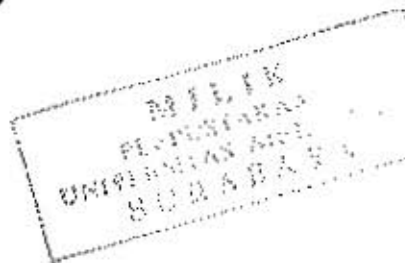


TESIS

**PENGARUH ION Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}
TERHADAP PERTUMBUHAN KULTUR PUCUK
SOLANUM LACINIATUM AIT.
DAN KANDUNGAN FITOSTEROIDNYA**



Oleh :

SULISTYOWATI

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

1999

**PENGARUH ION Hg²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺
TERHADAP PERTUMBUHAN KULTUR PUCUK
SOLANUM LACINIATUM AIT.
DAN KANDUNGAN FITOSTEROIDNYA**

TESIS

**Untuk Memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Farmasi
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

Oleh :

**SULISTYOWATI
NIM. 099612295-M**

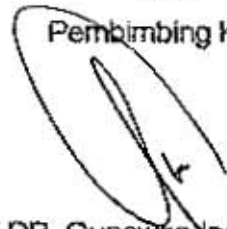
**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 30 9 -1999

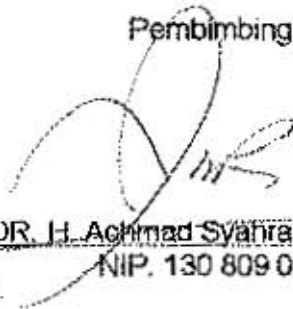
Oleh

Pembimbing Ketua



Prof. DR. Gunawan Indrayanto, Apt
NIP. 130 541 814

Pembimbing



DR. H. Achmad Syahrani, Apt. MS
NIP. 130 809 077

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Farmasi

Program Pascasarjana Universitas Airlangga



DR. Mimi Soeratri, DEA, Apt.
ILMU NIP. 130 611 501

Telah diuji pada

Tanggal September 1999

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. DR. Sutarjadi, Apt

Anggota : 1. Prof. DR. Gunawan Indrayanto, Apt

2. DR. H. Achmad Syahrani, MS.

3. DR. Wahjo Djalmiko, Apt.

4. DR. Noor Ifansyah, Apt.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-lama saya panjatkan puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Pengasih atas segala berkat dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia c.q. Menteri Pendidikan dan Kebudayaan melalui Team Managemen Program Doctor yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas PGRI Adibuana Surabaya dan Dekan FMIPA Universitas PGRI Adibuana yang telah memberi ijin kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.

Almamater Universitas Airlangga khususnya Fakultas Farmasi dan Program Pascasarjana yang telah memberikan kesempatan, bantuan serta fasilitas kepada saya selama mengikuti pendidikan program Magister.

Jurusan Biologi Farmasi khususnya Laboratorium Bioteknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang selalu menyediakan fasilitas selama mengikuti pendidikan program Magister.

Terima kasih tak terhingga saya ucapkan kepada Prof.DR. Gunawan Indrayanto, Apt. selaku pembimbing utama dan DR. H Achmad Syahrani, Apt, MS. Selaku pembimbing yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan,

bimbingan, saran dan nasehat selama saya mengikuti pendidikan hingga terselesaikannya tesis ini.

Kepala Laboratorium Dasar Bersama (LDB) Universitas Airlangga beserta staf yang telah memberikan bantuan dan fasilitas selama mengikuti program pendidikan .

Kepala Laboratorium Instrumen Fakultas Farmasi Universitas Airlangga beserta staf yang telah memberikan bantuan dan fasilitas, khususnya alat densitometer.

Dra. Wahyu Utami, MS, Drs. Soegiyanto, MS dan Drs. Robby Sondakh, MS serta teman-teman S-1 dan S-2 yang bersama-sama saya bekerja di laboratorium Bioteknologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bantuan dan kerja sama yang terjalin selama saya melakukan penelitian.

Suami dan anak-anakku tercinta yang senantiasa dengan tulus dan penuh kesabaran memberikan bantuan berupa dorongan moril maupun materil serta doa selama saya mengikuti program Magister.

Akhirnya, terima kasih juga saya sampaikan kepada semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu yang telah membantu saya dalam menyelesaikan tesis ini .

Semoga Tuhan senantiasa memberikan berkat dan balasan yang melimpah .

Surabaya, Agustus 1999

RINGKASAN

Kata kunci : *Solanum laciniatum* Ait (kode SL-7 dan SL-11), kultur pucuk, indeks pertumbuhan, solasodina, sitosterol, ion logam Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}

Logam berat merupakan salah satu faktor eksternal yang dapat mempengaruhi biosintesis metabolit sekunder. Pada penelitian ini digunakan ion logam Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , sebagai elisitor abiotik dan bertujuan untuk mengetahui faktor eksternal yang berpengaruh terhadap indeks pertumbuhan (IP) dan kandungan fitosteroid pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7 dan SL-11). Kultur pucuk ditanam pada media Murashige dan Skoog yang dimodifikasi dengan penambahan benzyladenin 4 mg/liter dengan perlakuan ion logam Hg^{2+} (0-50 ppm), Cd^{2+} (0-25 ppm), Pb^{2+} (0-40 ppm) pada SL-7.

Perlakuan yang sama juga dilakukan pada SL-11 dan media normal sebagai kontrol. Perlakuan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan ion logam sebagai variabel bebas dan variabel tergantug adalah indeks pertumbuhan (IP) dan kadar fitosteroid (solasodina dan sitosterol), pengukuran kadar solasodina dengan TLC_Scanner dan pengukuran kadar sitosterol dengan Gas Chromatograph.

Hasil penelitian menunjukkan indeks pertumbuhan tertinggi diperoleh pada media kontrol. Bertambahnya konsentrasi ion logam Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , menurunkan indeks pertumbuhannya.

Pemberian ion Hg^{2+} , Cd^{2+} dan Pb^{2+} berpengaruh pada kadar solasodina dan sitosterol pada kultur pucuk SL-7, serta berpengaruh pula terhadap kadar solasodina pada kultur pucuk SL-11, sedangkan pemberian ion Hg^{2+} pada SL-11 berpengaruh

pada kadar sitosterol, pemberian Cd^{2+} dan Pb^{2+} tidak mempengaruhi kadar sitosterol.

Jika dibandingkan dengan normal/kontrol, kadar solasodina meningkat dan tertinggi pada SL-7 dengan perlakuan Cd^{2+} 10 ppm (231.4%) = 2364.61 $\mu\text{g/gBK}$ dan kadar sitosterol meningkat dan tertinggi pada SL-7 dengan perlakuan Pb^{2+} 40 ppm (meningkat 186.5% = 939.59 $\mu\text{g/gBK}$). Pada irisan melintang batang perlakuan tampak ada pengembangan sistem pembuluh dan bintik-bintik tebal pada ruang antar sel.

ABSTRACT

Key words : *Solanum laciniatum* Ait (code of SL-7 and SL-11), Shoot culture, Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} ion; Growth Index; Solasodine, Sitosterol

Heavy metal is one of external factors that influence biosynthesis of secondary metabolites. In this study Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} ions were used as abiotic elicitor. The aim of this study was to investigate external factors influencing the growth index (GI) and the contents of phyto steroid of shoot culture of *Solanum laciniatum* Ait (SL-7 and SL-11). The culture was planted in the Murashige and Skoog media added by 4 ppm benzyladenin and Hg^{2+} ion from 0 to 50 ppm, Cd^{2+} ion from 0 to 25 ppm and Pb^{2+} ion from 0 to 40 ppm. The treatments were set on randomized complete design where metal ions were the independent variable and the growth index as well as the content of solasodine and sitosterol were as dependent variables. The concentration of solasodine was determined by TLC-scanner and sitosterol content was determined by Gas Chromatograph.

Result of this study show that the highest growth index was observed in the control treatment. Increasing concentration of Hg^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} reduce the growth index. Heavy metal ion of Hg^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} affected the content of solasodine and sitosterol the shoot culture of SL-7, while on SL-11 only solasodine content was affected. On SL-11 only Hg^{2+} ion sitosterol content while Cd^{2+} and Pb^{2+} ion did not. The highest solasodine concentration was 2364.61 $\mu g/g$ DW found on SL-7 as the affected of Cd^{2+} ion addition 10 ppm and the lowest one is 290.74 $\mu g/g$ DW as the

affected of Pb^{2+} addition at 20 ppm. The highest content of sitosterol was 939.59 $\mu g/g$ DW found on the addition of 40 ppm Pb^{2+} and the lowest on is 183.68 $\mu g/g$ DW caused by Cd^{2+} ion application at 15 ppm. A transport system enlargement and thick nodes in the area between cells were noticed on the microscopic observation of cross-sectioned of shoot.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
UCAPAN TERIMA KASIH	iii
RINGKASAN	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tinjauan Tentang <i>Solanum laciniatum</i> Ait	5
2.2. Tinjauan Tentang Kultur Jaringan Tanaman	
2.2.1. Tinjauan Umum	6
2.2.2. Media Kultur Jaringan Tanaman	7
2.3. Tinjauan Tentang Produksi Metabolit Sekunder pada Tanaman	8
2.4. Tinjauan Tentang Steroid	9

2.5. Tinjauan Tentang Solasodina	10
2.6. Tinjauan Tentang Elisitor	11
2.7. Tinjauan Tentang Logam Berat	11
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1. Kerangka Konseptual	13
3.2. Hipotesis Penelitian	14
BAB IV. METODE PENELITIAN	
4.1. Bahan dan Alat	
4.1.1. Bahan Tumbuhan	15
4.1.2. Bahan Kimia	15
4.1.3. Alat Penelitian	15
4.2. Metode Penelitian	
4.2.1. Penyiapan Kultur Pucuk	15
4.2.2. Perlakuan Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait	15
4.2.3. Ekstraksi Serbuk Kering Kultur Pucuk	16
4.2.4. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif	16
4.3. Cara Kerja	
4.3.1. Penyiapan Kultur Pucuk	
4.3.1.1. Pembuatan Media Kultur	17
4.3.1.2. Perbanyakkan Kultur Pucuk	17
4.3.2. Perlakuan Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7 dan SL-11)	
4.3.2.1. Pembuatan Media Perlakuan	18

4.3.2.2. Penanaman Kultur Pucuk pada Media Periakuan ..	18
4.3.2.3. Pemanenan Kultur Pucuk	19
4.3.2.4. Pengamatan Parameter Pertumbuhan	19
4.3.2.5. Pengeringan dan Penetapan Susut Kering	19
4.3.2.6. Ekstraksi	20
4.4. Analisis Solasodina dan Sitosterol	
4.4.1. Analisis dengan KLT	20
4.4.2. Analisis dengan Kromatografi Gas	21
BAB V. HASIL PENELITIAN	
5.1. Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7 dan SL-11)	24
5.2. Parameter Pertumbuhan Kultur Pucuk	
<i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7)	25
5.3. Kandungan Solasodina dan Sitosterol pada Kultur Pucuk	
<i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7)	29
5.4. Parameter Pertumbuhan Kultur Pucuk	
<i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11)	33
5.5. Kandungan Solasodina dan Sitosterol pada Kultur Pucuk	
<i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11)	37
5.6. Hasil Uji Regresi	41
5.7. Pengamatan Mikroskopis	46
BAB VI. PEMBAHASAN	
6.1. <i>Solanum laciniatum</i> (SL-7)	52
6.2. <i>Solanum laciniatum</i> (SL-11)	56

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan	61
7.2. Saran	62
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Konsentrasi ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}	18
Tabel 2. pH, Konduktivitas dan % Brix pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait. (SL-7) umur 4 minggu pada Berbagai Perlakuan.....	25
Tabel 3. Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina, Kadar Sitosterof pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) umur 4 minggu pada Berbagai Perlakuan.....	29
Tabel 4. pH, Konduktivitas dan % Brix pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) umur 4 minggu pada Berbagai Perlakuan.....	33
Tabel 5. Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina, Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) umur 4 minggu pada Berbagai Perlakuan.....	37
Tabel 6. Hasil Uji Regresi Korelasi antara Konsentrasi Ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , dan Pb^{2+} dengan Indeks Pertumbuhan pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7).....	41
Tabel 7. Hasil Uji Regresi Korelasi antara Konsentrasi Ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , dan Pb^{2+} dengan Indeks Pertumbuhan Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL11).....	41
Tabel 8. Hasil Uji Regresi Korelasi antara Konsentrasi Ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , dan Pb^{2+} dengan Kadar Solasodina	

pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7).....	42
Tabel 9. Hasil Uji Regresi Korelasi antara Konsentrasi Ion Hg ²⁺ , Cd ²⁺ , dan Pb ²⁺ dengan Kadar Solasodina Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL11).....	42
Tabel 10. Hasil Uji Regresi Korelasi antara Konsentrasi Ion Hg ²⁺ , Cd ²⁺ , dan Pb ²⁺ dengan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7).....	43
Tabel 11. Hasil Uji Regresi Korelasi antara Konsentrasi Ion Hg ²⁺ , Cd ²⁺ , dan Pb ²⁺ dengan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11).....	43
Tabel 12. Prosentase Penurunan IP rata-rata pada <i>Solanum laciniatum</i> (SL-7) dan <i>Solanum laciniatum</i> (SL-11).....	44
Tabel 13. Prosentase Penurunan / kenaikan Solasodina pada kultur pucuk <i>Solanum laciniatum</i> (SL-7) dan <i>Solanum laciniatum</i> (SL-11).....	44
Tabel 14. Prosentase Penurunan / kenaikan Sitosterol pada kultur pucuk <i>Solanum laciniatum</i> (SL-7) dan <i>Solanum laciniatum</i> (SL-11).....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Inti Siktopentanoperhidrofenantren	9
Gambar 2. Struktur Solasodina	10
Gambar 3. Kerangka Konseptual	14
Gambar 4. Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7 dan SL-11)	24
Gambar 5. Histogram rata-rata pH, % Brix dan Konduktivitas pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Hg^{2+}	26
Gambar 6. Histogram rata-rata pH, % Brix dan Konduktivitas pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Cd^{2+}	27
Gambar 7. Histogram rata-rata pH, % Brix dan Konduktivitas pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Pb^{2+}	28
Gambar 8. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Hg^{2+}	30
Gambar 9. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Cd^{2+}	31
Gambar 10. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Pb^{2+}	32

Gambar 11. Histogram rata-rata pH, % Brix dan Konduktivitas pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Hg^{2+}	34
Gambar 12. Histogram rata-rata pH, % Brix dan Konduktivitas pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Cd^{2+}	35
Gambar 13. Histogram rata-rata pH, % Brix dan Konduktivitas pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Pb^{2+}	36
Gambar 14. Histogram rata-rata indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Hg^{2+}	38
Gambar 15. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Cd^{2+}	39
Gambar 16. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Pb^{2+}	40
Gambar 17. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) Normal dengan Pembesaran 20 kali	46
Gambar 18. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) Cd^{2+} 20 ppm dengan Pembesaran 20 kali	47

Gambar 19. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) Hg ²⁺ 50 ppm dengan Pembesaran 20 kali	47
Gambar 20. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) Pb ²⁺ 40 ppm dengan Pembesaran 20 kali	48
Gambar 21. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) Normal dengan Pembesaran 20 kali	48
Gambar 22. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) Cd ²⁺ 5 ppm dengan Pembesaran 20 kali	49
Gambar 23. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) Hg ²⁺ 50 ppm dengan Pembesaran 33 kali	49
Gambar 24. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) Pb ²⁺ 40 ppm dengan Pembesaran 33 kali	50
Gambar 25. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) Hg ²⁺ 50 ppm dengan Pembesaran 20 kali	50
Gambar 26. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) Pb ²⁺ 40 ppm dengan Pembesaran 20 kali	51
Gambar 27. Irisan melintang Batang <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) Cd ²⁺ 20 ppm dengan Pembesaran 20 kali	51

DAFTAR LAMPIRAN

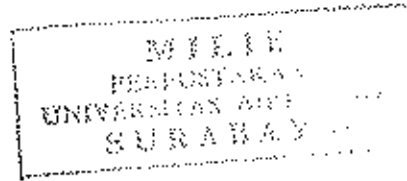
Lampiran 1. Komposisi Media Murashige dan Skoog	67
Lampiran 2. Komposisi Media <i>Solanum laciniatum</i> Ait	68
Lampiran 3. Skema Pembuatan Media BA ₄	69
Lampiran 4. Skema Ekstraksi Fitosteroid	70
Lampiran 5. Skema Biosintesis Steroid dalam Tanaman	71
Lampiran 6. Hasil Analisis Data Regresi Ion Hg ²⁺ dan Cd ²⁺ terhadap Kandungan Solasodina Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7).....	72
Lampiran 7. Hasil Analisis Data Regresi Ion Pb ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) dan Hg ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) terhadap Kandungan Solasodina	73
Lampiran 8. Hasil Analisis Data Regresi Ion Cd ²⁺ dan Pb ²⁺ terhadap Kandungan Solasodina Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11).....	74
Lampiran 9. Hasil Analisis Data Regresi Ion Hg ²⁺ dan Cd ²⁺ terhadap Kandungan Sterol Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7).....	75
Lampiran 10. Hasil Analisis Data Regresi Ion Pb ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) dan Hg ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) terhadap Kandungan Sterol	76
Lampiran 11. Hasil Analisis Data Regresi Ion Cd ²⁺ dan Pb ²⁺ terhadap	

Kandungan Sterol Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11).....	77
Lampiran 12. Hasil Analisis Data Regresi Ion Hg ²⁺ dan Cd ²⁺ terhadap Indeks Pertumbuhan Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7).....	78
Lampiran 13. Hasil Analisis Data Regresi Ion Pb ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7) dan Hg ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) terhadap Indeks Pertumbuhan.....	79
Lampiran 14. Hasil Analisis Data Regresi Ion Cd ²⁺ dan Pb ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11) terhadap Indeks Pertumbuhan.....	80
Lampiran 15. Hasil Anava pH, Konduktivitas, % Brix dan Indeks Pertumbuhan Akibat Pemberian Berbagai Konsentrasi Hg ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7).....	81
Lampiran 16. Hasil Anava pH, Konduktivitas, % Brix dan Indeks Pertumbuhan Akibat Pemberian Berbagai Konsentrasi Hg ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11).....	82
Lampiran 17. Hasil Anava Solasodina dan Sitosterol Akibat Pemberian Berbagai Konsentrasi Hg ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-7)	83
Lampiran 18. Hasil Anava Solasodina dan Sitosterol Akibat Pemberian Berbagai Konsentrasi Hg ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ Pada Kultur Pucuk <i>Solanum laciniatum</i> Ait (SL-11)	84
Lampiran 19. Hasil Perhitungan Validasi Metode Analisis	85

Lampiran 20. Skema penyajian sampel untuk analisis dengan metode kromatografi gas	86
Lampiran 21. Contoh densitogram fraksi hidrolisat kloroform perlakuan Hg^{2+} 10 ppm serbuk kultur pucuk <i>Solanum laciniatum</i> (SL-11)	87
Lampiran 22. Contoh profil kromatogram dari kultur pucuk <i>Solanum laciniatum</i>	88
Lampiran 23. Hasil identifikasi kandungan sterol fraksi kloroform dari kultur pucuk SL-7 dan SL-11 yang ditanam dalam media dengan berbagai konsentrasi ion Hg^{2+} , Cd^{2+} dan Pb^{2+}	89
Lampiran 24. Hasil uji regresi korelasi antara sterol dengan solasodina pada Kultur pucuk SL-7 dan SL-11	90
Lampiran 25. Pengamatan Mikroskopis	91

BAB I

PENDAHULUAN



1.1. Latar Belakang Masalah

Dewasa ini penggunaan obat-obat golongan steroid makin meningkat, karena itu dibutuhkan persediaan bahan dasar steroid yang memadai.

Pemanfaatan metabolit sekunder tanaman sebagai bahan dasar pembuatan obat meningkat, karena pada umumnya senyawa bahan hayati tidak ada atau ringan efek sampingnya dibandingkan dengan senyawa sintetik (1).

Bahan baku steroid yang banyak dipakai seperti solasodina, diosgenin, hekogenin stigmasterol umumnya berasal dari tanaman yaitu fitosteroid (1). Sebagai suatu metabolit sekunder, fitosteroid diproduksi oleh tanaman dengan kadar relatif kecil dan keberadaannya dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain jenis tanaman, kesuburan tanah, iklim, letak geografis dan sebagainya. Hal tersebut merupakan faktor-faktor yang harus dihadapi apabila dalam memperolehnya digunakan kultivasi tanaman secara konvensional. Dalam penyediaan metabolit sekunder secara bioteknologi sel tanaman menggunakan sistem kultur jaringan tanaman dianggap sangat menguntungkan dibandingkan dengan kultivasi secara konvensional. Metode kultur jaringan tanaman mempunyai beberapa keuntungan antara lain kondisi dapat dikendalikan, yaitu dengan pengaturan dan optimalisasi faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pembentukan metabolit sekunder, sehingga dihasilkan produk yang seperti dikehendaki.

Terdapat beberapa laporan tentang pemanfaatan ion logam untuk menginduksi atau mempercepat produksi bahan-bahan farmasi dalam sistem kultur suspensi sel.

Dilaporkan bahwa kandungan sapogenin steroid pada kalus *Agave amaniensis* terstimulasi dengan pemberian ion Cu^{2+} , Co^{2+} dan Mg^{2+} dalam jumlah relatif besar (2).

Dilaporkan bahwa ion logam Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} berpengaruh terhadap pembentukan sapogenin steroid. Peneliti yang sama melaporkan bahwa Ca^{2+} (0-6 mM), Mg^{2+} (0-10 mM), Cu^{2+} (0-20 mM), Co^{2+} (0-2 mM) dalam media pertumbuhan berpengaruh nyata terhadap indeks pertumbuhan kultur kalus *Agave amaniensis* (3).

Pada penelitian lain dilaporkan bahwa ion Co^{2+} berpengaruh terhadap pertumbuhan kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (4) dan bahwa ion logam Cu^{2+} juga berpengaruh terhadap pertumbuhan kultur pucuk dan pembentukan solasodina pada *Solanum laciniatum* Ait (5).

Dilaporkan bahwa dengan pemberian Cu^{2+} 0,1 μM dan Co^{2+} 5 μM pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait dapat meningkatkan solasodina (6). Ion Sr^{2+} , Ca^{2+} dan Mg^{2+} pada kultur kalus *Agave amaniensis* berpengaruh terhadap pembentukan hekogenin dan sterol (33).

Tanaman-tanaman tertentu mampu mengakumulasi logam berat dalam akar, tunas, dan bagian tanaman lainnya. *Serbetia acuminata* mampu mengakumulasi Ni di dalam lateksnya. Akar dan rhizoma tanaman akuatik mampu membersihkan logam berat dari air yang tercemar. Misalnya *Eichornia crassipes*, *Hydrocotyle umbellata*, *Azolla pinata* mampu menyerap Pb, Cu, Cd, Fe, dan Hg dari larutan yang terkontaminasi. Tanaman terestrial seperti

Helianthus annuus dan *Brassica juncea* juga mampu menyerap Pb, Cr, Zn, Cd, Cu, dan Ni (7).

Dari contoh-contoh hasil penelitian di atas, dapat dikatakan bahwa dengan pemberian logam berat pembentukan metabolit sekunder tertentu dapat dipengaruhi pertumbuhannya.

Hasil dari percobaan-percobaan tersebut mendorong peneliti untuk mencoba menggunakan ion-ion logam lainnya sebagai elisitor, dalam penelitian ini ingin dicoba dengan menggunakan beberapa logam, antara lain Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} .

Dengan elisitor tersebut ingin diketahui bagaimana pengaruhnya terhadap pertumbuhan kultur pucuk *Solanum laciniatum* (SL-7 dan SL-11) dan kandungan fitosteroidnya.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pemberian ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} dalam berbagai konsentrasi dapat mempengaruhi pertumbuhan kultur pucuk *Solanum laciniatum* (kode SI-7 dan kode SI-11) dan kandungan fitosteroidnya.

1.3. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} dalam berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan kultur pucuk *Solanum laciniatum* (kode SI-7 dan kode SI-11) dan kandungan fitosteroidnya.

1.4. Manfaat Penelitian

Dengan diketahuif pengaruh ion logam tersebut maka akan menambah informasi mengenai faktor-faktor eksternal yang berpengaruh terhadap pertumbuhan kultur pucuk *Solanum laciniatum* dan kandungan fitosteroidnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan tentang *Solanum laciniatum* Ait.

Solanum laciniatum memiliki prospek yang baik untuk dikembangkan dalam usaha memenuhi kebutuhan dasar steroid.

Sistematika tanaman *Solanum laciniatum* Ait, sebagai berikut (8)

Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Solanales
Anak bangsa	: Solanaceae
Suku	: Solanaceae
Marga	: Solanum
Jenis	: <i>Solanum laciniatum</i>

Deskripsi Tanaman (9)

Tinggi tanaman \pm 1-3 m, batang berwarna merah, daun berwarna hijau dan bunga berwarna biru gelap/ungu dengan diameter berukuran hingga 5 cm. Polen berdiameter \pm 32-42 μ m, buah berukuran 25 x 30 mm dan berwarna kuning pucat.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa kultur pucuk *Solanum laciniatum* menghasilkan solasodina mendekati tanaman asalnya (18,19).

Kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait. (SI-7) yang digunakan berasal dari Laboratorium Bioteknologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

2.2. Tinjauan tentang Kultur Jaringan Tanaman

2.2.1. Tinjauan umum

Kultur jaringan tanaman ialah bagian/jaringan tanaman yang telah dipisahkan dari tanaman asalnya, ditumbuhkan dalam keadaan steril pada suatu media buatan dan sel-selnya mampu tumbuh serta mengadakan pembelahan-pembelahan (10).

Jika media yang digunakan cocok, maka jaringan yang ditanam sebagai eksplan steril (dalam bentuk tangkai daun, akar, serbuk sari dan sebagainya) akan tumbuh dan membelah menjadi massa sel yang meristematis dan belum terdeferensiasi yang disebut kultur kalus. Dengan mengubah komposisi hormon pertumbuhan, kultur kalus dapat diregenerasikan menjadi tanaman baru. Bila kultur kalus dipindahkan ke media cair serta dilakukan agitasi dengan kecepatan tertentu, akan diperoleh kultur suspensi (11).

Kultur jaringan tanaman ini dapat dilakukan karena tanaman bersifat totipotensi, yaitu setiap sel tanaman membawa seluruh informasi genetik dari tanaman itu sehingga memiliki kemampuan untuk tumbuh serta berkembang membentuk tanaman utuh (21,22).

Kultur jaringan tanaman mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan dengan kultivasi tanaman secara konvensional (12) :

1. Tidak terpengaruh oleh letak geografis, iklim, hama dan penyakit tanaman.

2. Kondisi dapat dikontrol, sehingga dihasilkan produk sesuai dengan yang dikehendaki.
3. Tidak membutuhkan lahan yang luas.
4. Waktu budidaya dapat dipersingkat.

Didalam penerapannya, metode kultur jaringan tanaman yang dikembangkan untuk (10) :

1. Produksi senyawa-senyawa tertentu yang berguna di bidang farmasi/medik
2. Biotransformasi senyawa-senyawa yang dapat digunakan dalam bidang farmasi/medik
3. Produksi senyawa-senyawa spesifik, misalnya enzim dan sebagainya
4. Seleksi galur-galur tanaman unggul untuk bidang pertanian dan hortikultura
5. Multiplikasi tanaman secara cepat dan seragam

4

2.2.2. Media Kultur Jaringan Tanaman

Pada dasarnya komponen nutrisi media kultur jaringan tanaman terdiri dari senyawa kimia yang secara alami dibutuhkan bagi kelangsungan hidup tanaman (13,14).

Komposisi media yang digunakan secara umum ialah sebagai berikut (15) :

- Sumber karbon : sukrosa, glukosa, fruktosa, laktosa.
- Makroelemen anorganik, dibutuhkan dalam jumlah lebih besar : NO_3^- , NH_4^+ , PO_4 , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4 .

- Mikroelemen anorganik, dibutuhkan dalam jumlah lebih kecil yaitu beberapa logam berat seperti Co^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} dan lain-lain.
- Vitamin-vitamin: thiamin, piridoksin, mioinositol, nikotinamid.
- Fitohormon : kinetin, auksin, seperti NAA, IAA, 2,4 D dan sebagainya.

2.3. Tinjauan tentang Produksi Metabolit Sekunder pada Tanaman

Metabolit sekunder diartikan sebagai senyawa kompleks yang diproduksi tanaman tidak untuk pertumbuhannya, tetapi digunakan untuk melindungi tubuh tanaman dari serangga, bakteri, dan patogen lainnya. Setiap species tanaman mempunyai senyawa spesifik tertentu (13). Misalnya solasodin dijumpai pada beberapa species *Solanum*, tidak dijumpai pada species tanaman yang lain.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder pada sistem kultur jaringan tanaman antara lain (11,16,17) :

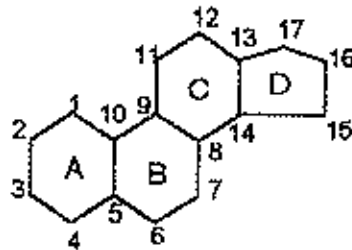
- Komposisi dan konsentrasi komponen media yang dipakai, seperti sumber karbon, makroelemen, mikroelemen, hormon pertumbuhan, zat kompleks tertentu, elisitor, prekursor.
- PH media
- Temperatur
- Kecepatan agitasi pada kultur (untuk kultur suspensi)
- Cahaya
- Konsentrasi oksigen, karbondioksida, etilen.

Media yang digunakan untuk kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SI-7 dan SI-11) ini adalah media MS (Murashige dan Skoog) yang telah dimodifikasi

dengan penambahan Benzyladenin 4 mg/l sebagai hormon pertumbuhannya (media BA₄) (lampiran 1.).

2.4. Tinjauan tentang steroid

Steroid ialah senyawa yang memiliki kerangka inti siklopentano-perhidrofenantrena yang banyak terdapat pada tanaman dari suku Solanaceae, Liliaceae, Scrophulariaceae dan juga pada hewan. Rumus bangun kerangka inti disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Inti siklopentanoperhidrofenantren

Molekul dengan empat cincin bergandengan, tiga sikloheksana dan satu siklopentana. Keempat cincin diberi notasi A, B, C dan D berurutan. Atom-atom karbon dalam sistem ini diberi nomor 1 sampai 17 (35). Semua steroid merupakan derivatisasi dari inti siklopentanoperhidrofenantren melalui reaksi oksidasi, substitusi dan dehidrogenasi.

Pada kerangka ini tersebut seringkali terikat gugus metil pada atom C-10 (R₁) dan C-13 (R₂) serta berbagai rantai samping yang terikat pada atom C-17 (R₃). Berdasarkan rantai samping yang terikat pada R₃ dapat dibedakan menjadi inti steroid kolestan dan stigmasteran (merupakan inti dari sterol-sterol), inti steroid kolan (merupakan inti dari asam-asam empedu) dan inti steroid spirostan (merupakan inti dari sapogenin steroid) (29).

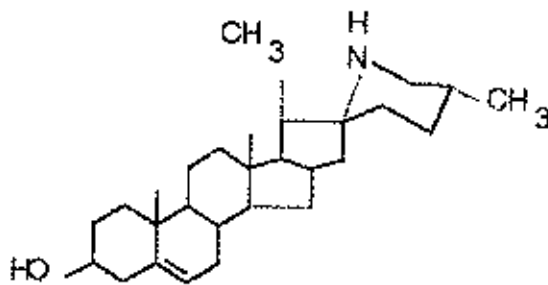
Senyawa steroid yang dihasilkan oleh tumbuhan dapat ditemukan dalam bentuk sterol (kolesterol, stigmasterol, sitosterol, kampesterol), saponin/glikosida steroid (diosgenin, hekogenin, sarsapogenin), glikosida kardiotonik (digoxigenin, skilarenin) dan alkaloid steroid (solasodina, tomatodin). Kolesterol merupakan prekursor bagi biosintesis fitosteroid yang lain (13).

Sterol yang umum terkandung di dalam tanaman adalah β -sitosterol, dengan jumlah atom C29, yang merupakan hasil reaksi transmetilasi dengan gugus metil berasal dari methionin (30).

Biosintesis steroid dapat dilihat pada Lampiran 5.

2.4. Tinjauan tentang Solasodina

Solanum sp. menghasilkan suatu fitosteroid solasodina yang merupakan bahan baku obat golongan alkaloid steroid. Dalam tanaman zat ini terikat dalam bentuk glikosidanya. Solasodina merupakan senyawa N analog dari sapogenin yang banyak dihasilkan oleh tanaman *Solanum sp.* (19). Strukturnya mirip diosgenin dimana atom O diganti dengan atom N.



Gambar 2. Struktur Solasodina

Rumus molekul solasodina ialah $C_{27}H_{43}O_2N$ dengan berat molekul 413,62. Larut bebas dalam benzena, piridin, kloroform, larut dalam alkohol dan aseton dan sedikit larut dalam air serta praktis tidak larut dalam eter (20).

2.5. Tinjauan tentang Elisitor

Elisitasi dalam arti yang sesungguhnya adalah induksi pada sintesis metabolit sekunder secara *de novo* dengan penambahan preparat-preparat jamur atau mikroorganisme baik yang alami atau yang telah didenaturasi. Metabolit sekunder yang terinduksi disebut fitoaleksin, yang merupakan bahan-bahan pertahanan langsung untuk melawan serangan patogen. Sintesis dari fitoaleksin tersebut, pada beberapa kasus juga diinduksi oleh faktor-faktor abiotik misalnya sinar ultra violet, pH yang alkali, tekanan osmotik, ion logam berat (23).

Dari uraian di atas, maka peningkatan konsentrasi Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} dalam media kultivasi tanaman kemungkinan dapat menyebabkan akumulasi metabolit sekunder tanaman tersebut karena faktor stress kimia. Dalam hal ini, ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} berfungsi sebagai elisitor abiotik.

2.6. Tinjauan tentang Logam Berat

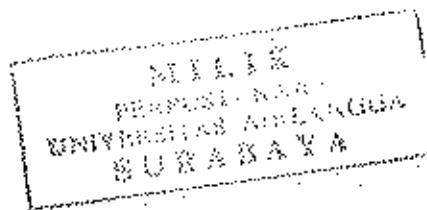
Logam berat diartikan terutama berdasarkan gaya berat spesifik logam (lebih besar dari 4 atau 5), tempatnya pada tabel periodik (misalnya unsur-unsur dengan jumlah atom 22-34 dan 40-52), tanggapan spesifik biokimiawi dalam hewan dan tumbuhan (24).

Pencemaran logam di alam berhubungan dengan kegiatan manusia seperti kegiatan pertambangan, cairan limbah rumah tangga, limbah industri,

aliran pertanian. Walaupun makhluk hidup air mudah menyerap logam adalah kemampuan mereka mengatur kepekatan abnormal yang menentukan toleransi dan merupakan sebuah faktor penentu dalam penyelamatan diri (24).

Banyak makhluk hidup yang tercemar mampu untuk mentolerir kepekatan logam yang lebih dari kebutuhan fisiologis. Makhluk hidup yang toleran terhadap logam mungkin mengandung logam dengan kepekataannya 2 atau 3 kali lebih besar daripada normal. Penyimpanan sementara pada umumnya dengan terikatnya logam pada protein, polisakarida dan asam amino (24).

Secara alami tanaman mempunyai kemampuan untuk memberikan respon terhadap gangguan/rangsangan dari luar, karena adanya mekanisme pertahanan diri, antara lain dengan menghasilkan fitoaleksin (32). Konsentrasi ion logam berat yang berlebih menyebabkan keracunan terhadap tanaman dan meningkatnya permeabilitas sel dan memberikan akibat yang merugikan seperti hambatan pada fotosintesis, sintesis pigmen, merusak permeabilitas membran plasma dan gangguan metabolisme (31). Kadmium dapat menyebabkan gangguan metabolisme, karena kadmium dapat mengganti kedudukan Zn dalam enzim dan dapat mengganti posisi kalsium (34).



BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual

Sistem kultur jaringan tanaman merupakan salah satu alternatif untuk produksi metabolit sekunder, karena sel dapat dikultur dalam jumlah yang relatif besar dengan kondisi yang terkontrol (27).

Banyak faktor-faktor internal dan eksternal (misalnya nutrisi, derajat konsentrasi oksigen, cahaya dan lain-lain) dimana sel tanaman itu berada, dapat menstimulasi atau menghambat ekspresi gen tertentu (21).

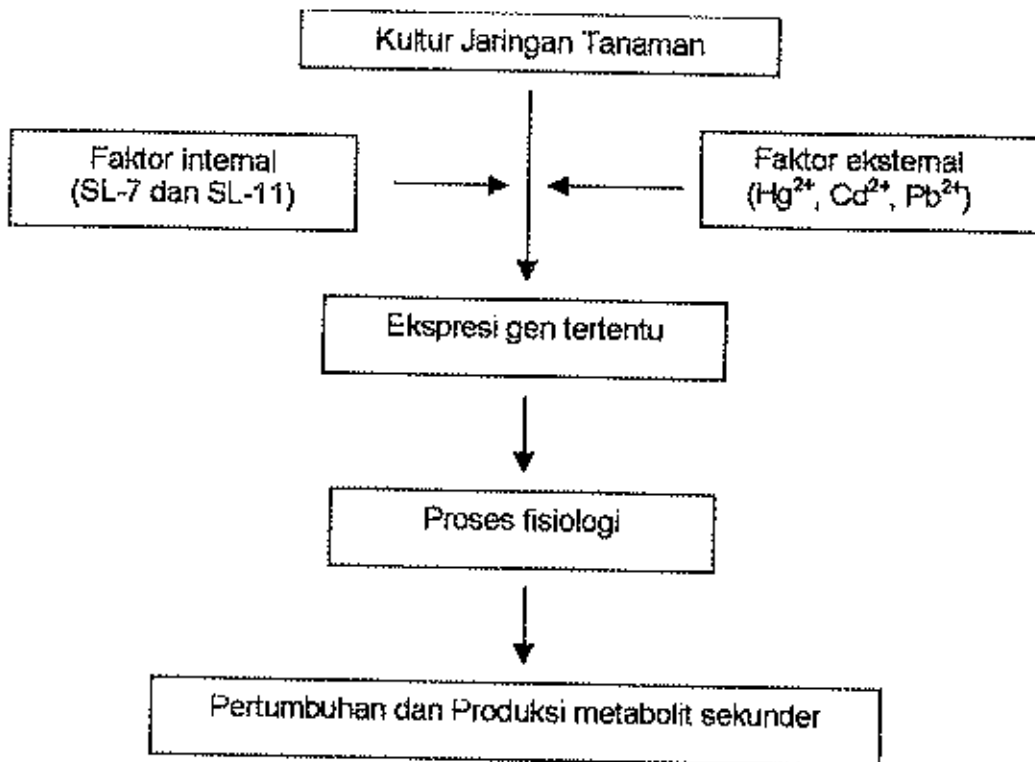
Secara alami tanaman juga memberikan respon terhadap gangguan atau rangsangan dari luar (termasuk ion logam berat), dengan menghasilkan senyawa fitoaleksin sebagai mekanisme pertahanan diri (32).

Pemanfaatan elisitor biotik dan abiotik untuk meningkatkan terbentuknya metabolit sekunder telah banyak dilaporkan. Elisitor biotik dapat berupa mikroorganisme seperti bakteri, jamur, sedangkan elisitor abiotik dapat berupa komposisi media, sinar UV, penambahan ion logam (26). Berdasarkan hasil-hasil penelitian yang telah dilaporkan, ion-ion logam memiliki kemampuan untuk menginduksi pembentukan metabolit sekunder.

Efektifitas ion logam sebagai elisitor abiotik tergantung pada beberapa faktor yang mungkin berinteraksi yaitu konsentrasi, lamanya perlakuan jenisnya dan tahap pembentukan fitoaleksin.

Konsentrasi ion logam yang digunakan sebagai elisitor abiotik ialah konsentrasi kritis yang dapat memberikan pengaruh maksimum pada produk metabolit sekunder.

Hubungan faktor-faktor yang berpengaruh dengan metabolit yang dihasilkannya, digambarkan dalam kerangka konseptual sebagai berikut :



Gambar 3. Kerangka konseptual

3.2. Hipotesis

Pemberian ion Hg²⁺, Cd²⁺ dan Pb²⁺ dapat mempengaruhi pertumbuhan kultur pucuk *Solanum laciniatum* (kode SL-7 dan SL-11) dan kandungan fitosteroidnya

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Bahan dan Alat

4.1.1. Bahan Tumbuhan

Bahan penelitian yang digunakan berupa kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (kode S L-7 dan SL-11) hasil kultivasi di Laboratorium Bioteknologi Universitas Airlangga Surabaya.

4.1.2. Bahan Kimia

- Kecuali dinyatakan lain semua bahan kimia yang digunakan ialah produksi E.Merck dengan derajat kemurnian pro analisis.
- Gibco Agar Bacteriologika L-87 produksi Gibco Ltd. Scotland.
- Benzyladenin produksi Sigma.
- Standard solasodina, kolesterol produksi Sigma.
- Kloroform p.a. produksi J.T.Baker Chemical Ltd.
- Bahan lain yang diperlukan sesuai kebutuhan.
- Garam logam : HgCl_2 , $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $(\text{PbNO}_3)_2$

4.1.3. Alat Penelitian

- *Laminar Air Flow Kabinet Bassaire* model S-4 Serial No. S 4645.
- pH meter *Fisher Accument* model 230 A.
- 25 L *American Portable Autoclave WAF Co Inc.* untuk sterilisasi media dan alat.
- Lempeng *Kieselgel 60 F₂₅₄* (E.Merk Darmstadt).
- *Socorex Micropipet 811/821*
- Alat-alat untuk Kromatografi Lapis Tipis.

- *Sentrifuge Jenetzki T-5 dan Hettick Universal 25.*
- Neraca Analitik Sartorius.
- *GL-Science Gas Chromatography Scanner Shimadzu model S930.*
- *Hamilton Micro Syringe 10 μ l*
- *Thin Layer Chromatography Scanner Shimadzu model S930.*
- *Hand Refractometer E Type Series N-10E*
- *Fisher Conductivity Bridge model 31*
- Alat-alat gelas untuk pembuatan media
- Botol bermulut lebar untuk pembuatan kultur pucuk
- Gunting dan pinset untuk pekerjaan aseptis

4.2. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui tahapan-tahapan sebagai berikut :

4.2.1. Penyiapan kultur pucuk

- Pembuatan media kultur
- Perbanyakkan kultur pucuk

4.2.2. Perlakuan kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait

- Pembuatan media perlakuan
- Penanaman kultur pucuk pada media perlakuan
- Pemanenan kultur pucuk
- Pengamatan parameter pertumbuhan
- Pengeringan dan penetapan susut kering

4.2.3. Ekstraksi serbuk kering kultur pucuk

4.2.4. Analisis kualitatif dan kuantitatif

- Analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis

- Analisis dengan Kromatografi Gas

4.3. Cara Kerja

4.3.1. Penyiapan Kultur Pucuk

4.3.1.1. Pembuatan media kultur

Sesuai dengan metode Murashige dan Skoog (MS), media dibuat dengan cara mencampur larutan persediaan, yaitu masing-masing komponen diambil 10 ml (untuk 1 liter media), kemudian ditambahkan mio-inositol 100 mg, sukrosa 30 g, kasein 100 mg, hormon pertumbuhan benzyi adenin 40 ml dan air suling sampai diperoleh volume kira-kira 900 ml. pH diatur dengan larutan NaOH 0,1 N atau larutan HCl 0,1 N sampai diperoleh pH 5,6 – 5,7. Selanjutnya ditambahkan 7,5 g agar dan air suling sampai volume 1 L. Kemudian dipanaskan sambil diaduk terus sampai jernih/mendidih. Dituangkan panas-panas ke dalam botol kultur sebanyak 25 ml perbotol, ditutup rapat dengan aluminium foil, disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Disimpan dalam ruang kultur dengan suhu 25°C, di bawah penyinaran dengan intensitas cahaya 700 lux.

4.3.1.2. Perbanyak kultur pucuk

Perbanyak kultur pucuk dilakukan dengan cara subkultur, yaitu kultur pucuk dari satu botol kultur dipindahkan ke beberapa media segar dan dilakukan secara aseptis. Kultur diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu 25°C.

4.3.2. Perlakuan kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7 dan SL-11)

4.3.2.1. Pembuatan media perlakuan

Pembuatan media perlakuan sama dengan 4.3.1.1. dengan penambahan ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} seperti tertera pada tabel di bawah ini :

Tabel 1 . Konsentrasi ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}

Kode Perlakuan	Ion Hg^{2+}		HgCl_2	
	Mg/l	μM	mg/l	μM
Hg-0	0	0	0	0
Hg-10	10	49.9	13.5	49.7
Hg-25	25	124.6	33.8	124.6
Hg-50	50	249.3	67.68	249.2
	Ion Cd^{2+}		$\text{CdCl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$	
	Mg/l	μM	Mg/l	μM
Cd-5	5	44.4	8.9	44.2
Cd-10	10	88.9	17.9	88.9
Cd-15	15	133.4	26.8	133.1
Cd-20	20	177.9	35.8	177.8
	Ion Pb^{2+}		$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	
	Mg/l	μM	mg/l	μM
Pb-10	10	48.2	15.98	48.2
Pb-20	20	96.5	31.9	96.3
Pb-30	30	144.7	47.9	144.6
Pb-40	40	193.0	64.0	193.2

Keterangan : BM Hg = 200.56
 BM HgCl_2 = 271.5
 BM Cd = 112.41
 BM $\text{CdCl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ = 201.32
 BM Pb = 207.2
 BM $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ = 331.21

4.3.2.2. Penanaman kultur pucuk pada media perlakuan

Kultur pucuk ditanam secara aseptis pada media perlakuan dan ditimbang. Kultur pucuk kemudian diinkubasi dalam ruang kultur.

4.3.2.3. Pemanenan kultur pucuk

Kultur pucuk dipanen setelah 4 minggu dengan cara dikeluarkan dari botol kultur, dibersihkan dari sisa media kemudian ditimbang berat basahnya.

4.3.2.4. Pengamatan parameter pertumbuhan

Pengamatan parameter pertumbuhan kultur pucuk yang ditanam pada media perlakuan dilakukan dengan mengamati kecepatan pertumbuhan kultur pucuk, pH, konduktivitas dan prosen kadar gula pada media perlakuan. Parameter kecepatan pertumbuhan dinyatakan sebagai Indeks Pertumbuhan (IP) dan diperhitungkan sebagai perbandingan bobot akhir dari kultur pada saat dipanen terhadap bobot awal kultur pada saat penanaman.

Harga IP dinyatakan dengan rumus :

$$IP = \frac{\text{Bobot akhir kultur}}{\text{Bobot awal kultur}}$$

Penentuan pH, konduktivitas dan % kadar gula media dilakukan untuk mengetahui perubahan parameter tersebut setelah penanaman.

4.3.2.5. Pengeringan dan penetapan susut kering

Pengeringan kultur hasil panen dilakukan di bawah sinar lampu dengan temperatur 40-60°C. Kultur yang sudah kering diserbuk. Penetapan susut pengeringan dilakukan terhadap serbuk kering tersebut sesuai dengan Farmakope Indonesia Edisi III 1979 dengan cara sebagai berikut :

- sejumlah tertentu serbuk ditimbang, dicatat beratnya.
- Serbuk dipanaskan dengan suhu 105°C selama 30 menit, kemudian ditimbang beratnya. Penimbangan dan pemanasan dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh berat konstan.

- Hitung harga susut pengeringannya. Harga susut pengeringan ini tidak boleh lebih dari 5%.

4.3.2.6. Ekstraksi (18)

Ditimbang secara teliti 0,5 g serbuk kering yang telah ditentukan kadar aimya diekstraksi dengan 7,5 ml kloroform selama 10 menit dengan alat vortek. Filtrat disaring dan ditampung dalam botol ukuran 50 ml. Ekstraksi dilakukan sebanyak 4 kali dan filtrat yang dihasilkan dikeringkan pada suhu kamar sampai kering.

Residu dihidrolisis dengan 10 ml larutan HCl 2N dalam metanol dan dioven pada temperatur 70-75°C selama 2 jam. Setelah dingin ditambahkan larutan NaOH 10N secukupnya sehingga diperoleh pH larutan sekitar 10, kemudian diencerkan dengan 5 ml air suling. Campuran diekstraksi dengan 5 ml kloroform sebanyak 4 kali menggunakan vortek, setiap kali ekstraksi diperlukan waktu 10 menit, kemudian disentrifuge.

Lapisan kloroform dipisahkan, ekstrak dalam kloroform (fraksi hidrolisat) dikumpulkan, diuapkan sampai kering pada suhu kamar. Jika akan dilakukan analisis dilarutkan kembali dalam kloroform.

4.4. Analisis Solasodina dan Sterol

4.4.1. Analisis dengan KLT (18)

Ekstrak hidrolisat kloroform serbuk kering kultur pucuk diidentifikasi adanya solasodina.

Untuk analisis solasodina, ekstrak kloroform ditotolkan pada lempeng Kieselgel 60 F₂₅₄ dan diekspansi dengan eluen kloroform : metanol : dietilamin (20:2:0,5) sebagai fase gerak. Pada lempeng yang sama juga ditotolkan

pembandingan standar, kemudian diekstraksi dan dikeringkan dan disemprot dengan penampak noda anisaldehyd sulfat. Selanjutnya dipanaskan dalam oven 100°C selama 10 menit dan ditentukan kadarnya secara densitometri. Kadar sampel diketahui dengan cara interpolasi luas area noda sampel ke dalam persamaan regresi kurva baku yang dibuat pada lempeng yang sama.

Perhitungan kadar sampel :

$$K_s = \frac{\frac{V}{V_p} \times K_n}{B} \quad (\mu g/g)$$

Keterangan :

- K_s = kadar sampel ($\mu g/g$)
- V = volume kloroform untuk melarutkan ekstrak (μl)
- V_p = volume penotolan (μl)
- B = berat sampel yang diekstraksi (g)
- K_n = konsentrasi noda sampel (μg)

4.4.2. Analisis dengan Kromatografi Gas (38)

Analisis kandungan sterol fraksi kloroform dilakukan dengan kromatografi gas berdasarkan perbandingan waktu retensi relatif (α) sampel dengan standar.

Pada sampel dan standar campur yang berisi kolesterol, kampesterol, stigmasterol dan sitosterol ditambahkan standar internal progesteron, lalu diinjeksikan ke dalam inlet sistem kromatografi gas. Waktu retensi relatif sampel yang diperoleh dari kromatogram dibandingkan dengan waktu retensi relatif dari senyawa standar. Jika α sampel sama dengan α senyawa standar, maka kemungkinan sampel sama dengan senyawa standar.

Kromatografi gas yang digunakan, ialah HP *Gas Chromatograph* Model

380. Pengamatan dilakukan pada kondisi, sebagai berikut :

Detektor : Flame Ionization Detector Suhu 280°C

Kolom : kapiler HP5, diameter 0,32 mm panjang 25 m

Gas pembawa: N₂ 1,7 kg/cm²

Alat suntuk : Hamilton Micro Syringe 10 μl, volume sampel dan standar 3 μl

Suhu injektor : 280°C

Rekorder : HP 3392 A, chart speed 20 min/2cm, attenuation 6, minimum area 100, threshold 4, peak width 0,04

Program suhu : suhu awal 240°C selama 5 menit, naik menjadi 280°C selama 15 menit, kecepatan 4°/menit

Split rasio : 1/100

Perhitungan kadar sampel :

Pada ekstrak fraksi kloroform ditambahkan standar internal progesteron ke dalam sampel. Kemudian ditambahkan kloroform 0,5 ml, diinjeksikan ke dalam sistem kromatografi gas sebanyak 3 μl. Rasio area kromatogram sampel/standar internal dibandingkan dengan rasio area standar/standar internal. Perkiraan kandungan sterol dapat dihitung dengan cara

$$C = C_{sp} \times f. \text{ peng} \times \frac{\text{Vol. Peng}}{\text{B.P}} \times \frac{100}{100 - \%SK}$$

Keterangan :

- C = kadar sampel (μg/g)
- C_{sp} = kadar senyawa dari kromatografi gas
- f. peng. = faktor pengenceran (lampiran 6.)
- vol. Peng. = volume pengenceran (2000 μl)
- B.P. = berat penimbangan serbuk kering
- %SK = prosen susut pengeringan

4.5. Analisis Data

Terhadap data-data yang diperoleh dilakukan beberapa perhitungan secara statistik antara lain :

- Perhitungan validasi metode analisis dengan menggunakan program validasi pada lampiran 19 (39).
- pembuatan histogram parameter pertumbuhan, kadar solasodina dan kadar sitosterol masing-masing komponen perlakuan .
- uji anava, menggunakan program SPSS-9 untuk menguji ada tidaknya perbedaan bermakna antara berbagai perlakuan .
- perhitungan harga LSD untuk menguji kemaknaan perbedaan hasil pengamatan berbagai perlakuan .
- perhitungan regresi untuk persamaan regresi linier .



BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1. Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7 dan SL-11)

Kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7 dan SL-11) yang diteliti dalam percobaan ini ditanam dalam botol-botol seperti yang terlihat dalam gambar dibawah ini. Pengamatan indeks pertumbuhan (IP) dan analisis kandungan solasidina dan sterol dilakukan pada kultur yang telah berumur 4 minggu.



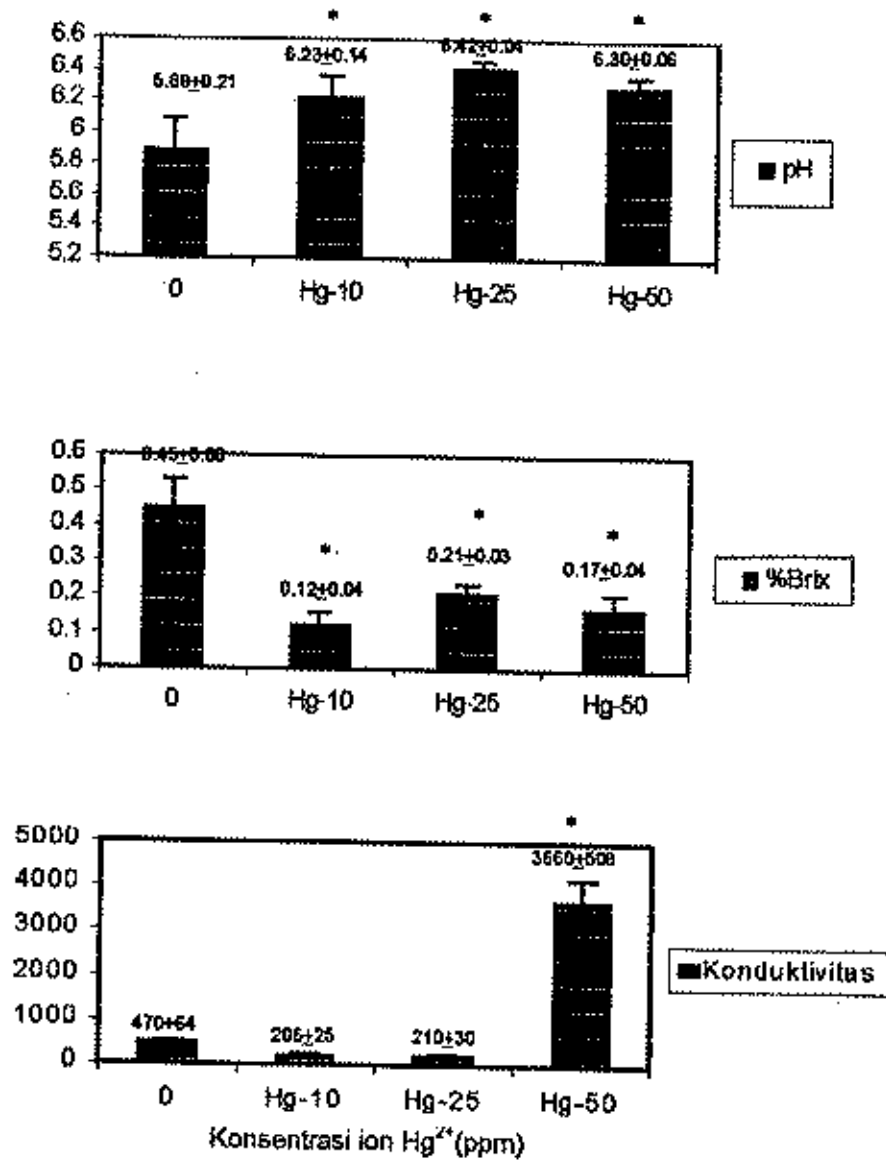
Gambar 4. Kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7 dan SL-11)

5.2. Parameter Pertumbuhan kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7)

Parameter pertumbuhan yang diamati meliputi pH, %Brix, konduktivitas dari filtrat media dan indeks pertumbuhan kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7) pada umur 4 minggu. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 2. dan histogramnya pada gambar 5, 6 dan 7, serta indeks pertumbuhan pada tabel 3 dan histogramnya pada gambar 8, 9, 10.

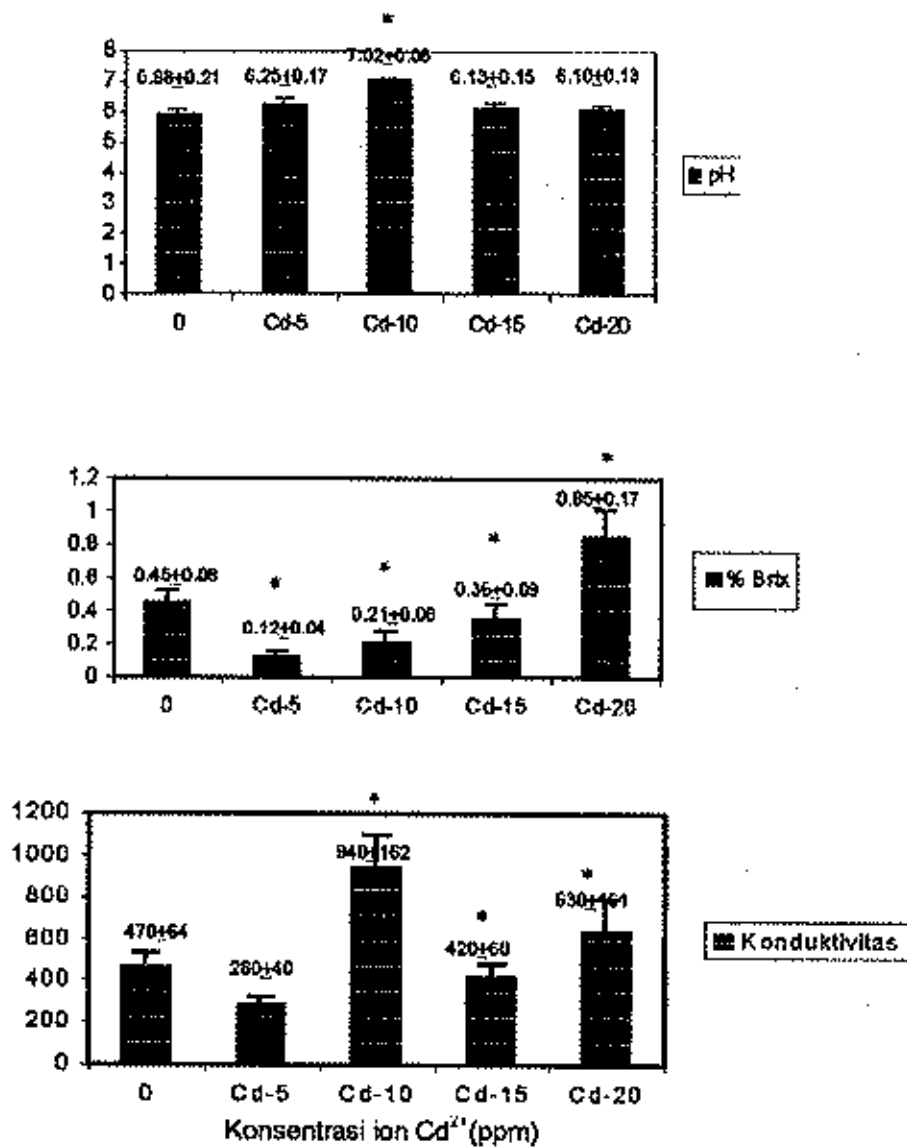
Tabel 2. Rata-rata pH, konduktivitas dan % Brix pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7) umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi Hg^{2+} , Cd^{2+} dan Pb^{2+} .

Kode Media	pH (n = 10)	% Brix (n = 10)	Konduktivitas (n=10)
N = 0	5.88±0.21	0.45±0.08	470±64
Hg - 10	6.23±0.14	0.12±0.04	206±25
Hg - 25	6.42±0.04	0.21±0.03	210±30
Hg - 50	6.30±0.06	0.17±0.04	3660±508
Cd - 5	6.25±0.17	0.12±0.04	280±40
Cd - 10	7.02±0.06	0.21±0.08	940±162
Cd - 15	6.13±0.15	0.36±0.09	420±60
Cd - 20	6.10±0.13	0.85±0.17	630±161
Pb - 10	6.07±0.14	0.22±0.06	210±30
Pb - 20	6.16±0.05	0.21±0.03	210±30
Pb - 30	6.43±0.07	0.29±0.03	1220±160
Pb - 40	6.25±0.08	0.27±0.06	250±50



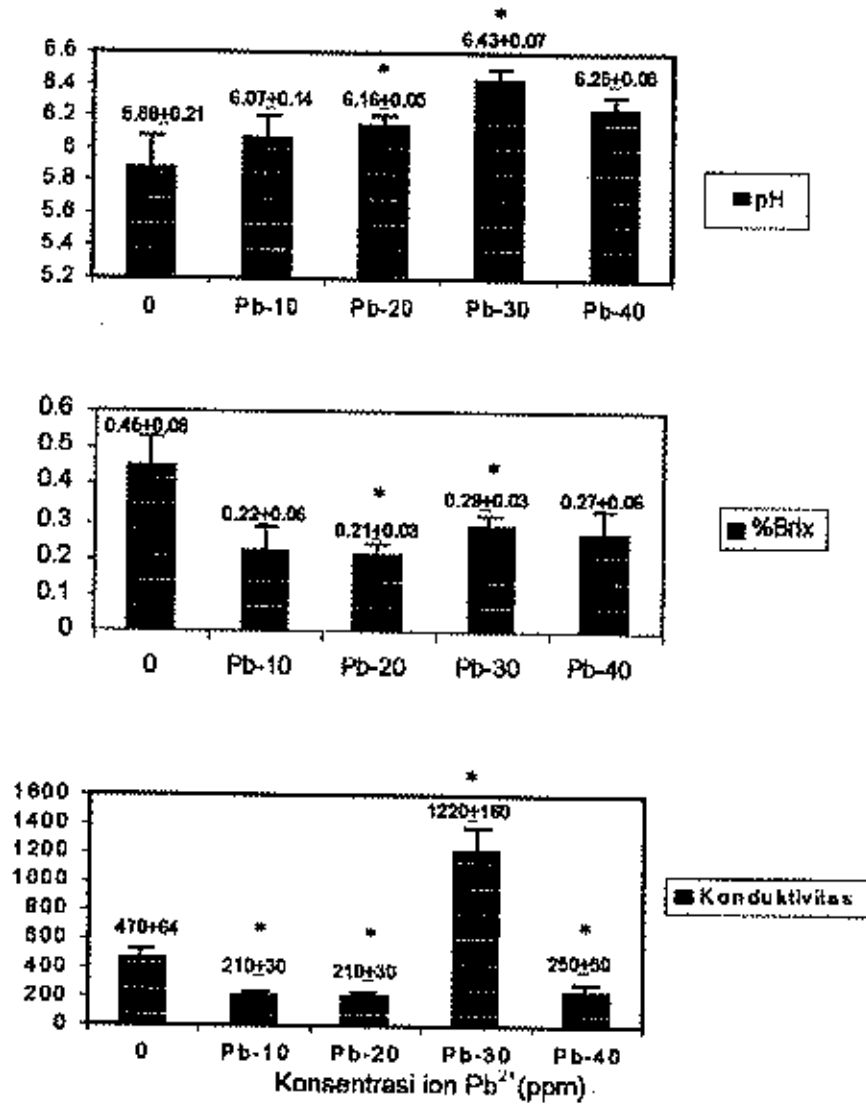
* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada α 0.05

Gambar 5. Histogram rata-rata pH, %Brix dan Konduktivitas pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7) umur 4 Minggu pada Berbagai Konsentrasi Hg^{2+} .



* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada α 0.05

Gambar 6 .Histogram rata-rata pH, % Brix, Konduktivitas pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7) umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi Cd²⁺.



* = bobeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada α 0.05

Gambar 7. Histogram rata-rata pH, % Brix, dan Konduktivitas pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7) umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi Pb^{2+} .

5.3. Kandungan Solasodina dan Sitosterol pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7)

Kandungan solasodina dan sitosterol diamati pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7) yang dipanen pada umur 4 minggu. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 3. dan histogramnya dapat dilihat pada gambar 8, 9 dan 10.

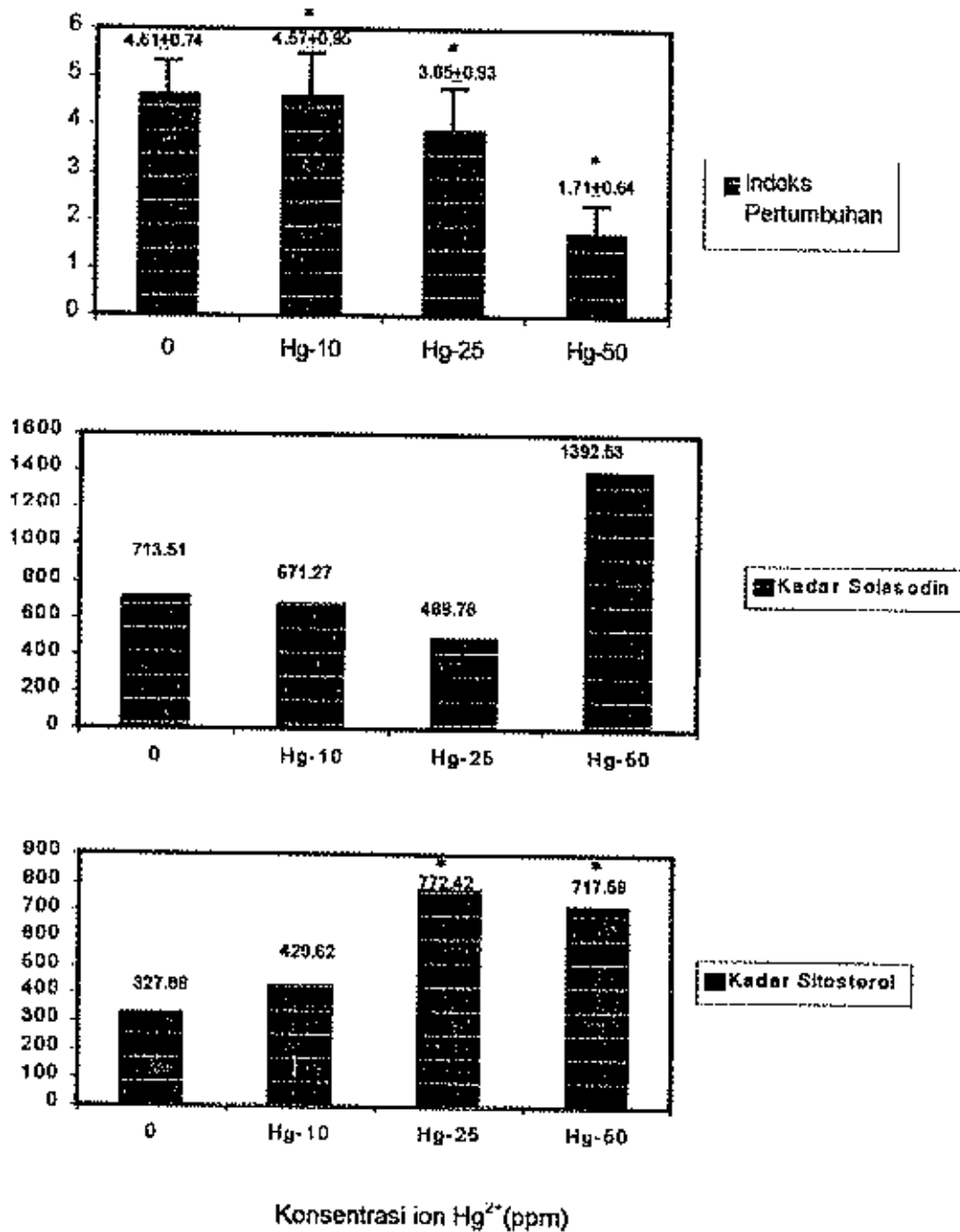
Tabel 3. Rata-rata indeks pertumbuhan, kadar solasodina, kadar sitosterol pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* (SL-7) umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi Hg^{2+} , Cd^{2+} dan Pb^{2+} .

Kode Media	Indeks Pertumbuhan (n = 20)	Kadar Solasodina* ($\mu g/gBK$) n = 2-4	Kadar Sitosterol ** ($\mu g/gBK$) n = 2
N = 0	4.61 \pm 0.74	713.51	327.88
Hg-10	4.57 \pm 0.95	671.27	429.62
Hg-25	3.85 \pm 0.93	489.78	772.42
Hg-50	1.71 \pm 0.64	1392.53	717.58
Cd-5	4.37 \pm 0.74	394.14	421.05
Cd-10	3.45 \pm 0.76	2364.61	294.83
Cd-15	2.91 \pm 0.66	1020.08	183.68
Cd-20	2.84 \pm 0.55	753.61	334.25
Pb-10	3.81 \pm 0.83	1186.23	237.18
Pb-20	3.70 \pm 0.41	290.74	540.36
Pb-30	3.32 \pm 0.98	591.47	677.31
Pb-40	3.20 \pm 0.51	680.21	939.59

Keterangan :

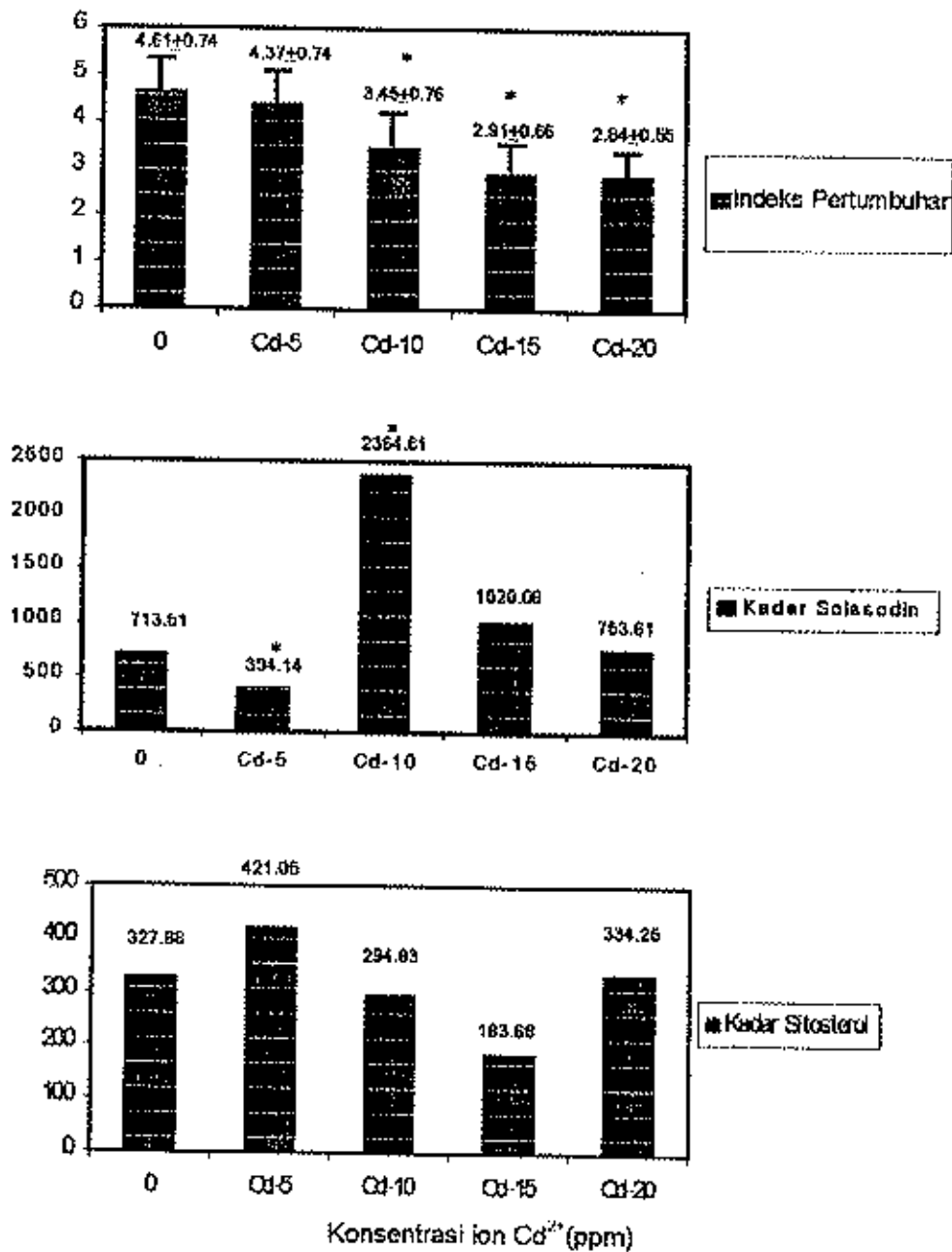
* : variasi rata-rata = 91.9 – 107.4%
variasi maksimal = 75.2 - 119.6%

** : variasi rata-rata = 93.5 – 106.4%
variasi maksimal = 83.3 - 116.6%



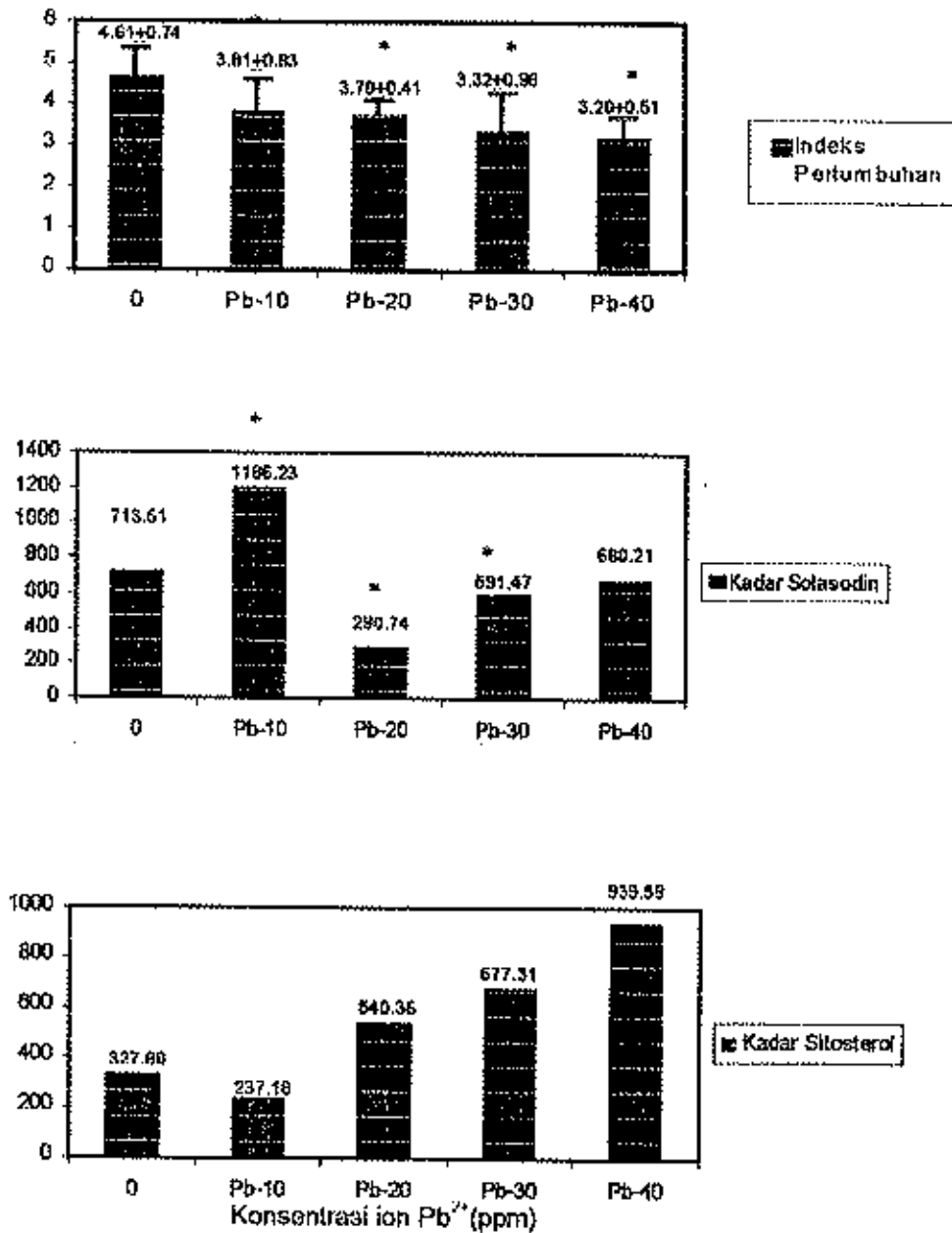
* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada $\alpha = 0.05$

Gambar 8. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7) umur 4 minggu pada media percobaan dengan berbagai konsentrasi Hg^{2+}



* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada $\alpha = 0.05$

Gambar 9. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7) umur 4 minggu pada media percobaan dengan berbagai konsentrasi Cd²⁺



* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada $\alpha = 0.05$

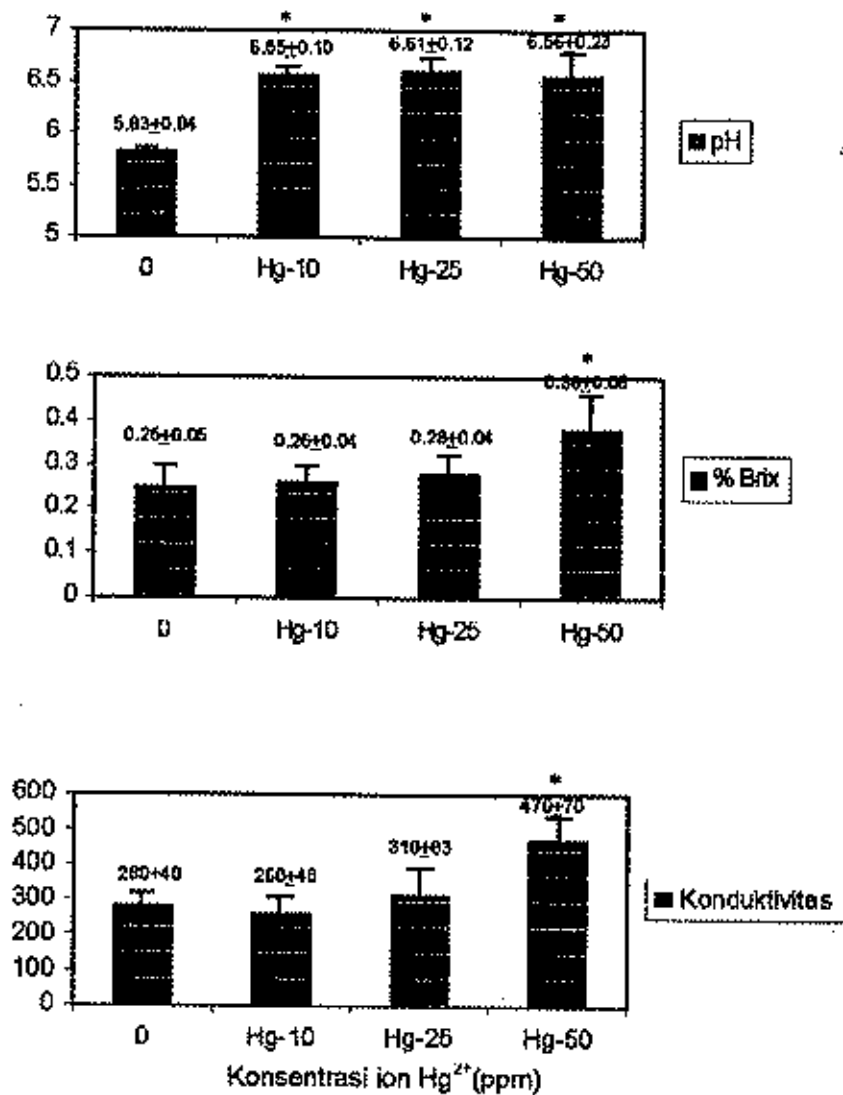
Gambar 10. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7) umur 4 minggu pada media percobaan dengan berbagai konsentrasi Pb²⁺.

5.4. Parameter Pertumbuhan kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11)

Parameter pertumbuhan yang diamati meliputi pH, %Brix, konduktivitas dari filtrat media dan indeks pertumbuhan kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11) pada umur 4 minggu. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 4, dan histogramnya pada gambar 11,12 dan 13, serta indeks pertumbuhan pada tabel 5 dan histogram pada gambar 14, 15, 16.

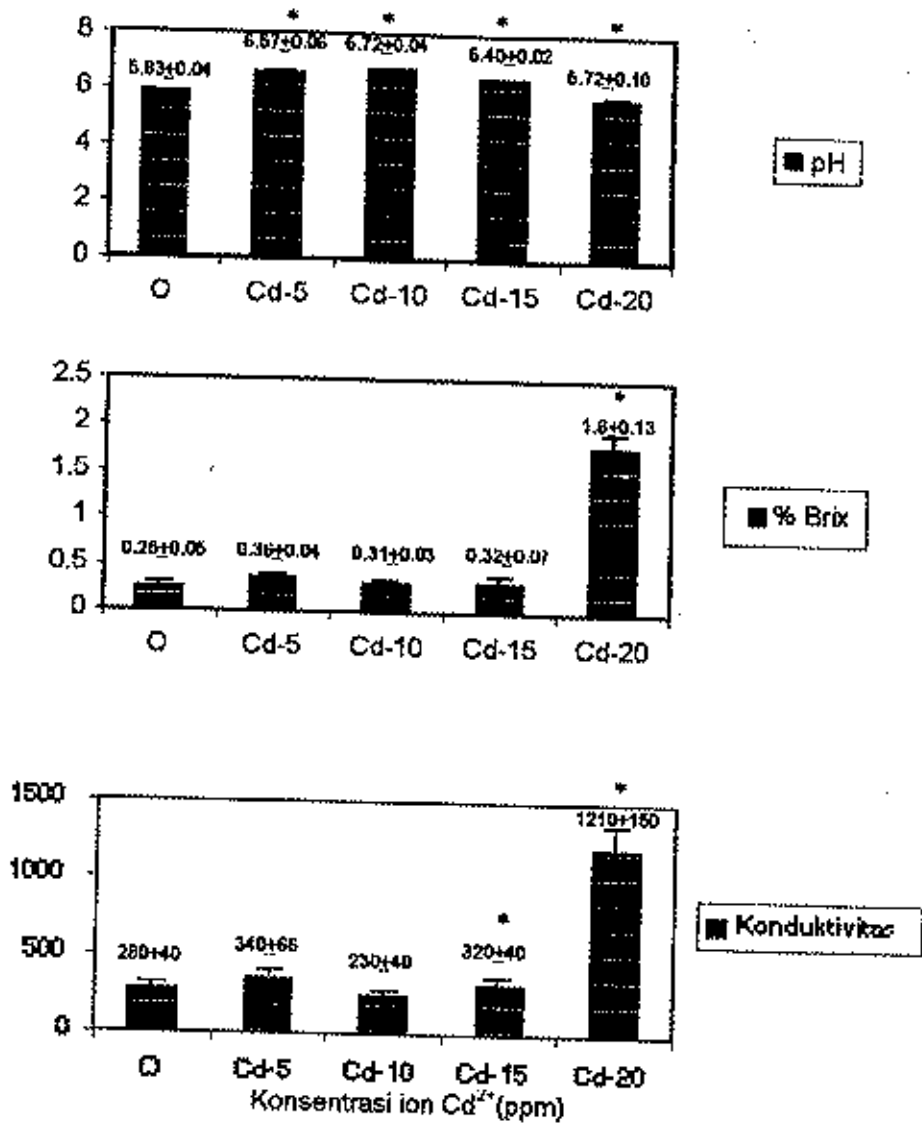
Tabel 4. Rata-rata pH, konduktivitas dan % Brix pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11) umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi Hg^{2+} , Cd^{2+} dan Pb^{2+} .

Kode Media	PH (n = 10)	% Brix (n = 10)	Konduktivitas (n = 10)
N = 0	5.83±0.04	0.25±0.05	280±40
Hg – 10	6.55±0.10	0.26±0.04	260±48
Hg - 25	6.61±0.12	0.28±0.04	310±83
Hg – 50	6.56±0.23	0.38±0.08	470±70
Cd – 5	6.57±0.06	0.36±0.04	340±66
Cd – 10	6.72±0.04	0.31±0.03	230±40
Cd – 15	6.40±0.02	0.32±0.07	320±40
Cd – 20	6.72±0.10	1.80±0.13	1210±150
Pb – 10	6.98±0.06	0.29±0.01	130±40
Pb – 20	6.49±0.11	0.22±0.04	245±65
Pb – 30	6.43±0.07	0.29±0.03	1220±160
Pb – 40	6.25±0.08	0.27±0.06	250±50



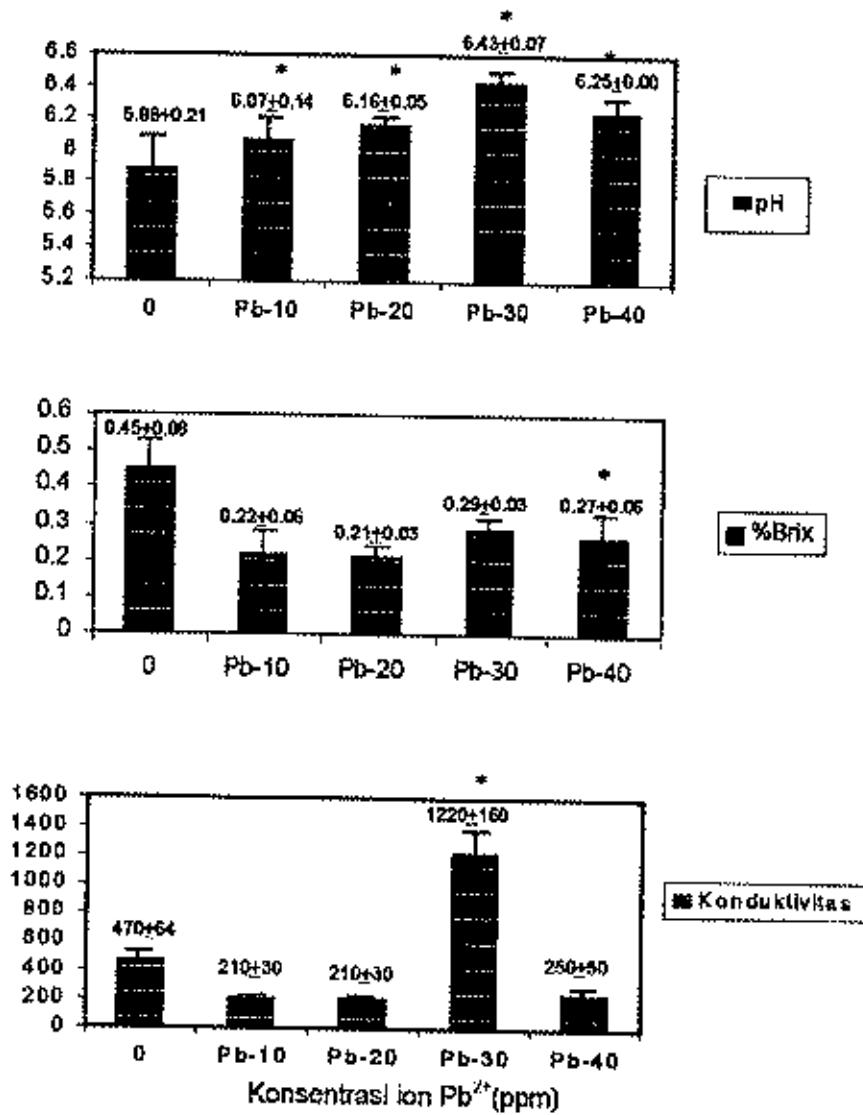
* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada α 0.05

Gambar 11. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, pH, % Brix, Konduktivitas pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11) umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi Hg.



* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada α 0.05

Gambar 12. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, pH, % Brix, Konduktivitas pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11) umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi Cd.



* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada α 0.05

Gambar 13. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, pH, % Brix, dan Konduktivitas pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11) umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi Pb.

5.5. Kandungan Solasodina dan Sitosterol pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11)

Kandungan solasodina dan sitosterol diamati pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11) yang dipanen pada umur 4 minggu. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 5. dan histogramnya dapat dilihat pada gambar 14,15 dan 16.

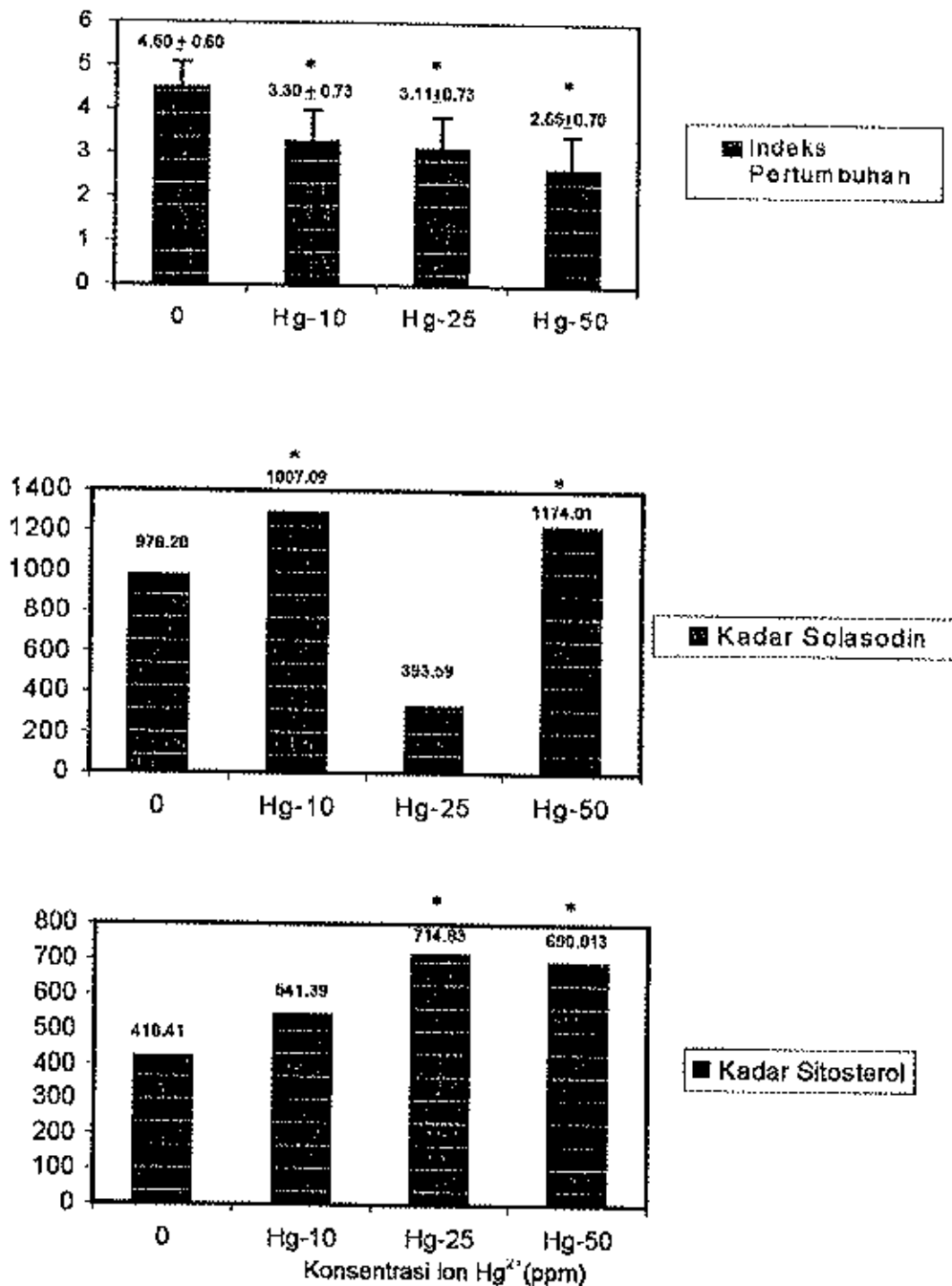
Tabel 5. Rata-rata indeks pertumbuhan, kadar solasodina, kadar sitosterol pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* (SL-11) umur 4 minggu pada berbagai konsentrasi Hg²⁺, Cd²⁺ dan Pb²⁺.

Kode Media	Indeks Pertumbuhan (n = 20)	Kadar Solasodina * (μg/gBK) n = 2-4	Kadar Sitosterol ** (μg/gBK) n = 2
N = 0	4.50 ± 0.60	978.20	418.41
Hg-10 Hg-25 Hg-50	3.30 ± 0.73 3.11 ± 0.73 2.65 ± 0.78	1007.09 393.59 1174.01	541.39 714.83 690.013
Cd-5 Cd-10 Cd-15 Cd-20	4.12 ± 0.99 3.62 ± 0.90 3.34 ± 0.76 3.21 ± 0.63	184.57 1103.16 1117.27 315.76	387.50 471.64 535.36 354.75
Pb-10 Pb-20 Pb-30 Pb-40	3.82 ± 0.55 3.29 ± 0.93 3.12 ± 0.80 3.04 ± 0.87	564.78 817.44 705.92 321.06	774.98 701.46 423.36 739.39

Keterangan :

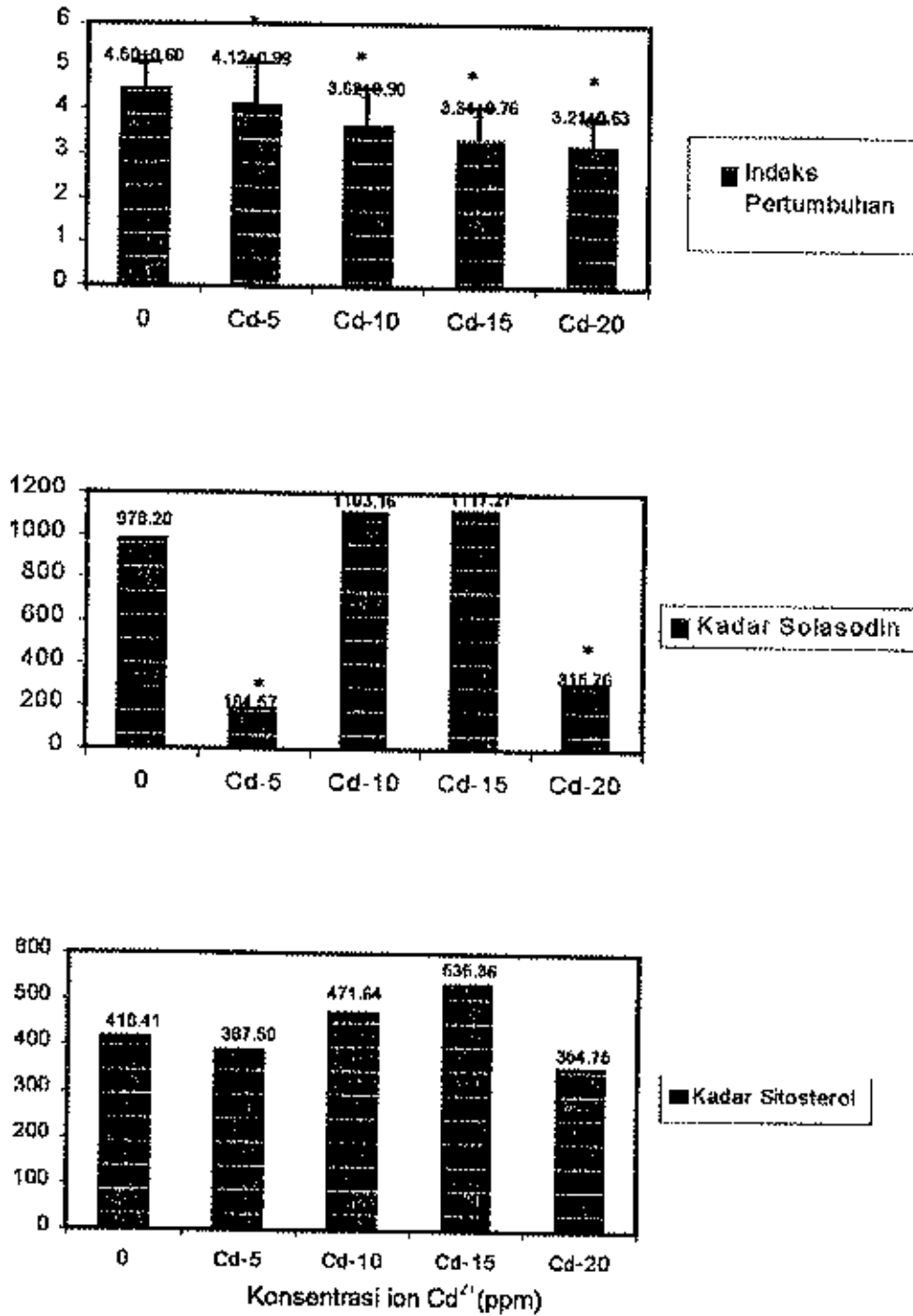
* : variasi rata-rata = 89,5 – 110,1%
variasi maksimal = 76,7 - 123,2%

** : variasi rata-rata = 90,2 – 109,7%
variasi maksimal = 77,0 – 122,9%



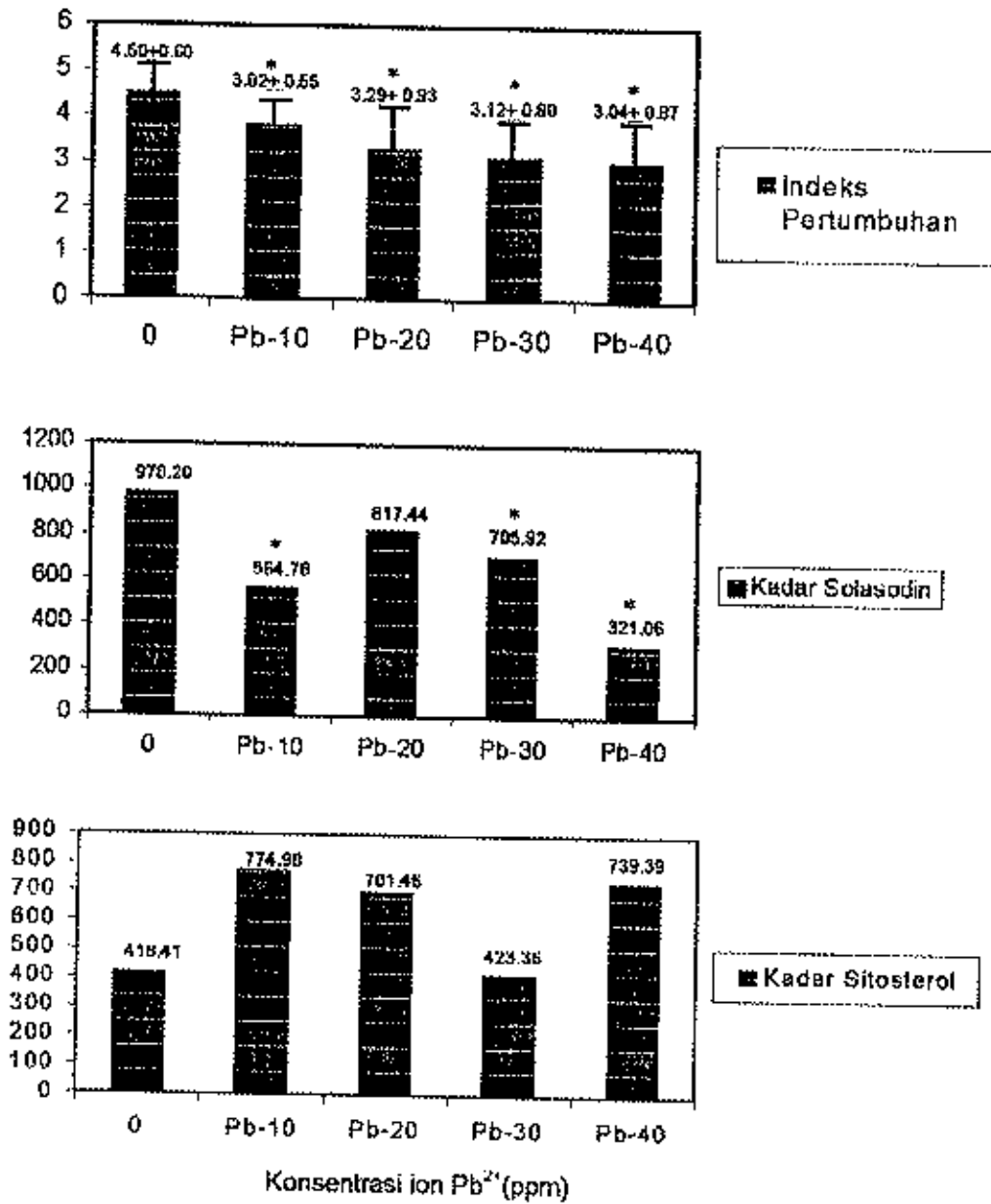
* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada $\alpha = 0.05$

Gambar 14. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11) umur 4 minggu pada media percobaan dengan berbagai konsentrasi Hg



* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada $\alpha = 0.05$

Gambar 15. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11) umur 4 minggu pada media percobaan dengan berbagai konsentrasi Cd²⁺



* = berbeda nyata dengan kontrol (0 ppm) pada $\alpha = 0.05$

Gambar 16. Histogram rata-rata Indeks Pertumbuhan, Kadar Solasodina dan Kadar Sitosterol pada Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11) umur 4 minggu pada media percobaan dengan berbagai konsentrasi Pb^{2+} .

5.6. Hasil Uji Regresi

Hasil uji regresi dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 6. Hasil uji regresi korelasi antara konsentrasi ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , dan Pb^{2+} dengan indeks pertumbuhan pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7)

Ion Logam	Model Persamaan	Probabilitas
Hg^{2+}	$Y = 5.3917 - 0.3593 x$ $r = 0.923$ F.hit = 11.546	$p = 0.076$
Cd^{2+}	$Y = 5.1370 - 0.5010 x$ $r = 0.964$ F.hit = 40.200	$p = 0.007$
Pb^{2+}	$Y = 4.6195 - 0.1857 x$ $r = 0.958$ F.hit = 34.217	$p = 0.010$

Tabel 7. Hasil uji regresi korelasi antara konsentrasi ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , dan Pb^{2+} dengan indeks pertumbuhan pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11)

Ion Logam	Model Persamaan	Probabilitas
Hg^{2+}	$Y = 4.3537 - 0.2039 x$ $r = 0.903$ F.hit = 8.858	$p = 0.096$
Cd^{2+}	$Y = 4.7660 - 0.3360 x$ $r = 0.979$ F.hit = 72.493*	$p = 0.003$
Pb^{2+}	$Y = 4.5382 - 0.2050 x$ $r = 0.962$ F.hit = 38.072*	$p = 0.008$

Tabel 8. Hasil uji regresi korelasi antara konsentrasi ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , dan Pb^{2+} dengan kadar solasodina pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7)

Ion Logam	Model Persamaan	Probabilitas
Hg^{2+}	$Y = 392.8165 + 77.7304 x$ $r = 0.577$ F.hit = 4.496	$p = 0.063$
Cd^{2+}	$Y = 930.9242 + 23.6863 x$ $r = 0.052$ F.hit = 0.027	$p = 0.871$
Pb^{2+}	$Y = 871.8680 - 35.4649 x$ $r = 0.328$ F.hit = 1.085	$p = 0.324$

Tabel 9. Hasil uji regresi korelasi antara konsentrasi ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , dan Pb^{2+} dengan kadar solasodina pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11)

Ion Logam	Model Persamaan	Probabilitas
Hg^{2+}	$Y = 851.0833 + 13.1921 x$ $r = 0.128$ F.hit = 0.117	$p = 0.741$
Cd^{2+}	$Y = 627.8008 + 31.789 x$ $r = 0.109$ F.hit = 0.109	$p = 0.748$
Pb^{2+}	$Y = 773.7670 - 31.8999 x$ $r = 0.457$ F.hit = 2.384	$p = 0.157$

*) F hitung lebih besar dari F tabel pada $\alpha = 0.05$

Tabel 10. Hasil uji regresi korelasi antara konsentrasi ion Hg^{2+} , Cd^{2+} , dan Pb^{2+} dengan kadar sitosterol pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-7)

Ion Logam	Model Persamaan	Probabilitas
Hg^{2+}	$Y = 298.999 - 55.342 x$ $r = 0.878$ F.hit = 20.260 *	$p = 0.004$
Cd^{2+}	$Y = 379.735 - 18.589 x$ $r = 0.3745$ F.hit = 1.3052	$p = 0.2863$
Pb^{2+}	$Y = 115.3964 + 89.3896 x$ $r = 0.9046$ F.hit = 36.0400 *	$p = 0.0003$

*) F hitung lebih besar dari F tabel pada $\alpha = 0.05$

Tabel 11. Hasil uji regresi korelasi antara konsentrasi ion logam Hg^{2+} , Cd^{2+} , dan Pb^{2+} dengan kadar sitosterol pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* Ait (SL-11)

Ion Logam	Model Persamaan	Probabilitas
Hg^{2+}	$Y = 421.894 - 35.635 x$ $r = 0.837$ F.hit = 14.068 *	$p = 0.010$
Cd^{2+}	$Y = 427.575 - 2.014 x$ $r = 0.035$ F.hit = 0.010	$p = 0.924$
Pb^{2+}	$Y = 545.256 - 13.805 x$ $r = 0.187$ F.hit = 0.291	$p = 0.604$

*) F hitung lebih besar dari F tabel pada $\alpha = 0.05$

Tabel 12. Prosentase penurunan IP rata-rata pada *Solanum laciniatum* (SL-7) dan *Solanum laciniatum* (SL-11)

Jenis	Logam	Prosentase penurunan (%) n = 20	Jenis	Logam	Prosentase penurunan (%) n = 20
<i>Solanum laciniatum</i> (SL-7)	0	0	<i>Solanum laciniatum</i> (SL-11)	0	0
	Hg-10	0.86		Hg-10	26.6
	Hg-25	16.4		Hg-25	30.8
	Hg-50	62.9		Hg-50	41.1
	Cd-5	5.2		Cd-5	8.4
	Cd-10	25.1		Cd-10	19.5
	Cd-15	36.8		Cd-15	25.7
	Cd-20	38.3		Cd-20	28.6
	Pb-10	17.3		Pb-10	15.1
	Pb-20	19.7		Pb-20	26.8
	Pb-30	27.9		Pb-30	30.6
Pb-40	30.5	Pb-40	32.4		

Tabel 13. Prosentase penurunan/kenaikan solasodina pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* (SL-7) dan *Solanum laciniatum* (SL-11)

Jenis	Logam	Penurunan/kenaikan (%) n = 2 - 4	Jenis	Logam	Penurunan/kenaikan (%) n = 2 - 4
<i>Solanum laciniatum</i> (SL-7)	0	0	<i>Solanum laciniatum</i> (SL-11)	0	0
	Hg-10	-5.9		Hg-10	+2.9
	Hg-25	-31.3		Hg-25	-59.7
	Hg-50	+95.0		Hg-50	+20.0
	Cd-5	-44.7		Cd-5	-81.1
	Cd-10	+231.4		Cd-10	+12.7
	Cd-15	+42.9		Cd-15	+14.2
	Cd-20	+5.6		Cd-20	-67.7
	Pb-10	+66.2		Pb-10	-42.2
	Pb-20	-59.2		Pb-20	-16.4
	Pb-30	-17.1		Pb-30	-27.8
Pb-40	-4.6	Pb-40	-67.1		

Keterangan :

+ = kenaikan

- = penurunan

Tabel 14. Prosentase penurunan/kenaikan sitosterol pada kultur pucuk *Solanum laciniatum* (SL-7) dan *Solanum laciniatum* (SL-11)

Jenis	Logam	Penurunan/kenaikan (%) n = 2 - 4	Jenis	Logam	Penurunan/kenaikan (%) n = 2 - 4
<i>Solanum laciniatum</i> (SL-7)	0	0	<i>Solanum laciniatum</i> (SL-11)	0	0
	Hg-10	+ 31.0		Hg-10	+ 29.3
	Hg-25	+ 135.5		Hg-25	+ 70.8
	Hg-50	+ 118.8		Hg-50	+ 64.9
	Cd-5	+ 28.4		Cd-5	- 7.4
	Cd-10	+ 26.7		Cd-10	+ 12.7
	Cd-15	- 43.9		Cd-15	+ 27.9
	Cd-20	+ 1.9		Cd-20	- 63.6
	Pb-10	- 27.6		Pb-10	+ 85.2
	Pb-20	+ 64.8		Pb-20	+ 64.8
Pb-30	+ 106.5	Pb-30	+ 4.95		
Pb-40	+ 186.5	Pb-40	+ 76.7		

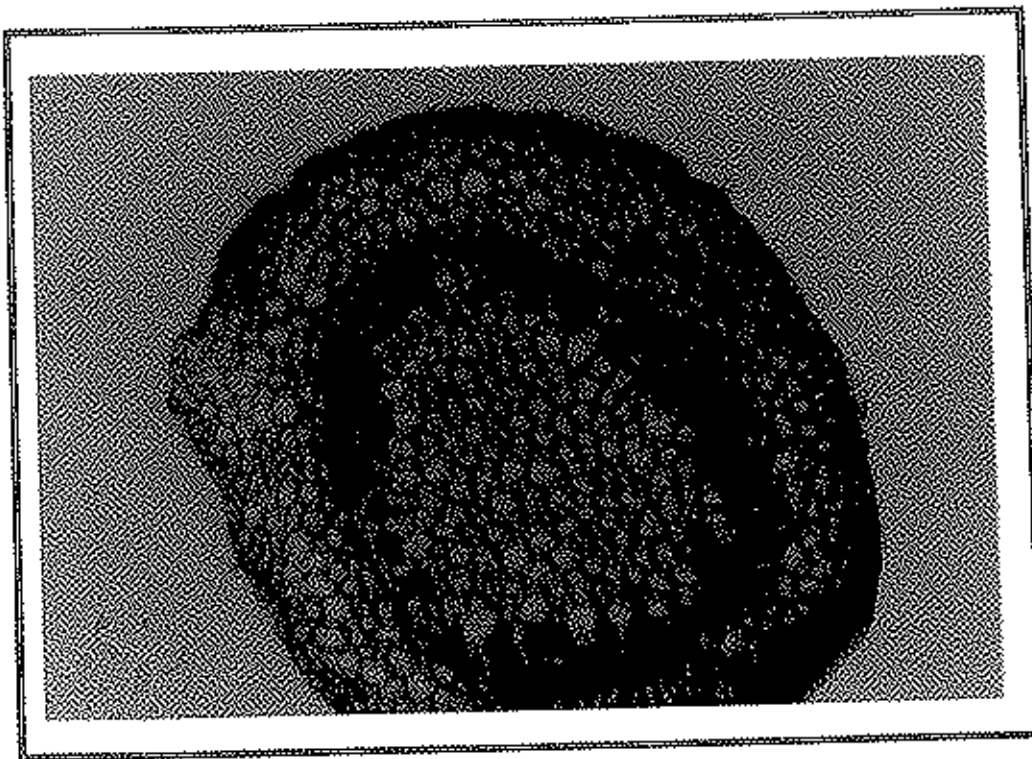
Keterangan :

- + = kenaikan
- = penurunan

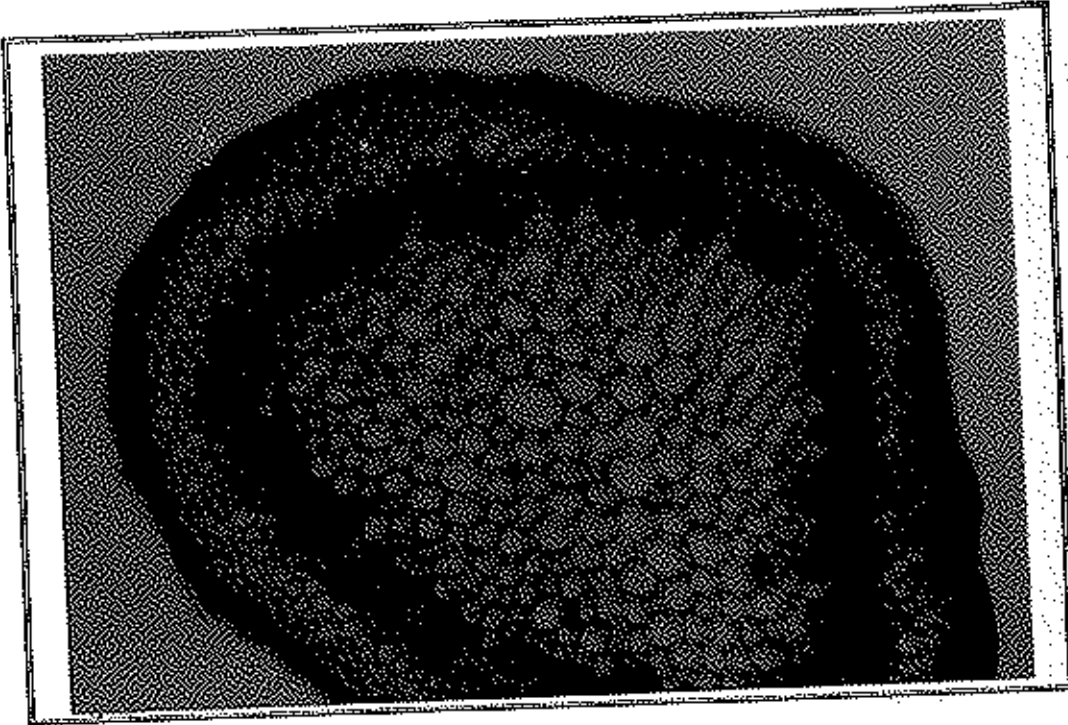
5.7. Pengamatan Mikroskopis

Pengamatan secara mikroskopis dapat ditunjukkan bahwa pada kultur pucuk yang diberi perlakuan dengan ion logam pada irisan melintang batang, sistem pembuluhnya mengalami pengembangan. Dapat dijelaskan bahwa pada irisan perlakuan dengan logam, jarak dari titik pusat ke arah silinder pembuluh lebih panjang dibandingkan dengan jarak dari titik pusat ke arah silinder pembuluh pada irisan normal. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Gori (31). Hasil pengukuran pengembangan dapat dilihat pada lampiran 25. Disamping itu pada ruang antara sel irisan batang perlakuan terdapat bintik-bintik tebal, tetapi belum jelas kebenarannya bahwa bintik itu adalah logam.

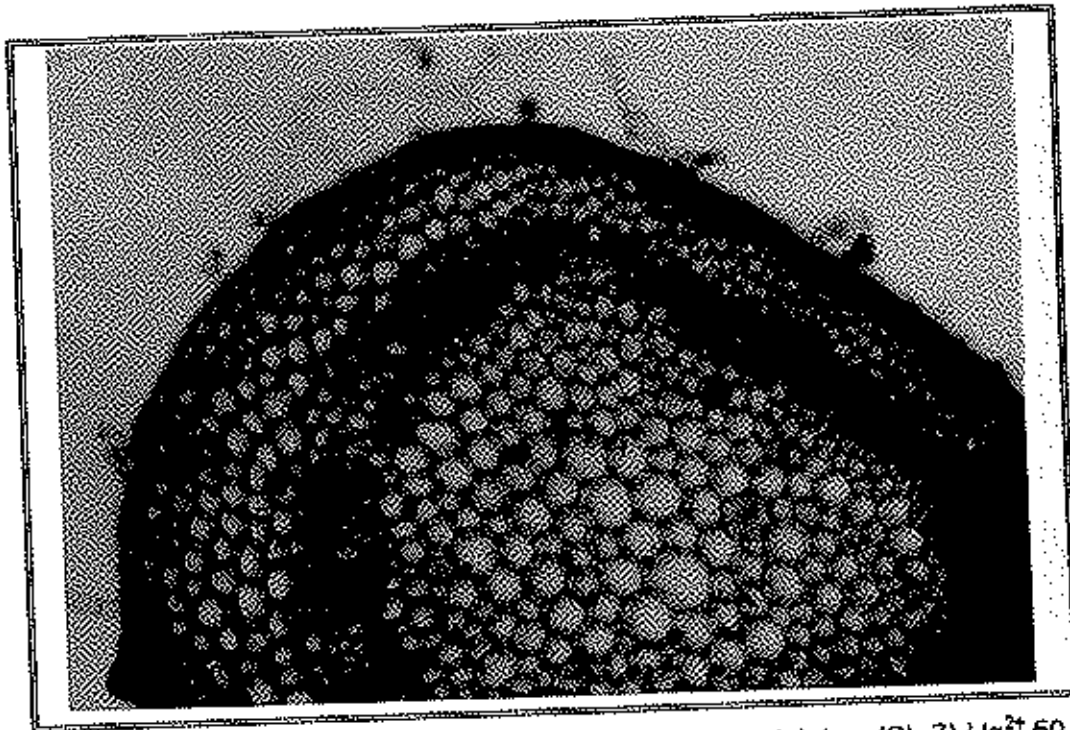
Hasil pengamatan mikroskopis dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 17. Irisan melintang batang *Solanum laciniatum* (SL-7) Normal/ kontrol dengan pembesaran 20 kali



Gambar 18. Irisan melintang batang *Solanum laciniatum* (SL-7) Cd^{2+} 20 ppm dengan pembesaran 20 kali.



Gambar 19. Irisan melintang batang *Solanum laciniatum* (SL-7) Hg^{2+} 50 ppm dengan pembesaran 20 kali.

UNIVERSITAS AIRLANGGA
PERPUSTAKAAN
Jl. M. YUSUF KAHAR
SAKRA 1, SURABAYA