

**INDUKSI AKAR RAMBUT *Ophiorrhiza bracteata* Korth.
YANG DITRANSFORMASI T-DNA PLASMID Ri *Agrobacterium*
rhizogenes PADA BEBERAPA JENIS MEDIUM**

SKRIPSI SARJANA BIOLOGI

OLEH:

**KARDINAL
B.P. 02133063**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG, 2007**

ABSTRAK

Penelitian tentang induksi akar rambut *Ophiorrhiza bracteata* Korth, yang ditransformasi T-DNA plasmid Ri *Agrobacterium rhizogenes* pada beberapa jenis medium telah dilakukan pada bulan Januari sampai Juni 2007 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Kultur Jaringan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Padang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh jenis medium yang sesuai untuk menginduksi akar rambut *O. bracteata* yang ditransformasi T-DNA plasmid Ri *A. rhizogenes* Galur LBA 9457. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan. Sebagai perlakuan adalah empat jenis medium kultur yaitu medium Murashige Skoog (MS), MS ½ hara makro, Gamborg (B5) dan Woody Plant Medium (WPM). Dari hasil penelitian diperoleh medium terbaik untuk menginduksi akar rambut *O. bracteata* adalah medium MS. Hasil uji GUS membuktikan akar rambut *O. bracteata* telah terintegrasi dengan T-DNA plasmid Ri *A. rhizogenes* galur LBA 9457.

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Ophiorrhiza merupakan tumbuhan yang termasuk kedalam kelompok Rubiaceae (Becker, 1963). Penelitian terhadap tumbuhan hutan Sumatera yang telah dilakukan meliputi inventori, survey etnobotani dan fitokimia ditemukan beberapa jenis *Ophiorrhiza* yang memperlihatkan aktifitas biologis dan telah lama digunakan sebagai obat tradisional untuk infeksi kulit kepala dan diketahui juga mempunyai aktivitas nyata terhadap virus (Arbain, 2002). Hasil penelitian yang telah dilakukan Cordel (1981), *Ophiorrhiza mungos* mengandung Alkaloid CPT (Camptothecin) yang aktif terhadap beberapa jenis kanker dan virus.

Tumbuhan *Ophiorrhiza* diketahui menghasilkan senyawa CPT. Namun kondisi alam seperti faktor tempat tumbuh, cuaca dan hama penyakit menjadi kendala utama dalam penyediaan senyawa ini, sehingga suatu metoda yang lebih stabil dalam produksi CPT sangat dibutuhkan (Watase *dkk.*, 2004). Hasil penelitian Saito *dkk.* (2001) memperlihatkan bahwa CPT yang dihasilkan dari kultur akar rambut *Ophiorrhiza pumila* cukup memuaskan. Hal ini menjadi dasar untuk mengembangkan penelitian tentang akar rambut dari *Ophiorrhiza* yang tersebar di Sumatera Barat.

Kultur akar rambut adalah kultur yang diperoleh dari hasil transformasi dengan *Agrobacterium rhizogenes*. *Agrobacterium rhizogenes* merupakan bakteri tanah yang secara alami menyebabkan penyakit berupa terbentuknya akar rambut pada tanaman dikotil. Adanya plasmid Ri (*root inducing plasmid*) didalam sel *A. rhizogenes* mengakibatkan terjadinya transformasi dengan masuknya bagian dari T-DNA sel bakteri kedalam DNA sel tanaman dan menyebabkan terbentuknya akar

rambut pada bagian tanaman yang diinfeksi. Hasil transformasi yang berupa akar rambur dapat ditumbuhkan secara *in vitro* (Tsugawa, Kagami dan Suzuki, 2004).

Beberapa faktor diketahui mempengaruhi keberhasilan dan efisiensi transformasi melalui *Agrobacterium*, salah satunya adalah komposisi medium kultur yang digunakan (Giri dan Narasu, 2000). Beberapa jenis medium memberikan pengaruh yang nyata terhadap induksi akar rambur. Pemilihan media dasar Murashige dan Skoog (MS), Gamborg (B5) dan Woody Plant Medium (WPM) sebagai medium untuk induksi akar rambur adalah karena ketiga medium ini umum telah sering digunakan dalam kultur jaringan. Perbedaan utama dari ketiga jenis medium tersebut terletak pada konsentrasi nitrogen yang digunakan dan konsentrasi beberapa unsur lainnya (Gunawan, 1988).

Penelitian terhadap dua jenis kina (*Cinchona ledgeriana* dan *C. succirubra*) hasil transformasi plasmid *A. rhizogenes* galur LBA 9457, diketahui medium MS ½ hara makro merupakan medium terbaik untuk induksi akar rambur (70%), pertumbuhan dan produksi alkaloid kinolin dari kedua jenis kina tersebut (Noli, 2004). Ercan *dkk.* (1999), menyatakan bahwa medium MS memberikan hasil terbaik untuk induksi (75%) dan memproduksi anthroquinone dari kultur akar rambur *Rubia tinctorum*. Watase *dkk.* (2004), melaporkan bahwa medium B5 merupakan medium yang terbaik untuk induksi akar rambur (65%), pertumbuhan dan menghasilkan camptothecin lebih tinggi pada tanaman *Ophiorrhiza pumila*.

Penelitian tentang akar rambur *Ophiorrhiza* khususnya *Ophiorrhiza bracteata* yang tersebar di Sumatera Barat yang berkaitan dengan produksi metabolit sekunder masih belum banyak. Penelitian ini merupakan tahap awal dari serangkaian penelitian untuk menghasilkan teknologi kultur akar rambur *Ophiorrhiza* untuk produksi metabolit sekunder.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang induksi akar rambut *Ophiorrhiza bracteata* yang ditransformasi T-DNA plasmid Ri *Agrobacterium rhizogenes* Galur LBA 9457 pada beberapa jenis medium, dapat ditarik kesimpulan bahwa dari ke empat jenis medium yang diujicobakan yaitu MS, MS ½ hara makro, B5 dan WPM, didapatkan bahwa medium yang terbaik dalam menginduksi akar rambut *O. bracteata* adalah medium MS. Dari uji GUS membuktikan bahwa akar rambut *O. bracteata* telah terintegrasi dengan T-DNA plasmid Ri *A. rhizogenes* galur LBA 9457.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk selanjutnya dilakukan optimalisasi medium (optimalisasi unsur N dan vitamin) dan penambahan senyawa asetosiringon untuk meningkatkan induksi, pertumbuhan akar rambut dan meningkatkan efisiensi transfer T-DNA plasmid Ri dari *Agrobacterium* ke sel tanaman. Untuk mengetahui transformasi yang lebih akurat sebaiknya digunakan uji hibridisasi molekuler atau teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

DAFTAR PUSTAKA

- Arbain, Dayar. 1991. *Penelitian Kimia Beberapa Jenis Tumbuhan Ophiorrhiza yang Terdapat di Sumatera Barat II*. Laporan Penelitian. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang.
- Arbain, Dayar. 2002. *Dua dekade Penelitian Kimia Tumbuhan Sumatera; Suatu Studi Kasus. Makalah pada Seminar MIPA III-ITB*. Bandung. 22-23 Oktober 2002.
- Backer, C. A. And V. D. B. Bakhuizen. 1965. *Flora of Java Vol.III*. N. V. P. Noordhoff Groingen. The Netherland.
- Baron, C. and P. C. Zambryski. 1995. Notes from The Underground. High lights from Plant-microbe Interaction. *Tibtech*. **13**: 356-361.
- Bais, Harst P., R. Venkatesh, A. Chandrashekar and G. Ra Vishankar. *Agrobacterium rhizogenes* Mediated Transformation Witloof Chicory *In vitro* Shoot Regeneration and Inducing of Flowering. *Research Communications*. **80**: 83.
- Bajaj, Y. P. S. and K. Ishimaru. 1999. Genetic Transformation of Medical Plant. *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Transgenic Medical Plants*. Spring-verlag. Berlin. 3-7.
- Dachriyanus, D. Arbain and M. V. Sargen. 2000. Alkaloids from Sumatran *Ophiorrhiza* Species. *ACGC Chemical Research Communications*. **11**: 8-14.
- Doran, P. M. dan D. Sukmadjaja. 2001. Kinetik dan Karakteristik Pertumbuhan Kultur Akar Berambut Dari Beberapa Genotipe *Arabidopsis Thaliana*. *Bioteknologi Pertanian*. **6**: 67-73.
- Ercan, G. A., M. Taskin., K. Turgut and S. Yuce. 1999. *Agrobacterium rhizogenes*-Mediated Hairy root Formation in Some *Rubia tinctorum* L. Populations Grown in Turkey. *Research Article*. **23**: 373-377.
- Ermayanti, T. M., L. Sari., E. M. R. Siregar. dan D. Sudrajat. 2000. Transformasi Mimba (*Azadirachta indica* A. JUSS.) Dengan *Agrobacterium rhizogenes*. Galur ATCC 15834. *Puslitbang Bioteknologi*. LIPI. Cibinong.
- Gelvin, S. B. 2000. *Agrobacterium* and Plants. Genes Involved in T-DNA Transfer and Integration. *Annu Rev Plant Mol*. **51**: 223-256.