

Aktivitas enzim antioksidan pada akar *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl. dalam fitoremediasi logam berat di Pulau Payung Sumatera Selatan

Antioxidant enzyme activity in *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl. roots in phytoremediation of heavy metals in Pulau Payung, South Sumatra

Afifah Thohiroh¹, Singgih Triwardana², Syafrina Lamin², Sarno², Juswardi^{2*}

¹ Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya Jalan Palembang-Prabumulih, Km 32 Indralaya OganIlir 30662; Telp. 0711-580067/Faks.0711-580067

² Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya Jalan Palembang-Prabumulih, Km 32 Indralaya OganIlir 30662; Telp. 0711-580067/Faks.0711-580067

*Corresponding author

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

Peer review under responsibility of Biology Department Sriwijaya University

Abstract (English):

One of the heavy metal pollution in rivers comes from industrial waste and will accumulate in aquatic biota. Efforts to overcome it through the process of phytoremediation using mangrove plant *S. caseolaris*. The phytoremediation process of heavy metals can cause stress for *S. caseolaris* and increase free radicals. Adaptation response *S. caseolaris* in that involve changes in antioxidant enzyme activity including peroxidase (PO), polyphenol oxidase (PPO), and catalase (CAT). The aim of this research were to determine the activity of antioxidant enzyme PO, PPO, and CAT as adaptation response *S. caseolaris* in phytoremediation of heavy metals in Pulau Payung, South Sumatra. The sampling process uses the method convenience sampling. Measurement of heavy metal levels of Pb and Cu using atomic absorption spectrophotometry method. Determination of activity of PO with hydrogen peroxide and pyrogalol as substrates; PPO with pyrogalol substrate; and CAT with hydrogen peroxide as substrate using uv-vis spectrophotometry method with a wavelength for each enzyme 420 nm; 420 nm; and 240 nm. Analysis of the data used in the form of quantitative data presented by analysis of the average data center and standard deviation. Based on the research that has been done, the antioxidant enzyme activities each obtained with PO activity 45,78 U/mg protein/minute; PPO activity 109,05 U/mg protein/minute; and CAT activity 32,02 U/mg protein/minute. The activity of antioxidant enzymes PO, PPO, and CAT is a adaptation response *S. caseolaris* caused by accumulate (phytoremediation) of heavy metals Pb and Cu in sediment and serves to prevent Reactive Oxygen Species (ROS) formed.

Keywords: catalase, heavy metals, peroxidase, polyphenols oxidase, *Sonneratia caseolaris*

Abstrak (Indonesia):

Pencemaran logam berat di sungai salah satunya berasal dari limbah industri dan akan terakumulasi pada biota perairan. Upaya untuk mengatasinya melalui proses fitoremediasi menggunakan tumbuhan mangrove *S. caseolaris*. Proses fitoremediasi logam berat dapat menyebabkan cekaman bagi *S. caseolaris* dan meningkatkan radikal bebas. Respons adaptasi *S. caseolaris* berupa perubahan aktivitas enzim antioksidan meliputi peroksidase (PO), polifenol oksidase (PPO), dan katalase (CAT). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas enzim antioksidan berupa PO, PPO, dan CAT sebagai respons adaptasi *S. caseolaris* dalam fitoremediasi logam berat di Pulau Payung Sumatera Selatan. Proses pengambilan sampel menggunakan metode *kg sampling*. Pengukuran kadar logam berat Pb dan Cu menggunakan metode spektrofotometri serapan atom. Penentuan aktivitas dari PO dengan substrat hidrogen peroksid dan pirogalol; PPO dengan substrat pirogalol; dan CAT dengan substrat hidrogen peroksid menggunakan metode spektrofotometri uv-vis

dengan panjang gelombang pada masing-masing enzim berturut-turut 420 nm; 420 nm; dan 240 nm. Analisis data yang digunakan berupa data kuantitatif yang disajikan dengan analisis pemusatan data rata-rata dan standar deviasi. penelitian yang telah dilakukan, aktivitas enzim antioksidan diperoleh masing-masing dengan aktivitas PO 45,78 U/mg protein/menit; aktivitas PPO 109,05 U/mg protein/menit; dan aktivitas CAT 32,02 U/mg protein/menit. Aktivitas enzim antioksidan PO, PPO, dan CAT merupakan respons adaptasi *S. caseolaris* yang disebabkan oleh pengaruh akumulasi (fitoremediasi) logam berat Pb dan Cu pada sedimen dan berfungsi menangkal *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk.

Kata Kunci: katalase, logam berat, peroksidase, polifenol oksidase, *Sonneratia caseolaris*

Dikirim: 7 Februari 2021, Diterima: 18 Desember 2021

1. Pendahuluan

Aktivitas industri di wilayah hulu sungai secara terus-menerus dapat menghasilkan bahan pencemar yang mengalami penumpukan hingga terakumulasi di daerah muara. Bahan pencemar yang biasanya berasal dari aktivitas industri tersebut ialah logam berat (Prianto *et al.*, 2010; Budiastuti *et al.*, 2016). Pencemaran logam berat akan mengendap menjadi sedimen pada dasar perairan hingga terakumulasi dalam biota perairan (Setiawan, 2013). Salah satu biota perairan yang menyerap logam berat adalah mangrove yang terdapat di muara sungai. Kemampuan mangrove dalam hal menyerap dan menyimpan logam berat pada jaringan tubuhnya serta tidak mengalami kerusakan akibat pengaruh logam berat, membuat mangrove termasuk sebagai agen fitoremediator (Puspita *et al.*, 2013; Sanadi *et al.*, 2018).

Fitoremediasi merupakan proses penghilangan polutan dari tanah dan perairan yang terkontaminasi menggunakan media tumbuhan. Metode fitoremediasi berkembang pesat dan menjadi pilihan untuk proses perbaikan lingkungan dikarenakan lebih murah daripada metode lainnya (Juhaeti *et al.*, 2005). Menurut Rumanta (2019), *S. caseolaris* salah satu mangrove yang berpotensi sebagai agen fitoremediator di ekosistem mangrove karena ditemukannya konsentrasi logam berat Pb (timbal) dalam jaringan tumbuhan *S. caseolaris*.

Potensi fitoremediasi pada tumbuhan mangrove didukung dengan kemampuan mangrove untuk beradaptasi pada kondisi cekaman logam berat (Samiyarsih *et al.*, 2016). Tumbuhan fitoremediator yang berada dalam kondisi cekaman logam berat, memiliki beberapa mekanisme pertahanan yang berfungsi sebagai

pelindung tumbuhan dari kerusakan akibat peningkatan ROS pada tumbuhan yang disebabkan oleh cekaman logam berat (Rosidah *et al.*, 2014; Simbolon *et al.*, 2020). Pertahanan tumbuhan terhadap ROS diantaranya melalui aktivitas antioksidan. Antioksidan ini terdiri dari antioksidan enzimatik dan nonenzimatik (Das dan Roychoudhury, 2014). Antioksidan enzimatik diantaranya, PO, PPO, dan CAT.

Menurut Yan *et al.* (2008) aktivitas enzim peroksidase dan katalase menjadi mekanisme toleransi untuk melindungi tumbuhan dari kerusakan akibat ROS dikarenakan konsentrasi logam nikel yang berlebihan. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas enzim antioksidan berupa PO, PPO, dan CAT pada *S. caseolaris* dalam fitoremediasi logam berat di Pulau Payung Sumatera Selatan.

2. Bahan dan Metode

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan menggunakan teknik *convenience sampling*. Akar yang diambil adalah akar pensil diambil dari tiga individu tumbuhan yang berbeda menggunakan *cutter*. Sampel sedimen diambil menggunakan pipa paralon dengan kedalaman \pm 30 cm. Kedua sampel disimpan di dalam *coolbox* yang berisi es untuk kemudian dibawa ke laboratorium.

Pengukuran Kadar Logam Berat pada Sedimen

Analisis dilakukan secara destruksi asam dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Sampel sedimen ditimbang sebanyak 3,0 g, kemudian ditambahkan 25 mL air akuades

serta diaduk. Selanjutnya ditambahkan 10 mL HNO₃ pekat lalu diaduk hingga bercampur rata lalu ditambahkan 3 butir batu didih dan ditutup dengan kaca arloji kemudian dipanaskan di atas *hotplate* dengan suhu 105°C sampai 120°C hingga volume sampel tersisa 10 mL, lalu diangkat dan dinginkan.

Sampel ditambahkan dengan 5 mL HNO₃ pekat dan 3 mL HClO₄ pekat tetes demi tetes melalui dinding kaca erlenmeyer kemudian dipanaskan kembali sampai timbul asap putih dan larutan menjadi jernih. Setelah itu pemanasan dilanjutkan selama ±30 menit, kemudian sampel dinginkan dan disaring. Filtrat sampel ditempatkan pada labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda tera. Filtrat sampel diukur menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang optimal 217,0 nm untuk logam Pb dan 324,8 nm untuk logam Cu kemudian dicatat hasilnya.

Kadar konsentrasi logam berat dihitung dengan rumus:

$$\text{Logam berat (\mu g/g)} = \frac{CxV}{B}$$

(SNI 06-6992.3 Tahun 2004; SNI 06-6992.5 Tahun 2004)

Parameter pH dan Suhu

Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter. Setelah dikalibrasi, dimasukkan setetes air ke dalam pH meter, kemudian ditekan tombol pH dan dilihat hasil pengukuran pH. Pengukuran suhu menggunakan termometer yang langsung dicelupkan ke perairan dan dibiarkan selama 2-5 menit hingga termometer menunjukkan nilai yang stabil.

Ekstraksi Protein

Akar *S. caseolaris* 200 mg akar digerus dan dihomogenkan dalam 2 ml buffer Tris-HCl pH 8,0. Kemudian disentrifuge pada kecepatan 12.500 g suhu 0°C selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf dan disimpan pada suhu 0-4°C untuk digunakan pada analisis kadar protein total dan pengukuran aktivitas enzim.

Penentuan Kadar Protein Total

Penentuan kadar protein total menggunakan reagen biuret dan protein standar dari biosistem yang dimodifikasi. Absorbansi protein standar (Ast) dari campuran 400µl protein standar (Bovin Serum Albumin), 400µl aquades dan 200µl reagen biuret. Absorbansi potensial sampel (As) dari campuran 40µl sampel yang dicampur 200µl reagen biuret dan 760µl aquades. Pengukuran menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 545 nm. Pengukuran kadar protein total dengan rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi sampel (As)}}{\text{Absorbansi standar (Ast)}} \times 6,95 \text{ } \mu\text{g/ml protein}$$

Pengukuran Aktivitas Peroksidase

Pengukuran aktivitas PO menggunakan campuran pereaksi 10 mM pirogalol, 0,0025 mM buffer pospat pada pH 6,8 ke dalam 1 mL campuran pereaksi ditambahkan 10 mM H₂O₂ dan 4µl protein dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit. Hasil oksidasi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Aktivitas PO dihitung menggunakan satuan rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi/konsentrasi protein/menit}}{\text{(U/mg protein/menit)}}$$

Pengukuran Aktivitas Polifenol Oksidase

Pengukuran aktivitas PPO dilakukan menggunakan campuran pereaksi 10 mM pirogalol, 0,0025 mM buffer pospat pada pH 6,8 ke dalam 1 mL ditambahkan 4µl protein dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 menit. Hasil oksidasi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Aktivitas PPO dihitung menggunakan satuan rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi/konsentrasi protein/menit}}{\text{(U/mg protein/menit)}}$$

Pengukuran Aktivitas Katalase

Pengukuran aktivitas CAT menggunakan perekasi 0,0025 mM buffer pospat pada pH 6,8 ke dalam 1 mL campuran perekasi ditambahkan 10 mM H₂O₂ dan 4µl protein dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit. Hasil penurunan diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 240

nm. Aktivitas CAT dihitung menggunakan satuan rumus:

Absorbansi/konsentrasi protein/menit
(U/mg protein/menit)

Analisis Data

Data yang dianalisis merupakan data kuantitatif yang diperoleh dari hasil pengukuran pH, suhu, kadar logam berat Pb dan Cu serta data aktivitas PO, PPO, dan CAT dianalisis menggunakan analisis pemusatan data dengan rata-rata dan standar deviasi. Data hasil pengukuran ini disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

3. Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang dilaksanakan mengenai aktivitas enzim antioksidan pada akar *S. caseolaris* dalam fitoremediasi logam berat didapatkan hasil sebagai berikut.

Aktivitas Enzim Antioksidan

Tabel 4.1. Aktivitas enzim antioksidan Akar *S. caseolaris* dalam fitoremediasi logam berat di Pulau Payung

Enzim	Aktivitas ± sd (U/mg protein/menit)
PO	45,78 ± 4,70
PPO	109,05 ± 10,29
CAT	32,02 ± 3,03

Keterangan: ± : Standar Deviasi

Berdasarkan Tabel 4.1. yang menunjukkan aktivitas enzim antioksidan pada akar *S. caseolaris* berupa aktivitas PO sebesar 45,78 U/mg protein/menit, PPO sebesar 109,05 U/mg protein/menit, dan CAT sebesar 32,02 U/mg protein/menit. Aktivitas enzim antioksidan tersebut menjadi indikator respons *S. caseolaris* pada kondisi tercekam khususnya stres (cekaman) logam berat yang terkandung dalam substrat pada habitat *S. caseolaris* di Pulau Payung. Menurut Thakur *et al.* (2016), respons fisiologis tumbuhan berupa aktivitas enzim antioksidan berperan penting dalam mekanisme toleran dan tingkat sensitivitas dari berbagai

spesies tumbuhan yang dikontrol secara genetik terhadap cekaman logam berat.

Proses adaptasi dan kelangsungan hidup tumbuhan selama cekaman logam berat bergantung pada kemampuan tumbuhan untuk menolak kerusakan oksidatif dikarenakan ROS yang bertindak sebagai senyawa beracun pada tumbuhan. Menurut Mittler (2002), sel-sel tumbuhan membutuhkan setidaknya dua mekanisme yang berbeda untuk mengatur konsentrasi ROS intraselulernya berupa mekanisme induksi persinyalan pada tingkat ROS yang rendah dan mekanisme detoksifikasi kelebihan ROS khususnya selama kondisi tercekam.

Peningkatan aktivitas PO, PPO dan CAT menjadi sinyal bahwa enzim pelindung dari radikal bebas telah diaktifkan. Namun, kadang-kadang dampak logam lebih drastis sehingga mempengaruhi struktur enzim dan mengakibatkan kurangnya aktivitas enzim. Beberapa enzim memiliki kofaktor logam sehingga menghubungkan antara ekspresi enzim dengan konsentrasi logam yang terkandung. Menurut Sofo *et al.* (2005), perubahan ekspresi dan aktivitas enzim antioksidan telah dideteksi di berbagai spesies tumbuhan sebagai respons fisiologis tumbuhan terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan.

Peroksidase (PO)

Enzim PO berfungsi dalam menetralkan reaksi oksidasi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang dapat berperan sebagai perantara utama racun bagi tumbuhan saat terjadi cekaman oksidatif. Induksi PO dalam tumbuhan menggunakan H_2O_2 sebagai substratnya hingga dihasilkan oksigen dan air. Menurut Lin *et al.* (2015), PO sebagai enzim pelindung tumbuhan yang memainkan peran penting dalam penurunan ROS dengan menguraikan oksigen bebas, melawan membran peroksidasi lipid dan melindungi membran sel. PO digunakan untuk menstabilkan atau menetralkan H_2O_2 .

Polifenol Oksidase (PPO)

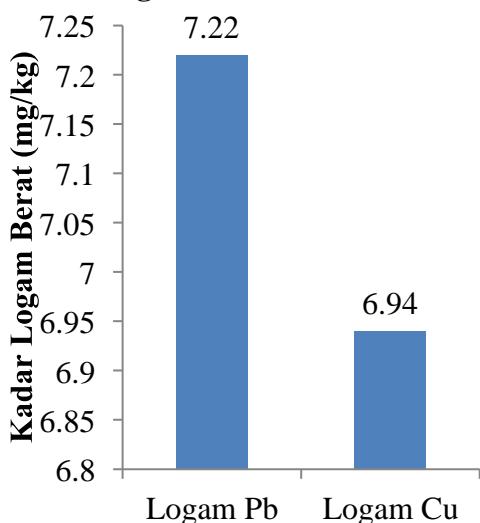
Keberadaan PPO sebagai enzim yang bertanggung jawab dalam menguraikan senyawa fenolik untuk menghasilkan quinon, sehingga senyawa fenolik menjadi substrat

utama PPO. Menurut Queiroz *et al.* (2008), isoenzim PPO tergolong enzim yang mengkatalisis dua reaksi hidroksilasi fenol yang berbeda (monofenol hingga difenol) dengan syarat adanya molekul oksigen. Menurut Fan *et al.* (2005), biasanya proses ini diikuti dengan polimerisasi non-enzimatis dari quinon yang bereaksi dengan asam amino dan protein untuk menghasilkan melanin serta pigmen berwarna gelap.

Katalase (CAT)

Aktivitas CAT dan PO sebagai sifat adaptif tumbuhan yang dapat membantu mengatasi kerusakan pada metabolisme tumbuhan dengan mengurangi kadar racun H_2O_2 yang diproduksi selama metabolisme sel dan perlindungan terhadap cekaman oksidatif. Menurut Alemzadeh dan Rastgoo (2011), aktivitas CAT berupa menetralkan racun pada H_2O_2 yang mana bersama enzim PO mampu mempertahankan kondisi redoks pada sel. Enzim ini berperan menguraikan H_2O_2 menjadi oksigen dan air melalui transfer dua elektron serta melindungi protein, asam nukleat dan lipid terhadap ROS.

Kadar Logam Berat di Sedimen



Gambar 4.1. Kadar Logam Berat Pb dan Cu pada Sedimen di Pulau Payung

Pada Gambar 4.1. kandungan logam Pb dan Cu disekitar vegetasi *S. caseolaris* diperoleh berturut-turut sebesar $7,22 \text{ mg/kg} \pm 0,67$ dan

$6,94 \text{ mg/kg} \pm 0,16$. Kadar logam berat yang terkandung pada habitat *S. caseolaris* membuktikan bahwa *S. caseolaris* memiliki kemampuan beradaptasi sehingga tetap bertahan hidup sekaligus berperan dalam mengurangi pencemaran logam berat. Menurut Kumar dan Kumari (2015), logam berat menimbulkan bahaya, akan tetapi tumbuhan yang tumbuh di area cemaran logam berat mampu beradaptasi dengan mengembangkan strategi pertahanan hidup untuk memastikan kelangsungan hidup mereka.

Konsentrasi Pb bila terakumulasi tinggi dalam jaringan *S. caseolaris* menghasilkan respons tumbuhan berupa cekaman oksidatif. ROS akan diproduksi dalam kloroplas dan mitokondria begitupula enzim yang berperan menguraikan reaksi oksidatif. Menurut Gupta *et al.* (2009), akumulasi Pb mengakibatkan cekaman oksidatif, akan tetapi dapat dikendalikan secara efisien karena terdapat peningkatan yang signifikan pada antioksidan. Tumbuhan yang mampu tumbuh di daerah yang tercemar Pb akan bertindak sebagai spesies indikator Pb.

Kadar Cu sebesar $6,94 \text{ mg/kg} \pm 0,16$ akan terserap *S. caseolaris* dan jika mencapai kadar yang berlebihan dapat memicu pembentukan ROS secara langsung atau tidak langsung oleh logam. Dampak lebih lanjut dapat menimbulkan kerusakan pada komponen sel. Menurut Leonard *et al.* (2004), Cu mampu menghasilkan ROS sehingga menimbulkan kerusakan oksidatif dalam sel. Paparan Cu dapat mengaktifkan transkripsi via jalur logam maupun ROS sebagai responsnya.

Aktivitas enzim antioksi dan memungkinkan tumbuhan untuk bertahan hidup dalam kondisi tercekam. Namun, kadar logam yang diperoleh di sekitar habitat *S. caseolaris* belum dikategorikan dalam jumlah yang berlebihan. Hal ini menunjukkan bahwa enzim antioksidan yang terinduksi tidak hanya berasal dari pengaruh logam berat, akan tetapi dapat juga dipengaruhi oleh kondisi cekaman biotik maupun abiotik lainnya. Menurut Odjegba dan Fasidi (2007).

Parameter Lingkungan

Kisaran pH air yang diperoleh pada Tabel 4.2. menunjukkan masih tergolong asam disebabkan adanya hubungan antara nilai pH dengan kelarutan logam berat seperti Pb dan Cu. Air yang mengandung kadar logam yang banyak akan menyebabkan nilai pH turun (bersifat asam). Oleh karena itu, pH yang rendah menyebabkan kelarutan logam berat semakin tinggi. Menurut Mallick dan Rai(2002), kelarutan logam berkorelasi dengan kisaran pH. Kondisi asam suatu perairan menyebabkan logam cenderung sebagai ion bebas terhidrasi yang beracun, sedangkan perairan dengan pH basa memungkinkan logam tidak dapat larut. Suhu tidak hanya berperan pada metabolisme biota perairan, tetapi berkaitan juga dengan konsentrasi logam berat di perairan.

Tabel 4.2. Kondisi Perairan di Pulau Payung dan Keputusan Negara Lingkungan Hidup Tahun 2004 tentang Baku Mutu Air Laut

Parameter	Satuan	Rata-Rata	Baku Mutu
pH	-	6,32 ± 0,19	7 – 8,5
Suhu	°C	28,6 ± 1,05	Mangrove : 28 – 32

Keterangan: ± : Standar Deviasi

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai aktivitas enzim antioksidan meliputi peroksidase (PO), polifenol oksidase (PPO), dan katalase (CAT) pada akar *S. caseolaris* dalam fitoremediasi logam berat Pb dan Cu di Pulau Payung diperoleh masingmasing dengan aktivitas PO 45,78 U/mg protein/menit; aktivitas PPO 109,05 U/mg protein/menit; dan aktivitas CAT 32,02 U/mg protein/menit. Aktivitas enzim antioksidan PO, PPO, dan CAT merupakan respons adaptasi *S. caseolaris* yang disebabkan oleh pengaruh akumulasi (fitoremediasi) logam berat Pb dan Cu pada sedimen dan berfungsi menangkal *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk.

Sebagaimana pengaruh parameter pH, suhu juga cenderung menaikkan akumulasi dan kadar racun dari logam berat. Menurut Happy *et al.* (2012), suhu air yang lebih dingin akan memudahkan logam berat mengendap di sedimen. Sementara pada suhu yang tinggi, senyawa logam berat akan larut di air. Menurut Suwarsito dan Sarjanti (2014), proses akumulasi logam berat dalam biota perairan akan meningkat jika terjadi peningkatan suhu. Hal ini dapat mempercepat reaksi pembentukan ikatan antara logam berat dengan protein sehingga konsentrasi logam berat yang masuk akan menjadi racun bagi biota perairan.

Referensi

- Alemzadeh, A. dan Rastgoo, L. 2011. Biochemical Responses of Gouan (*Aeluropus littoralis*) to Heavy Stress. *Australian Journal of Crop Science*. 5(4): 375-383.
- Budiastuti, P., Raharjo, M., dan Dewanti, N.A.Y. 2016. Analisis Pencemaran Logam Berat Timbal di Badan Sungai Babon Kecamatan Genuk Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 4(5): 119-125.
- Das, K. dan Roychoudhury, A. 2014. Reactive Oxygen Species (ROS) and Respons of Antioxidants as ROS-Scavengers During Environmental Stress in Plants. *Frontiers in Environmental Science*. 2: 1-13.

- Fan, M. H., Wang, M., dan Zou, P. 2005. Effect of Sodium Chloride on The Activity and Stability of Polyphenol Oxidase from Fuji Apple. *Journal pf Food Biochemistry*. 29: 221-230.
- Gupta, D. K., Nicoloso, F. T., Schetinger, M. R. C., Rossato, L. V., Pereira, L. B., Castro, G. Y., Srivastava, S., dan Tripathi, R. D. 2009. Antioxidant Defense Mechanism in Hydroponically Grown *Zea mays* Seedlings under Moderate Lead stress. *Journal of Hazardous Materials*. 172: 479-484.
- Juhaeti, T., Syarif, F., dan Hidayati, N. 2005. Inventarisasi Tumbuhan Potensial untuk Fitoremediasi Lahan dan Air Terdegradasi Penambangan Emas. *Biodiversitas*. 6(1); 31-33.
- Kumar, G. H. dan Kumari, J. P. 2015. Heavy Metal Lead Influutive Toxicity and Its Assessment in Phytoremediating Plants-A Review. *Water Air Soil Pollut.* 226 (324): 1-11.
- Leonard, S. S., Bower, J. J., dan Shi, X. 2004. Metal-Induced Toxicity, Carcinogenesis, Mechanisms and Cellular Responses. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 255: 310.
- Lin, H., Peng, Ya-Li, Chen, J., dan Liang, L. 2015. Effect of Heavy Metal Stress on Antioxidase Enzymes. *International Conference on Manufacturing Science and Engineering*. 2(1): 871-876.
- Mallick, N. dan Rai, L. C. 2002. Physiological Responses of NonVascular Plants to Heavy Metals. Dalam E. Cseh, M. N. V. Prasad, dan K. Strzalka, editor. *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*. 111-147. Springer. Netherlands.
- Mittler, R. 2002. Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance. *Trends in Plant Science*. 7(9): 405-410.
- Odjegba, V. J. Dan Fasidi, I. O. 2007. Changes in Antioxidant Enzyme Activities in *Eichornia crassipes* (Pontederiaceae) and *Pistia stratiotes* (Araceae) under Heavy Metal Stress. *Int J Trop Biol.* 55(3-4): 815-823.
- Prianto, E., Husnah, dan Aprianti, S. 2010. Karakteristik Fisika Kimia Perairan dan Struktur Komunitas Zooplankton di Kawasan Estuari Sungai Banyuasin Selatan. *Bawal*. 3(3): 149-157.
- Puspita, A.D., Santoso, A., dan Yulianto, B. 2013. Studi Akumulasi Logam Timbal (Pb) dan Efeknya terhadap Kandungan Klorofil Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*. *Journal of Marine Research*. 3(1): 44-53.
- Queiroz, C., Lopes, M. L. M., Fialho, E., dan Valente-Mesquita, V. L. 2008. Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. *Food Reviews International*. 24: 361375.
- Rosidah, S., Anggraito, Y.U., dan Pukan, K.K. 2014. Uji Toleransi Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) terhadap Cekaman Kadmium (Cd) Timbal (Pb) dan Tembaga (Cu) pada Kultur Cair. *Unnes J Life Sci*. 3(2): 68-78.
- Rumanta, M. 2019. The Potential of *Rhizophora mucronata* and *Sonneratia caseolaris* for Phytoremediation of Lead Pollution in Muara Angke North Jakarta Indonesia. *Biodiversitas*. 20(8): 2151-2158.
- Samiyarsih, S., Suparjana, T.B., dan Juwarno. 2016. Karaker Anatomi Daun Tumbuhan Mangrove Akibat Pencemaran di Hutan Mangrove Kabupaten Cilacap. *Biosfera*. 33(1): 31-36.
- Sanadi, T.H., Schaduw, J.N.W., Tilaar, S.O., Mantiri, D., Bara, R., dan Pelle, W. 2018. Analisis Logam Berat Timbal (Pb) pada Akar Mangrove di Desa Bahowo dan Desa Talawaan Bajo Kecamatan Tongkaina. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 2(1): 9-18.
- Setiawan, H. 2013. Akumulasi dan Distribusi Logam Berat pada Vegetasi Mangrove di

Perairan Pesisir Sulawesi Selatan. *Jurnal Ilmu Kehutanan*. 7(1): 12-24.

Simbolon, E., Suedy, S.W.A., dan Darmanti, S. 2020. Pengaruh Hidrogen Peroksida dan Ketersediaan Air terhadap Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.) Merr. Varietas Deja 1. *Agric*. 32(1): 39-50.

Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., dan Masia, A. 2005. Antioxidant Defences in Olive Trees During Drought Stress: Changes in Activity of Some Antioxidant Enzymes. *Functional Plant Biology*. 32: 45-53.

Suwarsito dan Sarjanti, E. 2014. Analisa Spasial dan Pencemaran Logam Berat pada Sedimen dan Biota Air di Muara Sungai Serayu Kabupaten Cilacap. *Geoedukasi*. 3(1): 30-37.

Thakur, S., Singh, L., Wahid, Z. A. B., Siddiqui, M. F., Atnaw, S. M., dan Din, M. F. M. D. 2016. Plant-Driven Removal of Heavy Metals from Soil: Uptake, Translocation, Tolerance Mechanism, Challenges, and Future Perspective. *Environ Monit Assess*. 188(206): 1-11.

Yan, R., Gao, S., Yang, W., Cao, M., Wang, S., dan Chen, F. 2008. Nickel Toxicity Induced Antioxidant Enzyme and Phenylalanine Ammonia-Lyse Activities in *Jatropha curcas* L. Cotyledons. *Plant Soil Environ*. 54(7): 294-300.