

PENGUJIAN LOGAM BERAT *Plumbum (Pb)* TERHADAP PEMBENTUKAN MIKRONUKLEUS PADA AKAR BAWANG MERAH (*Allium ascalanum L.*)

Marhamah

Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Hamzanwadi, Selong

E-mail: mansaniki@gmail.com (*correspondence author*)

ABSTRAK

Pencemaran logam berat pada lingkungan tidak hanya dapat dilakukan melalui analisis kimia, tetapi dapat juga dilakukan melalui analisis biologi yaitu dengan terbentuknya mikronukleus. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya mikronukleus sebagai akibat pemaparan logam berat plumbum (Pb). Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen dengan rancangan acak kelompok (RAK). Perlakuan dilakukan dengan pemaparan larutan plumbum (Pb) pada akar bawang merah (*Allium ascalanum L.*) dengan konsentrasi: 0 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm, 2,5 ppm, dan 3 ppm. Analisis data dilakukan dengan menggunakan ANAVA pada taraf signifikansi 1% dibantu dengan SPSS for Windows Ver 10.01. Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa pemaparan logam berat plumbum (Pb) dengan konsentrasi berbeda berpengaruh nyata terhadap jumlah mikronukleus, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan jumlah mikronukleus semakin banyak, artinya jumlah kromosom yang mengalami kerusakan semakin banyak.

Kata kunci: logam berat Plumbum (Pb), mikronukleus

PENDAHULUAN

Masuknya logam berat dalam sistem perairan merupakan permasalahan lingkungan yang serius karena bersifat toksik serta sulit mengalami biodegradasi sehingga mudah terakumulasi. Meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah, logam berat dapat menyebabkan keracunan yang bersifat fatal terhadap makhluk hidup (Ellickson, 1990, Evgeniya, et al. 2005). Beberapa logam berat seperti Cd, Ni, Cr, Zn, dan Pb dalam konsentrasi rendah mempengaruhi pertumbuhan tanaman (Huma et al., 2015). Timbal juga berasal dari emisi gas kendaraan bermotor. Timbal dapat terhirup melalui udara dan juga dapat terakumulasi di dalam tanah, mencemari air minum, dan memasuki rantai makanan (Darmono, 1995, Dewi, et al. 2013).

Keberadaan logam berat pada suatu lingkungan dapat diketahui melalui serangkaian analisis kimia (Suyakta, 2002). Selain itu, dapat dilakukan analisis seluler yaitu adanya logam berat ditandai dengan terbentuknya mikronukleus (Kanaya, 2003, Dewi, et al. 2013, dan Juhari, 2014). Menurut Grant (1993) sejak beberapa tahun, tumbuhan tingkat tinggi telah banyak digunakan untuk mendeteksi bahan-bahan

kimia yang menyebabkan penyimpangan sitogenetik dan mutasi gen. Di antara jenis tumbuhan tersebut, antara lain *Vicia vaba*, *Tradescantia*, *Allium sp.*, dan beberapa jenis tumbuhan lainnya. Selain itu, pengujian dengan sel tumbuhan menunjukkan sistem pengujian sensitivitas, yang telah memberikan reliabilitas dan data kuantitatif untuk mutagenesis. Menurut Rank dan Nielsen (1994) pengembangan sistem pengujian ini merupakan bagian dari ekotoksikologis yang meliputi pengujian bahan kimia yang terdapat di lingkungan, bioakumulasi, dan tingkat racun.

Berdasarkan pemaparan tersebut peneliti bermaksud mengetahui pengaruh tingkat dosis pemaparan logam berat plumbum (Pb) terhadap jumlah mikronukleus yang terbentuk dalam sel akar bawang merah (*Allium ascalanum L.*). Manfaat penelitian ini diharapkan memberi informasi bahwa dengan terbuktinya plumbum (Pb) dapat mempengaruhi terbentuknya mikronukleus menunjukkan kemungkinannya yang bersifat mutagen sehingga akan membuat kita lebih waspada dan berhati-hati terhadap logam berat ini.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen untuk mengetahui pengaruh berbagai tingkat dosis dan lama waktu pemaparan logam berat plumbum (Pb) terhadap pembelahan sel dan jumlah mikronukleus pada akar bawang merah (*Allium ascalanum* L.). Dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Model rancangannya adalah seperti pada Tabel 1.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + \epsilon_{ij}$$

dimana: Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j.

μ = nilai tengah umum

T_i = pengaruh perlakuan ke-i

B_j = pengaruh blok ke-j

ϵ_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j (Sastrosupadi A., 1999)

Tabel 1. Rancangan percobaan

		Lama Waktu Pemaparan		
		T1	T2	T3
Dosis	A1	A1 T1	A1 T2	A1 T3
	A2	A2 T1	A2 T2	A2 T3
	A3	A3 T1	A3 T2	A3 T3
	A4	A4 T1	A4 T2	A4 T3
	A5	A5 T1	A5 T2	A5 T3
	A6	A6 T1	A6 T2	A6 T3

Sumber: Sastrosupadi, 1999

Ket: A1 = Dosis 0 ppm, A2= dosis 1 ppm, A3 = dosis 1,5 ppm, A4 = dosis 2 ppm, A5 = dosis 2,5 ppm, A6 = dosis 3 ppm. T1 = 24 jam, T2 = 48 jam, T3 = 72 jam

Subyek penelitian ini adalah bawang merah (*Allium ascalanum* L.) varietas Filipina, yang sudah ditumbuhkan akarnya selama 5-6 hari. Bagian akar yang digunakan adalah bagian ujung akar sepanjang 1 cm, merupakan bagian yang aktif membelah (meristem). Alat yang digunakan antara lain: mikroskop Nikon dengan sfesifikasi fluoresen dan mikroskop cahaya merek Meiji yang dilengkapi kamera digital yang digunakan pada saat pemotretan, water bath, gelas ukur, dry ice, kaca benda dan kaca penutup, botol vial sebagai tempat fiksatif dan pewarnaan, gunting, pipet dan hand counter digunakan untuk menghitung jumlah mikronukleus.

Bahan-bahan yang digunakan meliputi: senyawa Pb (NO₃)₂ yang telah dibuat menjadi larutan dengan konsentrasi: 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm, dan 3 ppm, Schiff's Reagent 250 ml untuk mewarnai DNA, Hoest 10 ml yang digunakan untuk mewarnai DNA, Acetocarmine yang digunakan untuk mewarnai sel akar bawang, asam asetat 45%, HCl 1N, alkohol absolut, aquades steril, xylol, aluminium foil, dan bawang merah varietas Filipina.

Data yang diperoleh dalam penelitian ini berupa jumlah mikronukleus yang dihitung dari 5 medan pandang dan dicari rata-ratanya. Analisis data dilakukan dengan ANACOVA taraf signifikansi 1%. Jika uji hipotesis memperlihatkan gambaran signifikan, dilakukan uji BNT pada taraf signifikansi 1%. Analisis statistik ANACOVA dibantu dengan program SPSS for MS Windows Ver. 10.01.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data jumlah mikronukleus karena pengaruh logam berat timbal (Pb) pada berbagai tingkat dosis dan lama waktu pemaparan pada sel akar bawang merah (*Allium ascalanum* L.) yang diperoleh selama penelitian dan sudah ditransformasi akar disajikan pada Tabel 2.

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh perlakuan logam berat timbal (Pb) dengan berbagai dosis dan lama waktu pemaparan terhadap jumlah mikronukleus pada akar bawang merah (*Allium ascalanum* L.), dilakukan analisis varian ganda pada taraf signifikansi 1% seperti tampak pada Tabel 3.

Berdasar hasil analisis varian pada taraf signifikansi 1% dapat diketahui bahwa:

- a. Fhitung lebih besar dari Ftabel (Fhit > Ftab) untuk dosis pemaparan, atau P = 0,00 lebih kecil dari 0,01. Dengan demikian H₀ untuk berbagai dosis pema-paran ditolak. Hipotesis yang berbunyi perbedaan tingkat dosis pemaparan larutan timbal (Pb) memberi pengaruh terhadap jumlah mikronukleus di-terima. Jadi, pemaparan logam berat timbal (Pb) dengan berbagai dosis pema-paran berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah mikronukleus.
- b. Fhitung lebih kecil dari Ftabel (Fhit < Ftab) untuk lama waktu pemaparan,

atau $P = 0,424$ lebih besar dari $0,01$. Dengan demikian H_0 untuk lama waktu pemaparan diterima. Hipotesis yang berbunyi lama waktu pemaparan larutan timbal (Pb) memberi pengaruh terhadap jumlah mikronukleus ditolak. Jadi, pemaparan logam berat timbal (Pb) dengan lama waktu pemaparan berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah mikronukleus.

c. Fhitung lebih kecil dari Ftabel ($F_{hit} < F_{tab}$) untuk interaksi antara dosis dan

lama waktu pemaparan, atau $P = 0,99$ lebih besar dari $0,01$. Dengan demikian H_0 untuk interaksi antara dosis dan lama waktu pemaparan diterima. Hipotesis yang berbunyi interaksi antara dosis dan lama waktu pemaparan memberi pengaruh terhadap jumlah mikronukleus ditolak. Jadi, interaksi antara dosis dan lama waktu pemaparan logam berat timbal (Pb) tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah mikronukleus.

Tabel 2. Data hasil pengamatan jumlah mikronukleus akar bawang merah (*Allium ascalanum* L.) yang sudah Ditransformasi Akar pada Dosis Pemaparan 0 ppm, 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm; dan 3 ppm masing-masing selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Dosis Pb	Waktu	Ulangan					Total	Rata-rata
		I	II	III	IV	V		
A1	T1	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	3,5	0,7
	T2	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	3,5	0,7
	T3	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	3,5	0,7
A2	T1	0,94	1,04	0,94	1,04	1,04	5	1
	T2	1,3	1,14	0,94	1,14	0,94	5,46	1,09
	T3	1,14	0,83	1,37	1,04	0,94	5,32	1,06
A3	T1	1,14	1,3	1,38	1,14	0,83	5,79	1,16
	T2	1,14	1,3	1,04	1,22	1,22	5,92	1,18
	T3	1,22	1,04	1,14	1,22	1,22	5,84	1,17
A4	T1	1,22	1,14	1,22	1,22	1,3	6,1	1,22
	T2	1,3	1,22	1,22	1,38	1,22	6,34	1,27
	T3	1,04	1,04	1,22	1,51	1,3	6,11	1,22
A5	T1	1,38	1,3	1,22	1,14	1,38	6,42	1,28
	T2	1,22	1,38	1,38	1,22	1,38	6,58	1,31
	T3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	6,5	1,3
A6	T1	1,22	1,22	1,38	1,44	1,44	6,7	1,34
	T2	1,3	1,22	1,3	1,51	1,44	6,77	1,35
	T3	1,44	1,44	1,22	1,3	1,3	6,7	1,34

Keterangan: A1 = dosis 0 ppm, A2 = dosis 1 ppm, A3 = dosis 1,5 ppm, A4 = dosis 2 ppm, A5 = dosis 2,5 ppm, A6 = dosis 3 ppm, T1 = 24 jam, T2 = 48 jam, T3 = 72 jam

Tabel 3. Hasil ANACOVA pengujian logam berat timbal (Pb) terhadap jumlah mikronukleus pada akar bawang merah (*Allium ascalanum* L.)

SK	db	JK	KT	Fhit	p
Ulangan	4	2.326E-02	5.816E-03	.456	.768
Dosis	5	4.122	0.824	64.578	.000
Waktu	2	2.219E-02	1.109E-02	.869	.424
Dosis-waktu	10	1.908E-02	1.908E-03	.149	.999
Galat	68	0.868	1.277E-02		
Total	90	121.996			

Uji BNT untuk mengetahui perbedaan signifikan antara berbagai dosis pemaparan larutan timbal (Pb) terhadap jumlah mikronukleus pada akar bawang merah (*Allium ascalanum* L.) dikemukakan

pada Tabel 5. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa pemaparan 2 ppm sampai 3 ppm, kenaikan dosis sebesar 0,5 ppm menunjukkan pengaruh yang sama. Begitu juga pada pemaparan 1,5 ppm dan 2 ppm

serta 1 ppm dan 1,5 ppm kenaikan dosis sebesar 0,5 ppm menunjukkan pengaruh yang sama. Dengan demikian, semakin tinggi dosis laru-tan timbal (Pb) yang digunakan maka jumlah mikronukleus semakin banyak. Hal ini berarti kromosom yang mengalami kerusakan semakin bertambah.

Berdasarkan hasil analisis data diketahui bahwa logam berat timbal (Pb) dengan dosis berbeda berpengaruh nyata terhadap jumlah mikronukleus yang terbentuk pada akar bawang merah (*Allium ascalanum* L.), yaitu semakin tinggi tingkat dosis pemaparan menyebabkan semakin banyaknya jumlah mikronukleus, artinya bahwa kromosom yang mengalami kerusakan semakin banyak. Hal ini sesuai

dengan apa yang telah dikemukakan Kanaya (2003) bahwa mikronukleus itu terbentuk karena adanya aberasi atau kerusakan kromosom. Terjadinya aberasi atau kerusakan kromosom pada sel akar bawang merah dimungkinkan karena sifat racun dari logam plumbum (Pb). Hal ini juga dikemukakan oleh Dewi et al. (2013) yang mengungkapkan bahwa emisi gas buangan kendaraan bermotor yang didalamnya mengandung plumbum (Pb) mempengaruhi pembentukan mikronukleus pada kelenjar mukosa. Selanjutnya pengujian logam berat terhadap ekspresi gen *Metallothionein* dan efek genotoksik pada ikan tilapia (*Oreochromis sp.*) menunjukkan pengaruh yang paling tinggi pada plumbum (Pb) (Juhari, 2014).

Tabel 5. Hasil Uji BNT jumlah mikronukleus pada akar bawang merah (*Allium ascalanum* L.) pada berbagai dosis pemaparan logam berat timbal (Pb)

Dosis	Rerata	Notasi (1%)
A1	0,7071	a
A2	1,0652	b
A3	1.1736	bc
A4	1.2411	cd
A5	1.3019	d
A6	1.3503d	

Logam berat plumbum (Pb) dapat menurunkan konsentrasi ion Ca, Mg dan P pada tanaman. Sedangkan kekurangan ion Ca dan Mg akan berpengaruh terhadap makromolekul kompleks asam nukleat dan protein serta ditemukan menghasilkan fragmentasi kromosom (Darlington, 1962). Namun demikian, kejadian kimiawi pengaruh Ca dan Mg terhadap fragmentasi

kromosom belum diketahui secara jelas. Menurut Lakitan (1993) ion Mg merupakan unsur penyusun klorofil. Selain itu, Mg bersama dengan ATP berperan dalam berbagai reaksi pada tanaman, juga merupakan aktivator dari berbagai enzim dalam reaksi fotosintesis, respirasi, dan pembentukan DNA dan RNA.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diperoleh simpulan: ada pengaruh pemaparan logam berat plumbum (Pb) terhadap pembentukan mikronukleus pada akar bawang merah (*Allium ascalanum* L.). Adanya mikronukleus menandakan adanya abrasi kromosom.

DAFTAR PUSTAKA

Darmono. (1995). *Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup*. Jakarta: UI Press.
 Darlington, C. D. & Cour, L. (1962). *The Handling of Chromosomes*. By

Unwin Brothers Limited. Working London.

Dewi, A. K. & Gunawan, W. (2013). Pengaruh Paparan Emisi Gas Buang Kendaraan Bermotor dan Asap Rokok terhadap Pembentukan Mikronukleus di Mukosa Rongga Mulut Petugas Parkir. *Jurnal Kedokteran Diponegoro* 2. (1)
 Ellickson, B. J. (1990) Limbah Beracun Timbulkan Tantangan Internasional. *Majalah Titian* (1).
 Evgeniya, I. T. A. (2005). Heavy Metal Mikronukleus *b&q=international+journal.+test+mikronukleus.+heavy+metal.pdf&oq=i*

- nternational+journal.+test+mikronukleus.+heavy+metal.pdf&gs_l=psy-ab.3...169775.178096.0.179972.12.12.0.0.0.0.283.2218.0j3j7.10.0...0...1.1.64.* (Online). Diakses dari <http://jcmb.halic.edu.tr/pdf/4-2/cytogenetic.pdf>
- Grant, W. F. (1993). The Present Status of Higher Plant Bioassays for Detection of Environmental Mutagens. *Mutation Research* 310, 175-185.
- Huma Naz, A. N. (2015). https://www.google.com/search?client=firefox-b&q=international+journal.+test+mikronukleus.+heavy+metal.pdf&ogq=international+journal.+test+mikronukleus.+heavy+metal.pdf&gs_l=psy-ab.3...169775.178096.0.179972.12.12.0.0.0.0.283.2218.0j3j7.10.0...0...1.1.64. (Online), Diakses dari https://www.researchgate.net/profile/Huma_Naz/publication/277973918_Impact_of_Heavy_Metal_Toxicity_to_Plant_Growth_and_Nodulation_in_Chickpea_Grown_Under_Heavy_Metal_Stress/links/5577e37208ae7521586e1d59/
- Juhari, E. L. (2014). https://www.google.com/search?client=firefox-b&q=international+journal.+test+mikronukleus.+heavy+metal.pdf&ogq=international+journal.+test+mikronukleus.+heavy+metal.pdf&gs_l=psy-ab.3...169775.178096.0.179972.12.12.0.0.0.0.283.2218.0j3j7.10.0...0...1.1.64. (Online), Diakses dari http://studentsrepo.um.edu.my/4849/2/SGF110005_Elani_Laili_Dissertation.pdf
- Kanaya N, G. B. (2003). Vicia faba Chromosomal Aberration Assay. *Mutation Research*, 310, 231-247.
- Lakitan B. (1993). Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan. Jakarta: PT Grafindo Persada.
- Rank J. and Nielsen M H. (1994). Screening of Toxicity and Genotoxicity in Wastewater by the Use of the Allium Test. *Hereditas*: 121.
- Sastrosupadi A. (1999). Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius.