



TUGAS AKHIR - SB141510

**PENGARUH KOMBINASI TANAMAN
HIPERAKUMULATOR BERMIKORIZA PADA
FASE PEMBIBITAN TERHADAP PERTUMBUHAN
KEDELAI (*Glycine max*) PADA KONDISI
STRESS LOGAM BERAT MANGAN (Mn)**

**TANIA SYLVIANA DARMAWAN
1511 100 042**

**Dosen Pembimbing :
Ir. Sri Nurhatika, MP.
Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.**

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2015**



FINAL PROJECT - SB141510

THE EFFECTS OF HYPERACCUMULATOR MYCORRHIZAL PLANTS COMBINATION AT SEEDLING STAGE ON SOYBEAN (*Glycine max*) GROWTH UNDER CONDITIONS OF HEAVY METAL MANGANESE (Mn) STRESS

TANIA SYLVIANA DARMAWAN
1511 100 042

Advisor Lecturer :
Ir. Sri Nurhatika, MP.
Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.

Biology Department
Mathematic and Natural Science Faculty
Sepuluh Nopember Institute of Technology
Surabaya 2015

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH KOMBINASI TANAMAN HIPERAKUMULATOR BERMIKORIZA PADA FASE PEMBIBITAN TERHADAP PERTUMBUHAN KEDELAI (*Glycine max*) PADA KONDISI STRESS LOGAM BERAT MANGAN (Mn)

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Pada

Jurusan S-1 Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh :

TANIA SYLVIANA D.

NRP. 1511 100 042

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

Ir. Sri Nurhatika, MP. (Pembimbing 1)

Dr. Anton Muhibuddin, SP. MP. (Pembimbing 2)

Surabaya, 22 Mei 2015

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi

Dr. Rernat. Ir. Maya Shovitri, M.Si

NIP. 19690907 199803 2 001

PENGARUH KOMBINASI TANAMAN
HIPERAKUMULATOR BERMIKORIZA PADA FASE
PEMBIBITAN TERHADAP PERTUMBUHAN KEDELAI
(*Glycine max*) PADA KONDISI STRESS LOGAM BERAT
MANGAN (Mn)

Nama : Tania Sylviana Darmawan
NRP : 1511 100 042
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Ir. Sri Nurhatika, MP.
Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.

Abstrak

Kedelai merupakan tanaman penghasil protein nabati tertinggi namun rentan terhadap kondisi lingkungan yang tercemar logam berat. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya pemuliaan lahan tercemar logam berat, diantaranya melalui fitoremediasi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator pada pertumbuhan tanaman kedelai (G.max) dalam mengatasi stress akibat logam berat Mn.

Parameter yang diamati pada kedelai adalah tinggi tanaman, jumlah daun, kadar klorofil, dan struktur anatomi akar. Tanaman hiperakumulator diletakkan dalam satu polybag dengan tanaman kedelai dalam tanah tercemar Mn 7,38 ppm. Hasil pengamatan dianalisis menggunakan uji ANOVA dan LSD pada program SPSS.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi tanaman hiperakumulator memberikan pengaruh terhadap jumlah daun dan kadar klorofil, namun tidak memberikan pengaruh pada tinggi tanaman dan anatomi akar. Berdasarkan hasil LSD, diketahui bahwa penggunaan perlakuan 1, sudah cukup untuk mengatasi stress logam berat Mn pada tanaman kedelai.

Kata kunci: Glycine max, fitoremediasi, logam berat Mn, tanaman hiperakumulator.

THE EFFECTS OF HYPERACCUMULATOR-
MYCORRHIZAL PLANTS COMBINATION AT SEEDLING
STAGE ON SOYBEAN (*Glycine max*) GROWTH UNDER
CONDITIONS OF HEAVY METAL Mn STRESS

Name : Tania Sylviana Darmawan
NRP : 1511 100 042
Department : Biology FMIPA ITS
Advisor Lecturer : Ir. Sri Nurhatika, MP.
Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.

Abstract

Soybean is a plant producing the highest vegetable protein, but is susceptible under conditions of heavy-metal-contaminated soils. Therefore, it is necessary to reduce heavy metal toxicity using one method such as phytoremediation. The objectives of this research is to test the effects of hyperaccumulator-mycorrhizal plants combination on soybean (*G. max*) growth in overcoming heavy metal Mn stress conditions.

The parameters measured were plants height, number of leaves, chlorophyll contents, and root anatomy. Hyperaccumulator plants were placed in a polybag with soybean crop in 7,38 ppm Mn-contaminated soil. Observed data were analyzed by ANOVA, continued by LSD, both test at level 5%.

The results show that hyperaccumulator-mycorrhizal plants combination affect the number of leaves and chlorophyll contents. However, the plants height and root anatomy did not affected by hyperaccumulator-mycorrhizal plants combination. The results from LSD show that using P1 is enough to overcome heavy metal Mn stress on soybean plants.

Keywords: *Glycine max*, phytoremediation, heavy metal Mn, hyperaccumulator plants.

KATA PENGANTAR

Segala puja dan puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nyayang tak terhingga sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Tugas Akhir yang berjudul: **“Pengaruh Kombinasi Tanaman Hiperakumulator Bermikoriza pada Fase Pembibitan terhadap Pertumbuhan Kedelai (*Glycine Max*) pada Kondisi Stress Logam Berat Mangan (Mn)”**. Tugas Akhir ini merupakan salah satu kegiatan kuliah wajib, untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan mata kuliah Tugas Akhirdi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya.

Dalam melakukan Tugas Akhir maupun penyusunan laporan Tugas Akhir ini penulis telah mendapatkan banyak pengalaman, masukan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak yang sangat berguna dan bermanfaat. Penulis mengucapkan terima kasih kepada, Ibu Ir. Sri Nurhatika, MP., Bapak Dr. Anton Muhibuddin SP., MP., selaku pembimbing pertama dan kedua Tugas Akhir, Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si, Ph.D, dan Ibu Awik Puji D.N., M.Si dan Bapak Triono Bagus, M.Biotech selaku komponen jurusan. Penelitian Tugas Akhir ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan teman-teman selama melaksanakan penelitian (Suci, Kuni, Laras, Wahyu, dan Nisa) serta teman-teman seperjuangan angkatan 2011, dan seluruh pihak yang telah membantu.

Penulis menyadari bahwa dalam melakukan penelitian dan penyusunan Tugas Akhir ini masih belum sempurna, namun besar harapan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat serta dapat memberikan informasi bagi semua pihak.

Surabaya, 30Juni2015

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan	4
1.5 Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kedelai (<i>Glycine max</i>)	5
2.2 Tanaman Hiperakumulator	6
2.2.1 Jarak pagar (<i>Jatropha curcas</i>).....	6
2.2.2 Lamtoro gung (<i>Leucaena leucocephala</i>)	7
2.3 Mikoriza	9
2.4 Logam Berat	10
2.4.1 Mangan	10
2.4.2 Toksisitas Mangan (Mn) pada Tanaman	11
2.4.3 Mekanisme Akumulasi Logam Berat oleh Tanaman.	12
2.5 Fitoremediasi	13
BAB III METODOLOGI	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.2 Metode yang Digunakan	
3.2.1 Sterilisasi Media Tanam	15
3.2.2 Pembuatan Larutan Logam Berat Mn	15

3.2.3 Perhitungan Persentase Infeksi Mikoriza	15
3.2.4 Penanaman Tanaman yang Digunakan	16
3.2.5 Analisa Logam Berat pada Tanah	17
3.2.6 Pengamatan Pertumbuhan Tanaman.....	17
3.2.7 Pengamatan Kadar Klorofil Daun.....	18
3.2.8 Pengamatan Kerusakan Akar.....	18
3.2.8.1 Fiksasi.....	18
3.2.8.2 Pencucian dan Dehidrasi	19
3.2.8.3 Infiltrasi	19
3.2.8.4 Penyelubungan	19
3.2.8.5 Pengirisan dan Perekatan	19
3.2.8.6 Pewarnaan	20
3.3 Rancangan Penelitian dan Analisa Data	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Persentase Infeksi Mikoriza <i>Glomus</i> sp.	23
4.2 Pengaruh Kombinasi Tanaman Hiperakumulator pada Pertumbuhan Tanaman Kedelai (<i>G. max</i>)	25
4.2.1 Pengaruh Kombinasi Tanaman Hiperakumulator pada Tinggi Tanaman Kedelai (<i>G. max</i>)	25
4.2.2 Pengaruh Kombinasi Tanaman Hiperakumulator pada Jumlah Daun Tanaman Kedelai (<i>G. max</i>)	29
4.3 Pengaruh Kombinasi Tanaman Hiperakumulator pada Kadar Klorofil Tanaman Kedelai (<i>G. max</i>)	31
4.4 Kerusakan Anatomi Akar Tanaman Kedelai (<i>G. max</i>)	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Variabel Perlakuan pada Penelitian	14
Tabel 3.2 Denah Pengacakan Letak Polybag	18
Tabel 3.3 Hasil Pengamatan Kadar Klorofil	19
Tabel 3.4 Hasil Pengamatan Morfologi Tanaman	19
Tabel 4.1 Rata-Rata Infeksi Mikoriza pada Tanaman Kedelai (<i>G. max</i>)	23
Tabel 4.2 Rata-Rata Pertumbuhan Tinggi Tanaman Kedelai (<i>G. max</i>)	26
Tabel 4.3 Rata-Rata Jumlah Daun Tanaman Kedelai (<i>G. max</i>)	28

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Kedelai (<i>Glycinemax</i>) Umur Dua Minggu	5
Gambar 2.2 Tanaman Jarak Pagar (<i>Jatropha curcas</i>) Umur Satu Bulan.....	7
Gambar 2.3 Tanaman Lamtoro Gung (<i>Leucaena leucocephala</i>) Umur Satu Bulan	8
Gambar 4.1 Infeksi mikoriza padaTanaman Kedelai (<i>G.max</i>)	24
Gambar 4.2 Rata-Rata Tinggi Tanaman Kedelai	26
Gambar 4.3 Rata-Rata Jumlah Daun Tanaman Kedelai....	29
Gambar 4.4 Rata-rata Kadar Klorofil Tanaman Kedelai	33
Gambar 4.5 Gejala Stress Kelebihan Logam Berat Mangan (Mn)	35
Gambar 4.6 Anatomi Akar Kedelai	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Nilai Infeksi Mikoriza	49
Lampiran 2. Hasil Pengamatan Tinggi Tanaman Kedelai	49
Lampiran 3. Hasil Pengamatan Jumlah Daun Tanaman Kedelai	55
Lampiran 4. Hasil Pengamatan Kadar Klorofil Tanaman Kedelai	61
Lampiran 5. Struktur Letak Tanaman	66
Lampiran 6. Hasil Analisis Tanah	67

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kedelai merupakan komoditas pangan penghasil protein nabati yang sangat penting karena gizinya, aman dikonsumsi, dan harganya yang relatif murah dibandingkan dengan sumber protein hewani. Di Indonesia, kedelai umumnya dikonsumsi dalam bentuk pangan olahan seperti tahu, tempe, susu kedelai dan berbagai bentuk makanan ringan (Damardjati, 2005). Oleh karena itu, kebutuhan terhadap kedelai semakin meningkat dari tahun ketahun sejalan dengan bertambahnya penduduk dan meningkatkan kesadaran masyarakat terhadap makanan berprotein nabati (Deptan, 2006). Produksi tanaman kedelai sangat dipengaruhi oleh teknik budidaya, pengendalian hama dan pemupukan yang dapat dilakukan melalui akar dan daun. Pertumbuhan tanaman kedelai sangat peka terhadap perubahan lingkungan tumbuh sehingga tanaman kedelai susah tumbuh apabila lingkungan tumbuhnya kurang sesuai (Andrianto, 2004). Namun, usaha pemenuhan kedelai ini menghadapi kendala berupa semakin sempitnya lahan subur yang dikarenakan penggunaan lahan sebagai lahan non-pertanian. Selain itu, para petani di Indonesia juga memiliki kebiasaan menanam padi, sedangkan penanaman kedelai hanya dilakukan setelah padi tidak dapat lagi ditanam karena keterbatasan penyediaan air (Brawijaya, 2004).

Salah satu fungsi tanah yang sangat jelas adalah mendukung kehidupan tanaman (Foth, 1951). Ketersediaan hara bagi tanaman ditentukan oleh faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan tanah mensuplai hara dan faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan tanaman untuk menggunakan unsur hara yang disediakan (Wardle, 2006). Unsur hara esensial yang dibutuhkan tanaman terdiri dari unsur hara makro N, P, K, Ca, Mg, dan S serta unsur hara mikro Zn, Cu, Mn, Mo, B, Fe, dan Cl (Lahuddin, 2007). Unsur hara mikro dibutuhkan dalam jumlah relatif kecil yang kandungannya kritisnya berkisar antara 0,3-50 mg/kg berat

kering tanaman. Dari unsur hara mikro ini, lima unsur merupakan logam berat (Fe, Mn, Zn, Cu, dan Mo) (Pahan, 2006). Salah satu limbah pencemar pada tanah yang berbahaya adalah logam berat. Pencemaran logam berat pada tanah dapat menyebabkan organisme di sekitar rentan terhadap penyakit. Salah satu logam berat yang memiliki kecenderungan toksik pada makhluk hidup di tanah adalah mangan (Mn) (Slamet, 2009).

Penggunaan lahan sebagai lahan non-pertanian umumnya digunakan sebagai lahan industri yang seringkali justru menyebabkan tanah di sekitarnya mengalami kerusakan maupun pencemaran (Ross, 1994). Tindakan pemuliaan tanah tercemar pada saat ini banyak diperhatikan, terutama dengan menggunakan bahan-bahan alami seperti tumbuhan dan makhluk hidup lainnya. Perlakuan menggunakan organisme hidup sebagai salah satu alternatif untuk pemuliaan lahan tercemar semakin mendapat perhatian karena dalam pengaplikasiannya relatif murah, efektif, dan aman untuk ekologi. Salah satu cara yang sederhana yaitu dengan penanaman tanaman hiperakumulator di sekitar tanah tercemar untuk mengurangi tingkat pencemaran logam yang disebut sebagai fitoremediasi (Hardiani, 2009). Jenis tumbuhan hiperakumulator ini sangat terbatas, salah satu syarat tumbuhan dikatakan hiperakumulator yaitu bersifat toleran terhadap kandungan logam berat yang tinggi pada suatu media (Widyati, 2009). Salah satu contoh tanaman hiperakumulator yang dapat digunakan untuk mengurangi tingkat mangan (Mn) pada tanah adalah *Alyxia rubricaulis*. Selain itu, pada beberapa hasil penelitian menunjukkan telah ditemukan 435 jenis tanaman hiperakumulator yang dapat digunakan dalam proses fitoremediasi seperti tanaman *Jatropha curcas*, *Leucaena leucocephala*, *Musa paradisiaca*, *Zea mays*, *Dahlia pinnata*, *Vetiveria zizanioides*, *Alamanda cathartica*, *Panicum maximum*, *Ischaemum timorense*, *Helianthus annuus*, *Papyrus* sp., (Hardiani, 2009) *Monocharia vaginalis*, *Limnoharis flava*, *Paspalum conjugatum*, *Cyperus monocephala*, *Centrosema pubescens*, *Mikania cordata*, dan *Commelina nudiflora* (Juhaite, 2005).

Spesies akumulator pada tumbuhan menarik banyak perhatian karena memiliki potensi untuk membantu mengurangi kontaminasi atau cemaran pada tanah dari logam berat yang banyak dihasilkan oleh limbah industri (Hopkins, 2007).

Semakin meluasnya kasus kontaminasi tanah yang disebabkan oleh logam berat serta meningkatnya perkembangan ilmu pemuliaan tanah yang pesat, maka teknik rehabilitasi alternatif yang relatif murah dan efektif ini perlu dikembangkan bahkan beberapa kasus pengelolaan tanah tercemar menggunakan kombinasi antara tumbuhan dengan mikroorganisme agar lebih efektif. Untuk itu perlu dikembangkan penelitian tentang jenis-jenis tumbuhan yang mampu mengakumulasi logam berat dan bahan toksik lain misalnya mangan sehingga lahan menjadi aman bagi kesehatan dan lingkungan. Berdasarkan teori-teori tersebut maka dilakukan penelitian pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator jarak pagar (*J. curcas*) dan lamtoro gung (*L. leucocephala*) bermikoriza dalam mengatasi stress akibat mangan (Mn) pada tanaman kedelai (*Glycine max*).

1.2 Rumusan Permasalahan

Penelitian sebelumnya, diketahui bahwa tumbuhan dapat mengakumulasi logam berat yang ada pada tanah tercemar. Permasalahan penelitian ini adalah apabila tumbuhan tersebut melakukan simbiosis mikoriza bagaimana pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator jarak pagar (*J. curcas*) dan lamtoro gung (*L. leucocephala*) bermikoriza dalam menurunkan stress logam berat mangan (Mn) pada tanaman kedelai (*G. max*).

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah proses pemuliaan tanah dalam skala model laboratorium yang dilakukan pada media tanah dan diletakkan dalam screen house, dimana media tanah tersebut memiliki kandungan logam berat Mn yang cukup tinggi yaitu sebesar 7,38 ppm (dengan nilai baku mutu standar Mn dalam tanah sebesar 4 ppm). Perhitungan akumulasi

logam berat mangan (Mn) dihitung berdasarkan nilai serapan atom serta pertumbuhan tinggi tanaman selama masa penanaman pada media tanah. Pengaruh logam berat mangan (Mn) diamati berdasarkan kadar klorofil dan struktur anatomi akar pada tanaman.

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator jarak pagar (*J. curcas*) dan lamtoro gung (*L. leucocephala*) bermikoriza dalam menyerap unsur logam berat Mn dalam tanah dan menurunkan stress pencemaran unsur logam Mn pada tanaman kedelai (*G. max*).

1.5 Manfaat

Manfaat penelitian yang dilakukan adalah untuk memberikan informasi mengenai pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator jarak pagar (*J. curcas*) dan lamtoro gung (*L. leucocephala*) bermikoriza dalam menyerap unsur logam berat Mn dalam tanah dan menurunkan stress pencemaran unsur logam Mn pada tanaman kedelai (*G. max*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kedelai (*Glycine max*)

Kedelai termasuk dalam tumbuhan dengan kelompok kacang-kacangan. Adapun gambar dan klasifikasi dari tanaman kedelai menurut Adisarwanto (2005) selengkapnya adalah sebagai berikut:



Gambar 2.1 Tanaman Kedelai (*Glycine max*) Umur Dua Minggu.

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Rosales
Famili	: Leguminosae
Genus	: <i>Glycine</i>
Spesies	: <i>Glycine max</i>

Kedelai merupakan bahan pangan dengan sumber protein yang tertinggi. Berdasarkan hasil penelitian para pakar Teknologi Pangan, kedelai mengandung $\pm 40\%$ protein dengan nilai hayati yang tertinggi di antara protein nabati dari komoditas pertanian lainnya setelah diolah menjadi produk tertentu (Suprpti, 1996). Selain protein, kedelai juga merupakan sumber karbohidrat, dan lemak. Biji kedelai mengandung fosfor, besi, kalsium, vitamin B dengan komposisi asam amino yang lengkap (Pringgohandoko, 1999). Karena itulah, kedelai mempunyai peran yang cukup

penting dalam pola konsumsi bahan pangan di berbagai negara di dunia sebagai sumber protein nabati (Rukmana, 2005).

Pertumbuhan kedelai sangat dipengaruhi oleh teknik budidaya pertanian sehingga kedelai sangat peka terhadap kondisi lingkungan tumbuhan yang berubah atau tidak sesuai dengan kondisi optimumnya dapat memperlambat pertumbuhan tanaman ini. Pertumbuhan optimum kedelai secara optimum tercapai pada suhu 20-25⁰C. Pada suhu yang lebih tinggi dari 30⁰C, fotorespirasi kedelai cenderung mengurangi hasil fotosintesis (Rubatzky, 1998).

2.2 Tanaman Hiperakumulator

Tindakan pemuliaan (remediasi) lahan perlu dilakukan agar lahan yang tercemar dapat digunakan kembali untuk berbagai kegiatan secara aman (Hardiani, 2009). Umumnya pengolahan lahan tercemar dilakukan menggunakan organisme hidup salah satu contohnya menggunakan tumbuhan. Tumbuhan memiliki kemampuan menyerap logam dalam jumlah yang bervariasi, dimana tumbuhan yang memiliki sifat hiperakumulatorlah yang sering digunakan. Hiperakumulator adalah tanaman yang dapat menyerap logam berat sekitar 1% dari berat keringnya (Rondonuwu, 2014). Selain itu, satu jenis tumbuhan dapat dikategorikan sebagai tanaman hiperakumulator ketika memenuhi persyaratan menurut Chaney (1997) sebagai berikut:

- a. Bersifat toleran terhadap kandungan logam yang tinggi sehingga pertumbuhan akar dan pucuk tidak mengalami hambatan. Tingkat toleransi ini diduga berasal dari kemampuan tanaman untuk menyimpan logam dalam vakuola sel. Tanaman yang toleran tidak akan terganggu pertumbuhannya meskipun tingkat toksisitas pada lingkungannya tinggi.
- b. Mampu menyerap logam berat yang terdapat dalam media tumbuh secara cepat dan mentranslokasikannya dari akar ke bagian pucuk tanaman dengan cepat, sehingga logam berat menjadi tidak toksik dalam tubuhnya dan dapat tetap tumbuh.

c. Mampu menghasilkan biomassa yang tinggi dalam waktu yang cepat, dan mudah dibudidayakan serta mudah dipanen.

Lebih dari 435 jenis tumbuhan telah ditemukan mempunyai kemampuan hiperakumulator termasuk anggota famili Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae, Violaceae, dan Euphorbiaceae (Widyati, 2011).

2.2.1 Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)

Tanaman jarak pagar berasal dari Amerika Tengah, bijinya digunakan untuk bahan bakar pesawat tempur Jepang (Nurcholis, 2007). Jarak pagar merupakan tanaman yang dapat dengan mudah kita temukan di Indonesia maupun pada wilayah tropis lainnya, bahkan memiliki nama daerah yang bermacam-macam (Dadang, 2000). Gambar dan klasifikasi dari jarak pagar menurut Prihandana (2006) adalah sebagai berikut :



Gambar 2.2 Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Umur Satu Bulan.

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Jatropha</i>
Spesies	: <i>Jatropha curcas</i>

Jarak pagar sangat mudah untuk dibudidayakan dan dapat tumbuh dengan cepat, selain itu tanaman ini memiliki kandungan minyak yang cukup tinggi yaitu sekitar 25% - 35% pada bijinya dan 50% - 60% pada dagingnya.

2.2.2 Lamtoro Gung (*Leucaena leucocephala*)

Tanaman lamtoro gung mempunyai kemampuan pertumbuhan yang cepat pada berbagai macam tipe iklim dan tingkat kesuburan tanah. Tanaman ini merupakan tanaman perdu pohon yang mampu tumbuh dengan tinggi mencapai 5 – 15 m dan berasal dari Amerika Latin yang kemudian diimpor masuk ke Indonesia (Purwanto, 2007). Tanaman ini memiliki klasifikasi dan gambar sebagai berikut:



Gambar 2.3 Tanaman Lamtoro Gung (*Leucaena leucocephala*) Umur Satu Bulan.

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Genus	: <i>Leucaena</i>
Spesies	: <i>Leucaena leucocephala</i>

Lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*), termasuk jenis tanaman yang memiliki nilai ekonomis cukup tinggi karena dapat

digunakan sebagai zat pewarna, pakan ternak, dan pohon penabung pada tanaman kopi, kakao, serta teh. Tanaman ini juga dapat membantu dalam perbaikan kesuburan tanah karena menghasilkan seresah yang cukup banyak dan kaya akan unsur mineral seperti nitrogen, kalium, kalsium, dan magnesium. Seresah yang dihasilkan mencapai 0.3-0.6 ton/hektar dengan kandungan hara tiap ton seresah sebesar 20.9-35.8 kg N, 1.5-3.0 kg P dan 13.4-23.7 kg K (Suhendi, 1994). Biji lamtoro gung umumnya memiliki kulit yang keras dan berlilin, sehingga tanaman ini cukup lama untuk berkecambah (Suprayitno, 1981). Namun setelah berkecambah, tanaman ini dapat tumbuh dengan cepat dan memiliki kemampuan produksi yang tinggi. Beberapa keunggulan tanaman *Leucaena* sebagai tanaman penghijauan antara lain: a) meningkatkan kesuburan tanah, karena mampu mengikat nitrogen dengan baik; b) penanamannya mudah; c) mampu beradaptasi dengan cepat pada iklim setempat; d) tahan kekeringan; dan e) memiliki sistem perakaran dalam dan menyebar secara horizontal (Purwanto, 2007).

2.3 Mikoriza

Banyak tanaman mempunyai hubungan simbiotik mutualistik dengan mikroba, seperti jamur pada perakaran tanaman. Jamur yang berasosiasi pada perakaran tanaman sering dikenal sebagai mikoriza yang dapat tumbuh secara eksternal pada perakaran (ektomikoriza) dan tumbuh dalam perakaran (endomikoriza). Mikoriza mengambil nutrisi dari perakaran tanaman, dan mikoriza membantu tanaman dalam penyerapan nutrisi akar (Purnomo, 2010). Secara tidak langsung, mikoriza dapat meningkatkan produksi tanaman. Mikoriza adalah jenis cendawan yang ada di korteks akar tanaman. Mikoriza berfungsi membantu proses penyerapan unsur hara tanah-khususnya nitrogen, fosfor, dan kalium oleh tanaman. Penelitian menunjukkan mikoriza dapat meningkatkan penyerapan unsur P sebesar 25%. Selain itu, mikoriza juga dapat menghasilkan hormon dan zat pengatur tumbuh, seperti auksin, sitokinin, dan

giberelin. Fungsi lain dari mikoriza adalah menghasilkan zat antibiotik yang dapat melindungi dari patogen akar. Mikoriza juga dapat merangsang aktivitas mikroorganisme tanah yang menguntungkan serta memperbaiki struktur dan agregasi tanah. Selain itu, mikoriza juga membantu tanaman agar lebih tahan terhadap kekeringan (Parnata, 2010). Mikoriza juga dapat mengurangi dampak negatif yang dapat meracuni tanaman seperti aluminium (Al) dan Besi (Fe) (Prihandana & Hendroko, 2008).

2.4 Logam Berat

Logam berat merupakan unsur-unsur kimia dengan densitas lebih besar dari 5g/cm^3 , dan pada sistem periodik umumnya terdapat pada bagian kanan bawah, yang mempunyai afinitas tinggi terhadap S dan biasanya memiliki nomor atom 22 sampai 92 (Miettinen, 1977). Selain itu, logam berat memiliki berat molekul tinggi dan berbeda dengan logam biasa, logam berat umumnya dapat menimbulkan efek khusus bahkan efek negatif pada makhluk hidup. Dapat dikatakan bahwa semua logam berat dapat bersifat racun (toksik) pada makhluk hidup apabila melampaui ambang batas yang diizinkan (Subowo, 1999).

Salah satu faktor yang menyebabkan logam berat termasuk dalam kelompok zat pencemar adalah karena adanya sifat-sifat logam berat yang tidak dapat terurai dengan mudah dan tidak mudah diabsorpsi (Darmono, 1995). Pemasok logam berat yang terdapat dalam tanah atau lahan pertanian adalah dari bahan agrokimia (pupuk dan pestisida), asap kendaraan bermotor, bahan bakar minyak, pupuk organik, buangan limbah rumah tangga, industri, dan pertambangan (Alloway, 1990).

2.4.1 Mangan (Mn)

Mangan adalah sejenis logam yang berwarna putih keabu-abuan (Daud, 2008) dan merupakan suatu unsur kimia dengan nomor atom 25 serta memiliki simbol Mn. Mangan merupakan salah satu logam berat karena memiliki berat jenis $7,4\text{ g/cm}^3$ (logam berat adalah golongan logam yang memiliki berat jenis

lebih besar dari 5 g/cm^3) (Slamet, 2009). Pada kadar yang cukup tinggi, mangan (Mn) bersifat racun bagi organisme (Roehyatun, 2003). Logam ini dapat ditemukan dari batuan metamorfosis ataupun sedimen. Mangan mempunyai kandungan valensi yang sangat tinggi sehingga tidak mudah larut dan untuk mereduksinya lebih susah dibandingkan dengan logam berat lain (Daud, 2008). Mangan terdapat dalam tanah dengan bentuk senyawa oksida, karbonat, dan silikat (MnO_2 , MnOCOH , MnCO_3 , dan MnSiO_3) yang umum ditemukan tidak dalam jumlah banyak (Rosmarkum, 2002).

Tumbuhan membutuhkan mangan sebagai sumber unsur hara mikro (dalam jumlah yang sedikit) yang berperan pada pembentukan protein dan vitamin (terutama vitamin C), serta mempertahankan keadaan klorofil pada daun karena merupakan elemen struktural dari membran kloroplas. Selain itu, mangan pada tumbuhan berperan juga sebagai pertumbuhan tanaman dikarenakan mangan dapat mempercepat atau mengkatalis proses enzimatik (Sutedjo, 2005).

2.4.2 Toksisitas Mangan (Mn) pada Tanaman

Tersedianya Mn bagi tanaman tergantung pada pH tanah, dimana pH rendah Mangan akan banyak tersedia. Defisiensi Mn dalam tanah dapat menyebabkan tanaman memiliki gejala daun-daun muda di antara tulang-tulang daun secara bersamaan terjadi klorosis, dari warna hijau menjadi kuning dan selanjutnya putih (Rosmarkum, 2002). Konsentrasi mangan dalam tanah dapat meningkat secara alami apabila tanah memiliki nilai pH rendah, kelebihan Mn bisa dikurangi dengan cara menambah zat fosfor dan kapur. Konsentrasi Mn yang besar dalam jaringan tanaman dapat mengubah proses-proses metabolik (misalnya aktifitas enzim dan senyawa organik) dimana akan memunculkan gejala keracunan Mn dalam bentuk klorosis atau nekrosis. Selain itu, akan terjadi gejala kelebihan Mn yang umumnya terlihat pada daun yaitu munculnya bercak coklat kekuningan di antara tulang daun. Kandungan mangan yang tinggi pada tumbuhan dapat

memberikan efek negatif pada bagian atas tumbuhan daripada bagian akar. Hal ini dikarenakan Mn berlebih akan menghambat kerja auksin dan mengurangi jumlah sel daun serta volume kadar gula pada daun (Gissel-Nielsen, 1999). Mangan menstimulasi degradasi auksin melibatkan aktivitas auksin oksidase dimana enzim tersebut dapat meregulasi tingkat auksin dan proses downstream auksin.

2.4.3 Mekanisme Akumulasi Logam Berat oleh Tanaman

Menurut Hardiani (2009), mekanisme penyerapan dan akumulasi logam berat oleh tanaman dibagi menjadi tiga proses sebagai berikut :

1. Penyerapan oleh akar. Logam berat dibawa ke dalam larutan sekitar akar dengan cara yang berbeda pada masing-masing spesies tanaman. Senyawa yang larut dalam air diambil oleh akar bersama air, sedangkan senyawa yang tidak larut diserap oleh permukaan akar.

2. Translokasi logam dari akar ke bagian tanaman lain. Logam yang telah menembus endodermis akar kemudian akan mengikuti aliran transpirasi ke bagian atas tanaman melalui jaringan pengangkut.

3. Lokalisasi logam pada sel dan jaringan. Sebagai upaya untuk mencegah keracunan logam terhadap sel, tanaman mempunyai mekanisme detoksifikasi misalnya dengan cara menimbun logam dalam organ tertentu seperti akar.

Tumbuhan hiperakumulator memiliki kemampuan yang lebih tinggi dalam merubah logam sehingga cepat terlarut dan dapat diserap oleh akar. Akar tumbuhan hiperakumulator memiliki daya selektifitas yang tinggi terhadap unsur logam berat tertentu. 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*), diperkirakan hanya dimiliki oleh tumbuhan hiperakumulator (Hidayati, 2013). Selain itu, tumbuhan hiperakumulator juga diketahui dapat menghasilkan suatu asam amino kaya akan

belerang yang disebut sebagai fitokelatin. Fitokelatin hanya dapat dijumpai bila terdapat logam dalam jumlah yang toksik. Pembentukan fitokelatin merupakan respons tumbuhan untuk beradaptasi terhadap keadaan lingkungan yang tercemar (Hardiani, 2009).

2.5 Fitoremediasi

Pencemaran pada tanah oleh logam berat merupakan salah satu persoalan lingkungan yang sangat serius yang hingga saat ini belum ditemukan metode atau teknologi yang secara tepat dapat mengatasi permasalahan tersebut. Namun setiap metode mempunyai kelebihan dan kekurangannya (Pratomo, 2004). Telah banyak tindakan yang dapat dilakukan untuk mengurangi pencemaran pada tanah, salah satunya adalah menggunakan teknik fitoremediasi. Fitoremediasi merupakan salah satu contoh teknik untuk mengurangi tingkat pencemaran pada tanah menggunakan tanaman hijau yang berfungsi memindah, menyerap, atau mengakumulasi serta mengubah kontaminan yang berbahaya menjadi tidak berbahaya (Aryad & Rustiadi, 2008).

Kelebihan dari teknik fitoremediasi adalah lebih bersahabat dengan lingkungan dan tidak membutuhkan banyak biaya (Pratomo, 2004). Teknik ini lebih bersahabat dari lingkungan dikarenakan hanya memberi dampak kecil pada lingkungan dan memberikan kelebihan dalam kesehatan lingkungan, salah satunya dapat mengurangi erosi pada tanah (Singh, 2005). Selain itu, penggunaan tanaman dalam teknik remediasi juga lebih efektif digunakan daripada teknik remediasi lainnya (Singh, 2004).

Tak hanya kelebihan, fitoremediasi juga memiliki kekurangan antara lain waktu yang digunakan lebih lama dan terdapat faktor-faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman selain logam berat (Singh, 2004). Sehingga, teknik ini hanya dapat digunakan pada tanah tercemar kontaminan dalam jumlah rendah sampai cukup (Singh, 2005).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Kegiatan

Penelitian Tugas akhir ini dilakukan di *Screen House* Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Analisis dan pengamatan anatomi dilakukan di laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya. Penelitian akan dilaksanakan mulai bulan Desember 2014 sampai Mei 2015.

3.2 Metode yang Digunakan

3.2.1 Sterilisasi Media Tanam

Tanah disterilisasi dengan pemberian formalin 5% pada tanah menggunakan sprayer, diaduk secara merata dan ditutup rapat dalam plastik selama 7 hari. Setelah 7 hari, plastik dibuka dan tanah dikering anginkan.

3.2.2 Pembuatan Larutan Mangan (Mn)

Pencemaran pada tanah dilakukan dengan cara mencampur tanah dengan logam Mn yang telah dilarutkan. Pada penelitian ini, hanya digunakan satu konsentrasi logam berat mangan (Mn) sebesar 5ppm dengan cara logam Mn sejumlah 5 mg dilarutkan dalam 1000 ml (1 L) akuades sehingga menghasilkan larutan logam berat mangan dengan konsentrasi 5 ppm. Larutan Mn yang telah dibuat, disiram ke masing-masing polybag, dan didiamkan selama 24 jam agar limbah homogen dalam tanah.

3.2.3 Perhitungan Persentase Infeksi Mikoriza

Perhitungan endomikoriza dilakukan dengan menghitung persentase infeksi mikoriza pada akar meliputi pewarnaan akar tanaman yang terinfeksi dan pengamatan di bawah mikroskop. Perhitungan infeksi mikoriza dilakukan setelah sampel dipanen. Sampel akar yang digunakan adalah sampel akar kedelai setelah panen. Sampel akar tanaman yang digunakan dicuci hingga bersih

untuk melepaskan kotoran, kemudian direndam dalam KOH 10% pada suhu 90°C selama 10 menit. Setelah direndam pada suhu 90°C, sampel dibilas dengan air untuk menghilangkan kelebihan KOH dan dimasukkan ke dalam HCl 5% selama 5 menit. HCl yang telah digunakan kemudian dibuang dan sampel diberi zat pewarna 0,05% trypan blue dalam laktofenol sambil direbus selama 3 menit. Pewarna dan laktofenol selanjutnya dibuang dan sampel akar dibiarkan semalam. Setelah dibiarkan semalam, sampel dibilas dengan akuades dan diamati di bawah mikroskop dengan cara meletakkan sampel akar di atas gelas preparat. Setelah diamati, jumlah infeksi mikoriza dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ infeksi} = \frac{\sum \text{akar yang terinfeksi}}{\sum \text{akar yang diamati}} \times 100\%$$

3.2.4 Penanaman Tanaman yang Digunakan

Tanaman yang digunakan adalah tiga jenis tanaman yaitu jarak pagar (*Jatropha curcas*), lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*), dan kedelai (*Glycine max*). Ketiga tanaman tersebut ditanam pada media tanah yang telah tercemar dengan Mn dengan waktu atau umur tanaman yang berbeda. Jarak pagar ditanam terlebih dahulu sebelum kedua tanaman lainnya. Kemudian lamtoro gung, dan terakhir tanaman kedelai sesuai dengan dengan perlakuan yang diberikan dengan menggunakan metode cawan (lampiran 5). Sebelum ditanam, benih direndam dalam aquades selama semalam untuk memecah masa dormansi biji sehingga lebih cepat berkecambah. Benih yang digunakan adalah benih yang tidak mengambang dalam air dan berukuran relatif sama. Kemudian benih ditanam pada media tanah untuk berkecambah dengan pemberian mikoriza *Glomus* sp. dan selanjutnya tanaman dipindahkan ke dalam polybag berisi tanah tercemar dengan umur tanaman jarak pagar yaitu dua minggu, setelah dua minggu kemudian ditanam lamtoro gung yang berumur dua minggu dan dua minggu kemudian ditanam tanaman

terakhir yaitu kedelai yang berumur dua minggu dengan masing-masing jarak tanam antar tanaman sebesar 10 cm dan sesuai dengan perlakuan sebagai berikut :

Tabel 3.3.1 Variabel Perlakuan pada Penelitian

No	Perlakuan
1. (P1)	2 kedelai + 1 lamtoro gung + 1 jarak pagar
2. (P2)	2 kedelai + 1 lamtoro gung + 2 jarak pagar
3. (P3)	2 kedelai + 1 lamtoro gung + 3 jarak pagar
4. (P4)	2 kedelai + 2 lamtoro gung + 1 jarak pagar
5. (P5)	2 kedelai + 2 lamtoro gung + 2 jarak pagar
6. (P6)	2 kedelai + 2 lamtoro gung + 3 jarak pagar
7. (P7)	2 kedelai + 3 lamtoro gung + 1 jarak pagar
8. (P8)	2 kedelai + 3 lamtoro gung + 2 jarak pagar
9. (P9)	2 kedelai + 3 lamtoro gung + 3 jarak pagar
10 P0 (kontrol)	2 kedelai + lamtoro gung dan tanpa jarak pagar

Tanaman yang telah ditanam dan diberi perlakuan pada polybag kemudian dirawat dengan penyiraman setiap hari serta penyiangan gulma apabila ditemukan.

3.2.5 Analisa Logam Berat Mn

Analisa tanah dilakukan 2 kali sebelum dan sesudah penelitian di Laboratorium Kimia, Universitas Brawijaya. Pengamatan dilakukan dengan mengambil masing-masing sampel tanah dalam polybag lalu di analisis di dalam laboratorium.

3.2.6 Pengamatan Pertumbuhan Tanaman

Karakter pertumbuhan tanaman yang diamati adalah bagian batang, akar, dan daun. Pengamatan pada akar meliputi anatomi kerusakan akar. Bagian batang yang diamati adalah tinggi tanaman sedangkan pada daun adalah jumlah daun, karakter daun, dan kadar klorofil dari kedelai (*G. max*). Pengamatan tinggi tanaman dan perhitungan jumlah daun dilakukan setiap minggu selama kurang lebih dua bulan setelah semua tanaman ditanam dalam polybag yang tercemar Mn. Tinggi tanaman di ukur dengan menggunakan benang dan penggaris (alat ukur) dari batas terbawah pertumbuhan sampai batas teratas pertumbuhan yaitu daun terakhir yang tumbuh. Perhitungan jumlah daun dihitung dari banyaknya daun yang

tumbuh pada masing-masing tanaman, baik daun yang sehat maupun yang terkena penyakit.

3.2.7 Pengamatan Kadar Klorofil Daun

Pengamatan kadar klorofil yang dilakukan adalah jumlah kadar klorofil total. Langkah-langkah yang dilakukan dalam penetapan kadar klorofil adalah: ekstraksi sampel, pengukuran dan perhitungan. Sampel daun kedelai ditimbang sebanyak 0,1 gr, dan dihaluskan dengan mortil yang diberi aseton 90% sebanyak 25 ml. Kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh ekstrak jernih. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 645 nm dan 653 nm. Setelah hasil absorbansi didapatkan, untuk mendapatkan nilai kadar klorofil total dilakukan perhitungan secara bertahap dengan rumus sebagai berikut :

$$C_a = 12,7 A_{663} - 2,69 A_{645}$$

$$C_b = 22,9 A_{645} - 4,68 A_{663}$$

$$C_{x+c} = 20,2 A_{645} + 8,02 A_{663}$$

Keterangan:

C_a	: Klorofil a	A_{663}	: Nilai absorbansi 663 nm
C_b	: Klorofil b	A_{645}	: Nilai absorbansi 645 nm
C_{x+c}	: Klorofil total		

3.2.8 Pengamatan Kerusakan Akar

Pengamatan kerusakan akar dilakukan dengan menggunakan metode parafin untuk pembuatan preparat *G. max* yang dilakukan setelah pengamatan pada hari terakhir. Berikut merupakan tahapan dari pembuatan preparat permanen dari akar tanaman kedelai (*G. max*) dengan menggunakan metode parafin.

3.2.8.1 Fiksasi

Sampel akar kedelai (*G. max*) dipotong kurang lebih sebesar 1 cm menggunakan pisau silet. Potongan sampel kemudian difiksasi menggunakan larutan fiksatif FAA selama 24 jam.

3.2.8.2 Pencucian dan Dehidrasi

Tahap selanjutnya yaitu pencucian dan dehidrasi dengan cara larutan fiksatif FAA diganti berturut-turut menggunakan :

Alkohol 70%	30 menit
Alkohol 80%	30 menit
Alkohol 90%	30 menit
Alkohol 100% I	30 menit
Alkohol 100% II	30 menit

Alkohol kemudian dibuang dan dilakukan dehidrasi secara berturut-turut dengan campuran :

Alkohol-butanol 3:1	30 menit
Alkohol-butanol 1:1	30 menit
Alkohol-butanol 1:3	30 menit
Butanol I	30 menit
Butanol II	30 menit
Butanol-parafin 1:9 (57 ⁰ C)	24 jam

3.2.8.3 Infiltrasi

Potongan sampel yang telah dimasukkan ke dalam campuran xylol-parafin 1 : 9 dengan temperatur 57⁰C selama 24 jam kemudian dilarutkan pada proses infiltrasi menggunakan parafin murni pada temperatur 57⁰C selama 24 jam.

3.2.8.4 Penyelubungan

Parafin yang telah digunakan selama 24 jam dibuang dan diganti parafin baru. Setelah 1 jam, kemudian dilanjutkan dengan membuat blok dengan diolesi gliserin. Sampel daun dimasukkan ke dalam blok dan dibiarkan membeku.

3.2.8.5 Pengirisan dan Perekatan

Pengirisan dilakukan dengan memotong blok berisi jaringan menggunakan *rotary microtome*. Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dilakukan dengan tebal 10 µm. Irisan yang telah dibuat kemudian direkatkan pada gelas benda dengan campuran gliserin-albumin yang diberi air dan diletakkan di atas *hot plate* dengan temperatur 45⁰C sampai pita parafin meregang.

3.2.8.6 Pewarnaan

Tahap akhir yaitu pewarnaan. Gelas benda berisi potongan sampel akar tanaman kedelai (*G. max*) kemudian secara berturut – turut dimasukkan ke dalam :

Xylol I	3 menit
Xylol II.....	3 menit
Alkohol-xylol 1 : 3	3 menit
Alkohol-xylol 1 : 1	3 menit
Alkohol-xylol 3 : 1	3 menit
Alkohol 100%	3 menit
Alkohol 95%	3 menit
Alkohol 80%	3 menit
Alkohol 60%	3 menit
Alkohol 40%	3 menit
Alkohol 20%	3 menit
Akuades	3 menit
Safranin 1% dalam akuades.....	2 jam
Akuades	3 menit
Alkohol 20%	3 menit
Alkohol 40%	3 menit
Alkohol 60%	3 menit
Alkohol 80%	3 menit
Alkohol 95%	3 menit
Alkohol 100% I.....	3 menit
Alkohol 100% II.....	3 menit
Alkohol-xylol 3 : 1	3 menit
Alkohol-xylol 1 : 1	3 menit
Alkohol-xylol 1 : 3	3 menit
Xylol I	3 menit
Xylol II	3 menit

Setelah pewarnaan selesai, kemudian irisan diberi entellan dan ditutup dengan gelas penutup yang diberi entellan. Preparat kemudian dikeringkan di atas *hot plate* dengan temperatur 45⁰C hingga entellan cukup kering. Kemudian preparat diamati di bawah mikroskop.

3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap satu faktor dengan 10 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah kombinasi tanaman hiperakumulator jarak pagar dan lamtoro gung yang ditanam pada satu polybag yang sama serta masing-masing dilakukan dalam tiga ulangan dengan denah pengacakan sebagai berikut :

Tabel 3.2 Denah Pengacakan Letak Polybag

Kelompok/ Ulangan (ke-)	Perlakuan										
1	P6	P2	P5	P3	P0	P8	P7	P1	P4	P9	
2	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P0	
3	P0	P8	P9	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	

Parameter yang diamati pada tanaman kedelai meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, kadar klorofil, dan struktur anatomi daun. Selain itu, dilakukan juga analisis kandungan logam berat pada tanah dan tanaman. Karakter pertumbuhan tanaman yang diamati adalah bagian batang, akar, dan daun. Pengamatan pada akar meliputi anatomi kerusakan akar. Bagian batang yang diamati adalah tinggi tanaman sedangkan pada daun adalah jumlah daun, karakter daun, dan kadar klorofil dari kedelai (*G. max*). Tabel pengamatan pertumbuhan *G. max* yang disajikan dalam tabel di bawah ini:

Tabel 3.3 Hasil Pengamatan Morfologi Tanaman

No	Perlakuan	(Tinggi batang/ Jumlah daun)			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1				
2.	P2				
3.	P3				
4.	P4				
5.	P5				
6.	P6				
7.	P7				

8.	P8
9.	P9
10.	P0

Tabel 3.4 Hasil Pengamatan Kadar Klorofil Tanaman

No	Perlakuan	Kadar Klorofil			Rata-rata
		U1	U2	U3	
1.	P1				
2.	P2				
3.	P3				
4.	P4				
5.	P5				
6.	P6				
7.	P7				
8.	P8				
9.	P9				
10.	P0				

Analisis data dilakukan untuk mengetahui pengaruh variabel perlakuan pada pengamatan morfologi dan kadar klorofil dengan menggunakan ANOVA dengan taraf 5% (0,05) pada program SPSS. Apabila terdapat pengaruh yang nyata pada variabel perlakuan, dilakukan uji perbandingan lebih lanjut menggunakan uji LSD pada program SPSS.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

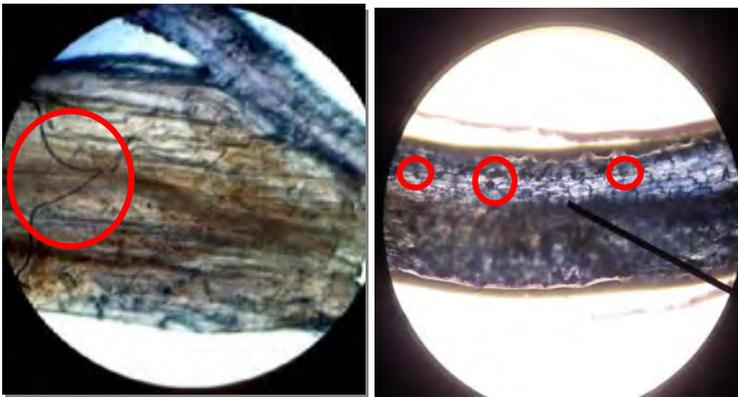
4.1 Persentase Infeksi Mikoriza *Glomus* sp.

Mikoriza dianggap sebagai bagian penting dari sistem perakaran tumbuhan, mikoriza dan tumbuhan hidup dengan melakukan simbiosis (Sverdrup & Stjernquist, 2002). Terjadinya asosiasi antara mikoriza dengan akar tanaman dapat diketahui dengan ada tidaknya infeksi yang terjadi. Perhitungan nilai infeksi mikoriza *Glomus* sp. dilakukan setelah tanaman ditanam dalam media tanam dengan kondisi tercemar Mn. Adanya infeksi dapat diketahui dengan adanya struktur-struktur yang dihasilkan oleh asosiasi mikoriza dengan akar antara lain yaitu hifa, miselia, vesikula, arbuskula, maupun spora. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil persen infeksi tanaman inang yang diinokulasi dengan mikoriza yang disajikan dalam bentuk tabel berikut:

Tabel 4.1 Nilai Rata-Rata Infeksi Mikoriza pada Tanaman Kedelai (*G. max*)

No	Perlakuan	Rata-rata
1.	P1	53%
2.	P2	53%
3.	P3	50%
4.	P4	50%
5.	P5	43%
6.	P6	43%
7.	P7	50%
8.	P8	47%
9.	P9	40%
10.	P0	33%

Berdasarkan tabel 4.1 diketahui bahwa hampir seluruh tanaman yang diberikan perlakuan telah terinfeksi oleh mikoriza *Glomus* sp. Menurut Suharno *et al* (2014), nilai persentase infeksi mikoriza antara 1-10% dianggap infeksi rendah, nilai 10-50% dianggap infeksi cukup, nilai 50-100% dianggap infeksi banyak, dan nilai >90% dianggap infeksi tinggi. Berdasarkan hal tersebut, maka nilai persentase infeksi mikoriza pada tanaman kedelai termasuk dalam kategori cukup yaitu antara 10-50%. Sehingga, dapat diketahui bahwa mikoriza yang digunakan akan membantu pertumbuhan tanaman.



Gambar 4.2 Akar Kedelai (*G.max*) Terinfeksi oleh Mikoriza *Glomus* sp. pada Perbesaran 100X (dokumentasi pribadi).

Pada perlakuan kontrol (P0) dapat diketahui bahwa nilai infeksi mikoriza sangat rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini dapat disebabkan karena kondisi tercekam logam berat Mn. Nilai rata-rata infeksi mikoriza pada tanaman kedelai dengan P0 menjadi sangat rendah dapat dikarenakan tanaman pada pengulangan ke-2 mengalami kematian, sehingga tidak ada akar yang dapat diamati untuk menghitung nilai infeksi mikoriza setelah masa panen. Perlakuan kontrol merupakan perlakuan yang tidak menggunakan kombinasi tanaman hiperakumulator, sehingga tanaman kedelai akan langsung berada dalam kondisi tercekam kelebihan Mn pada tanah yang dapat memberikan

pengaruh buruk pada kehidupan tanaman. Selain itu pula, dapat dilihat bahwa rata-rata nilai infeksi mikoriza menurun bersamaan dengan meningkatnya jumlah tanaman pada satu media yang dapat disebabkan karena tanaman yang digunakan mengeluarkan senyawa asam sehingga kebergantungan tanaman terhadap mikoriza menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi tingkat infeksi mikoriza pada tanaman (Setiadi, 1995) yang menyebabkan mikoriza susah untuk melakukan pertumbuhan. Adanya kemungkinan spora terkumpul hanya pada satu akar tertentu pada tanaman kedelai juga dapat menjadi salah satu faktor adanya penurunan nilai infeksi mikoriza pada tanaman.

4.2 Pengaruh Kombinasi Tanaman Hiperakumulator pada Pertumbuhan Tanaman Kedelai (*G. max*)

Mangan merupakan mikronutrisi esensial yang digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman dan berfungsi sebagai aktivator beberapa enzim (Arya & Roy, 2011). Namun, mangan (Mn) dapat memiliki sifat beracun apabila terdapat dalam jumlah yang terlalu banyak yang menyebabkan kontaminasi lingkungan serta mengganggu proses fotosintesis tumbuhan (Pitman, 2005).

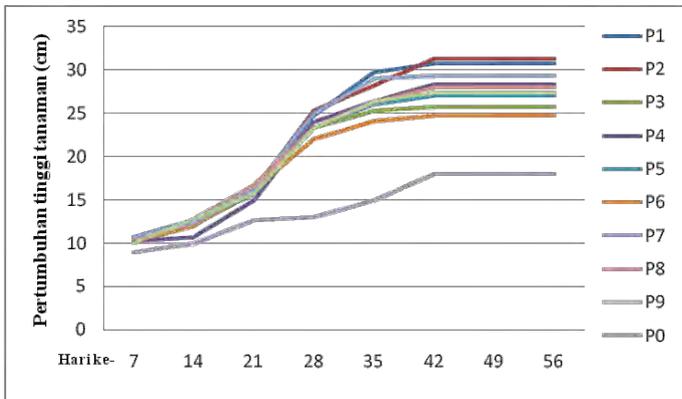
Faktor pertumbuhan yang digunakan sebagai parameter dalam penelitian ini adalah tinggi tanaman dan jumlah daun yang diamati selama dua bulan. Hasil rata-rata parameter pertumbuhan disajikan dalam bentuk grafik dan tabel sebagai berikut : Gambar 4.2- 4.3.

4.2.1 Pengaruh Kombinasi Tanaman Hiperakumulator pada Pertumbuhan Tinggi Tanaman Kedelai (*G. max*)

Salah satu bentuk stress pada tanaman yang disebabkan oleh tingginya mangan pada tanah adalah terganggunya proses pemanjangan pada batang tumbuhan. Setelah dilakukan pengamatan selama dua bulan, didapatkan hasil rata-rata tinggi tanaman sebagai berikut:

Tabel 4.2 Rata-Rata Pertumbuhan Tinggi Tanaman Kedelai (*G. max*)

Perlakuan	Hari ke-							
	7	14	21	28	35	42	49	56
P1	10,3	12,3	15,7	24,7	29,7	30,7	30,7	30,7
P2	10,7	12,3	16	25,3	28,3	31,3	31,3	31,3
P3	10	12	16	23,3	25,3	25,7	25,7	25,7
P4	10,3	10,7	15	24	26,3	28,3	28,3	28,3
P5	10,7	12,7	15,7	23,3	26	27	27	27
P6	10,3	12	16,3	22	24	24,7	24,7	24,7
P7	10,7	12,3	16,3	25	29	29,3	29,3	29,3
P8	10	12,7	16,7	23,3	26,3	28	28	28
P9	10	12,7	15,7	23,3	26,3	27,3	27,3	27,3
P0	9	10	12,7	13	15	18	18	18

Gambar 4.2 Grafik Rata-Rata Pertumbuhan Tinggi Tanaman Kedelai (*G. max*).

Hasil penelitian (gambar 4.2) menunjukkan bahwa tanaman kedelai yang ditanam menggunakan perlakuan 1 dan 2 mampu tumbuh lebih baik dibandingkan dengan tanaman kedelai

yang ditanam pada perlakuan 0 (kontrol). Berdasarkan tabel 4.2, dapat diketahui bahwa nilai Rata-Rata tinggi tanaman tertinggi diperoleh oleh perlakuan 2 (P2) dengan hasil tidak berbeda jauh dengan perlakuan 1 (P1) dan nilai terendah diperoleh oleh perlakuan kontrol (P0). Perlakuan 2 merupakan kombinasi tanaman hiperakumulator dengan 2 jarak pagar dan 1 lamtoro gung sedangkan perlakuan kontrol merupakan perlakuan tanpa menggunakan tanaman hiperakumulator. Tanaman hiperakumulator telah banyak digunakan untuk memperbaiki kualitas tanah yang tercemar logam berat. Salah satu contoh tanaman hiperakumulator yang banyak digunakan dalam perbaikan kualitas tanah adalah jarak pagar (*J. curcas*). Tanaman jarak pagar mempunyai kemampuan untuk memulihkan tanah tercemar dengan cara menyerap dan mengakumulasi pada bagian tanaman yaitu akar, batang, dan daun (Rismawati, 2007).

Pertumbuhan tinggi tanaman juga semakin menurun diikuti dengan jumlah tanaman yang meningkat yang dapat disebabkan karena adanya persaingan nutrisi (kompetisi) antara tiap tanaman pada satu media. Jumlah tanaman dalam satu media telah diketahui dapat menghambat pertumbuhan salah satu tanaman karena kekurangan nutrisi (Setiadi *et al.*, 1989). Selain itu juga dapat disebabkan pada perbedaan jumlah infeksi mikoriza pada pengamatan sebelumnya. Penggunaan mikoriza dalam penelitian ini dilakukan agar tanaman dapat menyerap nutrisi dengan baik dan terhindar dari penyakit lain yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman kedelai. Menurut (Paul & Clark, 1996) mikoriza juga dapat mengurangi kandungan logam berat di sekitar perakaran tanaman. Logam berat tersebut akan diikat dan dikelilingi gugus karboksil dari senyawa pektat (hemiselulose) yang dihasilkan diantara matriks cendawan dan tanaman inang. Pada pengamatan sebelumnya jumlah infeksi mikoriza juga menurun diikuti dengan peningkatan jumlah tanaman, sehingga mikoriza yang digunakan tidak dapat membantu tanaman secara optimal untuk menyerap nutrisi yang dibutuhkan oleh tanaman

dan menyebabkan adanya penurunan pertumbuhan tinggi tanaman kedelai pada tiap-tiap perlakuan.

Selama masa pertumbuhannya, tanaman kedelai dapat terus tumbuh pada hari ke-7 hingga hari ke-42. Setelah hari ke-42, tanaman kedelai tidak melakukan pertumbuhan kembali dapat dikarenakan peningkatan kadar Mn di dalam tanah (lampiran 6). Konsentrasi logam Mn pada media tumbuh mengalami peningkatan dari konsentrasi awal sebesar 7, 23ppm. Meningginya Mn pada tanah dapat disebabkan karena tumbuhan hiperakumulator telah jenuh untuk menyerap logam berat dalam tanah. Pada saat kondisi jenuh, tumbuhan akan mengeluarkan kembali semua kontaminan yang didapat dari dalam tanah sehingga meningkatkan konsentrasi Mn dalam tanah (Nisa, 2015).

Pada masa pertumbuhan tanaman kedelai perlakuan kontrol (P0), dapat dilihat pada tabel 4.2, nilai tinggi tanaman sangat rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan karena adanya tanaman kedelai yang mati pada hari ke-14. Tanaman kedelai yang mati dapat dikarenakan kedelai tersebut tidak mampu mengatasi stress akibat kandungan logam berat Mn yang terlalu tinggi pada tanah. Mn yang terlalu tinggi pada tanah dapat menyebabkan daun mengalami nekrosis dan kesulitan untuk menyerap nutrisi yang dibutuhkan sehingga lama kelamaan tanaman tidak dapat tumbuh dan mengalami kematian (Milaleo *et al*, 2010).

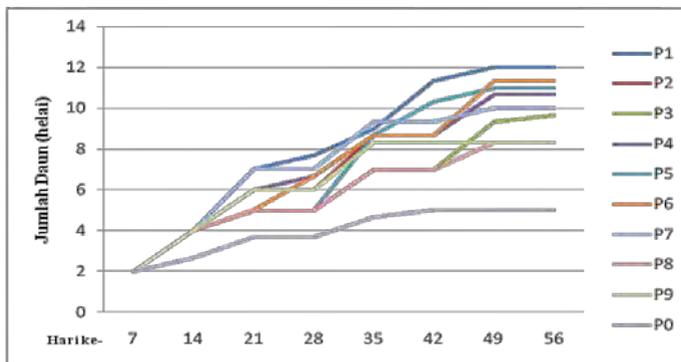
Berdasarkan uji ANOVA, hasil pengamatan tinggi tanaman memiliki nilai *pvalue* > 0,05. Sehingga dapat diketahui bahwa penggunaan tanaman hiperakumulator tidak memberikan pengaruh pada tinggi tanaman kedelai. Hal ini dapat dikarenakan Mn tidak terakumulasi dalam jumlah besar pada batang sehingga pertumbuhan tinggi tanaman tidak terlalu terpengaruh dari tinggi rendahnya kandungan Mn dalam tanah. Menurut Arya & Roy (2011), akumulasi Mn pada batang dan akar akan bertambah mengikuti peningkatan konsentrasi Mn dengan total akumulasi rendah pada batang dibandingkan pada akar.

4.2.2 Pengaruh Kombinasi Tanaman Hiperakumulator pada Pertumbuhan Jumlah Daun Tanaman Kedelai (*G. max*)

Pengamatan jumlah daun dilakukan selama dua bulan dan diamati setiap 7 hari sekali sebelum masa panen. Setelah dua bulan pengamatan, didapatkan hasil rata-rata jumlah daun sebagai berikut:

Tabel 4.3 Rata-Rata Jumlah Daun Tanaman Kedelai (*G.max*)

Perlakuan	Hari ke-							
	7	14	21	28	35	42	49	56
P1	2	4	7	7,67	9,00	11,33	12,00	12,00
P2	2	4	6	6	8,67	8,67	10,67	10,67
P3	2	4	5	5	7	7	9	10
P4	2	4	6	6,67	8,67	8,67	10,67	10,67
P5	2	4	5	5	8,67	10,33	11	11
P6	2	4	5	6,67	8,67	8,67	11,33	11,33
P7	2	4	7	7	9,33	9,33	10,00	10,00
P8	2	4	5	5	7	7	8,33	8,33
P9	2	4	6	6	8,33	8,33	8,33	8,33
P0	2	2,67	3,67	3,67	4,67	5,00	5,00	5,00



Gambar 4.3 Grafik Rata-Rata Jumlah Daun Tanaman Kedelai (*G.max*) Selama Dua Bulan.

Jumlah daun sangat bergantung pada tinggi rendahnya kandungan logam dan unsur hara dalam tanah. Jumlah daun erat hubungannya dengan kemampuan tanaman dalam memanfaatkan unsur hara yang tersedia untuk melakukan proses fotosintesis dalam mendapatkan nutrisi dan sumber makanan. Dengan alasan tersebut, maka pengamatan jumlah daun sangat diperlukan sebagai indikator pertumbuhan tanaman kedelai. Besarnya kandungan Mn dalam tanah diketahui akan memberikan dampak negatif pada pertumbuhan kedelai.

Pada perlakuan kontrol P0 (tanpa menggunakan tanaman hiperakumulator), tanaman kedelai memiliki nilai jumlah daun yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan yang menggunakan tanaman hiperakumulator karena tanaman kedelai harus berusaha hidup pada kondisi yang tercekam logam berat Mn. Hal ini berbeda dengan tanaman kedelai yang ditanam dengan menggunakan tanaman hiperakumulator yang dapat terjadi karena tanaman hiperakumulator dapat menyerap kandungan Mn lebih banyak dalam tanah sehingga tanaman kedelai dapat tumbuh dengan baik. Berdasarkan tabel dan gambar 4.3, dapat dikatakan bahwa jumlah daun terus bertambah hingga hari ke-28, namun setelah hari ke-28 dan seterusnya penambahan jumlah daun tidak terjadi dengan stabil oleh sebagian besar tanaman. Tidak bertambahnya jumlah daun dapat disebabkan karena banyaknya kandungan logam berat yang terserap oleh tanaman kedelai.

Berdasarkan uji analisis ANOVA, pemberian perlakuan memiliki nilai $pvalue < 0,05$ yang berarti bahwa perlakuan kombinasi tanaman hiperakumulator memberikan pengaruh pada pertumbuhan jumlah daun tanaman kedelai. Hasil yang didapatkan berbeda dengan pertumbuhan tinggi tanaman yang memiliki nilai $pvalue > 0,05$. Perbedaan ini dapat disebabkan karena logam berat Mn (yang bersifat racun) pada umumnya menyerang lebih banyak pada bagian daun daripada bagian batang dan akar. Menurut Arya & Roy (2011), Mn yang tinggi setelah diserap oleh akar dan dibawa menuju ke batang dan daun,

akhirnya akan terakumulasi lebih banyak pada bagian daun. Mn dapat ditemukan dalam jumlah banyak pada daun dikarenakan peranan Mn paling besar adalah pada membran kloroplas dan menjadi elektron yang dilakukan pada saat proses fotosintesis tanaman pada daun (Buchanan, 2000).

Setelah didapatkan nilai uji analisis ANOVA dengan nilai $pvalue < 0,05$, maka dilakukan analisis lanjut menggunakan uji LSD untuk mengetahui nilai perbedaan dari masing-masing perlakuan. Berdasarkan nilai uji LSD, dapat diketahui bahwa perlakuan kontrol (P0) menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada perlakuan-perlakuan lainnya, namun antara perlakuan 1 – perlakuan 9 tidak terdapat nilai berbeda nyata yang dapat dilihat pada nilai $pvalue > 0,05$. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa penggunaan kombinasi 1 jarak pagar dan 1 lamtoro (P1) sudah cukup untuk mengatasi stress logam berat yang terjadi pada tanaman kedelai.

4.3 Pengaruh Kombinasi Tanaman Hiperakumulator pada Kadar Klorofil Tanaman Kedelai (*G. max*)

Klorofil merupakan pigmen fotosintetik berwarna hijau yang membantu tanaman untuk mendapatkan energi dari cahaya. Tanaman menggunakan energi tersebut untuk menggabungkan karbon dioksida dan air menjadi karbohidrat yang akan mempertahankan proses kehidupan tanaman (Shibghatallah *et al*, 2013). Klorofil pada tumbuhan umumnya terdiri dari dua macam, yaitu klorofil a dan klorofil b dimana perbedaan kedua klorofil tersebut terletak pada struktur kimia dan fungsinya pada proses penyerapan cahaya (Santoso, 2004).

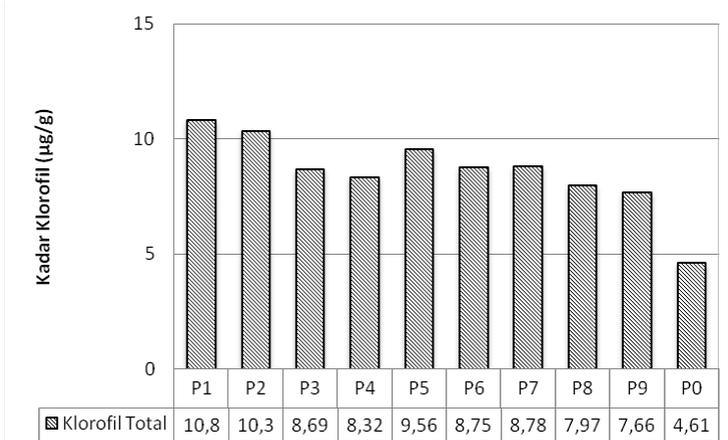
Pada penelitian ini dilakukan perhitungan kadar klorofil (meliputi klorofil A, klorofil B, dan klorofil total) untuk mengetahui apakah kombinasi tanaman hiperakumulator dapat membantu mengurangi stress akibat logam berat Mn pada tanaman kedelai (*G. max*). Salah satu bentuk stress yang terjadi dapat dilihat dari kerusakan ataupun terganggunya sintesis klorofil. Konsentrasi Mn berlebih pada jaringan tumbuhan dapat

mengubah berbagai proses, seperti aktivitas enzim, penyerapan, translokasi, dan pemanfaatan elemen mineral lainnya (Ca, Mg, Fe, dan P) yang menyebabkan stress pada tumbuhan (Ducic dan Polle, 2005; Lei *et al.*, 2007). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi sintesis klorofil, meliputi: cahaya, gula atau karbohidrat, air, temperatur, faktor genetik dan unsur nitrogen (N), magnesium (Mg), besi (Fe), mangan (Mn), tembaga (Cu), Zink (Zn), sulfur (S), dan oksigen (O). Kadar klorofil pada suatu tanaman juga dapat bergantung pada perubahan musim dan lingkungan (Al-Hashmi *et al.*, 2010).

Perhitungan kadar klorofil dapat dilakukan dalam berbagai metode, salah satunya menggunakan penyerapan gelombang cahaya dengan ekstrak aseton pada spektrofotometer yang telah banyak dilakukan di laboratorium saat ini (Shibghatallah *et al.*, 2013). Tahap awal yang harus dilakukan dalam penggunaan metode spektrofotometrik adalah dengan pembuatan ekstrak sampel. Ekstrak sampel didapatkan dengan cara menghaluskan sampel daun dalam mortar yang telah ditimbang dan ditambah senyawa aseton, dimana penggunaan aseton menurut Devlin (1975) dapat melarutkan kedua jenis klorofil pada tumbuhan. Selain menggunakan aseton, kadar klorofil juga dapat dilakukan menggunakan metanol dan dietil eter. Namun, penggunaan aseton telah diketahui lebih akurat dalam menentukan kadar klorofil suatu tumbuhan (Dere *et al.*, 1998). Ekstrak daun *G.max* kemudian disaring dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam cuvet untuk dihitung nilai absorbansinya pada panjang gelombang 645nm dan 663nm menggunakan spektrofotometer.

Setelah didapatkan nilai absorbansi pada panjang gelombang yang telah ditentukan (lampiran 3), nilai yang telah didapat dihitung dengan rumus perhitungan kadar klorofil (sesuai pada bab metodologi kadar klorofil). Hasil perhitungan kadar klorofil pada penelitian ini, didapatkan bahwa nilai tertinggi untuk klorofil A, klorofil B, dan klorofil total diperoleh pada Perlakuan 1 (P1) yaitu kombinasi tanaman hiperakumulator 1

jarak pagar dengan 11 amtoro gung dan tanaman kedelai. Berdasarkan pengujian dan perhitungan yang telah dilakukan, maka didapatkan hasil (secara lengkap) pada gambar berikut:



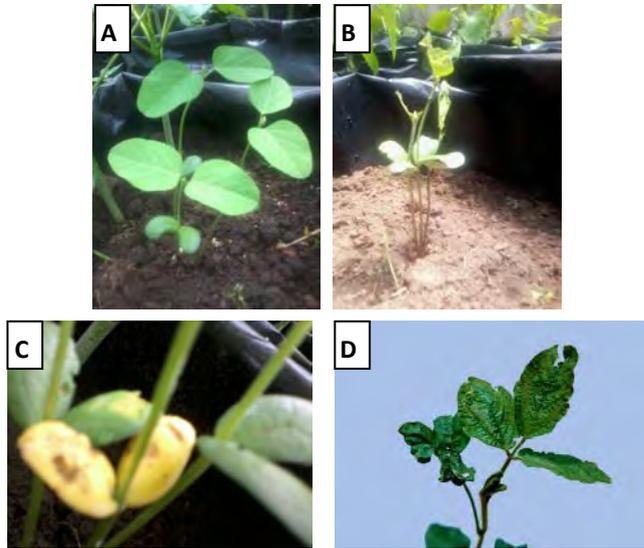
Gambar 4.4 Perbandingan Rata-Rata Kadar Klorofil pada Tanaman Kedelai (*G.max*) dengan *pvalue* < 0,05.

Uji statistik ANOVA *one way* digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator dalam membantu menurunkan stress logam berat Mn pada tanaman kedelai khususnya pada parameter kadar klorofil. Pemberian perlakuan pada penelitian ini memiliki nilai *p value* < 0,05. Sehingga, hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh terhadap kadar klorofil (baik klorofil A, klorofil B, maupun klorofil total) tanaman kedelai yang diberi cekaman Mn.

Setelah diketahui bahwa hasil uji ANOVA menunjukkan adanya pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji LSD untuk mengetahui perlakuan mana yang memberikan pengaruh pada kadar klorofil tanaman kedelai (*G. max*). Berdasarkan hasil uji LSD, dapat diketahui bahwa semua perlakuan memberikan pengaruh pada kadar klorofil tanaman kedelai dengan nilai *p value* < 0,05 yang

dilihat dari perbandingan pemberian perlakuan dengan kontrol. Nilai tertinggi didapatkan pada P1 baik pada klorofil A, klorofil B, dan klorofil total. Kadar klorofil P1 memiliki nilai *pvalue* yang sangat jauh berbeda dengan P0 (kontrol) dimana P0 tidak menggunakan kombinasi tanaman hiperakumulator sehingga Mn langsung diserap oleh tanaman kedelai dan menyebabkan terjadinya gejala keracunan pada tanaman kedelai. Telah diketahui sebelumnya, bahwa peningkatan nilai Mn pada tanah dapat menyebabkan penurunan nilai total klorofil pada tanaman (Arya & Roy, 2011) yang mengakibatkan tanaman mengalami klorosis, daun berwarna kecoklatan, dan nekrosis (Gambar 4.5) sehingga mempengaruhi proses fotosintesis dan metabolisme pada tanaman (Henriques, 2003). Logam berat Mn akan terserap oleh tumbuhan dalam bentuk ion yaitu Mn^{2+} . Ion Mn tersebut kemudian akan digunakan dalam berbagai proses biokimia oleh tanaman (Al-Hashmi *et al*, 2010) salah satunya adalah proses biosintesis klorofil. Proses biosintesis klorofil membutuhkan ion Mn^{2+} dan ion Fe^{2+} sebagai kofaktor enzim dalam proses sintesis klorofil. Ketika jumlah Mn terlalu banyak, maka hampir seluruh bagian enzim akan tertutup oleh Mn sehingga Fe tidak dapat berikatan dengan sisi aktif enzim tersebut dan menyebabkan sintesis klorofil terganggu (Ducic dan Polle, 2005).

Pada dasarnya tumbuhan hiperakumulator telah diketahui dapat mengurangi pencemaran tanah oleh logam berat, dikarenakan tanaman hiperakumulator memiliki serangkaian proses fisiologis dan biokimiawi serta ekspresi gen yang berbeda dari tumbuhan biasa dalam melakukan penyerapan, akumulasi, dan toleransi terhadap logam berat (Hidayati, 2013). Berdasarkan hasil yang didapatkan, maka dapat diketahui bahwa tanaman jarak pagar (*J. curcas*) dan lamtoro gung (*L. leucocephala*) dapat membantu tanaman kedelai menurunkan stress Mn yang terjadi pada tanaman kedelai (*G. max*) khususnya pada kadar klorofil.



Gambar 4.5 Gejala Stress Kelebihan Logam Berat Mn pada Daun Tanaman.

Keterangan : a) daun sehat tanaman kedelai; b) daun mengalami nekrosis; c) daun mengalami klorosis (dokumentasi pribadi); d) daun mengalami klorosis (Hong *et al*, 2010).

4.4 Kerusakan Anatomi Akar Tanaman Kedelai (*G. max*)

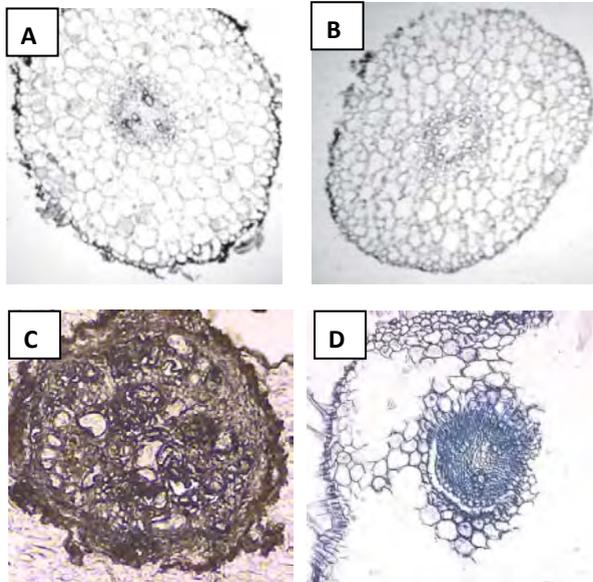
Akar dapat menjadi salah satu parameter untuk mengetahui tingkat kontaminasi pada tanah. Apabila akar mengalami kerusakan, maka akan memberikan dampak negatif pada pertumbuhan tanaman (Ramos *et al*, 2010) dikarenakan nutrisi pertumbuhan untuk tanaman lebih banyak diserap menggunakan akar (Bingham & Bengough, 2003). Karen hal itulah, kerusakan akar menjadi salah satu paramater dalam penelitian ini.

Kerusakan anatomi akar diamati menggunakan mikroskop dengan metode parafin. Metode parafin merupakan metode yang banyak digunakan karena prosesnya lebih cepat dibandingkan metoda lainnya yang digunakan untuk membuat preparat (Gunarso, 1986). Terdapat beberapa proses penting selama

melakukan metode parafin, yaitu fiksasi, pencucian, dehidrasi, dealkoholisasi, infiltrasi, penyelubungan, pewarnaan, dan *embedding*/ pelekatan.

Sampel yang digunakan adalah sampel akar kedelai (*G. max*) setelah masa panen. Akar yang telah diambil kemudian langsung dimasukkan ke dalam larutan FAA yang berfungsi sebagai larutan fiksatif. Kemudian dilanjutkan proses dehidrasi untuk menghilangkan kandungan air menggunakan alkohol bertingkat 40%, 60%, 80%, 96%, dan 100%. Setelah proses dehidrasi, dilanjutkan dengan proses dealkoholisasi yang bertujuan membuang alkohol yang telah digunakan sebelumnya sehingga nantinya bahan yang digunakan dapat berikatan dengan parafin. Langkah selanjutnya adalah infiltrasi yaitu penggantian parafin murni yang berfungsi untuk melekatkan jaringan dan menghilangkan kandungan xylol berlebih pada jaringan. Sampel yang telah menjadi parafin dipotong menggunakan mikrotom, kemudian diwarnai sesuai metode dan diamati di bawah mikroskop.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa di antara perlakuan kontrol (P0) dan perlakuan 1 (P1) tidak ditemukan adanya kerusakan akar yang jelas terlihat jika dibandingkan dengan gambar c dan d (gambar 4.6). Tidak ada perubahan yang terjadi baik pada perlakuan 1 dan perlakuan 0. Kedua perlakuan memiliki struktur anatomi kedelai yang masih sama dengan struktur anatomi kedelai normal. Struktur anatomi di antara keduanya masih terlihat sama dan tidak terlihat adanya kerusakan seperti pada gambar c dan d. Tanaman P1 dan P0 masih memiliki struktur anatomi seperti yang terlihat dengan jelas yaitu epidermis dengan bagian yang masih rapat tidak ada perbedaan atau kerusakan seperti pada gambar c dan d.



Gambar 4.6 Hasil Pengamatan Anatomi Akar Kedelai (*G.max*) Perbesaran 100X.

Keterangan: a) Anatomi akar P1; b) Anatomi akar P0 (dokumentasi pribadi); c) & d) Anatomi akar rusak (Athman *et al*, 2014)

Tidak adanya kerusakan yang terlihat ini dapat disebabkan karena logam berat yang bersifat toksik tersebut tidak terakumulasi dalam jumlah besar pada bagian akar, sehingga logam berat Mn yang berlebih tidak menyerang bagian akar. Menurut Mou, *et al* (2011), Mn berlebih pada tanah diserap oleh akar tanaman kemudian langsung ditransfer pada batang dan daun melalui xylem (Ducic *et al*, 2006) sehingga akar tanaman hanya memiliki kandungan Mn yang rendah (Horst, 1983). Akar merupakan salah satu organ tanaman yang pertama kali berinteraksi dengan logam berat pada tanah. Sehingga, dapat diketahui bahwa tanaman hiperakumulator tidak memberikan pengaruh pada anatomi akar.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator bermikoriza pada fase pembibitan terhadap pertumbuhan *G. max* pada kondisi stress logam berat Mn adalah:

1. Kombinasi tanaman hiperakumulator bermikoriza membantu mengatasi stress logam berat Mn pada daun tanaman kedelai (*G. max*).
2. Kombinasi tanaman hiperakumulator memberikan pengaruh terhadap jumlah daun dan kadar klorofil tanaman kedelai (*G. max*), namun tidak memberikan pengaruh pada tinggi dan akar tanaman kedelai (*G. max*).
3. Penggunaan tanaman hiperakumulator dalam jumlah sedikit yaitu Perlakuan 1 (1 jarak pagar dan 1 lamtoro) sudah cukup untuk mengatasi stress Mn pada daun tanaman kedelai (*G. max*).

5.2 Saran

Saran penelitian pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator bermikoriza pada fase pembibitan terhadap pertumbuhan *G. max* pada kondisi stress logam berat Mn adalah:

1. Kandungan Mn yang diserap oleh tanaman hiperakumulator (*J. curcas* dan *L. leucocephala*) perlu diketahui lebih jelas untuk mengetahui kemampuan kedua tanaman tersebut dalam penyerapan logam berat Mn.
2. Perlu diketahui umur tanaman hiperakumulator terbaik yang digunakan untuk menyerap logam berat sehingga tanaman tidak jenuh dalam menyerap logam Mn pada tanah.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto T. 2005. **Kedelai**. Penebar Swadaya : Jakarta.
- Al-Hashmi, Khalid A. Claereboudt, Michel R. Al-Azri, Adnan, R. Piontovski, Sergey. A, **The Open Oceanography Journal** **4**, 107-114 (2010).
- Alloway B.J. 1990. **Heavy Metal in Soils**. John Willey and Sons inc. : New York.
- Anas, I. 1993. **Pupuk Hayati (Biofertilizar)**. Bogor, Laboratorium Biologi Tanah, Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Andrianto T. T. dan N. Indarto. 2004. **Budidaya dan Analisis Usaha Tani Kedelai, Kacang Hijau, Kacang Panjang**. Absolut: Yogyakarta
- Arisusanti R. J. 2013. Pengaruh mikoriza *Glomus fasciculatum* terhadap akumulasi logam timbal (Pb) pada tanaman *Dahlia pinnata*. **JURNAL SAINS DAN SENI POMITS** Vol. 2, No.2, (2013) 2337-3520.
- Arsyad, S. dan E. Rustiadi. 2008. **Penyelamatan Tanah, Air, dan Lingkungan**. Crestpent Press dan Yayasan Obor Indonesia: Bogor.
- Arya, S.K. dan B.K. Roy. 2011. Maganese induced changes in growth, chlorophyll content and antioxidant activity in seedlings of broad bean (*Vicia faba* L.). **J. Environmental Biology** **32**, 707-711. Trivani Enterprise: India.

Brawijaya P. 2004. Keragaman Genetik Toleransi Kedelai terhadap Tanah Masam. **Skripsi**. Universitas Brawijaya : Malang.

Bingham, I.J.; Bengough. A.G. 2003. Morphological plasticity of wheat and barley roots in response to spatial variation in soil strength. **Plant and soil** 250: 273-282.

Buchanan, B., W. Grusen, dan R. Jones. 2000. Biochemistry and molecular biology of plants. **American Society of Plant Physiologist Maryland**.

Chaney R.L., S.L. Brown, J.S. Angle, and A.J.M. Baker. 1997. Phytoremediation of Soil Metals. **J. Biotechnology** 8: 279-284.

Dadang. 2000. **Jarak Pagar: Tanaman Penghasil Biodiesel**. Penebar Swadaya: Jakarta.

Damardjati D. S., Marwoto, D. K. S. Swastika, D. M. Arsyad, dan Y. Hilman. 2005. **Prospek dan Arah pengembangan Agribisnis Kedelai**. Badan Litbang Pertanian, Departemen Pertanian : Jakarta.

Darmono. 1995. **Logam dalam Sistem Biologi**. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press): Jakarta.

Departemen Pertanian, 2006. **Usaha Pengembangan Kedelai**. Departemen Pertanian : Jakarta.

Dere, S., T. Gunes, dan R. Sivaci. 1998. Spectrophotometric Determination of Chlorophyll – A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Using Different Solvents. Tr. **J. of Botany** 22 13-17.

Devlin, Robert M. 1975. **Plant Physiology Third Edition**. New York: D. Van Nostrand.

Ducic, T., Polle, A. 2005. Transport and detoxification of manganese and copper in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17, 103-112.

Foth H. D. 1951. **Fundamentals of Soil Science**. John Wiley and Sons Inc. : Michigan.

Gissel-Nielsen G. dan A. Jensen. Plant Nutrition – Molecular Biology and Genetics. **Proceedings of the Sixth International Symposium on Genetics and Molecular Biology of Plant Nutrition**. Kluwer Academic Publishers : USA.

Hardiani H. 2009. Potensi tanaman dalam mengakumulasi logam cu pada media tanah terkontaminasi limbah padat industri kertas. **BS. Vol.44 No. 1**. Juni 2009 : 27 – 40.

Henriques, F.S. 2003. Gas exchange, chlorophyll fluorescence kinetics and lipid peroxidation of pecan leaves with varying manganese concentrations. **Plant Science**, 65, 239-244.

Hidayati N. 2013. Mekanisme fisiologis tumbuhan hiperakumulator logam berat. **J. Tek. Ling.** (ISSN 1411-318X). Vol. 14, No. 2, Juli 2013.

Hong, E., Q. Ketterings, dan M. McBride. 2010. **Agronomy Fact Series : Manganese**. Cornell University Cooperative Extension.

Hopkins, W. G. 1995. **Introduction to Plant Physiology** . New York, Toronto, Singapore: John Wiley & Sons, Inc. pp. 285-321.

Juhaite T., F. Syarif, dan N. Hidayati. 2005. Inventarisasi tumbuhan potensial untuk fitoremediasi lahan dan air terdegradasi penambangan emas. **Jurnal Biodiversitas**, Vol. 6, No.1, 31-33.

Lahuddin. 2007. Aspek Unsur Mikro dalam Kesuburan Tanah. **Prosiding**. Guru Besar Tetap Universitas Sumatera Utara: Medan.

Lei, Y., Korpelainen, H., Li, C. 2007. Physiological and biochemical responses to high Mn concentrations in two contrasting *Populus cathayana* Populations. **Chemosphere** 68, 686-694.

Miettinen J.K. 1977. **Inorganic Trace Element as Water Pollutan to Healt and Aquatic Biota dalam F. Coulation an E. Mrak, Ed. Water Quality Procced of an Int. Forum**. Academic Press: New York.

Millaleo, R., M. Reyes-Diaz, A.G. Ivanov, M.L. Mora, dan M. Alberdi. 2010. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. **Thesis**. Programa de Doctorado en Ciencias de Resource Naturales, Universidad de La Frontera, Casila Chile.

Pahan. 2006. **Kelapa Sawit**. Penebar Swadaya: Jakarta.

Parnata, A. S. 2010. **Meningkatkan Hasil Panen dengan Pupuk Organik**. PT Agromedia Pustaka : Jakarta.

Paul, E. dan F. Clark. 1996. **Soil Microbiology and Biochemistry**. Academic Press New York.

Pitman, J. K.: Manganese molecular mechanism of manganese transport and homeostasis. **J. New Phytol.**, 167, 733-742 (2005).

Pratomo, S. 2004. Fitoremediasi Zn (Seng) Menggunakan Tanaman Normal dan Transgenik *Solanum ningrum* L. **Tesis**. Program Magister Ilmu Lingkungan, Universitas Diponegoro, Semarang.

- Prihandana R. dan R. Hendroko. 2006. **Petunjuk Budidaya Jarak Pagar**. Agromedia Pustaka: Jakarta.
- Pringgohandoko B. dan O.S. Padmini 1999. Pengaruh Rhizo-plus dan Pemberian Cekaman Air Selama Stadia Reproduksi terhadap Hasil dan Kualitas Biji Kedelai. **Jurnal Agrivet**. Vol 1.
- Purnomo, H. 2010. **Pengantar Pengendalian Hayati**. ANDI OFFSET: Yogyakarta.
- Purwanto I. 2007. **Mengenal Lebih Dekat Leguminosae**. Kanisius: Yogyakarta.
- Rahmawati, S.I. 2007. Fitoremediasi Tanah Tercemar Logam Berat Seng (Zn) Menggunakan Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). **Tugas Akhir**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi ITS Surabaya.
- Ramos, J.C., S.D.C. Imhoff, M.A. Pilatti, dan A.C. Vegetti. 2010. Morphological characteristic of soybean root apexes as indicators of soil compaction. **Sci. Agriculture (Piracicaba, Braz.)** V. 67 p. 707-712.
- Rochyatun, Endang, Edward, dan A. Rozak. 2003. Kandungan logam berat Pb, Cd, Cu, Zn, Ni, Cr, Mn & Fe dalam air laut dan sedimen di perairan kalimantan timur. **Oceanologi dan Limnologi di Indonesia** No 35: 51-71 ISSN 0125-9830.
- Rondonuwu S.B. 2014. Fitoremediasi Limbah Merkuri Menggunakan Tanaman dan Sistem Reaktor. **Skripsi**. Program Sarjana Biologi FMIPA : Manado.
- Rosmarkum A. dan N.W. Yuwono. 2002. **Ilmu Kesuburan Tanah**. Kanisius: Yogyakarta.

Ross S. 1994. **Toxic Metals in Soil-Plant Systems**. John Wiley & Sons : Chichester, UK.

Rubatzky V. E. dan M. Yamaguchi. 1998. **Sayuran Dunia 2 Prinsip, Produksi, dan Gizi**. ITB : Bandung

Rukmana H.R., dan Y.Yuniarsih. 1996. **Kedelai, Budidaya dan Pasca Panen**. Kanisius : Yogyakarta.

Santoso. 2004. **Fisiologi Tumbuhan**. Bengkulu: Universitas Muhammadiyah Bengkulu.

Sarief E. S. 1986. **Ilmu Tanah Pertanian**. Pustaka Buana : Bandung.

Setiadi, Dedi, dan A. Yusron. 1989. **Penuntun Ekologi**. Ilmu Hayati IPB : Bogor.

Setiadi, Y. 1995. Arbuscular mycorrhizal inoculum production. Dalam **Prosiding: Teknologi Produksi dan Pemanfaatan Inokulan Endo-Ektomikoriza untuk Pertanian**, Perkebunan dan Kehutanan (Simarmata T, Arief DH, Surmani Y, Hindersah R, Azirin A dan AM Kalay, Eds). Asosiasi Mikoriza Indonesia-Jawa Barat. ISBN 979-98255-0-4

Singh, A. dan O.P. Ward. **Applied Bioremediation and Phytoremediation**. Springer : New Delhi.

Singh, V. P. 2005. **Toxic Metals and Environmental Issues**. Sarup & Sons: New Delhi.

Slamet, Juli Soemirat. 2007. **Kesehatan Lingkungan**. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.

Subowo, S. Mulyadi, Widodo, dan A. Nugraha. 1999. Status dan Penyebaran Pb, Cd, dan Pestisida pada Lahan Sawah Intensifikasi di Pinggir Jalan Raya. **Prosiding**. Bidang Kimia dan Bioteknologi Tanah, Puslittanak : Bogor.

Suhendi D. dan Purwadi. 1994. Lamtoro Resisten Kutu Loncat Mendukung Budi Daya Kopi Organik. **Prosiding Gelar Teknologi Kopi Arabica Organik Takengon**.

Suprpti, L. M. 2005. **Teknologi Tepat Guna Kembang Tahu dan Susu Kedelai**. Kanisius: Yogyakarta.

Suprayitno. 1981. **Lamtoro Gung dan Manfaatnya**. Bharata karya Aksara : Jakarta.

Sutedjo M.M dan A.G. Kartasapoetra. 2005. **Pengantar Ilmu Tanah**. PT RINEKA CIPTA: Jakarta.

Sverdrup, H., I. Stjernquist. 2002. **Developing Principles and Models for Sustainable Forestry in Sweden**. Springer Science New York.

Wardle D. A. 2006. The influence of biotic interactions on soil biodiversity. **Ecology Letters**, 9: 870–886. Blackwell Publishing Ltd.

Widyati E. 2011. Potensi tumbuhan bawah sebagai akumulator logam berat untuk membantu rehabilitasi lahan bekas tambang. **Hutan Tanaman**. Vol 6(2)(46-56).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LAMPIRAN

Lampiran 1. Nilai Infeksi Mikoriza

No	Perlakuan	Infeksi Mikoriza			Total
		U1	U2	U3	
1.	P1	5	5	6	16
2.	P2	6	5	5	16
3.	P3	5	5	5	15
4.	P4	5	4	6	15
5.	P5	4	3	6	13
6.	P6	5	4	4	13
7.	P7	6	4	5	15
8.	P8	6	6	3	15
9.	P9	5	5	4	14
10.	P0	5	0	5	10

Lampiran 2. Hasil Pengamatan Tinggi Tanaman Kedelai

- 7 hst

No	Perlakuan	Tinggi Batang (cm)			Rata-rata
		U1	U2	U3	
1.	P1	9	12	10	10,3
2.	P2	10	13	9	10,7
3.	P3	9	11	10	10,0
4.	P4	8	12	11	10,3
5.	P5	10	11	11	10,7
6.	P6	11	11	9	10,3
7.	P7	10	11	11	10,7
8.	P8	10	12	8	10,0

9.	P9	11	9	10	10,0
10.	P0	9	8	10	9,0

- 14 hst

No	Perlakuan	Tinggi Batang (cm)			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	11	14	12	12,3
2.	P2	12	15	10	12,3
3.	P3	11	13	12	12,0
4.	P4	10	12	10	10,7
5.	P5	12	13	13	12,7
6.	P6	12	13	11	12,0
7.	P7	11	12	14	12,3
8.	P8	13	14	11	12,7
9.	P9	13	12	13	12,7
10.	P0	11	9	10	10,0

- 21 hst

No	Perlakuan	Tinggi Batang (cm)			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	14	17	16	15,7
2.	P2	16	17	15	16,0
3.	P3	15	18	15	16,0
4.	P4	14	17	14	15,0
5.	P5	15	16	16	15,7
6.	P6	17	17	15	16,3
7.	P7	17	16	16	16,3
8.	P8	16	17	17	16,7
9.	P9	17	15	15	15,7

10.	P0	13	13	12	12,7
-----	----	----	----	----	------

- 28 hst

No	Perlakuan	Tinggi Batang (cm)			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	24	24	26	24,7
2.	P2	26	25	25	25,3
3.	P3	22	24	24	23,3
4.	P4	23	25	24	24,0
5.	P5	23	23	24	23,3
6.	P6	21	23	22	22,0
7.	P7	25	23	27	25,0
8.	P8	23	22	25	23,3
9.	P9	24	21	25	23,3
10.	P0	20	0	19	13,0

- 35 hst

No	Perlakuan	Tinggi Batang (cm)			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	31	28	30	29,7
2.	P2	31	26	28	28,3
3.	P3	24	24	28	25,3
4.	P4	26	25	28	26,3
5.	P5	25	24	29	26,0
6.	P6	24	24	24	24,0
7.	P7	30	26	31	29,0
8.	P8	24	24	31	26,3
9.	P9	24	24	31	26,3
10.	P0	22	0	23	15,0

- 42 hst

No	Perlakuan	Tinggi Batang (cm)			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	31	30	31	30,7
2.	P2	40	26	28	31,3
3.	P3	25	24	28	25,7
4.	P4	30	25	30	28,3
5.	P5	25	24	32	27,0
6.	P6	26	24	24	24,7
7.	P7	31	26	31	29,3
8.	P8	29	24	31	28,0
9.	P9	25	26	31	27,3
10.	P0	27	0	27	18,0

- 49 hst

No	Perlakuan	Tinggi Batang (cm)			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	31	30	31	30,7
2.	P2	40	26	28	31,3
3.	P3	25	24	28	25,7
4.	P4	30	25	30	28,3
5.	P5	25	24	32	27,0
6.	P6	26	24	24	24,7
7.	P7	31	26	31	29,3
8.	P8	29	24	31	28,0
9.	P9	25	26	31	27,3
10.	P0	27	0	27	18,0

• 56 hst

No	Perlakuan	Tinggi Batang (cm)			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	31	30	31	30,7
2.	P2	40	26	28	31,3
3.	P3	25	24	28	25,7
4.	P4	30	25	30	28,3
5.	P5	25	24	32	27,0
6.	P6	26	24	24	24,7
7.	P7	31	26	31	29,3
8.	P8	29	24	31	28,0
9.	P9	25	26	31	27,3
10.	P0	27	0	27	18,0

Hasil ANOVA Tinggi Tanaman Kedelai (*G. max*)

Descriptives

TinggiTanaman

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	6.3333	6.02771	3.48010	-8.6403	21.3070	.00	12.00
1	3	8.6667	2.88675	1.66667	1.4956	15.8378	7.00	12.00
2	3	8.6667	2.88675	1.66667	1.4956	15.8378	7.00	12.00
3	3	7.0000	.00000	.00000	7.0000	7.0000	7.00	7.00
4	3	8.6667	2.88675	1.66667	1.4956	15.8378	7.00	12.00
5	3	8.6667	2.88675	1.66667	1.4956	15.8378	7.00	12.00
6	3	8.6667	2.88675	1.66667	1.4956	15.8378	7.00	12.00
7	3	8.6667	2.88675	1.66667	1.4956	15.8378	7.00	12.00
8	3	7.0000	.00000	.00000	7.0000	7.0000	7.00	7.00
9	3	8.6667	2.88675	1.66667	1.4956	15.8378	7.00	12.00
Total	30	8.1000	2.70823	.49445	7.0887	9.1113	.00	12.00

Test of Homogeneity of Variances

TinggiTanaman

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.754	9	20	.028

ANOVA

TinggiTanaman

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23.367	9	2.596	.274	.975
Within Groups	189.333	20	9.467		
Total	212.700	29			

Lampiran 3. Hasil Pengamatan Jumlah Daun Tanaman Kedelai

• 7 hst

No	Perlakuan	Jumlah daun			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	2	2	2	2
2.	P2	2	2	2	2
3.	P3	2	2	2	2
4.	P4	2	2	2	2
5.	P5	2	2	2	2
6.	P6	2	2	2	2
7.	P7	2	2	2	2
8.	P8	2	2	2	2
9.	P9	2	2	2	2
10.	P0	2	2	2	2

• 14 hst

No	Perlakuan	Jumlah daun			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	4	4	4	4
2.	P2	4	4	4	4
3.	P3	4	4	4	4
4.	P4	4	4	4	4
5.	P5	4	4	4	4
6.	P6	4	4	4	4
7.	P7	4	4	4	4
8.	P8	4	4	4	4
9.	P9	4	4	4	4
10.	P10	4	0	4	3

- 21 hst

No	Perlakuan	Jumlah daun			Rata-rata
		U1	U2	U3	
1.	P1	7	7	7	7
2.	P2	7	4	7	6
3.	P3	4	4	7	5
4.	P4	7	4	7	6
5.	P5	4	4	7	5
6.	P6	7	4	4	5
7.	P7	7	7	7	7
8.	P8	4	4	7	5
9.	P9	4	7	7	6
10.	P10	4	0	7	4

- 28 hst

No	Perlakuan	Jumlah daun			Rata-rata
		U1	U2	U3	
1.	P1	7	9	7	8
2.	P2	7	4	7	6
3.	P3	4	4	7	5
4.	P4	7	6	7	7
5.	P5	4	4	7	5
6.	P6	8	5	7	7
7.	P7	7	7	7	7
8.	P8	4	4	7	5
9.	P9	4	7	7	6
10.	P10	4	0	7	4

- 35 hst

No	Perlakuan	Jumlah daun			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	7	12	7	9
2.	P2	12	7	7	9
3.	P3	7	7	7	7
4.	P4	12	7	7	9
5.	P5	7	7	12	9
6.	P6	12	7	7	9
7.	P7	7	7	12	9
8.	P8	7	7	7	7
9.	P9	7	12	7	9
10.	P10	7	0	12	6

- 42 hst

No	Perlakuan	Jumlah daun			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	7	12	7	9
2.	P2	12	7	7	9
3.	P3	7	7	7	7
4.	P4	12	7	7	9
5.	P5	7	7	12	9
6.	P6	12	7	7	9
7.	P7	7	7	12	9
8.	P8	7	7	7	7
9.	P9	7	12	7	9
10.	P10	7	0	12	6

- 49 hst

No	Perlakuan	Jumlah daun			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	12	12	10	11
2.	P2	12	11	9	11
3.	P3	7	12	8	9
4.	P4	12	10	10	11
5.	P5	12	7	14	11
6.	P6	12	11	11	11
7.	P7	9	9	14	11
8.	P8	10	9	9	9
9.	P9	11	12	9	11
10.	P10	8	0	12	7

- 56 hst

No	Perlakuan	Jumlah daun			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	12	12	10	11
2.	P2	12	11	9	11
3.	P3	7	12	8	9
4.	P4	12	10	10	11
5.	P5	12	7	14	11
6.	P6	12	11	11	11
7.	P7	9	9	14	11
8.	P8	10	9	9	9
9.	P9	11	12	9	11
10.	P10	8	0	12	7

Hasil ANOVA Jumlah Daun Kedelai (*G.max*)

ANOVA

JumlahDaun					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	112.300	9	12.478	2.447	.046
Within Groups	102.000	20	5.100		
Total	214.300	29			

Hasil LSD Jumlah Daun Kedelai (*G.max*)

JumlahDaun LSD						
(I) Perla kuan	(J) Perla kuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-7.000 ^a	1.844	.001	-10.85	-3.15
	2	-5.667 ^a	1.844	.006	-9.51	-1.82
	3	-4.667 ^a	1.844	.020	-8.51	-.82
	4	-5.667 ^a	1.844	.006	-9.51	-1.82
	5	-6.000 ^a	1.844	.004	-9.85	-2.15
	6	-6.333 ^a	1.844	.003	-10.18	-2.49
	7	-5.000 ^a	1.844	.013	-8.85	-1.15
	8	-3.333	1.844	.086	-7.18	.51
	9	-3.333	1.844	.086	-7.18	.51
1	0	7.000 ^b	1.844	.001	3.15	10.85
	2	1.333	1.844	.478	-2.51	5.18
	3	2.333	1.844	.220	-1.51	6.18
	4	1.333	1.844	.478	-2.51	5.18
	5	1.000	1.844	.594	-2.85	4.85
	6	.667	1.844	.721	-3.18	4.51
	7	2.000	1.844	.291	-1.85	5.85
	8	3.667	1.844	.061	-.18	7.51
	9	3.667	1.844	.061	-.18	7.51
2	0	5.667 ^b	1.844	.006	1.82	9.51
	1	-1.333	1.844	.478	-5.18	2.51
	3	1.000	1.844	.594	-2.85	4.85
	4	.000	1.844	1.000	-3.85	3.85
	5	-.333	1.844	.858	-4.18	3.51
	6	-.667	1.844	.721	-4.51	3.18
	7	.667	1.844	.721	-3.18	4.51
	8	2.333	1.844	.220	-1.51	6.18
	9	2.333	1.844	.220	-1.51	6.18

3	0	4.667'	1.844	.020	.82	8.51
	1	-2.333	1.844	.220	-6.18	1.51
	2	-1.000	1.844	.594	-4.85	2.85
	4	-1.000	1.844	.594	-4.85	2.85
	5	-1.333	1.844	.478	-5.18	2.51
	6	-1.667	1.844	.377	-5.51	2.18
	7	-.333	1.844	.858	-4.18	3.51
	8	1.333	1.844	.478	-2.51	5.18
	9	1.333	1.844	.478	-2.51	5.18
	4	0	5.667'	1.844	.006	1.82
1		-1.333	1.844	.478	-5.18	2.51
2		.000	1.844	1.000	-3.85	3.85
3		1.000	1.844	.594	-2.85	4.85
5		-.333	1.844	.858	-4.18	3.51
6		-.667	1.844	.721	-4.51	3.18
7		.667	1.844	.721	-3.18	4.51
8		2.333	1.844	.220	-1.51	6.18
9		2.333	1.844	.220	-1.51	6.18
5		0	6.000'	1.844	.004	2.15
	1	-1.000	1.844	.594	-4.85	2.85
	2	.333	1.844	.858	-3.51	4.18
	3	1.333	1.844	.478	-2.51	5.18
	4	.333	1.844	.858	-3.51	4.18
	6	-.333	1.844	.858	-4.18	3.51
	7	1.000	1.844	.594	-2.85	4.85
	8	2.667	1.844	.164	-1.18	6.51
	9	2.667	1.844	.164	-1.18	6.51
	6	0	6.333'	1.844	.003	2.49
1		-.667	1.844	.721	-4.51	3.18
2		.667	1.844	.721	-3.18	4.51
3		1.667	1.844	.377	-2.18	5.51
4		.667	1.844	.721	-3.18	4.51
5		.333	1.844	.858	-3.51	4.18
7		1.333	1.844	.478	-2.51	5.18
8		3.000	1.844	.119	-.85	6.85
9		3.000	1.844	.119	-.85	6.85
7		0	5.000'	1.844	.013	1.15
	1	-2.000	1.844	.291	-5.85	1.85
	2	-.667	1.844	.721	-4.51	3.18
	3	.333	1.844	.858	-3.51	4.18
	4	-.667	1.844	.721	-4.51	3.18
	5	-1.000	1.844	.594	-4.85	2.85
	6	-1.333	1.844	.478	-5.18	2.51
	8	1.667	1.844	.377	-2.18	5.51
	9	1.667	1.844	.377	-2.18	5.51

8	0	3.333	1.844	.086	-.51	7.18
	1	-3.667	1.844	.061	-7.51	.18
	2	-2.333	1.844	.220	-6.18	1.51
	3	-1.333	1.844	.478	-5.18	2.51
	4	-2.333	1.844	.220	-6.18	1.51
	5	-2.667	1.844	.164	-6.51	1.18
	6	-3.000	1.844	.119	-6.85	.85
	7	-1.667	1.844	.377	-5.51	2.18
	9	.000	1.844	1.000	-3.85	3.85
9	0	3.333	1.844	.086	-.51	7.18
	1	-3.667	1.844	.061	-7.51	.18
	2	-2.333	1.844	.220	-6.18	1.51
	3	-1.333	1.844	.478	-5.18	2.51
	4	-2.333	1.844	.220	-6.18	1.51
	5	-2.667	1.844	.164	-6.51	1.18
	6	-3.000	1.844	.119	-6.85	.85
	7	-1.667	1.844	.377	-5.51	2.18
	8	.000	1.844	1.000	-3.85	3.85

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4. Hasil Pengamatan Kadar Klorofil Tanaman Kedelai Absorbansi 645nm

Perlakuan	Ulangan		
	U1	U2	U3
P1	0,301	0,382	0,331
P2	0,322	0,363	0,277
P3	0,222	0,281	0,241
P4	0,231	0,222	0,233
P5	0,253	0,357	0,256
P6	0,334	0,227	0,211
P7	0,253	0,283	0,229
P8	0,224	0,212	0,237
P9	0,197	0,201	0,221

Kontrol	0,189	0	0,209
Absorbansi 663nm			
Perlakuan	Ulangan		
	U1	U2	U3
P1	0,500	0,502	0,496
P2	0,462	0,487	0,500
P3	0,476	0,453	0,448
P4	0,431	0,476	0,480
P5	0,477	0,468	0,450
P6	0,434	0,427	0,468
P7	0,453	0,483	0,425
P8	0,414	0,467	0,407
P9	0,397	0,481	0,429
Kontrol	0,368	0	0,357

Klorofil A

No	Perlakuan	Kadar Klorofil			Rata-rata
		U1	U2	U3	
1.	P1	5,54031	5,34782	5,40881	5,43231
2.	P2	5,00122	5,20843	5,60487	5,27151
3.	P3	5,44802	4,99721	5,04131	5,16218
4.	P4	4,85231	5,44802	5,46923	5,25652
5.	P5	5,37733	4,98327	5,02636	5,12899
6.	P6	4,61334	4,81227	5,37601	4,93387
7.	P7	5,07253	5,37283	4,78149	5,07562
8.	P8	4,65524	5,36062	4,53137	4,84908
9.	P9	4,51197	5,56801	4,85381	4,97793
10.	P0	4,16519	0	3,97169	2,71229

Klorofil B

No	Perlakuan	Kadar Klorofil			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	4,55290	6,39844	5,25862	5,40332
2.	P2	5,21164	6,03354	4,00330	5,08283
3.	P3	2,85612	4,31486	3,42226	3,53108
4.	P4	3,27282	2,85612	3,08930	3,07275
5.	P5	3,56134	5,98506	3,75640	4,43427
6.	P6	5,61748	3,19994	2,64166	3,81969
7.	P7	3,67366	4,22026	3,25510	3,71634
8.	P8	3,19208	2,66924	3,52254	3,12795
9.	P9	2,65334	2,35182	3,05318	2,68611
10.	P0	2,60586	0	3,11534	1,90707

Klorofil Total

No	Perlakuan	Kadar Klorofil			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1	10,09020	11,74244	10,66412	10,83225
2.	P2	10,20964	11,23834	9,60540	10,35113
3.	P3	8,30192	9,30926	8,46116	8,69078
4.	P4	8,12282	8,30192	8,55620	8,32698
5.	P5	8,93614	10,96476	8,78020	9,56037
6.	P6	10,22748	8,00994	8,01556	8,75099
7.	P7	8,74366	9,59026	8,03430	8,78941
8.	P8	7,84508	8,02774	8,05154	7,97479
9.	P9	7,16334	7,91782	7,90478	7,66198
10.	P0	6,76916	0	7,08494	4,61803

Hasil ANOVA Kadar Klorofil Daun Kedelai (*G. max*)

ANOVA

KlorofilTotal					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	78.661	9	8.740	4.033	.005
Within Groups	43.344	20	2.167		
Total	122.005	29			

Hasil LSD Kadar Klorofil Daun Kedelai (*G. max*)

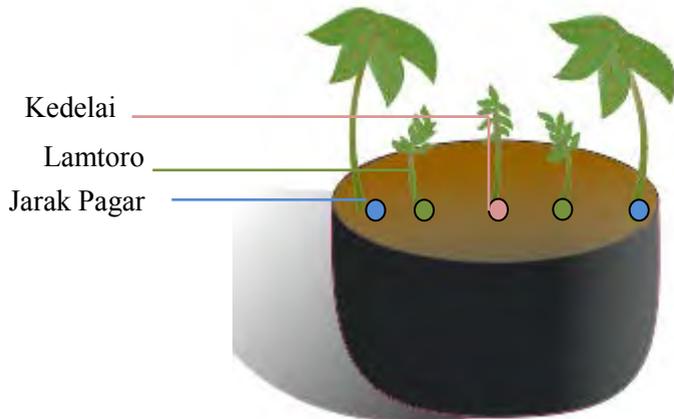
KlorofilTotal LSD						
(I) Perla kuan	(J) Perla kuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-6.21422000'	1.2019E0	.000	-8.7215453	-3.7068947
	2	-5.73309333'	1.2019E0	.000	-8.2404186	-3.2257680
	3	-4.07274667'	1.2019E0	.003	-6.5800720	-1.5654214
	4	-3.70894667'	1.2019E0	.006	-6.2162720	-1.2016214
	5	-4.94233333'	1.2019E0	.001	-7.4496586	-2.4350080
	6	-4.13296000'	1.2019E0	.003	-6.6402853	-1.6256347
	7	-4.17137333'	1.2019E0	.002	-6.6786986	-1.6640480
	8	-3.35675333'	1.2019E0	.011	-5.8640786	-.8494280
	9	-3.04394667'	1.2019E0	.020	-5.5512720	-.5366214
1	0	6.21422000'	1.2019E0	.000	3.7068947	8.7215453
	2	.48112667	1.2019E0	.693	-2.0261986	2.9884520
	3	2.14147333	1.2019E0	.090	-.3658520	4.6487986
	4	2.50527333	1.2019E0	.050	-.0020520	5.0125986
	5	1.27188667	1.2019E0	.303	-1.2354386	3.7792120
	6	2.08126000	1.2019E0	.099	-.4260653	4.5885853
	7	2.04284667	1.2019E0	.105	-.4644786	4.5501720
	8	2.85746667'	1.2019E0	.028	.3501414	5.3647920
	9	3.17027333'	1.2019E0	.016	.6629480	5.6775986
2	0	5.73309333'	1.2019E0	.000	3.2257680	8.2404186
	1	-.48112667	1.2019E0	.693	-2.9884520	2.0261986
	3	1.66034667	1.2019E0	.182	-.8469786	4.1676720
	4	2.02414667	1.2019E0	.108	-.4831786	4.5314720
	5	.79076000	1.2019E0	.518	-1.7165653	3.2980853
	6	1.60013333	1.2019E0	.198	-.9071920	4.1074586
	7	1.56172000	1.2019E0	.209	-.9456053	4.0690453
	8	2.37634000	1.2019E0	.062	-.1309853	4.8836653
	9	2.68914667'	1.2019E0	.037	.1818214	5.1964720

3	0	4.07274667'	1.2019E0	.003	1.5654214	6.5800720
	1	-2.14147333	1.2019E0	.090	-4.6487986	.3658520
	2	-1.66034667	1.2019E0	.182	-4.1676720	.8469786
	4	.36380000	1.2019E0	.765	-2.1435253	2.8711253
	5	-.86958667	1.2019E0	.478	-3.3769120	1.6377386
	6	-.06021333	1.2019E0	.961	-2.5675386	2.4471120
	7	-.09862667	1.2019E0	.935	-2.6059520	2.4086986
	8	.71599333	1.2019E0	.558	-1.7913320	3.2233186
	9	1.02880000	1.2019E0	.402	-1.4785253	3.5361253
	4	0	3.70894667'	1.2019E0	.006	1.2016214
1		-2.50527333	1.2019E0	.050	-5.0125986	.0020520
2		-2.02414667	1.2019E0	.108	-4.5314720	.4831786
3		-.36380000	1.2019E0	.765	-2.8711253	2.1435253
5		-1.23338667	1.2019E0	.317	-3.7407120	1.2739386
6		-.42401333	1.2019E0	.728	-2.9313386	2.0833120
7		-.46242667	1.2019E0	.705	-2.9697520	2.0448986
8		.35219333	1.2019E0	.773	-2.1551320	2.8595186
9		.66500000	1.2019E0	.586	-1.8423253	3.1723253
5		0	4.94233333'	1.2019E0	.001	2.4350080
	1	-1.27188667	1.2019E0	.303	-3.7792120	1.2354386
	2	-.79076000	1.2019E0	.518	-3.2980853	1.7165653
	3	.86958667	1.2019E0	.478	-1.6377386	3.3769120
	4	1.23338667	1.2019E0	.317	-1.2739386	3.7407120
	6	.80937333	1.2019E0	.508	-1.6979520	3.3166986
	7	.77096000	1.2019E0	.529	-1.7363653	3.2782853
	8	1.58558000	1.2019E0	.202	-.9217453	4.0929053
	9	1.89838667	1.2019E0	.130	-.6089386	4.4057120
	6	0	4.13296000'	1.2019E0	.003	1.6256347
1		-2.08126000	1.2019E0	.099	-4.5885853	.4260653
2		-1.60013333	1.2019E0	.198	-4.1074586	.9071920
3		.06021333	1.2019E0	.961	-2.4471120	2.5675386
4		.42401333	1.2019E0	.728	-2.0833120	2.9313386
5		-.80937333	1.2019E0	.508	-3.3166986	1.6979520
7		-.03841333	1.2019E0	.975	-2.5457386	2.4689120
8		.77620667	1.2019E0	.526	-1.7311186	3.2835320
9		1.08901333	1.2019E0	.376	-1.4183120	3.5963386
7		0	4.17137333'	1.2019E0	.002	1.6640480
	1	-2.04284667	1.2019E0	.105	-4.5501720	.4644786
	2	-1.56172000	1.2019E0	.209	-4.0690453	.9456053
	3	.09862667	1.2019E0	.935	-2.4086986	2.6059520
	4	.46242667	1.2019E0	.705	-2.0448986	2.9697520
	5	-.77096000	1.2019E0	.529	-3.2782853	1.7363653
	6	.03841333	1.2019E0	.975	-2.4689120	2.5457386
	8	.81462000	1.2019E0	.506	-1.6927053	3.3219453
	9	1.12742667	1.2019E0	.359	-1.3798986	3.6347520

8	0	3.35675333'	1.2019E0	.011	8494280	5.8640786
	1	-2.85746667'	1.2019E0	.028	-5.3647920	-3.3501414
	2	-2.37634000	1.2019E0	.062	-4.8836653	.1309853
	3	-.71599333	1.2019E0	.558	-3.2233186	1.7913320
	4	-.35219333	1.2019E0	.773	-2.8595186	2.1551320
	5	-1.58558000	1.2019E0	.202	-4.0929053	.9217453
	6	-.77620667	1.2019E0	.526	-3.2835320	1.7311186
	7	-.81462000	1.2019E0	.506	-3.3219453	1.6927053
	9	.31280667	1.2019E0	.797	-2.1945186	2.8201320
9	0	3.04394667'	1.2019E0	.020	5366214	5.5512720
	1	-3.17027333'	1.2019E0	.016	-5.6775986	-.6629480
	2	-2.68914667'	1.2019E0	.037	-5.1964720	-.1818214
	3	-1.02880000	1.2019E0	.402	-3.5361253	1.4785253
	4	-.66500000	1.2019E0	.586	-3.1723253	1.8423253
	5	-1.89838667	1.2019E0	.130	-4.4057120	.6089386
	6	-1.08901333	1.2019E0	.376	-3.5963386	1.4183120
	7	-1.12742667	1.2019E0	.359	-3.6347520	1.3798986
	8	-.31280667	1.2019E0	.797	-2.8201320	2.1945186

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 5. Struktur letak tanaman pada polybag sesuai variabel perlakuan yang digunakan



Keterangan gambar : ● Tanaman 1 ● Tanaman 2
● Tanaman utama

Lampiran 6. Hasil Analisa Tanah

Parameter	Satuan	Sampel Tanah		Kriteria
		Penelitian I		
		0-20 cm	20-40 cm	
pH ekstrak air		6,82	6,53	N-N
pH ekstrak KCl 1M		5,55	5,68	
N total	%	0,50	0,51	S-T
C Organik	%	6,35	6,42	ST-ST
P ₂ O ₅ ekstrak HCl 25%	mg/100 g	71,35	83,73	ST-ST
P ₂ O ₅ Olsen	ppm	36,45	36,59	ST-ST
K ₂ O ekstrak HCl 25%	mg/100 g	22,67	15,03	S-R
KTK	cmol(+)/kg	29,96	32,30	T-T
Kation dapat ditukar:	cmol(+)/kg	1,35	0,92	ST-T
- K-dd	cmol(+)/kg	1,26	2,02	ST-ST
- Na-dd	cmol(+)/kg	17,65	23,13	T-ST
- Ca-dd	cmol(+)/kg	2,89	5,10	T-T
- Mg-dd				

Sumber: Hasil Analisis Laboratorium Tanah Kompartemen Riset PT.
Petrokimia Gresik 2015

Sampel Tanah	Parameter	Satuan	Nilai
Sampel Awal	Mn	ppm	7,83

Sampel Tanah	Parameter	Satuan	Nilai
P1	Mn	ppm	10,682
P2	Mn	ppm	19,860
P3	Mn	ppm	15,380
P4	Mn	ppm	11,720
P5	Mn	ppm	14,900
P6	Mn	ppm	10,696
P7	Mn	ppm	12,164
P8	Mn	ppm	11,980
P9	Mn	ppm	14,268
P0	Mn	ppm	16,028

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BIODATA PENULIS



Tania Syviana Darmawan yang akrab disapa dengan nama Tania : lahir di Mojokerto, 17 Juni 1993. Memulai pendidikan dasar di Sekolah Dasar Taruna Nusa Harapan – Mojokerto hingga jenjang menengah pertama. Setelah lulus SMP, ia memulai jenjang menengah ke atas di SMAN 1 Mojokerto. Di sini ketertarikannya pada dunia Biologi mulai terlihat dengan pilihannya mengambil kelompok kelas IPA. Ibunya merupakan seorang guru Biologi SMA pada suatu sekolah. Berkat dukungan dan bantuan dari ibunya, ia mulai meningkatkan pengetahuannya dalam dunia Biologi.

Setelah lulus SMA, perempuan yang menyukai berbagai macam bahasa asing ini, memutuskan untuk mengambil jurusan yang berhubungan dengan Biologi yaitu teknik lingkungan dan biologi murni, namun karena berbagai faktor, ia akhirnya melanjutkan masa pembelajarannya di Jurusan Biologi FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya. Ketertarikannya pada dunia biologi terutama Botani mendorongnya untuk mengambil kerja praktek selama dua bulan pada perusahaan ternama yaitu PT Petrokimia Gresik dalam bidang botani. Ia menjadi laboran dalam bidang perkecambahan benih pada perusahaan tersebut dan berhasil menyelesaikan kerja prakteknya dengan judul “Pengaruh *Seed Treatment* Petro Biofertil terhadap Perkecambahan Benih Jagung Varietas Bima-14 di PT Petrokimia Gresik”. Untuk meningkatkan ilmu Botani yang diperolehnya, ia juga memutuskan menulis dan mengerjakan Tugas Akhir yang berhubungan pada bidang Botani.

Pengaruh Kombinasi Tanaman Hiperakumulator Bermikoriza pada Fase Pembibitan terhadap Kadar Klorofil Kedelai (*Glycine Max*) pada Kondisi Stress Logam Berat Mangan (Mn)

Tania S. Darmawan, Sri Nurhatika, dan Anton Muhibuddin
 Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh
 Nopember (ITS)
 Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: sri_nurhatika@bio.its.ac.id

Abstrak— Kedelai merupakan tanaman penghasil protein nabati tertinggi namun rentan terhadap kondisi lingkungan yang tercemar logam berat. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya rehabilitasi tanah tercemar logam berat, diantaranya melalui fitoremediasi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator pada pertumbuhan tanaman kedelai (*G. max*) dalam mengatasi stress akibat logam berat Mn. Parameter yang diamati pada kedelai adalah tinggi tanaman, jumlah daun, kadar klorofil, dan struktur anatomi akar. Tanaman hiperakumulator diletakkan dalam satu polybag dengan tanaman kedelai dalam tanah tercemar Mn 7,38 ppm. Hasil pengamatan dianalisis menggunakan uji ANOVA dan LSD pada program SPSS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi tanaman hiperakumulator memberikan pengaruh terhadap jumlah daun dan kadar klorofil, namun tidak memberikan pengaruh pada tinggi tanaman dan anatomi akar. Berdasarkan hasil LSD, diketahui bahwa penggunaan perlakuan 1, sudah cukup untuk mengatasi stress logam berat Mn pada tanaman kedelai.

Kata kunci: *Glycine max*, fitoremediasi, logam berat Mn, tanaman hiperakumulator.

I. PENDAHULUAN

Kedelai merupakan komoditas pangan penghasil protein nabati yang sangat penting karena gizinya, aman dikonsumsi, dan harganya yang relatif murah dibandingkan dengan sumber protein hewani. Di Indonesia, kedelai umumnya dikonsumsi dalam bentuk pangan olahan seperti tahu, tempe, susu kedelai dan berbagai bentuk makanan ringan [1]. Oleh karena itu, kebutuhan terhadap kedelai semakin meningkat dari tahun ketahun sejalan dengan bertambahnya penduduk dan meningkatkan kesadaran masyarakat terhadap makanan berprotein nabati [2]. Produksi tanaman kedelai sangat dipengaruhi oleh teknik budidaya, pengendalian hama dan pemupukan yang dapat dilakukan melalui akar dan daun. Pertumbuhan tanaman kedelai sangat peka terhadap perubahan lingkungan tumbuh sehingga tanaman kedelai susah tumbuh apabila lingkungan tumbuhnya kurang sesuai [3]. Namun, usaha pemenuhan kedelai ini menghadapi kendala berupa semakin sempitnya lahan subur yang dikarenakan penggunaan lahan sebagai lahan non-pertanian. Selain itu, para petani di Indonesia juga memiliki

kebiasaan menanam padi, sedangkan penanaman kedelai hanya dilakukan setelah padi tidak dapat lagi ditanam karena keterbatasan penyediaan air [4].

Salah satu fungsi tanah yang sangat jelas adalah mendukung kehidupan tanaman [5]. Ketersediaan hara bagi tanaman ditentukan oleh faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan tanah mensuplai hara dan faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan tanaman untuk menggunakan unsur hara yang disediakan [6]. Unsur hara esensial yang dibutuhkan tanaman terdiri dari unsur hara makro N, P, K, Ca, Mg, dan S serta unsur hara mikro Zn, Cu, Mn, Mo, B, Fe, dan Cl [7]. Unsur hara mikro dibutuhkan dalam jumlah relatif kecil yang kandungan kritisnya berkisar antara 0,3-50 mg/kg berat kering tanaman. Dari unsur hara mikro ini, lima unsur merupakan logam berat (Fe, Mn, Zn, Cu, dan Mo) [8]. Salah satu limbah pencemar pada tanah yang berbahaya adalah logam berat. Pencemaran logam berat pada tanah dapat menyebabkan organisme di sekitar rentan terhadap penyakit. Salah satu logam berat yang memiliki kecenderungan toksik pada makhluk hidup di tanah adalah mangan (Mn) [9].

Penggunaan lahan sebagai lahan non-pertanian umumnya digunakan sebagai lahan industri yang seringkali justru menyebabkan tanah di sekitarnya mengalami kerusakan maupun pencemaran [10]. Tindakan pemuliaan tanah tercemar pada saat ini banyak diperhatikan, terutama dengan menggunakan bahan-bahan alami seperti tumbuhan dan makhluk hidup lainnya. Perlakuan menggunakan organisme hidup sebagai salah satu alternatif untuk pemuliaan lahan tercemar semakin mendapat perhatian karena dalam pengaplikasiannya relatif murah, efektif, dan aman untuk ekologi. Salah satu cara yang sederhana yaitu dengan penanaman tanaman hiperakumulator di sekitar tanah tercemar untuk mengurangi tingkat pencemaran logam yang disebut sebagai fitoremediasi [11]. Jenis tumbuhan hiperakumulator ini sangat terbatas, salah satu syarat tumbuhan dikatakan hiperakumulator yaitu bersifat toleran terhadap kandungan logam berat yang tinggi pada suatu media [12]. Salah satu contoh tanaman hiperakumulator yang dapat digunakan untuk mengurangi tingkat mangan (Mn) pada tanah adalah *Alyxia rubricaulis*. Selain itu, pada beberapa hasil penelitian menunjukkan telah ditemukan 435 jenis tanaman hiperakumulator yang dapat digunakan dalam proses fitoremediasi seperti tanaman *Jatropha curcas*, *Leucaena leucocephala*, *Musa paradisiaca*, *Zea mays*, *Dahlia pinnata*,

Vetiveria zizanioides, *Alamanda cathartica*, *Panicum maximum*, *Ischaemum timorense*, *Helianthus annuus*, *Papirus sp.*, [11] *Monocharia vaginalis*, *Limnoharis flava*, *Paspalum conjugatum*, *Cyperus monocephala*, *Centrosema pubescens*, *Mikania cordata*, dan *Commelina nudiflora* [13]. Spesies akumulator pada tumbuhan menarik banyak perhatian karena memiliki potensi untuk membantu mengurangi kontaminasi atau cemaran pada tanah dari logam berat yang banyak dihasilkan oleh limbah industri [14].

Semakin meluasnya kasus kontaminasi tanah yang disebabkan oleh logam berat serta meningkatnya perkembangan ilmu pemuliaan tanah yang pesat, maka teknik rehabilitasi alter-natif yang relatif murah dan efektif ini perlu dikembangkan bahkan beberapa kasus pengelolaan tanah tercemar menggunakan kombinasi antara tumbuhan dengan mikroorganisme agar lebih efektif. Untuk itu perlu dikembangkan penelitian tentang jenis-jenis tumbuhan yang mampu mengakumulasi logam berat dan bahan toksik lain misalnya mangan sehingga lahan menjadi aman bagi kesehatan dan lingkungan. Berdasarkan teori-teori tersebut maka dilakukan penelitian pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator jarak pagar (*J. curcas*) dan lamtoro gung (*L. leucocephala*) bermikoriza pada kadar klorofil tanaman kedelai (*Glycine max*) dalam keadaan stress logam berat Mn.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Lokasi

Penelitian Tugas akhir ini dilakukan di *Screen House* Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Analisis dan pengamatan anatomi dilakukan di laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya. Penelitian akan dilaksanakan mulai bulan Desember 2014 sampai Mei 2015.

B. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer, cuvvet, kertas saring, neraca analitik, tabung reaksi, erlenmeyer, aseton, aquades, dan daun tanaman kedelai.

C. Sterilisasi Media Tanam

Tanah disterilisasi dengan pemberian formalin 5% pada tanah menggunakan sprayer, diaduk secara merata dan ditutup rapat dalam plastik selama 7 hari. Setelah 7 hari, plastik dibuka dan tanah dikering anginkan.

D. Pencemaran Mn pada Tanah

Pencemaran pada tanah dilakukan dengan cara mencampur tanah dengan logam Mn yang telah dilarutkan. Pada penelitian ini, hanya digunakan satu konsentrasi logam berat mangan (Mn) sebesar 5ppm dengan cara logam Mn sejumlah 5 mg dilarutkan dalam 1000 ml (1 L) akuades sehingga menghasilkan larutan logam berat mangan dengan konsentrasi 5 ppm. Larutan Mn yang telah dibuat, disiram ke masing-masing polybag, dan didiamkan selama 24 jam agar limbah homogen dalam tanah.

E. Penanaman dan Pemeliharaan Tanaman

Tanaman yang digunakan adalah tiga jenis tanaman yaitu jarak pagar (*Jatropha curcas*), lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*), dan kedelai (*Glycine max*). Ketiga tanaman tersebut ditanam pada media tanah yang telah tercemar dengan Mn dengan waktu atau umur tanaman yang berbeda. Jarak pagar ditanam terlebih dahulu sebelum kedua tanaman lainnya. Kemudian lamtoro gung, dan terakhir tanaman kedelai sesuai dengan dengan perlakuan yang diberikan dengan menggunakan metode cawan. Sebelum ditanam, benih diredam dalam aquades selama semalam untuk memecah masa dormansi biji sehingga lebih cepat berkecambah. Benih yang digunakan adalah benih yang tidak mengambang dalam air dan berukuran relatif sama. Kemudian benih ditanam pada media tanah untuk berkecambah dengan pemberian mikoriza *Glomus sp.* dan selanjutnya tanaman dipindahkan ke dalam polybag berisi tanah tercemar dengan umur tanaman jarak pagar yaitu dua minggu, setelah dua minggu kemudian ditanam lamtoro gung yang berumur dua minggu dan dua minggu kemudian ditanam tanaman terakhir yaitu kedelai yang berumur dua minggu dengan masing-masing jarak tanam antar tanaman sebesar 10 cm dan sesuai dengan perlakuan sebagai berikut :

Tabel 1.

Variabel perlakuan pada penelitian	
No	Perlakuan
1. (P1)	2 kedelai + 1 lamtoro gung + 1 jarak pagar
2. (P2)	2 kedelai + 1 lamtoro gung + 2 jarak pagar
3. (P3)	2 kedelai + 1 lamtoro gung + 3 jarak pagar
4. (P4)	2 kedelai + 2 lamtoro gung + 1 jarak pagar
5. (P5)	2 kedelai + 2 lamtoro gung + 2 jarak pagar
6. (P6)	2 kedelai + 2 lamtoro gung + 3 jarak pagar
7. (P7)	2 kedelai + 3 lamtoro gung + 1 jarak pagar
8. (P8)	2 kedelai + 3 lamtoro gung + 2 jarak pagar
9. (P9)	2 kedelai + 3 lamtoro gung + 3 jarak pagar
10 P0 (kontrol)	2 kedelai + lamtoro gung dan tanpa jarak pagar

Tanaman yang telah ditanam dan diberi perlakuan pada polybag kemudian dirawat dengan penyiraman setiap hari serta penyiangan gulma apabila ditemukan.

F. Pengamatan Kadar Klorofil Daun

Pengamatan kadar klorofil yang dilakukan adalah jumlah kadar klorofil total. Langkah-langkah yang dilakukan dalam penetapan kadar klorofil adalah: ekstraksi sampel, pengukuran dan perhitungan. Sampel daun kedelai ditimbang sebanyak 0,1 gr, dan dihaluskan dengan mortil yang diberi aseton 90% sebanyak 25 ml. Kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh ekstrak jernih. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 645 nm dan 653 nm. Setelah hasil absorbansi didapatkan, untuk mendapatkan nilai kadar klorofil total dilakukan perhitungan secara bertahap dengan rumus sebagai berikut :

$$C_a = 12,7 A_{663} - 2,69 A_{645}$$

$$C_b = 22,9 A_{645} - 4,68 A_{663}$$

$$C_{x+c} = 20,2 A_{645} + 8,02 A_{663}$$

Keterangan:

C_a : Klorofil a A_{663} : Nilai absorbansi 663 nm
 C_b : Klorofil b A_{645} : Nilai absorbansi 645 nm
 C_{x+c} : Klorofil total

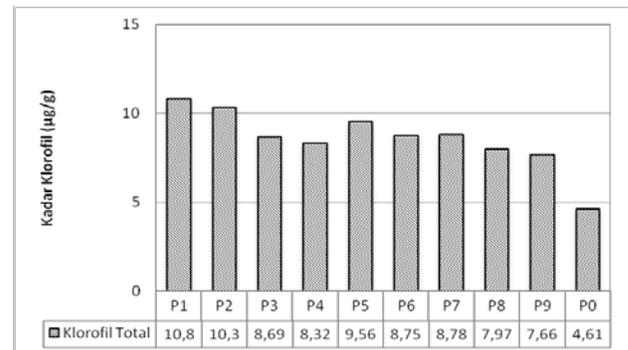
III. URAIAN PENELITIAN

Klorofil merupakan pigmen fotosintetik berwarna hijau yang membantu tanaman untuk mendapatkan energi dari cahaya. Tanaman menggunakan energi tersebut untuk menggabungkan karbon dioksida dan air menjadi karbohidrat yang akan mempertahankan proses kehidupan tanaman [15]. Klorofil pada tumbuhan umumnya terdiri dari dua macam, yaitu klorofil a dan klorofil b dimana perbedaan kedua klorofil tersebut terletak pada struktur kimia dan fungsinya pada proses penyerapan cahaya [16].

Pada penelitian ini dilakukan perhitungan kadar klorofil (meliputi klorofil A, klorofil B, dan klorofil total) untuk mengetahui apakah kombinasi tanaman hiperakumulator dapat membantu mengurangi stress akibat logam berat Mn pada tanaman kedelai (*G. max*). Salah satu bentuk stress yang terjadi dapat dilihat dari kerusakan ataupun terganggunya sintesis klorofil. Konsentrasi Mn berlebih pada jaringan tumbuhan dapat mengubah berbagai proses, seperti aktivitas enzim, penyerapan, translokasi, dan pemanfaatan elemen mineral lainnya (Ca, Mg, Fe, dan P) yang menyebabkan stress pada tumbuhan [15] [17]. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi sintesis klorofil, meliputi: cahaya, gula atau karbohidrat, air, temperatur, faktor genetik dan unsur nitrogen (N), magnesium (Mg), besi (Fe), mangan (Mn), tembaga (Cu), Zink (Zn), sulfur (S), dan oksigen (O). Kadar klorofil pada suatu tanaman juga dapat bergantung pada perubahan musim dan lingkungan [18].

Perhitungan kadar klorofil dapat dilakukan dalam berbagai metode, salah satunya menggunakan penyerapan gelombang cahaya dengan ekstrak aseton pada spektrofotometer yang telah banyak dilakukan di laboratorium saat ini [15]. Tahap awal yang harus dilakukan dalam penggunaan metode spektrofotometrik adalah dengan pembuatan ekstrak sampel. Ekstrak sampel didapatkan dengan cara menghaluskan sampel daun dalam mortar yang telah ditimbang dan ditambah senyawa aseton, dimana penggunaan aseton menurut [19] dapat melarutkan kedua jenis klorofil pada tumbuhan. Selain menggunakan aseton, kadar klorofil juga dapat dilakukan menggunakan metanol dan dietil eter. Namun, penggunaan aseton telah diketahui lebih akurat dalam menentukan kadar klorofil suatu tumbuhan [20]. Ekstrak daun *G.max* kemudian disaring dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam cuvvet untuk dihitung nilai absorbansinya pada panjang gelombang 645nm dan 663nm menggunakan spektrofotometer.

Setelah didapatkan nilai absorbansi pada panjang gelombang yang telah ditentukan, nilai yang telah didapat dihitung dengan rumus perhitungan kadar klorofil (sesuai pada bab metodologi). Hasil perhitungan kadar klorofil pada penelitian ini, didapatkan bahwa nilai tertinggi untuk klorofil A, klorofil B, dan klorofil total diperoleh pada Perlakuan 1 (P1) yaitu kombinasi tanaman hiperakumulator 1 jarak pagar dengan 1 lamtoro gung dan tanaman kedelai. Hasil yang telah didapatkan kemudian diuji menggunakan ANOVA *One way* dan LSD. Berdasarkan pengujian dan perhitungan yang telah dilakukan, maka didapatkan hasil kadar klorofil total pada gambar berikut:



Gambar 1 Perbandingan Rata-Rata Kadar Klorofil Total pada Tanaman Kedelai (*G.max*) dengan *pvalue* < 0,05.

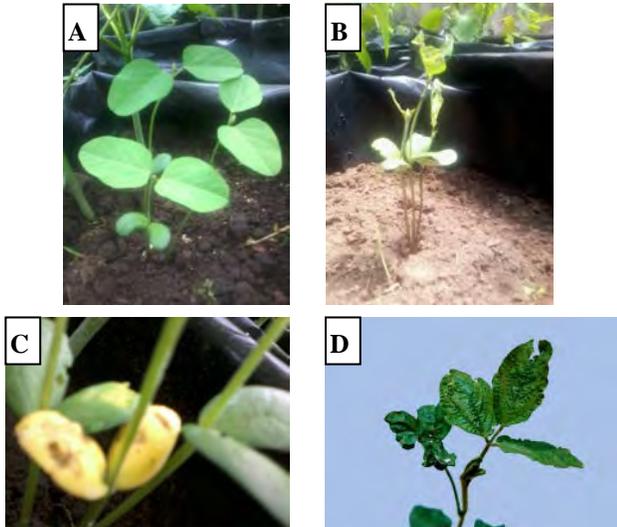
Uji statistik ANOVA *one way* digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator dalam membantu menurunkan stress logam berat Mn pada tanaman kedelai khususnya pada parameter kadar klorofil. Pemberian perlakuan pada penelitian ini memiliki nilai *p value* < 0,05. Sehingga, hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh terhadap kadar klorofil (baik klorofil A, klorofil B, maupun klorofil total) tanaman kedelai yang diberi cekaman Mn.

Setelah diketahui bahwa hasil uji ANOVA menunjukkan adanya pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator, maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji LSD untuk mengetahui nilai perbedaan dari masing-masing perlakuan. Berdasarkan hasil uji LSD, dapat diketahui bahwa semua perlakuan memberikan pengaruh pada kadar klorofil tanaman kedelai dengan nilai *pvalue* < 0,05 yang dilihat dari perbandingan pemberian perlakuan dengan kontrol. Nilai tertinggi didapatkan pada P1. Namun, berdasarkan nilai uji LSD, juga dapat diketahui bahwa perlakuan kontrol (P0) menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada perlakuan-perlakuan lainnya, namun antara perlakuan 1 – perlakuan 9 tidak terdapat nilai berbeda nyata yang dapat dilihat pada nilai *pvalue* > 0,05. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa penggunaan kombinasi 1 jarak pagar dan 1 lamtoro (P1) sudah cukup untuk mengatasi stress logam berat yang terjadi pada tanaman kedelai.

Kadar klorofil P1 memiliki nilai *pvalue* yang sangat jauh berbeda dengan P0 (kontrol) dimana P0 tidak menggunakan kombinasi tanaman hiperakumulator sehingga Mn langsung diserap oleh tanaman kedelai dan menyebabkan terjadinya gejala keracunan pada tanaman kedelai. Telah diketahui sebelumnya, bahwa peningkatan nilai Mn pada tanah dapat menyebabkan penurunan nilai total klorofil pada tanaman [21] yang mengakibatkan tanaman mengalami klorosis, daun berwarna kecoklatan, dan nekrosis (Gambar 2) sehingga mempengaruhi proses fotosintesis dan metabolisme pada tanaman [22]. Logam berat Mn akan terserap oleh tumbuhan dalam bentuk ion yaitu Mn^{2+} . Ion Mn tersebut kemudian akan digunakan dalam berbagai proses biokimia oleh tanaman [18] salah satunya adalah proses biosintesis klorofil. Proses biosintesis klorofil membutuhkan ion Mn^{2+} dan ion Fe^{2+} sebagai kofaktor enzim dalam proses sintesis klorofil. Ketika jumlah Mn terlalu banyak, maka hampir seluruh bagian enzim akan tertutup oleh Mn sehingga Fe tidak dapat berikatan

dengan s isi aktif enzim tersebut dan menyebabkan sintesis klorofil terganggu [15].

Pada dasarnya tumbuhan hiperakumulator telah diketahui dapat mengurangi pencemaran tanah oleh logam berat, dikarenakan tanaman hiperakumulator memiliki serangkaian proses fisiologis dan biokimiawi serta ekspresi gen yang berbeda dari tumbuhan biasa dalam melakukan penyerapan, akumulasi, dan toleransi terhadap logam berat [23]. Berdasarkan hasil yang didapatkan, maka dapat diketahui bahwa tanaman jarak pagar (*J. curcas*) dan lamtoro gung (*L. leucocephala*) dapat membantu tanaman kedelai menurunkan stress Mn yang terjadi pada tanaman kedelai (*G. max*) khususnya pada kadar klorofil.



Gambar 2 Gejala Stress Kelebihan Logam Berat Mn pada Daun Tanaman. Keterangan : a) daun sehat tanaman kedelai; b) daun mengalami nekrosis; c) daun mengalami klorosis (dokumentasi pribadi); d) daun mengalami klorosis (Hong *et al.*, 2010).

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator bermikoriza pada fase pembibitan terhadap kadar klorofil *G. max* pada kondisi stress logam berat Mn adalah: Kombinasi tanaman hiperakumulator memberikan pengaruh terhadap kadar klorofil tanaman kedelai (*G. max*) dalam mengatasi stress logam berat mangan (Mn). Selain itu, penggunaan tanaman hiperakumulator dalam jumlah sedikit yaitu perlakuan 1 (1 jarak pagar dan 1 lamtoro) sudah cukup untuk membantu tanaman kedelai (*G. max*) mengatasi stress Mn pada klorofil daun.

LAMPIRAN

ANOVA

KlorofilTotal					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	78.661	9	8.740	4.033	.005
Within Groups	43.344	20	2.167		
Total	122.005	29			

KlorofilTotal LSD

(I) Perla kuan	(J) Perla kuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0	1	-6.21422000 ^a	1.2019E0	.000	-8.7215453	-3.7068947
	2	-5.73309333 ^a	1.2019E0	.000	-8.2404186	-3.2257680
	3	-4.07274667 ^a	1.2019E0	.003	-6.5800720	-1.5654214
	4	-3.70894667 ^a	1.2019E0	.006	-6.2162720	-1.2016214
	5	-4.94233333 ^a	1.2019E0	.001	-7.4496586	-2.4350080
	6	-4.13296000 ^a	1.2019E0	.003	-6.6402853	-1.6256347
	7	-4.17137333 ^a	1.2019E0	.002	-6.6786986	-1.6640480
	8	-3.35675333 ^a	1.2019E0	.011	-5.8640786	-.8494280
	9	-3.04394667 ^a	1.2019E0	.020	-5.5512720	-.5366214
1	0	6.21422000 ^a	1.2019E0	.000	3.7068947	8.7215453
	2	.48112667	1.2019E0	.693	-2.0261986	2.9884520
	3	2.14147333	1.2019E0	.090	-.3658520	4.6487986
	4	2.50527333	1.2019E0	.050	-.0020520	5.0125986
	5	1.27188667	1.2019E0	.303	-1.2354386	3.7792120
	6	2.08126000	1.2019E0	.099	-.4260653	4.5885853
	7	2.04284667	1.2019E0	.105	-.4644786	4.5501720
	8	2.85746667 ^a	1.2019E0	.028	.3501414	5.3647920
	9	3.17027333 ^a	1.2019E0	.016	.6629480	5.6775986
2	0	5.73309333 ^a	1.2019E0	.000	3.2257680	8.2404186
	1	-.48112667	1.2019E0	.693	-2.9884520	2.0261986
	3	1.66034667	1.2019E0	.182	-.8469786	4.1676720
	4	2.02414667	1.2019E0	.108	-.4831786	4.5314720
	5	.79076000	1.2019E0	.518	-1.7165653	3.2980853
	6	1.60013333	1.2019E0	.198	-.9071920	4.1074586
	7	1.56172000	1.2019E0	.209	-.9456053	4.0690453
	8	2.37634000	1.2019E0	.062	-.1309853	4.8836653
	9	2.68914667 ^a	1.2019E0	.037	.1818214	5.1964720
6	0	4.13296000 ^a	1.2019E0	.003	1.6256347	6.6402853
	1	-2.08126000	1.2019E0	.099	-4.5885853	.4260653
	2	-1.60013333	1.2019E0	.198	-4.1074586	.9071920
	3	.06021333	1.2019E0	.961	-2.4471120	2.5675386
	4	.42401333	1.2019E0	.728	-2.0833120	2.9313386
	5	-.80937333	1.2019E0	.508	-3.3166986	1.6979520
	7	-.03841333	1.2019E0	.975	-2.5457386	2.4689120
	8	.77620667	1.2019E0	.526	-1.7311186	3.2835320
	9	1.08901333	1.2019E0	.376	-1.4183120	3.5963386
7	0	4.17137333 ^a	1.2019E0	.002	1.6640480	6.6786986
	1	-2.04284667	1.2019E0	.105	-4.5501720	.4644786
	2	-1.56172000	1.2019E0	.209	-4.0690453	.9456053
	3	.09862667	1.2019E0	.935	-2.4086986	2.6059520
	4	.46242667	1.2019E0	.705	-2.0448986	2.9697520
	5	-.77096000	1.2019E0	.529	-3.2782853	1.7363653
	6	.03841333	1.2019E0	.975	-2.4689120	2.5457386
	8	.81462000	1.2019E0	.506	-1.6927053	3.3219453
	9	1.12742667	1.2019E0	.359	-1.3798986	3.6347520
8	0	3.35675333 ^a	1.2019E0	.011	.8494280	5.8640786
	1	-2.85746667 ^a	1.2019E0	.028	-5.3647920	-.3501414
	2	-2.37634000	1.2019E0	.062	-4.8836653	.1309853
	3	-.71599333	1.2019E0	.558	-3.2233186	1.7913320
	4	-.35219333	1.2019E0	.773	-2.8595186	2.1551320
	5	-1.58558000	1.2019E0	.202	-4.0929053	.9217453
	6	-.77620667	1.2019E0	.526	-3.2835320	1.7311186
	7	-.81462000	1.2019E0	.506	-3.3219453	1.6927053
	9	.31280667	1.2019E0	.797	-2.1945186	2.8201320
9	0	3.04394667 ^a	1.2019E0	.020	.5366214	5.5512720
	1	-3.17027333 ^a	1.2019E0	.016	-5.6775986	-.6629480
	2	-2.68914667 ^a	1.2019E0	.037	-5.1964720	-.1818214
	3	-1.02880000	1.2019E0	.402	-3.5361253	1.4785253
	4	-.66500000	1.2019E0	.586	-3.1723253	1.8423253
	5	-1.89838667	1.2019E0	.130	-4.4057120	.6089386
	6	-1.08901333	1.2019E0	.376	-3.5963386	1.4183120
	7	-1.12742667	1.2019E0	.359	-3.6347520	1.3798986
	8	-.31280667	1.2019E0	.797	-2.8201320	2.1945186

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis Tania S. Darmawan mengucapkan terima kasih kepada pihak yang mendukung selesainya tugas akhir penulis, yaitu Ibu Sri Nurhatika, Bapak Anton Muhibuddin, Ibu Maya Shovitri, dan Bapak Triono Bagus selaku pembimbing dan penguji tugas akhir. Selain itu, penulis juga mengucapkan terima kasih terhadap orang tua serta teman-teman (Iant, Kuni, Laras, Suci, Wahyu, Nisa) dan teman seperjuangan yang belum disebutkan yang telah banyak membantu proses terlaksananya tugas akhir ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Damardjati D. S., Marwoto, D. K. S. Swastika, D. M. Arsyad, dan Y. Hilman. *Prospek dan Arah pengembangan Agribisnis Kedelai*. Badan Litbang Pertanian, Departemen Pertanian : Jakarta (2005).
- [2] Departemen Pertanian. *Usaha Pengembangan Kedelai*. Departemen Pertanian : Jakarta (2006).
- [3] Andrianto T. T. dan N. Indarto. *Budidaya dan Analisis Usaha Tani Kedelai, Kacang Hijau, Kacang Panjang*. Absolut: Yogyakarta (2004).
- [4] Brawijaya P. *Keragaman Genetik Toleransi Kedelai terhadap Tanah Masam*. Skripsi. Universitas Brawijaya : Malang (2004).
- [5] Foth H. D. *Fundamentals of Soil Science*. John Wiley and Sons Inc. : Michigan (1951).
- [6] Wardle D. A. *The influence of biotic interactions on soil biodiversity*. Ecology Letters, 9: 870–886. Blackwell Publishing Ltd (2006).
- [7] Lahuddin. *Aspek Unsur Mikro dalam Kesuburan Tanah*. Prosiding. Guru Besar Tetap Universitas Sumatera Utara: Medan (2007).
- [8] Pahan. *Kelapa Sawit*. Penebar Swadaya: Jakarta (2006).
- [9] Slamet, Juli Soemirat. 2007. *Kesehatan Lingkungan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- [10] Ross S. *Toxic Metals in Soil-Plant Systems*. John Wiley & Sons : Chichester, UK (1994).
- [11] Hardiani H. *Potensi tanaman dalam mengakumulasi logam cu pada media tanah terkontaminasi limbah padat industri kertas*. BS. Vol.44 No. 1. Juni 2009 : 27 – 40 (2009).
- [12] Widyati E. *Potensi tumbuhan bawah sebagai akumulator logam berat untuk membantu rehabilitasi lahan bekas tambang*. Hutan Tanaman. Vol 6(2)(46-56) (2011).
- [13] Juhaite T., F. Syarif, dan N. Hidayati. *Inventarisasi tumbuhan potensial untuk fitoremediasi lahan dan air terdegradasi penambangan emas*. Jurnal Biodiversitas, Vol. 6, No.1, 31-33 (2005).
- [14] Hopkins, W. G.. *Introduction to Plant Physiology*. New York, Toronto, Singapore: John Wiley & Sons, Inc. pp. 285-321 (1995).
- [15] Ducic, T., Polle, A. *Transport and detoxification of manganese and copper in plants*. Braz. J. Plant Physiol. 17, 103-112 (2005).
- [16] Santoso. *Fisiologi Tumbuhan*. Bengkulu: Universitas Muhammadiyah Bengkulu (2004).
- [17] Lei, Y., Korpelainen, H., Li, C. 2007. *Physiological and biochemical responses to high Mn concentrations in two contrasting Populus cathayana Populations*. **Chemosphere** 68, 686-694.
- [18] Al-Hashmi, Khalid A. Claereboudt, Michel R. Al-Azri, Adnan, R. Piontovski, Sergey. A, *The Open Oceanography Journal* 4, 107-114 (2010).
- [19] Devlin, Robert M. *Plant Physiology Third Edition*. New York: D. Van Nostrand (1975).
- [20] Dere, S., T. Gunes, dan R. Sivaci. *Spectrophotometric Determination of Chlorophyll – A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Using Different Solvents*. Tr. J. of Botany 22 13-17 (1998).
- [21] Arya, S.K. dan B.K. Roy. *Manganese induced changes in growth, chlorophyll content and antioxidant activity in seedlings of broad bean (Vicia faba L.)*. J. Environmental Biology 32, 707-711. Trivani Enterprise: India (2011).
- [22] Henriques, F.S. *Gas exchange, chlorophyll fluorescence kinetics and lipid peroxidation of pecan leaves with varying manganese concentrations*. Plant Science, 65, 239-244 (2003).
- [23] Hidayati N. *Mekanisme fisiologis tumbuhan hiperakumulator logam berat*. J. Tek. Ling. (ISSN 1411-318X). Vol. 14, No. 2, (Juli 2013).

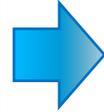
**PENGARUH KOMBINASI TANAMAN HIPERAKUMULATOR
BERMIKORIZA PADA FASE PEMBIBITAN TERHADAP PERTUMBUHAN
TANAMAN KEDELAI (*Glycine max*) PADA KONDISI STRESS LOGAM
BERAT MANGAN (Mn)**

**Tania Sylviana D.
1511100042**

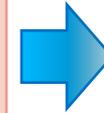
**Dosen Pembimbing
Ir. Sri Nurhatika, MP
Dr. Anton Muhibuddin, SP, MP**

**Dosen Penguji:
Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si.
Triono Bagus S., S.Si., M. Biotech**

I. LATAR BELAKANG



- Peka terhadap lingkungan tumbuhnya.
- Produksi rendah (Damardjati, 2005)



- Penggunaan dan pencemaran lahan non-pertanian
- Penggunaan pupuk berlebih (Ross, 1994)

Penghasil protein nabati tertinggi, aman, harga relatif murah.

Salah satu logam berat yang memiliki kecenderungan toksik pada makhluk hidup di tanah adalah mangan (Mn) (Slamet, 2009).



I. LATAR BELAKANG

Salah satu teknik pemuliaan lahan adalah dengan menggunakan fitoremediasi yang menggunakan tanaman hiperakumulator (Hardiani, 2009)



L. leucocephala



J. curcas



Glomus sp.

Tanaman hiperakumulator merupakan tanaman yang memiliki sifat toleran terhadap kandungan logam berat yang tinggi pada suatu media (Widyati, 2009).

Permasalahan

- Permasalahan penelitian ini adalah bagaimana pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator yaitu jarak pagar (*J. curcas*) dan lamtoro gung (*L. leucocephala*) dalam mengatasi stress logam berat mangan (Mn) pada tanaman kedelai (*G.max*)

Batasan Masalah

- Tanaman yang digunakan adalah Kedelai (*Glycine max*), Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) dan lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*)
- Proses pemuliaan tanah dalam skala model laboratorium (*green house*) dengan kandungan Mn tinggi (± 7 ppm).
- Pengaruh logam berat mangan (Mn) pada kedelai diamati berdasarkan pertumbuhan tinggi tanaman dan jumlah daun selama masa penanaman pada media tanah serta kadar klorofil dan struktur anatomi akar pada tanaman.

Tujuan

- Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator dalam mengatasi stress logam berat mangan (Mn) pada tanaman kedelai (*G.max*)

Manfaat

- Manfaat penelitian yang dilakukan adalah untuk memberikan informasi mengenai pengaruh kombinasi tanaman hiperakumulator jarak pagar (*J. curcas*) dan lamtoro gung (*L. leucocephala*) dalam mengatasi stress logam berat mangan (Mn) pada tanaman kedelai (*G.max*).

II. METODOLOGI

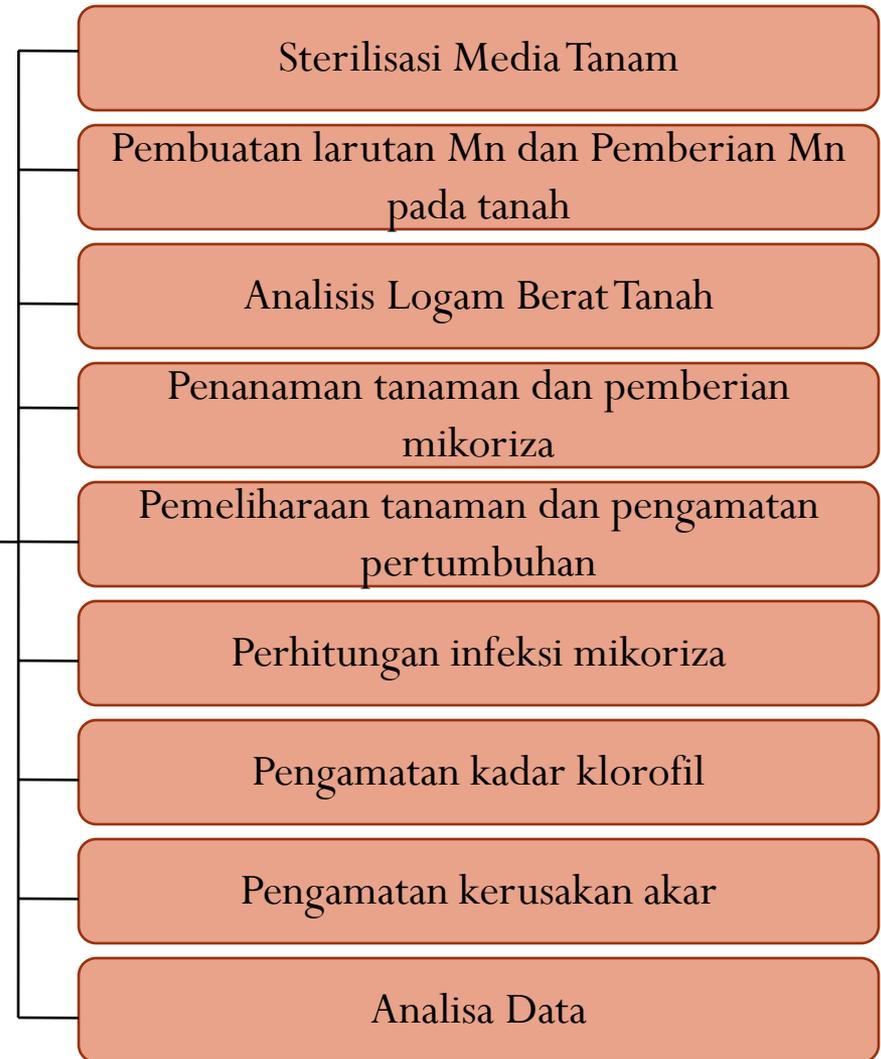
- **Waktu :**

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari 2015 - Mei 2015

- **Tempat Penelitian :**

- *Screen house* Jurusan HPT, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya.
- Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, ITS.

TAHAPAN KERJA



Sterilisasi Media Tanam



Tanah 5 kg disterilisasi dengan formalin 5% sebanyak 1000 ml

Tanah dan formalin diaduk merata dan ditutup selama 7 hari

Polybag dibuka, didiamkan sambil dikering anginkan



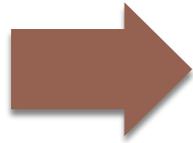
Pembuatan Larutan Logam Berat Mn



Akuades 1000 ml

Mn 5 mg

Larutan Mn 5 ppm



Tanah Steril 5 kg

Larutan Mn 5 ppm

Tanah kemudian
didiamkan 24 jam
agar menjadi
homogen

Penanaman Tanaman

Pembibitan benih jarak pagar, lamtoro, dan kedelai dalam waktu yang berbeda



Benih direndam dalam air dan ditanam dalam media ditambah mikoriza *Glomus* sp. 10 gr



Jarak pagar umur 2 minggu dipindah pada polybag tanah tercemar Mn



Lamtoro umur 3 minggu dipindah pada polybag tanah tercemar Mn

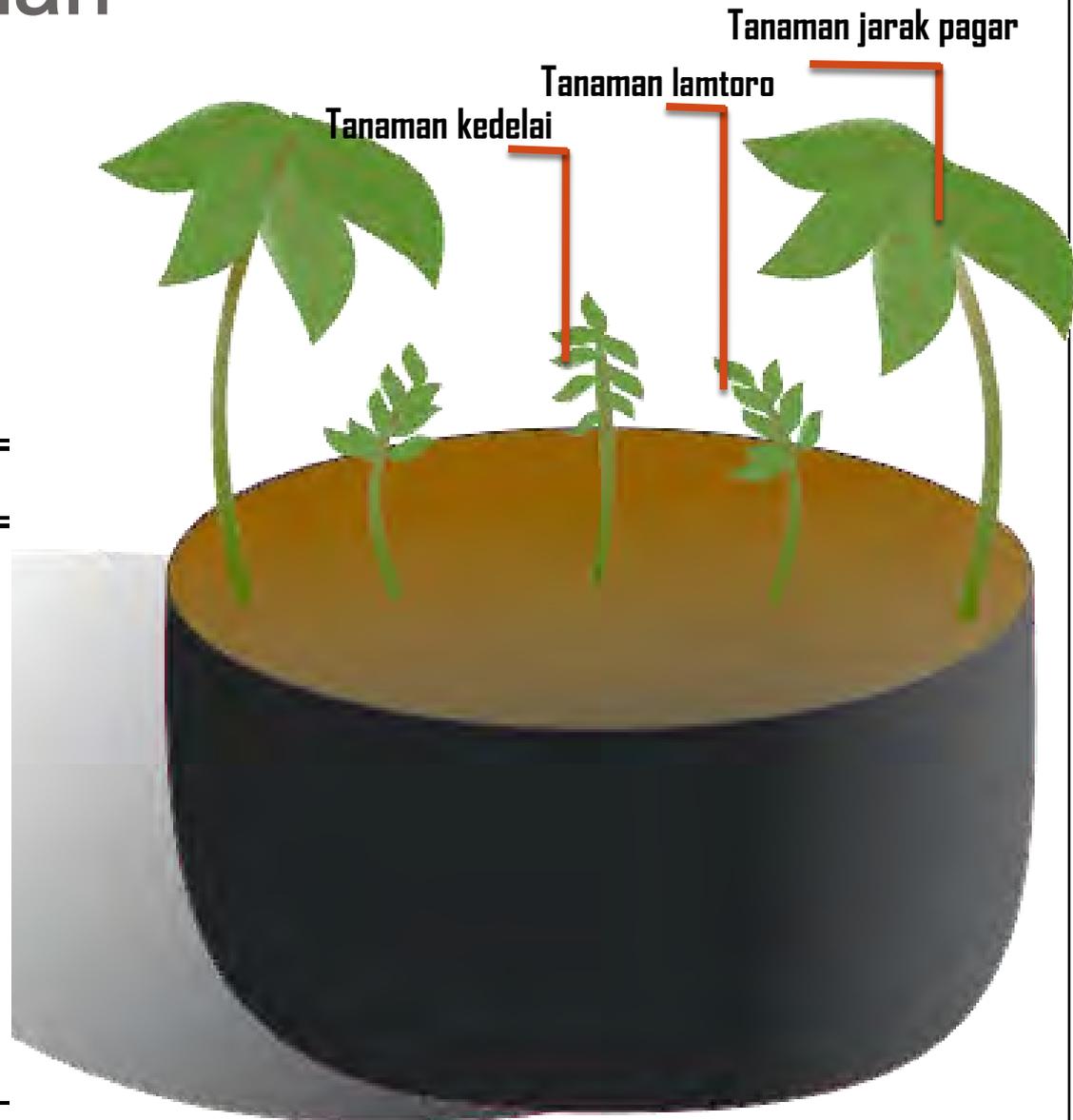


Kedelai umur 1 bulan dipindah pada polybag tanah tercemar Mn

Struktur Penanaman

Tabel 3.1 Variabel Perlakuan

No	Perlakuan
1. (P1)	1 jarak pagar + 1 lamtoro gung + 2 kedelai
2. (P2)	2 jarak pagar + 1 lamtoro gung + 2 kedelai
3. (P3)	3 jarak pagar + 1 lamtoro gung + 2 kedelai
4. (P4)	1 jarak pagar + 2 lamtoro gung + 2 kedelai
5. (P5)	2 jarak pagar + 2 lamtoro gung + 2 kedelai
6. (P6)	3 jarak pagar + 2 lamtoro gung + 2 kedelai
7. (P7)	1 jarak pagar + 3 lamtoro gung + 2 kedelai
8. (P8)	2 jarak pagar + 3 lamtoro gung + 2 kedelai
9. (P9)	3 jarak pagar + 3 lamtoro gung + 2 kedelai
10 P0 (kontrol)	Tanpa jarak pagar dan lamtoro gung + 2 kedelai



Ilustrasi Metode Cawan

Pemeliharaan tanaman

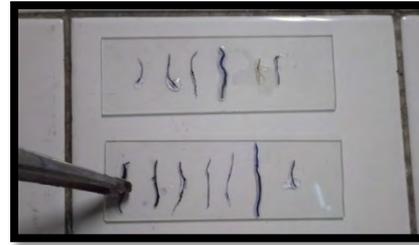
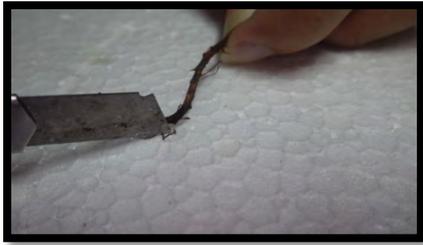
- Penyiraman setiap hari dan penyiangan gulma apabila ditemukan

Analisis tanah

- Analisis tanah dilakukan pada Laboratorium Kimia, Universitas Brawijaya.
- Sampel tanah diambil dengan metode komposit kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer serapan atom.



Perhitungan Infeksi Mikoriza



Akar dicuci

Akar direndam kembali HCl 5%

Akar dipotong \pm 1 cm

HCl 5% dibuang diganti LTB

Direndam dalam KOH 10%

Akar dioven selama 30 menit

Akar dioven pada suhu 95C 10 menit

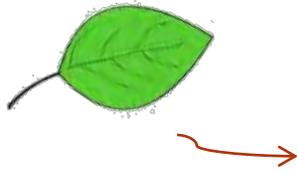
Dibilas aquades

Dibilas aquades

Akar disusun berjajar di atas kaca obyektif

$$\% \text{ infeksi} = \frac{\text{jumlah akar yang terinfeksi}}{\text{jumlah total potongan akar}} \times 100 \%$$

Pengamatan kadar klorofil



Sampel daun kedelai
ditimbang sebesar 0,1 gr



Aseton 25 ml



Sampel daun dihaluskan dengan mortar
dengan penambahan aseton 90%

Dilakukan perhitungan dengan
rumus :

$$C_a = 11,75 A_{662} - 2,350 A_{645}$$

$$C_b = 18,61 A_{645} - 3,960 A_{662}$$

$$C_{x+c} = 1000 A_{470} - 2,270 C_a - 81,4 C_b / 227$$

Keterangan

C_a : Klorofil a

C_b : Klorofil b

C_{x+c} : Klorofil total

A_{662} : Nilai absorbansi 662 nm

A_{645} : Nilai absorbansi 645 nm

A_{470} : Nilai absorbansi 470 nm

Ekstrak daun dimasukkan dalam
cuvet dan dilakukan pengukuran
dengan spektrofotometer



Kertas saring
Corong

Ekstrak daun

Sampel yang telah dihaluskan
kemudian disaring

Pengamatan Kerusakan Akar

1. Fiksasi

Dilakukan menggunakan larutan FAA dengan komposisi 90% alkohol 70%, 5% asam asetat glasial dan 5% formalin. Akar yang dipanen kemudian direndam di dalam larutan FAA selama 24 jam

2. Pencucian

Alkohol 70%	30 menit
Alkohol 80%	30 menit
Alkohol 95%	30 menit
Alkohol 100% I	30 menit
Alkohol 100% II	30 menit

3. Dehidrasi

Alkohol-butanol 3:1	selama 30 menit
Alkohol-butanol 1:1	selama 30 menit
Alkohol-butanol 1:3	selama 30 menit
Butanol I	selama 30 menit
Butanol II	selama 30 menit
Campuran butanol-parafin 1:9 dengan temperatur 57°C	selama 24 jam

3. Infiltrasi

Campuran butanol-parafin diganti dengan parafin murni pada temperatur 57°C selama 24 jam

4. Penyelubungan

Parafin dibuang kemudian diganti dengan parafin yang baru. Setelah ± 1 jam kemudian dilanjutkan dengan membuat blok.

5. Pengirisan dan Perekatan

Membuat irisan menggunakan *rotary microtome*. Irisan yang dibuat kemudian dilekatkan pada gelas benda dengan campuran gliserin-albumin yang diberi air. Kemudian diletakkan di atas *hot plate* dengan temperatur 45° C sampai pita parafin meregang

6. Pewarnaan

Menggunakan safranin 1% dalam akuades.

Xilol	selama 3 menit
Xilol	selama 3 menit
Campuran alkohol-xilol 1:3	selama 3 menit
Campuran alkohol-xilol 1:1	selama 3 menit
Campuran alkohol-xilol 3:1	selama 3 menit
Alkohol absolut I	selama 3 menit
Alkohol absolut II	selama 3 menit
Alkohol 95%	selama 3 menit
Alkohol 80%	selama 3 menit
Alkohol 60%	selama 3 menit
Alkohol 40%	selama 3 menit
Alkohol 20%	selama 3 menit
Akuades	selama 3 menit
Safranin 1% dalam akuades	selama 2 jam
Akuades	selama 3 menit
Alkohol 20%	selama 3 menit
Alkohol 40%	selama 3 menit
Alkohol 60%	selama 3 menit
Alkohol 80%	selama 3 menit
Alkohol 95%	selama 3 menit
Alkohol absolut I	selama 3 menit

Alkohol absolut II	selama 3 menit
Campuran alkohol-xilol 3:1	selama 3 menit
Campuran alkohol-xilol 1:1	selama 3 menit
Campuran alkohol-xilol 1;3	selama 3 menit
Xilol	selama 3 menit
Xilol	selama 3 menit

Diberi balsam Kanada/entelan kemudian ditutup dengan gelas penutup. Preparat dikeringkan di atas *hot plate* dengan temperatur 45°C hingga balsam cukup kering. Diamati di bawah mikroskop.

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

- Rancangan penelitian yang akan digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 10 perlakuan dan 3 kali ulangan.

Tabel 3.3 Daerah Pengacakan Penelitian

Kelompok/ Ulangan (ke-)	Perlakuan									
1	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P1	P2	P0
2	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P0
3	P5	P6	P7	P8	P9	P1	P2	P3	P4	P0

Tabel Hasil Pengamatan

Tabel 3.3 Hasil Pengamatan Morfologi Tanaman

No	Perlakuan	(Tinggi batang/ Jumlah daun)			
		U1	U2	U3	Rata-rata
1.	P1				
2.	P2				
3.	P3				
4.	P4				
5.	P5				
6.	P6				
7.	P7				
8.	P8				
9.	P9				
10.	P10				

- Keterangan :
P: Perlakuan
U: Ulangan

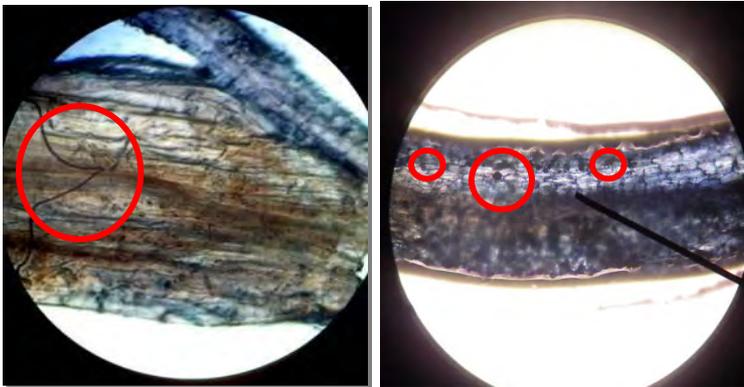
- Hasil pengamatan dianalisa menggunakan uji ANOVA dan LSD dari program SPSS

Ho = Tidak ada pengaruh dari kombinasi tanaman hiperakumulator dalam mengatasi stress logam berat Mn pada tanaman kedelai

H1 = Ada pengaruh dari kombinasi tanaman hiperakumulator dalam mengatasi stress logam berat Mn pada tanaman kedelai

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

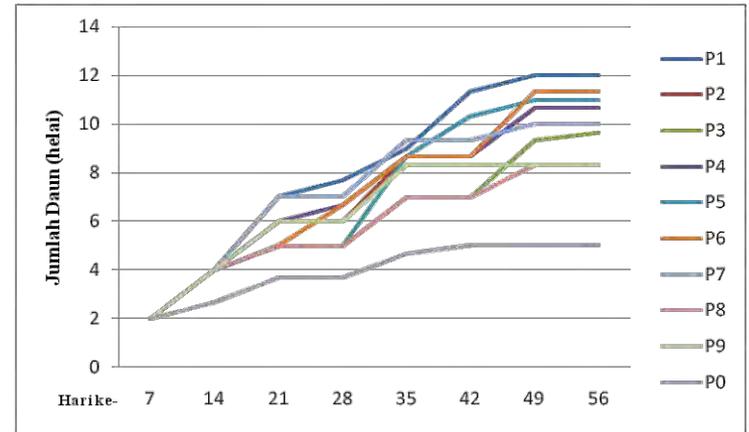
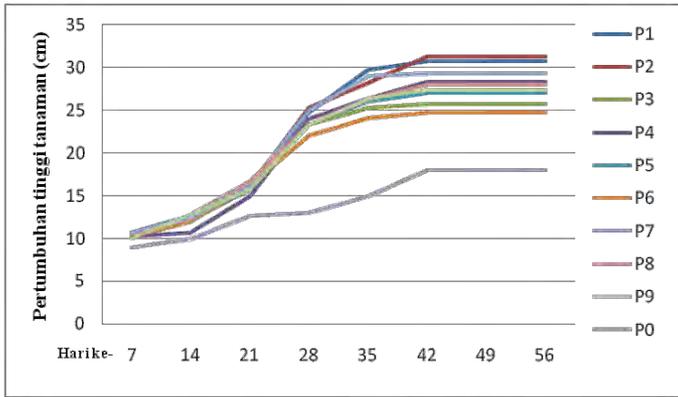
Nilai Infeksi Mikoriza



Adanya logam berat merupakan salah satu faktor yang akan mempengaruhi infeksi mikoriza pada akar (Mosse, 1981 dalam Anas, 1993).

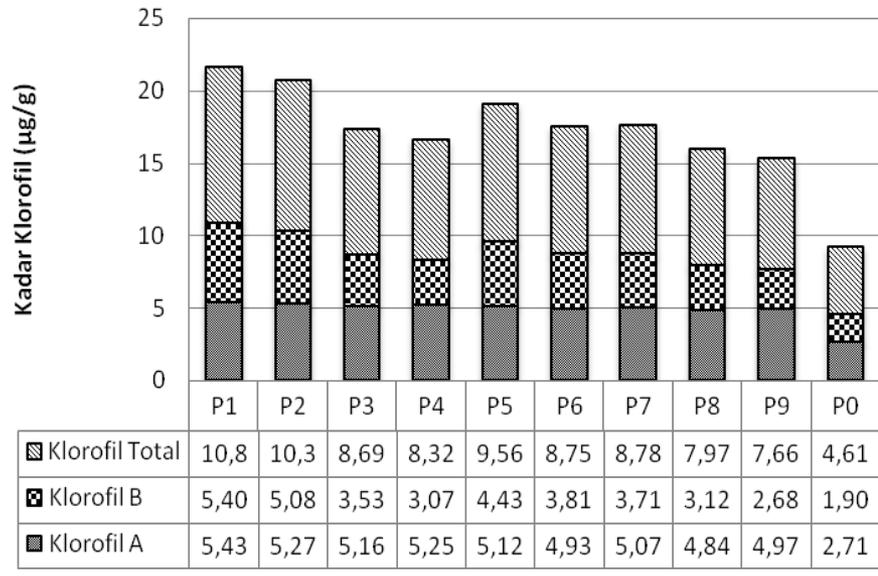
No	Perlakuan	Rata-rata
1.	P1	53%
2.	P2	53%
3.	P3	50%
4.	P4	50%
5.	P5	43%
6.	P6	43%
7.	P7	50%
8.	P8	47%
9.	P9	40%
10.	P0	33%

Tinggi Tanaman dan Jumlah Daun



Perlakuan	Hari ke-							
	7	14	21	28	35	42	49	56
P1	10,3	12,3	15,7	24,7	29,7	30,7	30,7	30,7
P2	10,7	12,3	16	25,3	28,3	31,3	31,3	31,3
P3	10	12	16	23,3	25,3	25,7	25,7	25,7
P4	10,3	10,7	15	24	26,3	28,3	28,3	28,3
P5	10,7	12,7	15,7	23,3	26	27	27	27
P6	10,3	12	16,3	22	24	24,7	24,7	24,7
P7	10,7	12,3	16,3	25	29	29,3	29,3	29,3
P8	10	12,7	16,7	23,3	26,3	28	28	28
P9	10	12,7	15,7	23,3	26,3	27,3	27,3	27,3
P0	9	10	12,7	13	15	18	18	18

Perlakuan	Hari ke-							
	7	14	21	28	35	42	49	56
P1	2	4	7	7,67	9,00	11,33	12,00	12,00
P2	2	4	6	6	8,67	8,67	10,67	10,67
P3	2	4	5	5	7	7	9	10
P4	2	4	6	6,67	8,67	8,67	10,67	10,67
P5	2	4	5	5	8,67	10,33	11	11
P6	2	4	5	6,67	8,67	8,67	11,33	11,33
P7	2	4	7	7	9,33	9,33	10,00	10,00
P8	2	4	5	5	7	7	8,33	8,33
P9	2	4	6	6	8,33	8,33	8,33	8,33
P0	2	2,67	3,67	3,67	4,67	5,00	5,00	5,00

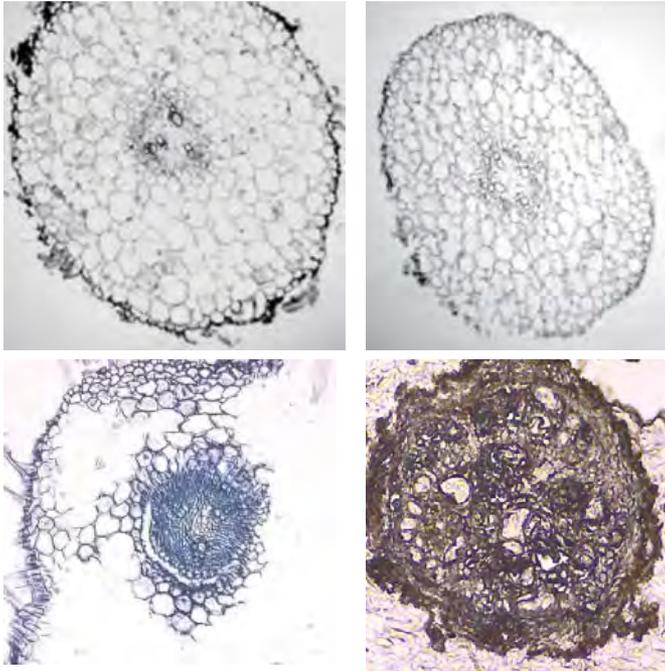


Telah diketahui sebelumnya, bahwa peningkatan nilai Mn pada tanah dapat menyebabkan penurunan nilai total klorofil pada tanaman (Arya & Roy, 2011)

Kadar Klorofil Daun



Kerusakan Anatomi Akar



Mn memberikan pengaruh pada struktur morfologi akar dimana serabut akar menjadi lebih sedikit apabila tanah tercemar logam Mn dalam jumlah yang sangat tinggi (Arya & Roy, 2011).

Struktur anatomi di antara keduanya masih terlihat sama. Tidak ada perubahan anatomi yang terjadi baik pada perlakuan 1 dan perlakuan 0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

- Pemberian kombinasi tanaman hiperakumulator diketahui memberikan pengaruh pada tanaman kedelai dalam mengatasi stress pada daun, dilihat dari nilai ANOVA yang menunjukkan $pvalue < 0,05$ pada jumlah daun dan kadar klorofil.
- Pengaruh logam berat Mn lebih tinggi menyerang bagian daun dibandingkan bagian akar dan batang . Salah satu peran penting Mn pada daun adalah proses fotosintesis yang terjadi pada fotosistem II (PSII), berfungsi dalam menyediakan elektron transport (Milalleo, 2010).
- Akar yang menyerap logam berat Mn akan menstransfer Mn langsung menuju daun melalui xylem pada proses transpirasi (Milaleo *et al*, 2010).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- Kombinasi tanaman hiperakumulator memberikan pengaruh terhadap jumlah daun dan kadar klorofil tanaman kedelai (*G. max*), namun tidak memberikan pengaruh pada tinggi dan akar tanaman.
- Kombinasi tanaman hiperakumulator membantu mengurangi stress logam berat Mn pada daun.
- Penggunaan tanaman hiperakumulator dalam jumlah sedikit sudah cukup untuk mengatasi stress pada daun tanaman kedelai

Saran

- Pemberian tanaman hiperakumulator telah terbukti memberikan pengaruh positif pada daun tanaman kedelai akan tetapi hasil yang didapatkan belum optimal. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan serta umur terbaik tanaman hiperakumulator yang digunakan dalam menyerap logam berat.

TERIMA KASIH