

Peran Antioksidan Asam Organik Pada *Eleocharis dulcis* (Burm.F.) Trin. Ex Hesch. Sebagai Respons Terhadap Cekaman Logam Pada Fitoremediasi Air Asam Tambang Batubara

Juswardi^{1*}, Wisnu Mukti¹, Nina Tanzerina¹, Endri Junaidi¹, Singgih Tri Wardana¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Jalan Raya Palembang-Prabumulih km 32, Indralaya, Indonesia.

*Corresponding author

E-mail address: juswardi@yahoo.co.id (Juswardi).

Peer review under responsibility of Biology Department Sriwijaya University

Abstrak

Penambangan batubara dengan sistem penambangan terbuka menghasilkan air asam tambang (AAT), dengan pH yang rendah < 4 yang menyebabkan kelarutan logam yang tinggi. Limbah AAT dapat diolah menggunakan metode fitoremediasi dengan sistem lahan basah. Proses fitoremediasi pada AAT dapat menyebabkan cekaman pada *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. ex Hensch. Respons adaptasi terhadap cekaman AAT pada *E. dulcis* adalah sintesis asam sitrat (AS) dan asam askorbat (AAs) sebagai antioksidan non-enzimatik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan dan fungsi asam sitrat dan asam askorbat dalam fitoremediasi AAT pada kondisi lahan basah 01 Airlaya. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada *E. dulcis* di bawah cekaman AAT pada lahan basah, ditemukan kandungan asam sitrat 124,94 ppm dan asam askorbat 21 ppm pada akar. Kemudian pada daunnya kandungan asam sitrat 135 ppm dan asam askorbat 109 ppm. Kualitas AAT, pada inlet hingga outlet pH meningkat menjadi 6 sehingga sesuai dengan baku mutu lingkungan. Konsentrasi logam Fe dan Mn pada AAT juga mengalami penurunan dari inlet ke outlet. Konsentrasi Fe dari AAT pada outlet adalah 0 ppm dan untuk Mn 5,29ppm. Konsentrasi Fe di outlets telah memenuhi baku mutu lingkungan, namun, logam Mn belum memenuhi baku mutu lingkungan. Sedimen lahan basah diperoleh konsentrasi Fe sebesar 391,56 ppm dan Mn sebesar 28,56 ppm. Pengukuran kandungan asam sitrat dan asam askorbat sebagai antioksidan non enzimatik dapat digunakan sebagai respons adaptasi dan sebagai evaluasi keberhasilan *E. dulcis* dalam fitoremediasi AAT pada lahan basah buatan.

Kata kunci: *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. ex. Hensch., fitoremediasi, antioksidan non-enzimatik, asam organik

Abstract

Coal mining with an open mining system produces acid mine drainage (AMD), has a low pH <4 which causes high metal solubility. AMD waste can be processed using the phytoremediation method with the wetland system. The phytoremediation process in AMD can cause stress for *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. ex Hensch. Adaptation response to AMD stress in *E. dulcis* is the synthesis of citric acid (CA) and ascorbic acid (AsA) as non-enzymatic antioxidants. This study aims to determine the content and function of citric acid and ascorbic acid in phytoremediation of AMD in the wetland conditions of Airlaya. Based on research that has been done on *E. dulcis* under the AMD wetland pressure, it is found that the content of citric acid 124.94 ppm and ascorbic acid 21 ppm in the roots. Then in the leaves the content of citric acid is 135 ppm and ascorbic acid 109 ppm. then the pH at the inlet to the outlet increases so that it matches the environmental quality standard of 6.0. Fe and Mn metal concentrations in AMD also experienced a decrease from inlet to outlet. The concentration of Fe AMD at the outlet was 0 ppm and for Mn 5.29ppm. Fe concentration at outlets has fulfilled environmental quality standards. However, Mn metals not yet meet environmental quality standards. Wetland sediments obtained Fe concentration of 391.56 ppm and Mn of 28.56 ppm. Measurement of the content of citric acid and ascorbic acid as non-enzymatic antioxidants can be used as an adaptation response and as an evaluation of the success of *E. dulcis* in phytoremediation of AMD on constructed wetlands

Keywords: *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. ex. Hensch., phytoremediation, non-enzymatic antioxidants, organic acid

Diterima: 04 Januari 2022 , Diterbitkan 01 April 2022

1. Pendahuluan

Pertambangan batubara di Indonesia umumnya merupakan sistem pertambangan terbuka. Masalah utama lahan tambang yang terbuka adalah air asam tambang (AAT) yang terbentuk akibat kontak antara mineral batuan dengan oksigen dan air, AAT yang memiliki pH <4 sehingga memiliki kelarutan logam yang tinggi [1]. AAT yang dibuang secara langsung atau memasuki ekosistem lingkungan sekitar, menyebabkan pencemaran lingkungan karena terjadi perubahan pH dan ketersediaan unsur hara tumbuhan serta mengganggu biota perairan jika masuk ke perairan umum [2]. Gangguan tersebut diakibatkan oleh toksisitas logam yang terakumulasi pada AAT [3].

Logam-logam yang terkandung dalam AAT melebihi baku mutu akan berbahaya bagi keberlangsungan hidup organisme [4]. Mengacu pada keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup nomor 113 tahun 2003, kadar maksimum Fe 7 ppm dan Mn 4 ppm pada air limbah kegiatan pertambangan batubara. Oleh karena itu perlu adanya pengelolaan limbah AAT sebelum dibuang ke lingkungan. Pengolahan limbah AAT secara pasif dapat dilakukan yaitu dengan fitoremediasi menggunakan tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang digunakan oleh PT Bukit Asam dalam menanggulangi limbah AAT di wetland KPL Airlaya yaitu *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. ex Hesch. atau Purun tikus (Indonesia), Water Chestnut (Inggris)

Eleocharis dulcis merupakan tumbuhan yang hidup di lahan basah, tumbuhan ini dapat tumbuh dengan normal pada lingkungan yang memiliki kadar logam yang cukup tinggi. Beberapa penelitian menjelaskan, bahwa Purun tikus adalah tumbuhan hiperakumulator Fe, sehingga dapat digunakan dalam pengelolaan AAT batubara [5]. Selanjutnya juga dilaporkan bahwa tumbuhan yang mampu beradaptasi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim, biasanya mempunyai bioaktivitas antioksidan yang tinggi [6].

Adanya akumulasi logam yang dilakukan tumbuhan pada saat proses fitoremediasi dapat menyebabkan tumbuhan tersebut memproduksi ROS (reaktif oksigen spesies) dalam konsentrasi tinggi. Produksi senyawa ROS yang berlebihan akan dapat menyebabkan gangguan metabolisme bahkan kematian pada tumbuhan. Sehingga untuk menyeimbangkan atau mengurangi ROS yang dihasilkan akibat akumulasi logam berat, tumbuhan akan meningkatkan sistem pertahanannya melalui sintesis antioksidan seperti asam sitrat (AS) dan asam askorbat (AAs) yang termasuk dalam kelompok antioksidan non-enzimatik. Dijelaskan bahwa fungsi antioksidan baik enzim dan non-enzimatik akan membantu sel tumbuhan dalam bertahan dalam kondisi cekaman (stress) [7]. Lebih

lanjut dinyatakan AAs secara biokimia mempunyai berbagai peran yaitu: memperkaya reduktan biologi sebagai suatu kofaktor penting untuk reaksi-reaksi reduksi logam seperti besi dan tembaga [8].

Metabolisme asam organik merupakan hal mendasar yang sangat penting bagi semua tumbuhan, terutama pada tumbuhan yang memiliki toleransi terhadap logam berat. Dasar dari fenomena ini adalah kemampuan asam organik seperti AS membentuk ikatan yang kuat dengan ion logam berat melalui gugus karboksil pada asam organik yang membawa fungsi oksigen donor sebagai ligan pada logam [9]. Selanjutnya dijelaskan, bahwa mekanisme toleransi internal meliputi detoksifikasi logam melalui khelatisasi dalam sitosol atau dikompartementasikan ke vakuola [10]

Asam askorbat (AAs) juga berperan dalam fungsi sistem oksigenasi, dan meningkatkan penyerapan serta metabolisme zat besi. Berdasarkan penelitian pada tumbuhan *Shorea robusta* Gaertn f. didapatkan semakin besar konsentrasi logam kadmium (Cd) dan timbal (Pb) yang diberikan pada tumbuhan tersebut semakin besar konsentrasi AAs didapatkan pada daun [11]. Peran asam organik lain seperti AS dapat mengurangi toksisitas Pb dan Cd, yang selanjutnya merangsang transportasi ion Cd dan Pb dari akar ke tajuk [12].

Akibat akumulasi logam berat yang banyak pada tumbuhan fitoremediasi AAT akan memproduksi ROS dalam jumlah yang berlebihan, dan tumbuhan berupaya menetralkan dan atau menghilangkan ROS melalui respons biosintesis antioksidan baik secara enzimatik maupun non enzimatik dengan biosintesis asam organik. Sehingga dilakukan penelitian ini dengan tujuan untuk mengetahui kandungan dan peran asam askorbat (AAs) dan asam sitrat (AS) pada akar dan tajuk *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin ex Hensch dalam fitoremediasi AAT pada sistem lahan basah buatan di KPL Airlaya PT Bukit Asam. Tanjung Emin, Sumatera Selatan.

2. Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan

di Laboratorium Fisiologi dan Perkembangan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya Inderalaya. Analisis sampel AAT dan sedimen dilakukan di Balai Riset dan Standarisasi Industri Palembang. Pengambilan sampel AAT dan tumbuhan *E. dulcis* dilakukan di wetland KPL Tambang Banko Barat PT Bukit Asam, Tanjung Enim.

Metode Pengambilan Sampel

AAT dilakukan di dengan purposive sampling yaitu pada bagian inlet, wetland dan outlet. Sedangkan metoda pengambilan tumbuhan dan sedimen dengan convenience sampling pada wetland saja.

Penentuan Kadar Asam Askorbat (AAs)

Penentuan kadar AAs dengan menggunakan larutan standar AAs Tahap prepersari sampel, yaitu *E. dulcis* yang masih segar dibersihkan lalu dikeringkan di oven dan digerus hingga menjadi bubuk. Kemudian bubuk sampel sebanyak 100 mg lalu dimasukkan ke dalam gelas Beker dan ditambahkan dengan akuades bebas CO₂ lalu disaring dan diambil filtratnya. Filtrat yang didapat, diencerkan dengan akuades bebas CO₂ sampai 100ml. Selanjutnya filtrat tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 270nm. Kadar AAs pada sampel dihitung dengan rumus

$$\text{Kadar AAs} = \frac{\text{absorban sampel}}{\text{absorban standar}} \times 20 \text{ ppm}$$

Penentuan kadar Asam Sitrat (AS)

penentuan kadar As menggunakan larutan standar AS. Preparasi larutan sampel dengan melarutkan 100 mg sampel dalam 100ml akubides dan diambil sebanyak 3 ml, ditambahkan 1,3 ml piridin, lalu divortex hingga homogen, kemudian ditambahkan 5,7ml asetat anhidrat dan vortex kembali hingga homogen. Campuran larutan diinkubasi pada suhu 32°C selama 30 menit sampai larutan berubah warna menjadi kuning muda dan dilanjutkan pengukuran absorban pada panjang gelombang 407 nm. Kadar AS pada sampel dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar AS} = \frac{\text{absorban sampel}}{\text{absorban standar}} \times 20 \text{ ppm}$$

Parameter Air Asam Tambang Kadar Besi (Fe) dan Mn pada AAT

Pengukuran kadar besi (Fe) dan Mn dilakukan dengan mengambil sampel AAT yang kemudian di analisa berdasarkan pada SNI 6989.4 Tahun 2009 tentang cara uji besi (Fe) dan SNI 06-6989.5 Tahun 2004 tentang cara uji mangan (Mn) secara Spektrofotometer Serapan Atom (AAS). Sampel air contoh uji yang sudah dikocok sampai homogen lalu diambil 50 ml dimasukkan ke dalam gelas Beker dan tambahkan 2,5 ml asam nitrat. Kemudian dipanaskan sampai larutan menjadi 25 ml. Ditambahkan 25 ml akuades, masukkan ke dalam labu ukur melalui kertas saring dan cukupkan kembali menjadi 50 ml dengan akuades. Contoh uji siap diukur absorbansinya dengan AAS, yang merupakan sebagai logam terukur Kadar Besi (Fe) dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Fe (ppm)} = C \times fp$$

Keterangan :

C : Kadar Fe terukur (ppm)

fp : Faktor pengenceran

Kadar Mangan (Mn) dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Mn (ppm)} = C \times fp$$

Keterangan :

C : Kadar Mn terukur (ppm)

fp: Faktor pengenceran

Kadar Sulfat (SO₄²⁻) pada AAT

Kadar Sulfat (SO₄²⁻) dilakukan dari sampel AAT berdasarkan SNI 6989.20 Tahun 2009 dengan metode turbidimetri. Terlebih dahulu dibuat larutan buffer A, diambil 50 ml sampel lalu dimasukkan ke dalam gelas Beker. Sampel ditambahkan 20 ml buffer A, lalu ditambahkan satu sendok takar kristal BaCl₂ dan diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 1 menit, setelah itu dimasukkan ke dalam kuvet yang terdapat pada Spektrofotometer, lalu dibaca absorbannya sebagai kadar sulfat terukur.

Kadar Sulfat (SO₄²⁻) dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar SO}_4^{2-} \text{ (ppm)} = C \times fp$$

Keterangan :

C : Kadar terukur (ppm)

fp : Faktor pengenceran

Analisis Data

Data kuantitatif yang berupa pengukuran pH AAT, kadar logam Fe dan Mn pada AAT. Evaluasi fisiologis berupa data asam askorbat dan asam sitrat dianalisis dengan pemusatan data rata-rata ± standar deviasi [32].

3. Hasil dan Pembahasan

Kandungan asam asetat dan asam pada *E. dulcis*

Kandungan asam sitrat dan asam askorbat pada *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Hensch dalam fitoremediasi air asam tambang batubara di wetland Banko dilihat pada tabel 1. :

Tabel 1. Kandungan asam sitrat (AS) dan asam askorbat (AAs) pada akar dan tajuk dari *E. dulcis* dalam fitoremediasi di wetland Banko Barat.

Organ Tumbuhan	Kadar AS (ppm)	Kadar AAs (ppm)
Akar	124,94±40,27	21,00±11,18
Tajuk	135,00±34,24	109,00±13,64

Keterangan : ± standar deviasi

Tabel 1. menunjukkan kandungan As dan AAs yang terdapat di akar dan tajuk *E. dulcis*. Kadar AS pada akar 124,94 ppm dan AAs 21 ppm. Pada tajuk *E. dulcis* kadar As 135,00 ppm dan pada akar 109,00 ppm yang didapatkan pada kondisi wetland dengan AAT dan sedimen yang memiliki pH rendah dan kandungan logam terlarut yang tinggi (Tabel 2). Respons fisiologi tumbuhan sebagai adaptasi terhadap cekaman tersebut, dapat dilihat kandungan asam organik terutama AS dan AAs yang berfungsi sebagai antioksidan non enzimatis. Sintesis asam organik yang disebabkan oleh cekaman logam juga dilaporkan bahwa kadar sitrat yang terdapat pada jaringan pengangkut akar sebesar 1.732 µg/g dari tumbuhan Sengon (*Paraserianthes falcataria* L Nielsen) [12]. juga pada jaringan akar *Vigna unguiculata* L. diperoleh konsentrasi AS sebanyak 100 µg/l [13]. Selanjutnya pada daun *Lactuca sativa* L. yang terpapar logam cadmium (Cd) didapatkan AAs dengan konsentrasi 51,3 ppm [14].

Karakteristik AAT dan sedimen yang memiliki pH yang rendah dan kandungan logam Fe dan Mn di wetland pada vegetasi *E. dulcis* tumbuh, dapat meningkatkan produksi reaktif oksigen spesies (ROS) pada *E. dulcis*, sebagai akibat *E. dulcis* melakukan proses fitoremediasi dengan menyerap logam Fe dan Mn dari AAT dan sedimen. Karena kandungan Fe dan Mn yang berlebihan pada media tumbuh akan mengakibatkan tumbuhan memproduksi ROS yang berlebihan [15].

Spesies oksigen reaktif (ROS) dapat mengakibatkan kerusakan yang cepat pada tumbuhan yang mengalami cekaman, namun dengan adanya antioksidan non enzimatis pada tumbuhan dapat meningkatkan toleransi tumbuhan terhadap ROS yang terbentuk. Bagaimana pun konsentrasi ROS dan antioksidan harus seimbang sehingga tumbuhan dapat bertahan terhadap pengaruh logam berat pada AAT dan sedimen. Keadaan tersebutlah yang membantu *E. dulcis* mampu bertahan terhadap pengaruh logam berat yang terdapat pada AAT dan sedimen. Hal ini disebabkan karena antioksidan membantu tumbuhan bertahan terhadap cekaman yang diakibatkan oleh produksi ROS. Sehingga biosintesis antioksidan harus tetap dipertahankan, supaya tumbuhan dapat menangkalkan senyawa ROS yang diakibatkan oleh cekaman logam pada AAT dan sedimen [15].

Eleocharis dulcis yang digunakan sebagai agen fitoremediasi oleh PT Bukit Asam pada pengolahan limbah AAT di wetland KPL Banko Barat diperkirakan memiliki daya toleransi yang tinggi terhadap pH yang rendah dan kandungan logam pada AAT dan sedimen. Karena *E. dulcis* memiliki daya toleransi yang tinggi terhadap substrat yang asam dan kandungan logam Fe yang terdapat pada AAT. Selain memiliki daya toleransi yang tinggi *E. dulcis* memiliki kemampuan menyerap logam yang tinggi sehingga dikategorikan sebagai tumbuhan hiperakumulator yang dapat menyerap logam melebihi 250 mg/kg [16]. Diduga kemampuan penyerapan logam

yang dilakukan oleh *E. dulcis*, dapat menyebabkan tumbuhan beradaptasi dengan biosintesis antioksidan seperti AS dan AAs yang berfungsi untuk menjaga keseimbangan reaktif oksigen spesies. Seperti pada akumulasi logam Ni, Co, Cd, Cu, dan Zn dapat meningkatkan konsentrasi antioksidan yaitu AAs sebagai kunci dari siklus glutathion-askorbat [17].

Kadar asam askorbat pada tajuk *E. dulcis* 109,00 ppm dan akar 21,00 ppm. Kadar AAs pada daun lebih besar dibandingkan pada akar. Hal tersebut dikarenakan daun pada tajuk merupakan organ fotosintetik yang memiliki banyak kloroplas untuk menyediakan bahan utama biosintesis AAs, yaitu glukosa. Hal yang sama dilaporkan, bahwa senyawa antioksidan AAs terdapat lebih tinggi pada bagian daun, yaitu 141,2 µM dan akar 2,7 µM pada *Arabidopsis thaliana* di bawah perlakuan cekaman Cu 5 µM [18]. Konsentrasi AAs yang tinggi terdapat di daun, karena daun merupakan organ fotosintetik yang menghasilkan glukosa sebagai bahan dasar biosintesis AAs [19].

Kadar asam askorbat di tajuk *E. dulcis* lebih tinggi dibandingkan di akar. Hal ini diduga karena di daun produksi ROS bukan hanya diakibatkan oleh cekaman logam berat, namun juga reaksi biokimia fotosintesis dan respirasi yang dapat menghasilkan senyawa ROS seperti hidrogen peroksida, superoksida [20]. Sehingga AAs disintesis lebih banyak di tajuk, yang dapat membantu tumbuhan menangkalkan senyawa ROS pada tajuk. Selain itu juga disebabkan karena logam dari AAT dan sedimen ditranslokasikan ke daun (tajuk), sehingga diperlukan biosintesis asam askorbat di daun lebih banyak dibandingkan di akar *E. dulcis*.

Proses remediasi oleh *E. dulcis* melalui akumulasi logam dari AAT diduga dapat tumbuhan melakukan respons adaptasi. Hal ini disebabkan karena semakin banyak logam yang diserap dan diakumulasi maka semakin besar kemungkinan *E. dulcis* memproduksi senyawa ROS dalam jumlah yang banyak (over produksi). Sehingga dalam keadaan akumulasi logam yang berlebihan tersebut *E. dulcis* akan merespons dengan sintesis AS sebagai agen pengkhalat logam. Diduga tujuan pengkhalatan logam oleh asam organik yaitu untuk mencegah logam tersebut bereaksi dengan senyawa lain atau mencegah terbentuknya ROS pada sel tumbuhan., sehingga *E. dulcis* masih dapat tumbuh. Karena asam organik pada tumbuhan mempunyai peran yang sangat penting bagi tumbuhan hiperakumulator logam. Asam organik seperti AS, malat dan oksalat akan membantu tumbuhan mengkhalat logam dan menimbunnya di vakuola tumbuhan. Penimbunan logam pada vakuola bertujuan supaya logam tersebut tidak mengganggu reaksi metabolisme yang terjadi di sitoplasma [9].

Kadar AS yang didapatkan pada tajuk lebih banyak dibandingkan dengan akar *E. dulcis*, diduga keadaan tersebut disebabkan karena *E. dulcis* memiliki mekanisme

fitoekstraksi dalam meremediasi logam. Tumbuhan yang melakukan fitoekstraksi biasanya memiliki kemampuan mentranslokasi logam yang telah diserap pada organ tertentu seperti daun, batang dan akar. Dengan kemampuan fitoekstraksi tersebut *E. dulcis* dapat menampung atau mengakumulasi logam Fe dan Mn dengan kadar cukup tinggi pada tajuk sehingga AS lebih banyak disintesis pada tajuk dan membantu detoksifikasi logam. Hal yang sama dinyatakan, bahwa asam organik sitrat dan malat lebih banyak ditemukan pada organ daun dibandingkan akar *Thlaspi caerulescens* di bawah perlakuan cekaman Zn dan Cd [21]. Akan tetapi hasil penelitian lain, akumulasi asam organik lebih banyak terdapat di akar dibandingkan daun pada *Lycopersicon esculentum* Mill. di bawah pengaruh cekaman logam aluminium [22]. Keadaan tersebut menjelaskan bahwa setiap tumbuhan memiliki respons yang berbeda-beda terhadap stress logam. Selanjutnya pada *Sesuvium portulacastrum* mengindikasikan bahwa AS berperan membantu translokasi logam dari akar menuju bagian tajuk melalui pembuluh xylem [23].

Secara keleseluruhan AS dan AAs yang terdapat pada *E. dulcis* dapat membantu tumbuhan tersebut untuk tumbuh dan bertahan hidup pada keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan seperti keadaan AAT dan sedimen yang memiliki pH rendah dan kandungan logam yang tinggi. AAs dapat berfungsi sebagai antioksidan yang secara langsung untuk menjaga keseimbangan konsentrasi ROS atau melalui bantuan enzim askrobat peroksidase. Sedangkan AS dapat berperan sebagai antioksidan dan sebagai pengkhelat logam. Selain sebagai antioksidan AS juga berperan dalam transpor logam.

Respons adaptasi *E. dulcis* terhadap AAT dan sedimen diduga bersifat epigenetik yaitu proses adaptasi terhadap lingkungan yang tidak menguntungkan tanpa harus merubah susunan gen. Sehingga diasumsikan bahwa gen yang berfungsi mengekspresikan respons cekaman pada AAT dan sedimen sudah ada pada *E. dulcis*, gen tersebut diwariskan melalui tetuanya. Secara sederhana epigenetik merujuk pada perubahan ekspresi gen yang diwariskan oleh tetua, dan gen tersebut akan aktif atau terekspresikan saat tumbuhan mendapatkan stimulus lingkungan [24]. Lingkungan akan menjadi faktor utama tumbuhan untuk mensintesis antioksidan. AAT dengan pH yang rendah menyebabkan kelarutan logam pada limbah cair dan sedimen yang mengandung banyak logam terlarut menjadi faktor lingkungan yang mempengaruhi sistem pertahanan pada tumbuhan. Dalam keadaan tersebut tumbuhan dapat meningkatkan sintesis antioksidan sebagai pertahanan terhadap cekaman lingkungan sehingga dapat bertahan hidup pada habitatnya .

Kualitas AAT KPL Banko Barat

Berdasarkan pengukuran parameter lingkungan pada AAT di inlet, wetland, dan outlet KPL Banko Bar-

at dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter air asam tambang dan sedimen di Wetland Banko Barat dengan vegetasi *E. dulcis* KPL Banko Barat.

Parameter	Bakumutu	Sedimen	Inlet	Wetland	Outlet
pH	6-9	-	4,0	4,51	6,0
Fe (ppm)	7	391,56	0,54±0,01	0,06±0,01	0
Mn (ppm)	4	28,56	6,28±0,09	4,64±0,04	5,29±0,06
SO ₄ ²⁻ (ppm)	-	-	3,62±0,02	3,78±0,15	3,13±0,03

Keterangan: ± standar deviasi.

Pada Tabel 2. terdapat perubahan pH, logam Fe, Mn dan SO₄, dimana terjadi peningkatan pH dari inlet, wetland ke outlet. Pada inlet pH 4 atau masam, penyebab pH yang rendah pada inlet akibat reaksi sulfur yang terdapat pada batuan dengan oksigen dan air sehingga melepaskan sulfat ke lingkungan. Hal tersebutlah yang menyebabkan keasaman pada AAT [25]. Kemudian terjadi kenaikan pH pada wetland dengan vegetasi *E. dulcis* sebagai agen fitoremediasi. Selanjutnya pada outlet atau akhir pembuangan air limbah naik menjadi pH 6 yang telah memenuhi baku mutu lingkungan. Kenaikan pH juga sejalan dengan penurunan konsentrasi logam dan SO₄²⁻, yang diserap oleh tumbuhan.

pH akan mempengaruhi kelarutan logam pada pada limbah AAT, semakin rendah pH maka semakin tinggi kelarutan logam Fe dan Mn. Dari inlet sampai outlet mengalami menurunnya kadar logam terlarut. Besi (Fe) terlarut pada AAT berturut-turut dari inlet 0,54 ppm dan Mangan (Mn) 6,28 ppm, setelah mengalami proses fitoremediasi pada wetland terjadi penurunan kadar logam Fe menjadi 0 ppm dan Mn 5,29 ppm. Hal ini disebabkan karena pH pada suatu air limbah akan mempengaruhi konsentrasi logam yang terlarut, semakin rendah pH maka semakin tinggi konsentrasi logam yang terlarut [26].

Logam seperti Fe dan Mn atau logam lainnya yang terdapat pada AAT dan sedimen akan diserap oleh *E. dulcis*. Proses penyerapan logam Mn dan Fe pada AAT dan sedimen oleh *E. dulcis* diawali oleh interaksi antara akar dan daerah rizhosfer. Akar *E. dulcis* mengeluarkan eksudat yang menyebabkan unsur logam pada AAT dan sedimen menjadi bentuk yang dapat diserap oleh tumbuhan atau adanya eksudat berupa asam organik yang berfungsi sebagai pengkhelat logam. Karena bagian akar tumbuhan dapat mengeluarkan suatu zat khelat yang disebut fitosiderofor berupa asam organik [27]. Selanjutnya terdapat serangkaian proses fisiolo-

gi yang membantu akumulasi logam selama siklus hidup tumbuhan. Proses tersebut meliputi interaksi rizosferik pada zona perakaran, dimana terjadi proses unsur-unsur di dalam tanah dari bentuk yang tidak dapat diserap menjadi bentuk tersedia yang dapat diserap. Tumbuhan hiperakumulator memiliki kemampuan lebih tinggi dalam merubah logam pada zona perakaran menjadi bentuk yang tersedia [28]. Dengan demikian tumbuhan hiperakumulator seperti *E. dulcis* dapat menyerap, mentranslokasi dan mengakumulasi logam dalam jumlah yang cukup tinggi.

Logam berat yang sudah diserap oleh *E. dulcis* diduga akan dikompartmentasikan pada vakuola sel tumbuhan. Kompartementasi logam pada vakuola bertujuan untuk mengurangi logam pada sitoplasma atau agar logam yang berlebih tidak mengganggu metabolisme yang berlangsung pada sitoplasma. Hal ini dijelaskan, bahwa kompartementasi logam pada vakuola tumbuhan hiperakumulator bertujuan untuk mendetoksifikasi logam tersebut agar tidak mengganggu reaksi metabolisme yang terjadi pada sitoplasma sel tumbuhan [29].

Kadar logam Fe pada sedimen 391,56 ppm dan Mn 28,56 ppm, berkemungkinan akumulasi di dalam tumbuhan lebih dari itu karena *E. dulcis* termasuk tumbuhan hiperakumulator logam. Kandungan logam yang tinggi seperti Fe yang terdapat pada sedimen akan bersifat toksik bagi *E. dulcis*, karena sedimen merupakan limbah yang berpotensi menjadi pencemar [30]. Konsentrasi logam yang tinggi dapat mengakibatkan toksik bagi tumbuhan bahkan dapat mengakibatkan kematian [31]. Diduga oleh adanya respons fisiologis berupa sintesis antioksidan seperti AS dan AAs pada *E. dulcis*, efek toksisitas logam dapat ditangkal oleh antioksidan tersebut. Sehingga *E. dulcis* dapat tumbuh dan bertahan hidup pada kondisi yang tidak menguntungkan. Selain respons adaptasi berupa antioksidan berupa asam organik, respons adaptasi lainnya dapat berupa antioksidan enzimatis seperti peroksidase, katalase, polifenol oksidase dan superoksida dismutase yang bertujuan menghambat biosintesis ROS, menjaga kesetimbangan ROS atau menghilangkan overproduksi ROS.

4. Kesimpulan

Respons adaptasi dalam bentuk antioksidan non-enzimatis terpantau melalui biosintesis asam organik AS (asam sitrat) dan AAs (asam askorbat) yang berhubungan dengan mekanisme fitoremediasi dari *E. dulcis* pada AAT. Kandungan asam organik pada organ *E. dulcis* yaitu di akar AS 124,94 ppm dan AAs 21,00 ppm dan di tajuk AS 135,00 ppm dan AAs 109,00 ppm. Asam organik AS dan AAs dalam fitoremediasi AAT

berperan sebagai khelator logam, translokasi logam, detoksifikasi logam dan antioksidan bertujuan menghambat biosintesis ROS berlebihan, menjaga kesetimbangan ROS atau menghilangkan overproduksi ROS.

Perubahan AAT dari inlet, wetland ke outlet menunjukkan bahwa *E. dulcis* potensi memperbaiki kondisi AAT dengan menaikkan pH, menurunkan Fe, Mn dan SO_4^{2-} terlarut sehingga dapat memenuhi baku mutu air limbah kegiatan penambangan batubara. Sehingga dilakukan penelitian lanjut mengenai korelasi antara akumulasi logam dengan biosintesis asam organik dan antioksidan enzimatis serta potensi, mekanisme fitoremediasi *E. dulcis* dalam fitoremediasi AAT batubara.

REFERENSI

- [1] Fachlevi. A. T., E. I. K. Putri, dan S.M.H. Simanjuntak. 2015. Dampak dan evaluasi kebijakan pertambangan batu bara di kecamatan mereubo. Jurnal Risalah Kebijakan Pertanian dan Lingkungan. 2(2); 170 – 179. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jkebijakan/article/view/10989>
- [2] Susilo. A, Suryanto, S. Sugiarto, dan R. Maharani. 2010. Status reklamasi bekas tambang batu bara. Samarinda; Balai besar penelitian dipterokarpa. https://www.researchgate.net/publication/301341652_Status_Riset_Reklamasi_Pasca_Tambang_Batubara
- [3] Said. N. I. 2014. Teknologi pengolahan air asam tambang batubara “alternatif pemilihan teknologi”. JAI 7(2); 119 – 139. <https://doi.org/10.29122/jai.v7i2.2411>
- [4] Effendi, H. 2003. Telaah kualitas air bagi pengelolaan sumber daya dan lingkungan perairan. Penerbit. Kanisius. Yogyakarta
- [5] Yunus, R., dan Prihatini, N. S. 2018. Fitoremediasi Fe dan Mn Air Asam Tambang Batubara dengan Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) dan Purun Tikus (*Eleocharis dulcis*) pada Sistem LBB di PT . JBG Kalimantan Selatan. Sainsmat, VII (1), 73–85. <https://ojs.unm.ac.id/index.php/sainsmat>
- [6] Rosdiyah, K., Taufiq, R., dan Ridhana, F. 2018. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun purun tikus (*Eleocharis dulcis*). JKPK. 3 (3): 135-140. <https://jurnal.uns.ac.id/jkpk/article/view/25626/18478>
- [7] Racchi, M. L. 2013. Antioxidant defenses in plants with attention to prunus and citrus spp. Antioxidants (Basel) 2 (4): 340-369. <https://doi.org/10.3390%2F antioxidants2040340>
- [8] Cresna, C. M. Napitupulu dan R. Ratman. 2014. Analisis vitamin C pada buah papaya, sirsak, srikaya dan langsung yang tumbuh di kabupaten Donggala. Jurnal Akademika Kimia. 3 (3): 346-353 <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/JAK/article/v>

iew/7791/6146

- [9] Osmolovskaya, N., V. V. Dung, and L. Kuchaeva. 2018. The role of organic acids in heavy metal tolerance in plants. *Biological Communications*. 63 (1): 9-16 <https://doi.org/10.21638/spbu03.2018.103>
- [10] Soepandi, D. 2013. Fisiologi tanaman terhadap cekaman abiotik pada agroekosistem tropika. Bogor: IPB Press.
- [11] Tripathi, P. P. A. K. 2014. Impact of heavy metals on morphological and biochemical parameters of *Shorea robusta* plant. *Ekológia (Bratislava)*. 33(2): 116-126. <http://dx.doi.org/10.2478/eko-2014-0012>
- [12] Chen, Y.X., Q. Lin, Y. M. Luo, Y. F. He, S. J. Zhen, Y. L. Yu, G. M. Tian, and M. H. Wong. 2003. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Chemosphere*. 50 (6): 807-811. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(02\)00223-0](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(02)00223-0)
- [13] Setyaningsih, L., Y. Setiadi, D. Sopandie, dan S.W. Budi. 2012. Organic Acid Characteristics and Tolerance of *Sengon (Paraserianthes falcataria L Nielsen)* to Lead. *JMHT*. 18 (3): 177-183. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jmht/article/view/6004/4660>
- [14] Yu, L., J. Yan, S. Guo, and W. Zhu. 2012. Aluminum-induced secretion of organic acid by cowpea (*Vigna unguiculata L.*) roots. *Scientia Horticulturae* 135: 52-58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2011.12.006>
- [15] Das, K. and A. Roychoudhury. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS scavengers during environmental stress in plants (review). *Front. Environ. Sci.* 2: (53). <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>
- [16] Prihatini, N. S. dan Soemarmo. 2015. Performance of the horizontal subsurface-flow constructed wetlands with different operational procedures. *International journal of advance in engineering and technology*. 7(6): 1620-1629 <http://eprints.ulm.ac.id/580/1/1I24-IJAET0724721-v7-iss6-1620-1629.pdf>
- [17] Pandey, N., G. C. Pathak, D. K. Pandey, and R. Pandey. 2009. Heavy metals, Co, Ni, Cu, Zn and Cd, produce oxidative damage and evoke differential antioxidant responses in spinach. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 21(2): 103-111. <https://www.scielo.br/j/bjpp/a/4jDLWvqvwrNJp4SpsQwZKKD/?format=pdf&lang=en>
- [18] Ann, C., S. Karen, R. Jos, O. Kelly, K. Els, K. Tony, H. Nele, V. Nathalie, V. S. Suzy, V. B., Frank, G. Yves, C. Jan, and V. Jaco. 2011. The cellular redox state as a modulator in cadmium and copper responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Journal of Plant Physiology*. 168(4): 309-316.
- [19] Mazid, M., T. A. Khan, Z. H. Khan, S. Quddusi, dan F. Mohamad. 2011. Occurrence, biosynthesis and potentialities of ascorbic acid in plant. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*. 1(2): 167-184. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=628715bb21e1b3baf32a8588e2db4bcff8a956b4>
- [20] Slesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S., & Miszalski, Z. 2007. The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signaling in response to environmental stresses. *Acta biochimica Polonica*. 54(1): 39-50. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17325747/>
- [21] Wójcik, M., E. Skórzyńska-Polit and A. Tukiendorf. 2006. Organic acids accumulation and antioxidant enzyme activities in *Thlaspi caerulescens* under Zn and Cd stress. *Plant Growth Regulation*. 48 (2): 145-155. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-5816-4>
- [22] Enggarini, W., dan E. Marwani. 2006. Pengaruh Cekaman Aluminium terhadap Kandungan Asam Organik dalam Kalus dan Pinak Tomat (*Lycopersicon esculentum Mill.*). *Jurnal Agro Biogen*. 2 (1): 24. <http://dx.doi.org/10.21082/jbio.v2n1.2006.p24-29>
- [23] Mnasri, M., R. Ghabriche, E. Fourati, H. Zaier, K. Sabally, S. Barrington, S. Lutts, C. Abdelly, and T. Ghnaya. 2015. Cd and Ni transport and accumulation in the halophyte *Sesuvium portulacastrum*: Implication of organic acids in these processes. *Frontiers in Plant Science*, 6: 1-9. <https://doi.org/10.3389%2Ffpls.2015.00156>
- [24] Mirouze, M., and J. Paszkowski. 2011. Epigenetic contribution to stress adaptation in plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 14(3): 267-274. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.03.004>
- [25] Kurniawan, F., T. H. Abu, dan B. Subardi. 2015. Analisis Logam (Fe, Pb), Nitrat (NO₃⁻, dan Sulfida (S₂⁻) pada Limbah Tambang Batubara PT. Tri Bakti Sarimas di Desa Pangkal Kuansing. *JOM. FMI-PA. Unri*. 2(1): 212-221. <https://www.neliti.com/id/publications/189063/analisis-logam-fe-pb-nitrat-no3-dan-sulfida-s2-pada-limbah-tambang-batubara-pt-t#cite>
- [26] Nurhidayah, Sofiarini, D. and Yunandar 2014. Fitoremediasi Tumbuhan Air Kiyambang (*Salvinia Molesta*) Purun Tikus (*Eleocharis dulcis*) dan Perupuk (*Phragmites karka*) Sebagai Alternatif Pengolahan Limbah Cair Karet. *Jurnal Ilmiah Bidang Pengolahan Sumber Daya Alam dan Lingkungan* 10 (1):18-26. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jpsl/issue/download/2654/184>
- [27] Hartanti, P. I., A. T. S. Haji dan R. Wirosodarmo. 2014. The Influence Of Plant Density Water Hyacinth (*Eichornia crassipes*) Againsts Metal Loss Chromium In Tannery Waste Liquid. *Jurnal Sumberdaya Alam*

Dan Lingkungan, 31-37.

- [28] Hidayati, N. 2005. Ulasan Fitoremediasi dan potensi tumbuhan hiperakumulator. *Jurnal hayati*. 12(1): 35-40. <https://jurnal.ipb.ac.id/index.php/hayati/article/download/169/36>
- [29] Leitenmaier, B. and H. Küpper. 2013. Compartmentation and complexation of metals in hyperaccumulator plants. *Frontiers in Plant Science* 4 (374). <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2013.00374>
- [30] Suryadi, M. 2019. Pengelolaan air asam tambang dari dinding bekas penambangan sebagai alternatif penanggulangan pencemaran lingkungan; studi kasus tambang batu hijau, Nusa Tenggara Barat. *Jurnal sosioteknologi* 18(3). <https://doi.org/10.5614/sostek.itbj.2019.18.3.10>
- [31] Garbisu, C., and I. Alkorta. 2003. Review Basic concepts on heavy metal soil bioremediation. *The European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection*. 3(1): 58-66. <https://www.911metallurgist.com/blog/wp-content/uploads/2015/12/Basic-concepts-on-heavy-metal-soil-bioremediation.pdf>
- [32] Pratama R, F Adriyansah, A Safitri, R Ismail. The effect of applicated ash sawdust on swamp land (indralaya) for vegetative growth of red pepper (*Capsicum annum L.*) var. cemeti. *BIOVALENTIA: Biological Research Journal* 3 (2), 60-66.