

**LAPORAN
PENELITIAN FUNDAMENTAL LANJUTAN**



**PEMETAAN ASAM AMINO (FREE AMINO ACID) DAN RHIZOBAKTERI
PADA SEMANGGI (MARSILEA CRENATA PRESL.) DAN KIAMBANG
(SALVINEA MOLESTA) SEBAGAI FITOREMEDIATOR LOGAM PB**

OLEH:

**Dr. Fida Rachmadiarti, M.Kes.
Guntur Trimulyono, S.Si., M.Sc.**

**NIDN. 0018026504
NIDN. 0009048004**

**Berdasarkan Surat Keputusan Rektor Universitas Negeri Surabaya
Nomor : 249/UN38/HK/LT/2016 tanggal 1 Maret 2016**

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS NEGERI SURABAYA
TAHUN 2016**

**LAPORAN
PENELITIAN FUNDAMENTAL LANJUTAN**



**PEMETAAN ASAM AMINO (FREE AMINO ACID) DAN RHIZOBAKTERI
PADA SEMANGGI (MARSILEA CRENATA PRESL.) DAN KIAMBANG
(SALVINEA MOLESTA) SEBAGAI FITOREMEDIATOR LOGAM PB**

OLEH:

**Dr. Fida Rachmadiarti, M.Kes.
Guntur Trimulyono, S.Si., M.Sc.**

**NIDN. 0018026504
NIDN. 0009048004**

**Berdasarkan Surat Keputusan Rektor Universitas Negeri Surabaya
Nomor : 249/UN38/HK/LT/2016 tanggal 1 Maret 2016**

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS NEGERI SURABAYA
TAHUN 2016**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Pemetaan Asam Amino (Free Amino Acid) dan Rhizobakteri pada Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) dan Kiambang (*Salvinia molesta*) Sebagai Fitoremediator Logam Pb

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dra FIDA RACHMADIARTI M.Kes
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Surabaya
NIDN : 0018026504
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Pendidikan Biologi
Nomor HP : 08123576796
Alamat surel (e-mail) : fida_rachmadiarti@yahoo.com

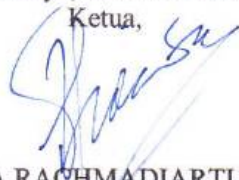
Anggota (1)

Nama Lengkap : GUNTUR TRIMULYONO S.Si., M.Sc.
NIDN : 0009048004
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Surabaya
Institusi Mitra (jika ada) :
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 60.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 110.000.000,00

Mengetahui,
Dekan FMIPA Unesa

(Prof. Dr. Suyono, M.Pd.)
NIP/NIK 196006201985031003

Surabaya, 29 - 11 - 2016
Ketua,


(Dra FIDA RACHMADIARTI M.Kes)
NIP/NIK 196502181988032001

Menyetujui,
Ketua LPPM Unesa

(Prof. Dr. Ir. I Wayan Susila, M.T.)
NIP/NIK 195312151980021002

Kata Pengantar

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan "Laporan Akhir Penelitian Fundamental Pemetaan Asam amino (*Free Amino Acid*) dan Rhizobakteri pada Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) dan Kiambang (*Salvinia molesta*) Sebagai Fitoremediator Logam Pb" ini hingga selesai.

Pada penelitian ini, peneliti penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang memberikan dana untuk penelitian dan Universitas Negeri Surabaya, melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat yang membantu dalam kelancaran penelitian ini, dan semua pihak yang telah memberikan kepercayaan serta dukungan yang begitu besar. Ucapan terimakasih kami sampaikan juga kepada Rizki Karunia, Maulida Dini K., Mar'atus Sholihah, dan Maria Ulfa yang telah membantu penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dari laporan ini, baik dari materi maupun teknik penyajiannya. Oleh karena itu, kritik dan saran yang mendukung sangat penulis harapkan. Akhir kata semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri, instansi pendidikan, masyarakat, dan semua pihak. Amiin.

Surabaya, 25 November 2016

Peneliti

Daftar Isi

Cover.....	1
Halaman Pengesahan.....	2
Kata Pengantar.....	3
Daftar Isi.....	4
Daftar Tabel.....	5
Daftar Bagan.....	6
Daftar Lampiran.....	7
Ringkasan.....	8
Bab I Pendahuluan.....	9
Bab II Tujuan dan Manfaat.....	13
Bab III Kajian Pustaka.....	14
Bab IV Metode Penelitian.....	21
Bab V Hasil Penelitian.....	25
Bab VI Kesimpulan.....	37
Daftar Pustaka.....	38

Daftar Tabel

Tabel 5.1.....	25
Tabel 5.2.....	26
Tabel 5.3.....	26
Tabel 5.4a.....	27
Tabel 5.4b.....	28
Tabel 5.5a.....	30

Daftar Bagan

Bagan Alir Penelitian.....	24
----------------------------	----

Daftar Lampiran

Lampiran 1. Kadar analisis Pb di akar, batang, dan daun.....	
Lampiran 2. Analisis statistic uji F.....	
Lampiran 3. Hasil analisis asam amino.....	
Lampiran 4. Hasil analisis bakteri.....	

Pemetaan Asam amino (*Free Amino Acid*) dan Rhizobakteri pada Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) dan Kiambang (*Salvinia molesta*) Sebagai Fitoremediator Logam Pb

RINGKASAN

Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) dan Kiambang (*Salvinia molesta*) merupakan tumbuhan kelompok paku yang tumbuh pada lahan-lahan di Surabaya dan beberapa mendapatkan air irigasi atau air budidaya yang tercemar logam, diantaranya logam Pb. Berdasarkan fakta ini, terdapat kemungkinan kedua tumbuhan ini dapat digunakan untuk fitoremediasi. Tujuan umum penelitian ialah mengetahui kemampuan tumbuhan Semanggi (*Marsilea crenata* (L.) Presl.) dan Kiambang (*Salvinia molesta*), mendapatkan asam amino (*free amino acid*) yang dihasilkan oleh kedua tumbuhan tersebut serta mendapatkan bakteri Rhizosfir di akar yang berperan dalam fitoremediasi. Terdapat beberapa tahap penelitian ini, tahun kedua merupakan penelitian eksperimen di "rumah kaca" yang meliputi: 1) mengukur pertumbuhan Semanggi dan Kiambang, 2) menemukan mekanisme absorpsi, biokonsentrasi dan translokasi logam Pb oleh tumbuhan Semanggi dan Kiambang, 3) mengkaji protein pada Semanggi yang ditinjau dari *free amino acid* (asam amino bebas) dan total protein protein, dan 4) mengkaji bakteri yang terdapat pada akar Semanggi dan Kiambang. Metode analisis logam berat menggunakan AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer), asam amino dengan metode HPLC (*High Pressure Liquid Chromatography*), identifikasi bakteri dengan metode *Microbact Identification System*. Data penelitian tahun kedua meliputi: pertumbuhan yang diukur dari biomassa basah tumbuhan, kandungan logam Pb pada organ tanaman yaitu dalam akar tumbuhan dan pucuk (daun tumbuhan), kandungan logam berat dalam air (media tanam), Faktor biokonsentrasi (BCF), Faktor translokasi (TF), Faktor akumulasi biologi (BAF) dianalisis dengan Statistic Program 16th Edition untuk menghitung Anova dan dilanjutkan uji Tukey untuk membedakan antar perlakuan konsentrasi logam Pb pada taraf nyata 5% atau tingkat kepercayaan 95%. Sedangkan jenis bakteri dianalisis secara deskriptif membandingkan dengan buku identifikasi berdasarkan karakteristik bakteri dan analisis asam amino berdasarkan persentas dan total proteinnya. Hasil penelitian menunjukkan: 1) kedua tumbuhan menunjukkan pertumbuhan, 2) distribusi kandungan Pb pada tumbuhan semanggi (*Marsilea crenata* (L.) Presl.) dan kiambang (*Salvinia molesta*), yaitu berturut-turut akar > batang > daun, kandungan sistein yang diproduksi akar lebih tinggi dibandingkan daun, Nilai BAF lebih besar dari 1, artinya semanggi dan kiambang dapat digunakan sebagai fitoremediator, 3) terdapat 9 jenis bakteri pada rhizosfir tumbuhan kiambang dan 8 jenis pada tumbuhan semanggi, 4) total persentase asam amino pada semanggi menunjukkan semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi asam amino, sebaliknya pada kiambang menunjukkan semakin tinggi konsentrasi semakin rendah asam amino.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang masalah

Tumbuhan Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) adalah kelompok tumbuhan paku air (Hydropterides) dari marga (Marsilea). Tumbuhan ini secara morfologi sangat khas, karena bentuk daunnya menyerupai payung, tersusun dari empat kelopak anak daun yang berhadapan. Di Surabaya tumbuhan ini tumbuh di sekitar pematang sawah atau tepian saluran irigasi yang aliran air dari kali Surabaya atau pematuasannya tercemar (Puspitasari, *et al.*, 2006). Di Kecamatan Tandes dan Benowo, tumbuhan ini dibudidayakan untuk memenuhi kebutuhan sayur penduduk Surabaya.

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan kandungan Pb dalam Semanggi di lahan basah Wiyung, Ketintang, dan Kendung lebih besar dari 2 mg/L melebihi baku mutu, pertumbuhannya tampak baik dengan rata-rata tinggi tumbuhan berkisar 13.9–19.4 cm. Kinerja (*performance*) tidak terganggu dengan adanya logam berat tersebut (Rachmadiarti, 2010) dan Semanggi juga mampu menyerap logam Pb hingga 80% (Rachmadiarti, 2012). Peneliti lain, Wiadnya (2004) telah menemukan bahwa Semanggi mampu menyerap Pb pada eksperimen dengan volume media terbatas (dalam gelas kimia).

Selain semanggi, menurut Badan Lingkungan Hidup Kota Surabaya/BLH (2011) jenis tumbuhan liar bisa dimanfaatkan sebagai tumbuhan sehingga bernilai ekonomi. Jenis tumbuhan tersebut antara lain adalah kiambang (*Salvinia molesta*), melati air (*Echinodorus palaefolius*), rumput sosis (*Typha angustifolia*), dan teratai (*Nymphaea rubra*). Kiambang merupakan paku air dari kelompok Salviniaceae genus *Salvinia*, gulma air yang hidup terapung pada permukaan air, banyak terdapat di selokan atau parit, sawah, kolam, danau atau sungai dengan aliran lambat dan saluran irigasi. Tingkat pertumbuhan yang cepat memungkinkan kiambang untuk bergerak lambat menutupi perairan membentuk lapisan permukaan padat hingga ketebalan 1 m (tergantung pada lama dan tingkat pemadatan).

Kiambang banyak ditemukan di Surabaya Timur (BLH, 2011). Selain berfungsi sebagai tanaman hias juga dimanfaatkan sebagai pakan ternak dan dapat berfungsi sebagai tumbuhan remediator. Sari, *et al.* (2014) menyimpulkan bahwa kiambang efektif mengabsorpsi logam Cr dalam limbah industri batik. Berdasarkan penelitian tersebut, tumbuhan Semanggi dan Kiambang menunjukkan tanda-tanda “toleran” atau “resisten” terhadap logam berat sehingga dapat

digolongkan menjadi tumbuhan “akumulator/hiperakumulator”. Menurut Nouri et al. (2011), studi akhir-akhir ini menunjukkan bahwa spesies asli yang tumbuh di habitat tercemar mempunyai potensi untuk fitoremediasi.

Fitoremediasi merupakan teknologi yang ramah lingkungan untuk memindahkan kontaminan (konsentrasi logam, radionuklida, dan zat-zat organik) dalam media yang terkontaminasi (Rai, 2011). Dalam fitoremediasi tumbuhan pengumpul logam berat berfungsi sebagai biofilter yang secara efektif dapat mengurangi konsentrasi logam berat dalam air yang tercemar (Abhilash *et al.*, 2009). Fitoremediasi (*phytoremediation*) telah digunakan secara luas, untuk meremediasi baik tanah atau air yang tercemar (Nouri *et al.*, 2011; Indrayati *et al.*, 2012).

Tumbuhan yang mampu bertindak sebagai fitoremediator karena tumbuhan memproduksi asam amino pembentuk protein spesifik perlu sebagai bentuk respon adanya logam berat di lingkungan. Tujuan tumbuhan mensintesis asam amino untuk mendetoksifikasi logam berat dan membentuk kompleks dengan logam berat dalam tumbuhan (Salisbury dan Ross, 1995). Kandungan asam amino diteliti untuk melihat respons tumbuhan terhadap cekaman logam berat. Selain memproduksi asam amino, tumbuhan dalam melakukan remediasi logam juga dibantu oleh bakteri rhizosfer. Bakteri ini melakukan aktivitas pelepasan produk ke zona akar. Polutan diuraikan oleh mikroba dalam tanah, yang diperkuat/sinergis oleh ragi, fungi dan zat-zat keluaran akar tumbuhan (eksudat). Eksudat itu merupakan makanan mikroba yang menguraikan polutan maupun biota tanah lainnya Cluis (2004); Komives and Guliner (2000); Ghosh *et al.* (2005) dan Tangahu, *et al.* (2011). Untuk itu perlu mempelajari kemampuan adaptasi tumbuhan terhadap paparan logam dari air dan kemampuan tumbuhan memindahkan logam dari akar ke pucuk dilakukan analisis asam amino (*free amino acid*) (Kamel, 2008).

Hasil penelitian tahun pertama menunjukkan Hasil penelitian menunjukkan distribusi kandungan Pb pada tumbuhan semanggi (*Marsilea crenata* (L.) Presl.) dan kiambang (*Salvinia molesta*), yaitu berturut-turut akar > batang > daun, kandungan sistein yang diproduksi akar lebih tinggi dibandingkan daun, Nilai BAF lebih besar dari 1, artinya semanggi dan kiambang dapat digunakan sebagai fitoremediator.

1.2 Masalah penelitian

- 1.2.1 Bagaimanakah pengaruh berbagai konsentrasi dan lama pemakaran Pb terhadap pertumbuhan tumbuhan Semanggi dan Kiambang?
- 1.2.2 Bagaimanakah mekanisme absorpsi, biokonsentrasi dan translokasi logam Pb oleh tumbuhan Semanggi dan Kiambang.
- 1.2.3 Bagaimanakah pemetaan protein pada Semanggi dan Kiambang yang ditinjau dari *free amino acid* (asam amino bebas) dan total protein.
- 1.2.4 Jenis-jenis bakteri apa yang terdapat pada akar Semanggi dan Kiambang?

1.3 Urgensi penelitian

Ber macam-macam jenis tumbuhan dapat tumbuh pada lahan atau perairan tercemar logam berat. Upaya-upaya memperbaiki kualitas air atau lahan dari penceraan logam berat telah dilakukan dengan berbagai metode. Ada berbagai penelitian yang dilakukan untuk menemukan metode yang efektif, murah, dan ramah lingkungan untuk mengimobilisasi polutan logam berat di air. Salah satu metode untuk memperbaiki air dari polutan logam berat adalah fitoremediasi (Park, *et al.*, 2011; Tangahu, *et al.*, 2011). Fitoremediasi adalah metode menggunakan spesies tumbuhan untuk membersihkan tanah dan air tercemar. Metode ini mendapat perhatian beberapa dekade karena merupakan teknologi yang murah. Sejumlah spesies tumbuhan telah diidentifikasi dan diuji karena karakteristiknya dalam mengambil dan mengakumulasi pada bermacam-macam logam berat. Mekanisme pengambilan logam pada semua tumbuhan dan tingkat seluler telah diteliti (Lone, *et al.*, 2008).

Menurut Zayed *et al.* (1998) bahwa beberapa tumbuhan secara alami sangat efektif dalam menyerap dan mengakumulasi berbagai logam berat beracun dan zat organik dalam jaringannya. Disamping itu, tumbuhan dapat menstimulasi mikrobia untuk melakukan immobilisasi logam berat dalam rhizosfer (Zhu *et al.*, 1999). Dari penelitian yang ada, beberapa tumbuhan yang cocok untuk fitoremediasi, terutama di perairan adalah *Lemna minor*, *Eichhornia crassipes*, *Ipomoea aquatica* (Rachmadiarti, dkk., 2009; Chatterjee, *et al.*, 2011; Gothberg, *et al.*, 2004; Rachmadiarti, *et al.*, 2012). Selain tumbuhan tersebut, tumbuhan yang tumbuh di lahan atau perairan tercemar juga berpotensi untuk difungsikan sebagai fitoremediator. Salah satu tumbuhan tersebut ialah Semanggi (*Marsilea crenata* (L.) Presl.) dan Kiambang (*Salvinia molesta*).

Dipilihnya tumbuhan Semanggi dan Kiambang untuk mengurangi kadar logam Pb di perairan karena kedua tumbuhan ini banyak tumbuh sebagai gulma padi di sawah yang mendapat sumber air irigasi tercemar dan lahan di Surabaya Barat dan Surabaya Timur. Oleh karena itu, kedua tumbuhan ini mudah tumbuh, mudah dikelola dan mempunyai distribusi luas. Hasil penelitian Wiadnya (2006) pada skala gelas kimia menunjukkan tumbuhan semanggi mampu menyerap Pb dan Cu. Tumbuhan Semanggi juga mampu menurunkan kadar BOD dan COD hingga 61% (Rachmawati, dkk., 2010). Selain itu, tumbuhan semanggi yang merupakan kelompok tumbuhan paku dapat hidup sebagai tumbuhan timbul (*emergent*) atau mengapung (*floating*), umurnya pendek, akarnya tipis dan banyak, serta memiliki bioamassa besar. Sedangkan Kiambang mampu menurunkan logam Cr (Sari, *et al.*, 2014), Pb. Dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa Semanggi dan Kiambang belum banyak diteliti terkait toleransi, free amino acid yang dihasilkan, dan bakteri yang berinteraksi dengan tumbuhan tersebut.

BAB II TUJUAN DAN MANFAAT

1.1 Tujuan penelitian

Tujuan umum penelitian ialah mendapatkan tingkat toleransi tumbuhan Semanggi (*Marsilea crenata* (L.) Presl.) dan Kiambang (*Salvinia molesta*).

Tujuan Penelitian Tahun kedua: Penelitian di *Green house* (Rumah kaca)

- 1.1.1 mendeskripsikan pertumbuhan tumbuhan Semanggi dan Kiambang
- 1.1.2 menemukan mekanisme absorpsi, biokonsentrasi dan translokasi logam Pb oleh tumbuhan Semanggi dan Kiambang. Tahap ini meliputi:
 - 1.1.3 menentukan pemetaan protein pada Semanggi dan Kiambang yang ditinjau dari *free amino acid* (asam amino bebas) dan total protein.
 - 1.1.4 mengkaji bakteri yang terdapat pada akar Semanggi dan Kiambang.

1.2 Manfaat Penelitian

Jika tumbuhan Semanggi dan Kiambang merupakan tumbuhan akumulator atau hiperakumulator maka penelitian ini berhasil menemukan tumbuhan dari spesies lokal dan spesies introduksi yang dapat digunakan untuk fitoremediasi logam Pb. Sesuai dengan karakteristik fitoremediator yaitu tumbuhan ini mampu mengakumulasi logam Pb dalam jaringannya dan tetap tumbuh dengan baik. Dan penelitian ini secara komprehensif mengkaji kemampuan tumbuhan tersebut dalam mengakumulasi logam Pb karena kemampuannya menghasilkan asam amino spesifik. Selain itu pada penelitian ini juga didapatkan bakteri yang berperan/berinteraksi dengan akar sehingga tumbuhan dari kelompok pteridophyta yang mampu melakukan proses fitoremediasi dan sebagai tumbuhan yang toleran dan/ataukah resisten terhadap logam berat Pb.

BAB III KAJIAN PUSTAKA

3.1 Studi Pustaka

3.1.1 Karakteristik Timbal (Pb)

Timbal (Pb) merupakan logam berat yang sangat beracun, dapat dideteksi secara praktis pada seluruh benda mati di lingkungan dan seluruh sistem biologis. Logam Pb mempunyai nomor atom 82, berat atom 207,19, dan berat jenis 11,34. Logam Pb berwarna kebiruan atau abu-abu keperakan, dengan titik leleh $327,5^{\circ}\text{C}$, titik didih pada tekanan atmosfer 1740°C . Logam ini memiliki empat isotop alami dengan berat atom, 208, 206, 207 dan 204 (dalam urutan penurunan kelimpahan). Meskipun fakta menunjukkan bahwa Pb memiliki empat elektron di kulit valensinya, yang bilangan oksidasinya khas adalah +2 daripada +4, karena hanya dua dari empat ionisasi elektron mudah. Selain nitrat, klorat, dan klorida, sebagian besar garam anorganik dari Pb^{2+} memiliki kelarutan sedikit dalam air (Darmono, 1995).

Sifat-sifat timbal menurut Darmono (1995) dan Fardiaz (2005) antara lain:

- 1) memiliki titik cair rendah sehingga jika digunakan dalam bentuk cair hanya membutuhkan teknik yang cukup sederhana dan tidak mahal.
- 2) merupakan logam yang lunak sehingga mudah diubah menjadi berbagai bentuk.
- 3) timbal dapat membentuk logam campuran (*alloy*) dengan logam lainnya, dan logam yang terbentuk mempunyai sifat yang berbeda dengan timbal murni.
- 4) memiliki densitas yang tinggi dibanding logam lain kecuali emas dan merkuri, yaitu 11,34 g/cm

Logam Pb ada dalam berbagai bentuk dalam sumber-sumber alam di seluruh dunia dan sekarang salah satu logam jejak yang paling banyak dan merata dalam tanah dan tumbuhan dapat terkontaminasi oleh Pb. Pb terakumulasi di atas 8 inci dari tanah dan sangat bergerak, tanah yang terkontaminasi Pb tidak akan berubah menjadi normal bila tidak ada tindakan perbaikan. Karena Pb^{2+} tidak dapat diuraikan, sekali suatu lahan terkontaminasi maka dalam jangka panjang Pb tetap menjadi sumber pencemar pada lingkungan tersebut.

3.2 Penyerapan Logam oleh Tumbuhan

3.2.1 Penyerapan Logam Berat oleh Tumbuhan

Penyerapan dan akumulasi logam berat oleh tumbuhan dapat dibagi menjadi tiga proses yang berkesinambungan, yaitu penyerapan logam oleh akar, translokasi logam dari akar ke bagian tumbuhan lain, dan lokalisasi logam pada bagian sel tertentu untuk menjaga agar tidak menghambat metabolisme tumbuhan tersebut. Faktor yang mempengaruhi penyerapan logam oleh tanaman air adalah pH air, temperatur dan intensitas cahaya (Ghosh dan Singh, 2005).

1) Penyerapan oleh Akar

Proses penyerapan logam oleh akar dilakukan dengan cara logam harus dibawa ke dalam larutan di sekitar akar (rizosfer) agar logam dapat diserap oleh tumbuhan. Penyerapan ini dapat terjadi dengan beberapa cara bergantung pada spesies tumbuhannya. Sekresi ion H^+ oleh akar dapat membuat rhizosfer menjadi asam dan meningkatkan penguraian logam. Tekanan proton dari akar dilakukan oleh pompa membran plasma H^+ ATPase dan H^+ (Ghosh dan Singh, 2005). Misalnya, pada *Thilaspia cearulescens*, mobilisasi seng dipacu dengan terjadinya penurunan pH pada daerah perakaran sebesar 0,2-0,4 unit.

Kemampuan tumbuhan air untuk mengabsorpsi logam berat selain karena dapat membentuk protein, tumbuhan air juga memiliki rhizobakteri. Rhizobakteri adalah bakteri yang hidup di daerah perakaran (*rhizosphere*) dan berperan penting dalam pertumbuhan tanaman. Pada dasarnya rhizobakteri dapat dibedakan menjadi dua golongan yaitu : rhizobakteri yang memacu pertumbuhan tanaman atau PGPR (*plant growth-promoting rhizobacteria*) dan rhizobakteri yang merugikan tanaman atau DRB (*Deleterius rhizobacteria*). Bakteri juga mendorong pertumbuhan tanaman sehingga meningkatkan area permukaan tanaman dan memungkinkan lebih banyak pengambilan. Senyawa tertentu yang dihasilkan oleh bakteri ternyata mendorong pertumbuhan tanaman, termasuk siderofor. Siderofor, senyawa *Fe-chelating*, ternyata mendorong pertumbuhan tanaman bahkan dengan kehadiran logam berat (Staout dan Nusslein, 2010).

Berdasarkan penelitian Safarrida (2007), tentang rhizofiltrasi kromium dan keanekaragaman komunitas rhizobakteri pada tanaman air diperoleh 6 isolat Rhizobakteri yang berturut-turut teridentifikasi sebagai *Aeromonas* sp, *Rhodococcus fascians*, *Bacillus* sp, *Pseudomonas mosselii*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Brivebacterium* sp.

2) Absorpsi dan Pengangkutan ke Pucuk Tumbuhan

Akar tumbuhan dapat mengakumulasi logam berat dalam jumlah yang cukup signifikan dan secara berkesinambungan mencegah pemindahan logam ini menuju tunas. Penyimpanan

logam berat, seperti Pb di akar melibatkan pengikatan dengan dinding sel dan pengendapan ekstraseluler terutama dalam bentuk Pb karbonat, yang disimpan di dalam dinding sel. Pada konsentrasi rendah, timbal dapat berpindah melalui jaringan akar, terutama melalui apoplas dan secara radial melalui korteks, kemudian timbal diakumulasi di dekat endoderm. Endoderm ini berfungsi sebagai barier parsial terhadap pemindahan Pb dari akar ke tunas. Hal ini diduga sebagai salah satu alasan adanya akumulasi Pb di akar lebih besar daripada di tunas (Verma and Dubey, 2003; Romeiro *et al.*, 2006). Penelitian ini sejalan dengan yang dikatakan Lane and Martin (1977) bahwa akar mempunyai kemampuan membawa sejumlah Pb sangat besar secara simultan sehingga membatasi translokasinya ke bagian atas tanah.

Setelah logam dibawa masuk ke dalam sel akar, selanjutnya logam diangkut melalui jaringan pengangkut, yaitu silem dan floem, ke bagian tumbuhan lain. Untuk meningkatkan efisiensi pengangkutan, logam diikat oleh molekul khelat. Berbagai molekul khelat yang berfungsi mengikat logam dihasilkan oleh tumbuhan, misalnya histidin yang terikat pada Ni dan fitokhela-tin-glutation yang terikat pada Cd (Zhu *et al.*, 1999; Lux, 2011). Hal ini ditunjukkan pada penelitian Miller dan Koeppe (1971) bahwa tumbuhan *Zea mays* L. dapat mentranslokasi sejumlah Pb secara signifikan ke daun. Pb masuk tumbuhan melalui daun bergantung pada kemampuan daun mengabsorpsi Pb dari sumber udara, bergantung pada morfologi spesifik daun. Daun yang halus mengabsorpsi logam berat dari atmosfer (Godzik, 1993). Pb mengikat bahan organik dalam media. Faktor-faktor yang mempengaruhi ketersediaan dalam pengambilan Pb adalah ukuran partikel media, kapasitas tukar ion, faktor-faktor tumbuhan seperti area permukaan akar, eksudat akar, mikoriza, dan kecepatan transpirasi (Davies, 1995).

3) Lokalisasi Logam pada Jaringan.

Dalam hal pencegahan keracunan logam terhadap sel, tumbuhan mempunyai mekanisme detoksifikasi, misalnya dengan menimbun logam di dalam organ tertentu seperti akar (untuk Cd pada *Silene dioica* (Grant *et al.*, 1998), trikhoma untuk Cd (Salt *et al.*, 1995), dan lateks (untuk Ni pada *Serbetia acuminata*) (Priyanto dan Prayitno, 2004).

3.2.2 Toleransi dan/atau Resistensi Tumbuhan pada Logam Berat

Beberapa spesies tumbuhan dapat tumbuh pada tanah-tanah yang mengandung ion toksik yang dapat mematikan untuk spesies lain. Terdapat empat mekanisme utama hingga hal tersebut terjadi, yaitu : (1) Penghindaran (*escape*) fenologis apalagi stres yang terjadi pada

tumbuhan bersifat musiman, tumbuhan dapat menyesuaikan siklus hidupnya sehingga tumbuh dalam musim yang sangat cocok saja, (2) Eksklusi tumbuhan dapat mengenal ion yang toksik dan mencegah agar tidak terambil sehingga tidak mengalami toksisitas, (3) Penanggulangan (ameliorasi) tumbuhan barangkali mengabsorpsi ion tersebut tetapi bertindak sedemikian rupa untuk meminimumkan pengaruhnya. Jenisnya meliputi pembentukan kelat (*chelation*), pengenceran, lokalisasi atau ekskresi, (4) Toleransi tumbuhan dapat mengembangkan sistem metabolis yang dapat berfungsi pada konsentrasi toksik yang potensial, mungkin dengan enzim (Fitter dan Hay, 1991).

Spesies tumbuhan yang toleran memiliki mekanisme pertahanan yang berkaitan dengan enzim-enzim antioksidan dan antioksidan seluler yang melindungi beberapa proses fisiologi melawan kerusakan sebagai hasil dari bentuk oksigen reaktif akibat stres logam. Beberapa spesies resisten terhadap Cu telah ditemukan pada area tidak tercemar dan tercemar (Liu *et al.* 2004). Stek *Salix* sp yang diaklimasi pada logam berat tetap bertahan dan tumbuh dalam lingkungan yang potensial toksik (Turner dan Dickinson, 1993). Sebagai hasil dari mekanisme toleransi dan/atau resistensi (sendiri atau kombinasi), beberapa tumbuhan dapat tumbuh dalam lingkungan yang tercemar dengan logam yang spesies lain tidak dapat bertahan.

Selain itu, metabolisme nitrogen merupakan pusat respons tumbuhan untuk logam berat, setelah terpapar logam, tumbuhan sering mensintesis satu metabolit beragam yang menumpuk dengan konsentrasi dalam kisaran millimolar, yaitu asam amino yang sangat spesifik (Sharma dan Dietz, 2006). Hasil metabolisme ini antara lain dapat diamati dari total kandungan protein dan macam asam amino yang diproduksi. Penelitian pada alga menunjukkan bahwa total kandungan protein pada *Chlorella vulgaris* menurun dalam medium buatan dengan paparan logam (Afkar *et al.*, 2010). Hal ini berarti bahwa akumulasi protein pada konsentrasi logam berat rendah mungkin merupakan salah satu cara organisme dapat meniadakan efek toksiknya atau meningkatkan respirasinya dengan cara memanfaatkan karbohidrat dengan keuntungan akumulasi protein (Osman *et al.*, 2004). Total asam amino dari *Chlorella vulgaris* meningkat tajam dengan meningkatnya konsentrasi logam berat (Afkar *et al.*, 2010). Penulis yang sama menemukan bahwa banyak stimulus yang dideteksi pada kultur dengan ditambah Cu dibandingkan dengan logam lain yang diuji. Sedangkan asam aminonya adalah glisin dan asam glutamat terlibat dalam sintesis glutathione dan phytochelatin, yang berperan dalam mengikat logam. Arginine terlibat dalam sintesis poliamin, yang bertindak sebagai molekul sinyal dan

antioksidan (Sharma dan Dietz, 2006). Asam amino proteinogenic prolin berfungsi sebagai *scavenger radical*, *elektron sink*, dan stabilizer makromolekul, komponen dinding sel (Matysik *et al.*, 2002), osmoregulasi dan khelasi logam (Sharma dan Dietz, 2006).

3.3 Fitoremediasi

Fitoremediasi adalah suatu teknologi bersih, sederhana, murah, efektif, teknologi hijau yang tidak mengganggu lingkungan (Wei, *et al.*, 2004). Fitoremediasi merupakan pendekatan yang ramah lingkungan untuk remediasi tanah dan air yang tercemar menggunakan tumbuhan pada dua komponen, yang satu dengan akar yang bersinergi dengan mikroba yang lain dengan tumbuhan itu sendiri, yang mengakumulasi senyawa toksik menjadi metabolit nontoksik. Senyawa toksik tersebut dapat berupa senyawa organik, *xenobiotic*, pestisida, hidrokarbon, dan logam berat, merupakan bahan pencemar yang dapat diremediasi secara efektif dengan tumbuhan (Shurez dan Rhavisankar, 2004). Fitoremediasi juga dapat dikatakan sebagai teknologi pembersihan efisien untuk bermacam-macam polutan organik dan anorganik (Cobbet, 2000; Komives dan Guliner, 2000; Pilon, 2005; Sarma, 2011). Di sisi lain, fitoremediasi memakan waktu (biasanya diperlukan beberapa musim), terbatas pada kedalaman tanah tertentu yang masih bisa dijangkau oleh akar tumbuhan, masih perlu diteliti lebih jauh, dan kontaminan mungkin saja bisa memasuki rantai makanan melalui konsumsi materi tumbuhan oleh hewan (Komives dan Gulner, 2000).

3.4 Semanggi (*Marsilea crenata* L.)

Semanggi ialah kelompok paku air (Salviniales) merupakan suku Marsileaceae. Menurut Steenis *et al.* (2005), semanggi adalah tumbuhan dengan daun berdiri sendiri atau dalam berkas, menjari berkelipatan 4, tangkai daun panjang dan tegak, panjang 2-30 cm, anak daun menyilang, berhadapan, berbentuk baji bulat telur, gundul atau hampir gundul, dengan ukuran rata-rata panjang 2,5 cm dan lebar 2,3 cm, urat daun rapat berbentuk kipas, pada air yang tidak dalam muncul diatas air. Semanggi tumbuh merambat di lingkungan perairan, di Indonesia banyak ditemukan di sawah, selokan dan genangan air dangkal. Tumbuhan ini mampu menyerap logam berat Cu dan Pb dalam skala gelas kimia (Wiadnya, 2004). Hal ini karena *Semanggi* mempunyai akar-akar mengapung yang pendek, permukaan akarnya digunakan oleh

mikroorganisme sebagai tempat pertumbuhan sehingga kepadatan mikroorganisme dalam sistem meningkat.

1.2 Kiambang (*Salvinia molesta*)

Kiambang (*Salvinia molesta* Mitchell) merupakan tumbuhan paku air suku Salviniaceae kelas Hydropterydophytae dan golongan Hydropterida, berwarna hijau dan permukaannya ditutupi rambut berwarna putih agak transparan, biasa ditemukan mengapung di air menggenang seperti kolam, sawah, danau atau sungai yang mengalir tenang.

Kiambang merupakan tumbuh tumbuhan air yang hidup terapung bebas diatas permukaan air, yang pertumbuhan dan perkembangannya sangat cepat sehingga menutupi permukaan air. Kiambang memiliki alat reproduksi seksual, yaitu spora yang tumbuh bersama pada daun yang menggantung di bawah permukaan air. Dua sporokarp yang pertama, mempunyai tangkai yang pendek dan ditumbuhi bulu yang lebih lebat berisi megasporangium yang berisi sel telur dan sisanya adalah sporokarp yang berisi mikrosporangium. Perkembangbiakan vegetatif Kiambang berlangsung secara fragmentasi pada tubuh tanaman, kemudian terjadi regenerasi dari potongan kecil tersebut untuk selanjutnya membentuk tunas baru (Steenis, 2005). Hasil penelitian Sari, et al. (2014) menunjukkan Kiambang mampu menyerap logam Cr.

3.5 Roadmap penelitian

3.5.1 Kegiatan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya

- 1) Beberapa penelitian payung bersama dengan mahasiswa atau mandiri terkait dengan kajian fitoremediasi telah dilakukan. Misalnya pada kangkung, genjer, salvinia, eceng gondok, hydrilla pada beberapa logam berat dan identifikasi bakteri pada tumbuhan fitoremediator mulai tahun 2005 sampai sekarang yang sudah dipublikasi dalam seminar nasional/internasional dan jurnal nasional terakreditasi FAPERIK UB terakreditasi dan jurnal internasional *Journal Agriculture of Environment and Biology Science* (JAEBS).
- 2) Hibah Bersaing: Pengembangan Model Bioremediasi Menggunakan Lemnaceae dan Protozoa Sebagai Sistem Pengolahan Air Sungai di Kali Surabaya (Ketua) (DP2M tahun pertama 2006 dan tahun kedua 2007).
- 3) Hibah Bersaing Stranas: Pengembangan Alat Pengolahan Air Kali Surabaya: Menggunakan *Wolfia* dan *Paramecium* sp. Untuk Meningkatkan Kualitas Air Irigasi (Ketua) (DP2M tahun 2008).

3.5.2 Kegiatan penelitian yang direncanakan dalam usulan

Dalam penelitian yang diusulkan ini akan berusaha mengelaborasi hasil kajian beberapa penelitian terdahulu yang sudah dilakukan oleh peneliti/ penelitian lain dan kajian beberapa pustaka terbaru untuk mencoba mengkaji asam amino yang diproduksi tumbuhan tercekam logam Pb. Peneliti berpijak pada landasan teoritis dan empiris yang cukup kokoh dan mantap dibangun sesuai penelitian peneliti dan anggota peneliti yang masih berada pada "*track record*-nya".

3.5.3 Rencana arah penelitian setelah kegiatan yang diusulkan selesai

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu acuan dalam pengembangan kebijakan terkait dengan upaya bioremediasi dan reklamasi lumpur Lapindo, yang secara potensial dapat dimanfaatkan mengingat luasnya cakupan dari lumpur Lapindo. Ke depan arah penelitian difokuskan pada kajian total protein dan asam-asam amino yang terekspresikan ketika tanaman dalam kondisi stress berbagai cekaman lingkungan khususnya logam berat, serta mengarah pada kajian biomolekuler dengan harapan akan memberikan sumbangan terhadap perkembangan IPTEK. Misalnya kajian tentang asam amino prolin atau arginin yang masih merupakan kontroversi terkait perannya sebagai pertahanan terhadap stres.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1. Pendekatan dan Prosedur penelitian

4.1.1. Tahun kedua: Penelitian di *Green house* (Rumah kaca)

4.1.1.1 *Tahap pertama* bertujuan mendeskripsikan pertumbuhan

- Pengambilan sampel Semanggi dan Kiambang di Kendung dan Jabon
- Aklisasi tumbuhan Semanggi dan Kiambang di rumah kaca.
- Pembuatan larutan sintesis Pb (pada berbagai konsentrasi).
- melakukan eksperimen pengaruh berbagai konsentrasi Pb terhadap absorpsi Pb pada tumbuhan Semanggi dan Kiambang.
- Mengukur pertumbuhan Semanggi dan Kiambang

4.1.1.2 *Tahap Kedua* bertujuan untuk menemukan mekanisme absorpsi, biokonsentrasi dan translokasi logam Pb oleh tumbuhan Semanggi dan Kiambang. Tahap ini meliputi:

- Menentukan mekanisme fitoremediasi logam Pb oleh Semanggi dan Kiambang.
- Menentukan kemampuan Semanggi dan Kiambang sebagai akumulator/ hiperakumulator
- Membandingkan kemampuan Semanggi dan Kiambang mengabsorpsi logam Pb.

4.1.2.3 *Tahap Ketiga*

Pada tahap ketiga tahun kedua dikaji pola pemetaan protein pada Semanggi dan Kiambang yang ditinjau dari *free amino acid* (asam amino bebas) dan total protein protein. Variasi total protein menunjukkan adanya respon tanaman terhadap perubahan lingkungan, dan peningkatan dan penurunan asam amino tertentu (prolin dan sistin) sebagai bentuk resistansi dan degradasi protein akibat penurunan kualitas lingkungan.

Sampel asam amino dan total protein diperoleh dari akar Semanggi dan Kiambang ditentukan dengan metode HPLC dengan langkah-langkah, sebagai berikut:

- Preparasi bagian akar Semanggi dan Kiambang.
- Isolasi dan deteksi asam amino dengan HPLC.

4.1.1.4 *Tahap Keempat*

Pada tahap keempat tahun kedua dikaji bakteri yang terdapat pada akar Semanggi. Isolasi rhizobakteri dilakukan dengan cara menghomogenkan 10 gram sampel akar dan ditumbuhkan dalam media Czapek Broth tanpa sukrosa dengan larutan Pb-asetat konsentrasi perlakuan 10 mgL^{-1} (dilakukan pengenceran). Sampel diinkubasi dan dinokulasi dengan

menggunakan metode tuang (Pour plate method). Bakteri yang tumbuh diinokulasikan pada tabung reaksi yang berisi media KNA hingga didapatkan isolate murni. Koloni bakteri yang tumbuh diamati secara morfologi, pewarnaan gram dan uji fisiologis. Pengamatan morfologi meliputi 1. Bentuk koloni, 2. Diameter koloni, 3. Warna koloni, 4. Tepi koloni, 5. Elevasi. Uji fisiologis menggunakan *Microbact Identification System*.

4.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian tahun kedua tahap 1 ini adalah *split plot (in species)* dengan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan ada 1 faktor yaitu konsentrasi logam berat, terdiri atas 4 level yaitu K1: 0 mgL⁻¹, K2: 5 mgL⁻¹, K3: 10 mgL⁻¹, K4 : 15 mgL⁻¹ dengan pengamatan hari ke-7 dan ke-14 setelah tanam. Langkah rancangan sebagai berikut: pada tiap waktu pengamatan dilakukan masing-masing pengacakan pada perlakuan yaitu faktor konsentrasi logam berat Pb, dengan empat level K1, K2, K3, dan K4, sebanyak tiga ulangan. Sehingga setiap waktu pengamatan akan diacak 4x3 faktor konsentrasi.

4.3. Subyek Penelitian

Subyek penelitian adalah tumbuhan Semanggi dan Kiambang yang diperoleh dari tempat budidaya di Porong dan Kendung.

4.4. Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini meliputi: Biomassa basah tumbuhan, Kandungan logam berat pada bagian akar tanaman, Kandungan logam berat pada bagian daun tanaman, Kandungan logam berat di air (media tanam), Faktor biokonsentrasi (BCF), Faktor tranlokasi (TF), Faktor akumulasi biologi (BAF), Asam amino yang diproduksi akar, Jenis bakteri di zona akar.

4.5 Analisis Data

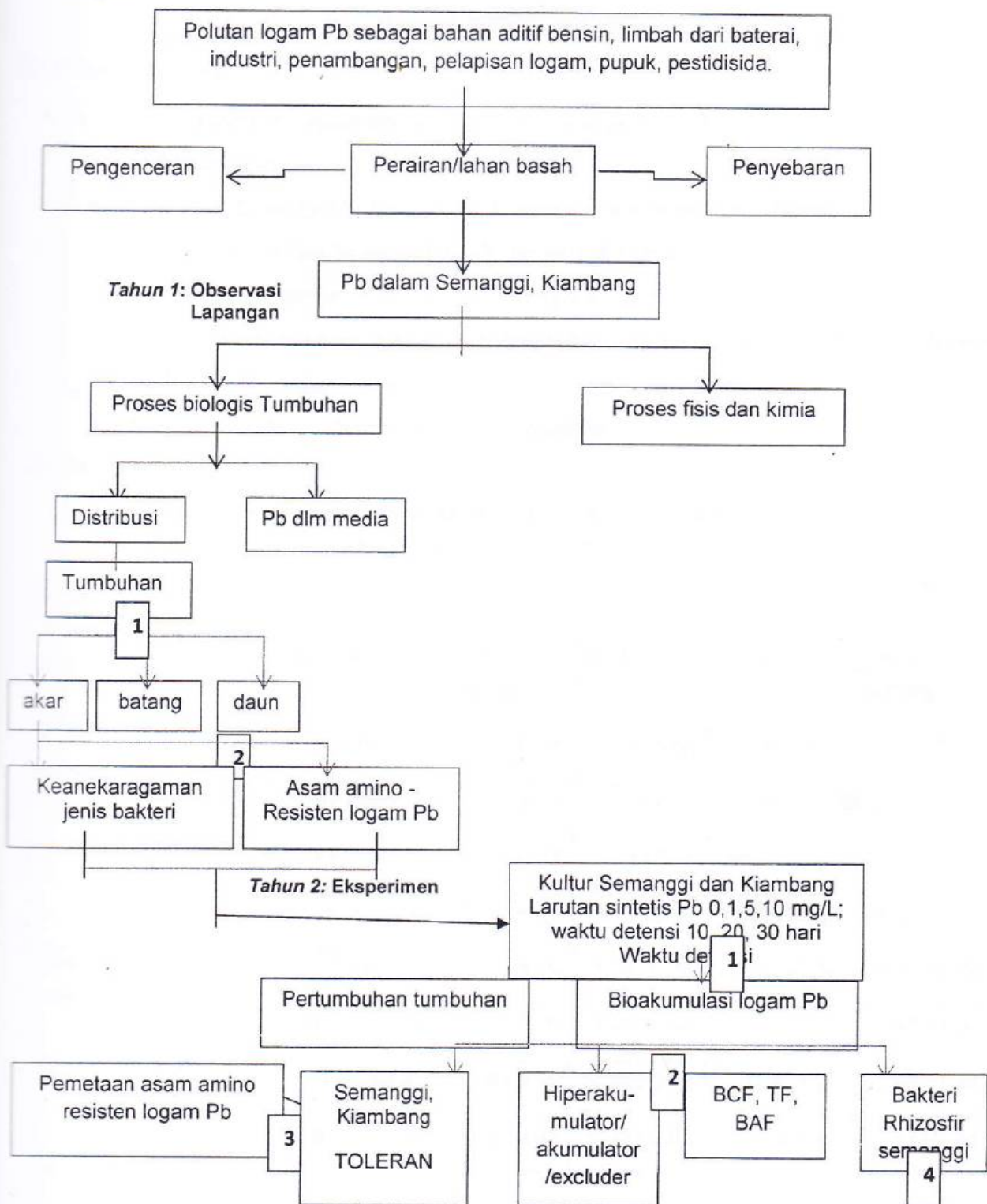
Data penelitian tahun pertama yang berupa hasil observasi morfologi tumbuhan (warna akar, batang, dan daun) dan bakteri dianalisis secara deskriptif. Tinggi tumbuhan dan panjang akar, kandungan logam Pb dalam air habitat, kandungan logam Pb dalam tumbuhan, kandungan asam amino tumbuhan dianalisis menggunakan korelasi. *Data hasil penelitian tahun kedua* meliputi: pertumbuhan tumbuhan, kandungan logam Pb pada organ tumbuhan yaitu akar, batang,

dan daun, kandungan logam berat dalam air (media tanam), BCF, TF, BAC, BAF dianalisis dengan Genstat Program 15th Edition untuk menghitung Anova dan dilanjutkan uji Tukey, Sedangkan jenis bakteri dianalisis secara deskriptif dan analisis asam amino berdasarkan persentasenya dan total proteinnya.

4. 6. Luaran yang diinginkan :

- 4.6.1 Pada tahun kedua: Publikasi pada jurnal nasional terakreditasi/jurnal internasional atau dalam seminar nasional/internasional.
- 4.6.2 Indikator capaian yang terukur: Dari hasil penelitian secara keseluruhan, diharapkan dapat ditemukan asam amino dan bakteri dari tumbuhan semanggi dan kiambang sebagai bentuk resistensi terhadap cekaman logam Pb.

4.7. Bagan Alir Penelitian



BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 *Tahap Pertama* bertujuan untuk mendeskripsikan pertumbuhan.

Telah dilakukan :

- a. Pengambilan sampel Semanggi dan Kiambang di Kendung dan Jabon
- b. Aklimasi tumbuhan Semanggi dan Kiambang di rumah kaca.
- c. Pembuatan larutan sintesis Pb (pada berbagai konsentrasi).
- d. Melakukan eksperimen pengaruh berbagai konsentrasi Pb terhadap absorpsi Pb pada tumbuhan Semanggi dan Kiambang.
- e. Mengukur pertumbuhan Semanggi dan Kiambang

Dan hasilnya sebagai berikut:

Table 5.1 Rata-rata dan standar deviasi biomassa, berat kering, dan RGR setelah perlakuan 7 dan 14 hari.

Jenis Tumbuhan	Konsentrasi Pb (ppm)	7 hari			14 hari		
		Biomassa	Berat kering	RGR	Biomassa	Berat kering	RGR
<i>Salvinia molesta</i>	0	113.00±2.65	6.50±0.65	5.01±0.60	100±3.05	6.50±0.65	5.01±0.60
	5	97.00±0.11	6.76±1.65	5.26±1.53	97±0.12	6.76±1.65	5.26±1.53
	10	98.50±0.00	5.06±0.27	3.69±0.25	98.57±0.12	5.06±0.27	3.69±0.25
	15	98.96±0.04	4.41±0.37	3.08±0.34	98.89±0.14	4.41±0.37	3.08±0.34
<i>Marsilea crenata</i>	0	117.30±2.51	6.21±0.09	5.21±0.08	113±2.65	6.21±0.09	5.21±0.09
	5	106.07±3.83	5.85±0.16	4.85±0.16	96.8±0.92	5.85±0.16	4.85±0.16
	10	106.27±0.47	5.64±0.08	4.64±0.08	101.47±1.5	5.64±0.08	4.64±0.08
	15	107.10±0.70	5.51±0.02	4.51±0.02	93.4±1.06	5.51±0.02	4.51±0.02

5.1.2 *Tahap Kedua* bertujuan untuk menemukan mekanisme absorpsi, biokonsentrasi dan translokasi logam Pb oleh tumbuhan Semanggi dan Kiambang. Tahap ini meliputi:

- a. Menentukan mekanisme fitoremediasi logam Pb oleh Semanggi dan Kiambang.

- b. Menentukan kemampuan Semanggi dan Kiambang sebagai akumulator/ hiperakumulator/excluder.
 - c. Membandingkan kemampuan Semanggi dan Kiambang mengabsorbsi logam Pb.
- Dan hasilnya sebagai berikut.

Tabel 5.2

Rata-rata dan standar deviasi bioconcentration factors (BCF) akar dan BCF pucuk dan TF translocation factors (TF) setelah perlakuan 7 dan 14 hari.

Species of Plant	Concentration Pb (ppm)	7 days			14 days		
		BCF Roots	BCF Shoots	TF	BCF Roots	BCF Shoots	TF
<i>Salvinia molesta</i>	0	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
	5	4.40±0.05 ^b	2.20±0.05 ^b	0.50±0.01 ^a	4.81±0.20 ^b	2.95±0.08 ^b	0.61±0.01 ^a
	10	4.24±0.03 ^c	2.22±0.01 ^c	0.52±0.02 ^a	4.73±0.50 ^c	2.99±0.07 ^e	0.63±0.01 ^a
	15	3.85±0.03 ^d	2.24±0.08 ^d	0.62±0.013 ^a	4.40±0.49 ^d	2.85±0.03 ^d	0.62±0.01 ^a
<i>Marsilea crenata</i>	0	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
	5	3.71±0.87 ^b	0.77±0.05 ^b	0.00±0.00 ^a	1.85±0.02 ^b	0.35±0.04 ^b	0.13±0.01 ^a
	10	6.13±0.54 ^c	0.53±0.06 ^c	0.00±0.00 ^a	3.24±0.06 ^c	0.68±0.07 ^c	0.00±0.00 ^a
	15	6.56±0.56 ^d	0.51±0.08 ^d	0.09±0.15 ^a	1.77±0.04 ^d	0.01±0.00 ^d	0.00±0.00 ^a

Table 5.3

Rata-rata dan standar deviasi rata-kadar PB dalam akar dan pucuk setelah perlakuan 7 dan 14 hari.

Jenis Tumbuhan	Concentration Pb (ppm)	7 days		14 days	
		Akar	Pucuk	Akar	Pucuk
<i>Salvinia</i>	0	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a

<i>molesta</i>	5	0.59±0.02 ^b	0.29±0.00 ^b	0.64±0.00 ^b	0.39±0.00 ^b
	10	0.64±0.00 ^c	0.33±0.01 ^c	0.67±0.02 ^c	0.43±0.00 ^c
	15	0.63±0.00 ^d	0.38±0.01 ^d	0.73±0.01 ^d	0.47±0.01 ^d
<i>Marsilea crenata</i>	0	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
	5	0.68±0.14 ^b	0.18±0.01 ^b	0.94±0.06 ^b	0.22±0.07 ^b
	10	1.45±0.08 ^c	0.19±0.02 ^e	1.69±0.11 ^c	0.58±0.05 ^c
	15	1.63±0.35 ^d	0.78±0.02 ^d	2.92±0.43 ^d	0.41±0.01 ^d

Keterangan: huruf kecil menunjukkan ada perbedaan kandungan Pb pada berbagai perlakuan konsentrasi

5.1.3 Tahap Ketiga

Pada tahap ketiga tahun kedua dikaji pola pemetaan protein pada Semanggi dan Kiambang yang ditinjau dari *free amino acid* (asam amino bebas) dan total protein protein. Variasi total protein menunjukkan adanya respon tanaman terhadap perubahan lingkungan, dan peningkatan dan penurunan asam amino tertentu (prolin dan sistin) sebagai bentuk resistansi dan degradasi protein akibat penurunan kualitas lingkungan.

Sampel asam amino dan total protein diperoleh dari akar Semanggi dan Kiambang ditentukan dengan metode HPLC dengan langkah-langkah preparasi, isolasi dan deteksi asam amino. Hasil tahap ini dapat disajikan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4a. Asam Amino pada Tumbuhan Kiambang (n=2)

No	Parameter asam amino	Hasil analisis aa (%) pada perlakuan Pb		
		0 ppm	5 ppm	15 ppm
1	Histidin	0.42±0.02	0.26±0.02	0.25±0.02
2	Threonin	0.92±0.00	0.45±0.00	0.49±0.02
3	Prolin	0.71±0.02	0.48±0.02	0.41±0.02
4	Tirosin	0.53±0.02	0.27±0.02	0.30±0.02
5	Leusin	1.39±0.02	0.91±0.02	0.77±0.02
6	Asam aspartat	1.16±0.02	0.79±0.02	0.74±0.02
7	Lisin HCl	0.56±0.02	0.40±0.02	0.37±0.02
8	Glisin	1.09±0.02	0.66±0.02	0.62±0.02
9	Arginin	0.91±0.02	0.55±0.02	0.50±0.02
10	Alanin	0.84±0.02	0.59±0.02	0.50±0.02
11	Valin	0.77±0.01	0.50±0.01	0.42±0.01
12	Isoleusin	0.63±0.01	0.41±0.01	0.35±0.01

13	Fenilalanin	1.13±0.01	0.61±0.01	0.59±0.01
14	Asam glutamate	1.49±0.02	1.04±0.02	0.91±0.02
15	Serin	0.90±0.00	0.47±0.00	0.49±0.00
16	Metionin	0.23±0.02	0.11±0.02	0.10±0.02
17	Sistin	0.01±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
	Total	13.69	8.51	7.83

Tabel 4.4a menunjukkan bahwa total protein pada kiambang yang diperlakukan dengan larutan Pb selama 14 hari pada kelompok control (13.69%) lebih besar dibandingkan dengan kelompok perlakuan 5 ppm (8.51) dan 15 ppm (7.83). Selain itu juga terdapat kecenderungan peningkatan kadar beberapa asam amino, seperti: proline, glycine, arginine, histidine, glutamic acid, systeine. Berbeda dengan semanggi, untuk nilai total protein pada selama 14 hari pada kelompok control (3.88%) lebih kecil dibandingkan dengan kelompok perlakuan 5 ppm (4.15) dan 15 ppm (4.47). Selain itu juga terdapat kecenderungan beberapa asam amino, seperti: proline dan glycine menurun, sedangkan arginine, histidine, glutamic acid, dan systeine meningkat (Tabel 5.4b).

Tabel 5.4b. Asam Amino pada Tumbuhan Semanggi

No	Parameter asam amino	Hasil analisis aa (%) pada perlakuan Pb		
		0 ppm	5 ppm	15 ppm
1	Histidin	0.15±0.01	0.15±0.01	0.19±0.01
2	Threonin	0.16±0.01	0.30±0.01	0.31±0.01
3	Prolin	0.24±0.02	0.23±0.02	0.21±0.02
4	Tirosin	0.08±0.01	0.14±0.01	0.15±0.01
5	Leusin	0.36±0.01	0.35±0.01	0.39±0.01
6	Asam aspartat	0.38±0.01	0.38±0.01	0.40±0.01
7	Lisin HCl	0.17±0.01	0.20±0.01	0.24±0.01
8	Glisin	0.41±0.02	0.47±0.02	0.44±0.03
9	Arginin	0.23±0.02	0.22±0.02	0.25±0.02
10	Alanin	0.29±0.01	0.28±0.01	0.30±0.01
11	Valin	0.25±0.01	0.25±0.01	0.27±0.01
12	Isoleusin	0.19±0.01	0.18±0.01	0.20±0.01
13	Fenilalanin	0.24±0.01	0.23±0.01	0.27±0.01
14	Asam glutamate	0.43±0.01	0.42±0.01	0.44±0.01
15	Serin	0.24±0.01	0.31±0.01	0.33±0.01
16	Metionin	0.03±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01
17	Sistin	Not detected	Not detected	Not detected
	Total	3.88	4.15	4.47

4.1.4 Tahap Keempat

Pada tahap keempat tahun kedua dikaji bakteri yang terdapat pada akar Semanggi. Isolasi rhizobakteri dilakukan dengan cara menghomogenkan 10 gram sampel akar dan ditumbuhkan dalam media Czapek Broth tanpa sukrosa dengan larutan Pb-asetat konsentrasi perlakuan 10 mgL^{-1} (dilakukan pengenceran). Sampel diinkubasi dan dinokulasi dengan menggunakan metode tuang (Pour plate method). Bakteri yang tumbuh diinokulasikan pada tabung reaksi yang berisi media KNA hingga didapatkan isolate murni. Koloni bakteri yang tumbuh diamati secara morfologi, pewarnaan gram dan uji fisiologis. Pengamatan morfologi meliputi 1. Bentuk koloni, 2. Diameter koloni, 3. Warna koloni, 4. Tepi koloni, 5. Elevasi. Uji fisiologis menggunakan *Microbact Identification System*. Hasil identifikasi bakteri disajikan pada Tabel 5.5

Tabel 5.5a Keanekaragaman Bakteri Rhizosfir Tumbuhan Kiamang

No	Karakter	Spesies								
		<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Pseudomonas pseudo mallei</i>	<i>Bacillus brevis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus badius</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Bacillus sphaericus</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
1	Bentuk koloni*	circular	irregular	circular	irregular	irregular	irregular	irregular	irregular	circular
2	Elevasi*	convex	raised	convex	flat	flat	raised	flat	raised	raised
3	Tepi*	entire	serrate	entire	serrate	serrate	serrate	serrate	serrate	entire
4	Warna*	kuning	putih kekuningan	putih	putih kekuningan	putih	putih kekuningan	putih	putih kekuningan	putih
5	Optik*	opaque	translucent	opaque	opaque	opaque	translucent	transparent	opaque	translucent
6	Permukaan*	halus	halus	halus	kasap	kasap	halus	halus	kasap	halus
7	Gram**	negatif	negatif	positif	positif	positif	negatif	negatif	positif	positif
8	Bentuk sel**	batang	batang	batang	batang	batang	batang	batang	batang	batang
9	Susunan sel**	diplobasil	streptobasil	diplobasil	monobasil	monobasil	diplobasil	diplobasil	monobasil	streptobasil

<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Bacillus brevis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus badius</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Bacillus sphaericus</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
-------------------------------	---------------------------------	------------------------	--------------------------	------------------------	---------------------------------	---------------------------------	----------------------------	-----------------------------

Tabel 4.5a menunjukkan bakteri yang terdapat pada akar tumbuhan kiambang adalah *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus badius*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Bacillus sphaericus*, dan *Pseudomonas stutzeri*. Dan bakteri yang terdapat pada akar tumbuhan semanggi disajikan pada Tabel 5.5b, yaitu *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus badius*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Bacillus sphaericus*, dan *Pseudomonas stutzeri*.

Tabel 5.5b Keanekaragaman Bakteri Rhizosfir Tumbuhan Semanggi

No	Karakter	Spesies							
		<i>Bacillus badius</i>	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Aeromonas hydrophilla</i>	<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Bacillus brevis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Bacillus pumilus</i>
1	Bentuk koloni*	irregular	circular	irregular	circular	circular	irregular	irregular	irregular
2	Elevasi*	raised	convex	flat	raised	raised	flat	raised	raised
3	Tepi*	lobate	entire	lobate	entire	entire	undulate	erose	undulate
4	Warna*	putih kekuningan	putih kekuningan	putih	merah muda	putih	putih	putih kekuningan	putih
5	Optik*	opaque	opaque	translucent	opaque	opaque	transparent	opaque	opaque
6	Permukaan*	halus	halus	halus	kasar	kasap	halus	kasap	halus
7	Gram**	positif	negatif	negatif	positif	positif	positif	negatif	positif
8	Bentuk sel**	batang	batang	batang	batang	batang	batang	batang	batang
9	Susunan sel**	mono basil	diplobasil	streptobasil	streptobasil	monobasil	streptobasil	monobasil	diplobasil

5.1 Pembahasan

5.2.1 Pertumbuhan Tumbuhan yang Terpapar Logam Pb

Pertumbuhan tumbuhan yang meliputi biomassa, berat kering, dan RGR antara tumbuhan kiambang dan semanggi tidak ada perbedaan, termasuk antar perlakuan. Pertumbuhan kedua tumbuhan pada berbagai perlakuan menunjukkan pertumbuhan positif.

Kedua tumbuhan tersebut mengalami pertumbuhan positif dan mampu tumbuh pada berbagai variasi konsentrasi larutan sintesis Pb. Hal ini juga sejalan dengan hasil penelitian Gothberg *et al.* (2004) pada kangkung yang dipapar logam Pb dan ditumbuhkan dengan nutrient Hogland berbagai konsentrasi, Abhilash, *et al.* (2007) pada genjer yang dipapar logam Cd dengan konsentrasi hingga 2 mgL^{-1} pada tumbuhan genjer, dan berbeda dengan Petshombat, *et al.* (2006) yang meneliti kelompok tumbuhan paku *Salvinia* yang dipapar dengan Pb konsentrasi 10, 20, 30, 40 mg L^{-1} dan lama paparan 2,4,6,8 hari menunjukkan penurunan pertumbuhan. Hal ini sejalan dengan Hardiani (2008) yang menyatakan bahwa tumbuhan yang beradaptasi pada media berkadar logam berat tinggi dan toleran terhadap logam tersebut mempunyai sifat tumbuh lambat.

5.2.2 Distribusi Pb pada Organ Tumbuhan

Hasil analisis Anova dan uji Tukey kandungan Pb dalam akar tumbuhan kiambang dan semanggi menunjukkan semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi logam Pb yang diserap namun tidak ada perbedaan untuk lama paparan. Semakin tinggi konsentrasi Pb semakin banyak logam Pb yang dikonsentrasikan dalam akar tumbuhan (Xin, *et al.*, 2010). Hasil penelitian ini juga didukung oleh Jan, *et al.* (1989) bahwa pada genjer air (*water velvet*) semakin lama waktu detensi (sampai 14 hari) semakin tinggi logam Cu yang diserap dari paparan Cu 8 ppm pada media. Sementara itu Zou (2011) meneliti media yang mengandung logam Pb menunjukkan korelasi antara konsentrasi Pb dalam media dan lama paparan dengan kandungan Pb dalam tumbuhan herba dicotyledoneae *Carpesium abrotanoides*, *Conyza Canadensis*, *Anemone vitifolia*, tumbuhan monocotyledoneae *Juncus effusus* dan tumbuhan kingdom pteridophyta *Athyrium wardii*, *Pseudocyclosorus subochthodes*.

Selain itu, kiambang dan semanggi yang merupakan pteridophyta mempunyai akar berdiameter kecil monopodial, epidermis berdinding tipis, korteks terdiri dari sklerenkim

atau parenkim kombinasi sklerenkim, stele *diarch* atau *tetrarch*. Kemampuan akar kiambang dan semanggi dalam mengakumulasi logam Pb dibandingkan daun adalah terkait fungsi akar kedua tumbuhan melakukan imobilisasi ion toksik logam berat Pb dalam media tanam dengan cara mengakumulasi, mengadsorpsi pada permukaan akar, dan mengendapkan presipitat polutan pada zona akar tersebut. Setelah melakukan fitostabilisasi, maka akar berperan sebagai rizofiltrasi yakni akar mengabsorpsi ion toksik Pb. Bila dibandingkan dengan organ lain dari ketiga tumbuhan tersebut, akar berpotensi dalam mengabsorpsi kadar Pb yang berupa ion dan garam anorganik. Peningkatan kadar Pb pada akar disebabkan oleh adanya proses akumulasi kadar Pb di dalam akar (Mangkuedihardjo, 2010).

Lingkungan yang banyak mengandung logam berat ini membuat protein regulator dalam tumbuhan tersebut mengadakan ekspresi gen dengan tujuan untuk membentuk ikatan sulfide di ujung belerang pada sistein bila bertemu dengan Pb serta logam berat lainnya, dan membentuk senyawa kompleks. Sehingga timbal, dan logam berat lainnya akan terbawa menuju jaringan tumbuhan (Salisbury dan Ross, 1995).

Hasil analisis ini secara umum menunjukkan semakin tinggi konsentrasi semakin banyak logam Pb yang dikonsentrasikan dalam daun. Daun kiambang mengandung logam Pb tidak berbeda dengan semanggi pada pengamatan hingga hari ke-14, Hal ini disebabkan oleh kedua tumbuhan tersebut memiliki struktur daun yang telatif sama karena dalam kelompok tumbuhan pterydophyta.

Lebih lanjut, kandungan Pb dalam daun tumbuhan semanggi menunjukkan bahwa seluruh perlakuan konsentrasi kontaminan Pb pada berada pada konsentrasi di bawah batas yang diizinkan oleh WHO (1996) untuk bahan pangan yaitu $0,5 \text{ mg/kg}^{-1}$. Hal ini menunjukkan daun tumbuhan tersebut yang telah digunakan untuk meremediasi larutan sintesis Pb pada konsentrasi hingga 10 mgL^{-1} dengan pengamatan hari ke-14 pengamatan masih dapat dikonsumsi karena dari segi keamanan pangan tidak membahayakan kesehatan.

Hasil penelitian perlakuan konsentrasi pada tumbuhan kiambang dan semanggi, menunjukkan kandungan Pb berturut-turut dari tinggi ke rendah ialah akar, daun (Pourrut, 2011). Kemampuan akar dalam mengkonsentrasikan logam Pb dibandingkan daun dan batang adalah terkait fungsi akar tumbuhan mengadsorpsi pada permukaan akar, mengendapkan presipitat polutan, dan mengakumulasi pada zona akar tersebut sehingga akar mampu mengabsorpsi ion toksik timbal (Pb). Dilanjutkan dengan rizodegradasi

merupakan stimulasi penguraian oleh aktivitas mikroorganisme dengan pelepasan produk ke zona akar. Pada penelitian ini telah diidentifikasi keanekaragaman bakteri rizhosfer yang diduga berperan dalam membantu mendegradasi logam Pb. Bakteri yang terdapat pada akar tumbuhan kiambang teridentifikasi 9 jenis bakteri pada kondisi tercekam logam Pb lebih dari 10 mg L^{-1} dan 8 jenis pada tumbuhan semanggi.

5.2.3 Potensi Tumbuhan untuk Fitoremediasi

Hasil uji F dapat ditunjukkan bahwa pengamatan pada hari ke-14 berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap nilai BCF dan BAF, sedangkan pada TF ($p < 0.05$) tidak ada pengaruh. Berdasarkan nilai BCF, tumbuhan semanggi dan kiambang dikategorikan sebagai tumbuhan akumulator untuk logam berat Pb karena nilai BCF lebih besar dari 1 (Mellem *et al.*, 2009; 2012). Telah ditunjukkan bahwa akumulasi Pb dalam akar secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan tunas karena translokasi Pb rendah dari akar ke tunas (Cunningham *et al.* 1995, Ross, 1994, Lehman dan Franz, 2004).

Memperhatikan hasil penelitian ini dapat diidentifikasi tumbuhan semanggi dan kangkung air sebagai tumbuhan yang mampu melakukan fitostabilisasi karena meimmobilisasi Pb dalam akar ($BCF > 1$ dan $TF < 1$), dan kemampuan tumbuhan mentranslokasi logam Pb ke bagian pucuk rendah.

5.2.4 Respons Biokimia Tumbuhan

Total persentase asam amino pada kiambang mengalami penurunan ditinjau dari konsentrasi pada pemaparan 14 hari, Artinya, semakin tinggi konsentrasi pemaparan terhadap logam Pb semakin rendah persentase total protein. Hal ini didukung oleh penelitian pada alga bahwa total kandungan protein pada *Chlorella vulgaris* menurun dalam medium buatan dengan paparan logam (Afkar *et al.*, 2010). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa tidak ada perubahan total kandungan protein yang terjadi dalam sel-sel *Chlorella vulgaris* yang dipapar Co. Hal ini berarti bahwa akumulasi protein pada konsentrasi logam berat rendah mungkin merupakan salah satu cara organisme dapat meniadakan efek toksiknya atau meningkatkan respirasinya dengan cara memanfaatkan karbohidrat dengan keuntungan akumulasi protein (Osman *et al.*, 2004).

Berbeda dengan tumbuhan semanggi, semakin tinggi konsentrasi pemaparan Pb semakin tinggi persentase total proteinnya (Gambar 5.8). Hal ini sejalan dengan penelitian lain, bahwa penambahan Cu dan Zn dengan konsentrasi 10^{-9} M meningkatkan total kandungan

protein dibandingkan kontrol (Osman *et al.*, 2004). Total asam amino dari *Chlorella vulgaris* meningkat tajam dengan meningkatnya konsentrasi logam berat (Afkar *et al.*, 2010). Penulis yang sama menemukan bahwa banyak stimulus yang dideteksi pada kultur dengan ditambah Cu dibandingkan dengan logam lain yang diuji. Dengan kata lain Co dan Zn menstimulasi biosintesis dari total asam amino, tetapi efek stimulasinya kurang dari pada Cu.

Selain itu pada semanggi, seiring dengan pertumbuhan (berat basah) tanaman. Hal ini sejalan dengan penelitian Kamel (2008) pada *Vicia faba* yang ditumbuhkan secara hidroponik dengan perlakuan Pb. Kenaikan persentase asam amino ini sesuai dengan konsentrasi Pb yang diserap oleh akar tidak jauh berbeda antara 7 dan 14 hari dan didukung oleh penelitian Gomez pada *Salvinia minima* (2009) bahwa jalur biosintetik fitokhelatin paku air *Salvinia minima*, fitokhelatin terlibat dalam detoksifikasi Pb^{2+} , telah diyakini pada organisme lainnya; sebagai bagian dari mekanisme mengurangi penyebarannya dalam daun. Hal ini terbukti kandungan Pb dalam daun kiambang dan semanggi rendah dibandingkan akar. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Andra, *et al.* (2010) bahwa peran fitokhelatin menyebabkan toleransi Pb pada vetiver yang tumbuh pada medium tercemar.

Dari asam amino yang terdeteksi, terdapat 6 asam amino yang dikenal berperan penting dalam pengaturan osmotik tumbuhan (Mansour, 2000). Keenam asam amino tersebut adalah arginin, prolin, leusin, valin, serin, dan glisin. Pada kiambang dan semanggi konsentrasi prolin cenderung menurun. Akar mampu mengekstraksi Pb dalam akar sehingga akar beradaptasi pada kondisi ini dengan menghasilkan asam amino ini.

Pada kedua tumbuhan ini juga mengandung arginine. Keberadaan arginin terlibat dalam sintesis poliamin, yang berperan sebagai molekul penanda (*molecule signal*) dan *antioxidant* (Sharma dan Dietz, 2006). Artinya tanaman dapat bertahan terhadap stress dengan memproduksi antioksidan.

5.2.5 Bakteri pada Akar tumbuhan Kiambang dan Semanggi

Pada penelitian ini ditemukan dua tumbuhan sebagai fitoremediator Pb. Selain itu juga ditemukan 9 isolat bakteri dan setelah diidentifikasi ada 6 spesies pada tumbuhan kiambang. Sedangkan pada semanggi ditemukan 8 isolat dan setelah diidentifikasi ada 7 spesies. Spesies-spesies ini dapat hidup pada larutan pb hingga konsentrasi 15 ppm yang juga tidak toksik pada tumbuhan kiambang dan semanggi.

Spesies-spesies tersebut berpotensi sebagai agen bioremediasi untuk kegiatan reklamasi lahan basah atau perairan. Akan tetapi, kemampuan dari bakteri-bakteri tersebut perlu ditingkatkan dan memerlukan uji lanjutan, seperti uji lanjut aplikasi bakteri terhadap pertumbuhan kiambang dan semanggi. Ada beberapa macam mekanisme resistensi logam berat yang dapat dilakukan bakteri. Mekanisme tersebut terdiri atas: (1) biotransformasi, melalui oksidasi-reduksi, (2) biopresipitasi, dimana ion logam dipresipitasi pada permukaan sel melalui mekanisme seperti efflux kation atau mengubah pH, (3) biosorpsi, menggunakan biomass bakteri alami atau rekombinan untuk adsorpsi ion logam (Prasetyawati 2009; El-Shanshoury et al. 2013). Bakteri yang resisten terhadap logam berat diduga berpotensi sebagai biosorben dan bioakumulator sehingga bisa dimanfaatkan sebagai agen bioremediator pencemaran logam berat. Bakteri-bakteri tersebut kemungkinan mempunyai mekanisme biotransformasi, bioadsorpsi, biosorpsi dan bioakumulasi baik secara fisik, mekanis dan enzimatis. Mikrob yang berasosiasi dengan rizosfer vegetasi sering dikenal dengan Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB). Menurut Sari, E (2015) Beberapa spesies *Bacillus* juga termasuk ke dalam PGPB. *Pseudomonas putida*, *Azospirillum brasilense*, dan *Enterobacter cloacae* juga termasuk ke dalam PGPB. Pada umumnya, PGPB dapat meningkatkan pertumbuhan tumbuhan dengan memfasilitasi sumber nutrisi (N, P dan mineral lainnya), memodulasi kadar hormon vegetasi, atau secara tidak langsung mengurangi efek hambatan berbagai patogen pertumbuhan vegetasi, yang dikenal dengan agen biokontrol. Bakteri yang termasuk ke dalam PGPB memiliki beberapa mekanisme resistensi terhadap logam berat, yaitu dengan mengimobilisasi, mobilisasi atau transformasi logam serta mereduksi toksisitasnya agar toleran pada penyerapan ion logam berat (Ahmad 2014). Menurut Grandlic (2008), PGPB mempunyai manfaat fitoekstraksi dan fitostabilisasi. Manfaat PGPB untuk aplikasi fitoekstraksi adalah meningkatkan kemampuan mobilitas atau bioavailabilitas kontaminan sehingga meningkatkan akumulasi logam ke bagian vegetasi serta meningkatkan produksi biomassa vegetasi. PGPB juga bermanfaat bagi fitostabilisasi, yaitu sebagai vegetative cap untuk menstabilisasi logam berat di rizosfer sehingga memicu suksesi tumbuhan hingga klimaks di lahan tercemar logam. PGPB memicu pertumbuhan vegetatif vegetasi dengan cara: (1) menghasilkan ACC-deaminase yang mendorong elongasi akar dan pertumbuhan vegetasi secara umum pada lahan terkontaminasi logam berat tetapi tanpa terjadi ekstraksi, (2) PGPB mengurangi tingkat toksisitas logam berat dengan mengurangi sensitivitas vegetasi pada kadar logam berat yang lebih tinggi.

BAB VI

KESIMPULAN

Simpulan hasil penelitian ini adalah: 1) kedua tumbuhan menunjukkan pertumbuhan, 2) distribusi kandungan Pb pada tumbuhan semanggi (*Marsilea crenata* (L.) Presl.) dan kiambang (*Salvinia molesta*), yaitu berturut-turut akar > batang > daun, kandungan sistein yang diproduksi akar lebih tinggi dibandingkan daun, Nilai BAF lebih besar dari 1, artinya semanggi dan kiambang dapat digunakan sebagai fitoremediator, 3) terdapat 9 jenis bakteri pada rhizosfir tumbuhan kiambang dan 8 jenis pada tumbuhan semanggi, 4) total persentase asam amino pada semanggi menunjukkan semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi asam amino, sebaliknya pada kiambang menunjukkan semakin tinggi konsentrasi semakin rendah asam amino.

DAFTAR PUSTAKA

- Abhilash, P.B., Pandeya, V.C., Srivastava, P., Rakesh, P.S., Chandran, S., Singha, N., Thomas, A.P. 2009. Phytofiltration of cadmium from water by *Limnocharis flava* (L.) Buchenau. *Journal of Hazardous Materials* 170 (2009) 791-797
- Afkar, E., Abanna, H and Fathi, A.A (2010). Toxicology response of green algae *Chlorella vulgaris*, to some heavy metals. *Amer. J. Environ. Sci.* 230-237.
- BLH. 2011. Sumber Daya Alam di Surabaya. BLH Kota Surabaya. 2011
- Cobbett, Christopher S. 2000. phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant physiology*, volume 123, pp. 825-832.
- Darmono. 1995. Logam dalam sistem biologi makhluk hidup. UI Press. Jakarta.
- Davies, B.E. 1995. Lead and other heavy metals in urban areas and consequences for the health of their inhabitants. In: Majumdar SK, Miller EW, Brenner FJ (eds), *Environmental Contaminants, Ecosystems and Human Health*, pp.287-307. The Pennsylvania Academy of Science, Easton PA, USA.
- Fardiaz. 2005. Polusi Air dan udara. Kanisius. Yogyakarta.
- Fitter and Hay. 1991. Fisiologi lingkungan tanaman. UGM Press. Yogyakarta. hal 97- 99
- Ghosh, M. and Singh, S.P., 2005. A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 3 (1), 1-18.
- Göthberg, A., M. Greger, K. Holm, and B. Bengtsson. 2004. Influence of Nutrient Levels on Uptake and Effects of Mercury, Cadmium, and Lead in Water Spinach. *J. Environ. Qual.* 33: 1247-1255.
- Godzik B. 1993. Heavy metal contents in plants from zinc dumps and reference area. *Pol. Bot. Stud.* 5:113-132.
- Indrayati, E.R. 2006. Potensi Tanaman Akar wangi (*Vetivera zizanioides* L.) dalam remediasi limbah cair tapioca. Disertasi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Lane SD, and Martin ES (1977) A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*. *New Phytol.* 79:281-286.
- Lux, Alexaner, Michal Martinka, Marek Vaculik and Philip J. White. 2011. Root response to cadmium in the rhizosphere-a review. *Journal of experimental Botany*, volume 62, No. 1, pp. 21-37.
- Mangkoedihardjo, S. dan Samudro, G. 2010. Fitoteknologi terapan. Graha ilmu. Yogyakarta. hal 54-69
- Mansour. M.M.F. 2000. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. *Biologia Plantarum* 43(4):491-500.
- Matsyik, J. Alia, P. Mohanty, 2002. Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Physiol Plant*, 116:192-199.
- Mc Grath, S.P. 1997. The uptake and translocation of tin and hexavalent chromium and effects on the growth of oat in flowering nutrient solution and in soil. *New Phytol.* 92:381-390.
- Miller, R.J., and Koeppe, D.E. 1971. Accumulation and physiological effects of lead in corn. In: *Proceedings of University of Missouri, Columbia* 4, pp.186-193.

- Nouri, J., Lorestani, B., Yousefi, N., Khorasani, N., Hasani, A.H., Seif, F., Cheraghi, M. 2011. Phytoremediation potential of native plants grown in the vicinity of Ahangaran lead-zinc mine (Hamedan, Iran). *Environ Earth Sci* 62:639–644.
- Osman, M.E.H., El-Naggar, A.H., El-Sheekh, M.M and El-Mazally, E. 2004. Differential effects of Co^{+2} and Ni^{+2} on protein metabolism in *Scenedesmus obliquus* and *Nitzschia perminuta*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 16: 169-178.
- Panda, S.K. and Chaudhury, I. 2005. Chromium stress in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* Volume 17 no.1
- Pilon-Smith, Elizabeth. 2005. Phytoremediation. *Annual Review Plant Biologic* Volume 56, pp. 15-39
- Priyanto, B. dan Prayitno, J. 2004. Fitoremediasi sebagai sebuah teknologi pemulihan pencemaran, Khususnya Logam Berat. Diakses 11 November 2009 <http://lfl.bppt.tripod.com/sublab/lfloral.htm>
- Puspitasari, R., Rachmadiarti, F., Yuliani. 2006. Analisis kadar Pb dalam *Ipomoea aquatica*. *Jurnal Penelitian Perikanan Universitas Brawijaya* edisi Juni 2006. hal 55
- Rachmadiarti, F., Yuliani, W. Budijastuti. 2009. Potency of *lemnaceae* as bioindicator of Cd in freshwater. Program and abstract book International Conference on Biology Science, Faculty of Biology, UGM. Yogyakarta. hal 182
- Rachmawati, I., Rachmadiarti, F., Yuliani. 2010. Potensi semanggi (*Marsilea crenata*) untuk menurunkan kadar BOD (Biological Oxygen Demand) dan COD (Chemical Oxygen Demand) pada air limbah pabrik tahu. Kumpulan Abstrak Seminar Nasional Kimia Universitas negeri Surabaya. Surabaya. hal B94
- Rachmadiarti, F., Soehono, L.A., Utomo, W.H., Yanuwiyadi, B., and Fallowfield, H. 2012. Resistance of Yellow Velvetleaf (*Limnocharis flava* (L.) Buch.) Exposed to Lead. *J. Appl. Environ. Biol. Sci.* 2012 2(6): 210-215.
- Rai, P.K. 2011. An eco-sustainable green approach for heavy metals management: two case studies of developing industrial region. *Environmental Monitoring and Assessment*, Online publication date: 5-Apr-2011.
- Romeiro, S., Ana M. M. A. L., Pedro R. F., Cleide A. de Abreu, Mônica F. de Abreu dan Norma M. E. 2006. Lead uptake and tolerance of *Ricinus communis* L. *Journal of Plant Physiology* 18(4):483-489. Brasil
- Safarrida, Anna. 2007. Rhizofiltrasi kromium dan keragaman Komunitas rhizobakteri pada tanaman air. **Tesis**. Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Diakses melalui [http://puspasca.ugm.ac.id/files/Abst_\(2588-H-2007\).pdf](http://puspasca.ugm.ac.id/files/Abst_(2588-H-2007).pdf). Tanggal 25 februari 2009.
- Salisbury, F.B. dan Ross, W.C. 1995. Fisiologi Tumbuhan. ITB Press. Bandung.
- Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar, N.P.B.A., Dushenkov, V., Ensley, B.D., Chet, I., Raskin I., 1995. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals.
- Sharma, S.S. and K.J. Dietz, 2006. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J. Exp. Bot.*, 57: 711-726.
- Sari, A.M. 2014. Effectiveness of *Eichornia crassipes* Mart (Solm.) and *Salvinia molesta* Mitchell to Absorb Chromium Heavy Metal in Liquid Waste of Batik Industry. Internatiobal conference BASIC-ICGRC. University of Brawijaya. Malang
- Steenis, V.C. G. G. J. 2005. Pradnya Paramita. Jakarta

- Shurez, B. and Rhavisankar, G.A. 2004. Phytoremediation-a novel and a promising approach for environmental clean-up. *Crit. Rev Biotechnol* 24:97-124.
- Tangahu, B.V., Abdullah, S.R.S., Basri, H., Idris, M., Anuar, M., Mukhlisin, M. 2011. A Review on Heavy Metals (As, Pb, and Hg) Uptake by Plants through Phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*. Volume 2011.
- Turner, A.P. and Dickinson, N.M. 1993. *New Phytologist*. Volume 123, Issue 3. p 397-649
- Verma S. and Dubey, R.S. 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci*. 164:645-655.
- Wei, S.H., Zhou, Q.X., Wang, X., Cao, W., Ren, L.P. Song, Y.F. 2004. Potential of weed species applied to remediation of soils contaminated with heavy metals. *J. Environment.Sci*. 16:868-873.
- Zayed, A., Gowthaman, S., & Terry, N. 1998. Phytoaccumulation of trace elements by wetlands plants: I. Duckweed. *Journal of Environmental Quality*, 27, 715-721.