

## RINGKASAN

Kultur jaringan tanaman (KJT) seperti halnya tanaman induknya, ada yang mampu menyerap berbagai ion-ion logam yang ada di dalam media atau lingkungan tempat tumbuhnya, serta mengakumulasikan dalam bagian organ-organnya. Selain tanaman utuhnya, KJT juga dapat digunakan untuk eksperimen fitoremediasi.

Sementara itu penelitian tentang respon KJT terhadap ion-ion logam masih sangat beragam. Oleh karena itu dilakukan penelitian akumulasi  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  dan  $\text{Sr}^{2+}$  serta studi pertumbuhan, kandungan fitosteroid dan asam amino pada kultur *A. amaniensis*, *C. speciosus*, *S. laciniatum* dan *S. mammosum*. Untuk penentuan ion-ion logam digunakan ICP-AES, untuk penentuan fitosteroid digunakan TLC-Scanner dan GC, dan untuk penentuan asam amino digunakan Amino Acid Analyzer.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa kultur suspensi sel *Agave amaniensis* mampu tumbuh pada media yang mengandung kadar tinggi hingga:  $\text{Cu}^{2+}$  15 ppm,  $\text{Cd}^{2+}$  25 ppm dan  $\text{Pb}^{2+}$  40 ppm. Kultur kalus *Costus speciosus* mampu tumbuh pada media yang mengandung kadar tinggi hingga:  $\text{Cu}^{2+}$  20 ppm dan  $\text{Cd}^{2+}$  20 ppm. Kultur suspensi sel *Costus speciosus* mampu tumbuh pada media yang mengandung kadar tinggi hingga:  $\text{Cd}^{2+}$  20 ppm dan  $\text{Pb}^{2+}$  40 ppm. Kultur pucuk *Solanum mammosum* mampu tumbuh pada media yang mengandung  $\text{Cu}^{2+}$  hingga 40 ppm. Kultur pucuk *Solanum laciniatum* mampu tumbuh pada media yang mengandung kadar tinggi hingga:  $\text{Cd}^{2+}$  20 ppm dan  $\text{Sr}^{2+}$  200 ppm.

Berbagai konsentrasi  $\text{Cu}^{2+}$  (0-40 ppm),  $\text{Cd}^{2+}$  (0-25 ppm),  $\text{Pb}^{2+}$  (0-40 ppm) dan  $\text{Sr}^{2+}$  (0-200 ppm) berpengaruh terhadap pertumbuhan kultur maupun morfologis dan histologis kultur. Pada umumnya terjadi penurunan IP (lebih rendah dari kontrol), pada kadar yang lebih tinggi, kecuali pada  $\text{Pb}^{2+}$  10-30 ppm dapat meningkatkan IP kultur suspensi *C. speciosus* menjadi 1,8 kali dan pada  $\text{Sr}^{2+}$  25-50 ppm dapat meningkatkan IP kultur *S. laciniatum* menjadi 1,2 kali dibanding kontrol.

$\text{Cu}^{2+}$  1,25-20 ppm menyebabkan kultur suspensi sel *A. amaniensis* mempunyai permukaan yang lebih berkerut dengan dinding sel yang lebih tebal (1,3-5 kali) dibanding kontrol.  $\text{Cd}^{2+}$  20 ppm dan  $\text{Sr}^{2+}$  50-100 ppm menyebabkan rasio lebar antara sistem pembuluh dan titik pusat empulur terhadap epidermis dari batang *S. laciniatum* menjadi lebih dari 1,4 kali dibanding kontrol.

Semua kultur *A. amaniensis*, *C. speciosus*, *S. laciniatum* dan *S. mammosum*, melakukan remediasi dan mengakumulasikan  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  dan  $\text{Sr}^{2+}$ . Semua kultur tersebut bersifat hiperakumulator, karena akumulasinya di atas batas yang dianggap terjadi hiperakumulasi, yakni untuk  $\text{Cu}^{2+}$  ( $> 100 \mu\text{g.g}^{-1}$  BK),  $\text{Cd}^{2+}$  ( $> 100 \mu\text{g.g}^{-1}$  BK),  $\text{Pb}^{2+}$  ( $> 500 \mu\text{g.g}^{-1}$  BK) dan  $\text{Sr}^{2+}$  ( $> 1000 \mu\text{g.g}^{-1}$  BK),

$\text{Cu}^{2+}$  1,25 ppm meningkatkan kandungan hekogenin kultur suspensi *A. amaniensis*, mencapai 1,7 kali dibanding kontrol. Pada berbagai konsentrasi  $\text{Cd}^{2+}$  10-25 ppm dan  $\text{Pb}^{2+}$  10-40 ppm, menyebabkan kandungan hekogenin kultur *A. amaniensis* menurun menjadi 0,5-0,2 kali dibanding kontrol.  $\text{Cu}^{2+}$  5-30 ppm menyebabkan kandungan sterol bebas *S. mammosum* menurun menjadi 0,7 – 0,2 kali dibanding kontrol dan terbentuk metabolit dengan Rf kromatogramnya identik

solasodina.  $Cd^{2+}$  10 ppm dan  $Sr^{2+}$  50-100 ppm meningkatkan kandungan solasodin 3,3 dan 1,6 kali pada kultur pucuk *S. laciniatum*.

$Cu^{2+}$  5-10 ppm menyebabkan terjadinya peningkatan kadar asam amino Pro, Asp, Ser, Glu, Gly, Ala, Val, Ile, Hylys dan Lys di dalam medianya rata-rata lebih dari 2 kali dibanding kontrol dan pada  $Cu^{2+}$  10 ppm terjadi peningkatan Pro di dalam biomassa kultur suspensi *Agave amaniensis* menjadi 1,8 kali dibanding kontrol.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang fitokhelatin, pengaruh  $Pb^{2+}$  pada kultur suspensi *Costus speciosus* dan lainnya agar diperoleh informasi yang lebih lengkap mengenai mekanisme yang dapat meningkatkan indeks pertumbuhan dan kandungan sitosterol. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh  $Cu^{2+}$  pada pembentukan metabolit kultur pucuk *S. mammosum*, senyawa yang mempunyai Rf kromatogram identik dengan solasodina. Perlu dilakukan regenerasi tanaman *Agave amaniensis*, *Costus speciosus*, *Solanum laciniatum*, *Solanum mammosum* dan diuji di lapang untuk kemungkinan penerapan fitoremediasi atau aplikasi bioteknologi lingkungan di masa mendatang.



## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the accumulation of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Sr}^{2+}$  and the determination of the growth, phytosteroid and amino acid content of the cultures of *Agave amaniensis*, *Costus speciosus*, *Solanum laciniatum* and *Solanum mammosum*. Metal ions, phytosteroids, and amino acids content were determined by using ICP-AES, TLC-Scanner and GC, and Amino Acid Analyzer, respectively.

Cell suspension cultures of *Agave amaniensis* were able to grow in media containing  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  up to 15 ppm, 25 ppm and 40 ppm, respectively; cell suspension cultures of *Costus speciosus* at  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  up to 20 ppm and 40 ppm, respectively; callus cultures of *Costus speciosus* at  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  up to 20 ppm each; shoot cultures of *Solanum mammosum* at  $\text{Cu}^{2+}$  up to 40 ppm and shoot cultures of *Solanum laciniatum* at  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Sr}^{2+}$  up to 20 ppm and 200 ppm, respectively.

Increasing  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Sr}^{2+}$  up to 20 ppm, 25 ppm, 40 ppm and 200 ppm respectively, caused a decrease in growth index of the cultures, except  $\text{Pb}^{2+}$  10-30 ppm increased the growth index of *Costus speciosus* by up to 1.8 fold and  $\text{Sr}^{2+}$  25-50 ppm increased the growth index of *Solanum laciniatum* by up to 1.2 fold compared to control cultures.

The presence of  $\text{Cu}^{2+}$  1.25-20 ppm caused the cell walls to thicken 1.3-5 fold than control cultures and to be more wrinkled. The ratios of the width between the vascular system and central point of the pith to that of the epidermis of the stem of *Solanum laciniatum* treated with  $\text{Cd}^{2+}$  20 ppm and  $\text{Sr}^{2+}$  50-100 ppm were 1.4 times bigger compared to those cultures cultivated on the medium without  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Sr}^{2+}$ .

The cultures of *Agave amaniensis*, *Costus speciosus*, *Solanum laciniatum* and *Solanum mammosum* could accumulated  $\text{Cu}^{2+}$  ( $> 100 \mu\text{g.g}^{-1}$  DW),  $\text{Cd}^{2+}$  ( $> 100 \mu\text{g.g}^{-1}$  DW),  $\text{Pb}^{2+}$  ( $> 500 \mu\text{g.g}^{-1}$  DW) and  $\text{Sr}^{2+}$  ( $> 1000 \mu\text{g.g}^{-1}$  DW), hence these cultures acted as hyper-accumulators for those metals ion.

In the media containing  $\text{Cu}^{2+}$  1.25 ppm, the hecogenin content in the biomass of the cultures of *A. amaniensis* increased up to 1.7 fold than its control. At  $\text{Cd}^{2+}$  10-25 ppm and  $\text{Pb}^{2+}$  10-40 ppm, the hecogenin content decreased up to 0.5-0.2 fold than its control. In the media containing  $\text{Cu}^{2+}$  5-30 ppm, the free sterols content in the biomass of the cultures of *S. mammosum* decreased up to 0.7-0.2 fold than its control, and its cultures produced metabolite that its chromatogram identically with solasodine. In the media containing  $\text{Cd}^{2+}$  10 ppm and  $\text{Sr}^{2+}$  50-100 ppm, the solasodine content in the biomass of the cultures of *S. laciniatum* increased up to 3.3 and 1.6 fold than its control.

In the media containing  $\text{Cu}^{2+}$  5-10 ppm, certain amino acids including Pro, Asp, Ser, Glu, Gly, Ala, Val, Ile, Hylys and Lys were released in high concentration into the media, 2 fold more than its control; and Pro in the biomass increased 1.8 fold at  $\text{Cu}^{2+}$  10 ppm.

**Key words :** *Agave amaniensis*, amino acids, cadmium, copper, *Costus speciosus*, hyper-accumulation, lead, phytosteroids, *Solanum laciniatum*, *Solanum mammosum*, strontium.