

INDUKSI AKAR RAMBUT TANAMAN *Uncaria gambir* Roxb
DENGAN PLASMID Ri BEBERAPA GALUR *Agrobacterium rhizogenes*

SECARA *In Vitro*

SKRIPSI SARJANA KIMIA

Oleh

DESRINA
02 132 018



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG

2006

TANGGAL :
NOMOR :

ABSTRAK

INDUKSI AKAR RAMBUT TANAMAN *Uncaria gambir* Roxb DENGAN PLASMID Ri BEBERAPA GALUR *Agrobacterium rhizogenes* SECARA *In Vitro*

Oleh

Desrina

Sarjana Sains (SSi) dalam Bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Andalas
Dibimbing oleh Prof. Dr. Sumaryati Syukur, MSc dan Dr. Zozy Aneloi Noli, MP

Penelitian mengenai induksi akar rambut tanaman *U. gambir* Roxb melalui transformasi gen *Agrobacterium rhizogenes* ke dalam kromosom tanaman telah dilakukan pada bulan Februari sampai Juli 2006 di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia dan Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan galur *A. rhizogenes* yang terbaik untuk induksi akar rambut tanaman *U. gambir* Roxb dan untuk mengetahui kandungan katekin dari tanaman *U. gambir* Roxb hasil transformasi. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan. Sebagai perlakuan adalah inokulasi dengan *A. rhizogenes* galur A4, LBA 9457, ATCC 15834 dan tanpa inokulasi sebagai kontrol. Metoda spektrofotometri digunakan untuk menentukan kandungan katekin. Hasil menunjukkan ketiga galur *A. rhizogenes* mampu menginduksi akar rambut tanaman *U. gambir* Roxb dengan galur terbaik adalah ATCC 15834. Kandungan katekin 0,596% didapatkan dari pengukuran absorban ekstrak tanaman *U. gambir* Roxb hasil transformasi pada panjang gelombang 280 nm.

Kata Kunci : *Uncaria gambir* Roxb, *Agrobacterium rhizogenes*, kultur akar rambut, katekin.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) merupakan tanaman dari keluarga Rubiaceae, sejenis perdu dengan tinggi 1,5-2 m yang banyak ditemukan di Indonesia, Semenanjung Malaka dan Dataran Cina. Tanaman gambir merupakan komoditas ekspor Sumatera Barat dan menjadi salah satu komoditas perkebunan cukup penting dengan produksi 3.403 ton, dimana sebanyak 3.084 ton diekspor ke mancanegara dengan nilai US\$ 6.858.000 (Kanwil Deptan Sumbar, 1991 *dalam* Idris dan Adria, 1997). Daerah sentra produksi tanaman ini adalah Kabupaten 50 Kota dan Kabupaten Pesisir Selatan. Tanaman ini merupakan tanaman perkebunan rakyat secara turun temurun sejak 16 abad yang lalu (Munir, 2000)

Bagian tanaman gambir yang mempunyai nilai ekonomis adalah getahnya yang mengandung zat penyamak (katekin) (Zamarel dan Hadad, 1991). Senyawa ini digunakan untuk ramuan makan sirih, obat-obatan, penyamak kulit, pewarna tekstil, campuran cat, kosmetik dan pembuatan bir. Komponen lain tanaman gambir adalah tanin, kuersitin dan alkaloid (Risfaheri dkk, 1991 *dalam* Idris dan Adria, 1997). Sebagai bahan obat, importir gambir dari Indonesia di Jerman Barat mensyaratkan kadar katekin 40-60%, sedangkan PT. Ciba Geigy, salah satu perusahaan yang bergerak di bidang farmasi mensyaratkan kadar katekin minimum 60,5% (Daswir dkk, 2003). Sampai saat ini, produksi katekin masih berasal dari tanaman asli di lapangan, kondisi alam seperti faktor cuaca dan hama penyakit menyebabkan produksi menjadi tidak optimal (Salim, 1998). Untuk itu dibutuhkan suatu metode yang menguntungkan dalam penyediaan senyawa ini.

Pemanfaatan bioteknologi seperti teknik kultur jaringan untuk produksi metabolit sekunder terus berkembang. Hal ini karena produksi metabolit sekunder melalui kultur jaringan dianggap sebagai pilihan yang memberikan harapan

dibandingkan produksi tanaman utuh. Kultur jaringan tanaman merupakan teknik menumbuhkembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik ini didasari oleh sifat totipotensi sel tanaman dan dicirikan oleh kondisi kultur yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan zat pengatur tumbuh (ZPT) (Yusnita, 2003).

Kultur akar rambut sebagai salah satu bentuk dari teknik kultur jaringan merupakan hasil transformasi secara genetik menggunakan *Agrobacterium rhizogenes*. Kultur akar rambut memberikan banyak keuntungan, antara lain mempunyai kemampuan biosintesis seperti pada akar tanaman normal dengan laju pertumbuhan jauh lebih cepat dibanding akar normal atau sama dengan kultur suspensi sel (Flores dan Filner, 1985 dalam Sukmadjaja dan Doran, 2001), serta mampu mengekspresikan pembentukan produk metabolit secara stabil sepanjang periode kultur (Rhodes *dkk.*, 1990 dalam Sukmadjaja dan Doran, 2001). Pada beberapa tanaman, produksi metabolit sekunder dilaporkan lebih tinggi pada akar rambut dibandingkan dengan akar dari tanaman normal atau yang diproduksi dari tanaman asalnya (Ermayanti, 2000).

Hasil penelitian Noli (2004) terhadap tanaman kina memperlihatkan bahwa metabolit sekunder yang dihasilkan dari kultur akar rambut *Cinchona ledgeriana* dan *Cinchona succirubra* cukup memuaskan. Hal ini menjadi dasar untuk mengembangkan penelitian tentang kultur akar rambut dari *Uncaria gambir* Roxb yang tersebar di Sumatera Barat.

Agrobacterium rhizogenes merupakan bakteri tanah yang secara alami menyebabkan penyakit berupa terbentuknya akar rambut pada berbagai tanaman. Adanya plasmid Ri (Root inducing plasmid) di dalam sel *A. rhizogenes* mengakibatkan terjadinya transformasi dengan masuknya bagian T-DNA sel bakteri ke dalam DNA sel tanaman dan menyebabkan terbentuknya akar rambut pada bagian tanaman yang diinfeksi. Hasil transformasi yang berupa akar rambut dapat ditumbuhkan secara *in vitro* dan dapat dipertahankan mempunyai sifat seperti tanamannya, walaupun sudah terbebas dari bakteri (Ermayanti, 2000).

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 yang digunakan dan pemilihan jaringan sebagai materi awal (Giri dan Narasu, 2000). Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap dua jenis kina (*Cinchona ledgeriana* dan *C. succirubra*) diketahui bahwa dari 10 galur yang diuji, hanya *A. rhizogenes* galur LBA 9457 yang mampu menginduksi akar rambut kedua jenis kina (Noli, 2004). Mei dkk (2001) dalam penelitiannya menyatakan bahwa untuk *A. rhizogenes* galur A4 pada medium MS bebas hormon, setelah diinokulasi bagian kotiledon dan hipokotil dari *Alhagipseudoalhagi* menunjukkan bahwa sejumlah akar rambut dapat dilihat pada daerah infeksi dalam waktu 10 hari. Sedangkan Ermayanti dkk (2000) dalam hasil penelitiannya menunjukkan bahwa *A. rhizogenes* galur ATCC 15834 telah berhasil menginduksi akar rambut dari eksplan daun.

Penelitian tentang *Uncaria gambir* Roxb berkaitan dengan produksi metabolit sekunder masih belum dilakukan. Oleh karena itu dirasa perlu memberikan informasi mengenai kultur akar rambut tanaman ini. Penelitian ini merupakan tahap awal dari serangkaian penelitian untuk menghasilkan teknologi kultur akar rambut *U. gambir* Roxb, khususnya penggunaan beberapa galur *A. rhizogenes* untuk mendapatkan galur yang terbaik pada transformasi *U. gambir* Roxb dalam upaya produksi metabolit sekunder.

1.2 Perumusan Masalah

Dari berbagai penelitian kultur akar rambut melalui transformasi menggunakan *Agrobacterium* yang telah dilakukan, maka dapat dikatakan teknik ini sangat menguntungkan dalam upaya produksi metabolit sekunder tanaman. Mengingat ada beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan transformasi salah satunya kesesuaian galur *A. rhizogenes*, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu

galur *Agrobacterium rhizogenes* manakah yang dapat menginduksi akar rambut *Uncaria gambir* Roxb tipe Cubadak?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud dilaksanakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui kondisi transformasi *Uncaria gambir* Roxb dengan galur *Agrobacterium rhizogenes* yang tepat untuk mendapatkan akar rambut yang berpotensi dalam menghasilkan metabolit sekunder, dalam hal ini katekin.

1.3.2 Tujuan Penelitian

1. Menentukan galur *A. rhizogenes* yang sesuai untuk induksi akar rambut tanaman *Uncaria gambir* Roxb tipe Cubadak.
2. Menentukan kandungan katekin dari tanaman *Uncaria gambir* Roxb hasil transformasi dengan *A. rhizogenes*.

1.4 Hipotesis

Diperoleh galur *Agrobacterium rhizogenes* yang terbaik untuk menginduksi akar rambut tanaman *Uncaria gambir* Roxb tipe Cubadak dan diketahui kandungan katekin dari tanaman hasil transformasi dengan *Agrobacterium rhizogenes*.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang induksi akar rambut *Uncaria gambir* Roxb dengan beberapa galur *Agrobacterium rhizogenes* untuk produksi katekin secara *in vitro* dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Ketiga galur *Agrobacterium rhizogenes* yaitu galur A4, LBA 9457 dan ATCC 15834 dapat menginduksi akar rambut *Uncaria gambir* Roxb tipe Cubadak.
2. Dari ketiga galur *A. rhizogenes* yang telah diuji didapatkan galur yang terbaik dalam menginduksi akar rambut *U. gambir* Roxb tipe Cubadak yaitu galur ATCC 15834.
3. Kandungan katekin pada tanaman *U. gambir* Roxb hasil transformasi dengan *A. rhizogenes* adalah 0,596%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk selanjutnya dilakukan penelitian untuk mengetahui media pertumbuhan dan lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan akar rambut yang dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder *U. gambir* Roxb secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aryanti. 2001. Variasi Kandungan Artemisinin dari Akar Rambut dan Regenerasi *Artemisia Cina* Berg *ex Poljakov* Sebagai Anti Kanker. *Tesis Magister Sains*. IPB. Bogor.
- 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.
- Clifton, C. E. 1958. *Introduction to the Bacteria*. Second Edition. Mc GRAW-HILL BOOK COMPANY, INC. New York. Toronto. London.
- Daswir, Risfaheri dan Sri Yuliani. 2003. Pengolahan Getah Gambir. *Kumpulan Hasil Penelitian Kayu Manis dan Gambir*. Kebun Percobaan Laing Solok, Balai Pasca Panen dan Balitro.
- Ercan, G. A., Taskin M., Turgut, K. dan Yuce, S. 1999. *Agrobacterium rhizogenes*-Mediated Hairy Root Formation in Some *Rubia tinctorum* L. Populations Grown in Turkey. *Research Article* 23 : 373-377.
- Ermayanti, T.M., Sari, L., Suregar, E.M.R dan Sudrajat. D. 2000. Transformasi mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) dengan *Agrobacterium rhizogenes* Galur ATCC-15834. *Puslitbang Bioteknologi*, LIPI.
- Febriana, Ria. 2004. Pengaruh Suhu Alat Pengering terhadap Kemampuan Penurunan Kadar Air Awal Gambir Cetakan Super serta Mutu Gambir yang Dihasilkan. *Skripsi Sarjana Teknologi Pertanian*. Universitas Andalas. Padang.
- Giri, A. and M. L. Narasu. 2000. Transgenic Hairy Roots : Recent Trends and Applications. *Biotechnology Advances* 18 : 1-22.
- Giri, A., S. T. Ravindra., V. Dhingra and M. L. Narasu. 2001. Influence of Different Strains of *Agrobacterium rhizogenes* on Induction of Hairy Root and Artemisinin Production in *Artemisia annua*. *Current Science* 81 (4) : 378-382.
- Harlina, Dewi. 2001. Elisitasi *Agrobacterium rhizogenes* pada Kalus dan Pengujian Kestabilan Kultur Suspensi Sel Mutan *Catharantus roseus* untuk Produksi Alkaloid. *Skripsi Sarjana Kimia*. Universitas Andalas. Padang.
- Herlina N. D. 1995. Kepekaan Nilam (*Pogostemon cablin* BENTH) terhadap Infeksi *Agrobacterium rhizogenes*. IPB. Bogor.