuhan mengalami stress dan akan memicu terbentuknya hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) yang berlebihan. Tumbuhan akan melakukan serangkaian proses untuk mempertahankan dirinya jika berada dalam



cekaman seperti  $H_2O_2$ . Hasanuzzaman *et al.*, (2020), menjelaskan sistem yang digunakan tumbuhan untuk merespons cekaman dapat secara enzimatis dengan enzim antioksidan dan non-enzimatis berupa asam amino dan asam organik. Enzimatis dan non-enzimatis bertugas melindungi sel tumbuhan dari kerusakan oksidatif dengan cara mengatur kaskade oksidasi. Aktivitas enzimatis pada tumbuhan dapat berubah dengan adanya stress logam yang mengakibatkan tumbuhan akan memproduksi enzim antioksidan lebih banyak dibandingkan dalam kondisi normal.

Dalam upaya mengevaluasi tumbuhan fitoremediator dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas enzim PO, PPO, dan CAT sebagai respons adaptasi fisiologi Purun tikus (*E. dulcis*) dalam fitoremediasi limbah Air Asam Tambang pada kondisi wetland Air Laya 02.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan dari Desember 2021 sampai Maret 2022, bertempat di Laboratorium Fisiologi dan Perkembangan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, dan Dinas Lingkungan Hidup Kota Palembang, Sumatera Selatan. Pengambilan sampel AAT dan sampel *E. dulcis* dilakukan di *inlet*, *wetland* dan *outlet* Air Laya 02 PT. Bukit Asam, Tanjung Enim, Sumatera Selatan.

## Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah Spektrofotometer serapan atom (AAS), Eppendorf, cuvet, gelas ukur, mikropipet, mortar, pH meter, sentrifuge, spektrofotometer dan timbangan analitik. Bahan yang dibutuhkan yaitu AAT, asam nitrat, asam perklorat,  $BaCl_2$ , buffer A, buffer fosfat, buffer tris-HCl, peroksida, pirogalol, protein standar BSA, Reagen Biuret Bio-system 2000 dan *E. dulcis*.

## Pengambilan Sampel

Sampel tumbuhan dan AAT diambil dengan metode *Convenience sampling*. *Convenience sampling* adalah sebuah metode pengambilan sampel yang dilakukan dengan mempertimbangkan kriteria akses yang lebih mudah, sehingga memudahkan peneliti dalam mengambil sampel untuk penelitian (Etikan *et al.*, 2016).



## Pengukuran pH, Kadar Fe dan Mn pada Air Asam Tambang

Pengukuran pH dengan pH meter digital secara *in situ* di wetland Air Laya 02. Pengukuran kadar Fe berdasarkan SNI 06-6989.4 Tahun 2009 dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Preparasi sampel AAT dengan asam nitrat dan asam perklorat. Sampel AAT dianalisis menggunakan SSA pada panjang gelombang 248.3 nm.

Kadar Mn diukur berdasarkan SNI 06-6989.5 Tahun 2009 dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Preparasi AAT dengan menggunakan asam nitrat dan perklorat. Sampel AAT dianalisis dengan SSA dengan panjang gelombang 279.5 nm.

Kadar logam besi (Fe) dan mangan (Mn) dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar logam mg/L} = C \times fp$$

Keterangan : C : Kadar yang didapatkan dari hasil pengukuran (mg/L)  
fp: Faktor pengencer

### Pengukuran Kadar Sulfat ( $\text{SO}_4^{2+}$ ) AAT

Total sulfat diukur berdasarkan SNI 06-6989.20 Tahun 2009 dengan metode Turbidimetri. Preparasi sampel dengan buffer A dan  $\text{BaCl}_2$  dan selanjutnya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Kadar ( $\text{SO}_4^{2+}$ ) dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar } (\text{SO}_4^{2+}) \text{ (mg/L)} = C \times fp$$

Keterangan: C: Kadar yang didapatkan dari hasil pengukuran (mg/L)  
fp : Faktor pengencer

## Ekstraksi Protein

Ekstraksi protein dari akar *E. dulcis* mengikuti Metode Widiyanto *dalam* Harmida & Juswardi (2017) sebanyak 200 mg akar sampel digerus dan dihomogenkan dalam 2 ml buffer Tris-HCl pH 8,0. Homogenat yang diperoleh kemudian disentrifuge pada kecepatan 12.500g pada suhu 0°C selama 20 menit. Diambil supernatan dan disimpan dalam



Eppendorf pada suhu 0-4°C untuk digunakan pada analisis kadar protein total dan aktivitas enzim.

### **Pengukuran Kadar Protein Total dan Aktivitas PO, PPO dan CAT**

Kadar protein ditentukan dengan menggunakan reagen Biuret Biosystem 2000 dengan protein standar BSA yang dimodifikasi. Absorbansi protein standar (Ast) diukur dari campuran 400 µl protein standar (BSA), 400 µl akuades dan 200 µl reagen biuret. Absorbansi potensial sampel (As) diukur dengan menggunakan campuran 40 µl sampel yang dicampur 200 µl reagen biuret dan 760 µl akuades. Pengukuran absorbansi (A) dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 545 nm. Pengukuran kadar protein total dengan rumus :

$$\text{Kadar Protein Total} = \frac{\text{Absorbansi sampel (As)}}{\text{Absorbansi standar (Ast)}} \times \text{protein standar } (\mu\text{g/ml})$$

Aktivitas Peroksidase (PO) ditentukan menggunakan metode Widiyanto (Juswardi & Harmida, 2017). Pengukuran aktivitas PO menggunakan campuran pereaksi pirogalol, buffer pospat, ke dalam 1 ml campuran pereaksi ditambahkan hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dan protein sampel dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit. Hasil oksidasi pirogalol berupa purpurogalin diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Aktivitas PO dihitung dengan menggunakan satuan rumus :

$$\text{Aktivitas PO} = \frac{\text{Absorbansi (As)}}{\text{Konsentrasi Protein}} \times \text{menit (U/mg protein/menit)}$$

Aktivitas polifenol oksidase (PPO) ditentukan menggunakan metode Widiyanto (Juswardi & Harmida, 2017). Pengukuran aktivitas PPO menggunakan campuran pereaksi pirogalol, buffer pospat, ke dalam 1 ml campuran pereaksi ditambahkan protein sampel dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 menit. Hasil oksidasi pirogalol diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Aktivitas PPO dihitung dengan menggunakan satuan rumus:

$$\text{Aktivitas PPO} = \frac{\text{Absorbansi sampel (As)}}{\text{Absorbansi standar (Ast)}} \times \text{menit (U/mg protein/menit)}$$

Aktivitas katalase (Cat) menurut Alici dan Gulnur (2016), dilakukan menggunakan campuran pereaksi pirogalol, buffer pospat pada pH 6. Tambahkan 4 µl protein dalam campuran pereaksi dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit. Absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 240 nm. Menurut Singh dan Malik (1980), aktivitas Cat dihitung dengan menggunakan satuan rumus:

$$\text{Aktivitas CAT} = \frac{\text{Absorbansi sampel (As)}}{\text{Absorbansi standar (Ast)}} \times \text{menit (U/mg protein/menit)}$$

### Analisis Data

Analisis data hasil pengukuran pH, kadar Fe, Mn dan SO<sub>4</sub>, dan aktivitas PPO, PO dan CAT dianalisis dengan pemusatan data rata-rata dan standar deviasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas enzim antioksidan pada akar *E. dulcis* dalam fitoremediasi air asam tambang batubara didapatkan hasil sebagai berikut :

### Aktivitas Enzim Antioksidan

Aktivitas peroksidase (PO), polifenol oksidase (PPO), dan Katalase (Cat) pada akar *E. dulcis* dalam fitoremediasi AAT di Air Laya 02. dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas enzim antioksidan pada akar *E. dulcis* dalam fitoremediasi AAT di Air Laya 02.

Enzim Antioksidan	Aktivitas ± sd (U/mg protein/menit)
Peroksidase (PO)	178,98 ± 5,04
Polifenol Oksidase (PPO)	388,96 ± 27,58
Katalase	184,34 ± 23,27

Keterangan : ± : Standar Deviasi

Pada Tabel 1. dapat dilihat aktivitas enzim antioksidan pada akar *E. dulcis*, yaitu aktivitas PO 178,98 U/mg protein/menit, PPO 388,96 U/mg protein/menit, dan Cat 184,34 U/mg protein/menit. Aktivitas enzim antioksidan ini merupakan respons fisiologi tumbuhan saat berada di bawah cekaman logam berat. Logam berat mengakibatkan tumbuhan mengalami stress oksidatif sehingga meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) secara berlebihan. ROS yang berupa radikal bebas hidroksil, radikal bebas



superoksida dan spesies radikal non-bebas hidrogen peroksida dapat dinetralkan dengan enzim antioksidan, atau dengan kehadiran asam organik seperti asam sitrat dan asam askorbat yang dapat mencegah terbentuk dan menentralkan radikal bebas (Juswardi *et al.*, 2022).

Stress oksidatif akibat cekaman logam berat dalam AAT pada *E. dulcis* mengakibatkan terbentuknya ROS. Keberadaan ROS yang berlebihan di dalam sel dapat menyebabkan kerusakan protein, asam nukleat, asam amino serta menyebabkan peroksidasi lipid membran. Respons akibat akumulasi ROS tersebut tumbuhan mampu memberikan sinyal untuk mengaktifkan enzim antioksidan. Hal ini dijelaskan Ding *et al.*, (2020), tumbuhan memberikan respons fisiologi terhadap cekaman logam berat melalui peningkatan enzim antioksidan. Toleransi tumbuhan terhadap cekaman abiotik seiring dengan peningkatan produksi enzim antioksidan dalam sel tumbuhan.

Parameter faktor lingkungan AAT di KPL Air Laya 02 pada vegetasi *E. dulcis* yang digunakan sebagai agen fitoremediator, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kondisi faktor lingkungan AAT pada inlet, wetland dan outlet dengan vegetasi *E. dulcis* di Air Laya 02

Parameter	Baku Mutu Lingkungan	Satuan	Inlet	Wetland	Outlet
pH	6 – 9	-	5,6	5,9	7,7
Fe	7	mg/L	7,88	0,38	0,25
Mn	4	mg/L	1,71	1,37	0,75

Faktor lingkungan yang diamati pada *inlet*, *wetland*, dan *outlet* KPL Air Laya 02 terlihat ada perubahan pH AAT dari lokasi *inlet* 5,6, *wetland* 5,9, dan *outlet* 7,7. Perubahan pH tersebut diduga terjadi karena proses fitoremediasi AAT oleh *E. dulcis*. Menurut Ariyani *et al.*, (2014), fitoremediasi adalah suatu teknologi yang menggunakan tanaman untuk memperbaiki sebagian kontaminan tertentu dalam tanah, endapan, air-tanah, air permukaan dan air limbah. *E. dulcis* tergolong tumbuhan yang mampu beradaptasi dengan baik di habitat yang terpapar logam berat sehingga memiliki mekanisme pertahanan diri terhadap logam berat. pH yang rendah pada *inlet* sebelum AAT mengalami remediasi disebabkan oleh konsentrasi logam Fe dan Mn yang terlarut pada AAT, disamping logam berat lainnya. Nilai pH tersebut tersebut dipengaruhi oleh adanya hidroksida, karbonat dan bikarbonat. pH perairan yang rendah dapat



meningkatkan kelarutan logam berat karena logam berat umum mudah terlarut dalam kondisi perairan yang asam. Vegetasi *E. dulcis* yang tumbuh pada *wetland* diduga berfungsi untuk menyerap logam berat khususnya logam Fe dan Mn dan juga menaikkan pH AAT. Kemampuan penyerapan ion dan menaikkan pH tersebut berbeda-beda tergantung jenis tumbuhan, waktu retensi, sistem pengolahan dan lainnya. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Yunus & Prihatini (2018), *E. dulcis* dapat menaikkan pH AAT dari 3,20 menjadi 5,31 dengan rentang waktu 25 hari pada lahan basah buatan.

Kadar Fe terlarut pada AAT di *inlet* 7,88 mg/l, setelah dialirkan ke *wetland* dengan vegetasi *E. dulcis* kadar Fe menjadi 0,38 mg/l. Penurunan kadar Fe pada *wetland* disebabkan kemampuan tumbuhan ini dalam mengakumulasi logam baik pada akar dan tajuk tumbuhan. Kemampuan tumbuhan dalam akumulasi logam dipengaruhi oleh logam terlarut dan pH yang dapat menyebabkan logam menjadi bentuk tersedia. Menurut Susilawati & Indrayati (2016), *E. dulcis* mampu menurunkan kadar Fe terlarut pada air 6-27 ppm serta sulfat 30-75 ppm. Hasil tersebut didapatkan pada daerah rawa pasang surut dengan kadar pH<3,5 dengan unsur beracun didominasi oleh aluminium, besi dan sulfat.

Kadar Mn pada AAT di lokasi *wetland* 1,37 mg/l dan setelah mengalami remediasi oleh *E. dulcis* dan dialirkan ke outlet menjadi 0,75 mg/l. Kemampuan *E. dulcis* dalam menyerap logam Mn lebih sedikit dibandingkan dengan logam Fe, hal ini disebabkan kebutuhan Fe tumbuhan juga lebih besar dari Mn. Menurut Ariyani (2014), tumbuhan *E. dulcis* mampu menyerap logam Mn pada AAT sebesar 0,0596 mg/g sampel-0,2364 mg/g sampel. Unsur Fe dan Mn merupakan hara mikro dan kebutuhan unsur Fe lebih besar dari Mn sehingga tumbuhan menyerap Mn lebih sedikit logam Mn dibandingkan Fe.

Logam berat terlarut pada AAT menyebabkan stress oksidatif tumbuhan sehingga menyebabkan kerusakan membran dan mengubah metabolisme sel, mengganggu mekanisme fotosintesis, pertumbuhan, dan dapat menyebabkan kematian tumbuhan. Tumbuhan mampu mengembangkan mekanisme dalam menghadapi cekaman logam berat dengan mekanisme toleransi atau mekanisme pencegahan. Mekanisme pencegahan bertindak sebagai pencegah logam berat agar tidak terakumulasi ke dalam sel tumbuhan dengan membentuk lapisan logam pada permukaan akar yang disebut *iron*





plaque (Effendi *et al.*, 2015). Mekanisme toleransi dengan pertahanan antioksidan berupa enzimatis maupun non-enzimatis (Sharma *et al.*, 2012).

Berdasarkan Tabel 1. aktivitas enzim antioksidan pada akar *E. dulcis* menunjukkan *E. dulcis* melakukan mekanisme toleransi dengan ditandai respons fisiologi berupa enzim antioksidan agar melindungi dirinya terhadap stress oksidatif untuk mencegah produksi radikal bebas secara berlebihan atau menyeimbangkan radikal bebas yang terbentuk. Aktivitas enzim antioksidan diketahui responsif terhadap perubahan lingkungan baik berupa cekaman biotik berupa serangan hama atau penyakit tanaman dan cekaman abiotik berupa akumulasi logam berat di lingkungan (Sharma *et al.*, 2012).

Limbah yang dihasilkan dari proses penambangan berupa AAT memiliki pH yang rendah dan bersifat asam (Tabel 2.) dan memudahkan kelarutan logam berat serta menjadi bentuk yang tersedia. Kondisi pH yang asam tersebut mengakibatkan tumbuhan mengalami stress logam berat. *E. dulcis* mampu melakukan mekanisme pertahanan diri dari kerusakan stress oksidatif dan mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas dengan mekanisme enzimatis maupun non enzimatis yang berperan dalam mencegah terjadinya kerusakan sel. Menurut Bashri dan Prasad (2015), mekanisme enzimatis berupa enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), askorbat peroksidase (APX), peroksidase (PO), polifenol oksidase (PPO), dan senyawa antioksidan non enzimatis seperti prolin, asam askorbat, dan karotenoid.

Aktivitas enzim antioksidan pada akar tanaman *Thypha angustifolia* dalam fitoremediasi air asam tambang yang dilakukan di wetland PIT 3 Banko Barat, Tanjung Enim, Sumatera Selatan dengan pH 4,0 mempengaruhi aktivitas enzim marka lingkungan pada akar *T. angustifolia*. Aktivitas PO 56,98 U/mg protein/menit, PPO 20,59 U/mg protein/menit, dan CAT 49,62 U/mg protein/menit. Faktor lingkungan berupa kadar logam berat dan pH mampu mempengaruhi aktivitas enzim tersebut (Lestari, 2020).

### Aktivitas Peroksidase (PO)

Berdasarkan Tabel 1. aktivitas peroksidase (PO) pada akar *E. dulcis* menunjukkan sebesar 178,98 U/mg protein/menit. Respons adaptasi *E. dulcis* ditandai dengan adanya peningkatan aktivitas PO dalam menanggapi keberadaan logam berat yang berlebihan di lingkungannya. Hal tersebut selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Xue-hong *et*



al., (2007), terdapat peningkatan aktivitas peroksidase dengan meningkatnya konsentrasi logam berat cadmium dalam tanah.

Aktivitas PO pada *E. dulcis* berfungsi penting dalam metabolisme sel karena dapat mendegradasi molekul ROS yang terbentuk akibat cekaman oksidatif. Molekul ROS berupa hidrogen peroksida berperan sebagai substrat PO dalam menghasilkan air dan oksigen. Menurut Pandey (2017), ROS yang diproduksi oleh dinding sel dan organel sel pada tingkat seluler diatur jumlahnya oleh PO. Menurut Yuslianti (2018), menjelaskan bahwa peroksidase kelas III pada tumbuhan memiliki fungsi mengkatalis hidrogen peroksida melalui donor molekul yang dapat memperkuat pertahanan dinding sel terhadap luka, cekaman abiotik akibat lingkungan serta katabolisme auksin dan biosintesis metabolit sekunder

### **Aktivitas Polifenol Oksidase (PPO)**

Aktivitas polifenol oksidase (PPO) pada akar *E. dulcis* dalam fitoremediasi logam berat AAT 388,96 U/mg protein/menit (Tabel 1.). Berdasarkan nilai aktivitas dari ketiga enzim antioksidan yang diteliti jumlah kelarutan logam berat dan pH AAT berhubungan erat terhadap tingginya aktivitas PPO. Hal tersebut menandakan bahwa terdapat respons fisiologi tumbuhan *E. dulcis* selama proses fitoremediasi sebagai akibat dari cekaman logam berat. Menurut Mayer (2006), menyatakan bahwa kemunculan PPO berkaitan erat terhadap cekaman abiotik yang berkaitan dengan lingkungan diantaranya cekaman kekeringan, genangan dan logam berat.

Pengamatan morfologi sampel akar *E. dulcis* yang digunakan untuk aktivitas enzim menunjukkan warna akar yang berwarna coklat kehitaman. Warna akar pada *E. dulcis* menandakan adanya aktivitas PPO dari reaksi oksidasi fenol-quinon. Indikator pigmen pada akar tersebut menandakan bahwa PPO bekerja pada kondisi cekaman lingkungan akibat logam berat. Menurut Handayanto *et al.*, (2017), logam berat pada konsentrasi tertentu, akar yang tercekam dapat melakukan perlindungan diri dengan menghasilkan lebih banyak enzim antioksidan sebagai pertahanan terhadap kerusakan oksidatif di bawah cekaman logam berat.

### **Aktivitas Katalase (Cat)**



Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan didapatkan hasil aktivitas katalase (Cat) pada akar *E. dulcis* sebesar 184,34 U/mg protein/menit. Cat merupakan enzim antioksidan yang berfungsi melindungi sel tanaman dari cekaman logam berat. Menurut Lin *et al.*, (2015), perubahan aktivitas Cat dapat digunakan sebagai indikator untuk faktor lingkungan yang merugikan dari kerusakan biologi.

Aktivitas Cat dan PO bekerja secara simultan dalam sel tanaman. Berdasarkan Tabel 1. aktivitas enzim antioksidan pada akar *E. dulcis* menunjukkan aktivitas Cat yang lebih tinggi dibandingkan PO. Diduga Cat pada akar *E. dulcis* lebih efisien dalam mengkatalisis hidrogen peroksida menjadi molekul air dan oksigen. Didukung oleh pernyataan Gutiérrez-Martínez *et al.* (2020), aktivitas Cat pada akar tanaman *Phaseolus vulgaris* lebih efisien dalam menghilangkan hidrogen peroksida dibandingkan PO tergantung pada konsentrasi logam yang terlarut dan spesies tanaman dalam merespons cekaman logam berat. Menurut Cuypers *et al.* (2016), hidrogen peroksida penting diamati karena menentukan laju katalisis Cat serta berperan dalam menanggapi rangsangan internal dan eksternal untuk meningkatkan toleransi stress.

## SIMPULAN

Aktivitas enzim antioksidan berupa PO 178,98, PPO 388,96 dan Cat 184,34 U/mg protein/menit dalam fitoremediasi air asam tambang di KPL Air Laya 02 merupakan respons fisiologi terhadap cekaman logam berat pada AAT. Tumbuhan *E. dulcis* mampu toleran terhadap logam berat yang tinggi dan pH rendah serta berpotensi digunakan sebagai agen fitoremediasi AAT.

## DAFTAR PUSTAKA

- ADN, M. S., Badruzsaufari, B., Yusran, F. H., & Pujawati, E. D. (2014). Kemampuan Tanaman Ekor Kucing (*Typha Latifolia*) Dan Purun Tikus (*Eleocharis Dulcis*) Dalam Penurunan Konsentrasi Fe Dan Mn Dari Air Limbah Pit Barat PT Pampersada Nusantara Distrik Kcmb Kabupaten Banjar. *EnviroScienceae*, 10(2), 80-87.
- Ariyani, D., Syam, R., Utami, U. B. L., & Nirtha, R. I. (2014). Kajian absorpsi logam Fe dan Mn oleh tanaman purun tikus (*Eleocharis dulcis*) pada air asam tambang secara fitoremediasi. *Sains dan Terapan Kimia*, 8(2), 87-93.
- Cuypers, A., Hendrix, S., Amaral dos Reis, R., De Smet, S., Deckers, J., Gielen, H., & Keunen, E. (2016). Hydrogen peroxide, signaling in disguise during metal phytotoxicity. *Frontiers in Plant Science*, 7, 470.



- Ding, Y., Ding, L., Xia, Y., Wang, F., & Zhu, C. (2020). Emerging roles of microRNAs in plant heavy metal tolerance and homeostasis. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(7), 1958-1965.
- Effendi, M. I., Cahyono, P., & Prasetya, B. (2015). Pengaruh toksisitas besi terhadap pertumbuhan dan hasil biomassa pada tiga klon tanaman nanas. *Jurnal Tanah dan Sumberdaya Lahan*, 2(2), 179-189.
- Etikan, I., Musa, S. A., & Alkassim, R. S. (2016). Comparison of convenience sampling and purposive sampling. *American journal of theoretical and applied statistics*, 5(1), 1-4.
- Fadli, F. (2015). Desain Pit Penambangan Batubara Blok C pada PT. Intibuana Indah Selaras Kabupaten Nunukan Provinsi Kalimantan Utara. *Jurnal Geomine*, 1(1).
- Gutiérrez-Martínez, P. B., Torres-Morán, M. I., Romero-Puertas, M. C., Casas-Solís, J., Zarazúa-Villaseñor, P., Sandoval-Pinto, E., & Ramírez-Hernández, B. C. (2020). Assessment of antioxidant enzymes in leaves and roots of *Phaseolus vulgaris* plants under cadmium stress. *Biotecnia*, 22(2), 110-118.
- Handayanto, E., Nuraini, Y., Muddarisna, N., Syam, N., & Fiqri, A. (2017). *Fitoremediasi dan phytomining logam berat pencemar tanah*. Universitas Brawijaya Press.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K., ... & Fujita, M. (2020). Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: a review of recent experimental evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8695.
- Herafi, C., Lingga, R., & Kurniawan, A. (2022). Identification Of Bacteria From Post Tin Mining Pond And Their Ability To Form Biofilms At Different Ph. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 9(1), 42-56.
- Hidayanti, N. (2013). Mekanisme Fisiologis Tumbuhan Hiperakumulator Logam Berat= Heavy Metal Hyperaccumulator Plant Physiology Mechanism. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 14(2), 75-82.
- Juswardi, J., Mukti, W., Tanzerina, N., Junaidi, E., & Wardana, S. T. (2022). Peran antioksidan asam organik pada *Eleocharis dulcis* (Burm. f.) Trin. ex Hesch. sebagai respons terhadap cekaman logam pada fitoremediasi air asam tambang batubara. *Sriwijaya Bioscientia*, 3(1), 1-8.
- Lestari, E. (2020). *Aktivitas Enzim Antioksidan pada Akar Typha angustifolia L. dalam Fitoremediasi Air Asam Tambang Batubara di Wetland PIT 3 Banko Barat*. Skripsi Jurusan Biologi FMIPA. Universitas Sriwijaya : Indralaya
- Lin, H., Peng, Y., Chen, J., & Liang, L. (2015, December). Effect of heavy metal stress on antioxidase enzymes. In *2015 6th International Conference on Manufacturing Science and Engineering* (pp. 871-876). Atlantis Press.
- Mayer, A. M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry*, 67(21), 2318-2331.
- Muradoglu, F., Gundogdu, M., Ercisli, S., Encu, T., Balta, F., Jaafar, H. Z., & Zia-Ul-Haq, M. (2015). Cadmium toxicity affects chlorophyll a and b content, antioxidant enzyme activities and mineral nutrient accumulation in strawberry. *Biological research*, 48(1), 1-7.
- Nasir, S., Purba, M., & Sihombing, O. (2014). Pengolahan air asam tambang dengan menggunakan membran keramik berbahan tanah liat, tepung jagung dan serbuk besi. *Jurnal Teknik Kimia*, 20(3).
- Nguegang, B., Masindi, V., Msagati, T. A. M., & Tekere, M. (2021). The treatment of acid mine drainage using vertically flowing wetland: Insights into the fate of chemical species. *Minerals*, 11(5), 477.
- Ojonimi, T. I., Chanda, T. P., & Ameh, E. G. (2021). Acid mine drainage (AMD) contamination in coal mines and the need for extensive prediction and remediation: a review. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 9(1), 3129-3136.
- Pandey, V. P., Awasthi, M., Singh, S., Tiwari, S., & Dwivedi, U. N. (2017). A comprehensive review on function and application of plant peroxidases. *Biochem Anal Biochem*, 6(1), 308.
- Priyanti, P., & Yunita, E. (2013). Uji Kemampuan Daya Serap Tumbuhan Genjer (*Limnocharis flava*) Terhadap Logam Berat Besi (Fe) dan Mangan (Mn). *Prosiding SEMIRATA 2013*, 1(1).
- Putra, G. G., Wartini, N. M., & Anggreni, A. D. (2010). Karakterisasi enzim polifenol oksidase biji kakao (*Theobroma cacao* Linn.). *Agritech*, 30(3).
- Sharma, A., Ganguly, R., & Gupta, A. K. (2019). Spectral characterization and quality assessment of organic compost for agricultural purposes. *International journal of recycling of organic waste in agriculture*, 8, 197-213.
- Susilawati, A., & Indrayati, L. (2016). Teknologi Penurunan Kadar Fe Air Sawah Pasang Surut Melalui Penggunaan Biofilter Purun Tikus (*Eleocharis dulcis*). *Berita Biologi*, 15(1), 1-6.



- Yunus, R., & Prihatini, N. S. (2018). Fitoremediasi Fe dan Mn air asam tambang batubara dengan eceng gondok (*Eichornia crassipes*) dan purun tikus (*Eleocharis dulcis*) pada Sistem LBB di PT. JBG Kalimantan Selatan. *Jurnal Sainsmat*, 7(1), 73-85.
- Yuslianti, E. R. (2018). Pengantar radikal bebas dan antioksidan. Deepublish.

