

**PERBAIKAN KUALITAS BIJI KEDELAI TERKONTAMINASI LOGAM
BERAT
DAN FORMASI KOMPLEK PHYTOCHELATIN**

*THE IMPROVEMENT OF QUALITY OF SOYBEAN SEEDS CONTAMINATED
HEAVY METAL AND THE FORMATION COMPLEX OF PHYTOCHELATIN*

Setie Harieni^{1)*}, Supto Priyadi¹⁾
**priyadisapto@yahoo.co.id*

ABSTRACT

A study on the improvement of the quality of soybean seeds contaminated heavy metal and formation complex of phytochelatin. This research was the improvement of the quality of soybean seed stage through chelation. Research factors include: citric acid chelating agent (C) consists of three levels (1, 2 and 3 g); contact time of chelation (D) consists of three levels (90, 120 and 180 minutes) and the seeds condition (E), consists of three levels (whole, ruptured and flour). The results showed that the highest Pb reduction achieved in the treatment of C₁D₁E₁ [chelation used chelating agent (1 g), contact time 90 minutes and whole bean conditions] were chelation conditioned at pH 10. On the basis of highest reduction and provisional tolerable daily intake, thus should be consumed human beings 80,1826 g soybeans kg⁻¹ body weight day⁻¹ (increased 5.39 times from pre-chelation).

The data reduction of the highest achieved in the Cd all chelation treatment a conditioned at pH 10, thus should be consumed human beings 1.127,8195 g soybeans kg⁻¹ body weight day⁻¹ (increased 10,53 times from pre-chelation). Phytochelatin complex at neutral pH, coordinated by COO⁻ from cysteine ligands, whereas at pH 11 were on the formation of mononuclear coordination of cadmium (II) cysteine [Cd(S,N-Cys)₂]²⁻ (CdS₂N₂), coordinated by cysS⁻ from cysteine ligands. Heavy metals Pb and Cd contained in the complex Cd and Pb phytochelatin of exposed cells.

Keywords: soybean, chelation and phytochelation.

1) Staf pengajar program studi Agroteknologi Universitas Tunas Pembangunan Surakarta

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan tanaman pangan terpenting ketiga setelah padi dan jagung. Komoditas ini kaya protein nabati yang diperlukan untuk meningkatkan gizi masyarakat. Agar produksi kedelai dan produk olahannya mampu bersaing di pasar, maka mutunya perlu ditingkatkan (Marwoto dan Hilman, 2005).

Dewasa ini kedelai tidak hanya digunakan sebagai sumber protein, tetapi juga sebagai pangan fungsional yang dapat mencegah timbulnya penyakit-penyakit degeneratif, seperti jantung koroner dan hipertensi. Beragamnya penggunaan kedelai menjadi pemicu peningkatan konsumsi komoditas ini (Nilasari, 2012).

Pertumbuhan penduduk yang cepat dan perubahan global selama abad ke-20 telah secara dramatis meningkatkan permintaan logam yang mengarah emisi antropogenik logam berat tinggi ke dalam biosfer. Logam berat menjadi keprihatinan lingkungan ketika konsentrasinya mulai mempengaruhi kesehatan manusia dan lingkungan. Banyak teknik yang telah digunakan sebagai perlakuan terhadap tanah yang terkontaminasi logam berat, termasuk diantaranya isolasi, pemisahan mekanis, perlakuan kimiawi, elektrokinetik, pencucian tanah dan fitoremediasi. Perlakuan tersebut dilakukan karena tidak seperti molekul

organik, logam berat tidak dapat terdegradasi, tetapi hanya bisa diremediasi, oleh karena itu konsekuensinya memerlukan campur tangan oleh manusia (Ullah, 2007).

Pemasok logam berat dalam tanah pertanian antara lain bahan agrokimia (pupuk dan pestisida), pupuk organik dan buangan limbah rumah tangga. Selain itu sumber logam berat dalam tanah berasal dari bahan induk pembentuk tanah itu sendiri, seperti Cd banyak terdapat pada batuan sedimen schales (0,22 ppm), Pb pada batuan granit (24 ppm) dan Hg pada batuan sedimen pasir (0,29 ppm) (Charlena 2004). Proses alami (pelapukan batuan beku, aktivitas vulkanik, peluruhan radioaktif) terus melepaskan sejumlah kecil logam berat ke lingkungan, namun aktivitas antropogenik telah meningkatkan ketersediaan global dan distribusi logam berat terutama selama abad ke-20 (Ullah, 2007).

Sumber utama logam berat pada tanaman adalah media pertumbuhan, sebagai larutan hara dan tanah. Sejauh mana tanaman menyerap logam, tergantung pada logam berat yang terdapat dalam tanah (Ansari dkk., 2009). Logam berat yang ada di lingkungan tanah, air dan udara dengan suatu mekanisme dapat masuk ke dalam makhluk hidup. Tanaman yang menjadi mediator penyebaran logam berat pada makhluk hidup, menyerap

logam berat melalui akar dan daun (stomata). Pemanfaatan bagian tanaman sebagai bahan pangan bagi manusia dan pakan hewan menyebabkan berpindahya logam berat yang dikandung oleh tanaman seperti timbal (Pb) dan cadmium (Cd) ke dalam tubuh makhluk hidup lainnya. Logam berat dalam tubuh apabila jumlahnya berlebih, maka akan berbahaya bagi tubuh (Ullah, 2007).

Kontaminasi pada rantai makanan merupakan salah satu jalur penting masuknya logam berat yang berlebihan dan masuk ke dalam tubuh manusia. Konsumsi tanaman yang diproduksi di lahan pertanian yang terkontaminasi merupakan faktor utama yang berkontribusi pada paparan logam berat pada manusia (Masarovi ová dan Krá ová, 2012). Peningkatan afinitas logam berat yang terlibat dalam penyerapan, translokasi akar ke tunas dan ciri-ciri pemerangkapan logam berat pada tanaman hyperaccumulator. Tanah yang kaya logam berat oleh tanaman yang hyperakumulator logam tersebut disimpan dalam organ-organ di atas tanah (Rascioa dan Navari-Izzob, 2011).

Asam organik yang memiliki gugus fungsional -COOH , -OH phenolat maupun -OH alkoholit, mempunyai peluang untuk membentuk kompleks dengan ion logam (Ariyanto, 2006). Khelasi menggunakan asam organik akan

meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi pengkhat. Tingginya konsentrasi materi organik larut air mampu menarik ion logam kembali ke air dan membentuk kompleks (Setiawan, 2008). Asam sitrat sebagai chelating agent memiliki tiga gugus karboksilat -COOH yang dapat melepas proton (H^+) dalam larutan. Keasaman asam sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksilat -COOH yang dapat melepas proton (H^+) dalam larutan. Umumnya gugus -COOH terdisosiasi pada pH sekitar 4-5, sedangkan gugus -OH fenolat atau -OH alkoholat terdisosiasi pada pH sekitar 8 – 10. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa pada pH yang relatif tinggi akan meningkatkan konsentrasi -COO^- yang dapat berfungsi sebagai ligan (Herjuna, 2011).

Secara alami tanaman sudah mempunyai mekanisme untuk mengatasi keracunan logam, antara lain melalui akumulasi logam dalam organel sel, meningkatkan eksudasi bahan pengkelat logam, pengikatan logam pada dinding sel, pemotongan jalur transport logam dari akar ke tunas, mengubah struktur dan permeabilitas membran, mengubah proses metabolisme seluler, memproduksi senyawa pemisah logam intraseluler, mengaktifkan pompa ion logam ke dalam vakuola, dan lain-lain. Tanaman melakukan mekanisme toleransi penting

yang bersifat induktif terhadap logam berat dengan mensintesis polipeptida pengikat logam, yaitu fitokelatin (Rascioa dan Navari-Izzob, 2011).

Phytochelatin (PC) adalah oligomers dari GSH (glu-cys)_n-gly (n = 2 – 10), disintesis oleh enzim *phytochelatin synthase* (PCS) (Lin dan Aarts, 2012). Phytochelatin (PC) adalah cysteine kaya polipeptida yang struktur umumnya (Glu-Cys)_{n(2-11)}-Gly, yang memainkan peran penting dalam detoksifikasi beberapa logam berat (kadmium [Cd], tembaga [Cu], seng [Zn], merkuri [Hg], dan plumbum [Pb]) dan metalloids (arsenik [Ar]) pada fungi, tanaman, nematoda dan organisme lain. Sintesis *phytochelatin* dikatalisis oleh phytochelatin sintase (PCS) dalam reaksi bertahap di mana Glu-Cys unit dari glutathione (GSH; Glu-Cys-Gly) pertama ditambahkan ke molekul GSH itu sendiri dan kemudian memperpanjang rantai phytochelatin (Ramos dkk., 2007). Ketika Cd memasuki sel tanaman, PC mula-mula akan membentuk kompleks (Cd-PC) yang berat molekulnya rendah (LMW). Komplek (Cd-PC) ini kemudian diasingkan ke vakuola oleh *ATP binding cassette* (ABC) *transporters*. Komplek (Cd-PC) (LMW) mengikat sulfat membentuk kompleks PC-Cd-S yang berat molekulnya tinggi (HMW), yang disimpan dalam vakuola. Sementara detoksifikasi Cd oleh

phytochelatin dalam kompleks (Cd-PC) dan penyimpanan ke vakuola penting bagi kebanyakan species tanaman (Lin dan Aarts, 2012).

METODE PENELITIAN

Bahan dan alat.

Bahan yang digunakan dalam penelitian terdiri dari bahan utama dan bahan kimia untuk analisis. Bahan utama berupa biji kedelai, *chelating agent* asam sitrat, *swelling agent*, NaOH, etanol dan larutan standar Pb dan Cd. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: magnetic stirrer, erlenmeyer flaks, pH meter, oven, penangas listrik dan Atomic Absorption Spectrophotometer-flame (AAS Jena ContrAA 300).

Faktor penelitian

Faktor penelitian meliputi: *chelating agent* asam sitrat yang terdiri dari tiga taraf (0.1:1, 0.2:1 dan 0.3:1 g); waktu kontak lamanya khelasi yang terdiri dari tiga taraf (90, 120 dan 180 menit) dan kondisi biji yang terdiri dari tiga taraf (utuh, pecah dan tepung).

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini diawali dengan identifikasi kandungan *plumbum* (Pb) dan *cadmium* (Cd) pada biji kedelai dari sistem budidaya tanpa menggunakan pupuk anorganik. Tahapan berikutnya merupakan perbaikan kualitas biji kedelai, dengan cara mereduksi akumulasi Pb dan Cd yang

terdapat dalam biji kedelai menggunakan *chelating agent* (asam sitrat) melalui proses khelasi. Pada tahapan khelasi, dilakukan aktivasi gugus fungsional karboksil *chelating agent* (asam sitrat) yang disebut deprotonasi, yaitu dengan mengkondisikan lingkungan khelasi pada pH 10.

Persiapan pengujian logam berat pada biji.

Setelah biji kedelai diperlakukan perbaikan mutu melalui khelasi, sampel uji dilakukan destruksi basah dengan prosedur kerja sebagai berikut: a) sebanyak 5 gram biji kedelai dimasukkan ke dalam erlenmeyer; b) tambahkan 40 ml asam sitrat – perklorat (2:1); c) erlenmeyer diletakkan di atas penangas listrik, suhunya diatur pada suhu rendah (100 °C); setelah larutan dalam erlenmeyer mulai mendidih (asap merah akan hilang); d) pemanasan dilanjutkan sampai air dan asam nitrat hilang; e) setelah reaksi antara sampel dengan asam perklorat sempurna (dapat diidentifikasi dengan hilangnya *effervescent*), gunakan pemanas yang tinggi (170 °C) sampai jernih dan timbul asap putih. Hindari pemanasan yang membuat sampel hingga mengering, karena akan terjadi letupan; f) turunkan erlenmeyer dari penangas listrik dan biarkan dingin; g) pindahkan sampel yang telah didigesti ke dalam labu takar 25 ml dan tambahkan aquades sampai batas

tanda dan h) baca larutan dengan AAS-flame yang telah dikalibrasi sebelumnya. Preparasi dan pengukuran konsentrasi Pb dan Cd: a) pembuatan larutan baku Pb dan Cd (100µg per ml), yaitu dengan memipet 10 ml Pb atau Cd ke dalam labu ukur 100 ml; b) tepatkan dengan larutan pengencer sampai tanda tera; c) buat larutan kerja dengan mengencerkan larutan induk Pb atau Cd (100µg per ml) hingga diperoleh kadar Pb atau Cd 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 dan 3,2 µg per ml; d) ukur masing-masing larutan kerja yang telah dipersiapkan dengan panjang gelombang untuk Pb = 217 nm dan Cd = 228 nm; e) buat kurva kalibrasi untuk mendapatkan garis regresi dan f) lanjutkan dengan pengukuran sampel uji yang sudah dipersiapkan. Perhitungan konsentrasi Pb atau Cd, yaitu dengan formula sebagai berikut: $C = A \times (25\text{ml}/B)$, dimana A = konsentrasi yang didapat dari hasil pengukuran, B = berat sampel dalam gram dan C = konsentrasi Pb atau Cd (Association of Official Analytical Chemist, 2005 dan Gonzales and Herrador, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perbaikan kualitas biji kedelai melalui khelasi logam berat.

Perbaikan mutu biji kedelai yang tercemar logam berat Pb dan Cd dapat

dilakukan dengan cara mengkelat (khelasi) menggunakan *chelating agent* dalam hal ini menggunakan asam sitrat. Perbaikan kualitas biji kedelai (tinjauan *provisional tolerable daily intake*), merupakan satu diantara parameter khelasi).

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa, kandungan Pb mula-mula pada biji kedelai yang digunakan dalam penelitian ini (0,48 ppm). Batas intake Pb berdasarkan ketentuan WHO (1992, 1995) sebesar 0.05 ppm kg⁻¹ berat badan minggu⁻¹. Data hasil penelitian pada (Tabel 1) dapat diketahui bahwa, reduksi Pb tertinggi (81.44 %) pasca-khelasi dicapai pada perlakuan khelasi menggunakan *chelating agent* (0.1:1),

Tabel 1. Kedelai yang boleh dikonsumsi (tinjauan dari akumulasi Pb) berdasarkan *provisional tolerable weekly intake*(gkedelai kg⁻¹ berat badan hari⁻¹) pada khelasi dengan perlakuan *chelating agent* (C), waktu kontak(D) pada kondisi biji (E).

Perlaku	Provisional tolerable daily intake	Perlaku	Provisional tolerable daily intake	Perlaku	Provisional tolerable daily intake
C ₁	0. h	C ₂	0. h	C ₃	0. h
D ₁	56 h	D ₁	56 h	D ₁	56 b
E ₁	0. c	E ₁	0. b	E ₁	0. c
C ₁	56 d	C ₂	56 c	C ₃	23 a
D ₁	0. e	D ₁	0. h	D ₁	0. h
E ₂	27 h	E ₂	24 f	E ₂	17 e
C ₁	0. h	C ₂	0. g	C ₃	0. f
D ₁	56 b	D ₁	56 d	D ₁	56 g

waktu kontak 90 menit dengan kondisi biji utuh yang dikondisikan pada pH 10, dengan demikian kedelai yang boleh dikonsumsi manusia 0.56kg kedelai kg⁻¹ berat badan minggu⁻¹. Menurut Agustin (2008) batas intake Pb berdasarkan ketentuan ADI (*Acceptable Daily Intake*) 200 – 300 µg hari⁻¹. Kadar Pb kupang beras 1,281 mg kg⁻¹, maka kupang beras yang boleh dikonsumsi manusia yaitu 156 – 234 g hari⁻¹. Berdasarkan kemampuan jeruk nipis mereduksi Pb menjadi 0,020 mg kg⁻¹, ketentuan ADI dan kadar cemaran rata-rata Pb 1,281 mg kg⁻¹, maka kupang (jenis beras) yang boleh dikonsumsi manusia adalah 10.000 – 10.345 g hari⁻¹.

E ₃	0. c	E ₃	0. e	E ₃	0. a
C ₁	56 d	C ₂	38 f	C ₃	32 f
D ₂	0. g	D ₂	0. h	D ₂	0. g
E ₁	25 h	E ₁	30 h	E ₁	17 f
C ₁	0. b	C ₂	0. a	C ₃	0. g
D ₂	42 c	D ₂	56	D ₂	34 b
E ₂	0. b	E ₂	0.	E ₂	0.
C ₁	23 c	C ₂	56	C ₃	37
D ₂	0.	D ₂	0.	D ₂	0.
E ₃	23	E ₃	16	E ₃	21
C ₁		C ₂		C ₃	
D ₃		D ₃		D ₃	
E ₁		E ₁		E ₁	
C ₁		C ₂		C ₃	
D ₃		D ₃		D ₃	
E ₂		E ₂		E ₂	
C ₁		C ₂		C ₃	
D ₃		D ₃		D ₃	
E ₃		E ₃		E ₃	

Keterangan:

- C_{1,2,3} ----- taraf perlakuan *chelating agent* (0.1:1, 0.2:1 dan 0.3:1 b/v) asam sitrat

- $D_{1,2,3}$ ----- waktu kontak (90, 120 dan 180 menit)
- $E_{1,2,3}$ ----- pada kondisi biji (utuh, pecah dan tepung).
- Perlakuan yang diikuti dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa, kandungan Cd mula-mula pada biji kedelai yang digunakan dalam penelitian ini (0,10 ppm). Batas intake Cd berdasarkan ketentuan WHO (1992, 1995) sebesar $0.075 \text{ ppm kg}^{-1}$ berat badan minggu⁻¹, dengan demikian kedelai yang boleh dikonsumsi manusia $107,1429 \text{ g kedelai kg}^{-1}$ berat badan hari⁻¹. Data reduksi Cd tertinggi (90.50 %) terjadi pada semua perlakuan khelasi yang dikondisikan pada pH 10. Berdasarkan analisis kandungan Cd pada biji kedelai pasca-khelasi tidak terdeteksi (batas deteksi Cd = 0,01 ppm), dengan demikian kedelai yang boleh dikonsumsi manusia yaitu $7.89 \text{ kg kedelai kg}^{-1}$ berat badan minggu⁻¹. Menurut Agustini (2008), penambahan asam sitrat 26,6 % mampu menurunkan kadar Cd kupang beras menjadi $0,014 \text{ mg kg}^{-1}$. Batas intake Cd berdasarkan ketentuan ADI 25 – 60 $\mu\text{g hari}^{-1}$. Kadar Cd kupang beras $1,254 \text{ mg kg}^{-1}$, maka kupang beras yang boleh dikonsumsi manusia adalah 19,9 – 47,8 g hari^{-1} . Berdasarkan kemampuan asam sitrat mereduksi Cd menjadi $0,014 \text{ mg kg}^{-1}$, ketentuan ADI dan kadar cemaran rata-rata Cd $1,254 \text{ mg kg}^{-1}$, maka kupang beras yang boleh dikonsumsi manusia adalah 1.786 – 4.285 g hari^{-1} .

Perbaikan kualitas biji kedelai yang tercemar logam berat dapat dilakukan

dengan cara khelasi menggunakan *chelating agent* asam sitrat. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa, reduksi logam berat Pb dan Cd dipengaruhi oleh pH lingkungan khelasi. Hasil penelitian yang disajikan pada (Tabel 1) dicapai pada lingkungan khelasi dengan pH 10. Derajat keasaman (pH) mempengaruhi keaktifan gugus karboksil asam sitrat sebagai *chelating agent*, juga mempengaruhi formasi kompleks *heavy metal ion – phytochelatin* atau lebih detail mempengaruhi formasi koordinasi *mononuclear cadmium–cysteine*.

Derajat keasaman (pH) dan keaktifan gugus karboksil asam sitrat.

Menurut (Li dkk., 2010) menyatakan, gugus fungsional karboksil ($-\text{COOH}$) yang terikat pada makromolekuler (asam sitrat) akan terurai akibat adanya perubahan pH dan membentuk muatan negatif, yang menyebabkan gugus fungsional tersebut akan bersifat pseudo-penukar ion (menjadi aktif). Atom hidrogen (H) pada gugus karboksil ($-\text{COOH}$) dapat dilepaskan sebagai ion H^+ (proton) atau deprotonasi. Gugus ($-\text{COOH}$) dapat mengalami deprotonasi pada pH yang relatif tinggi menjadi ($-\text{COO}^-$), sehingga mempunyai peluang membentuk kompleks dengan ion logam yang disebut khelasi. Menurut

Ismangil dan Hanudin (2005) menyatakan bahwa, pengaruh pH terhadap pelepasan proton dapat dikaitkan dengan nilai pKa-nya. Nilai pKa asam sitrat masing-masing 3,13; 4,76 dan 6,4. Apabila pH lingkungan di atas nilai pKa-nya, maka proton dalam asam itu terlepas semua, sebaliknya apabila pH di bawah pKa-nya maka senyawa organik dalam bentuk asam dan tidak bermuatan.

Menurut Ullah (2007) asam sitrat mempunyai tiga gugus karboksil -COOH yang dapat melepas proton (H^+) dalam larutan. Ion H^+ ketiga dilepas pada pH 10 (Purwanto, 2012), dengan demikian dapat dinyatakan bahwa pada pH yang relatif tinggi akan meningkatkan konsentrasi -COO^- yang dapat berfungsi sebagai ligan (Herjuna, 2011). Di sisi lain dari deprotonasi gugus karboksil -COOH , pH lingkungan khelasi menentukan deprotonasi atau jumlah proton yang terlepas. Menurut Ismangil dan Hanudin, (2005) ion H^+ dapat dihasilkan dari disosiasi asam-asam organik yang memberikan (donor) proton (H^+). Menurut Ismangil dan Hanudin (2005); Phillips (2014) menyatakan, hidrogen adalah penarik atom lain yang memiliki satu proton dan satu elektron, cenderung untuk memberikan (e^-), memberikan muatan $a+1$ sebagai ion.

Derajat keasaman (pH) dan formasi kompleks Cd-phytochelatin.

Menurut Mendoza-Co'zatl dkk., (2011) hasil analisis dalam tanaman *hyperaccumulator Cd*, menunjukkan bahwa 60% dari Cd dalam biji dikomplekkan dengan senyawa yang mengandung thiol $[\text{X-S-Cd}]$, yaitu senyawa yang mengandung gugus fungsi yang terdiri dari atom sulfur dan atom hidrogen (-SH). Formasi kompleks Cd-PC serupa disajikan oleh Scheidegger dkk., (2012) yang menyatakan bahwa Cd dalam kompleks phytochelatin terkoordinasi oleh gugus COO^- dari ligan sistein.

Formasi koordinasi *mononuclear cadmium-cysteine*, ditentukan oleh derajat keasaman (pH). Menurut Jalilehvand dkk., (2009) menyatakan bahwa, pH mempengaruhi formasi koordinasi *mononuclear cadmium(II)-cysteine*, lebih lanjut dikatakan pada pH 7,5 formasi koordinasi *mononuclear cadmium(II)-cysteine* $[\text{Cd}(\text{HCys})(\text{Cys})]$ yang terkoordinasi gugus COO^- dari ligan sistein. Pada pH 11 formasi koordinasi *mononuclear cadmium(II)-cysteine* berada dalam kompleks $[\text{Cd}(\text{S,N-Cys})_2]^{2-}$ (CdS_2N_2).

Sulfur sebagaimana halnya dalam senyawa kompleks tersebut, diketahui bahwa dalam deret spektrokimia termasuk ligan-

ligan medan lemah yang pada posisi trans siap digantikan. Senyawa kompleks formasi *mononuclear cadmium(II)-cysteine* dengan terkoordinasi oleh ligan CysS yang mengikat Cd. Menurut Sarosa (2010) menyatakan belerang (S) memiliki sifat reduktor yang lebih lemah. (Reduksi adalah proses kimia dimana sebuah atom, ion atau melokul menerima elektron).

Indikasi Pb dan Cd secara seluler dalam kompleks phytochelatin

Komplek phytochelatin –Cd.

Tanaman melakukan mekanisme toleransi penting yang bersifat induktif terhadap logam berat dengan mensintesis polipeptida pengikat logam, yaitu phytochelatin (Rascioa dan Navari-Izzob, 2011). Tanaman legum (termasuk kedelai) menghasilkan homoglutathione (hGSH; Glu-Cys- Ala) menggantikan atau menambah ke GSH, dengan demikian dapat mensintesis homophytochelatin (hPCs) dengan struktur umum (Glu-Cys)₂₋₁₁- Ala (Ramos dkk., 2007).

Menurut Memon dkk. (2001), phytochelatin disintesis enzimatis dari glutathione (GSH) dalam merespon logam. Secara struktural terkait dengan glutathione (GSH) dan dianggap produk jalur biosintesis vakuola (Gly+Cys OGCS -Glu-Cys+GluOGS + GSHOPCS + Cd PCOPC-

CdOHMTI). Sejumlah varian struktural PCs, seperti (-Glu-Cys)_n-Ala, (-Glu-Cys)_n-Ser) dan (-Glu-Cys)_n-Glu, telah diidentifikasi dalam beberapa jenis tumbuhan. *Phytochelatin* (PCs) yang dengan cepat diinduksi secara in-vivo oleh berbagai macam ion-ion logam berat. Enzim, yang mensintesis PCs dari GSH, adalah -Glu-Cys dipeptididyl transpeptidase. Nama umum lainnya dari enzim ini adalah PC synthase. Aktivitas PC synthase adalah faktor penentu utama dari tingkat sintesis PC dan segera diaktifkan oleh adanya ion logam. Pengikatan logam oleh peptida disintesis dan dikhelat serta menonaktifkan setiap ion logam beracun yang memasuki sitosol sebelum logam tersebut dapat menonaktifkan enzim penting dalam siklus metabolisme. Berikut disajikan struktur umum phytochelatin.

Menurut Mendoza-Co'zatl dkk. (2011) Cd mendorong sintesis phytochelatin (PC) di sitosol dan kompleks PC-metal (loid) diasingkan ke dalam vakuola oleh ABCC transporters (ABCC1 dan ABCC2). *Cadmium* (Cd) juga akan diasingkan ke dalam vakuola oleh HMA3 dan proton (melalui pertukaran kation) oleh pengangkut tipe (CAX = *Cation Exchangers transporters*). Analisis dalam *hyperaccumulator Cd*, menunjukkan bahwa

60% dari Cd dalam biji dikomplekkan dengan senyawa yang mengandung thiol [X-S-Cd], yaitu senyawa yang mengandung gugus fungsi yang terdiri dari atom sulfur dan atom hidrogen (-SH).

Komplek Cd-*Phytochelatin* (Cd-PC) menurut Scarano dan Morelli (2002) dalam kromatogramnya menyatakan bahwa, kompleks Cd berbeda bentuk dengan setiap oligomernya, meskipun demikian memiliki berat molekul yang sesuai dengan derajat polimerisasi dari oligopeptide yang terlibat. Komplek Cd-PC5 dan Cd-PC6 yang muncul pada co-eluat dalam fraksi dari 72 sampai 75, meski kompleks Cd-PC5 mulai terelusi sebelumnya (fraksi 70 dan 71) sebagaimana ditunjukkan pada gambar 4 (Scarano dan Morelli, 2002).

Selain kompleks Cd-Phytochelatin (Cd-PC) juga terdapat kompleks Pb-*Phytochelatin* (Pb-PC) sebagaimana yang dinyatakan dua orang peneliti Scarano dan Morelli (2002) serta Scheidegger (2010)] tersebut di bawah ini. Menurut Scarano dan Morelli (2002) dalam kromatogram dinyatakan bahwa, puncak Pb dalam zona elusi dari fraksi 96 ke 103 muncul antara ujung puncak PC2 dan pada ujung puncak GSH, menunjukkan maksimal sebesar 99 ml.

Sejumlah besar Pb (sekitar 40 %) itu tidak terikat pada PC_n, namun tidak diketahui senyawa LMW, kemudian diindikasikan bahwa ion logam yang terikat untuk disintesis phytochelatins hanya sebanyak 40 % dari total Pb terlarut dalam ekstrak selular (Scarano dan Morelli, 2002).

Menurut Scheidegger (2010) dalam penelitiannya induksi phytochelatins oleh Pb pada alga menyatakan bahwa, empat puncak diamati pada *mass spectra* m/z 746.1036, 952.0641, 1285.2378 dan 1491.1962 sesuai dengan berat molekul pada muatan secara tunggal kompleks Pb-PC₂, Pb₂-PC₂, Pb-(PC₂)₂ dan Pb₂-(PC₂)₂. Pb-PC₂ dan Pb₂-PC₂ tersebut yang dideteksi pada intensitas yang cukup untuk mendeteksi keberadaan pola isotopik spesifik Pb pada kedua kompleks. Lebih lanjut dinyatakan pola isotopik (sebagaimana ditunjukkan pada gambar 6), intensitas relatif puncak yang diamati dalam rasio mencerminkan distribusi isotop Pb (204 Pb 1,5%; 206 Pb 23.6%; 207 Pb 22.6%; 208 Pb 52.3%). Pola isotopik terukur sangat cocok pola teoritis, dengan kesalahan massa 0.3 ppm. Berikut disajikan spectrum dari *mass spectra* kompleks Pb-phytochelatin (Pb-PC).

KESIMPULAN

Reduksi Pb dan Cd ditentukan oleh *chelating agent*, waktu kontak, kondisi biji, dan pH lingkungan khelasi. Berdasarkan akumulasi Pb pada biji kedelai post-khelasi dan atas dasar *provisional tolerable weekly intake*, maka kedelai yang boleh dikonsumsi manusia meningkat 5,39 kali dari pra-khelasi. Berdasarkan akumulasi Cd pada biji kedelai post-khelasi dan atas dasar *provisional tolerable daily intake*, maka kedelai yang boleh dikonsumsi manusia meningkat 10,53 kali dari pra-khelasi.

Derajat keasaman (pH) lingkungan khelasi berpengaruh terhadap keaktifan gugus fungsional karboksil asam sitrat ($-\text{COOH}$) menjadi aktif (COO^-) sebagai pseudo-penukar ion. Deprotonasi gugus fungsional karboksil asam sitrat ($-\text{COOH}$), ditandai dengan lepasnya ion H^+ yang berperan sebagai donor proton dalam proses khelasi Pb dan Cd. Ion H^+ akan menetralkan Pb dan Cd dalam kompleks phytochelatin.

DAFTAR PUSTAKA

Ansari, A, R., Kazi A, T.G., Jamali A, M.K., Arain A, M.B., Wagan B, M.D., Nusrat Jalbani C, Afridi A, H.I. dan Abdul Qadir Shah A., A.Q. (2009). Variation in accumulation of heavy metals in different varieties of sunflower seed oil with the aid of

multivariate technique. *Food Chemistry* **115**: 318–323.

Ariyanto, D, P. (2006). Ikatan antara asam organik tanah dengan logam. *Karya Ilmiah Pasca Sarjana Ilmu Tanah Universitas Gadjah Mada*.

Association of Analytical Chemist (2005). *Official methods of analysis of the association of official analytical chemist*. 17th edition Washington, D.C.

Charlena (2004). Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) dan Cadmium (Cd) Pada Sayur-Sayuran. Falsafah Sain (PSL 702), *Program Pascasarjana / S3 / Institut Pertanian Bogor*. <http://www.scribd.com/doc/>. [30 Januari 2010].

Gonzales, A.G. and Horrador, M.A. (2007). A Practical guide to analytical methods validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *Trend in Analytical Chemistry* **26**: 227-238.

Herjuna, S. (2011) Bahan Humat Sebagai Amelioran – Abu Terbang Sebagai Amelioran. repository.ipb.ac.id. [17 Maret 2012].

Ismangil dan Hanudin, E. (2005). Degradasi mineral batuan oleh asam-asam organik. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan* **5** (1): 1-17.

Jalilehvand, F., Leung, B.O. and Mah V., (2009). Cadmium(II) Complex Formation with Cysteine and Penicillamine. *Journal. Inorganic Chemistry*. **48**(13): 5758–5771.

Lahuddin, (2007). Aspek unsur mikro dalam kesuburan tanah. Pidato pengukuhan jabatan Guru Besar Tetap.

- Universitas Sumatera Utara Medan.
www2.usu.ac.id. [19 Maret 2012].
- Lin, Y.F. and Aarts, M.G.M., (2012). The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*. **69**:3187–3206.
- Li, Q., Chai, L., Wang, Q., Yang, Z., Yan, H. dan Wang Y. (2010). Fast esterifikasi of spent grain for enhanced heavy metal ions adsorption. *Bioresource Technology***101**: 3796-3799.
- Marwoto dan Y. Hilman. (2005). Teknologi kacang-kacangan dan umbi-umbian dalam Prospek dan arah Pengembangan Agribisnis Kedelai. www.litbang.deptan.go.id/special/komoditas. [25 Maret 2014].
- Masarovi ová, E. and Krá ová K., (2012). *Plant-Heavy Metal Interaction: Phytoremediation, Biofortification and Nanoparticles* Advances dalam Montanaro, G., Selected Plant Physiology Aspects. Publisher InTech
www.intechopen.com/books/advances_388p. [6 Maret 2014].
- Memon, A.R., Aktoprakligül, D., Zdemür, A. and Vertii, A., (2001). Heavy Metal Accumulation and Detoxification Mechanisms in Plants. *Turkey Journal Botanic*. **25**: 111-121.
- Mendoza-Co'atzl, D.G., Jobe, T.O., Hauser, F. dan Schroeder, J.I., (2011). Long-distance transport, vacuolar sequestration, tolerance, and transcriptional responses induced by cadmium and arsenic. *Plant Biology***14**: 554–562.
- Nilasari, W., (2012). *Kedelai* (chapter II). USU Institutional Repository-Universitas Sumatera. repository.usu.ac.id [24 Maret 2014].
- Phillips, M., (2014). *Divine Elements*. CrossBook Bloomington, 380p. Books.google.co.id [31 Maret 2014].
- Ramos, J., Clemente, M.R., Naya L., Loscos J., Pérez-Rontome C., Sato S., Tabata S & Becana, M. (2007). Phytochelatin Synthases of the Model Legume Lotus japonicus. a Small Multigene Family with Differential Response to Cadmium and Alternatively Spliced Variants 1 [OA]. *Plant Physiology***143**: 1110–1118.
- Rukmana, R. dan Yuniarsih, Y., (1996). *Kedelai Budidaya dan Pascapanen*. Kanisius-Jakarta. books.google.co.id [24 Maret 2014].
- Rascioa, N. and Navari-Izzo, F., (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*.**180** (2): 169-181.
- Sapto Priyadi, Purnama Darmaji, Umar Santoso, dan Pudji Hastuti, 2012. Profil Plumbum (Pb) dan Cadmium (Cd) sebagai Kontaminan Dampak Penggunaan Agrokimia serta Remediasi Biji Kedelai Menggunakan Swelling Agent pada Khelasi dengan Asam Sitrat. *Jurnal Natur Indonesia* 15 (1) 45-51, Lembaga Penelitian Universitas Riau.
- Sapto Priyadi, Purnama Darmaji, Umar Santoso, dan Pudji Hastuti, 2013. Khelasi Plumbum (Pb) dan Cadmium (Cd)

- Menggunakan Asam Sitrat pada Biji Kedelai. *Jurnal Agritech* 33 (4) 410-413, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- Sapto Priyadi, Purnama Darmaji, Umar Santoso, dan Pudji Hastuti, 2014. Distribusi Plumbum, Cadmium Pada Biji Kedelai dan Deprotonasi Gugus Fungsional Karboksil Asam Sitrat Dalam Khelasi. *Jurnal Agritech* 34 (4) 407-414, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- Sarosa, W.J., (2010). *Super Kimia*. Kawah Media Jakarta Selatan. Books.google.co.id. [23 Maret 2014].
- Scarano, G. and Morelli, E., (2002). Characterization of cadmium and lead phytochelatin complexes formed In a marine microalga in response to metal exposure. *Bio Metals* 15: 145–151.
- Scheidegger, C., Zusammenarbeit, Sigg, L. and Behra R., (2012). Phytochelatins and Thiol Peptides. *Eawag Aquatic Research* [13 Maret 2014].
- Setiawan, B., (2008). Peran Asam Humus Sebagai Pendesorpsi Ion Logam/Radionuklida. *Prosiding Seminar Nasional IV SDM Teknologi Nuklir Yogyakarta*. jurnal.stn-batan.ac.id/. [22 Maret 2010].
- Ullah, S. (2007). *Chemically Enhanced Phytoextraction of Lead from Contaminated Soil*. Institute of Soil and Environment Sciences University of Agriculture, Faisalabad Pakistan. www.researchgate.net [18 Februari 2012].