

INDUKSI AKAR RAMBUT BEBERAPA EKSPLAN
Ophiorrhiza communis Rild. HASIL TRANSFORMASI T-DNA
PLASMID Ri *Agrobacterium rhizogenes*

SKRIPSI SARJANA BIOLOGI

OLEH :

HARRYNALDI HAMDI
B.P. 02133045



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

ABSTRAK

Penelitian tentang Induksi akar rambut beberapa eksplan *Ophiorrhiza communis* Rild. hasil transformasi T-DNA plasmid Ri *Agrobacterium rhizogenes* telah dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan/ Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, dari bulan Januari sampai Agustus 2006. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh sumber eksplan terbaik untuk pembentukan akar rambut *O. communis* hasil transformasi T-DNA plasmid Ri *A. rhizogenes*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 9 ulangan. Sebagai perlakuan adalah beberapa eksplan yaitu tunas apikal, daun dan internodus. Dari hasil penelitian diperoleh eksplan tunas apikal merupakan eksplan terbaik dalam membentuk akar rambut *O. communis*. Waktu inisiasi akar rambut pada tunas apikal adalah 14-18 hari, internodus 17-27 hari dan daun 23-24 hari. Persentase eksplan yang muncul akar rambut pada tunas apikal adalah 88,89%, internodus 44,44% dan daun 22,22%. Persentase jumlah eksplan yang hidup pada tunas apikal adalah 88,89%, internodus 44,44% dan daun 22,22%. Rata-rata bobot basah pada tunas apikal adalah 2,71 mg, internodus 0,89 mg dan daun 0,5 mg. Hasil uji GUS membuktikan akar rambut *O. communis* telah terintegrasi dengan T-DNA Plasmid Ri *A. rhizogenes*.

I. PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Ophiorrhiza merupakan tumbuhan herba yang termasuk ke dalam kelompok famili Rubiaceae (Becker, 1963). Dari hasil penelitian Saito, Yamazaki, Nakamura, Kitajima, Takayama, dan Aimi (2001), terhadap *Ophiorrhiza pumila*, ditemukan Camptothecin (CPT) yang merupakan metabolit sekunder yang tergolong ke dalam kelompok alkaloid indol monoterpenoid. Derivat Camptothecin dipakai secara klinik untuk mengurangi kanker. Hal ini menjadi dasar untuk dikembangkannya penelitian terhadap *Ophiorrhiza* yang ada di Sumatera Barat. Rangkaian penelitian yang telah pernah dilakukan Arbain terhadap tumbuhan di Sumatera meliputi inventory, survey etnobotani dan fitokimia ditemukan beberapa jenis *Ophiorrhiza* di Sumatera Barat yang memperlihatkan aktivitas biologis dan telah lama digunakan sebagai obat tradisional untuk infeksi kulit kepala dan diketahui juga mempunyai aktivitas nyata terhadap virus (Arbain, 2002).

Kultur sel dan kultur jaringan dari berbagai tanaman sebagai sumber alternatif untuk memperoleh metabolit sekunder ini sudah pernah dilakukan tetapi hasilnya belum memuaskan. Kemungkinan sistem produksi yang lebih prospektif yaitu secara *in vitro* dilaporkan Saito *dkk* (2001), yaitu dengan memanfaatkan teknik kultur akar rambut (Watase *dkk*, 2004).

Kultur akar rambut diperoleh dengan menginokulasikan suspensi bakteri *Agrobacterium rhizogenes* pada bahagian tanaman yang dilukai (Wattimena, 1991). Akar rambut hasil transformasi tersebut diperoleh akibat proses transfer T-DNA (Transfer DNA) dari plasmid Ri (*root inducing plasmid*) *A. rhizogenes* ke genom tanaman. Kultur akar rambut hasil transformasi lebih menguntungkan karena dapat

dikulturkan dalam media tanpa penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Bais *dkk*, 2001).

Kultur akar rambut merupakan metode yang ideal untuk mempelajari kandungan senyawa aktif yang diproduksi tanaman karena akar rambut dapat melakukan sintesis senyawa aktif yang diinginkan, tumbuh stabil dalam media *in vitro* (Savary and Flores, 1994 *dalam* Sukma *dkk*, 2003), dan mudah dimanipulasi untuk meningkatkan produksi biomassa atau senyawa aktif yang diinginkan. Manipulasi yang dapat dilakukan antara lain ialah seleksi galur akar rambut yang produktif, kondisi optimum media kultur, dan induksi produksi senyawa aktif dengan perlakuan elisitasi (Fu, 1999 *dalam* Sukma *dkk*, 2003)

Beberapa faktor diketahui mempengaruhi keberhasilan dan efisiensi transformasi melalui *Agrobacterium* antara lain adalah kondisi kultur jaringan dan kondisi ko-kultivasi, kesesuaian galur bakteri dengan tanaman, komposisi medium kultur yang digunakan dan pemilihan jaringan sebagai materi awal (sumber eksplan) (Giri dan Narasu, 2000). Pemilihan sumber eksplan sangat berpengaruh dalam keberhasilan kultur akar rambut, dari penelitian yang telah dilakukan Herlina (1995), terhadap tanaman Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) eksplan daun merupakan eksplan terbaik untuk menginduksi akar rambut. Hasil penelitian Watase *dkk* (2004), terhadap tanaman *O. pumila* eksplan yang digunakan adalah tunas pucuk sebagai eksplan terbaik. Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap dua jenis kina (*Chincona ledgeriana* dan *C. succirubra*) (Rubiaceae) diketahui bahwa eksplan yang berasal dari tunas apikal dan daun *in vitro* merupakan sumber eksplan terbaik untuk membentuk akar rambut dan produksi alkaloid kinolina kedua jenis kina (Noli, 2004).

Penggunaan tunas pucuk sebagai sumber eksplan terbaik oleh Watase *dkk* (2004) terhadap *O. pumila* mungkin akan memberikan gambaran yang sama terhadap

induksi akar rambut jenis *Ophiorrhiza* yang ada di Sumatera Barat salah satunya yaitu *Ophiorrhiza communis*. *Ophiorrhiza communis* merupakan jenis *Ophiorrhiza* yang penyebarannya sangat luas. Menurut penelitian Supriyati (1999), bahwa *O. communis* dapat ditemukan dipinggir sungai, tepi pantai yang bercirikan permukaan daun sebelah atas mengkilat, tangkai bunga sangat panjang, bunga kecil-kecil berwarna putih.

Penelitian tentang pembentukan akar rambut dari *Ophiorrhiza* khususnya jenis-jenis *Ophiorrhiza* yang tersebar di Sumatera Barat yang berkaitan dengan produksi metabolit sekunder masih belum banyak. Penelitian ini merupakan tahap awal dari serangkaian penelitian yang direncanakan untuk menghasilkan teknologi kultur akar rambut *Ophiorrhiza* untuk produksi metabolit sekunder. Oleh karena itu kesenjangan informasi mengenai pembentukan akar rambut *Ophiorrhiza* perlu diisi dengan hasil penelitian, khususnya tentang faktor-faktor yang mempengaruhi transformasi, salah satunya adalah mengetahui sumber eksplan terbaik dari *O. communis* untuk memperoleh klon akar rambut yang berpotensi dalam menghasilkan metabolit sekunder.

1.2. Perumusan masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas serta mengingat prospek dari kultur akar rambut *O. communis* dan belum banyaknya informasi tentang tumbuhan tersebut, maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu apakah diperoleh jenis eksplan sebagai sumber eksplan terbaik untuk pembentukan akar rambut *O. communis* hasil transformasi T-DNA plasmid Ri *A. rhizogenes*.

1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh sumber eksplan terbaik untuk pembentukan akar rambut *O. communis* hasil transformasi T-DNA plasmid Ri *A. rhizogenes*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan berupa penerapan yang lebih luas berbagai teknik yang berkaitan dengan transgenik tanaman, dalam hal ini kultur akar rambut *Ophiorrhiza*. Disamping itu, penelitian dapat dijadikan landasan dalam kerangka pengembangan teknologi metabolit sekunder dan juga sebagai landasan memproduksi metabolit sekunder tanaman jenis lain secara *in vitro*.

1.4. Hipotesis

Tunas apikal merupakan eksplan terbaik untuk membentuk akar rambut *O. communis* hasil transformasi T-DNA plasmid Ri *A. rhizogenes*.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai induksi akar rambut dari beberapa eksplan *Ophiorrhiza communis* hasil transformasi dengan plasmid Ri *Agrobacterium rhizogenes*, dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa eksplan tunas apikal merupakan eksplan terbaik dalam menginduksi akar rambut; berdasarkan waktu inisiasi akar rambut yaitu dalam kisaran waktu 14-18 hari, diikuti eksplan internodus yaitu 17-27 hari dan eksplan daun yaitu 23-24 hari. Persentase rata-rata munculnya akar rambut dari eksplan tunas apikal adalah 88,89%, eksplan internodus 44,44% dan eksplan daun 22,22%. Persentase rata-rata eksplan yang hidup dari eksplan tunas apikal adalah 88,89%, dari eksplan internodus 44,44% dan eksplan daun 22,22%. Rata-rata bobot basah akar rambut eksplan tunas apikal adalah 2,71 mg, eksplan internodus 0,89 mg dan daun 0,5 mg.

DAFTAR PUSTAKA

- Arbain, D., D. P. Putra and M. V. Sargent. 1991. Tetrahydroalstonine from *Ophiorrhiza discolor*. *Plant Med.*, 57 : 396
- Arbain, D., Deny Susanti, Siti Gemala, M. Taher, M. Husni Mukhtar and M. V. Sargent. 1998. The Alkaloid of Three *Ophiorrhiza* species. *ACGC Chemical Research Communications*. Vol. 7. Page 44.
- Arbain, D. 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 R. C. Bakhuizen Van Den Brink. 1963. Flora of Java. Vol. 2. N. V. P. Noordhoff Groingen, The Netherlands. Hal 284-290.
- Bais, Harst P., R. T. Venkatesh, Arun Chandrashekar and G. A. Ra Vishankar. (2001). *Agrobacterium rhizogenes* Mediated Transformation of 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 Medicinal Plant. In Bajaj, Y. P. S (eds) *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Transgenic Medicinal Plants*. Springer-verlag. Berlin. 3-7.
- Dachriyanus, D. Arbain and M. V. Sargent. 2000. Alkaloid from Sumatran *Ophiorrhiza* Species. *ACGC Chemical Research Communications*. 11: 8.
- Djasrizal. 1990. *Respon Pertumbuhan Potongan Jaringan Tunas Rhizom Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) Pada Medium Murashige dan Skoog*. Tesis Sarjana Biologi FMIPA Universitas Andalas. Padang. (Tidak dipublikasikan)
- Dramayanti, S. 2006. Induksi Akar Rambut *Ophiorrhiza communis* Rild. dengan Beberapa Galur *Agrobacterium rhizogenes* Conn. Secara *in vitro*. Skripsi Sarjana Biologi FMIPA Universitas Andalas. Padang. (Tidak dipublikasikan)
- Gelvin, S. B. 2000. *Agrobacterium* and Plants Genes Involved in-TDNA Transfer and Integrasi. *Annu Rev Plant Mol Biol* 51: 223-256
- Giri, A., and M. L. Narasu. 2000. Transgenic Hairy Roots : Recent Trends and Applications. *Biotechnology Advances*. 18: 1-22.
- Giri, A., Sarish T. R. , Vikas Dhingra and M. L. Narasu. 2001. Influence of Different Strains of *Agrobacterium rhizogenes* on Induction of Hairy Roots and