



Respon Morfo-anatomi dan Uji Histokimia Kemiri Sunan Terinokulasi Cendawan Endofit pada *Tailing* Tambang Emas

Morphoanatomical Responses and Histochemical Analysis of Kemiri Sunan Inoculated with Endophytic Fungi in Gold Mine Tailings

Elena Theana¹, Hamim^{1*}, Yohana Caecilia Sulistyaningsih¹, Surono²

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor
Jl Agathis Kampus IPB Darmaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia (16680)

²Pusat Penelitian Mikrobiologi Terapan, Organisasi Riset Ilmu Hayati dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Indonesia

Jl. Raya Jakarta-Bogor KM 46, Cibinong, Jawa Barat, Indonesia (16911)

Email: hamim@apps.ipb.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstract

Kemiri Sunan (*Reutealis trisperma* (Blanco) Airy Shaw) is a non-edible oil producing plant that can be used as a phytoremediation agent. The study aimed to determine the response of growth, anatomy, and Pb accumulation of Kemiri Sunan inoculated by Dark Septate Endophyte (DSE) fungus in response to gold mine tailings. Two months old seedlings inoculated with 0.5% DSE fungus were transferred into pots contained gold mine tailing with different concentrations and grown for 7 weeks. The parameter observed including the height of the plant, shoot and root dry weight, leaf surface area and anatomy of the tissue. Histochemical analysis was carried out to observe Pb in the tissues. The results showed that tailing concentration affected plant height and anatomical parameters significantly, but not shoot and root dry weight nor leaf surface area. DSE inoculation did not affect significantly on height, shoot and root dry weight, leaf area, and anatomical parameter. Accumulation of lead was observed in epidermal cell, cortex, vascular bundle, and pith of the root, while in the leaves it was observed in the upper and lower epidermal cells, the area between xylem, and parenchymal tissue. DSE fungus inoculation improved growth and reduced Pb toxicity in Kemiri Sunan.

Keywords: biodiesel, DSE fungus, Gold mine tailings, Pb, *Reutealis trisperma*

Abstrak

Kemiri Sunan (*Reutealis trisperma* (Blanco) Airy Shaw) merupakan tanaman penghasil minyak non pangan yang dapat digunakan sebagai agen fitoremediasi. Penelitian bertujuan untuk mengetahui respon pertumbuhan, anatomi, dan akumulasi Pb Kemiri Sunan yang diinokulasi jamur *Dark Septate Endophyte* (DSE) terhadap *tailing* tambang emas. Bibit berumur dua bulan yang telah diinokulasi jamur DSE 0,5% dipindahkan ke dalam pot berisi *tailing* tambang emas dengan konsentrasi berbeda dan ditanam selama 7 minggu. Parameter yang diamati meliputi tinggi tanaman, berat kering pucuk dan akar, luas permukaan daun dan anatomi jaringan. Analisis histokimia dilakukan untuk mengamati Pb dalam jaringan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi *tailing* berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman dan parameter anatomi, tetapi tidak mempengaruhi berat kering tajuk dan akar maupun luas permukaan daun. Inokulasi DSE tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman, berat kering pucuk dan akar, luas daun, dan parameter anatomi. Pada akar, akumulasi timbal diamati pada sel epidermis, korteks, berkas pembuluh, dan empulur akar, sedangkan pada daun diamati pada sel epidermis atas dan bawah, daerah antara xilem, dan jaringan parenkim. Inokulasi jamur DSE meningkatkan pertumbuhan dan menurunkan toksisitas Pb pada Kemiri Sunan.

Kata kunci: biodiesel, Cendawan DSE, Pb, *tailing* tambang emas, *Reutealis trisperma*

Disubmit : 24 Desember 2022 ; Direvisi : 4 Februari 2024 ; Diterima : 21 September 2024



Pendahuluan

Pencemaran lingkungan menjadi salah satu permasalahan serius di banyak negara berkembang, termasuk Indonesia. Pencemaran lingkungan meningkat seiring dengan pertumbuhan industri yang berkembang pesat termasuk industri pertambangan emas. Peningkatan kapasitas industri emas menguntungkan dari segi ekonomi akan tetapi juga menimbulkan dampak bagi lingkungan seperti dihasilkannya limbah dari proses penambangan tersebut. Limbah utama yang dihasilkan dari kegiatan pertambangan emas yaitu *tailing*. *Tailing* diketahui mengandung logam berat, salah satunya ialah timbal (Pb) dalam jumlah yang cukup besar (Fashola et al. 2016). Menurut Irma (2016), Pb dapat terakumulasi di lingkungan, tidak dapat terurai secara biologis, dan toksisitasnya tidak berubah sepanjang waktu. Akumulasi Pb dalam tanaman berpengaruh terhadap pertumbuhan seperti terhambatnya pertumbuhan akar dan tunas, berpengaruh juga terhadap kerusakan jaringan misalnya rusaknya dinding sel, serta gangguan fisiologi seperti terganggunya proses fotosintesis (Kopittke et al., 2007). Oleh sebab itu, perlu upaya penanggulangan yang mendasar untuk mengurangi pencemaran yang diakibatkan oleh logam berat.

Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan akibat pencemaran logam berat adalah fitoremediasi. Fitoremediasi merupakan penggunaan tumbuhan untuk memperbaiki, mengurangi, ataupun memulihkan lahan tercemar dari polutan (Sarwar et al., 2017). Kemiri Sunan (*Reutealis trisperma*) merupakan tanaman penghasil biodiesel dari jenis non pangan (*non-edible oil*) yang diduga mampu beradaptasi baik pada lahan bekas tambang timah, kondisi lahan kering, dan masam (Pranowo et al. 2015), serta dapat beradaptasi pada limbah cair tambang emas (Hamim et al., 2017). Tanaman tersebut juga memiliki beberapa keunggulan dibandingkan tanaman penghasil biodiesel lain, diantaranya mampu menghasilkan biji dalam jumlah banyak, rendemen minyak biji yang tinggi, memiliki tajuk yang luas dengan sistem perakaran kuat dan dalam (Pranowo et al., 2015). Karakteristik tersebut tidak hanya

cocok untuk pengembangan energi terbarukan, namun juga sangat berguna bagi upaya reklamasi lahan kritis (Pranowo et al., 2015).

Upaya reklamasi lahan kritis menggunakan Kemiri Sunan akan lebih efektif dengan bantuan mikroba seperti bakteri atau cendawan karena interaksi keduanya dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman dalam kondisi tercekam. Salah satu cendawan yang dapat digunakan ialah cendawan *Dark Septate Endophyte* (DSE). Cendawan endofit bermanfaat bagi tanaman karena dapat meningkatkan serapan hara, meningkatkan kadar hormon endogen, dan meningkatkan ekspresi gen di bawah cekaman abiotik (Gond et al., 2015). Ban et al., (2017) melaporkan bahwa cendawan DSE mampu meningkatkan ketahanan tanaman jagung terhadap logam Pb dengan cara meningkatkan efisiensi fotosintesis dan menurunkan faktor translokasi Pb. Meskipun demikian studi mendalam mengenai aplikasi inokulasi cendawan DSE pada Kemiri Sunan dan respon tumbuhan secara anatomi dan histokimia dalam menghadapi perlakuan *tailing* tambang emas belum pernah dilakukan sehingga upaya tersebut masih sangat diperlukan. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan mengetahui respon pertumbuhan, anatomi, dan histokimia Kemiri Sunan (*R. trisperma*) yang tereksposis *tailing* tambang emas dengan inokulasi cendawan endofit DSE.

Metode Penelitian

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Januari hingga Agustus 2019 di kebun percobaan Departemen Biologi, FMIPA, IPB Dramaga, Bogor, Laboratorium Fisiologi dan Genetika Tumbuhan, Laboratorium Ekologi dan Sumberdaya Tumbuhan, Laboratorium Mikroteknik Hewan, Departemen Biologi, serta Laboratorium Terpadu Kimia, Departemen Kimia, FMIPA IPB.

Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan yaitu anakan (*seedling*) Kemiri Sunan (*Reutealis trisperma*) diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (BALITTRI), Sukabumi, Jawa Barat. Inokulum cendawan

DSE kode isolat KSP1 milik Pusat Penelitian Mikrobiologi Terapan BRIN. Bahan *tailing* tambang emas diperoleh dari kolam penampungan *tailing* PT. Aneka Tambang (ANTAM), Pongkor, Jawa Barat. Bahan kimia yang digunakan antara lain etanol, gliserin, larutan seri Johansen, parafin, safranin, *alcian blue*, xilol, dan entelan. Alat yang digunakan adalah *hotplate*, oven, mikrotom putar (Yamato RV-240), mikroskop cahaya (Nikon E100), kamera (Optilab 2.0), dan kamera (*Indomicro*).

Pelaksanaan Percobaan

Percobaan dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap dua faktor. Faktor pertama adalah perlakuan *tailing* tambang emas yang terdiri dari tiga taraf yaitu 0% (tanpa *tailing*), 50% *tailing* dan 100% *tailing*. Faktor kedua adalah perlakuan inokulasi cendawan *Dark Septate Endophyte* (DSE) yang terdiri dari dua taraf, yaitu dengan dan tanpa DSE. Anakan kemiri Sunan yang berumur 2 bulan dipindahkan ke *polybag* dengan kapasitas 7 kg yang berisi media tanam berupa campuran tanah dan kompos (3:1) yang diberi perlakuan *tailing* tambang dengan 3 konsentrasi berbeda (0%, 50%, dan 100%), serta penambahan cendawan *Dark Septate Endophyte* sebanyak 0.5% dari berat media tanam, sedangkan untuk perlakuan kontrol tidak ditambahkan inokulum. Tiap pot percobaan diberi 0.5 kg kompos dan 0.5 g pupuk NPK (16:16:16) pada awal perlakuan. Rancangan percobaan yang dilakukan adalah rancangan acak lengkap faktorial dengan 2 faktor dan diulang sebanyak 3 kali kecuali pada parameter pertumbuhan diulang sebanyak 5 kali. Faktor pertama adalah konsentrasi *tailing* yang terdiri dari 3 taraf yaitu 0% (kontrol); 50%; dan 100%. Faktor kedua adalah pemberian DSE terdiri dari 2 taraf yaitu tanpa DSE dan inokulasi DSE. Percobaan dilakukan selama 7 minggu.

Analisis Pertumbuhan

Analisis pertumbuhan meliputi pengukuran pertambahan tinggi tanaman, bobot kering akar dan tajuk, serta luas daun. Tanaman yang telah dipanen dibersihkan kemudian dipisahkan antara tajuk dan akar. Selanjutnya tanaman dikeringkan menggunakan oven pada suhu 70°C selama tiga hari dan ditimbang bobotnya secara terpisah. Luas daun diukur menggunakan

metode analisis gambar digital yang dikembangkan oleh Schneider *et al.* (2012), daun ke-4 dari masing-masing tanaman dipindai secara utuh menggunakan pemindai (*scanner*) Hewlett Packard 1050 dengan tingkat resolusi 300 dpi, selanjutnya gambar daun hasil pemindaian diukur luasnya menggunakan *software* ImageJ (NIH-USA).

Pengamatan Anatomi Akar dan Daun

Sampel yang digunakan berasal dari tumbuhan kemiri Sunan yang diberi perlakuan *tailing* selama 49 hari. Pembuatan preparat sayatan transversal organ menggunakan metode parafin (Johansen 1940). Sampel akar (1 cm dari ujung akar) dan daun (daun ke-5) difiksasi dalam etanol 70%, kemudian dipotong menggunakan silet. Sampel difiksasi dalam larutan *formalin-asam asetat glasial-alkohol* (FAA), selanjutnya didehidrasi dalam larutan seri Johansen. Setelah itu, sampel diinfiltrasi dengan parafin dan ditanam di dalam blok parafin. Blok parafin direndam dalam larutan *Gifford* selama 14 hari. Selanjutnya, blok disayat dengan ketebalan 15 µm menggunakan mikrotom putar. Hasil sayatan diwarnai dengan pewarnaan ganda safranin 1% dan *alcian blue* 1%. Preparat yang telah diwarnai diberi media entelan dan diamati dengan mikroskop yang dilengkapi dengan kamera (*Indomicro*). Parameter yang diamati pada akar adalah tebal epidermis, tebal endodermis, diameter akar, dan jumlah kristal (Hilmi *et al.* 2018). Parameter yang diamati pada daun yaitu tebal daun, tebal epidermis atas dan bawah, serta tebal jaringan palisade dan bunga karang.

Analisis Histokimia Logam Pb

Sampel yang digunakan berasal dari tumbuhan kemiri Sunan yang diberi perlakuan *tailing* selama 90 hari. Analisis histokimia dilakukan berdasarkan metode Seregin dan Kozhevnikova (2011). Sampel akar (1 cm dari ujung akar) dan daun (daun ke-5) disayat melintang menggunakan metode *free hand section*. Hasil sayatan diwarnai dengan reagen *dithizone*. Sampel yang telah diwarnai diamati menggunakan mikroskop cahaya (Nikon E100) dan kamera (Optilab 2.0) dengan perbesaran 400 dan 1000 kali. Keberadaan logam Pb pada jaringan ditandai dengan terbentuknya kompleks berwarna merah.

Hasil dan Pembahasan

Deskripsi dan identifikasi kemiri Sunan dan cendawan

Pertambahan Tinggi Tanaman

Hasil pengamatan menunjukkan pertumbuhan tinggi tanaman (PTT) pada konsentrasi media 100% *tailing* mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan kontrol (Tabel 1). Penurunan PTT pada konsentrasi media 100% *tailing* diduga berhubungan dengan keterbatasan bahan organik dan hara makro seperti N, P dan K yang sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman. *Tailing* tambang emas memiliki kandungan bahan organik dan hara makro seperti N, P dan K yang sangat rendah (Setyaningsih et al., 2018). Penurunan PTT pada konsentrasi media 100% *tailing* juga dapat disebabkan oleh peningkatan konsentrasi logam berat. Hal serupa juga ditemukan pada *Jatropha curcas* dan *Melia azedarach* dimana efek pemaparan logam berat Pb yang lebih lama dan dalam konsentrasi yang lebih tinggi menyebabkan penurunan pada pertumbuhan tanaman (Andriya et al., 2019). Adanya inokulasi cendawan DSE diketahui dapat meningkatkan PTT pada konsentrasi media 50%, 100%, maupun pada kontrol dibandingkan tanpa inokulasi cendawan DSE meskipun tidak signifikan (Table 1). Cendawan endofit dilaporkan memiliki kemampuan untuk melindungi inangnya dari toksisitas logam berat dan membantu dalam meningkatkan penyerapan nutrisi (Khan et al., 2017).

Bobot Kering Akar dan Tajuk

Pemberian *tailing* tambang emas dan inokulasi cendawan DSE pada kemiri sunan selama 7 pekan tidak berpengaruh signifikan terhadap bobot kering akar (BKA) dan bobot kering tajuk (BKT). Hasil pengukuran menunjukkan bahwa terjadi sedikit peningkatan BKA dan BKT pada konsentrasi 50% dan menurun pada konsentrasi media 100% *tailing* (Tabel 2). Hasil pengukuran bobot kering sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Tauqeer et al. (2016), yang menyatakan bahwa karakteristik pertumbuhan tanaman dan biomassa secara bertahap meningkat di bawah tekanan logam yang lebih rendah (0.5 dan 1.0 mM)

dibandingkan dengan control sementara terjadi penurunan di bawah tekanan logam yang lebih tinggi (2.0 mM) pada *Alternanthera bettzickiana*. Adanya inokulasi cendawan DSE menyebabkan penurunan meskipun tidak signifikan terhadap bobot kering akar pada kontrol dan konsentrasi media 50% *tailing*, serta peningkatan bobot kering akar pada konsentrasi media 100% *Tailing*. Respon berbeda ditunjukkan pada bobot kering tajuk, adanya inokulasi cendawan DSE mampu meningkatkan bobot kering pada semua konsentrasi *tailing* yang diberikan. Penelitian yang dilakukan menunjukkan hal yang sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Li et al. (2019), bahwa tanaman yang mengalami inokulasi endofit menunjukkan hasil yang signifikan terhadap peningkatan tinggi tanaman, bobot kering tajuk, dan tanaman yang diinfeksi endofit tidak berpengaruh terhadap bobot kering akar di bawah tekanan Pb²⁺.

Luas Daun Spesifik

Luas daun merupakan salah satu parameter pertumbuhan yang digunakan untuk mengetahui laju penghambatan pertumbuhan akibat cekaman, salah satunya cekaman logam berat seperti yang terkandung dalam media *tailing*. Pada percobaan ini diamati luas daun spesifik (daun ke 4 dari ujung). Pengukuran terhadap luas daun menunjukkan bahwa terjadi reduksi luas daun pada tanaman kemiri sunan dengan konsentrasi media 50% dan 100% *tailing* (Tabel 3). Penelitian yang dilakukan menunjukkan hal yang sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Hamim et al. (2019), bahwa cekaman Pb menyebabkan penurunan luas daun meskipun tidak signifikan pada konsentrasi 0.5 mM sampai dengan 3 mM pada kemiri sunan. Adanya inokulasi cendawan DSE menyebabkan penurunan luas daun spesifik tanaman kontrol dan 100% *tailing* dibandingkan dengan perlakuan tanpa inokulasi cendawan DSE. Berbeda dengan kontrol dan 100% *tailing*, pada konsentrasi media 50% *tailing* luas daun justru mengalami peningkatan.

Respon Anatomi Tanaman Kemiri Sunan

Tailing tambang emas tidak hanya berpengaruh terhadap pertumbuhan kemiri sunan, namun berpengaruh juga terhadap struktur anatomi kemiri sunan. Hasil

pengamatan anatomi tanaman pada konsentrasi media 100% *tailing* menunjukkan perubahan parameter anatomi akar yang signifikan dibandingkan pada tanaman kontrol (Tabel 4). Perlakuan 100% *tailing* menyebabkan peningkatan yang signifikan pada ketebalan endodermis, diameter akar, dan jumlah kristal, sebaliknya terjadi penurunan ketebalan epidermis pada perlakuan 100% *tailing* (Tabel 4). Penelitian yang dilakukan menunjukkan hal yang sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Tupan dan Azrianingsih (2016), bahwa terjadi peningkatan ketebalan jaringan endodermis pada akar *T. hemprichii* pada konsentrasi Pb 0 sampai 25 ppm. Perkembangan lapisan endodermis pada akar diduga berkaitan dengan tingkat toleransi tanaman terhadap logam berat (Hilmi *et al.*, 2018). Endodermis juga berperan penting sebagai pertahanan terhadap berbagai cekaman lingkungan termasuk logam berat (Liška *et al.*, 2016). Menurut Franceschi dan Nakata (2005),

terbentuknya kristal pada tanaman merupakan salah satu bentuk respon tanaman terhadap beberapa faktor abiotik, diantaranya kelebihan logam berat serta ketersediaan unsur Ca. Salah satu fungsi dari terbentuknya kristal yang telah diketahui adalah detoksifikasi terhadap logam berat yang masuk ke dalam tubuh tanaman (Franceschi dan Nakata 2005). Inokulasi DSE pada tanaman menyebabkan respon yang berbanding terbalik dengan peningkatan konsentrasi *tailing* yang diberikan. Adanya inokulasi cendawan DSE pada konsentrasi media 100% *tailing* menyebabkan terjadinya penurunan ketebalan endodermis, diameter akar, dan jumlah kristal, serta peningkatan ketebalan epidermis secara signifikan dibandingkan tanpa inokulasi cendawan DSE. Hal tersebut diduga karena kemampuan kolonisasi cendawan yang ikut menurun karena kondisi lingkungan yang sangat tercekam.

Tabel 1. Rata-rata pertambahan tinggi tanaman Kemiri Sunan yang mendapat perlakuan inokulasi cendawan DSE dan *tailing* tambang emas selama 7 minggu

Parameter	Inokulasi DSE	Konsentrasi <i>tailing</i>		
		0%	50%	100%
Pertambahan tinggi (cm)	Non-Inokulasi	3.7 ^b	3.2 ^{bc}	2.7 ^c
	Inokulasi	4.5 ^a	3.8 ^{ab}	2.8 ^c

Keterangan: Angka setiap parameter yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Tabel 2. Bobot kering akar dan tajuk Kemiri Sunan yang mendapat perlakuan inokulasi cendawan DSE dan *tailing* tambang emas selama 7 minggu

Parameter	Inokulasi DSE	Konsentrasi <i>tailing</i>		
		0%	50%	100%
Bobot kering akar (g)	Non-Inokulasi	1.4 ^{ab}	1.7 ^a	1.2 ^{ab}
	Inokulasi	0.8 ^b	1.6 ^{ab}	1.4 ^a
Bobot kering tajuk (g)	Non-Inokulasi	4.6 ^a	7.3 ^a	5.1 ^a
	Inokulasi	4.8 ^a	15.4 ^a	6.5 ^a

Keterangan: Angka setiap parameter yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Tabel 3. Luas daun keempat Kemiri Sunan yang mendapat perlakuan inokulasi cendawan DSE dan *tailing* tambang emas selama 7 minggu

Parameter	Inokulasi DSE	Konsentrasi <i>tailing</i>		
		0%	50%	100%
Luas daun (mm)	Non-Inokulasi	138.9 ^a	101.9 ^a	106.6 ^a
	Inokulasi	114.6 ^a	134.9 ^a	101.3 ^a

Keterangan: Angka setiap parameter yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Tabel 4. Parameter anatomi akar Kemiri Sunan yang mendapat perlakuan inokulasi cendawan DSE dan *tailing* tambang emas selama 7 minggu

Parameter anatomi	Inokulasi	Konsentrasi <i>tailing</i>		
		0%	50%	100%
Tebal epidermis (μm)	Non-Inokulasi	29.2 ^a	19.5 ^{bc}	18.1 ^c
	Inokulasi	24.9 ^b	24.4 ^b	22.1 ^{ab}
Tebal endodermis (μm)	Non-Inokulasi	18.4 ^{bc}	16.6 ^c	23.9 ^a
	Inokulasi	17.3 ^{bc}	18.8 ^{bc}	20.9 ^{ab}
Diameter akar (μm)	Non-inokulasi	615.4 ^{cd}	612.1 ^{cd}	1078.2 ^a
	Inokulasi	593.2 ^d	654.4 ^c	1017.1 ^b
Jumlah Kristal (μm)	Non-Inokulasi	2.3 ^c	7.3 ^{bc}	26.0 ^a
	Inokulasi	2.0 ^c	7.3 ^{bc}	11.7 ^b

Keterangan: Angka setiap parameter yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Tabel 5. Parameter anatomi daun Kemiri Sunan yang mendapat perlakuan inokulasi cendawan DSE dan *tailing* tambang emas selama 7 minggu

Parameter anatomi	Inokulasi	Konsentrasi <i>tailing</i>		
		0%	50%	100%
Tebal daun (μm)	Non-Inokulasi	161.3 ^a	151.8 ^a	145.7 ^a
	Inokulasi	139.7 ^a	152.2 ^a	148.2 ^a
Tebal epidermis atas (μm)	Non-Inokulasi	23.2 ^a	21.8 ^a	21.2 ^a
	Inokulasi	24.5 ^a	21.6 ^a	21.3 ^a
Tebal jaringan palisade (μm)	Non-Inokulasi	52.7 ^a	54.3 ^a	60.8 ^a
	Inokulasi	54.7 ^a	55.4 ^a	58.8 ^a
Tebal jaringan bunga karang (μm)	Non-Inokulasi	68.3 ^a	46.4 ^b	44.2 ^b
	Inokulasi	55.0 ^b	49.7 ^b	48.2 ^b
Tebal epidermis bawah (μm)	Non-Inokulasi	20.4 ^a	18.6 ^{ab}	15.7 ^{bc}
	Inokulasi	19.2 ^{ab}	18.5 ^{ab}	14.0 ^c

Keterangan: Angka setiap parameter yang diikuti dengan huruf sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

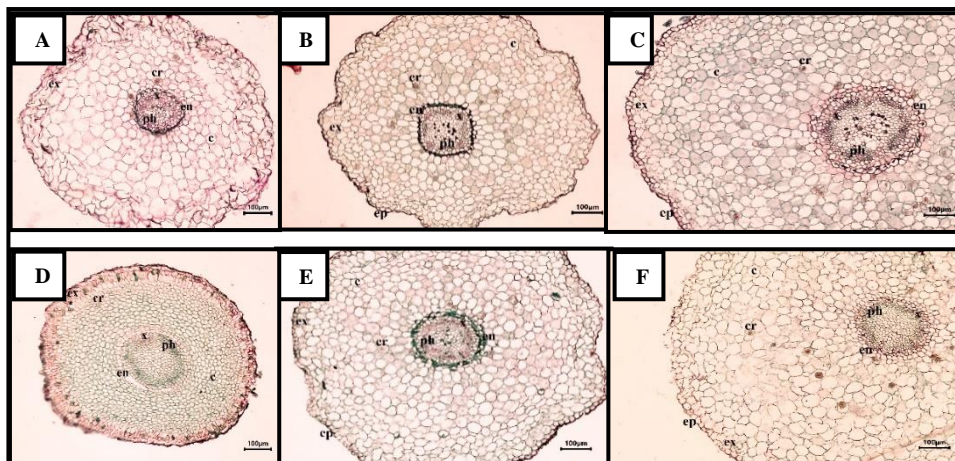
Hasil pengamatan anatomi pada konsentrasi media 100% *tailing* juga menunjukkan perubahan parameter anatomi daun dibandingkan pada kontrol (Tabel 5). Perlakuan 100% *tailing* mengakibatkan penurunan meskipun tidak signifikan terhadap tebal daun dan jaringan epidermis atas, serta terjadi penurunan yang signifikan terhadap

tebal epidermis bawah dan jaringan bunga karang (Table 5). Menurut Tang *et al.* (2013), logam berat menyebabkan penurunan ukuran dari sel epidermis sehingga menyebabkan penurunan terhadap ketebalan epidermis maupun ketebalan daun secara utuh. Paparan logam berat juga menyebabkan pengurangan ukuran sel mesofil (Hilmi *et al.*, 2018).

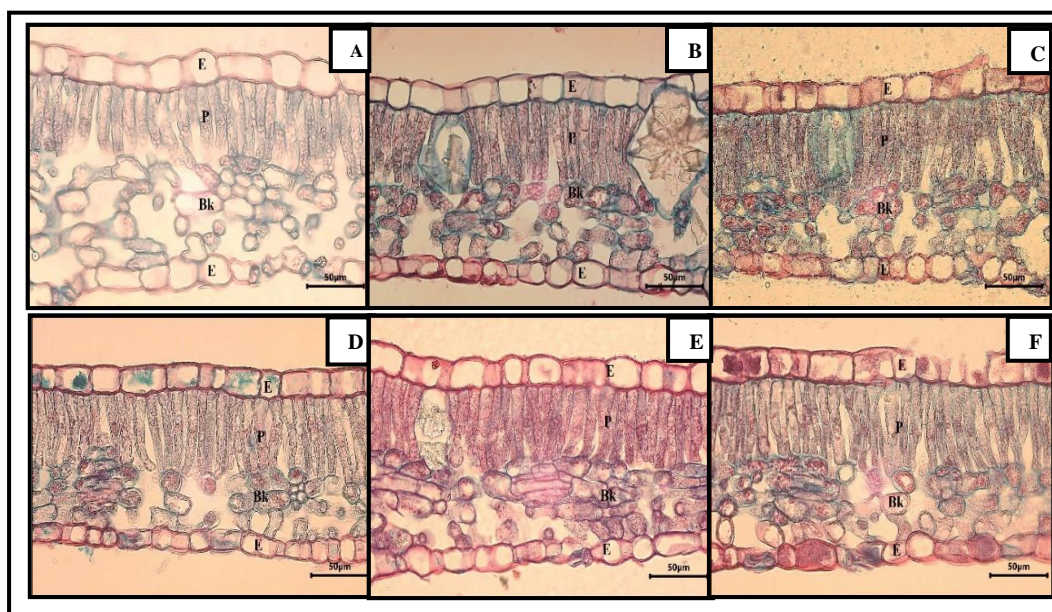
Sementara itu jaringan palisade mengalami peningkatan ketebalan pada konsentrasi media 100% *tailing* meskipun tidak signifikan (Tabel 5). Respon berbeda ditunjukkan oleh adanya inokulasi cendawan DSE, dengan adanya inokulasi menyebabkan peningkatan terhadap ketebalan daun, ketebalan epidermis atas, dan ketebalan palisade dibandingkan tanpa inokulasi DSE namun tidak signifikan. Sebaliknya, inokulasi cendawan DSE menyebabkan penurunan terhadap ketebalan jaringan bunga karang dan ketebalan epidermis bawah secara signifikan pada kontrol (Tabel 5).

Perbandingan anatomi akar tanaman kontrol dan tanaman yang diberi perlakuan media *tailing* baik dengan maupun tanpa inokulasi cendawan DSE dapat dilihat pada Gambar 1. Secara umum akar tidak mengalami

perubahan baik bentuk maupun struktur anatominya, namun terjadi perubahan pada ukuran diameter akar seiring meningkatnya konsentrasi media *tailing*. Peningkatan diameter akar diduga berhubungan dengan bentuk adaptasi terhadap minimnya bahan organik agar penyerapan nutrisi menjadi lebih cepat. *Tailing* tambang emas diketahui sangat miskin akan kandungan bahan organik dan hara makro seperti N, P dan K, hal ini disebabkan *tailingtailing* berasal dari sisa pengolahan batuan mineral yang sangat minim bahan organik (Setyaningsih *et al.*, 2018). Disamping itu, tanaman yang diberi perlakuan *tailing* 100% hanya memperoleh makronutrien dan bahan organik lain yang bersumber dari 0.5 kg kompos serta 0.5 g pupuk NPK yang diberikan pada awal perlakuan hingga hari ke-49 perlakuan.



Gambar 1. Struktur anatomi akar kemiri sunan 0% *tailing* tanpa inokulasi DSE (A), 50% *tailing* tanpa inokulasi DSE (B), 100% *tailing* tanpa inokulasi DSE (C), 0% *tailing* dengan inokulasi DSE (D), 50% *tailing* dengan inokulasi DSE (E), 100% *tailing* dengan inokulasi DSE (F). Ep: epidermis, Ex: eksodermis, C: korteks, Cr: kristal, En: endodermis, Ph: floem, X: xilem. Bar: 100 μ m.



Gambar 2. Struktur anatomi daun kemiri sunan 0% *tailing* tanpa inokulasi DSE (A), 50% *tailing* tanpa inokulasi DSE (B), 100% *tailing* tanpa inokulasi DSE (C), 0% *tailing* dengan inokulasi DSE (D), 50% *tailing* dengan inokulasi DSE (E), 100% *tailing* dengan inokulasi DSE (F). Keterangan: E: epidermis, P: jaringan palisade, Bk: jaringan bunga karang, Bar skala = 50µm.

Perbandingan anatomi daun tanaman kontrol dan tanaman yang diberi perlakuan media *tailing* serta dengan dan tanpa inokulasi cendawan DSE dapat dilihat pada Gambar 2. Secara umum daun tidak mengalami perubahan baik bentuk maupun struktur anatominya, namun terjadi perubahan pada tebal daun baik dengan maupun tanpa inokulasi cendawan DSE. Tebal daun mengalami penurunan seiring peningkatan konsentrasi *tailing*. Jaringan yang berperan dalam penurunan tebal daun yaitu menurunnya ketebalan pada jaringan bunga karang secara signifikan. Selain itu, penurunan tebal daun juga diduga berhubungan dengan bobot kering tajuk yang semakin menurun seiring peningkatan konsentrasi *tailing*.

Hasil Analisis Histokimia Kemiri Sunan

Uji histokimia dilakukan untuk mendeteksi keberadaan logam Pb dalam jaringan tanaman kemiri sunan. Hasil uji histokimia logam Pb pada konsentrasi media 100% *tailing* dan kontrol baik dengan inokulasi maupun tanpa inokulasi cendawan DSE menunjukkan adanya akumulasi logam Pb pada akar dan daun kemiri sunan. Secara kualitatif hasil uji histokimia logam Pb pada akar kontrol dengan inokulasi DSE menunjukkan adanya akumulasi pada jaringan

epidermis, xilem, floem, dan empulur. Selain itu, pada akar kontrol tanpa inokulasi akumulasi logam Pb hanya pada jaringan epidermis. Akumulasi logam Pb pada akar dengan konsentrasi media 100% *tailing* baik dengan maupun tanpa inokulasi cendawan DSE terdapat pada jaringan epidermis, korteks bagian luar, empulur, serta jaringan pembuluh xilem dan floem dengan jumlah akumulasi yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (Tabel 6). Penelitian yang dilakukan menunjukkan hal yang sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh El-Banna (2019), bahwa efek fitotoksik Pb menyebabkan endapan di dalam organel tumbuhan termasuk dinding sel, vakuola, membran plasma, xilem, sel kortikal dan epidermis. Sementara itu, akumulasi logam Pb pada daun kontrol baik dengan maupun tanpa inokulasi terdapat pada jaringan epidermis atas dan bawah, serta daerah diantara xilem. Akumulasi logam Pb pada konsentrasi media 100% *tailing* baik dengan maupun tanpa inokulasi terdapat pada bagian helaian daun maupun tulang daun. Akumulasi logam Pb pada helaian daun terdeteksi pada jaringan palisade dan bunga karang, serta pada sel epidermis atas dan bawah. Akumulasi logam Pb pada tulang daun terdeteksi pada daerah diantara xilem (Tabel 7). Penelitian yang dilakukan menunjukkan hal yang sama

dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Alkhatib *et al.* (2013), bahwa pada daun endapan merah yang menandakan adanya logam Pb dapat terlihat pada kutikula, dinding sel epidermis, jaringan parenkim, aerenkim, dan jaringan pembuluh. Adanya Inokulasi DSE

tidak berpengaruh terhadap akumulasi logam Pb pada jaringan akar dan daun kemiri sunan. Logam Pb mengalami translokasi dari akar ke tajuk melalui jaringan pembuluh sehingga menyebabkan terakumulasinya logam Pb pada daun kemiri sunan.

Tabel 6. Distribusi logam Pb pada akar Kemiri Sunan yang mendapat perlakuan inokulasi cendawan DSE dan *tailing* tambang emas selama 7 minggu

Konsentrasi <i>tailing</i>	Inokulasi DSE	Distribusi					
		Ep	C	En	X	Ph	P
0%	Noninokulasi	+	-	-	-	-	-
100%		++	+	-	+	++	++
0%	Inokulasi	+	-	-	+	+	+
100%		++	+	-	++	++	++

Keterangan: -: tidak terdapat logam pada akar, +: terdapat logam berat sedikit, ++: akumulasi logam Pb banyak
Ep: epidermis, C: korteks, En: endodermis, Ph: floem, X: xilem, P: empulur.

Tabel 7. Distribusi logam Pb pada daun kemiri sunan yang terekspos *tailing* tambang emas selama 90 hari dengan inokulasi DSE

Konsentrasi <i>tailing</i>	Inokulasi DSE	Distribusi				
		Ea	P	Bk	Eb	X
0%	Noninokulasi	+	-	-	+	+
100%		++	++	++	++	+
0%	Inokulasi	+	-	-	+	+
100%		+	++	++	++	+

Keterangan: -: tidak terdapat logam pada akar, +: terdapat logam berat sedikit, ++: akumulasi logam Pb banyak
Ea: epidermis atas, P: jaringan palisade, Bk: jaringan bunga karang, Eb: epidermis bawah, X: daerah diantara xilem.

Simpulan dan Saran

Perlakuan *tailing* tambang emas selama 7 minggu dapat menghambat pertumbuhan Kemiri Sunan, yang meliputi tinggi tanaman, bobot kering akar dan tajuk, luas daun spesifik serta cenderung menurunkan ketebalan daun khususnya jaringan bunga karang dan epidermis bawah, sedangkan diameter akar mengalami peningkatan. Akumulasi Pb pada jaringan akar terdeteksi pada jaringan epidermis, korteks, jaringan pembuluh, dan empulur, sedangkan pada daun terdeteksi pada jaringan epidermis, jaringan palisade dan bunga karang, serta daerah diantara xilem. Inokulasi cendawan DSE membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman, berpengaruh positif pada beberapa parameter anatomi, sehingga membantu menekan efek toksik logam Pb pada jaringan tanaman.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada PT Aneka Tambang Unit Bisnis Pertambangan Emas (UBPE) Pongor, Bogor, atas dukungannya dalam penelitian ini dengan memberikan kesempatan pemanfaatan *tailing* tambang emas dalam penelitian.

Daftar Pustaka

- Alkhatib, R., Bsoul, E., Blom, D.A., Ghoshroy, K., Creamer, R. & Ghoshroy, S. (2013). Microscopic analysis of lead accumulation in tobacco (*Nicotiana tabacum* var. Turkish) roots and leaves. *Journal of Microscopy and Ultrastructure* 1: 57-62.
- Andriya, N.N., Hamim, Sulistijorini, Triadiati. (2019). The phytoremediation potential of non-edible oil-producing plants for gold mine tailings. *Biodiversitas* 20(10): 2949-2957.
- Ban, Y., Zhouying, X.U., Yang, Y., Zhang, H. & Tang, M. (2017). Effect of dark septate endophytic fungus *Gaeumannomyces cylindrosporus* on plant growth,

- photosynthesis and Pb tolerance of maize (*Zea mays* L.). *Pedosphere*. 27: 283-292.
- El-Banna, M.F., Mosa, A., Gao, B., Yin, X. & Wang, H. (2019). Scavenging effect of oxidized biochar against the phytotoxicity of lead ions on hydroponically grown chicory: an anatomical and ultrastructural investigation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 170: 363-374.
- Fashola, M.O., Ngole-Jeme, V.M. & Babalola, O.O. (2016). Review heavy metal pollution from gold mines: environmental effects and bacterial strategies for resistance. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 13: 1-20.
- Franceschi, V.R. & Nakata, P.A. (2005). Calcium oxalate in plants: Formation and function. *Annual Review of Plant Biology*. 56: 41-71.
- Gond, S.K., Bergen, M.S., Torres, M.S. & White Jr J.F. (2015). Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize. *Microbiology Research* 172: 79-87.
- Hamim, H., Hilmi, M., Pranowo, D., Saprudin, D. & Setyaningsih, L. (2017). Morpho-physiological changes of biodiesel producer plants *Reutealis trisperma* (Blanco) in response to gold-mining waste water. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 20(9): 423-435.
- Hamim, Hanifatunisa, Hadisunarso, Setyaningsih, L., Saprudin, D. (2019). Lead (Pb) toxicity effect on physio-anatomy of bead-tree, jatropha, castor bean and Philippine-tung grown in water culture. *BIODIVERSITAS* 20(12): 3690-3697.
- Hilmi, M., Hamim, H., Sulistyarningsih, Y.C. & Taufikurahman. 2018. Growth, histochemical and physiological responses of non-edible oil producing plant (*Reutealis trisperma*) to gold mine tailings. *Biodiversitas* 19 (4):1294-1302.
- Irma, W. (2016). Pengaruh pemberian timbal (Pb) terhadap morfologi daun bayam (*Amarantus tricolor* L.) dalam skala laboratorium. *Jurnal IPTEK Terapan* 9(2): 179-184.
- Johansen, D.A. (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill. New York.
- Khan, A.R., Waqas, M., Ullah, I., Khan, A.L., Khan, M.A., Lee, I.J. & Shin, J.H. (2017). Culturable endophytic fungal diversity in the cadmium hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their role in enhancing phytoremediation. *Environ Exp Bot*. 135:126-135.
- Kopittke, M., Asher, P.J. & Mensies, N. (2007). Toxic effect of Pb²⁺ on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environmental Pollution* 150:280-287.
- Li, X., Ma, L., Li, Y., wang, L. & Zhang L. (2019). Endophyte infection enhances accumulation of organic acids and minerals in rice under Pb²⁺ stress condition. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 174: 255-262.
- Líška, D., Martinka, M., Kohanová, J. & Lux, A. (2016). Asymmetrical development of root endodermis and exodermis in reaction to abiotic stresses. *Annals of Botany* 118: 667-674.
- Pranowo, D., Herman, M. & Syafaruddin. (2015). Potensi pengembangan kemiri sunan (*Reutealis trisperma* (Blanco) Airy Shaw) di lahan terdegradasi. *PERSPEKTIF* 14(2): 87-101.
- Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M.R., Ishaque, W., Kamran, M.A., Matloob, A., Rehman, A. & Hussain, S. (2017). Review phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere* 171: 710-721.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. & Eliceiri, K.W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* 9: 671 – 675.
- Seregin, I.V., Kozhevnikova, A.D. (2011). Histochemical methods for detection of heavy metals and strontium in the tissues of higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 58(4): 721-727.
- Setyaningsih, L., Wulandari, A.S., Hamim, H. (2018). Growth of typha grass (*Typha angustifolia*) on gold-mine tailings with application of arbuscular mycorrhiza fungi. *BIODIVERSITAS* 19(2): 454-459.
- Tang, L., Ying, R.R., Jiang, D., Zeng, X.W., Morel, J.L., Tang, Y.T. & Qiu, R.L. (2013). Impaired leaf CO₂ diffusion mediates Cd-induced inhibition of photosynthesis in the Zn/Cd hyperaccumulator *Picris divaricata*. *Plant Physiology and Biochemistry* 73: 70-76.
- Tauqeer, H.M., Ali, S., Rizwan, M., Ali, Q., Saeed, R., Iftikhar, U., Ahmad, R., Farid, M., & Abbasi, G.H. (2016). Phytoremediation of heavy metals by *Alternanthera bettzickiana*: growth and physiological response.

Ecotoxicology and Environ Safety 126: 138-146.

- Tupan, C.I. & Azrianingsih, R. (2016). Accumulation and deposition of lead heavy metal in the tissues of roots, rhizomes and leaves of seagrass *Thalassia hemprichii* (Monocotyledoneae, Hydrocharitaceae). *Bioflux - Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation* 9(3): 580-589.