

RINGKASAN

MEKANISME BIOREMEDIASI LOGAM BERAT TEMBAGA PADA KULTUR JARINGAN TANAMAN *AGAVE AMANIENSIS* (Sugijanto, Gunawan Indrayanto, Noor Cholies Zaini, 1999, 49 halaman).

Kultur kalus *Agave amaniensis* mampu tumbuh di dalam media yang mengandung ion kobalt dan ion tembaga hingga 15 ppm $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, tetapi belum diketahui kemampuan serta mekanisme bioremediasi yang terjadi.

Penelitian ini bertujuan untuk meneliti kemampuan kultur suspensi *Agave amaniensis* melakukan bioremediasi dan mekanisme bioremediasi logam berat tembaga, dikaitkan dengan penyerapan/akumulasi tembaga di dalam sel, perubahan morfologis biomassa sel, metabolit sekunder hekogenin dan profil asam aminonya yang terjadi.

Untuk perlakuan digunakan media MS yang dimodifikasi dengan penambahan kinetin 5mg/l, 2,4 D 0,5 mg/l, sukrosa 3 % dan KH_2PO_4 340 mg/l (media S), ditambah berbagai macam kadar ion Cu^{2+} mulai 0 s.d. 30 ppm, sebanyak 7 kelompok yakni : 0, 0,006 (media normal/orisinal), 5, 10, 15, 20 dan 30, masing-masing 10 kali ulangan. Tiap kelompok dikultivasi selama satu minggu dan setelah panen diamati berbagai karakter pertumbuhannya, meliputi indeks pertumbuhan (IP), PCV (packet cell volume), pH, daya hantar listrik (DHL), dan kadar gula sisa media.

Kemampuan bioremediasi ditentukan berdasarkan penyerapan ion-ion tembaga ke dalam kultur suspensi, dengan menganalisis sisa ion tembaga dalam media maupun kadar tembaga di dalam biomasanya. Sampel sisa media atau biomassa didestruksi basah dengan asam nitrat (Hugdahl, 1993 dan Chen,1993) dan larutan jernih hasil destruksi ditetapkan kadarnya dengan alat ICP-AES Plasma vision 10, pada λ_{maks} 324,754 nm. Sebelum analisis sampel dilakukan terlebih dahulu validasi metode, meliputi uji linieritas, penentuan LOD, LOQ, akurasi dan presisi.

Perubahan morfologis diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Analisis hekogenin digunakan prosedur modifikasi Indrayanto (1993), dengan pembanding baku hekogenin (Sigma). Fraksi hidrolisat kloroform dari serbuk biomassa kering *Agave amaniensis* dieluasi pada lempeng kiesel gel 60 F₂₅₄ dengan fase gerak kloroform : etil asetat = 4:1 (eluasi sekali) dan kloroform : etil asetat = 1 : 5 (eluasi dua kali), diperoleh

Rf kromatogram = 0,75; kalau eluasi sekali dengan kloroform : etil asetat = 4 : 1 , harga Rf = 0,31. Noda KLT yang terjadi diamati dan diukur spektra reflektansi absorbansinya dengan TLC Scanner Shimadzu CS 930 pada λ_{maks} 430 nm. Kandungan asam amino dalam biomassa dianalisis menggunakan Prosedur Hitachi Scientific Instrument Technical Data Sheet (1986) dengan alat Amino Acid Analyzer Hitachi Model 835-50.

Perlakuan tanpa tembaga atau dengan penambahan tembaga 5 s.d. 30 ppm menyebabkan penurunan IP maupun PCV. PCV terendah terjadi pada penambahan tembaga 30 ppm. Kultur suspensi *Agave amaniensis* mampu melakukan bioremediasi tembaga dalam media perlakuan hingga kadar 30 ppm Cu. Kemampuan bioremediasinya rata-rata berkisar 62,91 – 82,64 %. Secara mikroskopis, dari hasil pewarnaan Giemsa menunjukkan bahwa sel-sel yang mendapat perlakuan Cu berwarna biru pucat dibanding sel-sel normalnya. Hal ini menunjukkan adanya mekanisme yang berpengaruh terhadap membran sel/membran plasma. Perlakuan tanpa ion Cu^{2+} maupun dengan penambahan ion Cu^{2+} menunjukkan penurunan kadar hekogenin. Semakin besar ion Cu^{2+} yang ditambahkan, semakin sedikit hekogenin yang terbentuk. Dari hasil analisis terdapat 19 macam asam amino di dalam profil semua biomassa kultur suspensi *Agave amaniensis*. Pada beberapa perlakuan Cu 15-30 ppm, menunjukkan adanya peningkatan kadar beberapa asam amino, misalnya Glu, Gly, Ser, Asp, yang mungkin berfungsi untuk mengantisipasi stress, membentuk senyawa metallothionein.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kultur suspensi *Agave amaniensis* mampu melakukan bioremediasi ion tembaga 62,91 – 82,64 %. Mekanisme bioremediasinya terkait erat dengan membran plasma, akumulasi dalam biomassa, menyebabkan terjadinya hambatan biosintesis hekogenin di dalam kultur suspensi *Agave amaniensis* dan peningkatan beberapa asam amino.

Berdasarkan hasil penelitian, disampaikan beberapa saran yaitu perlu dilakukan pengamatan dengan elektron mikroskop untuk meneliti perubahan-perubahan organel sel maupun kemungkinan adanya Cu di dalam sel; analisis berbagai sterol maupun senyawa fitosteroid lain dan senyawa fitokhelatin yang mungkin terjadi dan perlu dilakukan analisis asam-asam amino/protein yang dilepaskan ke dalam media perlakuan.

(Jurusan Biologi Farmasi dan Jurusan Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya. Kontrak nomor : 17C/PPIP/DPPM/V/1998), tgl. 2 Mei 1998.