|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
|  | **AKTIVITAS ENZIM ANTIOKSIDAN PADA AKAR *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. Ex Henschel DALAM FITOREMEDIASI AIR ASAM TAMBANG BATUBARADI WETLAND AL 02****THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYME IN ROOT OF *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. Ex Henschel ON PHYTOREMEDIATION ACID MINE DRAINAGE AT WETLAND AL 02****Wike Agung Safitri ¹⁾ dan Juswardi¹⁾\***1) Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Sriwijaya, IndonesiaDiterima: Bulan Tahun; Disetujui: Bulan Tahun; Dipublish: Bulan Tahun\*Coresponding Email: juswardi@yahoo.co.id |
|  | **Abstrak**Air asam tambang (AAT) yang terbentuk dari metode penambangan terbuka berbahaya jika dibuang langsung ke perairan karena mengandung logam berat. Usaha yang dilakukan untuk menyerap logam berat dan menetralkan pH pada AAT dapat dilakukan dengan teknik fitoremediasi menggunakan *Eleocharis dulcis*. Respons adaptasi fisiologi *E. dulcis* dalam menghadapi cekaman logam berat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti peroksidase (PO), polifenol oksidase (PPO), and katalase (CAT) untuk mengurangi stress hidrogen peroksida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas PO, PPO, dan CAT pada *Eleocharis dulcis* dalam fitoremediasi AAT sebagai upaya dalam evaluasi peninjauan keberhasilan fitoremediasi AAT. Penelitian ini menggunakan metode *convenience sampling*. Pengukuran kadar logam Fe, dan Mn menggunakan SSA. Ekstraksi protein menggunakan sentrifugasi. Pengukuran kadar protein total, dan aktivitas PO, PPO dan CAT menggunakan metode spektrofotometri 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. Respon 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 logam berat dan dapat digunakan dalam fitoremediasi AAT.**Kata Kunci: Fitoremediasi, Enzim Antioksidan, Eleocharis dulcis, Cekaman Logam Berat*****Abstract****Acid mine drainage (AAT) which is formed from the open pit mining method is dangerous if discharged directly into the waters because it contains heavy metals. Efforts made to absorb heavy metals and neutralize pH in AAT can be carried out using phytoremediation techniques using* Eleocharis dulcis*. The physiological adaptation response of* E. dulcis *in the face of heavy metal stress increases the activity of antioxidant enzymes such as peroxidase (PO), polyphenol oxidase (PPO), and catalase (CAT) to reduce hydrogen peroxide stress. This study aims to determine the activities of PO, PPO, and CAT on* Eleocharis dulcis *in AAT phytoremediation as an effort to evaluate the success of AAT phytoremediation reviews.method* convenience sampling*. Measurement of metal content of Fe and Mn using AAS. Protein extraction using centrifugation. Measurement of total protein content, and activity of PO, PPO and CAT using uv-vis spectrophotometry method. Based on research that has been done* E. dulcis *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 AAT 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 including plants that are tolerant to heavy metals and can be used in phytoremediation of AAT.****Keywords: Phytoremediation, Antioxidant Enzyme, Eleocharis dulcis, Heavy Metal Stress*** |

<http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/jehss> mahesainstitut@gmail.com 1





# PENDAHULUAN

Perusahaan pertambangan di dunia sebagian besar menggunakan metode tambang terbuka yang disebut dengan *open pit mining* atau *open cut mining*. Menurut Fadli *et al.,* (2015), metode *open cut mining* dilakukan dengan cara menggali bahan deposit baik batubara, mineral, ataupun bahan fosil yang terdapat pada batuan. Batuan yang terdapat unsur sulfur akan teroksidasi dan bereaksi dengan air sehingga akan membentuk air asam tambang (AAT).

Perusahaan tambang pada umumnya memiliki cara tersendiri dalam menangani permasalahan lingkungan dengan melihat karakteristik AAT. Terdapat perbedaan pH pada lokasi pengolahan AAT berupa *inlet, outlet* dan *wetland* (Ojinimi *et al.,* 2020*)*. pH AAT berkisar antara 1,2 – 4. pH yang rendah mengakibatkan logam berat tertentu dapat larut seperti aluminium, mangan, kadmium, besi, timah, seng, arsenik dan merkuri, tingkat turbiditas atau kekeruhan yang tinggi dan total padatan yang dapat disuspensi rendah (Nasir *et al.,* 2014).

Pencemaran akibat AAT dapat diatasi salah satunya dengan cara fitoremediasi. Tujuan utama dari teknik fitoremediasi adalah untuk memperkecil dan detoksifikasi polutan dengan menggunakan tumbuhan yang berpotensi untuk meminimalisir polutan baik berupa logam berat dan mineral tinggi yang terkandung di suatu lahan atau perairan (Priyanti dan Etyn, 2013). Tumbuhan yang digunakan dalam fitoremediasi AAT yaitu eceng gondok (*Einchhornia crassipes* Martius), ekor kucing *(Typha angustifolia* L*.)*, purun tikus (*Eleocharis dulcis*) dan beberapa tumbuhan aquatik lain. Kemampuan adaptasi purun tikus di daerah asam yang tinggi tergolong baik karena mampu memfiltrasi Fe dan Mn yang terkandung di lingkungan (Sulthoni *et al*., 2014).

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

Ion – ion logam dapat mengakibatkan tumbuhan mengalami stres dan memicu terbentuknya hidrogen peroksida yang berlebihan. Tumbuhan akan melakukan serangkaian proses untuk mempertahankan dirinya jika berada dalam cekaman.

2

<http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/jehss>

mahesainstitut@gmail.com





Menurut Hasanuzzaman *et al.,* (2020), sistem yang digunakan tanaman untuk pertahanan diri dapat berupa pertahanan secara enzimatis yaitu enzim antioksidan dan non-enzimatis berupa asam amino. Enzimatis dan non-enzimatis bertugas melindungi sel tanaman dari kerusakan oksidatif dengan cara mengatur kaskade oksidasi. Aktivitas enzimatik pada tumbuhan dapat berubah dengan adanya stres logam yang mengakibatkan tumbuhan akan memproduksi enzim antioksidan lebih banyak dibandingkan dalam kondisi normal ( Hidayati, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim PO, PPO, dan CAT sebagai respons adaptasi fisiologi pada (*Eleocharis dulcis*) dalam fitoremediasi limbah Air Asam Tambang pada kondisi *wetland* AL 02.

# METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2021 sampai dengan Maret 2022 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 tumbuhan *E. dulcis* dilakukan di *inlet, wetland* dan *outlet* AL 02 PT. Bukit Asam, Tanjung Enim, Sumatera Selatan.

# Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu Appendorf, batang pengaduk, *cool box*, cuvet, gelas ukur, labu ukur, mikropipet, mortar, pH meter, pipet ukur, sentrufuge, spektrofotometer uv-vis dan timbangan analitik. Bahan yang digunakan adalah air asam tambang PT. Bukit Asam Tbk, Tanjung enim, buffer fosfat pH 6.8, buffer tris-HCl pH 8.0, peroksida 10 mM, pirogalol 10 mM, protein standar BSA, Reagen Biuret dan sampel tumbuhan *E. dulcis*.

# Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel air asam tambang dilakukan dengan metode *Convenience sampling. Convenience sampling* adalah sebuah metode pengambilan sampel yang dilakukan dengan mempertimbangkan kriteria akses yang lebih mudah, kedekatan

geografis sehingga memudahkan peneliti dalam mengambil sampel untuk penelitian (Etikan *et al.,* 2016).

# Pengukuran pH pada Air Asam Tambang

Pengukuran pH AAT dilakukan menggunakan pH meter. Setelah pH meter dikalibrasi, kemudian diambil setetes AAT untuk dimasukkan kedalam tempat ukur dengan sensor pH pada pH meter, kemudian ditekan tombol pH dan dilihat hasil pengukuran pH.

# Pengukuran Kadar Fe pada Air Asam Tambang

Perhitungan total Fe dilakukan pada awal penelitian. Analisis dilakukan berdasarkan SNI 06-6989.4 Tahun 2009 dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)-nyala. Sampel AAT diambil sebanyak 50 mL diletakkan ke dalam gelas beaker, kemudian ditambahkan 2.5 mL HNO3 lalu dipanaskan di atas hotplate sampai menguap dan tersisa 25 mL, lalu ditambahkan 25 mL aquades, ditetapkan 50 mL dengan aquades. Sampel AAT dianalisis menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang 248.3 nm. Kadar konsentrasi besi (Fe) dihitung dengan rumus :

Kadar Fe mg/L = C x fp (SNI 06-6984.4 Tahun 2009) Keterangan : C : Kadar yang didapatkan dari hasil pengukuran (mg/L)

fp: Faktor pengencer

# Pengukuran Kadar Mn pada Air Asam Tambang

Perhitungan total Mn dilakukan pada awal penelitian. Analisis dilakukan berdasarkan SNI 06-6989.5 Tahun 2004 dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)-nyala. Sampel AAT diambil sebanyak 50 mL diletakkan ke dalam gelas beaker, kemudian ditambahkan 2.5 mL  lalu dipanaskan di atas hotplate sampai

menguap dan tersisa 25 mL, lalu ditambahkan 25 mL aquadest, ditetapkan 50 mL dengan aquadest. Sampel AAT dianalisis menggunakan spektrofotometri Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang 279.5 nm.

Kadar konsentrasi besi (Mn) dihitung dengan rumus :

4 <http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/jehss>

mahesainstitut@gmail.com

4

*Vol .., No. .., Bulan Tahun: 1 -10*

Kadar Mn (mg/L) = C x fp (SNI 06-6989.5 Tahun 2004) Keterangan :

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

# Pengukuran Kadar Sulfat () pada Air Asam Tambang

Perhitungan total sulfat dilakukan pada awal penelitian. Analisis dilakukan berdasarkan SNI 06-6989.20 Tahun 2009 dengan metode Turbidimetri. Buffer A disiapkan terlebih dahulu, kemudian sampel AAT diambil sebanyak 50 mL diletakkan ke dalam gelas beaker, kemudian ditambahkan buffer A 20 mL, lalu ditambahkan sedikit  dan diaduk secara konstan menggunakan magneticstirer selama 60 detik,

kemudian dimasukkan kedalam kuvet yang terdapat pada spektrofotometer dan dianalisis pada panjang gelombang 420 nm. Kadar () dihitung dengan rumus :

Kadar () (mg/L) = C x fp (SNI 06-6989.5 Tahun 2004)

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

# Ekstraksi Protein

Akar *E. dulcis* diekstrak dengan mengikuti Metode Widiyanto dalam Harmida & Juswardi (2001:15) sebanyak 200 mg akar sampel digerus dan dihomogenkan dalam 2 ml buffer Tris – HCl pH 8,0. Homogenat yang diperoleh kemudian disetrifuge pada kecepatan 12.500 g pada suhu 0°C selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam tabung tub dan disimpan pada suhu 0-4°C untuk digunakan pada analisis kadar protein total dan aktivitas enzim.

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

Menurut Juswardi dan Harmida (2001), penentuan kadar protein total dilakukan dengan reagen biuret dan protein standar dari biosistem yang dimodifikasi. Absorbansi protein standar (Ast) diukur dari campuran 400 µl protein standar (Bovin Serum

<http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/Jons> mahesainstitut@gmail.com 5



Albumin), 400 µl aquades 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 aquades. Pengukuran absorbansi (A) dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 545 nm. Pengukuran kadar protein total dengan rumus :

Kadar Protein Total =  x 4 µg/ml protein

Aktivitas Peroksidase (PO) ditentukan menggunakan metode Widiyanto dalam Juswardi & Harmida (2001:18). Dilakukan pengukuran aktivitas PO menggunakan campuran pereaksi 10 mM pirogalol, 0,0025 mM buffer pospat pada pH 6,8 ke dalam 1 mL campuran pereaksi ditambahkan 10 mM peroksida (H2O2) dan 4 µl protein dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit. Diukur hasil oksidasi pirogalol (purpurogalin) dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Aktivitas PO dihitung dengan menggunakan satuan rumus :

Aktivitas PO =  x menit (U/mg protein/menit)

Aktivitas polifenol oksidase (PPO) ditentukan menggunakan metode widiyanto dalam juswardi & harmida (2001:19). Dilakukan pengukuran aktivitas PPO menggunakan campuran pereaksi 10 mM pirogalol, 0,0025 mM buffer pospat pada pH 6,8 ke dalam 1 mL ditambahkan 4 µl protein dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 menit. Diukur hasil oksidasi pbirogalol dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Aktivitas PPO dihitung dengan menggunakan satuan rumus :

Aktivitas PPO =  x menit (U/mg protein/menit)

Pengukuran katalase mengikuti Alici dan Gulnur (2016). Dilakukan pengukuran aktivitas CAT menggunakan campuran pereaksi 10 mM pirogalol, 0,0025 mM buffer pospat pada pH 6.8 dalam 1 ml dan 4 µl protein dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit. Diukur hasil penurunan absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan

6 <http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/jehss>

mahesainstitut@gmail.com

6



*Vol .., No. .., Bulan Tahun: 1 -10*

panjang gelombang 240 nm. Menurut Singh dan Malik (1980), aktivitas CAT dihitung dengan menggunakan satuan rumus :

Aktivitas CAT =  x menit (U/mg protein/menit)

# Analisis Data

Analisis data yang digunakan berupa data kuantitatif untuk pengukuran pH, kadar Fe, Mn dan SO4. dan pada data aktivitas PPO, PO dan CAT akan disajikan dengan tabel analisis pemusatan data dan standar deviasi.

# HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang aktivitas enzim antioksidan pada akar *Eleocharis dulcis* dalam fitoremediasi air asam tambang batubara maka diperoleh hasil sebagai berikut :

# Aktivitas Enzim Antioksidan

Aktivitas enzim antioksidan meliputi polifenol oksidase (PPO), peroksidase (PO), dan Katalase (CAT) pada akar *E. dulcis* dalam fitoremediasi air asam tambang batubara di air laya 01. Aktivitas PPO, PO, dan CAT pada *E. dulcis* dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Aktivitas Enzim Antioksidan Akar *E. dulcis* dalam Fitoremediasi Air Asam Tambang di PT. Bukit Asam, Tanjung Enim, Sumatera Selatan.

|  |  |
| --- | --- |
| 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

Berdasarkan Tabel 4.1. yang menunjukkan aktivitas enzim antioksidan pada akar

*E. dulcis* berupa PO dengan aktivitas 178,98 U/mg protein/menit, PPO 388,96 U/mg

<http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/Jons>

mahesainstitut@gmail.com

7



protein/menit, dan CAT 184,34 U/mg protein/menit. Aktivitas enzim antioksidan pada Tabel 4.1 menunjukkan respons fisiologi tumbuhan *E. dulcis* ketika mengalami cekaman logam berat. Logam berat mengakibatkan tumbuhan *E. dulcis* mengalami stress oksidatif dan meningkatkan produksi ROS secara berlebihan. ROS berupa radikal bebas hidroksil, radikal bebas superoksida dan spesies radikal non-bebas hidrogen peroksoda dapat dinetralkan dengan enzim antioksidan (Zengin dan Monzuroglu*,* 2005).

Cekaman logam berat AAT pada *E. dulcis* mengakibatkan terjadinya stress oksidatif dan terbentuknya *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). ROS yang diproduksi secara berlebihan dalam sel dapat menyebabkan kerusakan protein, asam nukleat, asam amino serta menyebabkan peroksidasi lipid membran. Akumulasi ROS yang berlebihan tersebut mampu memberikan sinyal bagi tanaman untuk mengaktifkan aktivitas enzim antioksidan. Menurut Ding *et al.,* (2020), tumbuhan melakukan respons fisiologi terhadap cekaman logam berat dengan meningkatkan produksi enzim antioksidan. Didukung oleh Chaundary *et al.,* (2012), toleransi tumbuhan terhadap cekaman abiotik seiring dengan peningkatan produksi enzim antioksidan dalam sel tumbuhan.

Berdasarkan pengukuran parameter lingkungan Air Asam Tambang di kawasan Air Laya 02 PT. Bukit Asam Tbk, Tanjung Enim dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Kondisi Air Asam Tambang Inlet, Wetland dan Outlet dengan vegetasi *E.dulcis*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Parameter | Baku MutuLingkungan | 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 |

Pengukuran parameter lingkungan yang telah dilaksanakan di *inlet, wetland,* dan *outlet* PT. Bukit Asam, Tanjung Enim dapat dilihat pada tabel 4.2. Berdasarkan Tabel 4.2. terdapat perubahan pH AAT dari lokasi *inlet* 5,6, *wetland* 5,9, dan *outlet* 7,7. Perubahan pH tersebut terjadi karena adanya proses fitoremediasi AAT oleh *E. dulcis*. Menurut Ariyani (2014), fitoremediasi adalah suatu teknologi yang menggunakan tanaman untuk

8 <http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/jehss>

mahesainstitut@gmail.com

8



*Vol .., No. .., Bulan Tahun: 1 -10*

memperbaiki sebagian kontaminan tertentu dalam tanah, endapan, air tanah, air permukaan dan air limbah. Didukung oleh Suprapto dan Nova (2019), tumbuhan *E. dulcis* tergolong tumbuhan yang mampu beradaptasi dengan baik di habitat yang terpapar logam berat sehingga memiliki mekanisme pertahanan diri terhadap logam berat.

Rendahnya nilai pH pada *Inlet* AAT berhubungan dengan tingginya konsentrasi logam Fe dan Mn yang terlarut pada AAT serta logam berat lainnya. Peningkatan pH tersebut dipengaruhi oleh adanya hidroksida, karbonat dan bikarbonat. Menurut Robi *et al.* (2021), pH perairan yang rendah meningkatkan kelarutan logam berat karena logam berat mudah terlarut dalam perairan yang asam. Vegetasi *E. dulcis* yang tumbuh pada lokasi *wetland* berfungsi untuk meyerap logam berat yang terlarut dan menetralkan pH AAT. Kemampuan penyerapan ion tersebut berbeda - beda tergantung jenis tumbuhan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yunus dan Nopi (2018), *E. dulcis* dapat menaikkan pH air asam tambang dari 3,20 menjadi 5,31 dengan rentang waktu 25 hari pada lahan basah buatan.

Pengukuran kadar Fe terlarut pada AAT di lokasi *inlet* sebesar 7,88 mg/l. setelah dialirkan ke *Wetland* dengan vegetasi *E. dulcis* kadar Fe menjadi 0,38 mg/l. Penurunan kadar Fe yang lebih besar dibandingkan Mn tersebut karena tumbuhan memiliki kebutuhan Fe lebih besar dibandingkan dengan Mn. Menurut Linda (2011), *E. dulcis* mampu menurunkan kadar logam Fe yang terlarut pada air 6 – 27 ppm serta sulfat 30 – 75 ppm. Penelitian tersebut dilakukan pada daerah rawa pasang surut dengan kadar pH

<3,5 dengan unsur beracun didominasi oleh aluminiun, besi dan sulfat.

Kelarutan logam berat Mn pada AAT pada lokasi *Wetland* sebesar 1,37 mg/l*.* Setelah mengalami fitoremediasi oleh *E. dulcis* dan dialiran ke lokasi oulet menjadi 0,75 mg/l. Kemampuan *E. dulcis* dalam menyerap logam Mn lebih sedikit dibandingkan dengan logam Fe. Menurut Ariyani (2014), tumbuhan *E. dulcis* mampu menyerap logam Mn pada AAT sebesar 0,0596 mg/g sampel – 0,2364 mg/g sampel. Mn merupakan unsur hara mikro sehingga tanaman *E. dulcis* hanya mampu menyerap sedikit logam Mn dibandingkan Fe. Menurut Rout *et al.,* (2015), logam Fe berperan penting dalam proses metabolisme tumbuhan seperti fotosintesis, respirasi dan sintesis DNA. Kebutuhan Fe

9

<http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/Jons>

mahesainstitut@gmail.com



yang tidak terpenuhi pada tumbuhan akan menyebabkan gangguan nutrisi menyebaban tumbuhan menjadi kerdil.

Kadar kebutuhan logam Mn pada tumbuhan lebih rendah dibandingkan dengan Fe. Mn termasuk kedalam salah satu mikronutrien yang penting dalam proses metabolisme sel tumbuhan. Mikronutrien penting bagi tumbuhan diantaranya adalah Cu, Fe, Zn dan Mn. Menurut Nguegang *et al.,* (2021), mikronutrien penting untuk fungsi mitokondria, pembentukan kloroplast dan sintesis enzim.

Logam berat terlarut pada AAT menyebabkan stress oksidatif tumbuhan *E. dulcis* sehingga menyebabkan kerusakan membran dan mengubah metabolisme sel, mengganggu mekanisme fotosintesis, pertumbuhan, dan 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 permukan 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 4.1. 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 okidatif untuk mencegah produksi radikal bebas secara berlebihan. 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 air asam tambang memiliki pH yang bersifat asam (Tabel 4.2.) dan memudahkan kelarutan logam berat. Kondisi pH yang asam tersebut mengakibatkan *E. dulcis* 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

10 <http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/jehss> mahesainstitut@gmail.com 10

*Vol .., No. .., Bulan Tahun: 1 -10*

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.

Aktvitas 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 wetland 5,4 dengan kadar Fe 2 mg/ L dan Mn 2 mg/L mempengaruhi aktivitas enzim antioksidan pada akar *T. Angustifolia*. Data aktivitas enzim menunjukkan aktivitas PO 56,98 U/mg protein/menit, PPO 20,59 U/mg protein/menit, dan CAT 49,62 U/mg protein/menit. Parametere lingkungan berupa kadar logam berat dan pH mampu mempengaruhi aktivitas enzim antioksidan (Lestari, 2020).

# Aktivitas Polifenol Oksidase

Aktivitas polifenol oksidase (PPO) pada akar *E. dulcis* dalam fitoremediasi logam berat AAT dihitung dengan 3 kali pengulangan pada satu stasiun dan diperoleh data 388,96 U/mg protein/menit (Tabel 4.1.). Berdasarkan nilai aktivitas dari ketiga enzim antioksidan yang diteliti jumlah kelarutan logam berat dan pH AAT berhubungan erat terhadap tingginya aktivitas enzim 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 enzim PPO berkaitan erat terhadap cekaman abiotik yang berkaitan dengan lingkungan diantaranya cekaman kekeringan, genangan dan logam berat.

Aktivitas PPO berkaitan erat dengan terbentuknya senyawa fenol yang disebabkan karena adanya cekaman logam berat yang terlarut pada air asam tambang. PPO penting bagi tumbuhan untuk melakukan reaksi oksidasi dan hidroksi dalam menghasilkan senyawa quinon. Reaksi hidroksilasi merupakan tipe reaksi monofenol menjadi difenol dan tipe reaksi oksidasi adalah reaksi difenol menjadi quinon (Putra *et al.,* 2010).

11

<http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/Jons>

mahesainstitut@gmail.com

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 enzim PPO dari reaksi oksidasi fenol – quinon. Indikator pigmen pada akar tersebut menandakan bahwa PPO bekerja pada kondisi cekaman lingkungan akibat logam berat. Menurut Souza *et al.,* (2015), pada konsentrasi tertentu akar yang tercekam dapat melakukan perlindungan diri dengan menghasilkan lebih banyak enzim antioksidan sebagai pertahanan terhadap kerusakan oksidatif dibawah tekanan logam berat.

# 4.1.2 Aktivitas Peroksidase

Berdasarkan Tabel 4.1. aktivitas enzim peroksidase (PO) pada akar tanaman *E. dulcis* menunjukkan angka 178,98 U/mg protein/menit. Respons adaptasi *E. dulcis* ditandai dengan adanya peningkatan aktivitas enzim 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 enzim 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 enzim peroksida 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 Csiszar *et al.,* (2012), menjelaskan bahwa peroksidase kelas III pada tumbuhan memiliki fungsi mengkatalis hidrogen peroksida melalui donor molekul yang dapat memperkokoh pertahanan dinding sel terhadap luka, cekaman abiotik akibat lingkungan serta katabolisme auksin dan biosintesis metabolit sekunder

# Aktivitas Catalase

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan didapatkan hasil aktivitas enzim 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.

12 <http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/jehss> mahesainstitut@gmail.com 12

*Vol .., No. .., Bulan Tahun: 1 -10*

Menurut Lin *et al.,* (2015), perubahan aktivitas CAT dapat digunakan sebagai indikator untuk faktor lingkungan yang merugikan dari kerusakan biologi. Didukung oleh pernyataan Lestari (2020), kelarutan logam berat pada habitat tumbuhan berhubungan terhadap aktivitas CAT .

Aktivitas enzim CAT dan PO bekerja secara simultan dalam sel tanaman. Berdasarkan Tabel 4.1. aktivitas enzim antioksidan pada akar *E. dulcis* menunjukkan aktivita 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 Gutierre-Martines *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.

*E. dulcis* yang tercekam memberikan sinyal berupa terbentuknya ROS secara berlebihan di dalam sel baik berupa oksigen singlet maupun hidrogen peroksida, sehingga tumbuhan memerlukan bantuan CAT yang berperan penting dalam mengkatalis hidrogen peroksida agar tidak beracun bagi sel. Menurut Yang dan Poovaian (2001), CAT pada tumbuhan berperan dalam mengkatalis hidrogen peroksida menjadi molekul air dan oksigen. Didukung oleh pernyataan Jibril (2018), terdapat dua peran penting enzim katalase dalam sel yaitu mampu memanfaatkan hidrogen peroksida yang berlebihan dalam oksidasi fenol dan alkohol dari cekaman oksidatif.

# SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, Aktivitas enzim antioksidan dalam fitoremediasi air asam tambang di Wetland AL 02 berupa PO 178,98, PPO 388,96 dan CAT 184,34 U/mg protein/menit termasuk respons fisiologi dalam cekaman logam berat sehingga tumbuhan *E. dulcis* tergolong kedalam tumbuhan yang toleran terhadap lingkungan yang mengandung kadar logam berat yang tinggi dan pH rendah serta dapat digunakan sebagai agen fitoremediasi.

13

<http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/Jons>

mahesainstitut@gmail.com

# DAFTAR PUSTAKA

Ariyani, D., Ramlah, S., Umi, B., Nirtha., dan Indah, Rd. 2014. Kajian Absorbansi Logam Fe dan Mn Oleh Tanaman Purun Tikus (*Eleocharis dulcis*) pada Air Asam Tambang Secara Fitoremediasi. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. 8 (2) : 87 – 93.

Csiszar, J., Agnes, G., Edit, H., Piroska, D., Magdolna, G., Zsolt, V., Laszlo, E., Janos, G., and Irma, T*.* 2012. Different Peroxidase Activities and Expression of Abiotik Stress- relates Peroxidases in Apical Root Segments of Wheat Genotypes with Different Drought Stress Toleranse Under Osmotic Stress. Plant Physiology and Biochemistry. 52 : 119 – 129.

Cuypers, A., Hendrix, S., Amaral dos Reis, R., De Smet, S., Deckers, J., Gielen, H., Jozefczak, M., Loix, C., Vercampt, H., Vangronsveld, J., and Keunen, E. 2016. Hydrogen peroxide, signaling in disguise during metal phytotoxicity. Frontiers in Plant Science. 7: 470.

Ding, Y., Lihong, D., Yiji, X., Feijuan, W., and Cheng, Zhu. 2020. Emerging Roles Of MicroRNAs in Plant Heavy Metal Tolerance and Homeostatis. *Journal of Agricultur and Food Chemistry*. 11 – 12.

Effendi, M., Priyo, C., dan Budi, P. 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., Sulaiman, A., dan Rukayya, A. 2016. Comparison of Convenience Sampling and Purposive Sampling. *Journal of Theorotical and Applied Statistic*. 5 (1) : 1 – 4.

Fadli., Sri, W., dan Agus, A. 2015. Desain PIT Penambangan Batubara Blok C Pada PT. Intibuana Indah Selaras Kabupaten Nunukan Provinsi Kalimantan Utara. *Jurnal Geomine*. 1 (1) : 55 – 62.

Gutierre-Martinez, P., Martha, I., Maria, C., Josefina, C., Patricia, Z., Elena, S., and Blanca, C. 2020. Assessment of Antioxidant Enzymes in Leaves and Roots of *Phaseolus vulgaris* Plant Under Cadmium Stress. *Journal Biotecnia*. 2 (22) : 110 – 118.

Hasanuzzaman, M., Borhanuddin, B., Khursheda, P., Tasmin. F., Taufik, Islam., Kamrun, N., Shahadat, H., Faisal, Z., Mahabub, A., and Masayuki, F. 2020. Regulation of ROS Metabolism in Plant Under Environmental Stress : A Review of Recent Experimental Evidence. *International Journal of Molecular Science*. 21 : 1 – 42.

Hidayati. 2013. *Mekanisme Fisiologis Tumbuhan Hiperakumulator Logam Berat*. Bogor : Pusat Penelitian Biologi LIPI.

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.

14 <http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/jehss> mahesainstitut@gmail.com 14

*Vol .., No. .., Bulan Tahun: 1 -10*

Lin, H., Ya-li, P., Jun, C., and Liang, L. 2015. Effect of Heavy Metal Stress on Antioxidase Enzyme*. International Conference on Manufacturing Science and Engineering*. 2 (4) : 871 – 876.

Mayer, A. 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Journal Phytochemistry*. 67 : 2318–2331.

Murodaglu, F., Muttalip, G., Sezai, E., Tarik, E., Fikri, B., Hawa, Z., and Muhammad, Z. 2015. Cadmium Toxicity Affects Chlorophyll a and b Content, Antioxidant Enzyme Activities and Mineral Nutrient Accumulation In Strawberry. *Biological Research*. 48 (11) : 1 – 7.

Nasir, S., Marlis, P., dan Otto, S. 2014. Pengelolaan Air Asam Tambang dengan Menggunakan Membran Keramik Berbahan Tanah Liat, Tepung Jagung dan Serbuk Besi. *Jurnal Teknik Kimia*. 3 (20) : 22 – 30.

Nguegang, B., Vhahangwele, M., Titus, A., and Memory, T. 2021.The Treatment of Acid Mine Drainage Using Vertically Flowing Wetland : Insighnt Into The Fate of Chemical Species. *MDPI Journal Minerals*. 11 (47) : 1 – 24.

Ojinimi, T., Okeme I.C., Phiri-Chanda. T., dan Eneojo, G . 2021. Acid Mine Drainage (AMD) Contamination in Coal Mine and The Need for Extensive Prediction And Remediation : A Review. *Nigerian Journal of Technology*. 9 (1) : 3129 – 3136.

Pandey, V., Manika, A., Swaty, S., Sameeksha, T., and Upendra, N. 2017. A Comprehensive Review on Function and Application of Plant Peroxidases. *Journal Biochemistry Analysis*. 6 : 308.

Priyanti., E. 2013. Uji Kemampuan Daya Serap Pertumbuhan Genjer (*Lymnocharis flava*) Terhadap Logam Berat Besi (Fe) dan Mangan (Mn). *Prosiding Seminar FMIPA Universitas Lampung.* Seminar 2013 FMIPA Unila.

Putra, G., dan Wartini., Dewi. 2010. Karakteristik Enzim Polifenol Oksidase Biji Kakao (*Theobroma cacao* Linn.). *Jurnal Agritechnology*. 30 (3) : 152 – 157.

Sharma, A. 2012. Spectral characterization and quality assessment of organic compost for agricultural purposes. *Int. J. Recycl. Org. Waste Agric*. 8 : 197–213.

Sulthoni, M., Badruzzaufari, H., Yusran., and Eny, 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. Pamapersada Nusantara Distrik Kemb Kabupaten Banjar. *Enviroscientae*. 10 (1) : 80 – 87.

 Yunus, R., dan Nopi, 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*. 1 (7) : 73 – 85.

15

<http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/Jons>

mahesainstitut@gmail.com

Zengin, F., and Munzuroglu, O. 2006. Toxic Effect of Cadmium (Cd) on Metabolism of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seedlings. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science*. 56(3) : 224-229.

16 <http://mahesainstitute.web.id/ojs2/index.php/jehss> mahesainstitut@gmail.com 16

