

# Analisis Morfofisiologi, Anatomi, dan Histokimia pada Lima Spesies Tanaman Gulma sebagai Respons terhadap Merkuri dan Timbal (Morphophysiological, Anatomical, and Histochemical Analysis of Five Weed Species in Response to Mercury and Lead)

Rani Apriyani Raharja<sup>1</sup>, Hamim Hamim<sup>2\*</sup>, Yohana Caecilia Sulistyarningsih<sup>2</sup>, Tridiati Tridiati<sup>2</sup>

(Diterima Desember 2019/Disetujui Mei 2020)

## ABSTRAK

Beberapa jenis tumbuhan dapat digunakan sebagai agen fitoremediasi untuk memperbaiki lahan kritis akibat aktivitas pertambangan emas. Percobaan ini bertujuan untuk menganalisis respons morfofisiologi, anatomi, dan histokimia tanaman *Brachiaria mutica*, *Cyperus kyllingia*, *Ipomea aquatica*, *Mikania micrantha*, dan *Paspalum conjugatum* terhadap perlakuan logam berat berupa merkuri [ $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ] dan timbal [ $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ] dalam percobaan hidroponik serta kemampuan tumbuhan tersebut dalam mengakumulasi logam ke dalam jaringan. Respons morfologi diamati dengan mengukur jumlah daun dan bobot kering tanaman, sementara respons fisiologi diamati dengan menganalisis pigmen fotosintesis, sedangkan respons anatomi dan histokimia dilakukan dengan membuat irisan melintang pada akar dan daun menggunakan mikrotom kemudian diamati di bawah mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan bahwa  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  dan  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  mengakibatkan penurunan jumlah daun, bobot kering tanaman, dan pigmen fotosintesis (klorofil a, klorofil b, dan karotenoid) serta penurunan tebal daun yang diakibatkan oleh penurunan tebal epidermis, sedangkan eksodermis dan endodermis akar mengalami peningkatan. Dari analisis akumulasi logam pada jaringan diketahui bahwa merkuri dan timbal terakumulasi dalam jumlah besar di akar dan kemudian juga diakumulasi ke tajuk dalam jumlah yang lebih sedikit. Hasil pengamatan histokimia menunjukkan bahwa timbal terdeteksi di akar kelima tumbuhan gulma, terutama di jaringan endodermis dan berkas pembuluh, sedangkan di daun, kedua logam tersebut terdeteksi di epidermis atas dan bawah, mesofil, serta berkas pembuluh. Di antara kelima spesies, *C. kyllingia* dan *P. conjugatum* adalah yang paling tahan terhadap perlakuan Pb dan Hg.

Kata kunci: akumulator, anatomi, histokimia, logam berat, merkuri, timbal

## ABSTRACT

Plants can be used as phytoremediation agents to improve critical land due to gold mining activities. This experiment aimed to analyze the morphophysiological, anatomical, and histochemical responses of *Brachiaria mutica*, *Cyperus kyllingia*, *Ipomea aquatica*, *Mikania micrantha*, and *Paspalum conjugatum* in response to the application of heavy metals mercury and lead in the forms of  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  and  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  in hydroponic experiments and to determine the ability of these plants to accumulate both metals. Morphological responses were observed by measuring number of leaves and plant dry weight, and physiological responses were observed by analyzing photosynthetic pigments, while anatomical and histochemical responses were analyzed by microscopic observation to transversal slice of roots and leaves. The results showed that the applications of  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  and  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  treatments caused decreases in number of leaves, plant dry weights, and photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoid). The treatments also decreased leaf thickness due to the decrease in the epidermis, but they caused the increases in exodermis and endodermis of the roots. Mercury and lead were accumulated in large amounts in the roots, but accumulation in the shoot was less. Histochemical observation showed that lead was found in the roots of all the plants, especially in endodermic tissue and the vessel, whereas in the leaves the two metals were detected in the upper and lower epidermis, mesophyll, and vessel. Among the five species tested, *C. kyllingia* and *P. conjugatum* were the most tolerant to Pb and Hg.

Keywords: accumulator, anatomy, heavy metal, histochemistry, lead, mercury

## PENDAHULUAN

Luas lahan kritis di Indonesia pada tahun 2013 mencapai sekitar 24 juta ha (BPS 2017). Area di sekitar

tambang emas adalah salah satu lahan yang paling sering ditemukan sebagai lingkungan kritis (Hidayati *et al.* 2009). Pertambangan emas yang umumnya dilakukan dengan sistem terbuka (*open pit mining*) menyebabkan kerusakan pada lapisan dan struktur tanah, kemudian menurunkan ketersediaan bahan organik dan nutrisi pada tanah sehingga menyebabkan penurunan populasi mikroba dan kehilangan vegetasi di sekitar lokasi pertambangan (Widyawati 2006; Fashola *et al.* 2016).

<sup>1</sup> Sekolah Pascasarjana, Program Studi Biologi Tumbuhan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

<sup>2</sup> Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

\* Penulis Korespondensi: Email: hamimhar@gmail.com

Ada dua jenis pertambangan emas, yaitu pertambangan emas skala besar yang menggunakan sianida untuk mengekstraksi emas dari dalam tanah dan pertambangan emas rakyat untuk skala kecil atau pertambangan ilegal yang menggunakan merkuri dalam mengekstraksi emas dari dalam tanah (Hidayati *et al.* 2009). Proses pengekstraksian emas tersebut melepaskan sianida atau merkuri ke lingkungan melalui limbah atau *tailing*. Selain itu, proses ekstraksi emas juga menyebabkan pelarutan berbagai logam berat lain di dalam tanah (Hidayati *et al.* 2009). *Tailing* adalah limbah utama dalam jumlah besar yang dihasilkan dari ekstraksi emas dan mengandung banyak logam berat (Fashola *et al.* 2016). Kandungan logam berat pada *tailing* di pertambangan emas industri antara lain adalah Pb, Ag, Cd, dan Hg, di mana kandungan logam timbal (Pb) biasanya adalah yang tertinggi (Hilmi *et al.* 2018). Dengan demikian, kon-taminasi logam merkuri dan timbal di lingkungan sekitar tambang emas tidak dapat dihindari. Merkuri dilaporkan dapat menyebabkan kerusakan pada sel, sistem saraf, hati, dan akhirnya menyebabkan kematian (Azevedo & Rodriguez 2012). Timbal bersifat toksik pada konsentrasi yang sangat rendah dan tidak dapat ter-degradasi secara alami (Fashola *et al.* 2016). Timbal tidak memiliki fungsi biologis di dalam tubuh dan begitu memasuki tubuh menyebabkan efek buruk pada kesehatan. Timbal memengaruhi hampir semua sistem dalam tubuh, seperti ginjal, saraf, dan kardio-vaskuler manusia (Flora *et al.* 2012).

Perbaikan kualitas lahan dan penghilangan logam berat dari lingkungan diperlukan untuk menghadapi masalah pencemaran logam berat di pertambangan emas. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan tumbuhan yang dikenal juga sebagai fitoremediasi. Fitoremediasi adalah suatu upaya penghilangan atau pembersihan polutan secara primer yang dimediasi oleh tumbuhan (Chaney *et al.* 1995). Beberapa jenis tumbuhan diketahui mampu mengakumulasi logam ke dalam jaringannya tanpa menyebabkan keracunan, yang kemudian dikenal dengan tumbuhan akumulator (Rascio & Navai-Izo 2011). Fitoremediasi memiliki potensi yang sangat

besar dalam upaya pemulihan lahan yang tercemar logam berat, seperti di pertambangan emas. Penelitian yang diarahkan untuk mengidentifikasi dan mengenal karakteristik jenis-jenis tumbuhan yang mampu mengakumulasi logam dan mampu beradaptasi di lahan bekas tambang masih sangat diperlukan. Beberapa species, seperti *Brachiaria mutica*, *Cyperus kyllinga*, *Ipomea aquatica*, *Mikania micrantha*, dan *Paspalum conjugatum* telah terbukti dapat menyerap beberapa jenis logam berat, seperti Pb, Cr, dan Hg (Mohanty & Patra 2012; Latiff *et al.* 2012; Angeles & Cuevas 2018, Chanu & Gupta 2016; Leung *et al.* 2019). Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis respons morfofisiologi, anatomi, dan histokimia beberapa jenis tumbuhan gulma yang diberi perlakuan logam berat  $Hg(NO_3)_2$  dan  $Pb(NO_3)_2$  serta mengamati kemampuannya dalam mengakumulasi Hg dan Pb pada jaringan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai landasan dalam memilih jenis-jenis tumbuhan yang tahan terhadap cekaman Pb dan/atau Hg guna penelitian lebih lanjut.

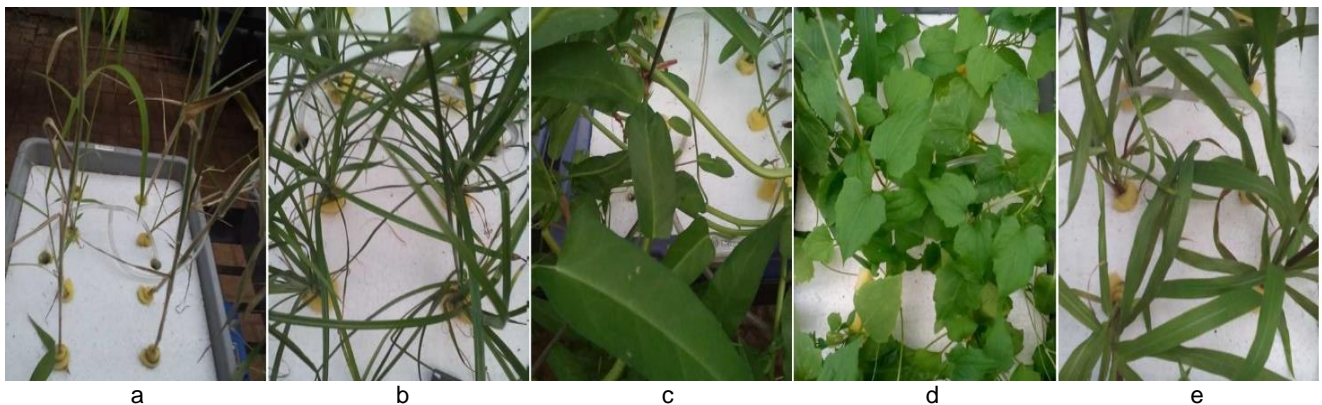
## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Percobaan kultur air dilakukan di rumah kaca Departemen Biologi, IPB pada bulan Agustus–November 2018. Analisis fisiologi, anatomi, dan histokimia dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Genetika Tumbuhan, Departemen Biologi. Analisis akumulasi logam berat (timbal dan merkuri) pada jaringan tanaman dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

### Bahan dan Alat Penelitian

Bahan tanaman meliputi lima jenis tanaman gulma, yaitu *Brachiaria mutica*, *Cyperus kyllinga*, *Ipomea aquatica*, *Mikania micrantha*, dan *Paspalum conjugatum* yang diperoleh dari SEAMEO BIOTROP, Bogor (Gambar 1). Kultur air disediakan dengan menggunakan larutan Hoagland. Sementara itu, logam



Gambar 1 Gambar kelima spesies gulma yang digunakan dalam penelitian. a) *B. mutica*, b) *C. kyllinga*, c) *I. aquatic*, d) *M. micrantha*, dan e) *P. conjugatum*.

berat Hg dan Pb disediakan dalam bentuk  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  dan  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  sesuai dengan perlakuan. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan kultur air yang terdiri atas bak-bak berukuran 6 L yang dilengkapi dengan aerator. Alat-alat lain yang digunakan antara lain, penggaris, timbangan, oven, spektrofotometer UV-FIS, mikrotom, mikroskop, kamera, serta Spektrofotometer Serapan Atom (AAS).

### Metode Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah 5 jenis tanaman, yaitu *B. mutica* (BM), *C. kyllingia* (CK), *I. aquatica* (IA), *M. micrantha* (MM), dan *P. conjugatum* (PC). Faktor kedua adalah konsentrasi timbal dan merkuri yang terdiri atas 5 taraf, yaitu konsentrasi 0 mM (Kontrol), 0,25 mM timbal (P0.25), 0,50 mM timbal (P0.50), 0,25 mM merkuri (H0.25) dan 0,50 mM merkuri (H0,50) dengan 3 kali ulangan.

### Penanaman dan Perlakuan

Kelima jenis gulma dipersiapkan dengan ditanam di dalam *polybag* hingga berumur satu bulan. Tanaman yang akan diuji kemudian dipindahkan ke dalam bak kultur air berukuran 6 L yang berisi media berupa larutan Hoagland konsentrasi penuh (*full strength*). Untuk menjaga ketersediaan oksigen, kultur air dilengkapi dengan aerator selama percobaan berlangsung. Setelah ditumbuhkan selama satu minggu di dalam larutan Hoagland, kemudian tanaman-tanaman tersebut diberi perlakuan dengan  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  dan  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Tanaman diberi perlakuan dengan logam berat tersebut selama empat minggu, selanjutnya dilakukan pengamatan dan pemanenan.

### Analisis Pertumbuhan Tanaman

Analisis pertumbuhan tanaman yang dilakukan adalah dengan menghitung jumlah daun pada setiap minggu dan mengukur bobot kering tanaman pada akhir perlakuan, yaitu hingga empat minggu. Bobot kering tanaman ditentukan setelah dikeringkan dengan oven selama tujuh hari pada suhu 70°C.

### Analisis Pigmen Fotosintesis

Analisis pigmen fotosintesis yang meliputi klorofil (klorofil a dan klorofil b) dan karotenoid dilakukan setelah empat minggu perlakuan yang mengacu pada metode Quinet *et al.* (2012). Konsentrasi pigmen dihitung berdasarkan persamaan Lichtenthaler (1987).

$$\begin{aligned} \text{Klorofil a} &= 12,25 (A663) - 2,79 (A646) \\ \text{Klorofil b} &= 21,50 (A646) - 5,10 (A663) \\ \text{Karotenoid} &= (1000 A470 - 1,82 Ca - 85,02 Cb) / 198 \end{aligned}$$

Keterangan:

A663 = Absorbansi pada  $\lambda$  663 nm

A646 = Absorbansi pada  $\lambda$  646 nm

A470 = Absorbansi pada  $\lambda$  470 nm

### Analisis Anatomi dan Histokimia

Pengamatan anatomi dilakukan dengan membuat irisan melintang pada akar dan daun menggunakan mikrotom geser (G.S.L.I, WSL Bismensdorf, Switzerland). Pengamatan anatomi dan histokimia hanya dilakukan pada tanaman kontrol dan perlakuan Pb dan Hg pada konsentrasi 0.5 mM, guna membandingkan tanaman kontrol dengan tanaman dengan cekaman yang paling berat. Daun yang digunakan adalah daun ke-empat dan akar yang digunakan adalah akar primer, yaitu pada bagian  $\pm 2$  cm dari pangkal akar dengan 3 ulangan. Daun disayat menggunakan mikrotom dengan ketebalan yang berbeda sesuai dengan karakter morfologi tanaman, untuk daun *I. aquatica* memiliki ketebalan 5  $\mu\text{m}$ , sedangkan daun *B. mutica*, *C. kyllingia*, *P. conjugatum*, dan *M. micrantha* memiliki ketebalan 10  $\mu\text{m}$ . Hal yang sama juga dilakukan pada akar. Metode yang sama digunakan untuk membuat preparat histokimia Pb, irisan melintang akar dan daun kemudian diwarnai dengan dithizone, dan hasil positif ditandai warna merah (Seregin & Kozhevnikova 2011). Preparat diamati menggunakan mikroskop Olympus CX-23 dengan perbesaran 4x10 dan 10x10. Foto preparat diambil menggunakan Optilab Viewer® v.2.1. Variable anatomi yang diamati meliputi diameter akar, jaringan pembuluh, eksodermis akar, endodermis akar, tebal daun, epidermis atas, mesofil, serta epidermis bawah.

Metode histokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mengamati keberadaan timbal pada akar dan daun dengan menggunakan reagen *dithizone*. Reagen *dithizone* akan menghasilkan warna merah jika berikatan dengan logam Pb (Seregin & Kozhevnikova 2011). Akan tetapi, metode histokimia untuk mengamati akumulasi dan distribusi merkuri pada jaringan belum ditemukan. Oleh sebab itu, pengamatan histokimia pada penelitian ini hanya dilakukan pada gulma yang dicekam oleh timbal.

### Analisis Akumulasi Logam Berat pada Tajuk dan Akar

Analisis dilakukan pada tajuk dan akar tanaman yang telah diberi perlakuan selama empat minggu dengan menggunakan spektrometri serapan atom (SSA) setelah terlebih dahulu dikeringkan dan didestruksi dengan menggunakan metode destruksi basah. Nilai kandungan logam berat kemudian digunakan untuk menghitung faktor biokonsentrasi (BCF) dan faktor translokasi (TF) (Kumar *et al.* 2013), dengan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{BCF} &= \frac{\text{Konsentrasi logam (tajuk dan akar)}}{\text{Konsentrasi logam di media}} \\ \text{TF} &= \frac{\text{Konsentrasi logam di tajuk}}{\text{Konsentrasi logam di akar}} \end{aligned}$$

### Analisis Data

Data hasil pengamatan selanjutnya diolah dengan analisis ragam (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji DMRT dengan  $\alpha = 5\%$  menggunakan software SPSS 25.0.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Respons Morfologi Tanaman terhadap Hg dan Pb

Penghambatan pertumbuhan merupakan respons umum tanaman terhadap cekaman logam berat (Hamim *et al.* 2018). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh logam berat merkuri dan timbal (Tabel 1 dan 2). Meskipun rata-rata jumlah daun tidak berbeda nyata secara statistik, bobot kering total tumbuhan menurun secara signifikan pada saat diberi perlakuan merkuri dan timbal pada konsentrasi 0.25 mM dan penurunan tersebut semakin tajam pada konsentrasi logam berat yang lebih tinggi (0.50 mM) (Tabel 1 dan 2). Penurunan jumlah daun terbesar terjadi pada perlakuan 0.50 mM Hg, yaitu mencapai lebih dari 90% terjadi pada *I. Aquatica*, sedangkan untuk perlakuan 0.50 mM Pb jumlah daun cenderung menurun hingga lebih dari 50% pada dua spesies (*I. aquatica* dan *C. kyllingia*) (Tabel 1). Sementara itu, bobot kering total tanaman menurun secara signifikan pada saat dicekam logam merkuri dan timbal. Penurunan bobot kering total tanaman terbesar terjadi pada perlakuan 0.50 mM Hg yang mencapai lebih dari 90% pada tiga spesies (*I. aquatica*, *M. Micrantha*, dan *P. conjugatum*) dan perlakuan 0.50 mM Pb yang mencapai lebih dari 40% pada *M. micrantha* (Tabel 2). Meskipun mengalami penurunan bobot kering, *C. kyllingia* adalah spesies yang paling rendah penurunannya dibandingkan dengan keempat spesies lainnya.

Penghambatan pertumbuhan tanaman akibat perlakuan logam berat merkuri dan timbal diduga berkaitan dengan fitotoksitas kedua logam berat tersebut dalam proses metabolisme dan penyerapan hara mineral (Ahammad *et al.* 2018). Ion logam berat masuk ke dalam sel tumbuhan melalui proses yang sama dengan pengambilan atau *uptake* hara esensial, yang berakibat pada kompetisi antara kedua ion

tersebut dalam proses penyerapan hara mineral yang dilakukan oleh tumbuhan (Azevedo & Rodriguez 2012). Interaksi antara logam berat dan tumbuhan menyebabkan kerusakan pada tingkat sel. Menurut Patra *et al.* (2004), kerusakan sel tersebut diduga terjadi melalui beberapa mekanisme, yaitu logam berat memblokir molekul-molekul penting, seperti enzim dan polinukleotida, dan transportasi ion-ion penting serta memindahkan atau menggantikan posisi ion-ion penting di dalam suatu molekul (seperti menggantikan ion Mg pada klorofil). Logam berat juga mengubah dan menonaktifkan protein serta merusak membran sel. Hal tersebut mengakibatkan beberapa kendala fisiologis (Gambar 2) yang menurunkan kemampuan tumbuhan dan pada akhirnya mengakibatkan penghambatan pertumbuhan. Berdasarkan parameter pertumbuhan, khususnya bobot kering, perlakuan dengan Hg menyebabkan penghambatan yang jauh lebih besar dibandingkan dengan perlakuan Pb, pada konsentrasi yang sama.

### Analisis Fisiologi Tanaman

Interaksi antara tanaman dan logam berat umumnya mengubah kandungan pigmen, terutama pigmen fotosintesis (Kumar & Prasad 2018). Gambar 1 menunjukkan bahwa perlakuan merkuri dan timbal secara umum menurunkan secara signifikan ( $p < 0,05$ ) kandungan klorofil a, klorofil b, dan karotenoid. Penurunan kandungan klorofil a paling besar terjadi pada *I. aquatica* dan *M. micrantha* pada perlakuan Pb, namun tidak pada perlakuan Hg. Sebaliknya, penurunan klorofil b lebih banyak dipengaruhi oleh perlakuan Hg, sedangkan kandungan karotenoid meskipun mengalami penurunan, tidak sebesar penurunan yang terjadi pada klorofil a dan b (Gambar 2). Beberapa peneliti juga melaporkan bahwa pemberian logam berat pada tanaman menyebabkan penurunan semua pigmen fotosintesis (Ahammad *et*

Tabel 1 Rata-rata jumlah daun beberapa tanaman gulma yang diberi perlakuan cekaman  $Hg(NO_3)_2$  dan  $Pb(NO_3)_2$  selama 4 minggu

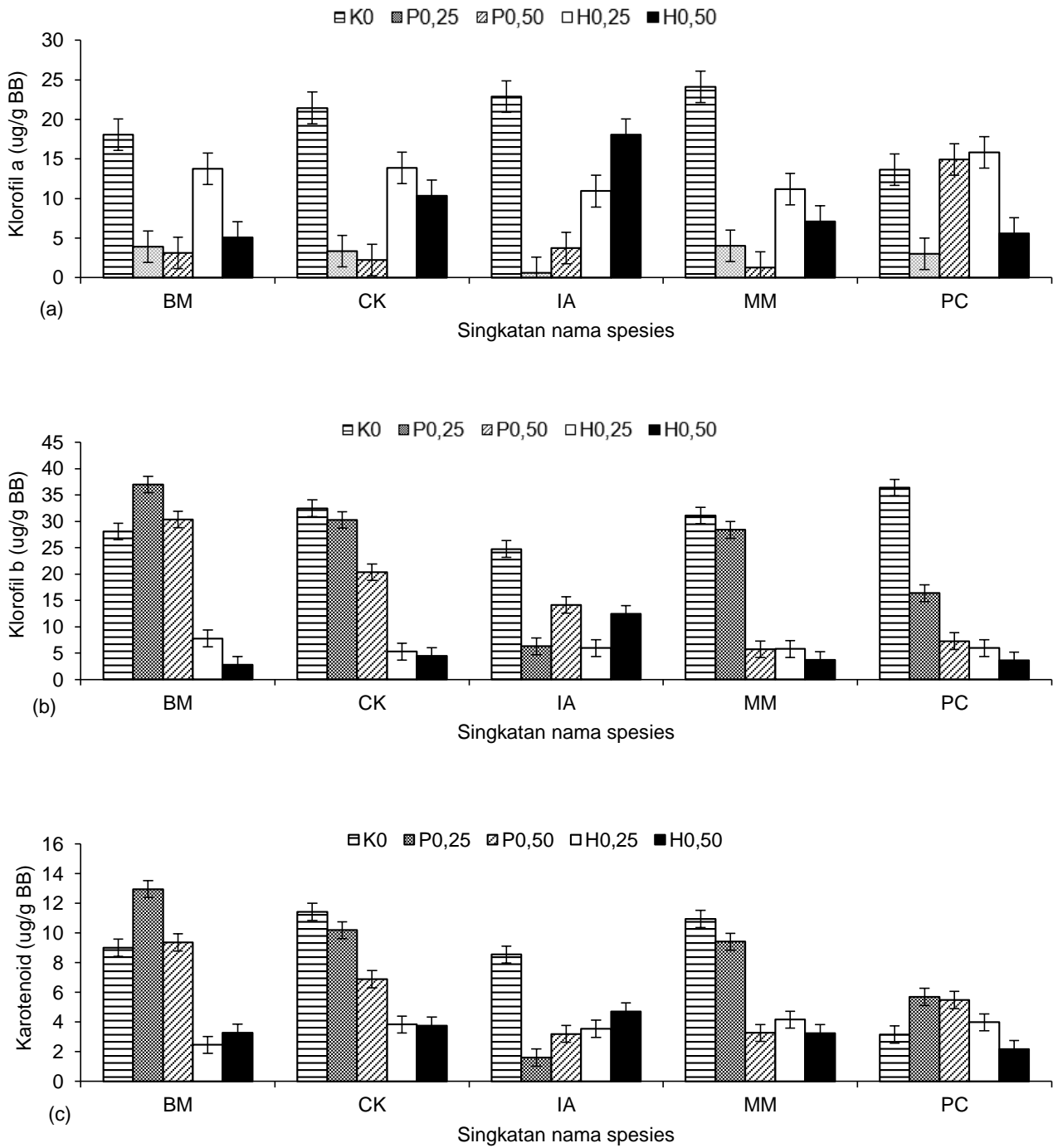
Nama spesies	K0	P0,25	P0,50	H0,25	H0,50
<i>B. mutica</i>	28,33 <sup>abc</sup>	39,00 <sup>bcd</sup>	42,33 <sup>cdef</sup>	10,67 <sup>a</sup>	10,33 <sup>a</sup>
<i>C. kyllingia</i>	43,67 <sup>cdef</sup>	39,00 <sup>bcd</sup>	20,00 <sup>abc</sup>	12,33 <sup>ab</sup>	8,00 <sup>a</sup>
<i>I. aquatica</i>	71,67 <sup>g</sup>	66,67 <sup>efg</sup>	23,33 <sup>abc</sup>	27,67 <sup>abc</sup>	5,33 <sup>a</sup>
<i>M. micrantha</i>	122,00 <sup>h</sup>	100,67 <sup>h</sup>	67,67 <sup>fg</sup>	44,33 <sup>cdef</sup>	40,00 <sup>cde</sup>
<i>P. conjugatum</i>	72,50 <sup>g</sup>	64,67 <sup>defg</sup>	63,00 <sup>defg</sup>	38,67 <sup>bcd</sup>	23,67 <sup>abc</sup>

Keterangan: Angka-angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda secara signifikan pada  $P \leq 0,05$ , seperti yang ditentukan oleh uji Duncan.

Tabel 2 Bobot kering total beberapa tanaman gulma yang diberi perlakuan cekaman  $Hg(NO_3)_2$  dan  $Pb(NO_3)_2$  selama 4 minggu

Nama spesies	K0	H0,25	H0,50	P0,25	P0,50
<i>B. mutica</i>	14,81 <sup>de</sup>	3,38 <sup>ab</sup>	1,71 <sup>a</sup>	11,82 <sup>d</sup>	13,47 <sup>de</sup>
<i>C. kyllingia</i>	17,17 <sup>e</sup>	5,52 <sup>ab</sup>	4,76 <sup>ab</sup>	11,26 <sup>cd</sup>	15,43 <sup>de</sup>
<i>I. aquatica</i>	42,36 <sup>i</sup>	6,21 <sup>ab</sup>	2,71 <sup>ab</sup>	32,45 <sup>g</sup>	25,55 <sup>f</sup>
<i>M. micrantha</i>	45,65 <sup>i</sup>	7,26 <sup>bc</sup>	2,73 <sup>ab</sup>	34,31 <sup>gh</sup>	23,22 <sup>f</sup>
<i>P. conjugatum</i>	45,98 <sup>i</sup>	14,49 <sup>de</sup>	3,97 <sup>ab</sup>	37,36 <sup>h</sup>	32,71 <sup>g</sup>

Keterangan: Angka-angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda secara signifikan pada  $P \leq 0,05$ , seperti yang ditentukan oleh uji Duncan.



Gambar 2 Pigmen fotosintesis lima jenis gulma *B. mutica* (BM), *C. kyllingia* (CK), *I. aquatica* (IA), *M. mirantha* (MM), *P. conjugatum* (PC) pada konsentrasi logam berat yang berbeda: K0 (kontrol); P0,25 (Pb 0,25 mM); P0,50 (Pb 0,50 mM); H0,25 (Hg 0,25 mM) dan H0,50 (Hg 0,50 mM) selama 4 minggu. Bar menunjukkan standar error.

al. 2018; Hilmi *et al.* 2018; Hou *et al.* 2018; Andriya *et al.* 2019; Fathia *et al.* 2019). Penurunan pigmen fotosintesis paling besar dialami oleh gulma yang dicekam merkuri dan timbal pada konsentrasi 0.50 mM (Gambar 2). Hal ini mengindikasikan bahwa penurunan pigmen fotosintesis semakin besar seiring dengan peningkatan konsentrasi logam yang diberikan. Selanjutnya, terkait dengan hal tersebut, Dogan *et al.* (2018) juga melaporkan bahwa klorofil a, klorofil b, dan

karotenoid *Ceratophyllum demersum* mengalami penurunan yang signifikan setelah dicekam dengan  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  pada konsentrasi yang paling tinggi, yaitu 100 mg/L. Penurunan kadar klorofil dan karotenoid yang diamati dalam penelitian ini diduga disebabkan oleh penghambatan biosintesis pigmen fotosintesis. Timbal memengaruhi kandungan klorofil secara langsung dengan menghambat aktivitas enzim  $\delta$ -aminolevulinic

*acid dehydratase* (ALAD) (Gupta *et al.* 2009) yang terlibat dalam jalur biosintesis klorofil. Sementara itu, merkuri memengaruhi biosintesis klorofil dengan menghambat aktivitas enzim NADPH: *protophyllide oxidoreductase* (POR) (Lenti *et al.* 2002). Penghambatan biosintesis klorofil ini selanjutnya menyebabkan pengurangan kandungan pigmen fotosintesis (Hou *et al.* 2018). Berikutnya, penurunan pigmen fotosintesis yang diakibatkan oleh logam berat diduga berkaitan juga dengan penghambatan *uptake* dan transportasi mineral penting, seperti Mg dan Fe (Pourrut *et al.* 2011). Mg dan Fe adalah mineral penting yang berperan dalam sintesis klorofil sehingga penghambatan absorpsi dan transportasi kedua unsur tersebut dapat menyebabkan kehilangan kemampuan daun untuk mensintesis pigmen fotosintesis (Ahammad *et al.* 2018).

Hasil analisis respons morfofisiologi kelima jenis gulma terhadap cekaman merkuri dan timbal menunjukkan bahwa merkuri menginduksi gangguan morfofisiologi yang lebih parah dan signifikan dibandingkan dengan timbal. Pemberian merkuri pada konsentrasi 0,25 dan 0,50 mM secara signifikan ( $p < 0,05$ ) menurunkan jumlah daun, bobot kering total tanaman, dan pigmen fotosintesis. Dalam konsentrasi yang sama pemberian timbal tidak berpengaruh signifikan pada penurunan jumlah daun pada kelima jenis gulma (Tabel 2). Pemberian cekaman 0,25 mM timbal bahkan meningkatkan kandungan klorofil b (Gambar 2b) dan karotenoid (Gambar 2c) pada beberapa gulma. Oleh sebab itu, tanaman lebih dapat mentolerir timbal dibandingkan merkuri. Jadi, merkuri memiliki efek racun yang lebih kuat pada morfofisiologi tumbuhan daripada timbal. Meskipun demikian, di antara kelima spesies yang digunakan, *C. kyllingia* adalah yang paling rendah penurunannya akibat cekaman merkuri.

**Analisis Anatomi**

Perubahan struktur anatomi merupakan prasyarat respons tumbuhan terhadap cekaman (Atabayeva *et*

*al.* 2016). Perubahan struktur anatomi kelima jenis gulma sebagai dampak perlakuan merkuri dan timbal diamati dengan membandingkan karakter anatomi akar dan daun tanaman kontrol dan tanaman yang diberi perlakuan merkuri dan timbal dengan konsentrasi 0,50 mM. Pengamatan anatomi menunjukkan bahwa terjadi perubahan anatomi akar akibat perlakuan kedua unsur logam berat yang meliputi penurunan diameter jaringan pembuluh, serta peningkatan ketebalan jaringan eksodermis dan endodermis (Tabel 3 dan 4). Perubahan karakter anatomi daun yang terjadi akibat perlakuan logam berat meliputi penurunan ketebalan helaian daun, ketebalan mesofil, serta penurunan ketebalan sel epidermis atas dan bawah (Tabel 3 dan 4).

Perlakuan cekaman merkuri dan timbal pada kelima jenis gulma dengan konsentrasi 0,50 mM menyebabkan penurunan diameter jaringan pembuluh akar secara signifikan dibandingkan dengan kontrol (Tabel 3 dan 4). Menurut Sandalio *et al.* (2001) perubahan diameter pembuluh dapat dikaitkan dengan pematangan akar yang diinduksi oleh logam berat akibat dari perubahan keseimbangan hormon. Logam berat dapat memengaruhi keseimbangan hormon akar, selanjutnya memengaruhi morfogenesis jaringan dan memengaruhi jumlah sel dalam jaringan (Sandalio *et al.* 2001). Penurunan diameter jaringan pembuluh tanaman merupakan indikator penurunan konduktivitas air dan mineral pada tanaman (Atabayeva *et al.* 2016). Hal ini mengindikasikan bahwa semua gulma yang diberi perlakuan 0,50 mM Hg dan Pb mengalami penurunan konduktivitas air dan unsur hara esensial.

Peningkatan ketebalan lapisan eksodermis dan endodermis terjadi pada akar lima jenis gulma yang diberi cekaman 0,50 mM merkuri dan timbal. Hal ini diduga berkaitan dengan mekanisme pertahanan kelima jenis gulma dalam menghadapi cekaman merkuri dan timbal. Eksodermis dan endodermis merupakan hambatan apoplastik yang berperan penting bagi tumbuhan sebagai perindungan terhadap

Tabel 3 Hasil pengamatan struktur anatomi daun dan akar beberapa tanaman gulma yang diberi perlakuan cekaman  $Hg(NO_3)_2$  selama 4 minggu

Organ	Parameter anatomi	Konsentrasi		Singkatan nama spesies			
		$Hg(NO_3)_2$	BM	CK	IA	MM	PC
Akar	Diameter jaringan	0 mM	160,00 <sup>d</sup>	105,25 <sup>b</sup>	298,00 <sup>a</sup>	179,75 <sup>e</sup>	157,25 <sup>d</sup>
	Pembuluh ( $\mu m$ )	0,5 mM	149,00 <sup>c</sup>	97,25 <sup>a</sup>	251,75 <sup>f</sup>	-	147,50 <sup>c</sup>
	Tebal eksodermis ( $\mu m$ )	0 mM	10,25 <sup>a</sup>	14,75 <sup>bc</sup>	31,25 <sup>e</sup>	13,25 <sup>b</sup>	24,75 <sup>d</sup>
	Tebal endodermis ( $\mu m$ )	0 mM	7,75 <sup>a</sup>	9,50 <sup>a</sup>	17,00 <sup>d</sup>	9,25 <sup>a</sup>	13,5b <sup>c</sup>
		0,5 mM	12,00 <sup>b</sup>	15,25 <sup>cd</sup>	23,75 <sup>f</sup>	-	20,75 <sup>e</sup>
		0 mM	180,25 <sup>e</sup>	172,50 <sup>d</sup>	239,50 <sup>f</sup>	169,50 <sup>d</sup>	214,75 <sup>f</sup>
Daun	Tebal daun ( $\mu m$ )	0,5 mM	136,00 <sup>b</sup>	152,25 <sup>c</sup>	215,50 <sup>f</sup>	-	134,25 <sup>b</sup>
	Epidermis atas ( $\mu m$ )	0 mM	25,25 <sup>c</sup>	29,25 <sup>cd</sup>	29,00 <sup>cd</sup>	15,50 <sup>b</sup>	56,25 <sup>e</sup>
		0,5 mM	14,50 <sup>b</sup>	30,50 <sup>d</sup>	28,75 <sup>cd</sup>	-	28,75 <sup>cd</sup>
	Mesofil ( $\mu m$ )	0 mM	116,25 <sup>f</sup>	91,50 <sup>d</sup>	182,25 <sup>j</sup>	142,75 <sup>h</sup>	121,75 <sup>g</sup>
		0,5 mM	103,25 <sup>e</sup>	69,00 <sup>b</sup>	173,00 <sup>i</sup>	-	86,25 <sup>c</sup>
	Epidermis bawah ( $\mu m$ )	0 mM	38,75 <sup>e</sup>	51,75 <sup>f</sup>	28,25 <sup>d</sup>	11,25 <sup>b</sup>	36,75 <sup>e</sup>
	0,5 mM	18,25 <sup>c</sup>	52,75 <sup>f</sup>	13,75 <sup>b</sup>	-	19,25 <sup>c</sup>	

Keterangan: Angka-angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda secara signifikan pada  $P \leq 0,05$ , seperti yang ditentukan oleh uji Duncan. BM = *B. mutica*; CK = *C. kyllingia*; IA = *I. aquatica*; MM = *M. micrantha*; dan PC = *P. conjugatum*. *Mikania micrantha* mengalami kematian pada hari ke-4 setelah perlakuan.

Tabel 4 Hasil pengamatan struktur anatomi daun dan akar beberapa tanaman percobaan yang diberi perlakuan cekaman Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> selama 4 minggu

Organ	Parameter anatomi	Singkatan nama spesies					
		Konsentrasi Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	BM	CK	IA	MM	PC
Akar	Diameter jaringan	0 mM	160,00 <sup>d</sup>	105,25 <sup>b</sup>	298,00 <sup>g</sup>	179,75 <sup>e</sup>	157,25 <sup>d</sup>
	Pembuluh (µm)	0,5 mM	153,00 <sup>d</sup>	90,00 <sup>a</sup>	264,50 <sup>f</sup>	153,00 <sup>d</sup>	125,50 <sup>c</sup>
	Tebal eksodermis (µm)	0 mM	10,25 <sup>a</sup>	14,75 <sup>b</sup>	31,25 <sup>e</sup>	13,25 <sup>b</sup>	24,75 <sup>d</sup>
		0,5 mM	13,75 <sup>b</sup>	16,00 <sup>b</sup>	39,75 <sup>f</sup>	18,00 <sup>c</sup>	26,75 <sup>d</sup>
	Tebal endodermis (µm)	0 mM	7,75 <sup>a</sup>	9,50 <sup>a</sup>	17,00 <sup>cd</sup>	9,25 <sup>a</sup>	13,50 <sup>b</sup>
		0,5 mM	13,25 <sup>b</sup>	14,50 <sup>b</sup>	40,50 <sup>e</sup>	15,25 <sup>bcd</sup>	17,75 <sup>d</sup>
Daun	Tebal daun (µm)	0 mM	180,25 <sup>d</sup>	172,50 <sup>cd</sup>	239,50 <sup>f</sup>	169,50 <sup>c</sup>	214,75 <sup>e</sup>
		0,5 mM	152,50 <sup>b</sup>	180,50 <sup>d</sup>	211,50 <sup>e</sup>	159,00 <sup>b</sup>	132,00 <sup>a</sup>
	Epidermis atas (µm)	0 mM	25,25 <sup>c</sup>	29,25 <sup>d</sup>	29,00 <sup>d</sup>	15,50 <sup>a</sup>	56,25 <sup>e</sup>
		0,5 mM	18,75 <sup>ab</sup>	23,75 <sup>c</sup>	20,00 <sup>b</sup>	17,00 <sup>ab</sup>	29,75 <sup>d</sup>
	Mesofil (µm)	0 mM	116,25 <sup>e</sup>	91,50 <sup>c</sup>	182,25 <sup>i</sup>	142,75 <sup>h</sup>	121,75 <sup>f</sup>
		0,5 mM	98,25 <sup>d</sup>	83,75 <sup>b</sup>	171,75 <sup>i</sup>	129,50 <sup>g</sup>	72,25 <sup>a</sup>
Epidermis bawah (µm)	0 mM	38,75 <sup>e</sup>	51,75 <sup>f</sup>	28,25 <sup>c</sup>	11,25 <sup>a</sup>	36,75 <sup>e</sup>	
	0,5 mM	35,5 <sup>d</sup>	73,00 <sup>g</sup>	19,75 <sup>b</sup>	12,50 <sup>a</sup>	30,00 <sup>cd</sup>	

Keterangan: Angka-angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda secara signifikan pada P≤0,05, seperti yang ditentukan oleh uji Duncan.

berbagai jenis cekaman (Enstone *et al.* 2003). Eksodermis melindungi sel akar dari penetrasi agen-agen toksik berlebihan dari lingkungan. Penebalan eksodermis mengurangi penyerapan elemen beracun oleh sel-sel akar (Atabayeva *et al.* 2016). Penebalan jaringan yang dilakukan oleh tanaman yang dicekam dengan logam berat juga merupakan strategi untuk meminimalkan translokasi logam (Gomes *et al.* 2011). Endodermis berfungsi sebagai penghalang fisik yang berperan untuk menghalangi translokasi logam dari akar ke tajuk. Logam yang masuk ke dalam akar melalui jalur apoplastik akan diblokir di endodermis oleh pita kaspari. Logam yang ada di endodermis kemudian dieksresikan oleh sistem detoksifikasi tanaman (Pourrut *et al.* 2011). Peningkatan eksodermis dan endodermis yang diinduksi oleh logam berat, seperti Cu, Cd, Zn, dan Pb telah dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya (Lux *et al.* 2004; Gomes *et al.* 2011; Atabayeva *et al.* 2016; Hilmi *et al.* 2018). Hasil anatomi akar menunjukkan bahwa hampir semua jenis gulma yang dicekam merkuri dan timbal mengalami peningkatan eksodermis dan endodermis yang signifikan ( $p < 0,05$ ) dibanding kontrol. Penebalan jaringan eksodermis dan endodermis pada akar tanaman mencirikan toleransi tinggi tanaman terhadap cekaman logam berat (Lux *et al.* 2004). Hal ini mengindikasikan bahwa hampir semua gulma menunjukkan respons adaptif terhadap cekaman 0,50 mM Hg dan Pb yang diberikan. Penebalan eksodermis dan endodermis merupakan indikator respons adaptif tanaman terhadap stressor (Gomes *et al.* 2011). Meski demikian, dari hasil pengamatan bobot kering tanaman, kelima spesies toleran terhadap perlakuan Pb hingga 0,5 mM, namun hanya *C. kyllingia* yang relatif tahan terhadap cekaman Hg hingga 0,5 mM.

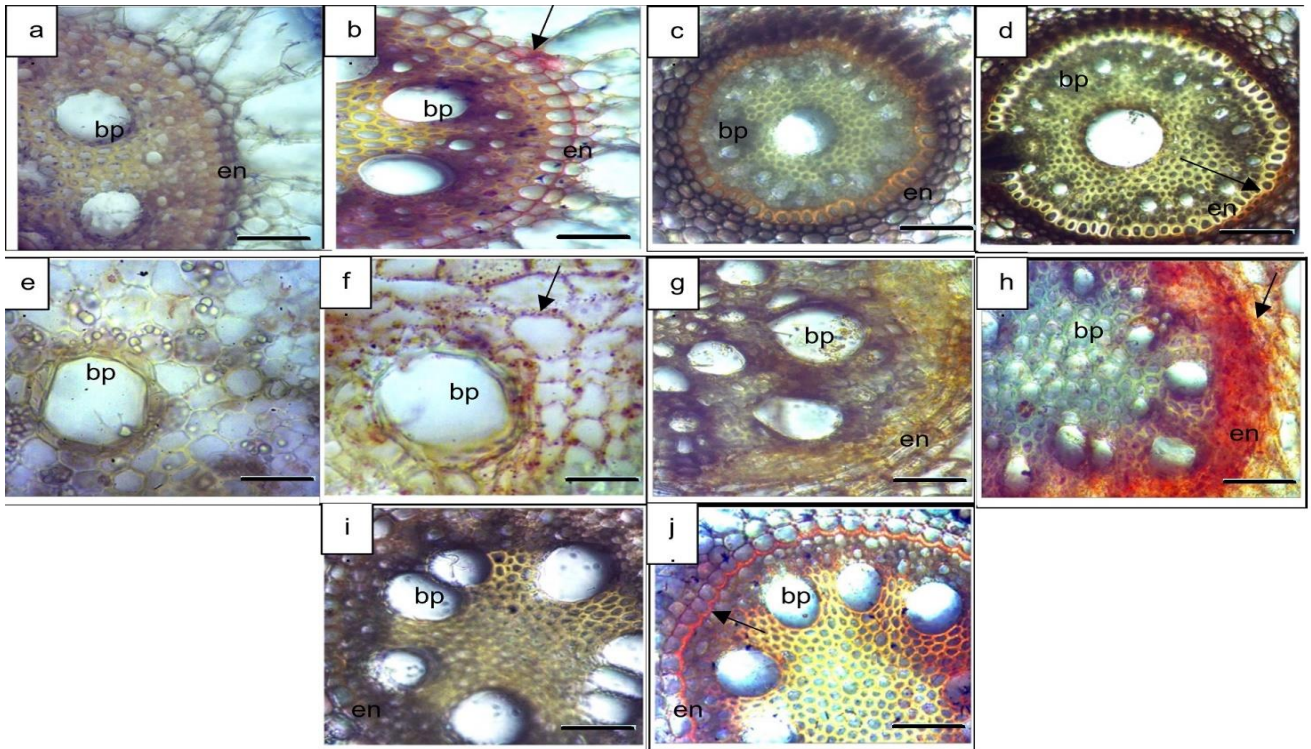
Penurunan ketebalan mesofil, epidermis atas dan bawah, dan ketebalan helaian daun merupakan salah satu dampak cekaman logam berat yang dialami oleh kelima jenis gulma yang dicekam 0,50 Mm Hg dan Pb (Tabel 3 dan 4). Hasil ini serupa dengan hasil penelitian

yang dilakukan oleh Hilmi *et al.* (2018) yang menunjukkan bahwa perlakuan 100% *tailing* tambang emas yang mengandung Pb menyebabkan penurunan ketebalan helaian daun *R. trisperma*. Sementara itu, pada *Brassica juncea* logam Hg menyebabkan penurunan ketebalan mesofil daun (Shiyab *et al.* 2009). Penurunan ketebalan daun merupakan upaya adaptasi tumbuhan untuk menghadapi cekaman. Logam berat juga dapat memengaruhi transportasi air dari akar ke daun, dan hal ini menyebabkan penurunan tekanan osmotik pada bagian daun dan berdampak pada penurunan turgiditas sel daun dan pada akhirnya menyebabkan penurunan ukuran daun dan ketebalan helaian daun (Rucińska-Sobkowiak 2016).

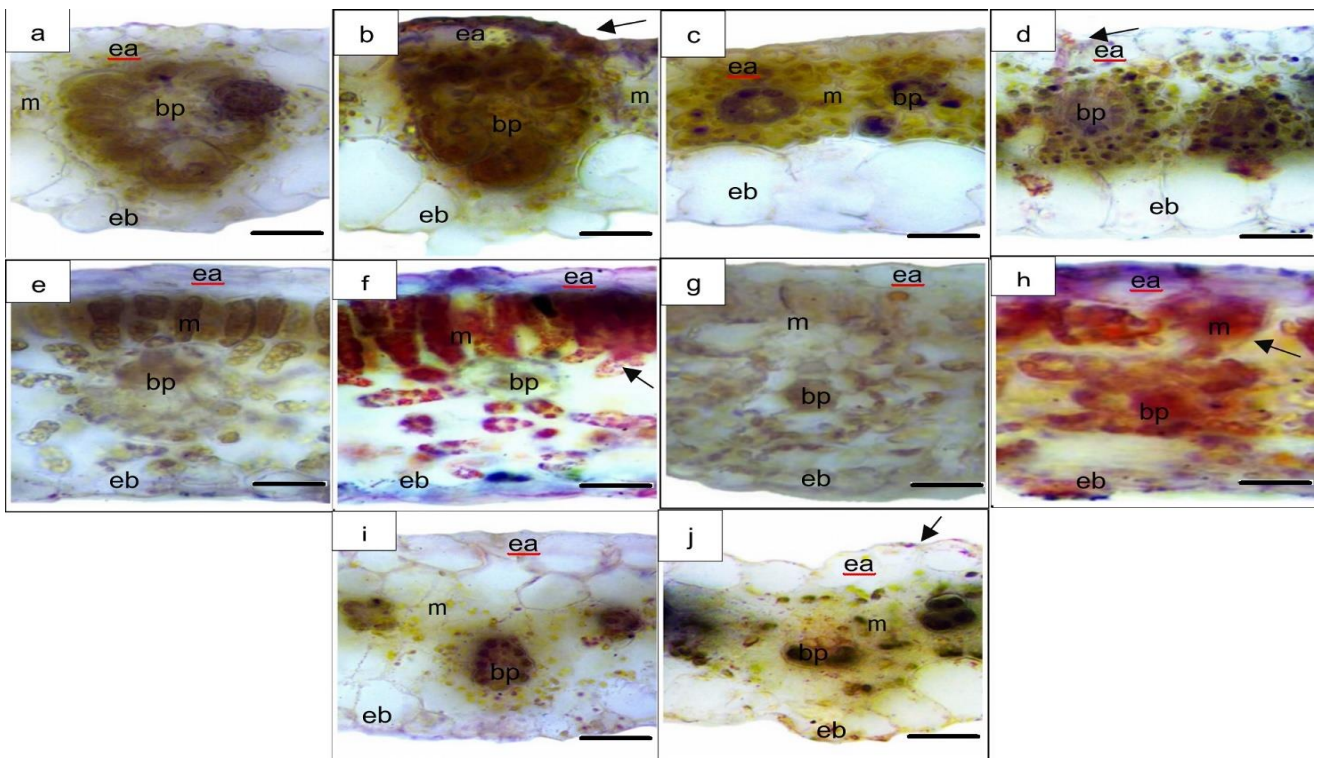
#### Analisis Histokimia

Hasil analisis akumulasi timbal pada jaringan menunjukkan bahwa akumulasi timbal pada akar lebih tinggi dibandingkan dengan pada tajuk. Selanjutnya, distribusi dan akumulasi timbal dapat dilihat dengan lebih selektif melalui metode histokimia (Seregin & Kozhevnikova 2011).

Akar kelima jenis gulma yang dicekam 0.50 mM Pb menunjukkan bahwa Pb terdeteksi pada jaringan endodermis dan berkas pembuluh (Gambar 3). Endodermis terdeteksi sebagai jaringan yang mengakumulasi logam Pb dalam jumlah yang cukup besar. Hal ini disebabkan adanya warna merah yang terlihat jelas di sekitar jaringan tersebut (Gambar 3). Seperti halnya akar, daun kelima jenis gulma juga mengakumulasi Pb yang terdeteksi pada jaringan berkas pembuluh, mesofil, epidermis atas, dan epidermis bawah daun (Gambar 4). Kebanyakan tumbuhan mengakumulasi timbal dalam jumlah besar di akar dibandingkan dengan di tajuk. Malecka *et al.* (2008) melaporkan bahwa *Pisum sativum* yang diberi perlakuan Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> dengan konsentrasi 0,1; 0,5; dan 1 mM selama empat hari mampu mengakumulasi sekitar 93% timbal di akar, dan hanya 7% lainnya yang ditranslokasikan ke



Gambar 3 Analisis histokimia untuk mendeteksi logam Pb pada akar lima jenis gulma yang diberi perlakuan : kontrol (K0) dan 0,50 mM Pb (P0,50) *B. mutica*-K0 (a), *B. mutica*-P0,50 (b), *C. kyllingia*-K0 (c), *C. kyllingia*-P0,50 (d), *I. aquatica*-K0 (e), *I. aquatica*-P0,50 (f), *M. micrantha*-K0 (g), *M. micrantha*-P0,50 (h), *P. conjugatum*-K0 (i), *P. conjugatum*-P0,50 (j).Warna merah mengindikasikan adanya timbal (anak panah). bp: Berkas pembuluh. en: Endodermis. Bar skala : 50µm.



Gambar 4 Analisis histokimia untuk mendeteksi logam Pb pada daun lima jenis gulma yang diberi perlakuan : kontrol (K0) dan 0,50 mM Pb (P0,50). *B. mutica*-K0 (a), *B. mutica*-P0,50 (b), *C. kyllingia*-K0 (c), *C. kyllingia*-P0,50 (d), *I. aquatica*-K0 (e), *I. aquatica*-P0,50 (f), *M. micrantha*-K0 (g), *M. micrantha*-P0,50 (h), *P. conjugatum*-K0 (i), *P. conjugatum*-P0,50 (j). Warna merah mengindikasikan adanya timbal. ea: Epidermis atas. m: mesofil. bp: Berkas pembuluh. eb: Epidermis bawah. Bar skala : 50µm.



tajuk. Pada akar, timbal terakumulasi di endodermis, vakuola dinding sel, membran plasma, dan ruang antar-sel (Kumar & Prasad 2018). Akumulasi timbal di tajuk, terutama daun, juga dilaporkan oleh Hilmi *et al.* (2018) pada *Reutalis trisperma* yang diberi perlakuan *tailing* tambang emas 100% di mana *tailing* tersebut banyak mengandung timbal. Timbal terdeteksi di semua jaringan daun, seperti epidermis atas dan bawah daun, jaringan parenkim dan bagian stomata daun. Selanjutnya, Andriya *et al.* (2019) juga melaporkan bahwa timbal terdeteksi di jaringan daun, terutama xilem pada tanaman *Jatropha curcas*, *Ricinus communis*, *Reutealis trisperma*, dan *Melia azedarach* yang diberi perlakuan *tailing* tambang emas dengan konsentrasi 100%.

Hasil pengamatan histokimia menunjukkan bahwa timbal terakumulasi dalam jumlah besar di akar, terutama pada jaringan endodermis yang ditandai dengan warna merah yang terlihat jelas di sekitar jaringan tersebut (Gambar 3). Logam berat masuk ke dalam sel tumbuhan, terutama melalui akar (Pourrut *et al.* 2011), kemudian logam berat tersebut diakumulasi melalui beberapa proses, yaitu pengikatan logam pada permukaan akar dan dinding sel, pengkelatan ke dalam sitoplasma, diangkut ke tonoplas dalam bentuk kompleks logam, dan disimpan ke dalam vakuola (Malecka *et al.* 2008). Akumulasi logam ini selanjutnya diduga menginduksi perubahan struktur anatomi akar yang dapat dilihat melalui peningkatan tebal eksodermis dan endodermis (Tabel 3 dan 4). Endodermis berfungsi sebagai penghalang fisik yang berperan untuk menghalangi translokasi logam dari akar ke tajuk. Logam masuk ke sel akar melalui jalur apoplastik kemudian dihalangi di endodermis oleh pita kaspary (Pourrut *et al.* 2011). Timbal yang berhasil melewati endodermis dan masuk ke silinder pusat (Shahid *et al.* 2015) kemudian didistribusikan ke tajuk melalui jaringan pembuluh, dan hal ini dapat dilihat dari adanya warna merah yang cukup jelas pada jaringan tersebut (Gambar 3 dan 4).

Transportasi logam berat dari akar ke tajuk diduga terjadi melalui jaringan pembuluh xilem dan floem (Kumar & Prasad 2018) dan kemungkinan besar

digerakkan oleh proses transpirasi (Shahid *et al.* 2015). Logam berat bergerak ke bagian tajuk melalui aliran air dari sistem jaringan pembuluh dan membentuk kompleks dengan asam amino (Rascio & Navarie-Izzo 2011). Ketika air menguap ke udara, logam berat kemudian tertinggal di bagian tajuk dan terakumulasi di bagian tersebut (Shahid *et al.* 2015). Pada penelitian ini, keberadaan logam berat Pb pada tajuk, terutama daun, terdeteksi pada jaringan berkas pembuluh, mesofil, epidermis atas, dan epidermis bawah yang ditandai dengan warna merah (Gambar 4). Akumulasi Pb pada jaringan tersebut kemudian berdampak pada penurunan ketebalan semua jaringan daun yang selanjutnya menurunkan ketebalan daun (Tabel 3 dan 4). Penurunan ini diduga disebabkan oleh pengurangan ruang antar-sel sebagai upaya tumbuhan untuk menghambat pergerakan logam berat di dalam jaringannya (Melo *et al.* 2007). *Mikania micrantha* yang diberi perlakuan dengan merkuri pada konsentrasi 0.50 mM mengalami kematian di hari keempat setelah perlakuan.

#### Akumulasi Logam Berat pada Tajuk dan Akar

Kelima jenis gulma yang dicekam 0.50 mM merkuri dan timbal mampu mengakumulasi Hg dan Pb pada akar dan tajuk. Akumulasi logam Hg tertinggi di akar terdapat pada *B. mutica* (1041,12 ppm), sedangkan akumulasi Pb tertinggi terdapat pada *M. micrantha* (24653,95 ppm). Berikutnya, akumulasi logam Hg dan Pb tertinggi di tajuk terdapat pada *M. micrantha* yang secara berurutan tercatat sebesar 116,06 ppm dan 529,40 ppm (Tabel 5). Hasil ini menunjukkan bahwa akumulasi logam Hg dan Pb pada akar lebih tinggi dibandingkan dengan pada tajuk. Besarnya akumulasi logam berat pada akar merupakan strategi umum tumbuhan dalam menghadapi cekaman logam berat untuk menghindari efek negatif logam berat apabila diakumulasi pada tajuk (Hamim *et al.* 2018). Hal ini juga banyak dilaporkan pada penelitian sebelumnya, misalnya yang dilakukan oleh Chen *et al.* (2009) pada tanaman paku yang diberi perlakuan merkuri dan Malecka *et al.* (2008) pada tanaman *Pisum sativum* yang diberi perlakuan timbal.

Tabel 5 Kandungan logam merkuri (Hg) dan timbal (Pb) pada akar dan tajuk lima jenis gulma yang diberi perlakuan dengan  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  dan  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  dengan konsentrasi yang berbeda (0; 0,25; dan 0,50 mM) selama empat minggu

Singkatan nama spesies	Akar (mg/kg)			Tajuk (mg/kg)			
	0 mM	0,25 mM	0,50 mM	0 mM	0,25 mM	0,50 mM	
Hg	BM	17,86 <sup>a</sup>	590,68 <sup>f</sup>	1041,12 <sup>h</sup>	7,11 <sup>a</sup>	38,69 <sup>b</sup>	82,35 <sup>c</sup>
	CK	7,89 <sup>a</sup>	212,20 <sup>cd</sup>	558,53 <sup>ef</sup>	7,02 <sup>a</sup>	42,71 <sup>b</sup>	80,01 <sup>c</sup>
	IA	11,63 <sup>a</sup>	312,23 <sup>d</sup>	445,93 <sup>e</sup>	6,87 <sup>a</sup>	41,47 <sup>b</sup>	74,02 <sup>c</sup>
	MM	14,02 <sup>a</sup>	715,23 <sup>g</sup>	447,27 <sup>e</sup>	6,67 <sup>a</sup>	40,10 <sup>b</sup>	116,06 <sup>e</sup>
	PC	14,36 <sup>a</sup>	87,79 <sup>ab</sup>	145,08 <sup>bc</sup>	15,88 <sup>a</sup>	39,45 <sup>b</sup>	97,27 <sup>d</sup>
Pb	BM	102,39 <sup>a</sup>	12274,09 <sup>bc</sup>	7104,89 <sup>ab</sup>	4,95 <sup>a</sup>	124,83 <sup>cde</sup>	163,68 <sup>def</sup>
	CK	38,86 <sup>a</sup>	2334,86 <sup>a</sup>	21682,70 <sup>d</sup>	8,55 <sup>a</sup>	111,13 <sup>bcd</sup>	194,80 <sup>ef</sup>
	IA	15,03 <sup>a</sup>	7290,17 <sup>ab</sup>	15038,50 <sup>c</sup>	4,77 <sup>a</sup>	240,95 <sup>f</sup>	216,02 <sup>f</sup>
	MM	113,45 <sup>a</sup>	6647,88 <sup>ab</sup>	24653,95 <sup>d</sup>	37,31 <sup>ab</sup>	214,77 <sup>f</sup>	529,40 <sup>g</sup>
	PC	36,01 <sup>a</sup>	5633,73 <sup>ab</sup>	12776,09 <sup>bc</sup>	12,90 <sup>a</sup>	59,97 <sup>abc</sup>	80,99 <sup>abc</sup>

Keterangan: Angka-angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan ( $\alpha = 0,05$ ). BM = *B. mutica*; CK = *C. kyllingia*; IA = *I. aquatica*; MM = *M. micrantha*; dan PC = *P. conjugatum*.

Hasil analisis akumulasi logam menunjukkan bahwa secara umum kandungan logam pada akar dan tajuk meningkat ( $p < 0,05$ ) seiring dengan peningkatan konsentrasi logam yang diberikan (Tabel 5).

Hasil penelitian ini secara umum menunjukkan bahwa nilai  $BCF > 1$  sementara itu nilai  $TF < 1$  pada semua jenis tanaman (Tabel 6). *M. micrantha* memiliki nilai  $BCF$  yang paling tinggi di kedua perlakuan, sementara itu nilai  $TF$  tertinggi pada perlakuan  $Hg(NO_3)_2$  dan  $Pb(NO_3)_2$  masing-masing terjadi pada *P. conjugatum* dan *C. kyllingia*. Menurut Gajic *et al.* (2018), tanaman yang memiliki kombinasi nilai  $BCF$  dan  $TF$  seperti hasil tersebut dapat digolongkan ke dalam tumbuhan *excluder*. Tumbuhan *excluder* adalah tumbuhan yang memiliki strategi bertahan pada lokasi tercemar logam berat dengan cara menghindari atau membatasi transportasi logam tersebut ke bagian tajuk (Zhang *et al.* 2002). Tumbuhan dengan nilai  $BCF$  yang tinggi dan  $TF$  rendah ( $BCF > 1$  dan  $TF < 1$ ) dapat digunakan untuk fitostabilisasi wilayah tercemar (Yoon *et al.* 2006). Pada penelitian ini *M. micrantha* menunjukkan nilai  $BCF$  tertinggi dengan  $TF$  rendah untuk semua perlakuan, akan tetapi kemampuan pertumbuhannya tidak cukup baik. Sebaliknya, *P. conjugatum* memiliki nilai  $BCF$  terendah dan  $TF$  tertinggi pada perlakuan merkuri, sedangkan kemampuan pertumbuhannya juga tidak cukup baik. Berikutnya *C. kyllingia* memiliki nilai  $BCF$  moderat dan nilai  $TF$  yang rendah pada perlakuan timbal dan kemampuan pertumbuhan yang cukup baik. Oleh karena itu, *C. kyllingia* direkomendasikan untuk digunakan dalam fitoremediasi lahan pertambangan emas dengan mekanisme fitostabilisasi.

### KESIMPULAN

Pada konsentrasi yang sama (0,25 dan 0,50 mM), merkuri memiliki efek racun yang lebih kuat pada kelima jenis tumbuhan daripada timbal dilihat dari respons morfologi kelima tanaman tersebut. Akumulasi merkuri dan timbal pada jaringan akar lebih besar dibandingkan dengan pada tajuk yang kemudian

dibuktikan secara lebih selektif melalui analisis histokimia. Semua jenis gulma dalam penelitian ini memiliki nilai  $BCF > 1$  dan  $TF < 1$  sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai tanaman fitoremediator dengan mekanisme fitostabilisasi. Semua spesies mengalami penekanan pertumbuhan yang sangat besar akibat perlakuan  $HgNO_3$ , meskipun demikian *C. kyllingia* dan *P. conjugatum* menunjukkan penurunan yang paling sedikit dibandingkan dengan ketiga spesies lainnya. *C. kyllingia* dan *P. conjugatum* memiliki kemampuan yang paling baik dalam mempertahankan pertumbuhan dibandingkan dengan gulma lainnya di bawah cekaman  $Pb(NO_3)_2$  dan tidak menunjukkan gejala toksisitas sehingga memiliki potensi yang lebih baik untuk digunakan dalam program fitoremediasi lahan bekas tambang emas.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada SEAMEO BIOTROP, Bogor, Indonesia yang telah mendanai penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ahammad SJ, Sumithra S, Senthilkumar P. 2018. Mercury uptake and translocation by indigenous plants. *Rasayan Journal Chemistry*. 11(1): 1–12.
- Andriya NA, Hamim H, Sulistijorini, Tridiati. 2019. The phytoremediation potential of non-edible oil-producing plants for gold mine tailings. *Biodiversitas*. 20(10): 2949–2957. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d201025>
- Angeles MD, Cuevas VC. 2018. Phytoremediation Potential of Paspalum conjugate Berg. and the Role of Compost Amendment in Rehabilitation of Soil Materials from High Copper-Containing Mine Tailings Ponds. *Philippine Agricultural Scientist*. 101(2): 206–215.

Tabel 6 *Bioconcentration factor* (BCF) dan *translocation factor* (TF) lima jenis gulma yang diberi perlakuan dengan  $Hg(NO_3)_2$  dan  $Pb(NO_3)_2$  dengan konsentrasi yang berbeda (0; 0,25; dan 0,50 mM) selama empat minggu

Singkatan nama spesies	<i>Bioconcentration Factor</i> (BCF)			<i>Translocation Factor</i> (TF)			
	0 mM	0,25 mM	0,50 mM	0 mM	0,25 mM	0,50 mM	
Hg	BM	NA	7,35 <sup>e</sup>	6,56 <sup>e</sup>	0,40 <sup>abc</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>
	CK	NA	2,98 <sup>c</sup>	3,73 <sup>cd</sup>	0,92 <sup>de</sup>	0,20 <sup>ab</sup>	0,15 <sup>ab</sup>
	IA	NA	4,13 <sup>d</sup>	3,04 <sup>c</sup>	0,76 <sup>cd</sup>	0,14 <sup>ab</sup>	0,17 <sup>ab</sup>
	MM	NA	8,82 <sup>f</sup>	3,29 <sup>cd</sup>	0,48 <sup>bc</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,26 <sup>ab</sup>
	PC	NA	1,49 <sup>b</sup>	1,42 <sup>b</sup>	1,14 <sup>e</sup>	0,45 <sup>abc</sup>	0,67 <sup>cd</sup>
Pb	BM	NA	149,75 <sup>e</sup>	43,79 <sup>abc</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,03 <sup>a</sup>
	CK	NA	29,54 <sup>ab</sup>	131,79 <sup>de</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>
	IA	NA	90,96 <sup>cd</sup>	91,90 <sup>cd</sup>	0,33 <sup>c</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>
	MM	NA	82,89 <sup>c</sup>	151,71 <sup>e</sup>	0,34 <sup>c</sup>	0,03 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>
	PC	NA	68,77 <sup>bc</sup>	77,45 <sup>bc</sup>	0,36 <sup>c</sup>	0,01 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>

Keterangan: Angka-angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan ( $\alpha = 0,05$ ). BM = *B. mutica*; CK = *C. kyllingia*; IA = *I. aquatica*; MM = *M. micrantha*; dan PC = *P. conjugatum*.

- Atabayeva S, Nurmahanova A, Akhmetova A, Namuratova M, Asrandina S, Beisenova A, Aalbayeva R, Lee T. 2016. Anatomical peculiarities in wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties under copper stress. *Pakistan Journal of Botany*. 48(4): 1399–1405.
- Azevedo R, Rodriguez E. 2012. Review article: Phytotoxicity mercury in plants: A Review. *Journal of Botany*. 2012: 1–6. <https://doi.org/10.1155/2012/848614>
- Barcelo J, Doschenrieder CH. 2004. Structural and ultrastructural change in heavy metal exposed plant. Heidelberg (DE): Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-07743-6\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-662-07743-6_9)
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2017. Statistik lingkungan hidup Indonesia 2017. Jakarta (ID). Badan Pusat Statistik.
- Chaney R, Brown S, Li YM, Angle JS, Homer F, Green C. 1995. Potential use of metal hyperaccumulators. *Journal of Environment and Management*. 3: 9–11.
- Chanu LB, Gupta A. 2016. Phytoremediation of lead using *Ipomoea aquatica* Forsk. in hydroponic solution. *Chemosphere*. 156: 407–411. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.001>
- Chen J, Shiyab S, Han FX, Monts DL, Waggoner CA, Yang ZM, Su Y. 2009. Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Pteris vitata* and *Nephrolepis exaltata*. *Exotoxicology*. 18: 110–121. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0264-3>
- Dogan M, Kratas M, Aasim M. 2018. Cadmium and lead bioaccumulation potentials of an aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* L.: a laboratory study. *Ecotoxicology Environmental Safety*. 148: 431–440. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.058>
- Enstone DE, Peterson CA, Ma F. 2003. Root Endodermis and exodermis: structure, function, and responses to the environment. *Journal of Plant Growth Regulation*. 21: 335–351. <https://doi.org/10.1007/s00344-003-0002-2>
- Fashola MO, Ngole-Jeme VM, Babalola OO. 2016. Review heavy metal pollution from gold mines: environmental effects and bacterial strategies for resistance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 13: 1–20. <https://doi.org/10.3390/ijerph13111047>
- Fathia SD, Hamim H, Tridiati T. 2019. Morpho-physiology analysis of aquatic plants for phytoremediation of wastewater from gold mine wastewater treatment installation (IPALL). IOP Publishing. In: *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. The 5th International Seminar on Sciences, 2019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/299/1/012060>
- Flora G, Gupta D, Tiwari A. 2012. Review article. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdisciplinary Toxicology*. 5(2): 47–58. <https://doi.org/10.2478/v10102-012-0009-2>
- Gajic G, Djurdjevic L, Kostic O, Jaric S, Mitrovic M, Pavlovic P. 2018. Ecological potential of plants for phytoremediation and ecorestoration of fly ash deposits and mine wastes. *Frontiers in Environmental Science*. 6(124): 1–24. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00124>
- Gupta DK, Nicoloso FT, Schetinger MRC, Rossato LV, Ferreira LB, Castro GY, Srivasta S, Tripathi RD. 2009. Antioxidant defense mechanism in hydroponically grown *Zea mays* seedlings under moderate lead stress. *Journal of Hazardous Material*. 172: 479–484. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.06.141>
- Gomes MP, Marques TLLSM, Nogueira MOG, Soares AM. 2011. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. *Scientia Agricola*. 68(5): 566–573. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000500009>
- Hamim H, Miftahudin M, Setyaningsih L. 2018. Cellular and ultrastructure alteration of plant roots in response to metal stress. In Ratnadewi D and H. Hamim (Eds.). *Plant Growth and Regulation: Alteration to Sustain Unfavourable Conditions*. London (GB): IntechOpen. 21–41pp. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79110>
- Hidayati N, Juhaeti T, Syarif F. 2009. Mercury and cyanide contamination in gold mine environment and possible solution of cleaning up by using phytoextraction. *Hayati*. 16(3): 88–94. <https://doi.org/10.4308/hjb.16.3.88>
- Hilmi M, Hamim H, Sulistyarningsih YC, Taufikurahman. 2018. Growth, histochemical and physiological responses of non-edible oil producing plant (*Reutalis trisperma*) to gold mine tailings. *Biodiversitas*. 19(4): 1294–1302. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190416>
- Hou X, Han H, Cai L, Liu A, Ma X, Zhou C, Wang G, Meng F. 2018. Pb stress effects on leaf chlorophyll fluorescence, antioxidative enzyme activities and organic acid content of *Pogonatherum criticum* seedlings. *Flora*. 240: 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.01.006>
- Kumar A, Prasad MNV. 2018. Review Plant-lead interaction: transport, toxicity, tolerance, and detoxification mechanisms. *Exotoxicology and Environmental Safety*. 166: 401–418. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.09.113>
- Kumar N, Baudhdh K, Kumar S, Dwivedi N, Singh DP, Barman SC. 2013. Accumulation of metals in weed species grown on the soil contaminated with

- industrial waste and their phytoremediation potential. *Ecology Engineering*. 61: 491–495. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.10.004>
- Latiff AAA, Karim ATA, Ahmad AS, Ridzuan MB, Yung-Tse H. 2012. Phytoremediation of Metals in Industrial Sludge by *Cyperus Kyllingia-Rasiga*, *Asystassia Intrusa* and *Scindapsus Pictus Var Argyaeus* Plant Species. *International Journal of Integrated Engineering*. 4(2): 1–8.
- Lenti K, Fodor F, Boddi B. 2002. Mercury inhibits the activity of the NADPH: protochlorophyllidase oxidoreductase (POR). *Photosynthetica*. 40(1): 145–151. <https://doi.org/10.1023/A:1020143602973>
- Leung HM, Yue P, Sze SCW, Au CK, Cheung KC, Chan KL, Yung KKL, Li WC. 2019. The potential of *Mikania micrantha* (Chinese creeper) to hyperaccumulate heavy metals in soil contaminated by electronic waste. *Environmental Science and Pollution Research*. 26(34): 1–6. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06771-x>
- Lichtenthaler HK. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*. 148: 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Lux AA, Sotnikova A, Opatrna J, Greger M. 2004. Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristic of cadmium accumulation and sensitivity. *Physiologia Plantarum*. 120: 537–545. <https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2004.0275.x>
- Malecka A, Piechalak A, Morkunas I, Tomaszewska B. 2008. Accumulation of lead in root cells of *Pisum sativum*. *Acta Physiologiae Plantarum*. 30: 629–637. <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0159-1>
- Melo HC, Castro EM, Soares AM, Melo LA, Alves JD. 2007. Anatomical and physiological alterations in *Setaria anceps* Stapf ex Messey and *Paspalum paniculatum* L. under water deficit conditions. *Hoehnea*. 34(2): 145–153. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062007000200003>
- Mohanty M, Patra HK. 2012. Phytoremediation potential of paragrass: an in situ approach for chromium contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation*. 14(8): 796–805. <https://doi.org/10.1080/15226514.2011.619595>
- Patra M, Bhowmik N, Bandopadhyay B, Sharma A. 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effect on plant system and development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany*. 52(3): 199–223. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.02.009>
- Pourrut B, Shahid M, Dumat C, Winterton P, Pinelli E. 2011. Lead Uptake, Toxicity, and Detoxification in Plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 213: 113–136. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9860-6\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9860-6_4)
- Quinet M, Vromman D, Clippe A, Bertin P, Lequeux H, Dufey I, Lutts S, Lefèvre I. 2012. Combined transcriptomic and physiological approaches reveal strong differences between short- and long-term response of rice (*Oryza sativa*) to iron toxicity. *Plant Cell and Environment*. 35(10): 1837–1859. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2012.02521.x>
- Rascio N, Navarie-Izzo F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? and what makes them so interesting?. *Plant Science*. 180(2): 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.08.016>
- Rucińska-sobkowiak R. 2016. Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*. 38: 257. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2277-5>
- Sandalio LM, Dalurzo HC, Gómez M, Romero-Puertas MC, Rio LAD. 2001. Cadmium-Induced Changes in the Growth and Oxidative Metabolism of Pea Plants. *Journal of Experimental Botany*. 52(364): 2115–2126. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.364.2115>
- Seregin IV, Kozhevnikova AD. 2011. Histochemical methods for detection of heavy metals and strontium in the tissues of higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*. 58(4):721-727. <https://doi.org/10.1134/S1021443711040133>
- Shahid M, Khalid S, Abbas G, Shahid N, Nadeem M, Sabir M, Aslam M, Dumat C. 2015. Heavy Metal Stress and Crop Productivity. In: Hakeem KR (Ed.). *Crop Production and Global Environmental Issues*. Switzerland (CH). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-23162-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-23162-4_1)
- Shiyab S, Chen J, Han FX, Monts DL, Matta FB, Gu M, Su Y, Masad MA. 2009. Mercury-induced oxidative stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Environmental Toxicology*. 24: 462–471. <https://doi.org/10.1002/tox.20450>
- Widyawati E. 2006. Bioremediasi bekas tambang batubara dengan sludge industri kertas untuk memacu revegetasi lahan. [Disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Yoon J, Cao X, Zhou Q, Ma LQ. 2006. Accumulation of Pb, Cu and Zn in native plants growing on a contaminated florida site. *Science of the Total Environment*. 368: 456–464. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.016>
- Zhang W, Cai Y, Tung C, Ma LQ. 2002. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulating plant. *Science of the Total Environment*. 300: 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(02\)00165-1](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00165-1)