

MEKANISME FISILOGIS TUMBUHAN HIPERAKUMULATOR LOGAM BERAT

Heavy Metal Hyperaccumulator Plant Physiology Mechanism

Nuril Hidayati

Pusat Penelitian Biologi LIPI
Cibinong Science Center Jl. Raya Jakarta-Bogor Km 46, Cibinong, Bogor
E-mail: ciancht@yahoo.co.id

Diterima: 02 Februari 2013; Dikoreksi: 04 April 2013; Disetujui: 10 April 2013

Abstract

One approach to remediate toxic metal pollutants is phytoextraction using hyperaccumulator plants. These plant species are able to accumulate high concentrations of metal ions without suffering from yield reduction as a result of metal toxicity. Physiological studies showed that metal hyperaccumulation in particular plant species is regulated by multiple pathways and genes controlling metal uptake, accumulation, and tolerance. Currently, research and development on hyperaccumulator plants are progressing in at least seven focus areas: (1) Improving plant root system for higher penetration capacity and more efficient pollutant extraction from heterogeneous contaminated soils, (2) Altering plant's rhizosphere for secreting various enzymes to enhance extraction, (3) Improving short distance transport systems for nutrients and toxic elements in roots (4) Enhancing mobility of metals from roots up to shoots. (5) Improving long-distance transport of metals, (6) Maximizing capacity of physical sinks such as subcellular vacuoles and epidermal cells and (7) hypertolerance mechanisms to resist the cytotoxic effects of the accumulated metals. Current trends in phytoremediation research are focus at genetic and molecular level. Research objectives in this area include: understanding bio-pathways involved in contaminant degradation and sequestration, identifying specific genes involved in phytoremediation processes, investigating cell signaling pathways that affect genetic expression of plant enzymes, analyzing and identifying root exudates components and chemical fingerprinting to assess phytoremediation effects at specific sites.

Keywords: hyperaccumulator, phytoextraction, phytoremediation, heavy metals

Abstrak

Salah satu pendekatan untuk memulihkan polutan logam beracun adalah phytoextraction menggunakan tanaman hiperakumulator. Jenis tanaman ini mampu mengakumulasi konsentrasi tinggi ion logam tanpa mengalami penurunan hasil akibat keracunan logam. Studi fisiologis menunjukkan bahwa hiperakumulator logam dalam spesies tanaman tertentu diatur oleh beberapa jalur dan gen mengendalikan serapan, akumulasi, dan toleransi logam. Saat ini, penelitian dan pengembangan tanaman hiperakumulator mengalami kemajuan dalam setidaknya tujuh bidang fokus: (1) Meningkatkan sistem perakaran tanaman untuk kapasitas penetrasi yang lebih tinggi dan ekstraksi polutan lebih efisien dari tanah yang terkontaminasi, (2) Mengubah rizosfir tanaman untuk mengekstrak berbagai enzim guna meningkatkan ekstraksi, (3) Meningkatkan sistem transportasi jarak pendek untuk nutrisi dan unsur-unsur beracun dalam akar, (4) Meningkatkan mobilitas logam dari akar hingga pucuk, (5) Meningkatkan transportasi jarak jauh dari logam, (6) Memaksimalkan kapasitas tenggelam fisik seperti vakuola subselular, sel-sel epidermis, dan (7) Mekanisme hypertolerance untuk melawan efek sitotoksik dari logam akumulasi. Saat ini kecenderungan dalam penelitian fitoremediasi adalah fokus pada tingkat genetik dan molekuler. Tujuan penelitian di bidang ini meliputi: pemahaman bio - jalur yang terlibat dalam degradasi kontaminan dan penyerapan, mengidentifikasi gen tertentu yang terlibat dalam proses fitoremediasi, menyelidiki jalur sinyal sel yang mempengaruhi ekspresi genetik dari enzim tanaman, menganalisis dan mengidentifikasi eksudat akar komponen dan sidik jari kimia untuk menilai fitoremediasi efek pada situs tertentu

Kata Kunci: hiperakumulator, phytoextraction, fitoremediasi, logam berat

1. PENDAHULUAN

Salah satu pendekatan untuk meremediasi lingkungan tercemar logam adalah dengan fitoekstraksi menggunakan tanaman hiperakumulator. Dengan berkembangnya teknologi fitoremediasi maka tumbuhan hiperakumulator logam menjadi sangat penting. Tanaman hiperakumulator mampu mengakumulasi logam dengan konsentrasi lebih dari 100 kali melebihi tanaman normal, dimana tanaman normal mengalami keracunan logam dan penurunan produksi. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan serangkaian proses fisiologis dan biokimiawi serta ekspresi gen-gen yang mengendalikan penyerapan, akumulasi dan toleransi tanaman terhadap logam.

Banyak tanaman hiperakumulator yang telah diteliti bahkan sebagian sudah digunakan secara luas dan komersial dalam teknik fitoremediasi. Diantaranya adalah *Alyssum corsicum* yang mampu mengakumulasi nikel (Ni) hingga 400 kg h⁻¹ thn⁻¹. Dengan harga Ni \$15 per kg maka tanaman ini dapat digunakan dalam *phytomining* untuk menambang Ni. *Thlaspi caerulescense* walaupun pertumbuhannya lambat tetapi mampu mengakumulasi kadmium (Cd) hingga 10 kg h⁻¹ thn⁻¹ atau sekitar 100 mg kg⁻¹ berat kering tajuknya. Selain sebagai hiperakumulator Cd, *Thlaspi caerulescense* juga dikenal sebagai hiperakumulator seng (Zn) yang mampu mengakumulasi lebih dari 30 000 mg kg⁻¹ berat kering tajuk tanpa mengalami gejala keracunan [6]. *Salix viminalis* mampu mengakumulasi Cd 170 g/h dan Zn 13.4 kg.h⁻¹ pada tanah kars dalam waktu 5 tahun [14].

Hasil penelitian yang dilakukan oleh kelompok peneliti fitoremediasi Pusat Penelitian Biologi LIPI mengungkapkan bahwa banyak jenis tumbuhan yang toleran dan mampu tumbuh pada limbah pengolahan emas yang tercemar logam berat. Diantara tumbuhan asli ini banyak yang menunjukkan potensinya sebagai tanaman hiperakumulator yang mampu mengakumulasi logam pada tajuknya dengan konsentrasi yang tinggi. *Ipomoea* sp yang mengakumulasi sianida (CN) hingga 35,70 ppm dan *Mikania cordata* menyerap timbal (Pb) hingga 11,65 ppm Pb [22]. Tumbuhan air, azolla menyerap 94 ppm Pb, genjer dan eceng gondok masing-masing menyerap 167 dan 196 ppm [23]. Jenis tumbuhan lain yakni *Mimosa pigra*, *Crotalaria juncea*, *Crotalaria* sp. dan *Ipomoea* sp. juga terbukti memiliki potensi sebagai tanaman toleran terhadap logam polutan [16, 17].

Diantara tanaman yang toleran terhadap Pb juga terdapat *Saccharum spontaneum* dan rumput vetiver yang mampu tumbuh dan memproduksi biomasa tinggi pada lahan terkontaminasi Pb hingga 300 ppm [11, 18]. *Crotalaria anagyroides* pada lumpur tailing mengakumulasi hingga 40.81 ppm Pb pada tajuknya, sedangkan pada akarnya 31.86 ppm [35]. Disamping tanaman toleran CN dan Pb, telah ditemukan pula beberapa

jenis tumbuhan yang toleran terhadap merkuri (Hg), diantaranya *Lindernia crustacea* (L.) F.M.) yang menyerap Hg hingga 89.13 mg kg⁻¹ berat keringnya, *Digitaria radicata* (Presl) Miq. Yang mengandung Hg 50.93 mg kg⁻¹, *Zingiber* sp dan *Colocasia* sp yang masing-masing mengandung Hg sekitar 16 dan 23 mg kg⁻¹ [19].

Masih sedikit informasi yang terungkap mengenai mekanisme fundamental dari tanaman hiperakumulator logam ini. Untuk mempelajari mekanisme penyerapan, translokasi dan akumulasi logam ini banyak dilakukan pendekatan fisiologis, biokimia dan genetika molekular, termasuk untuk mengetahui penyerapan logam oleh akar, translokasi dalam silang dan penyerapan oleh sel-sel daun untuk mengetahui secara pasti dimana logam diakumulasi dan faktor apa saja yang berperan di dalamnya [6, 20, 28, 33].

Dalam review ini dipaparkan hasil-hasil perkembangan riset mengenai mekanisme fisiologis dari tumbuhan hiperakumulator dan perkembangan riset-riset yang lainnya termasuk riset genetika molekular yang mengarah pada karakterisasi dan identifikasi gen-gen yang berperan dalam proses hiperakumulasi hingga aplikasinya dalam mendapatkan tanaman hiperakumulator yang ideal dengan cara transgenik.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Karakteristik dan Mekanisme Fisiologis Hiperakumulator Logam

Karakteristik tumbuhan hiperakumulator adalah: (i) Tahan terhadap logam dalam konsentrasi tinggi pada jaringan akar dan tajuknya; (ii) Tingkat laju penyerapan logam dari tanah yang lebih tinggi dibanding tanaman lain; (iii) Memiliki kemampuan mentranslokasi dan mengakumulasi logam dari akar ke tajuk dengan laju yang tinggi [33]. Batasan hiperakumulator masih belum sepenuhnya baku untuk semua jenis logam.

2.2 Akumulasi logam

Salah satu batasan adalah apabila akumulasi logam lebih dari 1% dari total berat kering tajuk atau 100 kali lebih besar dari tanaman normal, tergantung pada jenis logam. Hiperakumulator Ni adalah tumbuhan yang mengandung Ni dalam konsentrasi sedikitnya 1000 mg g⁻¹ pada biomasa tajuknya. Definisi ini juga berlaku untuk beberapa unsur logam lainnya [31]. Sebagian besar tanaman mengalami penurunan produksi biomasa yang signifikan bila pada tajuknya terdapat Ni mencapai 50-100 mg kg⁻¹ berat kering sementara tumbuhan hiperakumulator Ni dapat mentolelir hingga 10-20 kali dari tingkat maksimum yang dapat ditolelir tumbuhan normal dan tetap dapat memproduksi biomasa secara normal. Tanaman hiperakumulator Zn dan Mn adalah tanaman yang mampu mengakumulasi >1% [5], hiperakumulator Cd adalah tanaman yang dapat mentolelir sedikitnya 100 mg Cd kg⁻¹ bobot kering biomasa [1]. Pada dasarnya tumbuhan hiperakumulator

mengakumulasi logam dengan ratio konsentrasi pada tajuk, akar lebih dari satu [33].

3. PEMBAHASAN

3.1 Proses Fisiologis dan Biokimia

Riset-riset fisiologi, biokimia dan genetika molekuler mengungkap bahwa adanya perbedaan yang besar dalam kemampuan mengakumulasi dan mentolerir logam pada tanaman hiperakumulator dengan tanaman normal adalah karena adanya perbedaan dari serangkaian proses fisiologis biokimia dan serangkaian ekspresi gen-gen yang berperan dalam proses penyerapan, akumulasi dan toleransi tanaman terhadap logam [34].

Terdapat serangkaian proses fisiologis yang berperan dalam akumulasi logam sepanjang siklus hidup tumbuhan. Proses pertama adalah interaksi rizosferik pada zona perakaran, dimana terjadi proses pengolahan unsur-unsur di dalam tanah dari bentuk yang tidak dapat diserap menjadi bentuk yang dapat diserap dengan melibatkan sejumlah eksudat yang diproduksi akar. Tumbuhan hiperakumulator memiliki kemampuan lebih tinggi dalam merubah logam pada zona perakaran menjadi bentuk yang tersedia seperti *Thlaspi caerulescens* terhadap Zn. Hiperakumulator memiliki kemampuan mempercepat terlarutnya logam pada rizosfer. Hal ini teramati pada hiperakumulator Zn. Hiperakumulator juga diperkirakan melepaskan kelat untuk logam yang spesifik ke rizosfer oleh akar. Hal ini teramati pada penyerapan Fe [33]. Akar tumbuhan hiperakumulator memiliki daya selektifitas yang tinggi terhadap unsur logam tertentu [12]. Penyerapan logam oleh akar yang antara lain ditentukan oleh permeabilitas, transpirasi dan tekanan akar serta kehadiran dari sistem pemacu penyerap logam (*enhanced metal uptake system*), yang diperkirakan hanya dimiliki oleh tumbuhan hiperakumulator.

Seperti yang dilaporkan bahwa hiperakumulator Zn *T. Caerulescens* memiliki Zn transporter lebih tinggi dari tumbuhan normal [26]. Proses selanjutnya yang menentukan tumbuhan menjadi hiperakumulator adalah translokasi logam dari akar ke tajuk yang terbukti memiliki laju jauh melebihi tumbuhan normal. Translokasi ini dikendalikan oleh dua proses utama yakni pergerakan ion ke silem dan volume fluks dalam silem yang dimediasi oleh tekanan akar dan transpirasi [12]. Hal ini juga mengindikasikan adanya sistem translokasi logam dari akar ke tajuk yang efisien. Sekuestrasi (*sequestration*) dan kompleksasi (*complexation*) adalah proses yang dilalui untuk menentukan bentuk ikatan logam yang akan diakumulasi dan di bagian jaringan mana akan disimpan. Kompartementalisasi dan akumulasi logam terjadi lebih efisien pada tumbuhan hiperakumulator. Disamping itu hiperakumulator memiliki derajat seleksi yang tinggi terhadap logam [33].

Respon fisiologis yang terjadi bila tanaman mengalami stres logam adalah terjadinya

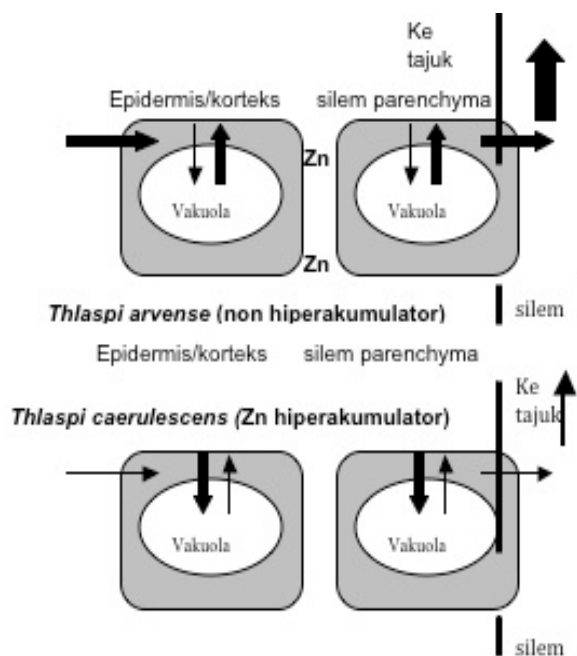
pembentukan protein stress (*phytochelatins*) karena adanya ion-ion logam yang memicu terjadinya reaksi ini [33]. Respon lain adalah adanya perubahan aktivitas enzimatis. Aktivitas enzim terhambat oleh ion-ion logam berat, seperti Pb^{2+} yang menghambat *aminolaevulinic acid dehydratase*, CN yang menghambat kelompok enzim peroksidase dan Cu-enzim; serta arsen (As) yang menghambat kelompok enzim fosforilase [10]. Respon terhadap logam juga terjadi pada terhambatnya pertumbuhan akar dan tajuk serta menurunnya laju transpirasi [13]. Tanaman hiperakumulator menunjukkan respon yang berbeda dengan tanaman normal terhadap stress keracunan logam dengan mengadakan perubahan pada serangkaian proses fisiologis-biokimia tertentu.

Dapat disimpulkan bahwa perbedaan antara tanaman hiperakumulator dan non hiperakumulator yang terjadi karena adanya perubahan proses fisiologis-biokimia diantaranya: adanya serangkaian ekspresi gen yang berbeda yang mengontrol penyerapan, akumulasi dan toleransi terhadap logam seperti transporter Zn dari gen ZIP yang berperan dalam mengontrol influx Zn ke dalam sel, terdapat perbedaan mekanisme transport jarak jauh dari akar ke tajuk seperti asam amino bebas, histidin, perbedaan pada nilai kinetik laju akumulasi logam pada hiperakumulator yang dideteksi 5-10 kali lebih besar dari tanaman normal [39], pada tanaman hiperakumulator terdapat mekanisme hipertoleransi untuk menghindari keracunan logam seperti gen MTTP1 pada *Allysum helleri* yang menentukan hipertoleransi terhadap Zn dan sekaligus transport jarak jauh dari akar ke tajuk, hiperakumulator memiliki potensi terhadap kerusakan oksidatif terhadap jaringan yang terkena pengaruh keracunan logam seperti *glutathione* [34].

3.2 Respons Spesifik Hiperakumulator Logam

Tanaman hiperakumulator Zn *Thlaspi caerulescens* mampu mengakumulasi Zn lebih dari 30 000 mg/kg berat kering tajuk tanpa mengalami gejala keracunan. Hal ini menunjukkan adanya mekanisme khusus yang terjadi pada tanaman ini. Pada tanaman non hiperakumulator respon terhadap keracunan Zn ditunjukkan oleh terhambatnya pertumbuhan, penurunan produksi biomasa, penurunan laju fotosintesis karena adanya penurunan konsentrasi khlorofil b dan penurunan area daun [7]. Respon fisiologis tumbuhan hiperakumulator Zn diindikasikan oleh kemampuan melarutkan Zn pada zona perakaran yang tinggi, Terdapat malat dan malonat yang dilaporkan sebagai *ligands* pada hiperakumulator Zn. Didalam tajuk hiperakumulator koordinasi Zn terjadi melalui sitrat, oksalat, histidin dan dinding sel [33]. Hiperakumulator Zn dapat memacu influx Zn ke dalam simplasma akar. Diperkirakan Zn terakumulasi pada subselular. Potensi yang penting pada mekanisme transport dalam hiperakumulasi Zn adalah terjadinya

penyerapan kembali Zn ke dalam sel-sel daun diikuti oleh penyimpanan di dalam vakuola (Gambar 1). Beberapa mekanisme dari transpor Zn yang lebih cepat pada hiperakumulator telah berhasil dikarakterisasi, termasuk influx Zn yang lebih tinggi melintasi membran plasma akar, pengurangan penyimpanan Zn dalam vakuola sel akar, transpor Zn yang lebih banyak ke sillem, dan translokasi ke sel daun [8].



Gambar 1. Model Transpor Zn dalam Tanaman Hiperakumulator dan Non-hiperakumulator [36].

Pada hiperakumulator Ni *Alyssum*, ditemukan malat dan malonat sebagai *ligands*. Asam amino histidin bebas sebagai kelat yang memfasilitasi aliran Ni dalam sillem karenanya asam amino ini dijumpai berkorelasi linear dengan konsentrasi Ni dalam sillem tanaman hiperakumulator. Berdasarkan pengamatan mikroskopis dan biokimia jaringan diketahui bahwa Ni dan tidak menutup kemungkinan beberapa logam lainnya, banyak terkumpul pada vakuola sel epidermal dan subepidermal daun. Seperti yang diamati pada hiperakumulator Ni *Hybanthus floribundus* [33].

Thlaspi caerulescens disamping hiperakumulator terhadap Zn dan Ni, juga hiperakumulator terhadap Cd, yang mampu mengakumulasi Cd hingga lebih dari 100 mg/kg berat kering tajuknya. Diduga terdapat sistem transport Cd dengan selektivitas tinggi pada sel-sel membran akar ekotipe akumulator Cd. Telah dideteksi adanya transporter Fe (II) seperti IRT1 (dari kelompok gen ZIP) dan Nramp yang berfungsi mentransport beberapa logam termasuk Fe (II), Cd, Mn dan Zn [39]. ZNT1 yang baru berhasil di klon dari *T caulescence* dan cDNA LCT1 dari gandum mampu memediasi penyerapan Cd. Pada tanaman non akumulator Cd, transport terhambat oleh saluran kalsium (Ca) karena

diduga adanya ketergantungan penyerapan Cd pada proses metabolisme Ca [39].

Tumbuhan yang toleran terhadap Aluminium (Al) menunjukkan respons fisiologis diantaranya terhambatnya pemaajangan akar dan pertumbuhan rambut akar. Terjadi penghambatan pada transport simplastik auxin karena adanya pembentukan kalus sehingga terjadi penurunan transport dan translokasi nutrisi dan air dari dalam tanah. Al diketahui terakumulasi pada permukaan akar dan bagian luar membran plasma [28]. Pengaruh Al pada aktivitas enzim terjadi pada membran plasma diantaranya peroksidase lemak pada akar terpacu dan anti-peroksidase menurun. Enzim-enzim yang berhubungan dengan metabolisme nutrisi pada akar, batang dan daun terhambat [28]. Ion Al meningkatkan Ca^{2+} sehingga mengakibatkan pembentukan kalus. Al juga pada terhambatnya pembelahan dan pemanjangan sel. Al berpengaruh pada metabolisme dari komponen-komponen dinding sel (hemiselulose dan asam ferulik) sehingga mempengaruhi struktur dan fungsi dinding sel (terjadi penebalan) dan akhirnya menghambat pertumbuhan akar. Tumbuhan resisten terhadap Al diketahui mengekresi sitrat hingga 70 kali lebih tinggi dan malat pada kondisi tercemar Al [28]. Mekanisme fisiologis dari penyerapan Pb masih memerlukan lebih banyak waktu untuk berkembang. Masing-masing spesies tanaman memiliki perbedaan mekanisme dalam menyerap dan mentranslokasikan Pb [20].

Pada umumnya kandungan Pb pada jaringan tanaman adalah sekitar 10 mg g^{-1} , tetapi tumbuhan hiperakumulator mengakumulasi Pb pada tajuk sedikitnya 1000 mg g^{-1} . Vegetasi yang tumbuh pada tempat-tempat terkontaminasi sering dijumpai mengandung kurang dari 50 ppm Pb pada tajuknya. Tanpa adanya perlakuan tanaman hiperakumulator yang berpotensi sekalipun sulit mengakumulasi Pb lebih dari 0.1 % pada tajuknya [21]. Karenanya diperlukan cara untuk memacu ketersediaan Pb^{2+} atau tanaman tertentu yang dapat mentranslokasikan dengan lebih baik Pb^{2+} ke tajuk. Hiperakumulator Pb yang paling banyak digunakan adalah kultivar *Thlaspi ratundifolium* (L.) Gaud-Beaup yang dapat mengakumulasi hingga 8500 mg g^{-1} Pb pada tajuknya [20].

Karena Pb terikat secara kuat dengan mineral dan bahan-bahan organik tanah sehingga sulit bagi tanaman untuk menyerapnya melalui akar. Sekali Pb terserap oleh akar akan mudah mengadakan ikatan kompleks dengan nutrisi dalam tanaman sehingga membatasi kemampuan tanaman untuk mentranslokasikannya ke tajuk [20]. Selama ini tanaman akumulator Pb hanya berhasil mentranslokasikan tidak lebih dari 30% Pb ke tajuk [21].

Aplikasi kelat *Ethylendiaminetetracetic Acid* (EDTA) menjadikan akumulasi Pb pada tajuk secara langsung berkorelasi dengan akumulasi EDTA, diperkirakan bahwa Pb ditransportasi dalam tanaman dalam bentuk kompleks Pb-

EDTA menjadikan Pb lebih mudah ditranslokasi dari akar ke tajuk, dimana kemudian diakumulasi dalam bentuk ikatan kompleks Pb-EDTA [20]. Konsentrasi EDTA lebih dari 1 g kg⁻¹ pada *Helianthus annuus* memberikan dampak pada peningkatan serapan Pb dari 15.6 menjadi 46.9 ug g⁻¹ disamping Cd dari 2.2 ug g⁻¹ ke 6.5 ug g⁻¹ dan Ni dari 6.7 menjadi 19.2 ug g⁻¹ pada daun [27]. Walaupun CN bukan termasuk kategori logam berat tetapi unsur ini juga termasuk pencemar penting di dalam tanah dan air yang dapat menimbulkan bahaya keracunan.

Sebetulnya CN diproduksi dalam jaringan tanaman sendiri sebagai produk samping dari proses sintesis etilen, yang terjadi terutama pada saat adajaringan tanaman terluka, perkecambahan, penebaran daun, dan pemasakan buah. Karena CN bersifat racun bagi tanaman maka perlu bagi tanaman untuk mendetoksifikasinya. Hal ini dilakukan tanaman dengan reaksi enzimatik CN dengan L-sistein membentuk β -cyanoalanine. Enzim yang dideteksi terlibat dalam proses ini adalah β -cyanoalanine synthase. β -cyanoalanine kemudian terhidrolisis menjadi asparagin sebagai bentuk yang tidak toksik⁽²⁵⁾. Kinetik enzim dan kapasitas metabolisme maksimum dalam proses metabolisme CN penting diketahui untuk memperoleh nilai kuantitatif dari dan variasi laju metabolisme CN. Keberadaan enzim ini di dalam tanaman berkisar 3.9 hingga 1050 nm⁻¹g⁻¹mnt⁻¹. Kapasitas metabolisme CN juga bervariasi antara 6 – 1638 kg⁻¹jam⁻¹ CN tergantung pada jenis tanaman dan umur jaringan tanaman. Tingkat metabolisme lebih besar pada jaringan tanaman yang lebih tua pada daerah yang masih memiliki aktivitas meristematik [25, 37].

Fitoekstraksi CN banyak dilakukan dengan menggunakan tanaman cyanogenik, yaitu spesies tanaman yang dapat mensintesis glukosida cyanogenic yang berfungsi dalam mendekomposisi CN bila jaringan tanaman terluka⁽²⁾. Tanaman berpembuluh terbukti memiliki enzim yang dapat mendetoksifikasi CN dengan cara mengkonversinya ke asam amino asparagin^(25, 37). Tanaman yang dikenal sebagai akumulator CN adalah *Salix viminalis* yang memiliki laju removal untuk daun dan akar masing-masing sebesar 9.5 dan 7 mg kg⁻¹h⁻¹CN. Adanya metabolisme CN dalam tanaman diindikasikan oleh hilangnya CN dari sistem media-tanaman hingga 50%-80% [25].

Akumulasi CN hanya dideteksi pada tingkat kontaminasi CN yang sangat tinggi pada level yang toksik. Fitotoksitas CN berpengaruh terhadap transpirasi yang menurun hingga 50% pada konsentrasi CN dalam larutan 2 – 8 mg/l bergantung lamanya perlakuan. Pada konsentrasi lebih tinggi toksitas berakibat pada kematian tanaman [24, 25, 38].

Hg termasuk pencemar yang sudah meluas di dunia sebagai akibat dari penggunaan yang beragam dalam industri. Hg dikenal dalam proses *bleaching* (produksi klorin, kertas, tekstil dll.), sebagai katalis, pigmen untuk cat, penambangan

emas dan bahan agrokimia (fungisida dan anti bakteri). Hg menjadi berbahaya karena dapat teroksidasi menjadi Hg²⁺ oleh sistem biologi dan dapat tercuci ke aliran air sehingga mencemari lingkungan dan terakumulasi pada makhluk hidup dalam bentuk metilmerkuri (CH₃⁻Hg⁺), dimetilmerkuri (CH₃)₂-Hg²⁺ atau garam organomercuri. Bakteri tertentu mampu memompa logam dari selnya dan mengoksidasi-reduksi atau memodifikasi ion-ion logam ke bentuk yang kurang toksik. Salah satunya adalah Operon yang mengandung gen yang dapat mendeteksi Hg (merB), mentransport Hg (merT), dan menyimpan Hg dalam periplasmik (merP). MerB mampu mengkatalis pemecahan berbagai bentuk Hg organik ke Hg²⁺. MerB memiliki enzim *organomercurial lyase* yang mengkatalisasi perombakan ikatan karbon menjadi ion Hg [30].

Ion-ion merkuri (Hg) dan Arsen (As) termasuk kelompok ion yang *mobile* sehingga lebih mudah ditranslokasi ke tajuk tanaman. Hg²⁺ dan As juga merupakan ion yang tepat untuk disimpan di dalam tempat-tempat penyimpanan seperti vakuola sub seluler, sel epidermal daun dengan kapasitas yang tinggi pada tajuk tanaman hiperakumulator [29].

Dalam fitoekstraksi Hg dan As dideteksi adanya transporter-transporter spesifik diantaranya *gluthione conjugates* sebagai transporter Hg dan As yang berfungsi memompa ion-ion Hg dan As ke dalam vakuola [29].

3.3 Strategi Perbaikan Tanaman Hiperakumulator

Pada dasarnya riset ke depan mengarah kepada pencapaian tanaman hiperakumulator ideal yakni tanaman yang mampu mengakumulasi logam dalam konsentrasi sangat tinggi pada tajuknya, tanaman yang tumbuh cepat dan mampu memproduksi biomasa tinggi dan mudah dalam budidaya termasuk perbanyakannya, tanaman yang memiliki toleransi tinggi terhadap logam dalam arti tidak menunjukkan gejala keracunan walaupun terdapat kandungan logam yang tinggi dalam jaringannya, tanaman yang memiliki toleransi tinggi terhadap lingkungan yang marjinal seperti kualitas tanah yang rendah (struktur, hara, pH, salinitas dan ketersediaan air yang ekstrim) dan tahan terhadap gangguan hama dan penyakit.

Banyak strategi yang telah digunakan untuk mencapai tujuan perbaikan tersebut. Seleksi tanaman dengan kultur jaringan adalah salah satu cara untuk mengoptimalkan potensi tanaman untuk fitoekstraksi. Metode ini secara cepat dapat menciptakan karakteristik tanaman yang baru.

Dalam hal ini kultur kalus atau suspensi dari individu atau agregat sel digunakan sebagai bahan seleksi. Selama proses diferensiasi, sel dikultur pada media dengan konsentrasi logam yang ditingkatkan terus hingga mencapai tingkat paling tinggi sesuai kemampuan jaringan. Dalam kondisi ini terlihat tidak hanya sifat resistensi yang pasif tetapi juga kemampuan sel dalam

menyimpan logam berat. Sistem “*Survival of the fittest*” menjamin terseleksi sel-sel dengan toleransi yang paling tinggi terhadap logam dan memiliki penampilan terbaik. Totipotensi sel tanaman memungkinkan terjadinya regenerasi seluruh tanaman dari kalus terseleksi ini.

Penggabungan karakter-karakter yang diinginkan dalam satu jenis tanaman hiperakumulator melalui seleksi genetik, pemuliaan tanaman dan rekayasa genetika merupakan salah satu strategi dalam meningkatkan fitoekstraksi. Memahami mekanisme dari akumulasi logam pada hiperakumulator penting untuk mencapai strategi tersebut. Tanpa pengetahuan fisiologi-biokimia dan genetika molekuler dari tanaman hiperakumulator perbaikan fitoekstraksi dapat dilakukan melalui hibridisasi somatik dan seksual diikuti oleh evaluasi plasma nutfah. Pemuliaan tanaman secara tradisional dapat dilakukan dengan menggunakan keragaman genetik yang telah tersedia dalam spesies untuk mengkombinasikan sifat-sifat yang diinginkan. Akan tetapi cara ini memerlukan waktu relatif lebih lama.

Penelitian fitoremediasi di masa mendatang mengarah kepada skrining tanaman yang memiliki sifat hiperakumulator ideal, termasuk tanaman pertanian. Identifikasi dan kloning gen-gen yang menentukan sifat hiperakumulator, penelitian fisiologi, biokimia dan genetika molekuler untuk mengidentifikasi proses dan substansi tertentu. Riset genetika molekuler mengarah kepada *probing bio-pathways* yang terlibat dalam degradasi kontaminan dan sekuestrasi (penyimpanan), identifikasi gen spesifik yang terlibat dalam proses fitoekstraksi, menginvestigasi sel-sel yang memudahkan *pathways* yang mempengaruhi ekspresi gen dari enzim-enzim yang berperan dalam hiperakumulasi, analisis dan identifikasi eksudat-eksudat akar dan *fingerprinting* dari bahan-bahan kimia yang menentukan hiperakumulasi [30].

Beberapa informasi sudah mulai terungkap, seperti metabolisme *glutathion* dan asam organik sebagai kunci dari sifat hipertoleran logam. Dimana Sintesis dari substansi ini dimediasi oleh enzim *glutamylcysteine synthase* dan *glutathion synthase* yang terkait dengan metabolisme sistein dan sulfur [30]. Tanaman transgenik yang dimodifikasi gen PCS dan *glutathion synthase* GCS dan GS dan enzim yang terkait dengan metabolisme sulfur i.e *serine acetyl transferase* mulai banyak diteliti. Tanaman yang mengalami stres logam berat memproduksi radikal bebas dan oksigen reaktif untuk dapat bertahan terhadap stres sebelum mencapai tahap toleran terhadap logam beracun. *Glutathione* digunakan untuk mensintesis PCs dan *dithiol* (GSSG). Siklus *ascorbate-glutathione* terlibat untuk bertahan terhadap stres. Asam organik berperan penting dalam toleransi logam dengan membentuk ikatan kompleks dengan logam untuk mendetoksifikasi logam [30].

Riset genetika molekuler juga telah mengungkap mekanisme akumulasi Fe, Cd, dan Zn oleh *T.caerulencens*, *Arabidopsis* dan mutan ragi (*yeast*) yang mengantarkan pada strategi untuk mengembangkan kultivar transgenik untuk fitoremediasi secara komersial [8]. Transfer gen *merA* untuk meningkatkan kemampuan tumbuhan hiperakumulator Hg⁽³²⁾ dan kloning Zn transport cDNA pada tumbuhan hiperakumulator Zn *Thlaspi caerulescens* untuk meningkatkan kapasitas penyerapan Zn⁽⁸⁾. Pada tumbuhan toleran Al telah ditemukan sekitar 30 ekspresi gen yang berperan dalam menentukan sifat toleransi [28].

Telah diketahui bahwa bakteri tertentu mampu memompa logam dari selnya dan mengoksidasi-reduksi atau memodifikasi ion-ion logam ke bentuk yang kurang toksik. Salah satunya adalah Operon yang mengandung gen yang dapat mendeteksi Hg (*merB*), mentransport Hg (*merT*), dan menyimpan Hg ke periplasmik (*merP*). *MerB* mampu mengkatalis pemecahan berbagai bentuk Hg organik ke Hg²⁺. *MerB* memiliki enzim *organomercurial lyase* yang mengkatalisasi perombakan ikatan karbon menjadi ion Hg [30].

Telah dideteksi adanya transporter Fe (II) seperti IRT1 (dari gen ZIP) dan Nramp yang berfungsi mentransport beberapa logam termasuk Fe (II), Cd, Mn dan Zn [39]. ZNT1 yang baru berhasil di klon dari *T caulescence* dan cDNA LCT1 dari gandum mampu memediasi penyerapan Cd. Pada tanaman non akumulator Cd, transport terhambat oleh saluran kalsium (Ca) karena adanya ketergantungan penyerapan Cd pada proses metabolisme Ca [39].

Telah berhasil dilakukan kloning transpor Zn cDNA dari *T caerulescens* sebagai permulaan untuk membuka peluang untuk mempelajari basis molekuler untuk meningkatkan penyerapan Zn pada tanaman tersebut. Analisis genetik telah mengkonfirmasi bahwa ZNT1 adalah mediator bagi penyerapan Zn sebagai transporter Zn. Terbukti bahwa ZNT1 mRNA jauh lebih tinggi keberadaannya pada hiperakumulator Zn dibandingkan non-hiperakumulator [8].

Pada tanaman resisten Al telah dilakukan isolasi dan karakterisasi gen-gen yang menginduksi sifat toleran. Lebih dari 30 ekspresi gen terinduksi oleh stres Al telah diisolasi dari berbagai spesies tanaman. Diantaranya adalah Gen *Al-response* dari *Arabidopsis* yakni pEARL11, pEARL12, AtGST dan AtBCB [28].

4. KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa perkembangan riset fitoremediasi mengarah kepada riset fisiologi-biokimia dan genetika molekuler pada area perbaikan sistem akar agar dapat lebih banyak menyerap logam. Dengan memacu rizosfer tanaman dalam mengeluarkan eksudat dan enzim-enzim yang dapat membantu ketersediaan logam sehingga lebih mudah diserap akar. Sehingga, memperbaiki transport logam jarak pendek dari rizosfer ke jaringan sillem akar.

Selain itu, mempercepat mobilitas logam dan memperbaiki transport jarak jauh dari akar ke tajuk, dengan meningkatkan aliran logam dalam silem dan memaksimalkan kapasitas *sink* seperti vakuola subselular, sel epidermal untuk dapat menyimpan logam dalam jumlah yang maksimum. Hal ini akhirnya dapat memperbaiki mekanisme hipertoleransi terhadap toksisitas logam yang terakumulasi dalam jaringan tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Baker AJM, Reeves RD, Hajar ASM. (1994). Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J.&C. Presl (Brassicaceae). *New Phytol* 127:61-68.
- Banks MK & Mannering F. (2006). Phytoremediation of cyanide contaminated soils. <http://www.hsrc.org/mw-cyanide.html>.
- Brown SL, Chaney RL, Angle JS, Baker JM. (1995). Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and *Silene vulgaris* grown on sludge-amended soils in relation to total soil metals and soil pH. *Environ. Sci Technol* 29: 1581-1585.
- Chaney RL, Brown SL, Li YM, Angle JS, Homer F, Green C. (1995). Potential use of metal hyperaccumulators. *Mining Environ Management* 3(3):9-11.
- Chaney RL, Malik M, Li YM, Brown SL, Angle JS, Baker AJM. (1997). Phytoremediation of soil metals. *Current Opinions. Biotechnology* 8:279-284.
- Chaney RL, Bradhurst C, McIntosh MS, Reeves RD, Angel J. (2006). Phytoextraction of heavy metal with hyperaccumulator plants. International Bioavailability Workshop. Seville, Spain September 11-14 2006. Pp 65-66.
- Di Baccio D & Tognetti R. (2003). Responses of *Populus deltoides* x *Populus nigra* (*Populus* x *euramericana*) clone I-214 to high zinc concentrations. *New Phytologist* 159(2):443-452.
- Ebbs S, Kochian L, Lasat M, Pence N, Jiang T. (2000). An integrated investigation of the phytoremediation of heavy metal and radionuclide contaminated soils: From laboratory to the field. Di dalam: Wise DL, Trantolo DJ, Cichon EJ, Inyang HI, Stottmeister U (ed). *Bioremediation of Contaminated Soils*. Marcek Dekker Inc. New York. Basel. hlm 745-769.
- Ebbs S. 2006. Cyanide phytoremediation : Removal and fate in soil-water-plant systems. Department of Plant Biology, Southern Illinois University Carbondale.
- Edwards, NA & Hassall KA. (1980). *Biochemistry and Physiology of the Cell*. Mc Graw – Hill Book Co.(UK) 448 p.
- Emmyzar & Hermanto. (2004). Rehabilitasi tanah tercemar Pb menggunakan tanaman akar wangi. *Gakuryoku* Vol. X : 37-40.
- Gabbrielli R, Mattioni C, Vergnano O. (1991). Accumulation mechanisms and heavy metal tolerance of a nickel hyperaccumulator. *J Plant Nutr* 14:1067-1080.
- Gerth, A. (2000). Phytoremediation of soil and sludge with special examination of heavy metal contamination In: Wise DL, Trantolo DJ, Cichon EJ, Inyang HI, Stottmeister U (ed). : *Bioremediation of Contaminated Soils*. Marcek Dekker Inc. New York. Basel. P. 787-809.
- Hammer D & Kayser A. (2003). Phytoextraction of Cd and Zn with *Salix viminalis* in field trials. *Soil Use and Management* 19(3):187-192
- Hidayati N. (2005). Fitoremediasi dan Potensi Tumbuhan Hiperakumulator. *Jurnal HAYATI- MIPA IPB- Vol. 12 No. 1. Hal. 35-40*
- Hidayati N. Dan Saefudin. (2005). Potensi Hipertoleransi dan Serapan Beberapa Jenis Tumbuhan pada Limbah Pengolahan Emas. *Jurnal Biologi Indonesia PBI Vol. III No.9 : 351-360 Juni 2005.*
- Hidayati N. Juhaeti T. & Syarif F. (2006a). Efektivitas EDTA (Ethylenediaminetetracetic acid) dalam meningkatkan akumulasi timbale pada *Saccharum spontaneum* yang tumbuh di limbah penambangan emas. *Jurnal Biologi Indonesia PBI Vol. IV No.1 Juni 2006*
- Hidayati N. Syarif F.dan Juhaeti T. (2006b). Potensi *Centrosema pubescens*, *Calopogonium mucunoides* dan *Mikania cordata* dalam Membersihkan Logam Kontaminan pada Limbah Penambangan Emas. BIODIVERSITAS. *Journal of Biological Diversity*. Volume 7 – Nomor 1. Hal 4 – 6.
- Hidayati N, Juhaeti T.& Syarif F. (2006c). Mercury and Cyanide Contamination in Aquatic Environments Around Two Gold Mine Areas and Possible Solution of Using Green Technology of Phytoremediation. International JSPS Seminar. Bogor 19-20 Oktober 2006.
- Hong PKA, Okey RW, Lin SW and Chen TC. (2006d). Structure-activity relationship of heavy metals extraction from soil by chelating agents. <http://www.engg.ksu.edu/HSRC/95Proceed/hong.html>.
- Huang JW, J Chen TC, Berti WB, Cunningham SD. 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Enviro Sci Technol* 31:800-805.
- Juhaeti T, Syarif F dan Hidayati N. 2005. Inventarisasi jenis tumbuhan hipertoleransi mailing limbah pengolahan emas PT. Antam Pongkor. *Jurnal BIODIVERSITAS Journal of Biological Diversity FMIPA UNS.*
- Juhaeti T dan Syarif F. (2003). Studi potensi beberapa jenis tumbuhan air untuk fitoremediasi. Laporan Teknik Puslit. Biologi-LIPI. 133-140.
- Larsen M, Trapp S. (2004). Removal of cyanide by woody plants. *Chemosphere* 54(3):325-333.
- Larsen M. 2005. *Plant uptake of cyanide*. Ph.D. Thesis. Institute of Environment & Resources. Technical University of Denmark. 37p.
- Lasat MM, Baker AJM, Kochian LV. 1996. Physiological characterization of root Zn²⁺ absorption and translocation to shoot in Zn hyperaccumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. *Plant Physiol* 112:1715-1722.
- Liphadzi MS, Kirkham MB. (2003). EDTA assisted heavy metal uptake by poplar and sunflower at a long-term sewage-sludge farm. *Plant & Soil* 25(1):171-182.
- Matsumoto H., Yamamoto Y, Ezaki B. (2003). Recent Advances in the Physiological and Molecular

- Mechanism of Al Toxicity and Tolerance in Higher Plants. In: *Advances in Plant Physiology Vol. 5*. A. Hemantaranjan (Ed.). Scientific Publishers (India). Pp. 29-74.
29. Meagher RB. & Heaton AC. (2005). Strategies for the engineered phytoremediation of toxic element pollution : Mercury and arsenic. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol* 32 (11-12):502-513.
 30. Prasat MNV & Frietas HMO. (2003). Metal hyperaccumulation in plants-Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic J.of Biotechnol.* 6(3):Des. 2003.
 31. Reeves RD. 1992. The hyperaccumulation of nickel by serpentine plants. Di dalam: Baker AJM, Proctor J, Reeves RD (ed). *The Vegetation of Ultramafic (Serpentine) Soils*. Intercept Ltd., Andover, Hampshire, UK. hlm 253-277.
 32. Rugh CL, Wilde HD, Stack NM, Thompson DM, Summers AO, Meagher RB. (1996). Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial *merA* gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:3182-3187.
 33. Salt DE. (2000). Phytoextraction: Present applications and future promise. Di dalam: Wise DL, Trantolo DJ, Cichon EJ., Inyang HI, dan Stottmeister U (Ed). *Bioremediation of Cotaminated Soils* Marcek Dekker Inc. New York; Basel. hlm 729-743.
 34. Salt DE. 2006. An Extreme *Plant Lifestyle: Metal Hyperaccumulation*. Plant Physiology. Fourth Edition by Taiz L & E Zeiger. Chapter 26. Sinauer Assoc.Inc.
 35. Syarif F dan Juhaeti T. (2004). Penelitian toleransi *Crotalaria* terhadap limbah penambangan emas. Laporan Teknik Puslit. Biologi-LIPI. 97-102.
 36. Wise DL, Trantolo DJ, Cichon EJ, Inyang HI dan Stottmeister U(Eds.) (2000). *Bioremediation of Cotaminated Soils* Marcek Dekker Inc. New York.
 37. Yu X, Zhou P, Zhou X, Liu Y. 2005a. Cyanide removal by Chinese vegetation-quantification of the Michaelis-Menten kinetics. *Environ.Sci.Pollut.Res. Int.*12(4):221-226.
 38. Yu X, Trapp S, Zhou P. (2005b). Phytotoxicity of cyanide to weeping willow trees. *Sci.J..Com.* <http://dx.doi.org/10.1065/espr.2005.02.237>.
 39. Zhao FJ, Hamon ER, Lombi E, Mclaughlin MJ, Garth SP. (2002). Characteristic of cadmium uptake into two contrasting ecotype of the hyperaccumulator *Thlaspi caelulescence*. *J of Environ. Bot.* 53(368) 535-543.