

Intisari

Tembaga (Cu) merupakan salah satu mikromineral yang memiliki fungsi esensial, karena menjadi bagian dari kompleks fotosistem pada proses fotosintesis. Ion Cu²⁺ secara alamiah diserap melalui bulu akar tumbuhan dan penyerapannya dibantu oleh keberadaan mikroba pada rhizosfer. Beberapa jenis tanaman yang ditumbuhkan secara *in vitro* juga menunjukkan kemampuan menyerap ion logam. Penggunaan unsur Cu²⁺ yang berlebihan mengakibatkan cekaman bagi tumbuhan. Salah satu mekanisme tumbuhan untuk mengurangi dampak cekaman tersebut adalah menyerap dan mengakumulasinya. Kecubung (*Datura metel* L.) belum pernah dilaporkan memiliki potensi sebagai tumbuhan akumulator. Penelitian ini menggunakan kecubung yang ditanam secara *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan bahan dan komposisi medium bagi pembentukan kalus, kultur pucuk dan kecambah *in vitro* yang akan digunakan sebagai bahan uji, menganalisis banyaknya Cu²⁺ yang diserap dan diakumulasi pada semua jenis kultur berdasarkan bentuk senyawa dan konsentrasinya, mengkaji pengaruh bentuk senyawa dan konsentrasi Cu²⁺ terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur *in vitro* serta mengkaji pengaruh bentuk senyawa dan konsentrasi Cu²⁺ terhadap profil metabolit pada sampel kultur. Ruang lingkup penelitian ini adalah penggunaan kultur kalus, kultur pucuk dan kecambah *in vitro* serta kecambah *in vivo* di rumah kaca. Metoda kerja yang dilakukan adalah menginduksi kalus dan pucuk masing-masing dari eksplan daun di dalam medium Murashige&Skoog (MS). Kultur kalus diinduksi pada medium MS dengan kombinasi Kinetin 3x10⁻⁵ M dan NAA 10⁻⁵ M, sedangkan kultur pucuk diinduksi pada medium MS dengan penambahan BA 4x10⁻⁶ M. Kecambah *in vitro* diperoleh dari perkecambahan biji secara aseptik. Pengujian terhadap cekaman Cu²⁺ secara *in vitro* dilakukan pada kultur kalus, kultur pucuk dan kecambah yang ditumbuhkan di dalam medium MS dengan perlakuan 2 macam senyawa Cu (CuCl₂.2H₂O dan Na₂CuEDTA) dan 5 tingkat konsentrasi (0; 0,025; 1,25; 2,5; 3,75; dan 5 mg/L) selama 10 hari. Pengujian pada kecambah *in vivo* dilakukan dengan menumbuhkan kecambah dalam medium MS cair tanpa sukrosa dan vitamin dengan penambahan Cu²⁺. Desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor, yaitu faktor bentuk senyawa dan faktor konsentrasi Cu²⁺. Analisis kualitatif dan kuantitatif pada tahap ini meliputi variabel pertumbuhan, persentase penyerapan Cu²⁺, produksi H₂O₂, aktivitas SOD (*superoksida dismutase*), kandungan MDA (*malondialdehyde*), kandungan prolin, profil protein, dan profil metabolit pada kultur. Hasil penelitian menunjukkan akumulasi Cu²⁺ tertinggi terjadi di akar kecambah *in vivo*, sedangkan yang terendah oleh kalus. Toksisitas Cu²⁺ dapat direduksi oleh sistem pertahanan seluler, melalui peningkatan aktivitas SOD dan kandungan prolin. Kedua bentuk senyawa Cu²⁺ yang diujikan tidak menginduksi biosintesis senyawa alkaloid pada semua jenis kultur. Baik CuCl₂.2H₂O maupun Na₂CuEDTA menginduksi beberapa metabolit yang spesifik. Profil metabolit yang dihasilkan terdiri dari asam trikarboksilat, asam lemak, asam organik, hidrokarbon, senyawa amina, senyawa terpenoid dan senyawa fenol. Kalus memproduksi ragam metabolit paling banyak dibandingkan kultur yang lain. Senyawa alkaloid hanya dijumpai pada akar tumbuhan induk, sedangkan senyawa fenol hanya dijumpai pada kultur tanpa Cu²⁺. Pengujian dengan Na₂CuEDTA 3,75 mg/L menginduksi metabolit skualen pada kultur kalus dan kultur pucuk. Kesimpulannya, semua kultur mampu menyerap dan mengakumulasi kedua bentuk senyawa Cu²⁺. Kalus, kultur pucuk, kecambah *in vitro* dan



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

**PENYERAPAN DAN AKUMULASI TEMBAGA (Cu²⁺) PADA KULTUR *Datura metel* L. IN VITRO SERTA
PENGARUHNYA PADA
PROFIL METABOLIT**

YULITA NURCHAYATI, Dr. rer.nat. Ari Indrianto, S.U.

Universitas Gadjah Mada, 2017 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

kecambah *in vivo* menunjukkan toleransi yang tinggi terhadap Cu²⁺ pada konsentrasi 5 mg/L. Kedua macam senyawa Cu menginduksi beragam metabolit pada kultur *in vitro*.

Kata kunci: penyerapan tembaga (Cu²⁺), kalus, akumulator logam, profil metabolit.

Abstract

Copper (Cu) is one of the essential micro-minerals for plants, which take part of photosystem complex in photosynthesis. Naturally, ion Cu²⁺ is absorbed by plant roots with microbial associated in the rhizosphere. Some of plant species grown *in vitro* showed their ability to absorb metal ions. Excess Cu²⁺ leads to stress effect for plants. The plants absorb and accumulate Cu²⁺ into cells as one of mechanisms to reduce the stress effect. The potency of Amethyst (*Datura metel* L.) as Cu²⁺ accumulator has never been reported yet. This research was aimed to determine the material and medium composition for callus culture induction, shoot culture and *in vitro* seedlings of *D. metel* L., examine the amount of two kinds of Cu²⁺ absorbed and accumulated in all of cultures, to study the effect of both Cu compounds to the growth and development of cultures, as well as to observe towards its metabolite profiles. The scope of this research is the use of *in vitro* culture including callus, shoots, and seedlings culture and also *in vivo* seedling in a greenhouse. Research methodology which was carried out consists of callus and shoots induction derived from leaf explants in Murashige&Skoog (MS) medium. Callus culture was induced in MS medium that combined with Kinetin 3x10⁻⁵ M and NAA 10⁻⁵ M, while shoots culture was induced in MS medium by addition of BA 4x10⁻⁶ M. *In vitro* seedlings were derived from aseptic seed germination. Examination of *in vitro* Cu²⁺ stress treatment was performed on callus, shoots, and seedlings culture which were grown in MS medium with two kinds of Cu compound (CuCl₂.2H₂O and Na₂CuEDTA) and 5 concentration levels (0; 0.025; 1.25; 2.5; 3.75; and 5 mg/L) for 10 days. Examination of *in vivo* seedlings was performed on seedlings which were grown in liquid MS medium + Cu without sucrose and vitamin. Research design was Completely Randomized Design (CRD) with two factors i.e. kinds of Cu compound and level of concentrations. Qualitative and quantitative analysis included growth variable, percentage of Cu²⁺ absorption, H₂O₂ production, SOD (*superoxide dismutase*) activity, MDA (*malondialdehyde*) content, proline levels, protein profile, and metabolite profiles of various cultures prepared. The results showed that the highest Cu²⁺ accumulation was performed by *in vivo* root seedling, while callus showed the opposite. Cu²⁺ toxicity can be reduced by the cellular defense system, through increased SOD activity and proline content. Both of the tested Cu compounds were not able to induce the biosynthesis of alkaloids in all cultures. Otherwise, it induced some specific metabolites. The metabolite profile obtained comprises tricarboxylic acids, fatty acids, organic acids, hydrocarbons, amines, terpenoids and phenols. Callus produced the most various metabolites compared to other cultures. Alkaloids were found only in the root of intact plant, whereas phenols were found only in cultures without Cu. Examination of Na₂CuEDTA at 3.75 mg/L in callus and shoots culture showed potential to induce squalene biosynthesis. In conclusion, all cultures were able to absorb and accumulate both kinds of Cu

compounds. Besides, all cultures showed high tolerance to Cu²⁺ at 5 mg/L. *In vitro* cultures produced various metabolites by all of Cu compounds treatment.

Keywords: Copper absorption (Cu²⁺), callus, metals accumulator, metabolites profile