

Respon Enzim Antioksidatif *Sonchus oleraceus* terhadap Cekaman Krom pada Media Tanam Berbeda
(Response of Antioxidative Enzymes of *Sonchus oleraceus* toward Chromium Stress on Different Planting Media)

Sucahyo¹ & Sri Kasmiyati^{*1}

¹Faculty of Biology Universitas Kristen Satya Wacana, Jl. Diponegoro 52-60, Salatiga, 50711

*Corresponding author: 0298-321212; fax: 0298-321433;

E-mail: kas@staff.uksw.edu

Memasukkan: Agustus 2017, Diterima Januari 2018

ABSTRACT

Sonchus oleraceus is a weed that is capable of living in chromium contaminated environments, so their physiological, biochemical and molecular responses can be used as biomarkers of chromium stress. Changes in the activity of antioxidative enzymes can be used as a biomarker of biochemical against heavy metal stress. The objective of this research was to know the response of antioxidative enzymes activity in *S. oleraceus* subjected to Cr stress on different planting media. The research was done in 2 factors i.e. planting media types and Cr compound types (Cr^{3+} and Cr^{6+}). Parameters measured were antioxidative enzymes activity i.e catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), superoxidase dismutase (SOD), and glutathion reductase (GR), dissolved protein content in leaves, and content of Cr^{6+} and Cr total in roots and shoots. The data were analyzed with a two way ANOVA using SAS 9.1 32-bit for windows. The results indicated that activity of antioxidative enzymes (CAT, APX, SOD and GR) of *S. oleraceus* leaves tend to increase under Cr stress condition. The Cr^{6+} treatment of 10 mg/L significantly increased the antioxidative enzyme activity of CAT, APX, SOD and GR in *S. oleraceus* leaves. The antioxidative enzyme activity (APX, SOD and GR) *S. oleraceus* grown on soil medium containing sludge was higher than that grown on soil media and on the mixture of sludge: soil (1: 1). Under Cr stress conditions, the roots and shoots of *S. oleraceus* grown on sterile sand media, soil and the mixture of sludge:soil (1:1) accumulate Cr^{6+} and Cr total. The accumulation of Cr^{6+} was found the highest in shoots, meanwhile accumulation of Cr total was found the highest in the roots. The Cr treatments and planting media also significantly influenced the soluble protein content in *S. oleraceus* leaves.

Key words: antioxidant, oxidative stress, chromium, weed, soluble protein

ABSTRAK

Sonchus oleraceus merupakan gulma yang mampu tumbuh pada lingkungan tercemar krom (Cr), sehingga respon fisiologis, biokimia dan molekularnya dapat digunakan sebagai biomarker terhadap efek cekaman krom. Terjadinya perubahan aktivitas enzim-enzim antioksidatif dapat digunakan sebagai biomarker biokimia terhadap cekaman logam berat. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui respon aktivitas enzim antioksidatif dari *S. oleraceus* terhadap cekaman Cr pada media tanam yang berbeda. Penelitian dilakukan secara eksperimental, menggunakan 2 faktor yaitu jenis media tanam (medium tanah, medium sludge dan medium campuran tanah dan sludge) serta perlakuan bentuk senyawa Cr (Cr^{3+} dan Cr^{6+}). Parameter yang diamati meliputi aktivitas enzim antioksidatif katalase (CAT), askorbat peroksidase (APX), superoksida dismutase (SOD), dan glutathion reduktase (GR), kandungan protein terlarut daun, dan kandungan Cr^{6+} dan Cr total di dalam akar dan pucuk. Analisis data dilakukan secara statistik menggunakan program SAS 9.1 32-bit for windows. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas enzim antioksidatif CAT, APX, SOD dan GR daun *S. oleraceus* cenderung mengalami peningkatan pada kondisi cekaman Cr. Cr^{6+} sebesar 10 mg/l memberikan dampak paling nyata terhadap peningkatan aktivitas enzim CAT, APX, SOD dan GR dalam daun *S. oleraceus*. Aktivitas enzim antioksidatif (APX, SOD dan GR) *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada media tanah mengandung sludge lebih tinggi dibandingkan yang ditumbuhkan pada media tanah dan campuran sludge:tanah (1:1). Pada kondisi cekaman Cr, akar dan pucuk tanaman *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada media pasir steril, tanah dan campuran sludge:tanah (1:1) mengakumulasi Cr^{6+} dan Cr total. Akumulasi Cr^{6+} lebih banyak di dalam pucuk, sebaliknya akumulasi Cr total paling banyak di dalam akar. Perlakuan Cr dan media tanam juga mempengaruhi secara nyata kandungan protein terlarut daun *S. oleraceus*

Kata Kunci: antioksidan, cekaman oksidatif, krom, gulma, protein terlarut

PENDAHULUAN

Pencemaran lingkungan tanah dan air oleh polutan logam berat merupakan permasalahan lingkungan global yang dihadapi banyak negara di dunia. Pembuangan limbah industri mengandung Cr secara signifikan meningkatkan konsentrasi Cr di dalam tanah dan umumnya disertai dengan pencemaran pada air tanah. Menurut Bielicka *et al.* (2005) krom yang terdapat di atmosfer sebanyak 60-70% berasal dari aktivitas antropogenik, sedangkan 30-40% berasal dari alam, dan atmosfer merupakan lintasan utama untuk pemindahan jarak jauh krom ke berbagai ekosistem.

Polutan logam berat di lingkungan mendapat perhatian serius karena keberadaannya di lingkungan bersifat persisten dan tidak dapat didegradasi. Krom yang dijumpai di dalam tanah selain terjadi secara alamiah, dapat juga bersumber dari aktivitas manusia (antropogenik). Krom di tanah dijumpai dalam beberapa tingkat oksidasi yaitu Cr^{2+} – Cr^{6+} , dan dua tingkat oksidasi paling stabil adalah Cr^{3+} dan Cr^{6+} . Krom diserap oleh akar dalam bentuk Cr^{3+} atau Cr^{6+} , karena kedua bentuk ion krom tersebut sama-sama tersedia bagi tumbuhan (Zayed & Terry 2003). Cr^{6+} dan Cr^{3+} memiliki toksisitas, kelarutan, ketersediaan, transpor, mobilitas, reaktifitas, toksisitas serta sifat fisika dan kimia berbeda (Njoku & Nweze 2009). Andersen *et al.* (2006) menyatakan bahwa Cr^{3+} pada konsentrasi sangat tinggi bersifat toksik pada tumbuhan, namun kurang atau tidak toksik terhadap hewan.

Cr^{6+} merupakan bentuk krom yang paling teroksidasi, bersifat reaktif, dan sangat toksik karena dapat mengubah permeabilitas membran dan mengoksidasi sel (Njoku & Nweze 2009; Aquilar *et al.* 2008). Krom heksavalen juga dilaporkan bersifat karsinogenik, mutagenik, dan teratogeni, serta dapat diserap 3-5 kali lebih banyak oleh organisme dibandingkan Cr^{3+} (Choppala *et al.* 2010). Kim *et al.* (2002) menyatakan bahwa Cr^{6+} merupakan senyawa karsinogen terhadap manusia, mampu mengiritasi, dan bersifat korosif.

Mekanisme toleransi tumbuhan terhadap toksisitas krom seperti pada logam berat lain melibatkan koordinasi secara kompleks antara proses fisiologis, biokimia, dan molekular.

Salah satu respon tumbuhan terhadap cekaman logam berat adalah dengan mengaktifkan sistem pertahanan antioksidan dan pembentukan *heat shock proteins* (Memon *et al.* 2001). Sistem antioksidan dan pembentukan protein cekaman panas berfungsi melindungi terjadinya kerusakan protein, lipid, karbohidrat, dan DNA akibat cekaman oksidatif dan suhu pada tumbuhan.

Sistem antioksidan pada tumbuhan terdiri dari komponen enzim dan non enzim yang berperan merespon berbagai cekaman biotik maupun abiotik. Aktivitas sistem antioksidan adalah mengatur urutan atau rangkaian reaksi oksidasi yang tidak terkontrol dan melindungi sel dari kerusakan oksidatif melalui pemerangkapan berbagai spesies oksigen reaktif (Gill & Tuteja 2010). Sistem pertahanan antioksidatif melibatkan aktivitas berbagai enzim antioksidatif (seperti CAT, APX, GR, SOD, GPX) dan senyawa antioksidan (Panda & Choudhury 2005). Penggunaan respon biokimia terutama perubahan aktivitas enzim antioksidatif sebagai biomarker untuk memantau pencemar di lingkungan sangat potensial dikembangkan, karena responnya cepat dan sensitif terhadap pencemar yang aktif secara biologi (Regoli *et al.* 1998), serta pengukuran parameternya mudah dilakukan. Antioksidan (CAT, katalase, GST, glutathione s-transferase, SOD dan glutathion) telah digunakan sebagai biomarker cekaman lingkungan pada tiram (*Saccostrea glomerata*) (Andersen *et al.* 2006), *mussels* (*Mytilus galloprovincialis*) (Vlahogianni *et al.* 2007), dan *blue crab* (*Callinectes amnicola*) (Olakolu *et al.* 2012).

Tumbuhan dapat merespon toksisitas krom, diawali dari interaksi krom dengan tanaman melalui proses penyerapannya. Krom merupakan unsur non essensial bagi tumbuhan, dan bersifat toksik bila konsentrasinya melebihi batas ambang. Toksisitas krom dapat mempengaruhi berbagai aspek fisiologis dan biokimia, diantaranya adalah mempengaruhi aktivitas enzim antioksidatif, menginduksi stress oksidatif pada tumbuhan, lipid peroksidasi, serta mampu mendegradasi protein struktural maupun fungsional dalam bentuk berbagai enzim yang berperan dalam metabolisme. Respon antioksidan dari tanaman terhadap stress oksidatif yang diinduksi oleh logam tergantung pada jenis tanaman dan jenis logamnya, tidak seperti pada logam Cd, Zn, dan Fe, informasi

tentang metabolisme antioksidan untuk stress logam krom belum banyak diketahui. Enzim-enzim antioksidatif seperti katalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR), ascorbate peroxidase (APX) dan superoxide dismutase (SOD) telah banyak diketahui terdapat pada tanaman padi, gandum, kacang-kacangan, dan bahkan pada lumut (Panda & Choudhury 2005). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui respon enzim antioksidatif dari gulma *Sonchus oleraceus* terhadap cekaman Cr pada media tanam yang berbeda.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) faktorial (2x3) meliputi faktor perlakuan Cr (2 senyawa yaitu Cr heksavalen dan trivalen) dan jenis media tanam (3 jenis media). Biji *S. oleraceus* diperoleh dari beberapa lokasi lahan pertanian sayur-sayuran di daerah Getasan, Kabupaten Semarang. Media tanam untuk perlakuan terdiri dari pasir steril, tanah pertanian, dan campuran tanah pertanian dengan limbah sludge tekstil yang diperoleh dari salah satu industri tekstil di Salatiga dengan perbandingan tanah:sludge = 1:1. Senyawa krom untuk perlakuan dalam dua bentuk spesies krom yaitu krom heksavalen berupa senyawa $K_2Cr_2O_7$ dan krom trivalen dalam bentuk senyawa $CrCl_3 \cdot 6H_2O$ dengan konsentrasi 0 mg Cr /L (sebagai kontrol), 10 mg Cr/L untuk Cr^{6+} , serta 250 mg Cr/L untuk Cr^{3+} .

Bibit tanaman *S. oleraceus* diperoleh dari proses perkecambahan biji. Biji yang akan dikecambahkan dipilih yang berukuran sama, direndam selama 24 jam, selanjutnya dikecambahkan pada media tanah mengandung kompos. Bibit *S. oleraceus* yang digunakan untuk penelitian berupa kecambah berumur 3 minggu yang dipindah dalam media tanam perlakuan dan kontrol. Perlakuan Cr diberikan sebanyak 250 ml dengan konsentrasi sesuai perlakuan pada media tanam (pasir steril, tanah pertanian, dan tanah:sludge tekstil (1:1)) sebanyak 750 mg. Perlakuan Cr dilarutkan dalam pupuk cair lengkap dan disiramkan pada media tanam, serta dibiarkan selama 2 hari sebelum ditanami bibit *S. oleraceus*. Setelah 2 hari, tanaman

S. oleraceus umur 3 minggu ditanam pada masing-masing media kontrol dan perlakuan Cr. Penanaman dilakukan sampai tanaman berumur ± 3 bulan. Setiap perlakuan dengan 10 ulangan.

Respon enzim antioksidatif terhadap cekaman Cr pada tanaman sonchus yang ditumbuhkan pada ketiga jenis media tanam ditentukan berdasarkan aktivitasnya. Aktivitas enzim antioksidatif yang diukur meliputi katalase (CAT), askorbat peroxidase (APX), superoksida dismutase (SOD) dan glutathion reduktase (GR). Pengukuran aktivitas enzim dilakukan pada akhir penelitian.

Aktivitas enzim antioksidatif sampel tanaman diukur dengan terlebih dahulu dibuat ekstrak kasar enzim. Preparasi ekstrak kasar enzim dilakukan menurut Sunkar (2010), sebanyak 200 mg sampel akar atau daun dihaluskan dengan mortar dan pestel, serta ditambah nitrogen cair. Sampel dihomogenasikan dalam 1,5 ml larutan buffer fosfat 0,2 M pH 7,8 yang mengandung 0,1 mM EDTA, selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 15000 g selama 20 menit, pada suhu 4°C. Supernatan digunakan sebagai ekstrak kasar enzim untuk mengukur aktivitas enzim antioksidatif (CAT, APX, SOD, dan GR) dan ditentukan pula kandungan protein totalnya.

Aktivitas enzim katalase (CAT) sampel tanaman diukur menurut metode Aebi & Lester (1984) dalam Sunkar (2010) yang dimodifikasi. Aktivitas enzim diukur dengan cara sebanyak 1.99 ml larutan buffer fosfat 50 mM pH 7,0, 10 μ l ekstrak kasar enzim dicampur, dan 1 ml larutan 30 mM H_2O_2 ditambahkan terakhir saat akan diukur nilai absorbansinya (total volume reaksi 3 ml). Aktivitas enzim katalase ditentukan berdasarkan penurunan nilai absorbansi yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu UV-1280, Jepang) pada panjang gelombang 240 nm selama 1 menit. Penurunan nilai absorbansi menunjukkan terjadinya dekomposisi H_2O_2 dalam reaksi dan nilai koefisien ekstingsi H_2O_2 adalah 40/mM/cm. Aktivitas enzim dinyatakan dalam μ mol enzim/mg protein.

Pengukuran aktivitas enzim APX sampel tanaman dilakukan menurut metode Nakano & Asada (1981) dalam Sunkar (2010) yang dimodifikasi. Aktivitas APX ditentukan berdasarkan penurunan nilai absorbansi pada panjang gelombang 290 nm akibat oksidasi askorbat dalam reaksi selama 3 menit. Campuran reaksi mengandung 2,7 ml

larutan buffer fosfat 50 mM pH 7, 150 µl 10 mM asam askorbat, 30 µl ekstrak enzim kasar dibuat, selanjutnya 150 µl 10 mM H₂O₂ yang ditambahkan terakhir untuk mengawali terjadinya reaksi (total volume reaksi 3 ml). Nilai koefisien ekstingsi adalah 2,8/mM/cm. Aktivitas enzim dinyatakan dalam µmol enzim/mg protein.

Enzim SOD sampel tanaman diukur aktivitasnya menurut metode NBT yang dimodifikasi (Sunkar 2010). Sebanyak 1,5 ml campuran reaksi dibuat. Campuran reaksi berupa larutan 50 mM buffer fosfat pH 7,8 yang di dalamnya mengandung 2 mM EDTA, 9,9 mM L-metionin, 55 µM NBT, dan 0,025% Triton-X100. Sebanyak 20 µl ekstrak kasar enzim dan 20 µl 1 mM riboflavin ditambahkan ke dalam campuran reaksi, selanjutnya disinari lampu fluoresen 15 W dengan jarak ± 20 cm selama 10 menit. Campuran reaksi ditambah ekstrak enzim dan riboflavin dan disimpan dalam kondisi gelap digunakan sebagai blangko sampel. Peningkatan nilai absorbansi akibat pembentukan formazan diukur pada panjang gelombang 560 nm. Aktivitas enzim SOD dinyatakan dalam unit/g protein. Aktivitas 1 unit enzim dinyatakan sebagai banyaknya enzim yang diperlukan untuk menghasilkan penghambatan fotoreduksi NBT sebanyak 50%.

Aktivitas enzim GR sampel tanaman diukur menurut metode Sunkar (2010) yang dimodifikasi. Aktivitas enzim GR ditentukan berdasarkan peningkatan nilai absorbansi akibat reaksi reduksi DTNB menjadi TNB oleh GSH dalam campuran reaksi, diukur pada panjang gelombang 412 nm selama 3 menit. Sebanyak 1,5 ml campuran reaksi dibuat. Campuran reaksi terdiri dari 810 µl larutan 50 mM buffer fosfat pH 7,8 mengandung 2 mM EDTA, 375 µl larutan 0,75 mM DNTB, 150 µl larutan 0,1 mM NADPH, 15 µl ekstrak kasar enzim, dan 150 µl larutan 1,0 mM GSSG (*L-glutathion oxidized*) yang ditambahkan terakhir saat pengukuran nilai absorbansi. Nilai koefisien ekstingsi TNB untuk penentuan aktivitas enzim GR adalah 14,15/M/cm. Aktivitas enzim dinyatakan dalam µmol enzim/mg protein.

Kandungan protein sampel tanaman diukur menurut metode Bradford yang digunakan Zou *et al.* (2009). Preparasi sampel dilakukan dengan cara sebanyak 0,150 g akar atau daun

dihaluskan dalam nitrogen cair dan dihomogenasikan dalam 2 ml larutan buffer fosfat dingin (50 mM, pH 7,8) dengan mortar dan pestel. Homogenat disentrifus dengan kecepatan 10000 g selama 20 menit suhu 4°C, selanjutnya supernatan digunakan untuk pengukuran protein total. Sebanyak 30 µl supernatan ditambah 1,5 reagen Bradford yang mengandung 0,01% Commassie Blue G250, 4,7% etanol, dan 8,5% asam fosfat. Campuran reaksi diinkubasi selama 10 menit, selanjutnya nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 595 nm. Penentuan kandungan protein total berdasarkan kurva standar BSA.

Selain aktivitas enzim, akumulasi Cr total dan Cr⁶⁺ di dalam jaringan juga ditentukan. Penentuan kandungan Cr⁶⁺ pada sampel tanaman secara spektrofotometrik menggunakan metode difenilkarbasid. Pengukuran Cr total sampel tanaman dilakukan menggunakan AAS (FAAS) pada panjang gelombang 357,87 nm. Sampel tanaman yang telah dioven pada suhu 80°C selama 2 hari dan ditimbang berat keringnya selanjutnya dihaluskan menggunakan blender. Sebanyak 0,1 g masing-masing sampel organ didestruksi kering melalui pengabuan menggunakan *furnace* pada suhu 500°C selama 5 jam menurut metode Gheju *et al.* (2009). Hasil pengabuan dilarutkan dalam 5 ml aqua regia (campuran 2 M HCl dan 1 M HNO₃), disaring menggunakan kertas saring, hasil penyaringan selanjutnya digunakan untuk pengukuran kandungan Cr⁶⁺ dan Cr total. Kandungan Cr⁶⁺ dan Cr total ditentukan berdasarkan kurva standar dan dinyatakan dalam satuan mg Cr/g BK.

Semua data hasil pengukuran aktivitas enzim, kandungan protein dan akumulasi Cr⁶⁺ serta Cr total dalam tanaman dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) dan diuji lanjutkan dengan uji Tukey pada taraf uji 5% menggunakan program SAS9.1 32-bit for windows.

HASIL

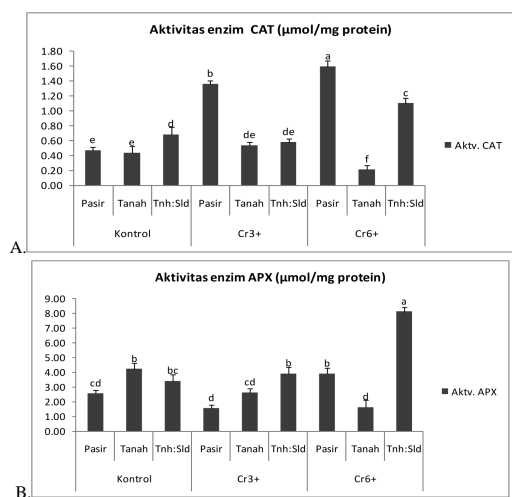
Aktivitas enzim antioksidatif daun *Sonchus*

Berdasarkan hasil penentuan aktivitas 4 enzim antioksidatif (CAT, APX, SOD dan GR) pada daun *S. oleraceus* (Gambar 1 dan 2) ditunjukkan bahwa perbedaan jenis media dan

perlakuan Cr (Cr^{6+} 10 mg/l dan Cr^{3+} 250 mg/l) berpengaruh nyata terhadap aktivitas keempat enzim antioksidatif (Gambar 1 dan 2). Ada perbedaan yang nyata antara aktivitas enzim antioksidatif daun *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada media pasir, tanah dan tanah mengandung *sludge* (Gambar 1).

Tanaman *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada media tanah mengandung *sludge* mempunyai rata-rata aktivitas enzim APX, SOD dan GR lebih tinggi berturut-turut (5.14 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein, 8.34 unit/mg protein, dan 4.99 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein) dibandingkan pada pasir (2.65 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein, 7.56 unit/mg protein, dan 4.39 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein) dan pada tanah (2.81 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein, 4.24 unit/mg protein, dan 2.55 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein). Pemberian perlakuan Cr^{6+} sebesar 10 mg/l memberikan dampak paling nyata terhadap peningkatan aktivitas keempat enzim antioksidatif (CAT, APX, SOD dan GR). Aktivitas enzim antioksidatif daun paling rendah terjadi pada perlakuan tanpa penambahan Cr, sedangkan pada penambahan Cr^{3+} sebesar 250 mg/l di dalam media juga meningkatkan secara nyata aktivitas enzim antioksidatif CAT, SOD dan GR, namun menurunkan aktivitas enzim APX (Gambar 2).

Ada pengaruh nyata interaksi antara jenis

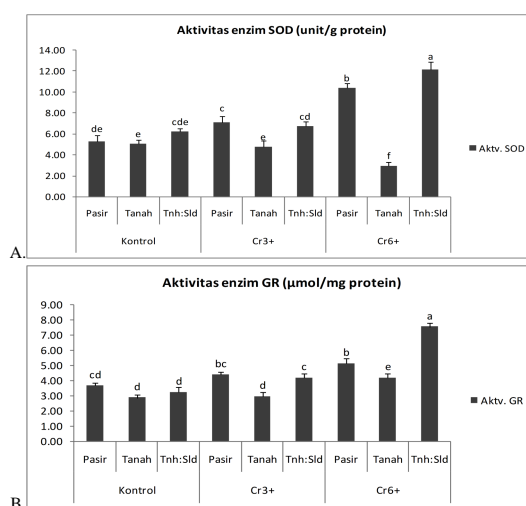


Gambar 1. Aktivitas enzim antioksidatif CAT (A) dan APX (B) dalam daun *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada 3 jenis media tanam berbeda dengan cekaman Cr^{3+} dan Cr^{6+} . Bar pada diagram batang menunjukkan angka rata-rata dan standar *error* dari 5 ulangan. Huruf yang sama yang mengikuti setiap bar menunjukkan perlakuan yang tidak berbeda secara nyata dengan tingkat kepercayaan 5%.

media tanam dan perlakuan Cr (Cr^{6+} 10 mg/l dan Cr^{3+} 250 mg/l) terhadap aktivitas enzim antioksidatif daun *S. oleraceus*. Pengaruh interaksi antar perlakuan terhadap aktivitas enzim antioksidatif daun terlihat nyata pada penambahan Cr^{6+} sebesar 10 mg/l baik pada media pasir, tanah maupun tanah mengandung *sludge* tekstil.

Kandungan protein terlarut daun *S. Oleraceus* juga dipengaruhi secara nyata akibat perlakuan jenis media dan perlakuan Cr (Cr^{6+} 10 mg/l dan Cr^{3+} 250 mg/l) (Gambar 3). Hasil pengukuran kandungan protein terlarut daun menunjukkan bahwa jenis media tanam dan perlakuan Cr (Cr^{6+} 10 mg/l dan Cr^{3+} 250 mg/l) meningkatkan secara signifikan kandungan protein total daun tanaman *S. oleraceus*. (Gambar 3)

Kandungan protein terlarut daun *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada media yang ditambahkan Cr^{6+} sebesar 10 mg/l menunjukkan kandungan protein terlarut daun paling tinggi (4,85 mg/g BB) dan berbeda nyata dibandingkan penambahan Cr^{3+} sebesar 250 mg/l (3,83 mg/g BB) dan kontrol (3,31 mg/g BB). Berdasarkan perlakuan jenis media tanam kandungan protein



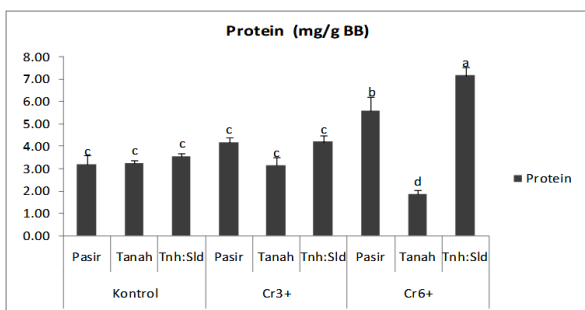
Gambar 2. Aktivitas enzim antioksidatif SOD (A) dan GR (B) dalam daun *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada 3 jenis media tanam berbeda dengan cekaman Cr^{3+} dan Cr^{6+} . Bar pada diagram batang menunjukkan angka rata-rata dan standar *error* dari 5 ulangan. Huruf yang sama yang mengikuti setiap bar menunjukkan perlakuan yang tidak berbeda secara nyata dengan tingkat kepercayaan 5%.

terlarut daun *S. oleraceus* yang ditanam pada tanah mengandung *sludge* menunjukkan hasil paling tinggi (4,95 mg/g BB) dan berbeda nyata dibandingkan dengan media pasir (4,31 mg/g BB) dan media tanah (2,73 mg/g BB). Jenis media tanam dan perlakuan Cr (Cr^{6+} 10 mg/l dan Cr^{3+} 250 mg/l) berpengaruh nyata terhadap kandungan protein terlarut daun *S. oleraceus*. Pengaruh interaksi antar perlakuan terhadap protein total daun terlihat nyata pada penambahan Cr^{6+} sebesar 10 mg/l baik pada media pasir, tanah maupun tanah mengandung *sludge* tekstil.

Kandungan Cr^{6+} dan Cr total pada tanaman

Gambar 4 menunjukkan respon akumulasi Cr^{6+} pada akar dan pucuk yang berbeda nyata pada tanaman *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada 3 jenis media berbeda dan diberi cekaman Cr^{3+} dan Cr^{6+} . Akumulasi Cr^{6+} lebih banyak terdeteksi di bagian pucuk dibanding di dalam akar, terutama pada *S. oleraceus* yang ditumbuhkan dalam media tanah dan campuran tanah:*sludge* tekstil. *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada media pasir menunjukkan akumulasi Cr^{6+} lebih kecil dibandingkan yang ditumbuhkan pada media tanah dan campuran tanah:*sludge* tekstil terutama yang diberi perlakuan Cr^{6+} .

Berbeda dengan pola akumulasi Cr^{6+} , akumulasi Cr total dalam akar *S. oleraceus* paling tinggi ditunjukkan pada tanaman yang



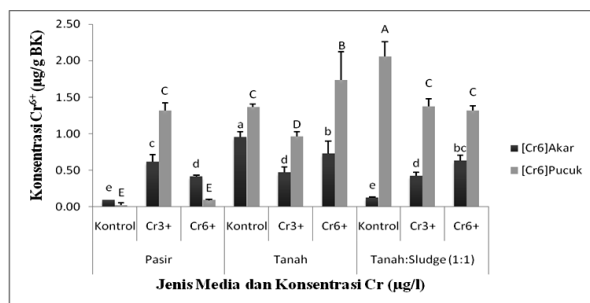
Gambar 3. Kandungan protein terlarut daun *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada 3 jenis media tanam berbeda dengan cekaman Cr^{3+} dan Cr^{6+} . Bar pada diagram batang menunjukkan angka rata-rata dan standar *error* dari 5 ulangan. Huruf yang sama yang mengikuti setiap bar menunjukkan perlakuan yang tidak berbeda secara nyata dengan tingkat kepercayaan 5%.

ditumbuhkan pada media pasir yang diberi perlakuan Cr^{3+} dan Cr^{6+} (Gambar 5). Hasil ini juga mendukung rendahnya akumulasi Cr^{6+} di bagian pucuk dari *S. oleraceus* yang ditanam pada media pasir.

PEMBAHASAN

Sistem pertahanan antioksidatif pada tumbuhan, selain dengan dengan senyawa antioksidan juga dilakukan oleh beberapa enzim antioksidatif yang bertugas memerangi radikal-radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS) yang muncul akibat proses metabolisme dan adanya cekaman abiotik maupun biotik pada tanaman. Pada penelitian ini ada 4 enzim antioksidatif yang ditentukan aktivitasnya yaitu meliputi katalase (CAT), askorbat peroksidase (APX), superoksida dismutase (SOD) dan glutathion reduktase (GR).

Aktivitas empat enzim antioksidatif daun *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada 3 jenis media tanam dan 2 perlakuan Cr (Cr^{6+} 10 mg/l dan Cr^{3+} 250 mg/l) (Gambar 1 dan 2) menunjukkan respon perubahan aktivitas enzim antioksidatif (CAT, APX, SOD dan GR). Keempat enzim antioksidatif dari *S. oleraceus* mengalami peningkatan aktivitas sejalan dengan pemberian cekaman logam Cr^{6+} maupun Cr^{3+} . Hasil ini menunjukkan bahwa logam berat Cr dapat menyebabkan kerusakan molekular pada sel tumbuhan, baik secara langsung maupun



Gambar 4. Konsentrasi Cr^{6+} dalam akar dan daun *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada 3 jenis media dengan cekaman Cr^{3+} dan Cr^{6+} . Bar pada diagram batang menunjukkan angka rata-rata dan standar *error* dari 5 ulangan. Huruf yang sama yang mengikuti setiap bar menunjukkan perlakuan yang tidak berbeda secara nyata dengan tingkat kepercayaan 5%.

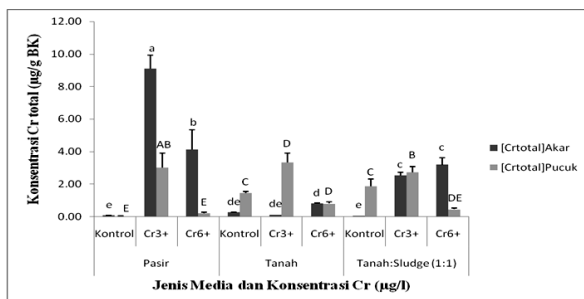
tidak langsung melalui pembentukan spesies oksigen reaktif seperti H_2O_2 , ion superoksida, dan oksigen singlet. Menurut Diwan *et al.* (2010), sistem pertahanan pertama untuk melawan ROS dilakukan oleh enzim SOD yang mengkatalisis reaksi dismutasi radikal superoksida menjadi H_2O_2 dan O_2^- . APX dan GR adalah dua enzim utama dalam siklus askorbat-glutathion yang berperan dalam pengubahan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2^- . Enzim katalase (CAT) berperan dalam menurunkan kelebihan ROS yang terjadi pada kondisi ada cekaman. Keseimbangan antara aktivitas SOD dengan APX atau CAT di dalam sel sangat penting untuk menjaga agar radikal superoksida dan H_2O_2 selalu dalam kondisi *steady state* (Seth, 2011). Menurut Diwan *et al.* (2008) aksi enzim SOD, APX dan CAT sangat penting dalam mengatasi cekaman oksidatif, karena SOD berperan dalam pengubahan ion superoksida menjadi H_2O_2 yang selanjutnya diubah oleh APX atau CAT. Enzim GR berperan dalam detoksifikasi ROS melalui siklus askorbat-GSH. Samantaray (2002) dan Diwan *et al.* (2010) melaporkan terjadinya peningkatan aktivitas enzim oksidatif pada tanaman *Vigna radiata* yang sensitif terhadap Cr.

Perubahan respon aktivitas enzim antioksidatif pada kondisi cekaman logam dapat digunakan sebagai biomarker efek karena dapat menunjukkan perubahan yang terjadi di dalam sistem biologis dan mencerminkan terjadinya

penurunan kualitas dan kuantitas akibat adanya paparan logam. Menurut Fontanetti *et al.* (2011) beberapa hasil penelitian menjelaskan bahwa perubahan aktivitas enzim SOD, CAT, GR dan GPX pada berbagai organisme yang terpapar kondisi cekaman, terutama logam, menguatkan perannya sebagai biomarker biokimia yang efektif untuk mengevaluasi dampak lingkungan.

Kandungan protein total pada daun ditentukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan Cr terhadap kandungan protein total dan untuk penentuan aktivitas enzim antioksidatif (Gambar 3). Perubahan aktivitas enzim-enzim antioksidatif pada *S. oleraceus* sangat berkaitan dengan perubahan kandungan protein. Cekaman oksidatif akibat logam berat mempengaruhi sintesis protein baik secara langsung maupun tidak langsung (Wang *et al.* 2013). Menurut Rastgoo *et al.* (2014) peranan protein dalam mengatasi cekaman Cr, dapat terjadi karena adanya pembentukan protein spesifik yang dapat digunakan untuk mengikat logam, atau dalam bentuk protein enzim di antaranya enzim antioksidatif.

Akumulasi Cr^{6+} dan Cr total di dalam jaringan *S. oleraceus* diukur untuk mengetahui seberapa besar kemampuannya menyerap, mentoleransi dan mentranslokasi Cr yang diserap ke bagian tanaman. Akumulasi Cr^{6+} di dalam jaringan/organ tanaman dapat juga menjadi indikator kemampuan suatu tanaman untuk mendetoksifikasi logam Cr, karena apabila tanaman terdeteksi mengakumulasi Cr^{6+} dalam tubuhnya dan tidak mengalami gangguan pertumbuhan, hal ini menunjukkan bahwa tanaman memiliki kemampuan untuk mendetoksifikasi atau mentoleransi logam Cr^{6+} tersebut. Rendahnya akumulasi Cr^{6+} pada pucuk *S. oleraceus* yang ditanam pada media pasir mengandung Cr^{6+} disebabkan oleh ketidakmampuan akar untuk mentoleransi toksisitas Cr^{6+} , hal ini ditunjukkan dengan paling rendahnya biomassa basah dan kering dari akar dan lebih lanjut berdampak pada biomassa pucuk. Selain itu, dengan aktifnya sistem antioksidan pada tanaman *S. oleraceus* yang ditanam pada media pasir untuk merespon cekaman toksisitas Cr^{6+} juga dapat menghambat terjadinya translokasi Cr^{6+} ke bagian pucuk. Hal ini ditunjukkan pada hasil pengukuran aktifitas enzim antioksidatif pada daun *S.*



Gambar 5. Konsentrasi Cr total dalam akar dan daun *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada 3 jenis media dengan cekaman Cr^{3+} dan Cr^{6+} . Bar pada diagram batang menunjukkan angka rata-rata dan standar *error* dari 5 ulangan. Huruf yang sama yang mengikuti setiap bar menunjukkan perlakuan yang tidak berbeda secara nyata dengan tingkat kepercayaan 5%.

oleraceus yang ditumbuhkan pada media pasir, cenderung lebih tinggi dibanding pada media tanah dan campuran tanah:sludge tekstil (1:1).

Terdeteksinya Cr^{6+} dalam akar dan pucuk *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada media pasir, menunjukkan bahwa meskipun Cr^{3+} dianggap kurang toksik dibanding Cr^{6+} , namun di dalam media dapat mengalami transformasi menjadi Cr^{6+} yang bersifat toksik. Reaksi oksidasi Cr di dalam tanah dan perairan alami tergantung pada adanya senyawa oksidan. Senyawa oksidan utama yang terdapat di dalam tanah yang dapat mengoksidasi Cr^{3+} menjadi Cr^{6+} adalah Mn oksida. Oksidasi Cr^{3+} menjadi Cr^{6+} mempunyai dampak yang tidak menguntungkan bagi lingkungan. Proses oksidasi mengubah krom dari bentuk tidak larut, tidak toksik dan tidak berbahaya (Cr^{3+}) menjadi bentuk krom yang terlarut, toksik dan berbahaya (Cr^{6+}). James & Bartlett (1983) melaporkan bahwa peningkatan penyerapan krom oleh tanaman kacang kapri yang diberi perlakuan Cr^{6+} , disebabkan adanya peningkatan kelarutan $\text{Cr}(\text{OH})_3$ oleh sitrat dalam tanah yang meningkatkan laju oksidasi Cr^{3+} menjadi Cr^{6+} oleh oksida mangan dalam tanah.

KESIMPULAN

Sonchus oleraceus yang ditumbuhkan pada 3 jenis media berbeda dan diberi cekaman Cr^{3+} dan Cr^{6+} menunjukkan respon akumulasi Cr^{6+} dan Cr total pada akar dan pucuk berbeda nyata. Akumulasi Cr^{6+} lebih banyak terdeteksi di bagian pucuk dibanding di dalam akar, terutama pada tanaman yang ditumbuhkan dalam media tanah dan campuran tanah:sludge (1 : 1). Sebaliknya akumulasi Cr total tertinggi dijumpai dalam akar, terutama pada tanaman yang ditumbuhkan pada media pasir dengan perlakuan Cr^{3+} dan Cr^{6+} .

Aktivitas enzim antioksidatif CAT, APX, SOD dan GR daun *S. oleraceus* mengalami peningkatan pada kondisi cekaman Cr. Cr^{6+} sebesar 10 mg/l memberikan dampak paling nyata terhadap peningkatan aktivitas enzim CAT, APX, SOD dan GR dalam daun *Sonchus*. *S. oleraceus* yang ditumbuhkan pada media tanah mengandung sludge menunjukkan aktivitas enzim APX, SOD dan GR lebih tinggi dibandingkan yang ditumbuhkan pada media tanah dan campuran tanah:sludge (1:1).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian dan publikasi hasil penelitian ini terlaksana atas bantuan pendanaan DIKTI melalui program Hibah Bersaing Tahun 2014 dan 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, L., WHL. Siu, EWK. Ching, CT. Kwok, F. Melville, C. Plummer, A. Storey, & PKS. Lam., 2006. Antioxidant enzymes as biomarkers of environmental stress in oysters in Port Curtis, Cooperative Research Centre for Coastal Zone, Estuary and Waterway Management Coastal CRC). www.coastal.crc.org.au
- Aguilar, FJA., K. Wrobel, K. Lokits, JA. Caruso, AC. Alonso, JFG. Corona, & K. Wrobel. 2008. Analytical speciation of chromium in in-vitro culture of chromate-resistant filamentous fungi. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 392: 269-276.
- Bielicka, A., I. Bojanowska, & A. Wisniewsk. 2005. Review: Two faces of chromium – pollutant and bioelement. *Polish Journal of Environmental Studies*. 14 (1): 5-10.
- Choppala, G., N. Bolan, M. Mallavarapu, & Z. Chen. 2010. Sorption and mobility of chromium species in a range of soil types. World Congress of Soil Science, Soil Solutions or a Changing World, Brisbane Australia.
- Diwan, H., I. Khan, A. Ahmad, & M. Iqbal. 2010. Induction of phytochelatins and antioxidant defence system in *Brassica juncea* and *Vigna radiata* in response to chromium treatment. *Plant Growth Regulation*. 61: 97-107.
- Fontanetti, CS. LR. Nogarol, RB. de Souza, DG. Perez,& GT. Maziviero. 2011. Bioindicators and Biomarkers In Pascucci, S. (Ed.), The Assessment of Soil Toxicity, Soil Contamination, ISBN: 978-953-307-647-8, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/soil-contamination/bioindicators-and-biomarkers-in-the-assessment-of-soiltoxicity>.
- Gheju, M., I. Balcu, & M. Ciopec. 2009. Analysis of hexavalent chromium uptake

- by plants in polluted soils. *Ovidius University Annals of Chemistry* 20 (1): 127-131.
- Gill, SS., & N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemical*. 48: 909-930.
- James, BR. & RJ. Bartlett. 1983. Behavior of chromium in soils: V. fate of organically complexed Cr(II) added to soil. *Journal of Environmental Quality*. 12:169-172.
- Kim, JG., JB. Dixon, CC. Chusuei, & Y. Deng. 2002. Oxidation of chromium (III) to (VI) by manganese oxides. *Soil Science Society of America Journal* 66:306-315.
- Memon, AR., Ozdemir, A. & Aktoprakligil, D. 2001. Heavy metal accumulation in plants. *Biotechnol. Biotec. Eq.* 15: 44-48.
- Njoku & Nweze, 2009. Physiochemical Influence of soil minerals on the organic reduction of soil chromium. *Lebanese Science Journal*, 10(1): 87-98.
- Olakolu F. C., Hassan A. A., & KO. Renner, 2012. Lipid peroxidation and antioxidant biomarker activities as indicator of pollution in blue crab *Callinectes amnicola* from Lagos lagoon, *British Journal of Science*. 5 (2): 47-56.
- Panda, SK., & S. Choudhury 2005, Changes in nitrate reductase activity and oxidative stress response in the moss *Polytrichum commune* subjected to chromium, copper and zinc phytotoxicity, *Brazilia Journal of Plant Physiology* 17(2): 191-197.
- Rastgoo, L., A. Alemzadeh, AM. Tale, SE. Tazangi, & T. Eslamzadeh. 2014. Effects of copper, nickel, and zinc on biochemical parameters and metal accumulation in gouan, *Aleuropus littoralis*. *Plant Knowledge Journal*. 3: 31-38
- Regoli, F., M. Nigro, & E. Orlando. 1998, Lysosomal and antioxidant responses to metals in the Antarctic scallop *Adamussium colbecki*. *Aquatic Toxicology*. 40: 375-392.
- Samantaray, S. 2002. Biochemical responses of Cr-tolerant and Cr-sensitive mung bean cultivars grown on varying levels of chromium. *Chemosphere*, 47(10):1065-1072.
- Seth, CS. 2011. A Review on Mechanisms of Plant Tolerance and Role of Transgenic Plants in Environmental Clean-up. *Bot. Rev.* DOI 10.1007/s12229-011-9092-x
- Sunkar, R. 2010. *Plant Stress Tolerance, Methods and Protocols*. Human Press. Springer. New York.
- Vlahogianni, T., M. Dassenakis, MJ. Scoullou, & A. Valavanidis. 2007. Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Marine Pollution Bulletin*. 54:1361-1371.
- Wang, R., F. Gao, BQ. Guo, JC. Huang, L. Wang, & J. Zhou,. 2013. Short-term chromium-stress- induced alterations in the maize leaf proteome. *International Journal of Molecular Sciences* 14: 11125-11144.
- Zayed, AM. & N. Terry. 2003. Chromium in the environment: factor affecting biological remediation. *Plant and Soil* 249: 139-156.
- Zou, J., Yu, K., Zhang, Z., Jiang, W., and Liu, D. 2009. Antioxidant response system and chlorophyll fluorescence in chromium (VI) -treated *Zea mays* L. seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 51: 23-33.

