

**PENGARUH TINGGI GENANGAN AIR DAN KONSENTRASI
LOGAM BERAT KADMIUM TERHADAP MIKROSIMBION
PADA SIMBIOSIS AZOLLA - *Anabaena azollae*
DI TANAH VERTISOL**

**Skripsi
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh derajat Sarjana Pertanian
di Fakultas Pertanian
Universitas Sebelas Maret Surakarta
Jurusan / Program Studi Ilmu Tanah**



Oleh :
HANAFIAH
H 0205037

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2009**

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pencemaran lingkungan akibat logam berat terus meningkat dan beberapa diantaranya melebihi ambang batas yang diizinkan. Kondisi seperti ini dapat menyebabkan gangguan kesehatan lingkungan dan pada akhirnya akan berakibat pada kesehatan manusia. Persoalan utama logam berat di lingkungan terutama karena sifatnya yang akumulatif pada rantai makanan dapat menyebabkan gangguan fisiologis seperti gagal jantung dan kerusakan ginjal.

Logam berat adalah logam yang mempunyai berat jenis lebih tinggi dari 5 atau 6 gr/cm^3 . Pada umumnya, logam berat dalam kadar yang rendah sudah bersifat racun. Logam berat yang sering mencemari habitat diantaranya adalah Hg, Cr, Cd, As, Cu, Ni, Zn dan Pb (Nugroho, 2001).

Menurut Suhendrayatna (2008), logam kadmium (Cd) merupakan logam yang lebih mudah diakumulasi oleh tanaman dibandingkan dengan ion logam berat lainnya. Unsur Cd memiliki sifat kimia yang hampir sama dengan Zn, yaitu dinyatakan dalam keadaan oksidasi 2^+ di alam dan mudah dalam penyerapan oleh tanaman dan tanah. Namun Cd lebih bersifat racun sehingga dapat mengganggu aktivitas enzim.

Pengendalian pencemaran logam berat dapat dilakukan dengan berbagai cara, diantaranya menggunakan tanaman air *Azolla* sebagai bioakumulator. *Azolla* berasosiasi dengan ganggang hijau-biru *Anabaena azollae* yang hidup di dalam rongga daunnya dan dapat memfiksasi nitrogen langsung dari udara. Keberadaan logam berat di dalam tanah pada konsentrasi tertentu diduga dapat menurunkan mikrosimbion *Anabaena azollae* yang pada akhirnya akan mempengaruhi tingkat fiksasi nitrogen sehingga mempengaruhi pertumbuhan *Azolla* dan fungsi *Azolla* sebagai bioakumulator pada kondisi lahan tercemar logam berat Cd.

Azolla dapat tumbuh baik pada hampir semua jenis tanah dengan sifat fisika dan kimia yang bervariasi seperti tanah Entisol dan Vertisol (Suyana, dkk., 1998; Setiaji, 1998). Tinggi genangan air diketahui berpengaruh terhadap ketahanan *Azolla* pada cekaman lingkungan. Namun belum diketahui pengaruh tinggi genangan air terhadap mikrosimbion

Anabaena azollae di tanah Vertisol. Demikian juga pengaruh interaksi antara tinggi genangan air dan konsentrasi logam berat Cd terhadap mikrosimbion *Anabaena azollae*.

B. Perumusan Masalah

Bagaimana pengaruh tinggi genangan air, konsentrasi logam berat kadmium dan interaksi keduanya terhadap mikrosimbion *Anabaena azollae* pada simbiosis Azolla - *Anabaena azollae* di tanah Vertisol?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh tinggi genangan air dan konsentrasi logam berat kadmium serta interaksi keduanya terhadap mikrosimbion *Anabaena azollae* pada simbiosis Azolla - *Anabaena azollae*.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memberi masukan dan pengembangan ilmu pengetahuan di bidang pertanian dan lingkungan, khususnya mengenai pengaruh tinggi genangan air dan konsentrasi logam berat kadmium terhadap mikrosimbion *Anabaena azollae* pada simbiosis Azolla - *Anabaena azollae*.

II. LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. *Azolla microphylla*

Azolla merupakan sejenis tumbuhan paku-pakuan yang hidup di perairan. Penyebarannya baik di daerah beriklim tropis maupun sedang. Tanaman ini bersimbiosis dengan ganggang hijau biru, *Anabaena azollae* yang hidup di dalam rongga daunnya (Watanabe, 1984). Satu hal yang menarik dari asosiasi *Azolla-Anabaena azollae* adalah kemampuannya menambat N₂ udara yang tinggi (Becking, 1979).

Ada beberapa jenis *Azolla*, antara lain *A. pinnata*, *A. microphylla*, *A. filiculoides*, dan *A. caroliniana*. *Azolla microphylla* awalnya menyebar di Amerika Serikat, Amerika Tengah, dan India Barat. Dibanding spesies yang lain, *Azolla microphylla* lebih toleran terhadap temperatur agak tinggi sehingga sangat baik bila dibudidayakan pada kondisi iklim tropis seperti di Indonesia. Selain itu, spesies ini dapat menghasilkan biomassa dalam jumlah banyak dengan kemampuan memfiksasi N₂ dari udara yang tinggi (Arifin, 1996).

Pertumbuhan *Azolla microphylla* lebih cepat dan produksinya tinggi jika dibandingkan dengan *Azolla pinnata*. Oleh sebab itu, banyak penelitian yang menggunakan *Azolla microphylla*. Ciri-ciri *Azolla microphylla*, yaitu mempunyai daun yang tebal, warna daun hijau muda dengan tepi hijau agak pucat, pertumbuhan daun tumpang tindih dan membentuk gugusan dengan ketebalan 4-3 cm, serta mempunyai jumlah spora yang banyak (Djojowito, 2000).

Komposisi kimia *Azolla* beragam tergantung beberapa faktor seperti jenis *Azolla*, pengaruh lingkungan dan pengelolaan di lapangan. *Azolla microphylla* mengandung 4,5 % N; 0,77 % P; 2,07% Ca; 4,93 % K; 0,49 % Na; 0,17 % Mg; 0,27 % Mn; 0,25 % Fe (Querubin *et al.*, 1986).

2. *Anabaena azollae* Sebagai Simbion *Azolla*

Anabaena azollae merupakan salah satu jenis mikroalga. *Anabaena azollae* termasuk alga hijau – biru. Unsur mikro diperlukan *Anabaena azollae* untuk

menghasilkan pertumbuhan yang optimum terutama unsur Co dan Mo. Selain itu unsur P dan Zn, Ca, Na dan Cu mempunyai korelasi yang tinggi (Rasyid, 2002).

Pada simbiosis *Azolla-Anabaena azollae* keduanya bekerjasama pada simbiosis yang saling menguntungkan antara satu sama lain. *Azolla* memberikan perlindungan kepada mikrosimbion (*Anabaena*) dari kekurangan oksigen akibat pengaruh lingkungan sedangkan *Anabaena* mampu menyediakan nitrogen untuk pertumbuhan *Azolla* dan tanaman (Anand, 2006).

Anabaena azollae merupakan koloni bentuk benang yang terdiri atas sel-sel bulat dan memiliki sel khusus *heterokista* dengan sedikit lapisan lendir. (Rasyid, 2002; Wardiyono, 2009; Mulyandari, 2008).

Menurut Djojokuswito (2000), *Anabaena azollae* mampu menambat nitrogen dari udara dalam jumlah yang banyak, melebihi kebutuhannya. *Azolla* dengan bantuan simbiotiknya *Anabaena azollae* mampu memfiksasi 62 kg-150 kg N/ha tiap tahun, yang dicapai dalam pertumbuhan aktif selama 6 minggu sebanyak 40 ton-60 ton biomassa *Azolla* segar.

3. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Azolla

Pertumbuhan *Azolla* sangat dipengaruhi oleh faktor – faktor iklim dari lingkungan tumbuhnya, terutama ketersediaan air, sinar matahari, temperatur, kelembaban udara, keharaan tanah, kegaraman dan pH media tumbuh (Khan, 1988; Lumpkin, 1987). Temperatur optimum untuk pertumbuhan *Azolla* berkisar 25 – 30 °C, dengan intensitas sinar 25 -50 % sinar matahari penuh (20.000 - 40.000 lux) (Suyana, dkk., 1998), kelembaban optimum 85 – 90 % (Zaas *cit.* Khan, 1988), keharaan cukup, kecuali N, kadar garam tidak lebih dari 0,3 % atau optimal pada konsentrasi garam mineral 90 – 150 mg/l pada medium biakan dan pH 4,5 – 7 (Tran & Dao *cit.* Khan, 1988).

Salah satu faktor yang penting bagi pertumbuhan *Azolla* adalah tinggi genangan air. Walaupun mampu tumbuh pada tanah berlumpur (air macak-macak) atau pada gambut yang basah, namun perbanyakannya terhambat karena akarnya menghujam dengan kuat ke dalam tanah sehingga menyebabkan terhambat pembelahan (fraksionasinya). Sebaliknya, pada genangan yang tinggi/dalam, sering *Azolla* tercerai-beraikan oleh angin atau gerakan air karena ia terapung dengan

bebas. Ashton (1974) menyatakan bahwa pertumbuhan Azolla tidak dapat memenuhi seluruh luasan lahan bila genangan airnya dalam dan kecepatan angin serta gerakan air cukup besar. Selain pertumbuhannya, pada kondisi demikian penambatan N₂ juga tidak maksimal. Menurut Becking (1979), Azolla lebih baik tumbuh mengapung secara bebas di permukaan air daripada di tanah berlumpur atau gambut basah. Kedalaman air yang optimum untuk pertumbuhan Azolla adalah 5-10 cm (Singh, 1978).

Walaupun lebih suka hidup mengapung di air, Azolla dapat tumbuh baik pada permukaan tanah yang lembab atau berlumpur (Suyana, dkk., 1998; Khan, 1988; Lumpkin, 1987). Bila tumbuh dengan akar menyentuh permukaan tanah atau masuk ke dalam tanah maka akar lebih aktif dibanding kalau akar menggantung di air. Keragaan akar juga lebih kokoh, tebal dan panjang, dan lebih menyerupai akar sungguhan (tanaman). Ketinggian air 5 cm dari permukaan tanah merupakan kondisi yang paling disukai Azolla (Khan, 1988; Suyana, *et al.*, 1998) namun ketahanannya terhadap cekaman lingkungan dan logam berat lebih baik bila Azolla tumbuh melekat di tanah dengan akar masuk ke dalam tanah (Mujiyo, 1998; Setiaji, 1998).

Azolla tidak tahan terhadap kekeringan. Lengas nisbi udara optimum adalah 85-90%, sedang pada kelembaban di bawah 60 % Azolla menjadi kering dan peka terhadap kondisi yang kurang menguntungkan (Watanabe, 1980). Azolla tumbuh baik pada pH sekitar 5,5. Reaksi media Azolla juga berkaitan dengan ketersediaan unsur-unsur hara bagi Azolla. Azolla memerlukan hara mikro dan makro untuk perkembangannya. Konsentrasi ambang unsur-unsur hara P, K, Mg, Ca masing-masing 0,03; 0,04; 0,04; dan 0,5 mmol/l (Watanabe, 1980). Beberapa elemen seperti Mo dan Co diperlukan untuk aktivitas nitrogenase (Khan, 1988).

4. Potensi Azolla Sebagai Fitoabsorber Logam Berat

Azolla berpotensi sebagai biofilter dalam pengelolaan limbah yang mengandung logam berat (fitoremediasi). Untuk lahan pertanian, pengelolaan pencemaran limbah bukan sekedar untuk menjaga produktivitas tanaman saja, tetapi lebih dari itu adalah untuk menjamin kualitas produk yang aman bagi kesehatan dan juga menjaga daya saing produk pertanian di pasar global (Munarso, 2003).

Fitoremediasi dapat digunakan untuk mengatasi pencemaran lingkungan. Salah satu rekomendasi yang dihasilkan pada *Workshop on Azolla Use* di Fuzhou, Cina, 31 Maret – 5 April 1985 adalah penggunaan *Azolla* dalam pengendalian pencemaran air karena *Azolla* merupakan bio-akumulator dari logam berat (Anonim, 1987).

Salah satu metode alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi area yang terkontaminasi logam berat seperti kadmium adalah fitoremediasi. Fitoremediasi merupakan suatu proses pemindahan, penstabilan dan penghancuran zat pencemar dalam tanah menggunakan tumbuhan (Umar, 2008).

5. Pengaruh Logam Berat Kadmium terhadap Simbiosis *Azolla-Anabaena azollae*

Kadmium adalah suatu unsur kimia yang dalam tabel periodik memiliki lambang Cd dan nomor atom 48. Kadmium merupakan salah satu jenis logam berat yang berbahaya karena elemen ini beresiko tinggi terhadap pembuluh darah. Jumlah normal kadmium di tanah berada di bawah 1 ppm, tetapi angka tertinggi (1.700 ppm) dijumpai pada sampel tanah yang diambil di dekat pertambangan biji seng (Zn). Kadmium lebih mudah diakumulasi oleh tanaman dibandingkan dengan ion logam berat lainnya seperti timbal (Anonim, 2008).

Logam kadmium mempunyai penyebaran sangat luas di alam. Hanya ada satu jenis mineral kadmium di alam yaitu *greenockite* (CdS) yang selalu ditemukan bersamaan dengan mineral *spalerite* (ZnS). Mineral *greenockite* ini sangat jarang ditemukan di alam, sehingga dalam eksploitasi logam Cd biasanya merupakan sampingan dari peleburan bijih-bijih seng (Zn). Biasanya pada konsentrat bijih Zn didapatkan 0,2 sampai 0,3 % logam Cd. Kadmium (Cd) merupakan salah satu jenis logam berat yang berbahaya. Logam ini memiliki tendensi untuk bioakumulasi (Pararaja, 2008).

Logam berat Cd masuk dalam kategori limbah bahan beracun dan berbahaya (B3), sehingga apabila dosisnya melebihi normal dapat mengakibatkan keracunan. Walaupun tidak dirasakan secara langsung logam berat tersebut akan terakumulasi selama bertahun-tahun karena sukar dikeluarkan dari tubuh. Bila melebihi ambang batasnya, akumulasi Cd dalam tubuh dapat menyebabkan penyakit atau gangguan

fisiologis seperti anemia, gangguan pada berbagai organ tubuh dan penurunan kecerdasan (Roostita, 2008).

Keberadaan logam berat dalam medium pertumbuhan dapat mempengaruhi *Anabaena azollae*. Menurut Khairiah, *et al.* (2008), logam Ni merupakan logam yang paling toksik terhadap pertumbuhan *Anabaena flos-aquae* dibandingkan logam Fe dan Mn. Logam Mn merupakan logam kedua yang berbahaya setelah Ni. Walaupun logam Fe dan Mn merupakan unsur mikro esensial yang diperlukan oleh *Anabaena flos-aquae*, tetapi kedua logam tersebut menunjukkan efek meracun pada tingkat konsentrasi tinggi. Logam Mn lima kali lebih toksik daripada logam Fe. Hal ini menunjukkan bahwa Sianobakter lebih toleran terhadap logam Fe jika dibandingkan dengan logam Mn.

Azolla filiculoides L. dipelihara selama 3-7 hari pada media nutrisi yang mengandung 8-15 ppm logam berat Cd. Kandungan logam berat pada akar 2-3 kali lipat lebih tinggi daripada di daun Azolla. Kandungan logam berat Cd pada Azolla yang telah mati kekeringan 3-7 kali lebih tinggi daripada Azolla yang masih hidup. Logam Cd lebih mudah ditransfer dari akar ke pucuk. Aktivitas nitrogenase hampir seluruhnya dapat dicegah oleh Cd (Mordechai *et al.*, 2006).

Kadmium selalu ditemukan dalam asosiasi dengan Zn. Bagaimanapun juga, Zn adalah unsur hara mikro esensial dalam sel makhluk hidup, sedangkan Cd tidak diketahui mempunyai manfaat dalam fungsi biologi. Logam Cd sangat beracun untuk semua komponen komunitas perairan. Kadmium dalam tanah diikat kuat dan tidak dapat terlindi. Kadmium yang terdapat di air tawar dihasilkan dari aktivitas manusia. Mekanisme penting dari toksik Cd pada ganggang dan sianobakter dapat merusak enzim. Faktor lingkungan berperan mengubah keracunan Cd (Vymazal, 2006).

Setiaji (1998) menyatakan bahwa Azolla mulai menunjukkan gejala keracunan pada konsentrasi Cd 0,025 ppm. Azolla mulai menunjukkan gejala mati pada konsentrasi Cd 0,10 ppm pada tanah Vertisol dan Entisol.

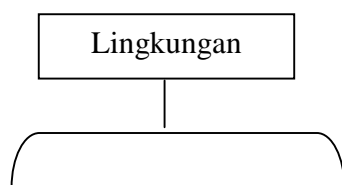
Pada umumnya kandungan Cd dalam tanah berkisar 1,0 ppm atau lebih rendah. Sedang kadar Cd dalam jaringan tanaman berkisar 0,1–1,0 ppm. Kadar Cd dalam tanah dipengaruhi oleh reaksi tanah dan fraksi-fraksi tanah yang dapat mengikat ion Cd. Peningkatan pH dapat menyebabkan kadar Cd dalam fase larutan menurun akibat

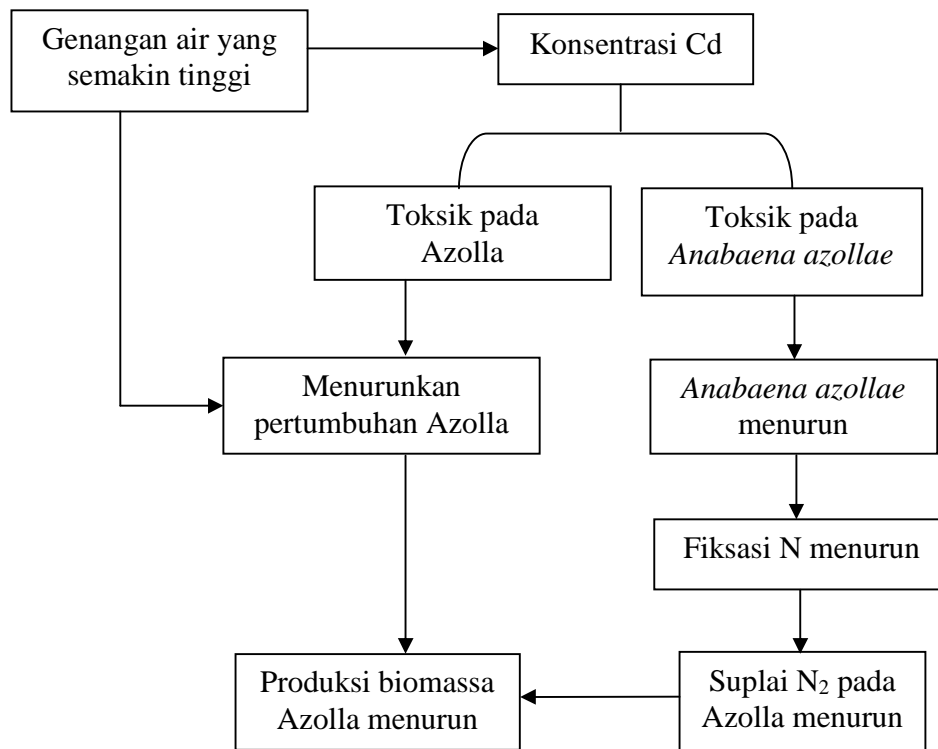
meningkatnya reaksi hidrolisis, kerapatan kompleks adsorpsi dan muatan yang dimiliki koloid tanah. Reaksi tanah (pH) bersama-sama dengan bahan mineral liat dan kandungan oksida-oksida hidrat dapat mengatur adsorpsi spesifik Cd yang meningkat secara linear dengan pH sampai tingkat maksimum tertentu. Selain itu bahan kapur dapat mengendapkan Cd dalam bentuk CdCO_3 . Penambahan Cd pada tanah dapat terjadi melalui penggunaan pupuk fosfat, yang besarnya sangat bervariasi tergantung dari jenis batuan fosfat (fosforit) yang digunakan sebagai bahan industri pupuk fosfat tersebut (Lahuddin, 2007).

6. Pengaruh Tanah Vertisol terhadap Pertumbuhan Azolla

Azolla dapat tumbuh baik pada hampir semua jenis tanah dengan pH yang bervariasi seperti Ultisol, Entisol dan Vertisol (Suyana, dkk., 1998; Setiaji, 1998). Vertisol merupakan tanah yang memiliki sifat khusus yakni mempunyai sifat vertikal, hal ini disebabkan terdapatnya mineral liat tipe 2:1 yang relatif banyak. Oleh karena itu, Vertisols dapat mengkerut (*shrinking*) jika kering dan mengembang (*swelling*) jika jenuh air. Proses mengembang dan mengkerut itu disebabkan karena masing-masing unit terdiri dari 2 Si tetrahedral ditambah dengan 1 Al octahedral, masing-masing unit dihubungkan dengan unit lain oleh ikatan yang lemah dari oksigen ke oksigen serta air maupun kation dapat masuk pada ruang antar lapisan sehingga mudah mengembang dan mengkerut (Munir, 1996).

B. Kerangka Berpikir





C. Hipotesis

1. Tinggi genangan air dan konsentrasi logam berat Cd berpengaruh nyata terhadap mikrosimbion *Anabaena azollae*.
2. Interaksi perlakuan tinggi genangan air dan konsentrasi logam berat Cd berpengaruh sangat nyata terhadap mikrosimbion *Anabaena azollae*.

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di rumah kaca Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Analisis mikrobiologi (pengamatan *Anabaena azollae*) dilakukan di Laboratorium Biologi Tanah, sedangkan analisis tanah dan jaringan tanaman dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Kesuburan Tanah Fakultas Pertanian dan Sub Laboratorium Kimia Pusat Universitas Sebelas Maret Surakarta, pada bulan Maret 2009 sampai bulan Mei 2009 selesai.

B. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan

Penelitian ini menggunakan tanah Vertisol yang diambil dari daerah Jatikuwung, Karanganyar. Azolla yang digunakan adalah jenis *Azolla microphylla philippine*, dan untuk media biakan Azolla tersebut menggunakan media biakan Azolla bebas N, yaitu larutan Yoshida. Logam berat Cd yang digunakan dibuat dengan berbagai konsentrasi, untuk percobaan pendahuluan adalah 0; 0,025; 0,050; 0,100; 0,200; 0,400; 0,800; 1,600, 3,200 dan 6,400 ppm, sedangkan konsentrasi Cd untuk penelitian utama adalah 0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 ppm.

2. Alat

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah pot plastik (ukuran diameter x tinggi = 15 x 15 cm), kamera digital, alat tulis, AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*), timbangan analitik, erlenmeyer, gelas piala, pengaduk, termometer, pH meter, pipet drop, jarum ose/jarum ent, gelas preparat cekung, mikroskop cahaya, dan hemasitometer.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan suatu penelitian yang datanya diperoleh melalui serangkaian percobaan. Percobaan terdiri dari dua tahap, yaitu percobaan pertama yang digunakan untuk mengetahui konsentrasi lethal logam berat Cd terhadap Azolla pada medium tumbuh Yoshida. Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor yaitu konsentrasi logam berat Cd. Konsentrasi Cd yang dicobakan untuk percobaan pertama adalah 0; 0,025; 0,050; 0,100; 0,200; 0,400; 0,800; 1,600, 3,200 dan 6,400 ppm. Sebanyak 1

gram inokulum *Azolla* segar disebarkan pada pot plastik dengan media tumbuh Yoshida pada masing-masing perlakuan konsentrasi logam berat dan dipelihara selama satu minggu dirumah kaca (Arora & Saxena, 2006). Medium Yoshida yang digunakan mempunyai komposisi sebagai berikut:

Tabel 3.1 Media biakan *Azolla* bebas N (Yoshida *et al.*, cit. Khan, 1988)

Elemen (hara)	Bahan kimia	Konsentrasi akhir
P	NaH ₂ PO ₄ 2H ₂ O	40 ppm
K	K ₂ SO ₄	40 ppm
Ca	CaCl ₂	40 ppm
Mg	MgSO ₄ 7 H ₂ O	40 ppm
Mn	MnCl ₂ 2 H ₂ O	0,50 ppm
Mo	NaMoO ₄ 2 H ₂ O	0,15 ppm
B	H ₃ BO ₃	0,20 ppm
Zn	ZnSO ₄ 7 H ₂ O	0,01 ppm
Cu	CuSO ₄ 5 H ₂ O	0,01 ppm
Fe (Fe sitrat)	FeCl ₃ 6 H ₂ O	2,00 ppm
	H ₂ SO ₄	50 ml / lt larutan induk (pH 5,5)

Hasil percobaan pendahuluan ini digunakan sebagai dasar untuk menentukan perlakuan konsentrasi logam berat Cd pada percobaan kedua.

Percobaan kedua bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi logam berat Cd dan tinggi genangan air terhadap pertumbuhan *Azolla*. Percobaan menggunakan rancangan dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor perlakuan yaitu:

1. Faktor I adalah tinggi genangan air (A)

A₀ = tinggi genangan air 0 cm (akar masuk ke dalam tanah)

A₁ = tinggi genangan air 2 cm (akar menyentuh permukaan tanah)

A₂ = tinggi genangan air 7 cm (akar menggantung 5 cm di atas permukaan tanah)

2. Faktor II adalah konsentrasi logam berat Cd sesuai hasil percobaan pertama (K), yaitu :

K₀ = 0 ppm

K₁ = 0,1 ppm

K₂ = 0,2 ppm

K₃ = 0,4 ppm

K₄ = 0,8 ppm

Dari kedua faktor tersebut maka dapat diperoleh 15 kombinasi perlakuan dimana masing-masing kombinasi perlakuan diulang 3 kali. Variabel pengamatan yang diamati

meliputi suhu tanah, gejala fisiologis Azolla, biomassa Azolla, dan sel vegetatif serta sel heterosis mikrosimbion *Anabaena azollae*. Pengamatan terhadap suhu tanah, dan gejala fisiologis Azolla dilakukan setiap hari selama 3 minggu, sedang pengambilan sampel untuk analisis biomassa Azolla dan pengamatan *Anabaena azollae* dilakukan pada minggu 1, 2 dan 3 setelah tanam dengan metode sampel terbuang, yaitu tiap pengamatan hanya dilakukan satu kali pada sampel per minggu.

Tabel 3.2 Rancangan Perlakuan untuk Percobaan 2

Tinggi genangan air (cm)	Konsentrasi logam berat Cd (ppm)				
	0 (K ₀)	0,1 (K ₁)	0,2 (K ₂)	0,4 (K ₃)	0,8 (K ₄)
0 (A ₀)					
2 (A ₁)					
7 (A ₂)					

D. Tata Laksana Penelitian

1. Pengambilan sampel tanah

Sampel tanah diambil dari lahan sampai kedalaman 20 cm. Tanah diambil di beberapa titik secara diagonal pada satu lahan kemudian dikompositkan. Sampel tersebut kemudian dikeringanginkan, ditumbuk dan diayak dengan ayakan diameter lubang (mata saring) 2 mm untuk media tanam dan Ø 0,5 mm untuk keperluan analisis sifat-sifat kimia dan fisika tanah. Analisis tanah awal dilakukan terhadap kadar bahan organik tanah (metode *Walkey and Black*), kapasitas tukar kation (metode ekstrak amonium asetat), kadar Cd tersedia tanah (metode destruksi basah menggunakan campuran HNO₃ dan HClO₄ dengan perbandingan 3:1 dan dibaca dengan AAS), dan pH tanah (menggunakan pH meter glass elektrode). Analisis tekstur tanah menggunakan metode pemipetan (Balai Penelitian Tanah, 2005).

2. Persiapan media tanam

Media tanam dibuat dengan menimbang tanah sebanyak 191 gram yang kemudian diisikan ke dalam pot (ukuran diameter x tinggi = 15x15 cm) hingga tinggi tanah sekitar 5 cm. Selanjutnya ditambahkan larutan yoshida sebagai nutrisi yang mengandung Cd dengan konsentrasi sesuai perlakuan, hingga tinggi genangan sesuai perlakuan yaitu 0 cm, 2 cm dan 7 cm.

3. Penanaman

Menimbang 1 gram Azolla kemudian disebarkan ke dalam pot.

4. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan setiap hari dengan penambahan aquades pada masing-masing pot untuk menjaga agar tinggi genangan air tidak berkurang dan tetap seperti kondisi awal tanam (tinggi genangan yang telah ditentukan sebelumnya).

5. Pengamatan gejala visual dan suhu air/tanah

Pengamatan gejala visual yang timbul akibat keracunan Cd dan suhu maksimum harian air/tanah media tanam *Azolla* dilakukan setiap hari. Suhu maksimum harian diukur sekitar pukul 14.00 WIB.

6. Pengambilan sampel untuk analisis biomassa *Azolla* dan pengamatan sel mikrosimbion *Anabaena azollae*

Pengambilan sampel dilakukan pada minggu 1, 2, dan 3 setelah tanam dengan metode sampel terbuang. *Azolla* yang sudah dipanen, ditiriskan airnya kemudian ditimbang berat segarnya, setelah ditiriskan airnya kemudian dikeringkan menggunakan oven listrik pada suhu 70°C sampai beratnya konstan, selanjutnya ditimbang berat keringnya. Sedangkan untuk perhitungan *Anabaena azollae* diambil sampel dari *Azolla* yang sudah ditimbang berat segarnya.

Cara menghitung sel mikrosimbion *Anabaena azollae*

- 1) Mengambil 10 helai daun *Azolla* pada tiap perlakuan, kemudian diletakkan pada gelas preparat cekung.
- 2) Menambahkan sedikit aquades dengan volume 0,1 ml lalu ditumbuk dengan ujung batang jarum ose sampai halus secara perlahan.
- 3) Mengambil sedikit suspensi menggunakan pipet drop, diletakkan di atas gelas preparat dan tutup dengan deglass.
- 4) Mengamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali kemudian menghitung sel vegetatif dan sel heterosis pada *Anabaena azollae* dalam satu bidang pandang, dilakukan sebanyak 25 kali pergeseran bidang pandang.

Rumus:

Jumlah sel /10 daun

$$= \frac{\text{rata-rata jumlah sel t a o t a e c l e m a s t o m e t e r } \times \text{ , c c}}{\text{v o l u m e o t a e c l e m a s t o m e t e r}}$$

$$= \frac{, cm}{.} \times \text{ata ata a ota i a ito t}$$

$$= \frac{mm}{. mm} \times \text{ata ata a ota i a ito t}$$

Jumlah sel/ daun

$$= \frac{mm}{. mm} \times \text{ata ata a ota i a ito t}$$

$$= 4.10^4 \times \text{ata}$$

7. Pengambilan sampel tanah/ air untuk analisis Cd tersedia

Sampel diambil pada akhir inkubasi (minggu ketiga), demikian pula serapan Cd Azolla dianalisis pada akhir inkubasi. Analisis Cd tersedia tanah pada sampel tanah/air dan kandungan Cd pada jaringan Azolla menggunakan metode destruksi. Destruksi jaringan tanaman menggunakan campuran HNO₃ dan HClO₄ dengan perbandingan 3:1 dan dibaca dengan AAS (Balai Penelitian Tanah, 2005)

E. Variabel Pengamatan

Variabel percobaan yang diamati meliputi sel mikrosimbion *Anabaena azollae* (sel vegetatif dan sel heterosis), dan biomassa Azolla dilakukan pada minggu 1, 2 dan 3 setelah tanam dengan metode sampel terbuang. Pengamatan terhadap suhu tanah/air dan gejala fisiologis Azolla dilakukan setiap hari selama 3 minggu. Pengambilan sampel untuk analisis N total jaringan Azolla, kadar Cd Azolla, dan Cd tersedia tanah hanya dilakukan pada minggu ketiga.

F. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis statistik dengan menggunakan uji kruskal wallis pada aras kepercayaan 95%, dilanjutkan dengan uji mood median apabila ada pengaruh yang nyata. Uji korelasi untuk mengetahui hubungan antara total sel mikrosimbion *Anabaena azollae* dengan variabel tergantung yang lain (Gomez dan Gomez, 1990).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Penentuan Konsentrasi Lethal Logam Berat Kadmium (Cd) terhadap *Azolla microphylla*

Percobaan pertama dilakukan pada medium pertumbuhan Yoshida yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi lethal logam berat Cd sebagai dasar penentuan perlakuan konsentrasi pada percobaan kedua. Konsentrasi lethal merupakan konsentrasi dimana *Azolla* mulai menunjukkan tanda-tanda kematian *Azolla* akibat logam Cd (warna daun *Azolla* yang mulai menguning, lama kelamaan akan berwarna kecoklatan dan mengering). Konsentrasi logam Cd yang dicobakan adalah 0; 0,025; 0,050; 0,100; 0,200; 0,400; 0,800; 1,600, 3,200 dan 6,400 ppm.

Tabel 4.1 Pengaruh konsentrasi Cd dalam medium pertumbuhan Yoshida terhadap biomassa segar, biomassa kering dan jumlah penggandaan *Azolla microphylla philippine*

Konsentrasi Cd (ppm)	Biomassa segar <i>Azolla</i> (g/pot)	Biomassa kering <i>Azolla</i> (g/pot)	Jumlah penggandaan (n)
0	2,655	0,154	1,400
0,025	1,945	0,133	0,954
0,05	1,843	0,138	0,876
0,10	1,259	0,101	0,330
0,20	1,313	0,103	0,390
0,40	0,380	0,049	-1,387
0,80	0,422	0,050	-1,236
1,60	0,265	0,044	-1,903
3,20	0,134	0,027	-2,881
6,40	0,120	0,026	-3,039

Penggandaan *Azolla* adalah kemampuan *Azolla* dalam memperbanyak diri. Jumlah penggandaan (n) dapat dihitung sebagai berikut:

$N = N_0 2^n$ dimana,

n = jumlah generasi (frekuensi penggandaan) = $3.3 (\log N - \log N_0)$

N = biomassa segar *Azolla* saat panen (umur satu minggu) (gram),

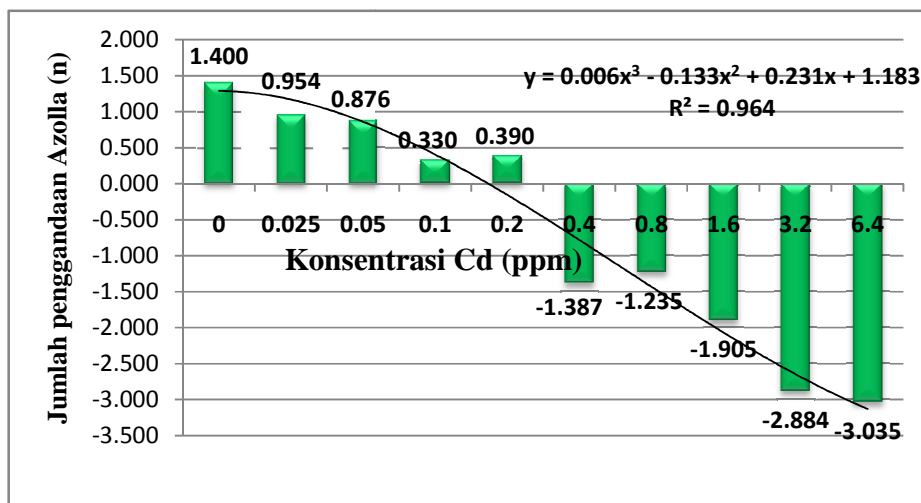
N_0 = biomassa segar *Azolla* pada saat awal (gram), dan

(Fomeg and Merestela, 2004).

Perlakuan Cd menurunkan pertumbuhan *Azolla*. Pertumbuhan *Azolla* dapat dilihat dari produksi biomassa A dari bobot brangkasan segar dan brangkasan

keringnya. Berdasarkan tabel 4.1 hasil percobaan pada medium Yoshida menunjukkan pada konsentrasi 0,20 ppm Azolla masih dapat bertahan hidup dan biomassa Azolla masih bertambah, meskipun jumlah penggandaannya sangat kecil, yaitu 0,390. Hal ini berarti lebih tinggi dari yang dikemukakan oleh Setiaji (1998) dimana Azolla mulai mati pada konsentrasi Cd 0,1 ppm. Pada konsentrasi Cd 0,40 ppm nilai penggandaan Azolla adalah negatif yaitu -1.387, artinya biomassa Azolla tidak bertambah tetapi justru berkurang dan Azolla mulai mati (konsentrasi lethal). Dengan demikian, konsentrasi Cd untuk percobaan kedua ditentukan berdasarkan konsentrasi Cd terendah (0 ppm) dan konsentrasi satu tingkat di atas konsentrasi tertinggi dimana Azolla sudah tidak menunjukkan adanya pertumbuhan atau penggandaannya negatif, yaitu konsentrasi 0,8 ppm. Hal ini bertujuan untuk mengantisipasi pengaruh tanah yang dapat meningkatkan daya tahan Azolla terhadap Cd.

Menurut Lahuddin (2007), kadar Cd dalam jaringan tanaman berkisar 0,1–1,0 ppm. Dengan demikian dapat diketahui penyebab Azolla mati pada konsentrasi 0,40 ppm yaitu karena Azolla berada pada konsentrasi Cd yang melebihi kapasitasnya dalam ketahanan.



Gambar 4.1 Pengaruh Konsentrasi Cd dalam Medium Yoshida terhadap Jumlah Penggandaan Azolla

Pada konsentrasi 0 ppm, nilai penggandaan Azolla paling tinggi. Nilai penggandaan semakin menurun mulai konsentrasi 0,025 ppm sampai pada konsentrasi 0,2 ppm Azolla masih mampu mengganda meskipun nilai penggandaannya sangat kecil (gambar 4.1). Pada konsentrasi 0,4 ppm nilai penggandaan Azolla negatif (lethal).

B. Analisis Tanah dan Jaringan *Azolla microphylla* Awal

Analisis karakteristik tanah awal dan jaringan Azolla awal sebelum perlakuan disajikan pada tabel sebagai berikut :

Tabel 4.2 Karakteristik Tanah dan Jaringan Azolla Awal

Analisis	Satuan	Nilai	Harkat
pH H ₂ O		6,7	Netral *
C-Organik	%	1,38	Rendah *
BO	%	2,37	Sedang *
KTK	cmol(+)/kg	51,35	Sangat tinggi *
Tekstur	%	Pasir 22,56; Debu 24,7; Lempung 52,74	Clay (Lempungan)
Cd tersedia	ppm	0,0088	Sangat rendah*
Kadar Cd Azolla	ppm	0,0281	Sangat rendah*

Keterangan :

*) Pengharkatan menurut Balai Penelitian Tanah 2005

Berdasarkan hasil analisis tanah awal diketahui bahwa tanah Vertisol yang digunakan pada penelitian memiliki pH netral dan kandungan bahan organik yang tergolong sedang, yaitu sebesar 2,37 %. Tanah Vertisol yang digunakan pada penelitian diambil dari daerah Jatikuwung. Kadar Cd tersedia dalam tanah Vertisol sebesar 0,0088 ppm, kadar ini masih di bawah baku mutu logam Cd yaitu sebesar 1,0 ppm atau lebih rendah. Pada analisis jaringan Azolla sebelum perlakuan mengandung unsur Cd sebesar 0,0281 ppm. Kadar tersebut masih dapat ditolerir oleh Azolla karena kandungan Cd Azolla sangat kecil.

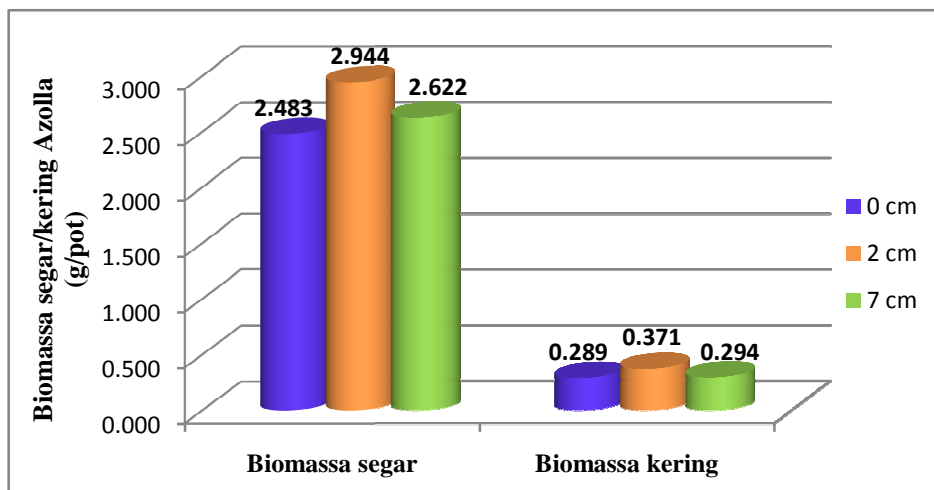
Menurut Babich & Stotzki (1978), pada pH di bawah 8 Cd biasanya terdapat dalam bentuk bebas. Reaksi tanah (pH) adalah faktor penting yang menentukan transformasi logam. Penurunan pH secara umum meningkatkan ketersediaan logam berat. Pengaruh bahan organik terhadap logam berat berkaitan erat dengan pembentukan senyawa kompleks antara bahan organik dengan logam tersebut. Stabilitas khelat organik dengan kation pada Cd lebih kuat jika dibandingkan dengan Fe dan Mn. Tekstur tanah Vertisol yang didominasi oleh lempung dan Kapasitas Tukar Kation (KTK) yang sangat tinggi mampu mengikat logam berat Cd lebih kuat sehingga Cd yang tersedia lebih rendah dari total Cd dalam tanah.

Menurut Notodarmojo (2005), KTK adalah pertukaran atau penggantian ion yang telah teradsorpsi oleh ion lain. Dalam kondisi tertentu, ion akan tertarik dan menempel

pada permukaan butir atau partikel tanah dan mengganti ion lain yang telah menempel atau berada pada permukaan partikel tanah. Proses pertukaran ion terutama terjadi karena kehadiran lempung (terutama dalam bentuk koloidnya) dan zat organik. Pertukaran kation dipengaruhi oleh muatan elektrostatis dari partikel tanah, maka pH juga mempengaruhi KTK. Semakin tinggi nilai pH tanah maka semakin tinggi pula KTK tanah tersebut.

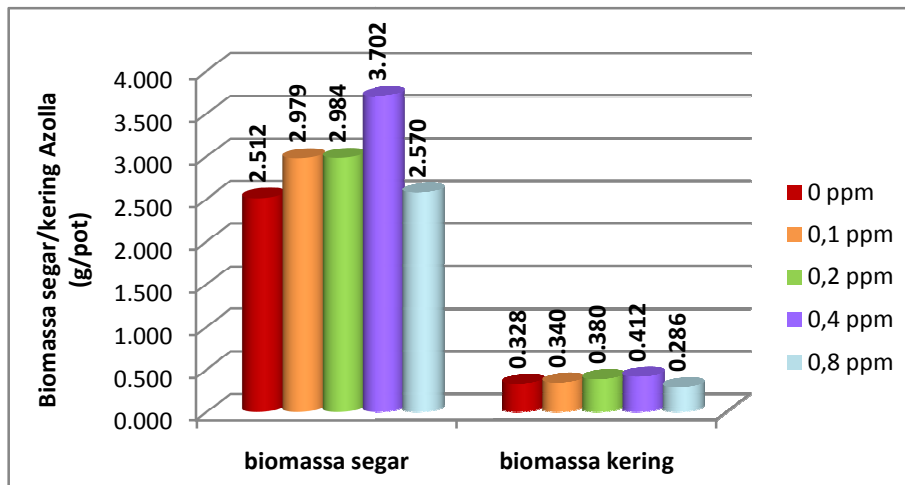
C. Pengaruh Perlakuan terhadap Biomassa Azolla Pada Percobaan Kedua

Perlakuan tinggi genangan air dan konsentrasi Cd pada percobaan kedua memberikan pengaruh terhadap produksi biomassa Azolla baik dari biomassa segar maupun biomassa kering. Dengan mengetahui biomassa segar Azolla dapat diketahui jumlah penggandaan Azolla.



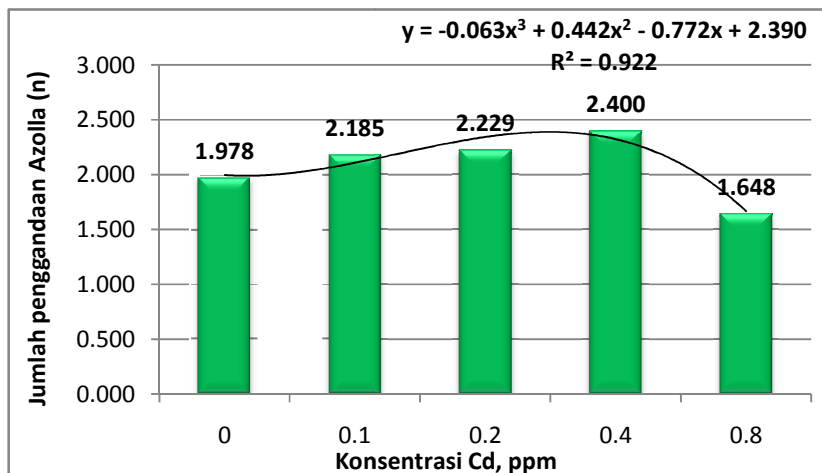
Gambar 4.2 Pengaruh tinggi genangan air terhadap Biomassa Azolla

Produksi biomassa Azolla pada genangan 0 cm lebih rendah jika dibandingkan pada tinggi genangan air 2 cm dan 7 cm. Hal ini dikarenakan pada kondisi akar masuk ke dalam tanah menyebabkan pembelahan Azolla (fraksionasinya) terhambat sehingga kemampuan Azolla memperbanyak diri akan menurun. Namun ketahanan Azolla terhadap cekaman lingkungan dan logam berat lebih baik bila Azolla tumbuh melekat di tanah dengan akar masuk ke dalam tanah (Mujiyo, 1998; Setiaji, 1998).



Gambar 4.3 Pengaruh konsentrasi Cd terhadap biomassa Azolla

Pada percobaan kedua, produksi biomassa Azolla baik biomassa segar maupun biomassa kering meningkat sampai konsentrasi 0,4 ppm sedangkan pada konsentrasi 0,8 ppm biomassa Azolla sudah menunjukkan penurunan. Hal ini dikarenakan tanah Vertisol memiliki tekstur halus dan KPK tinggi yang mampu menurunkan ketersediaan Cd dalam tanah sehingga Azolla masih mampu bertahan hidup dan melakukan penggandaan.



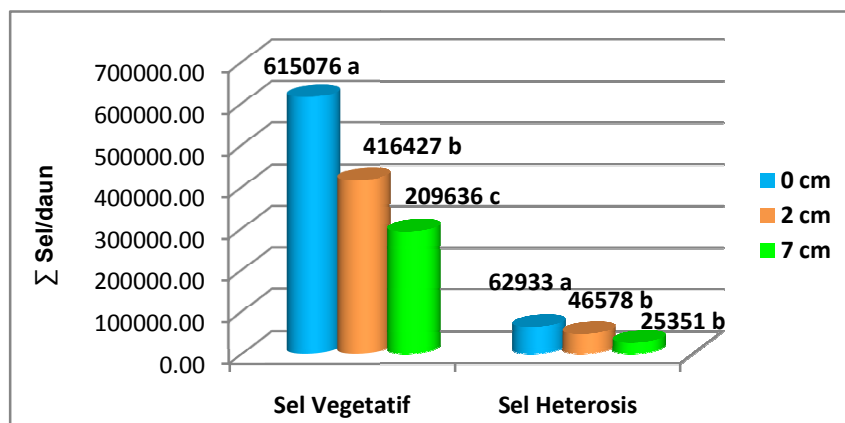
Gambar 4.4 Pengaruh Konsentrasi Cd terhadap Jumlah Penggandaan Azolla

Nilai penggandaan Azolla selalu mengalami peningkatan sampai konsentrasi 0,4 ppm dan menurun pada konsentrasi 0,8 ppm. Pada konsentrasi 0,4 ppm menunjukkan nilai penggandaan Azolla yang cukup tinggi sebesar 2,4. Meskipun perlakuan Cd menunjukkan penurunan biomassa Azolla pada konsentrasi Cd 0,8 ppm, namun Azolla masih dapat bertahan hidup dan melakukan penggandaan yaitu sebesar 1,648. Konsentrasi 0,4 ppm

merupakan konsentrasi lethal Azolla pada percobaan pertama (percobaan pendahuluan), namun pada percobaan kedua tidak terdapat konsentrasi Cd yang menunjukkan nilai penggandaan negatif. Artinya, Azolla masih dapat bertahan hidup dan melakukan penggandaan. Dengan demikian, pada percobaan kedua tidak dapat ditentukan konsentrasi lethal Azolla berdasarkan perlakuan Cd yang dilakukan, karena Azolla masih mampu bertahan hidup dan tidak menunjukkan nilai penggandaan yang negatif.

D. Pengaruh Tinggi Genangan Air terhadap Mikrosimbion *Anabaena azollae*

Pengamatan mikrosimbion *Anabaena azollae* dapat diketahui dari sel vegetatif dan sel heterosis yang terdapat dalam daun Azolla. Sel vegetatif berfungsi mengikat CO₂ dan diangkut ke sel heterosis, sedangkan nitrogen diikat oleh sel heterosis kemudian diangkut ke sel vegetatif terdekat (Lee, 1980). Sel heterosis mengandung enzim nitrogenase yang akan memfiksasi N₂ kemudian akan dirubah menjadi NH₄ (amonium) selanjutnya diangkut ke inang (Azolla). Sel heterosis tidak mengadakan fotosintesis sebab nitrogenase peka terhadap O₂. Azolla mengubah NH₃ menjadi asam-asam amino. Azolla mempunyai kemampuan memfiksasi CO₂ dan melakukan fotosintesis. Selain dipergunakan untuk kebutuhan sendiri, fotosintat yang dihasilkan oleh Azolla secara bersama dengan asam amino akan disuplai ke mikrosimbion (*Anabaena azollae*).



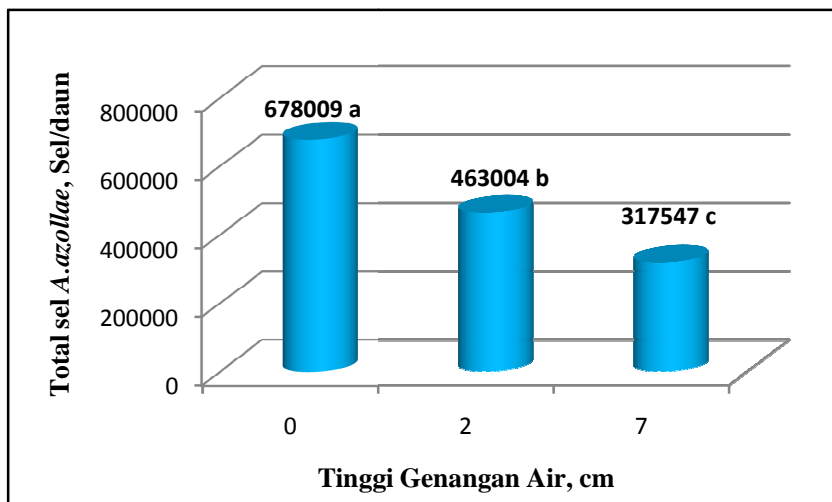
Gambar 4.5 Pengaruh tinggi genangan air terhadap jumlah sel vegetatif dan jumlah sel heterosis *Anabaena azollae*

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada variabel yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Mood Median 5%.

Berdasarkan uji Kruskal-Wallis, diketahui bahwa tinggi genangan air berpengaruh sangat nyata menurunkan jumlah sel vegetatif dan sel heterosis *Anabaena azollae* pada

tinggi genangan air 2 cm dan 7 cm. Semakin tinggi genangan air maka sel vegetatif dan sel heterosis semakin menurun. Pada tinggi genangan air 0 cm (akar masuk ke dalam tanah) memberikan jumlah sel vegetatif dan sel heterosis *Anabaena azollae* lebih tinggi daripada perlakuan pada tinggi genangan air 2 cm dan 7 cm.

Menurut Ashton (1974), pertumbuhan Azolla tidak dapat memenuhi seluruh luasan lahan bila genangan airnya dalam. Pada kondisi demikian, penambatan N_2 pada sel heterosis juga tidak maksimal. Oleh sebab itu, jumlah sel heterosis pada tinggi genangan air 2 cm dan 7 cm lebih rendah jika dibandingkan dengan jumlah sel heterosis pada tinggi genangan air 0 cm. Demikian pula dengan jumlah sel vegetatif *Anabaena azollae* paling tinggi terdapat pada perlakuan tinggi genangan air 0 cm, yaitu sebesar 615076 sel/daun. Hal ini dikarenakan Azolla lebih tahan cekaman lingkungan pada kondisi akar masuk ke dalam tanah sehingga peran sel vegetatif sebagai sel pertumbuhan pada Azolla terus bertambah jumlahnya.

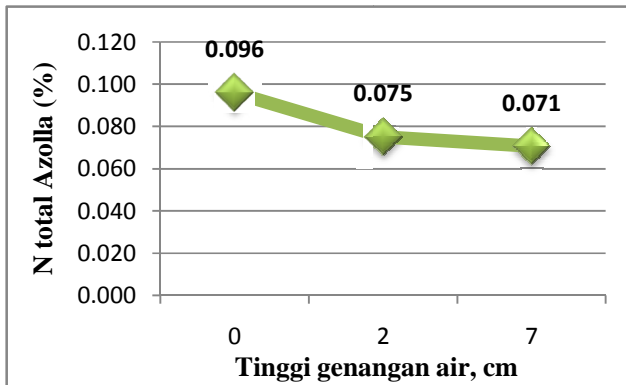


Gambar 4.6 Pengaruh tinggi genangan air terhadap total sel vegetatif dan sel heterosis *Anabaena azollae*

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada variabel yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Mood Median 5%.

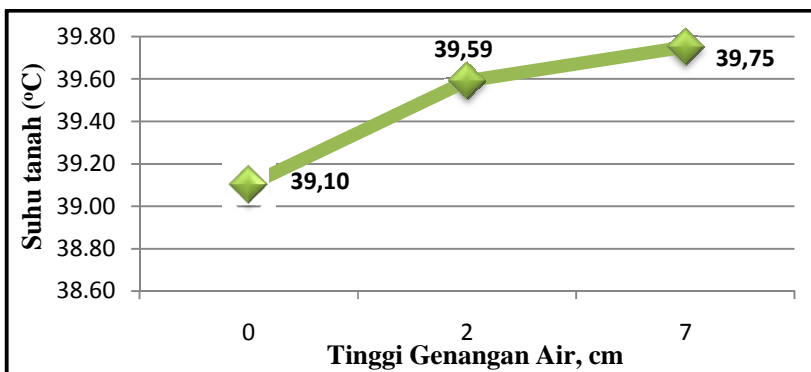
Pada perlakuan tinggi genangan air 0 cm, Azolla cenderung membentuk akar yang menghujam ke dalam tanah dan akan lebih tahan terhadap cekaman lingkungan (Becking, 1979) sehingga laju penambatan N_2 dapat berlangsung maksimal. Tinggi

genangan air 0 cm menghasilkan total sel vegetatif dan sel heterosis *Anabaena azollae* paling besar jika dibandingkan dengan perlakuan tinggi genangan air 2 cm dan 7 cm.



Gambar 4.7 N total Azolla pada berbagai tinggi genangan air

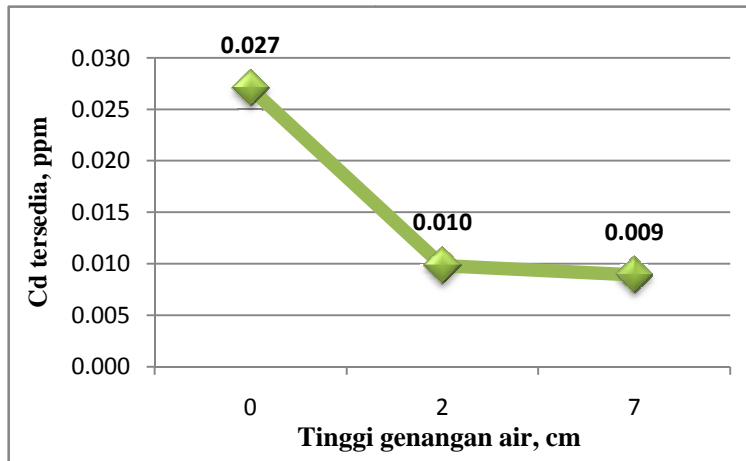
Kandungan N total Azolla pada genangan 0 cm paling tinggi jika dibandingkan dengan tinggi genangan air 2 cm dan 7 cm. Hal ini dikarenakan *Anabaena azollae* pada genangan 0 cm lebih tinggi total selnya sehingga mampu memfiksasi N lebih banyak. Kandungan N total Azolla yang cukup banyak mampu mendukung pertumbuhan Azolla sehingga Azolla dapat terus berfungsi sebagai bioakumulator yang menyerap logam Cd.



Gambar 4.8 Suhu Tanah pada Berbagai Perlakuan Tinggi Genangan Air

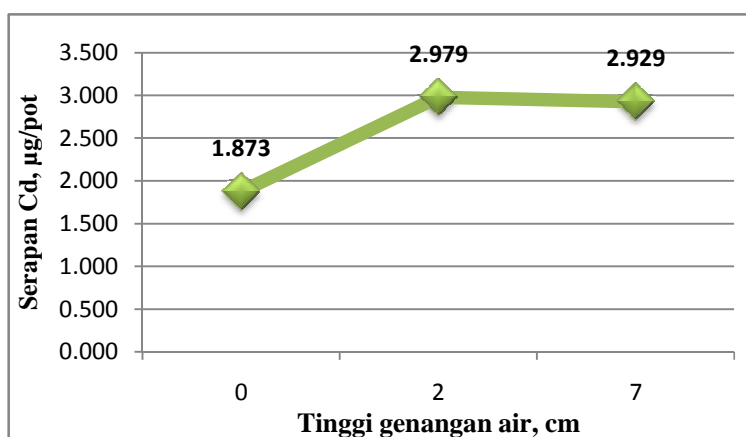
Suhu tanah akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan Azolla. Tinggi genangan air 0 cm menghasilkan suhu yang lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan tinggi genangan air 2 cm dan 7 cm. Tinggi genangan air tidak menunjukkan peningkatan suhu yang berarti, baik pada tinggi genangan air 2 cm maupun 7 cm. Peningkatan suhu pada semua perlakuan tinggi genangan air termasuk kecil. Suhu yang

rendah pada penggenangan 0 cm mendukung pertumbuhan Azolla sehingga sel-sel mikrosimbion *Anabaena azollae* lebih besar pada kondisi genangan 0 cm.



Gambar 4.9 Cd tersedia pada berbagai perlakuan tinggi genangan air

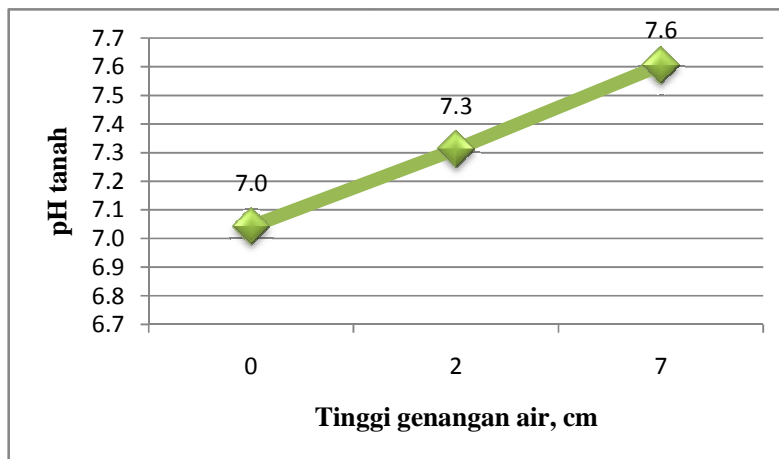
Pada genangan air 0 cm ketersediaan Cd lebih tinggi dibandingkan pada genangan air 2 dan 7 cm. Namun serapan Cd pada kondisi genangan air 0 cm lebih rendah (gambar 4.10). Hal ini dapat terjadi karena diduga di dalam tanah terjadi persaingan antara kation Cd dengan kation lain lebih besar daripada di dalam air sehingga Azolla menyerap Cd lebih sedikit bila akarnya masuk di dalam tanah.



Gambar 4.10 Serapan Cd pada berbagai perlakuan tinggi genangan air

Serapan Cd oleh Azolla terus meningkat dengan meningkatnya tinggi genangan air. Hal ini dikarenakan pada genangan air 2 cm dan 7 cm Cd yang dapat diserap oleh akar Azolla lebih banyak jika dibandingkan pada genangan air 0 cm. Pada kondisi genangan air

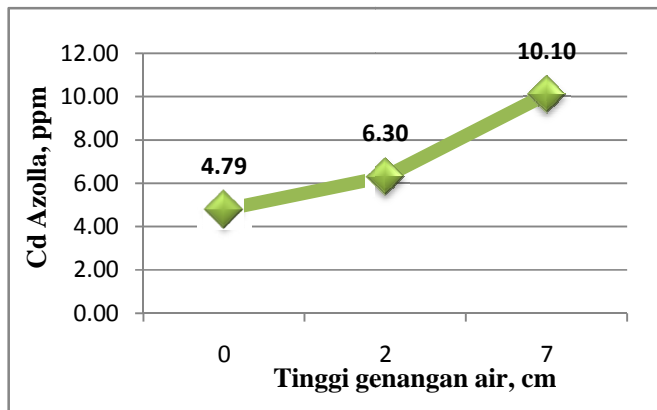
0 cm serapan Cd hanya sedikit yaitu 1,873 $\mu\text{g}/\text{pot}$. Semakin sedikit Cd yang terserap oleh *Azolla* maka memungkinkan pertumbuhan *Azolla* semakin meningkat sehingga *Anabaena azollae* juga semakin meningkat.



Gambar 4.11 pH tanah pada berbagai perlakuan tinggi genangan air

Penggenangan dapat mempengaruhi pH tanah. Menurut Sanchez (1992), tanpa melihat pH tanah awal, tanah yang mendapat genangan air akan cenderung untuk menuju ke arah netral, jika pH masam maka pH cenderung meningkat, jika alkalis pH cenderung menurun, hal ini terjadi karena adanya suasana reduktif yang menyebabkan terbebasnya senyawa OH^- , sehingga meningkatkan pH larutan. Nilai pH tanah mengalami peningkatan sampai pada genangan air 7 cm.

Menurut Setiaji (1998) banyaknya OH^- pada larutan tanah memungkinkan Cd mengalami spesiasi menjadi CdOH^+ yang merupakan kation monovalen dan diduga lebih mudah melakukan penetrasi melewati membran sel dibandingkan Cd^{2+} . Hal ini karena terjadi pengurangan kompetisi antara proton (H^+) dengan CdOH^+ untuk menempati organ sasaran di dalam sel, karena pada saat pH naik ion H^+ kurang berhasil memenangkan kompetisi dengan CdOH^+ untuk dapat diabsorpsi pada permukaan membran sel. Oleh karena itu, *Azolla* pada kondisi tinggi genangan air 2 cm dan 7 cm serapannya terhadap Cd lebih besar sehingga pertumbuhan *Azolla* menurun dan *Anabaena azollae* juga menurun.



Gambar 4.12 Kadar Cd Azolla pada Berbagai Tinggi Genangan Air

Pada tinggi genangan air 0 cm, kadar Cd Azolla lebih rendah daripada tinggi genangan air 2 cm dan 7 cm. Semakin tinggi genangan air maka semakin tinggi pula kadar Cd Azolla. Hal ini dikarenakan pada tinggi genangan air 0 cm, Cd yang terserap oleh Azolla lebih sedikit walaupun ketersediaannya banyak sehingga sel-sel mikrosimbion *Anabaena azollae* dapat meningkat.

E. Pengaruh Konsentrasi Logam Berat Kadmium terhadap Mikrosimbion *Anabaena azollae*

Perlakuan konsentrasi Cd selain berpengaruh terhadap produksi biomassa Azolla juga berpengaruh terhadap *Anabaena azollae*, seperti disajikan pada tabel 4.3:

Tabel 4.3 Pengaruh Konsentrasi Logam Berat Cd terhadap Mikrosimbion *Anabaena azollae*

Konsentrasi Cd (K), ppm	Sel Vegetatif (V), sel/daun	Sel Heterosis (H), sel /daun	Total sel <i>A.azollae</i> , sel /daun
0	407644 a	38533 a	446254 a
0,1	428326 a	39756 b	468107 a
0,2	431170 a	44532 b	475931 a
0,4	520000 a	57404 b	577561 a
0,8	419022 a	44975 a	464087 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada variabel yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Mood Median 5%.

Berdasarkan uji Kruskal-Wallis, diketahui bahwa konsentrasi Cd tidak berpengaruh nyata menurunkan sel vegetatif, sel heterosis, dan total sel vegetatif dan sel heterosis mikrosimbion *Anabaena azollae*. Sel vegetatif dan sel heterosis *Anabaena azollae* terus mengalami peningkatan pada konsentrasi Cd 0 ppm hingga 0,4 ppm dan mulai menurun pada konsentrasi 0,8 ppm. Konsentrasi 0,4 ppm merupakan konsentrasi lethal

pada percobaan pendahuluan di mana Azolla sudah menunjukkan warna kecoklatan, namun baik sel vegetatif maupun sel heterosis masih dapat ditemukan berada pada rongga daun Azolla yang telah mengering tersebut bahkan jumlahnya paling besar jika dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi lainnya. Hal tersebut diduga karena kation Cd pada tanah Vertisol lebih banyak yang terikat pada koloid tanah sehingga tanah Vertisol menyediakan Cd secara perlahan dan tidak banyak terserap oleh Azolla. Hal ini dapat dilihat dari produksi biomassa dan nilai penggandaan Azolla pada konsentrasi 0,4 ppm paling tinggi.

Menurut Mujiyo (1998), tanah Vertisol mempunyai kemampuan mengikat ion Cd sehingga tidak banyak yang terinfiltrasi ke bawah, maka jumlah Cd yang ada pada permukaan tanah atas cukup besar. Kemungkinan akar Azolla menyerapnya lebih besar. Akan tetapi, banyaknya muatan negatif koloid lempung yang tinggi pada tanah Vertisol, menyebabkan kation Cd tertarik dan diikat pada permukaan lempung. Kation Cd yang terjerap tersebut akhirnya nanti melalui proses pertukaran kation akan dapat dipertukarkan dengan kation lainnya.

Tanah Vertisol mempunyai tekstur tanah yang halus. Semakin halus tekstur tanah, maka semakin tinggi kekuatan untuk mengikat logam berat. Oleh karena itu, tanah yang bertekstur lempung mempunyai kemampuan untuk mengikat logam berat lebih tinggi daripada tanah berpasir (Babich & Stotzki, 1978).

Tingginya nilai KPK tanah juga dipengaruhi oleh pH tanah. Berdasarkan gambar 4.11 nilai pH tanah semakin meningkat dengan meningkatnya genangan air. Semakin tinggi pH tanah maka KPK juga semakin tinggi. Nilai pH tanah mempunyai peran yang penting dalam penyebaran kontaminan di dalam tanah. Partikel koloid tanah yang terdiri dari mineral liat, oksida logam, hidroksida serta organik umumnya mempunyai muatan elektrostatis. Nilai pH dapat mempengaruhi muatan elektrostatis dari suatu partikel koloidal dari positif ke negatif atau sebaliknya, dan mengurangi potensialnya. Hal tersebut dengan sendirinya mempengaruhi proses atau reaksi yang terjadi antara kontaminan dengan tanah, seperti proses adsorpsi (Notodarmojo, 2005).

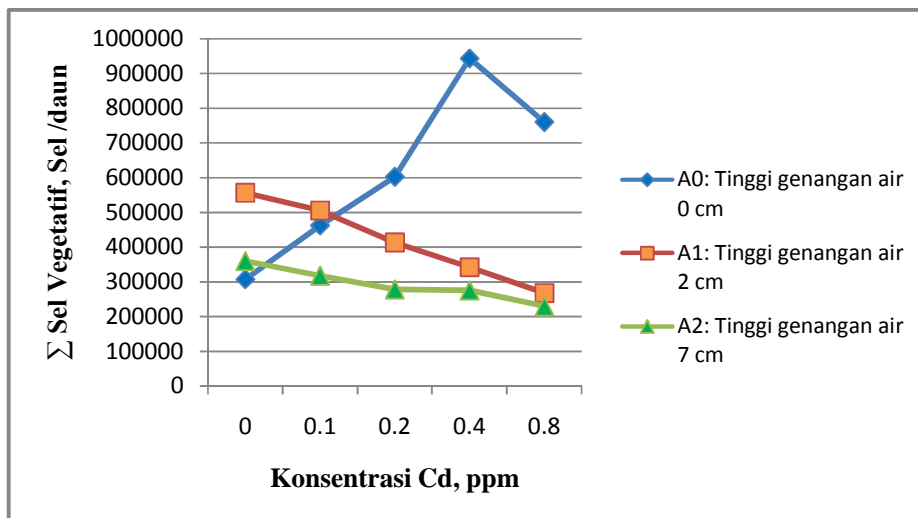
Suhu yang tinggi akan menurunkan produksi biomassa Azolla sehingga menyebabkan daun berwarna coklat dan apabila berlangsung lama akan menyebabkan kematian. Adanya penurunan sel-sel mikrosimbion *Anabaena azollae* dikarenakan oleh cekaman lingkungan yaitu pengaruh suhu tanah yang sudah di atas suhu optimum untuk

pertumbuhan Azolla. Tanaman Azolla dapat tumbuh optimal pada suhu antara 20 °C-25 °C. Suhu yang tinggi juga akan mengakibatkan *Anabaena azollae* tidak dapat mengakumulasi N dari udara secara maksimal sehingga sel-sel mikrosimbion *Anabaena azollae* menurun (Djojokuswito, 2000).

Menurut Lumpkin *et al.* (1980), enzim nitrogenase bertanggung jawab pada penambatan N₂ tersusun oleh komponen utama protein, maka kondisi suhu yang tinggi ini akan menyebabkan enzim nitrogenase mengalami denaturasi dan terjadi penurunan aktivitasnya dalam menambat N₂. Oleh sebab itu, peningkatan suhu juga menunjukkan penurunan jumlah sel *Anabaena azollae*.

F. Pengaruh Interaksi Tinggi Genangan Air dan Konsentrasi Logam Berat Kadmium terhadap Pengamatan *Anabaena azollae*

Pengaruh interaksi perlakuan tinggi genangan air dan konsentrasi Cd memberikan jumlah sel vegetatif *Anabaena azollae* yang berbeda-beda, seperti disajikan pada gambar 4.13:

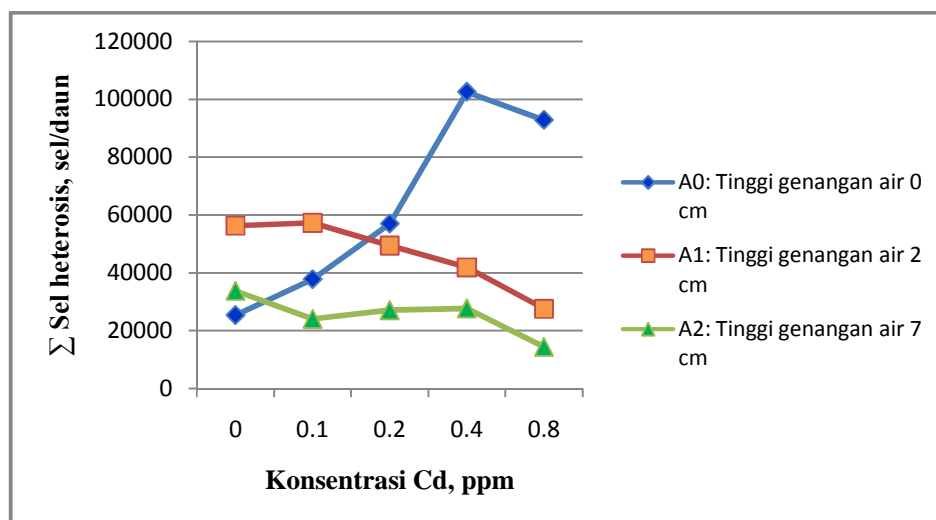


Gambar 4.13 Pengaruh Interaksi Perlakuan Tinggi Genangan Air dan Konsentrasi Cd terhadap Jumlah Sel Vegetatif *Anabaena azollae*

Pada interaksi perlakuan A₁ dan A₂ dengan berbagai konsentrasi Cd menunjukkan bahwa sel vegetatif *Anabaena azollae* terus mengalami penurunan. Interaksi perlakuan yang memberikan jumlah sel vegetatif paling tinggi adalah perlakuan tinggi genangan air A₀ dengan konsentrasi Cd 0,4 ppm. Konsentrasi Cd tidak berpengaruh nyata menurunkan jumlah sel vegetatif *Anabaena azollae* meskipun pada konsentrasi 0,4 ppm yang

merupakan konsentrasi lethal. Hal ini disebabkan Azolla lebih tahan pada kondisi akar masuk ke dalam tanah sehingga sel-sel vegetatif dapat terus meningkat karena Cd yang terserap Azolla lebih sedikit. Azolla akan lebih mudah dan lebih cepat menyerap unsur-unsur hara yang dibutuhkan untuk menstimulasi penambatan N_2 dan biosintesa N dalam tanaman. Selain itu, tingkat keracunan logam Cd dapat diminimalisir oleh tanah Vertisol dimana akar Azolla yang menghujam kuat ke dalam tanah tidak dapat menyerap Cd lebih banyak karena Cd banyak yang terikat kuat pada tanah Vertisol.

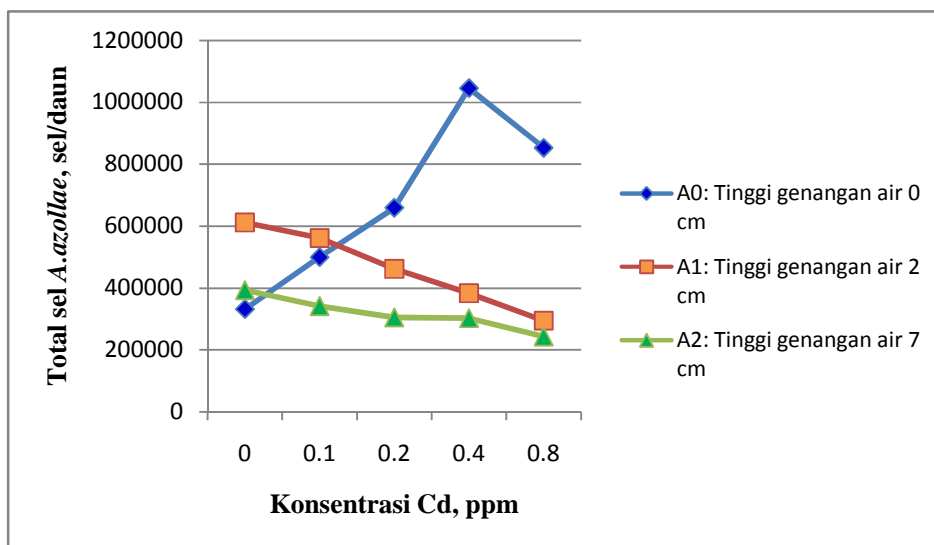
Bila tumbuh dengan akar menyentuh permukaan tanah atau masuk ke dalam tanah maka akar lebih aktif dibanding jika akar menggantung di air (Khan, 1988; Suyana, *et al.*, 1998). Ketahanannya terhadap cekaman lingkungan dan logam berat lebih baik bila Azolla tumbuh melekat di tanah dengan akar masuk ke dalam tanah (Mujiyo, 1998; Setiaji, 1998). Oleh karena itu, pertumbuhan Azolla lebih besar pada kondisi akar melekat/masuk ke dalam tanah sehingga sel vegetatif *Anabaena azollae* sebagai sel pertumbuhan juga akan meningkat.



Gambar 4.14 Pengaruh Interaksi Perlakuan Tinggi Genangan Air dan Konsentrasi Cd terhadap Jumlah Sel Heterosis *Anabaena azollae*

Berdasarkan uji Kruskal Wallis dapat diketahui bahwa interaksi perlakuan tinggi genangan air dan konsentrasi Cd berpengaruh sangat nyata meningkatkan sel heterosis *Anabaena azollae* pada perlakuan tinggi genangan air 0 cm dengan konsentrasi Cd 0,4 ppm. Perlakuan A₀ dengan konsentrasi 0,4 ppm memberikan jumlah sel heterosis lebih tinggi dibandingkan dengan kombinasi perlakuan lainnya. Kondisi akar masuk ke dalam

tanah dapat mendukung penambatan N yang maksimal oleh sel heterosis sehingga sel heterosis lebih besar pada A₀. Konsentrasi Cd tidak mempengaruhi pertumbuhan sel heterosis *Anabaena azollae*. Pertumbuhan Azolla pada kombinasi perlakuan A₁ dan perlakuan A₂ pada berbagai tingkat konsentrasi mengalami penurunan jumlah sel heterosis karena pada kombinasi perlakuan tersebut temperaturnya lebih tinggi. Bila genangan airnya pada kondisi demikian penambatan N₂ tidak maksimal.



Gambar 4.15 Pengaruh Interaksi Perlakuan Tinggi Genangan Air dan Konsentrasi Cd terhadap total Sel *Anabaena azollae*

Pada gambar 4.15 interaksi perlakuan tinggi genangan air 0 cm dan konsentrasi 0,4 ppm memberikan total sel vegetatif dan sel heterosis *Anabaena azollae* yang lebih besar daripada perlakuan lain yaitu sebesar 1045739 sel/daun. Peningkatan sel pada konsentrasi 0,4 ppm dapat dilihat baik pada sel vegetatif maupun sel heterosis *Anabaena azollae*. Pada perlakuan A₁ dengan berbagai tingkat konsentrasi Cd menunjukkan bahwa total sel *Anabaena azollae* selalu mengalami penurunan. Demikian halnya pada perlakuan A₂ dengan berbagai tingkat konsentrasi Cd juga menunjukkan total sel *Anabaena azollae* yang selalu menurun jumlahnya. Hal ini dikarenakan pada tinggi genangan air 2 cm dan 7 cm Azolla tidak tahan terhadap cekaman lingkungan jika dibandingkan dengan perlakuan A₀ dimana akar masuk ke dalam tanah, sehingga menyebabkan total sel mikrosimbion *Anabaena azollae* juga menurun.

G. Hubungan Antar Variabel Pengamatan

Hasil analisis korelasi antar variabel pengamatan pada perlakuan logam Cd disajikan pada tabel berikut:

Tabel 4.4 Korelasi antar Variabel pengamatan

	Total sel	BB	BK	N Total	Suhu	pH	Cd-jar.
BB	0,157 0,304						
BK	0,053 0,729	0,771 0,000					
N Total	0,479 0,001	0,212 0,163	-0,001 0,993				
Suhu	-0,070 0,648	-0,180 0,238	-0,346 0,020	0,095 0,537			
pH	-0,435 0,003	-0,455 0,002	-0,389 0,008	-0,044 0,773	0,359 0,015		
Cd-jar.	-0,268 0,076	-0,423 0,004	-0,424 0,004	-0,165 0,279	0,351 0,018	0,556 0,000	
Cd tsd	-0,482 0,001	-0,052 0,733	-0,287 0,056	-0,036 0,816	0,096 0,530	0,429 0,003	0,179 0,239

Berdasarkan tabel 4.4 total sel *Anabaena azollae* dengan biomassa Azolla belum menunjukkan korelasi yang sinkron. Pada tinggi genangan air 0 cm memberikan biomassa Azolla (berat segar dan berat kering Azolla) paling rendah, namun total sel *Anabaena azollae* paling tinggi. Korelasi positif yang ditunjukkan antara total sel *Anabaena azollae* dengan biomassa Azolla diduga karena pengaruh konsentrasi logam Cd dimana pada konsentrasi Cd 0,4 ppm memberikan biomassa Azolla dan total sel *Anabaena azollae* paling tinggi.

Variabel N total Azolla berkorelasi positif dengan total sel *Anabaena azollae* dimana semakin besar total sel *Anabaena azollae* maka penambahan N yang dilakukan mikrosimbion *Anabaena azollae* juga semakin besar sehingga kadar N total Azolla juga meningkat. Penggenangan cenderung meningkatkan suhu tanah dan pH tanah. Suhu air

lebih tinggi dibanding suhu tanah, terutama siang hari saat pengukuran. Suhu, pH, Cd Azolla, dan Cd tersedia berkorelasi negatif dengan total sel *Anabaena azollae*. Semakin meningkatnya suhu dan pH tanah maka akan menurunkan sel-sel *Anabaena azollae* karena Azolla menjadi tidak tahan terhadap cekaman lingkungan. Demikian pula halnya Cd jaringan Azolla dan Cd tersedia tanah berkorelasi negatif terhadap mikrosimbion *Anabaena azollae*. Semakin banyak kandungan Cd Azolla maka total sel mikrosimbion *Anabaena azollae* akan menurun karena Cd bersifat racun. Semakin sedikit Cd tersedia maka total sel mikrosimbion akan semakin meningkat karena Cd yang dapat diserap oleh Azolla hanya sedikit.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Tinggi genangan air berpengaruh sangat nyata menurunkan jumlah sel vegetatif dan sel heterosis *Anabaena azollae* sampai pada genangan air 7 cm diduga karena adanya peningkatan pH tanah, suhu, dan serapan Cd, sedangkan konsentrasi Cd tidak berpengaruh nyata.
2. Interaksi perlakuan tinggi genangan air dan konsentrasi Cd berpengaruh sangat nyata, dengan kombinasi perlakuan tinggi genangan air 0 cm dan konsentrasi Cd 0,4 ppm memberikan total sel vegetatif dan sel heterosis *Anabaena azollae* paling tinggi sebesar 1045739 sel/daun.
3. Pada tinggi genangan air 2 cm biomassa Azolla paling tinggi, sedangkan total sel *Anabaena azollae* paling tinggi terdapat pada tinggi genangan air 0 cm. Pada konsentrasi Cd 0,4 ppm memberikan biomassa Azolla dan total sel *Anabaena azollae* paling tinggi.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian yang serupa menggunakan tanaman *Azolla microphylla* dengan metode yang lebih akuratif seperti Metode *Acetylene Reduction Assay* (ARA) sehingga dapat diketahui bagaimanakah tingkat fiksasi N yang dilakukan *Anabaena azollae* pada kondisi tanah Vertisol tercemar logam berat Cd.

DAFTAR PUSTAKA

- Anand, T. 2006. *Azolla as Biofertilizer in Coffee Plantations*. International of Poultry Science volume 5: 137-141.
- Anonim. 1987. *Azolla Utilization. Proceeding of the Workshop on Azolla Use. Fuzou, Fujian, China. 31 March – 5 April 1985*. IRRI. Phillipine.
- Anonim. 2008. *Kadmium*. <http://id.wikipedia.org/wiki/kadmium>. Diakses: 2 Februari 2009.
- Arifin, Z. 1996. *Azolla Pembudidayaan dan Pemanfaatan pada Tanaman Padi*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Arora, A., S. Saxena & D.K. Sharma. 2006. *Tolerance and phytoaccumulation of Chromium by three Azolla species*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. Volume 22, Number 2 / February, 2006.
- Ashton, P.J. 1974. *The Effect Of Some Environmental Factors On The Growth Of Azolla Filiculoides Lam*. The Orange River Progress Report Bloefountein. South Africa.
- Babich, H. and G. Stotzky. 1978. *Effects of Cadmium on The Biota : Influence of Environmental Factors*. Edv. Appl. Microbiol. 23 : 55 – 117.
- Becking, J.H. 1979. *Environment Requirements of Azolla For Use in Tropical Rice Production*. In: Nitrogen and Rice. IRRI. Phillipina.
- Djojosuwito. 2000. *Azolla, Pertanian Organik dan Multiguna*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Fomeg, D. Y and T. M. Merestela. 2004. *Correlation Analysis Between Doubling Time and Relative Growth Rate of Azolla (Azolla sp.) Grown in Tadian, Mountain Province*.
<http://mpspc.tripod.com/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/correlationanalysisbetweendoublingtimeandrelativegrowthraterateofazollagrownintadianmountainprovince.pdf>. Diakses tanggal 5 Juli 2009 pukul 17. 10 WIB.
- Gomez, K.A. and A.A, Gomez. 1990. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. Diterbitkan oleh John Wiley & Sons, Inc.
- Khairiah, et al., 2008. *Kesan Pendedahan Logam Ni, Fe, dan Mn Terhadap Pertumbuhan Anabaena flos-aquae dalam Kultur Statik*.
http://pkukmweb.ukm.my/~jasm/pdf_files/SM-PDF-37-2-2008/11%20khairiah.pdf. Diakses: 11 Maret 2009.
- Khan, M.M. 1988. *Azolla Agronomy*. UPLB. Phill.
- Lahuddin. 2007. *Aspek Unsur Mikro Dalam Kesuburan Tanah*.
http://www.usu.ac.id/id/files/pidato/ppgb/2007/ppgb_2007_lahuddin.pdf.
- Lee, C.C. 1980. *The Use Azolla³⁷ in Rice Paddies*. The Influences of Soil and Chemical Fertilizers on The Growth of Azolla. J. Agric. Res, China: 225-234.

- Lumpkin, T. A. 1987. *Environmental Requirements for Successful Azolla Growth*. In: *Azolla Utilization*. Proceeding of the Workshop on Azolla Use. Fuzou, Fujian, China. 31 March – 5 April 1985. IRRI. Phillipine.
- _____ & Plucknett, D.L. 1980. *Azolla: Botany, Physiologi and Use Green Manure*. *Econ. Botany* 34:89-100.
- Mordechai, S., J. Garty. and Elisha. 2006. *The accumulation and the effect of heavy metals on the water fern Azolla filiculoides*. *Journal of New Phytologist*. Volume 112, Number 1/April 2006: 7-12.
- Mujiyo. 1998. *Pengaruh Jenis Tanah dan Tinggi Genangan terhadap Efektifitas Penambatan N₂, Serapan N dan Pertumbuhan Azolla (Azolla microphylla)*. Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Mulyandari, W. 2008. *Anabaena azollae*. <http://anabaena-azollae.blog.friendster.com>. Diakses: 2 Februari 2009.
- Munarso, S.J. 2003. *Peranan lingkungan pertanian dalamantisipasi perdagangan internasional komoditas unggulan*. Seminar Nasional Pengelolaan Lingkungan Pertanian. Kerjasama antara Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret dengan Loka Penelitian Pencemaran Lingkungan Pertanian. Surakarta, 21 Oktober 2003.
- Munir, M. 1996. *Tanah-Tanah Utama Indonesia*. Pustaka Jaya. Jakarta.
- Notodarmojo, S. 2005. *Pencemaran Tanah dan Air Tanah*. Penerbit ITB. Bandung.
- Nugroho, B. 2001. *Ekologi Mikroba pada Tanah Terkontaminasi Logam Berat*. Makalah Falsafah Sains. IPB. Bogor.
- Pararaja. 2008. *Kadmium*. <http://smk3ae.wordpress.com>. Diakses: 2 Februari 2009.
- Querubin, L. J., P. F. Alcantara and A Princesa. 1986. *Chemical composition of three Azolla species (A. Caroliniana, A. Microphylla, and A. Pinnata) and feeding value of Azolla meal (A. microphylla) in Broiler*. *The Phil. Agric* 69 : 479-490.
- Rasyid. 2002. *Pengaruh Pemberian Unsur Mikro Cu dan Macam Media terhadap Kadar Protein dan Biomassa pada Mikroalgae Anabaena azollae*. <http://digilib.itb.ac.id>. Diakses: 2 Februari 2009.
- Roostita, B. 2008. *Keamanan Pangan Hasil Ternak Ditinjau dari Cemar Logam Berat*. <http://blogs.unpad.ac.id/roostitabalia/wp-content/uploads/makalah-untuk-patpi.pdf>. Diakses: 2 Februari 2009.
- Setiaji, Y. 1998. *Kajian Serapan Cd dan Pertumbuhan Azolla microphylla Pada Berbagai Jenis Tanah dan Tingkat Konsentrasi Cd*. Skripsi. Fakultas Pertanian UNS. Surakarta.
- Singh, P.K. 1978. *Use of Azolla in Rice Production in India*. In: Nitrogen and Rice. IRRI. Phillipina.
- Suhendrayatna. 2008. *Bioremoval Logam Berat dengan Menggunakan Mikroorganisme*. http://sinergy-forum.net/zoa/paper/html/paper_suhendrayatna.html.

- Suyana, J., Sudadi dan Supriyadi. 1998. *Laju Pertumbuhan dan Penambatan N₂ Azolla Pada Berbagai Intensitas Penyinaran dan Tinggi Genangan*. Laporan Penelitian Dosen Muda. F. Pertanian UNS, Surakarta.
- Umar. 2008. *Pengaruh Kadmium Pada Pertumbuhan Panicum maximum Jacq. In vitro*. <http://www.sith.itb.ac.id/abstract/s2/Pengaruh%20Kadmium%20pada%20pertumbuhan-Samsu-S2.pdf>. Diakses: 2 Februari 2009.
- Vymazal, J. 2006. *Toxicity and accumulation of cadmium with respect to algae and cyanobacteria*. Journal of Toxicity Assessment. Volume 2, Number 4/ June, 2006: 387-415.
- Wardiyono. 2009. *Azolla pinnata*. <http://www.kehati.or.id/florakita/index.php>. Diakses: 2 Februari 2009.
- Watanabe, I., N. S. Berja and D. C. Rosario. 1980. *Growth of Azolla In paddy field as affected by phosphorus fertilizer*. Soil Sci. Plant Nutr. 26 (2) : 301-307.