

PERTUMBUHAN AKAR RAMBUT PURWOCENG PADA BEBERAPA KOMPOSISI MEDIA DAN SUMBER KARBON

Rohimatun dan Ireng Darwati

Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik

Jl. Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

Telp. 0251 – 8321879 E-mail : hitoxann@yahoo.com

(terima tgl. 03/09/2011 – disetujui tgl. 12/10/2011)

ABSTRAK

Purwoceng (*Pimpinella pruatjan*) merupakan tanaman asli Indonesia dan digunakan untuk afrodisiak, karena mengandung metabolit sekunder sitosterol, stigmasterol, bergapten dan saponin. Salah satu usaha untuk memproduksi metabolit sekunder purwoceng adalah dengan kultur akar rambut *in vitro*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui komposisi media dan sumber karbon terbaik terhadap pertumbuhan akar rambut purwoceng. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan dua faktor, dengan 3 ulangan. Faktor pertama yaitu 7 macam komposisi media (B5/Gamborg, DKW/Driver Kuniyaki Walnut, MS/Murashige Skoog, ½ B5, ½ DKW, ½ MS, dan MS Vit DKW). Faktor kedua yaitu 2 sumber karbon (sukrosa dan glukosa). Akar rambut dipanen pada bulan ketiga. Parameter yang diamati meliputi bobot basah dan kering akar rambut serta kandungan metabolit sekunder. Pertumbuhan akar rambut purwoceng terbaik diperoleh pada komposisi media ½ MS dengan sumber karbon sukrosa, ditunjukkan dengan penambahan bobot kering tertinggi pada bulan ketiga (0,126 g). Sukrosa adalah sumber karbon terbaik untuk pertumbuhan akar rambut purwoceng, ditunjukkan dengan penambahan bobot basah bulan kedua (0,441 g) dan ketiga (0,834 g) lebih tinggi daripada sumber karbon glukosa. Kandungan sitosterol tertinggi (0,3809%) diperoleh pada perlakuan komposisi media ½ DKW dengan penambahan sukrosa. Kandungan stigmasterol dan saponin tertinggi (8,2255 dan 4,3715

%) diperoleh pada perlakuan komposisi media ½ MS dengan penambahan sukrosa. Kandungan sitosterol, stigmasterol, dan saponin pada akar rambut purwoceng umur 3 bulan tersebut lebih tinggi 2,22, 17,03, dan 39,35 kali dibanding akar tanaman purwoceng di lapang umur 9 bulan (sitosterol 0,1558%, stigmasterol 0,4830% dan saponin 0,1111 %).

Kata kunci : Pertumbuhan, *Pimpinella pruatjan*, akar rambut, komposisi media, sumber karbon

ABSTRACT

The Growth of Pruatjan's Hairy Roots on Some Media Compositions and Carbon Sources

Pruatjan (Pimpinella pruatjan) is one of Indonesian's indigenous species use as aphrodisiac due to its secondary metabolites content such as sitosterol, stigmasterol, bergapten and saponin. An effort to produce pruatjan's secondary metabolites can be performed by hairy roots in vitro culture. The experiment was aimed to investigate the best media composition and carbon source for pruatjan's hairy roots growth. The experiment was arranged in a completely randomized factorial design with two factors, and 3 replications. First factor was media composition (B5, Driver Kuniyaki Walnut/DKW, Murashige Skoog/MS, ½ B5, ½ DKW, ½ MS, and MS Vit DKW). Second factor was 2 carbon sources (sucrose and glucose). Hairy roots were harvested at 3 month after cultured. Parameters observed were increase of fresh and dry weight of hairy

roots and its secondary metabolite content. The best of pruatjan's hairy roots growth was obtained on the media composition of ½ MS medium in sucrose carbon source, which were represented by the highest increase of hairy roots dry weight at 2nd month age (0.126 g). The sucrose was the best carbon source for the growth of pruatjan's hairy roots which were shown by the highest increase of fresh weight at 2nd (0.441 g) and 3rd (0.834 g) months of cultures. The highest content of sitosterol (0.3809%) was observed on ½ DKW medium with the addition of sucrose. Furthermore, the highest stigmasterol and saponin component were observed on ½ MS medium (8.2255% and 4.3715%) with an addition of sucrose. Those cytosterol, stigmasterol, and saponin in pruatjan's hairy roots at three months age were 2.22, 17.03, 39.35 times higher as compared to the field pruatjan's roots harvested at 9 MAP (sitosterol 0.1558%, stigmasterol 0.4830% and saponin 0.1111%).

Key words : Growth, *Pimpinella pruatjan*, hairy roots, medium composition, carbon source

PENDAHULUAN

Purwoceng merupakan tanaman asli Indonesia yang tumbuh pada ketinggian 1.800-3.500 m dpl seperti Dataran Tinggi Dieng (Jawa Tengah), Gunung Pangrango (Jawa Barat), dan area pegunungan di Jawa Timur (Burkill 1935; Heyne 1987). Tanaman ini dilaporkan berkhasiat obat sebagai afrodisiak (meningkatkan gairah seksual), diuretik (melancarkan air seni), dan tonik (meningkatkan stamina/suplemen) (Heyne 1987; Hernani dan Yuliani 1990).

Purwoceng mengandung metabolit sekunder yaitu turunan kumarin, sterol, saponin, alkaloid (Caropeboka dan Lubis 1975), kelompok furanokumarin seperti bergapten, isobergapten,

dan sphondin (Sidik *et al.* 1975), stigmasterol (Suzery *et al.* 2004), senyawa turunan kumarin, seperti bergapten, xanthotoksin, mermesin, 6,8 dimetoksi umbeliferon (Hernani dan Rostiana 2004), dan vitamin E (Rahardjo *et al.* 2006). Produksi metabolit sekunder secara alami relatif rendah, sehingga tidak akan mampu memenuhi kebutuhan industri skala besar.

Metabolit sekunder pada purwoceng dapat diproduksi melalui kultur akar rambut *in vitro*. Kultur akar rambut *in vitro* memiliki kelebihan antara lain pertumbuhannya relatif cepat, produktif dan stabil dalam menghasilkan senyawa yang diinginkan (Ernawati 1992). Pertumbuhan akar rambut dapat dioptimalkan dengan menginokulasi *Agrobacterium rhizogenes* (Ercan dan Taskin 1997; Hooykaas 2000).

Agrobacterium merupakan jenis bakteri tanah yang mempunyai kemampuan untuk mentransfer T-DNA dari Ri plasmid (*root inducing plasmid*) ke dalam sel tanaman melalui pelukaan (Nilson and Olsson 1997; Sukma 2002). T-DNA akan terintegrasi pada kromosom tanaman dan akan mengekspresikan gen-gen untuk mensintesis senyawa opin, yaitu turunan asam amino yang diproduksi oleh tanaman terinfeksi *A. rhizogenes* dan digunakan bakteri tersebut sebagai sumber karbon dan nitrogen (Aryanti 2001). T-DNA juga mengandung onkogen yaitu gen-gen yang berperan untuk menyandi hormon pertumbuhan auksin dan sitokinin. Ekspresi onkogen pada plasmid Ri mencirikan pembentukan akar adventif secara besar-besaran pada tempat yang diinfeksi dan dikenal dengan *hairy root* (Nilson and Olsson 1997; Aryanti 2001).

Produksi metabolit sekunder dengan kultur akar rambut perlu mempertimbangkan dua hal, yaitu produksi biomassa dan metabolit sekunder yang diinginkan (Darwati 2007). Untuk memperoleh metabolit sekunder yang diinginkan dengan produksi biomassa yang tinggi memerlukan medium tumbuh dengan komponen yang tepat pada konsentrasi optimal, diantaranya adalah komponen media dan sumber karbon (gula). Hasil penelitian Darwati (2007) menyebutkan bahwa komposisi media MS (Murashige Skoog) memberikan bobot basah (BB) (0,7405 g) dan kering (BK) (0,0774 g) tertinggi dibandingkan media $\frac{1}{2}$ MS, B5 (Gamborg), dan $\frac{1}{2}$ B5 akar rambut *in vitro* purwoceng pada umur 3 bulan. Pada kultur kalus *Eurycoma longifolia* Jack (pasak bumi), komponen media MS dengan konsentrasi lebih rendah menghasilkan metabolit sekunder lebih tinggi (Rosli *et al.* 2009). Sementara itu hasil penelitian Suskendriati *et al.* (2004) menyebutkan bahwa pemberian sukrosa 30 g/l memberikan peningkatan bobot segar kalus 100,83% pada tanaman *Talinum paniculatum* Gaertn, sedangkan pemberian glukosa 3% hanya 11,46%.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi media dan sumber karbon terbaik terhadap pertumbuhan akar rambut purwoceng dan bahan aktifnya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Ekofisiologi, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Bogor, sejak Agustus 2008 sampai Februari 2009. Bahan tanaman yang digunakan adalah daun *in vitro* dari purwoceng yang berasal dari Gunung Putri dan te-

lah mengalami periode kultur selama 1 tahun pada medium DKW (Driver and Kuniyaki 1984), unsur hara makro, mikro, dan vitamin untuk media DKW, MS (Murashige and Skoog 1962), dan B5 (Gamborg *et al.* 1968).

Akar rambut diinduksi dengan cara mengkulturkan potongan daun purwoceng di dalam media padat DKW yang telah dimodifikasi dengan penambahan gula pasir 30 g/l, gelrite 2,5 g/l, dan BAP 1 mg/l. Planlet yang tumbuh baik dengan tingkat multiplikasi tinggi diambil daun dan petiolnya sebagai eksplan untuk diinokulasi dengan *A. rhizogenes* strain ATCC 15384 yang berasal dari koleksi Puslit Bioteknologi LIPI, Cibinong.

Akar rambut hasil inokulasi *A. rhizogenes* ATCC 15834 disubkultur kedalam media MS padat selama 1 bulan. Kemudian akar rambut disubkultur kedalam media perlakuan padat yaitu B5, DKW, MS, $\frac{1}{2}$ B5 (konsentrasi unsur hara makro sebanyak $\frac{1}{2}$ dari konsentrasi komposisi standar), $\frac{1}{2}$ DKW (konsentrasi unsur hara makro sebanyak $\frac{1}{2}$ dari konsentrasi komposisi standar), $\frac{1}{2}$ MS (konsentrasi unsur hara makro sebanyak $\frac{1}{2}$ dari konsentrasi komposisi standar), dan MS Vit DKW (komposisi vitamin media MS diganti dengan komposisi vitamin media DKW). Kisaran berat awal eksplan adalah 0,2-0,4 g. Kultur diinkubasi pada suhu 16-18°C dengan penyinaran lampu TLD 80 watt dengan periode terang 16 jam dan gelap 8 jam.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor. Faktor pertama yaitu 7 macam komposisi media (B5, DKW, MS, $\frac{1}{2}$ B5, $\frac{1}{2}$ DKW, $\frac{1}{2}$ MS, dan MS Vit DKW) dan faktor kedua yaitu 2 sumber karbon (sukrosa 3% dan glukosa 3%), diulang tiga kali, sehingga

jumlah total satuan percobaan 42 botol.

Parameter pengamatan terdiri dari BB dan BK akar rambut umur 1, 2, dan 3 bulan, warna serta morfologi akar rambut secara visual. Akar rambut yang mempunyai BK tertinggi umur 3 bulan dianalisis kandungan sitosterol, stigmasterol, saponin, dan bergapten, berdasarkan metode standar Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sebagai pembanding dilakukan analisis akar tanaman purwoceng dari lapang umur 9 bulan. Data dianalisis sidik ragam dengan selang kepercayaan 95%. Apabila perlakuan berpengaruh nyata dilakukan analisis lanjut dengan Uji Duncan/*Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan akar rambut purwoceng sampai bulan ketiga ditunjukkan dengan adanya penambahan BB dan BK. Secara umum rata-rata penambahan BB dan BK terjadi setelah bulan kedua. Pada bulan kesatu, penambahan BB dan BK tidak dipengaruhi oleh perlakuan media, sumber karbon, maupun interaksi antara media dan sumber karbon. Hal ini disebabkan pada umur 1 bulan transfer T-DNA dari bakteri *A. rizhogenes*, yang berperan dalam pembentukan akar dan fenotipe akar ke dalam genom tanaman belum optimal.

Penambahan BB dipengaruhi faktor tunggal komposisi media dan sumber karbon. Komposisi media terlihat pengaruhnya terhadap penambahan BB bulan kedua dan ketiga (Tabel 1) serta BK bulan ketiga (Tabel 3). Pada bulan ketiga penambahan BB terendah dicapai pada perlakuan MS meskipun tidak berbeda nyata dengan

BB pada perlakuan B5 dan MS Vit DKW. Sedangkan media dengan konsentrasi unsur hara makro rendah ($\frac{1}{2}$ B5, $\frac{1}{2}$ DKW, $\frac{1}{2}$ MS) dan MS Vit DKW menghasilkan BK yang nilainya tinggi. Media dengan komposisi $\frac{1}{2}$ MS memberikan penambahan BB bulan kedua dan ketiga tertinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan MS. Hal ini disebabkan dengan adanya penurunan konsentrasi komposisi unsur hara makro sebanyak $\frac{1}{2}$ dari konsentrasi komposisi standar, mengakibatkan terjadinya keseimbangan antara unsur hara makro dan mikro, sehingga pertumbuhan akar rambut menjadi lebih optimal.

Dilihat dari komposisi unsur hara makronya, media MS memiliki kandungan Ca paling tinggi dibanding media lain. Ca memainkan peranan penting dalam mitosis selama sel membelah dan membentuk kalsium pektat ditengah lamela dari lapisan sel yang membentuk sel tetangga (White dan Broadley 2003). Selain itu, sumber N pada media MS berasal dari NO_3^- dan NH_4^+ dalam jumlah hampir sama yaitu KNO_3 1.900 mg/l dan NH_4NO_3 1.650 mg/l. Defisiensi N dapat menyebabkan terganggunya proses pertumbuhan, menyebabkan tanaman kerdil, menguning dan berkurang hasil panennya (Novizan 2005). Kandungan Mg pada media MS juga lebih besar dibanding pada media lain. Menurut Sivakumar *et al.* (2005), NH_4^+ , Mg^{2+} , dan Ca^{2+} merupakan elemen yang penting untuk pertumbuhan akar rambut ginseng.

Sementara itu, penambahan BK pada bulan kedua dipengaruhi oleh interaksi antara komposisi media dan sumber karbon (Tabel 2). Perlakuan media $\frac{1}{2}$ MS yang ditambah dengan sukrosa menghasilkan penam-

bahan bobot kering (BK) bulan kedua tertinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Pada bulan kedua, transfer T-DNA dari bakteri *A. rizho-*

genes, yang berperan dalam pembentukan akar dan fenotipe akar ke dalam genom tanaman sudah optimal.

Tabel 1. Rata-rata penambahan BB (g) bulan kedua dan ketiga akar rambut purwoceng pada beberapa media

Table 1. The average-increase of pruatjan's hairy root fresh weight (FW) (g) at the 2nd and 3rd months on several media

Media/Media	Penambahan BB bulan kedua/ Increase of FW at 2 nd month ¹⁾	Penambahan BB bulan ketiga/ Increase of FW at 3 rd month ¹⁾
B5	0,467 a	0,614 ab
DKW	0,445 a	0,806 a
MS	0,197 b	0,408 b
1/2 B5	0,404 a	0,793 a
1/2 DKW	0,398 a	0,871 a
1/2 MS	0,505 a	1,017 a
MS VIT DKW	0,353 a	0,726 ab
KK (%) / CV (%)	6,796	8,892

Keterangan/ Note :

1) Data ditransformasi ke dalam $\sqrt{x + 1}$ / The numbers are transformed by $\sqrt{x + 1}$.

2) Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji DMRT taraf 5% / The numbers followed by the same letters on same column are not significantly different by DMRT test at 5% level

Tabel 2. Rata-rata penambahan bobot kering (BK) (g) akar rambut purwoceng pada perlakuan komposisi media dan sumber karbon yang berbeda bulan kedua

Table 2. The average-increase of pruatjan's hairy roots dry weight (DW) (g) on several media and different carbon sources at 2nd month

Media/Media	Sumber karbon/ Carbon sources	
	Sukrosa/ Sucrose ¹⁾	Glukosa/ Glucose ¹⁾
B5	0,017 cde	0,034 bcd
DKW	0,012 e	0,022 cde
MS	0,015 de	0,015 de
1/2 B5	0,015 de	0,041 bc
1/2 DKW	0,065 b	0,032 cde
1/2 MS	0,126 a	0,020 cde
MS VIT DKW	0,034 bc	0,034 cde
KK (%) / CV (%)	3,094	

Keterangan/ Note :

1) Data hasil transformasi dengan $\sqrt{x + 1}$ / The numbers are transformed by $\sqrt{x + 1}$

2) Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji DMRT taraf 5% / Numbers followed by the same letters on same column are not significantly different by DMRT test at 5% level

Tabel 3. Rata-rata penambahan BK (g) akar rambut purwoceng bulan ketiga pada beberapa media

Table 3. *The average-increase of pruatjan's hairy root dry weight (DW) (g) at the 3rd month on several media*

Media/Media	Penambahan BK bulan ketiga/ Increase of DW at 3 rd month ¹⁾
B5	0,036 bc
DKW	0,028 c
MS	0,033 bc
1/2 B5	0,056 abc
1/2 DKW	0,113 a
1/2 MS	0,110 ab
MS VIT DKW	0,070 abc
KK (%) / CV (%)	6,40

Keterangan/Note :

1) Data ditransformasi ke dalam $\sqrt{x + 1}$ / *The numbers are transformed by $\sqrt{x + 1}$*

2) Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji DMRT taraf 5% / *The numbers followed by the same letters on same column are not significantly different by DMRT test at 5% level*

Pertumbuhan optimal setara dengan penambahan BK. BK mencerminkan hasil asimilat yang tertimbun pada akar rambut. Hasil asimilat optimal diduga terjadi pada penambahan BK bulan kedua. Interaksi media dan sumber karbon mendukung untuk pembentukan asimilat. Sumber karbon merupakan unsur utama pembentukan asimilat yang didukung dengan hara makro dan mikro. Hara makro dan mikro juga dapat mempengaruhi penyerapan sumber karbon yang diperlukan dalam pembentukan asimilat.

Interaksi antara media dan sumber karbon tidak berpengaruh nyata terhadap penambahan BK bulan ketiga. Pengaruh yang nyata hanya ditunjukkan oleh faktor tunggal komposisi media dan sumber karbon (Tabel 3). Penambahan BK pada bulan ketiga tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan media 1/2 DKW, meskipun tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan perlakuan media 1/2 B5, 1/2 MS

dan MS VIT DKW. Seperti halnya pada komposisi media 1/2 MS, pada komposisi media 1/2 DKW terjadinya keseimbangan antara unsur hara makro dan mikro, sehingga pertumbuhan akar rambut menjadi lebih optimal.

Tabel 4 menunjukkan bahwa penambahan BB pada bulan kedua dan ketiga lebih tinggi pada perlakuan sukrosa dan berbeda nyata dibandingkan dengan media yang ditambah glukosa. Hal ini menunjukkan bahwa sukrosa sebagai sumber karbon memberikan hasil optimal untuk pertumbuhan akar rambut. Sukrosa adalah sumber karbon yang paling mudah ditranslokasi dalam jaringan tanaman dibandingkan karbohidrat lain. Sukrosa masuk dalam glikolisis dan siklus Krebs untuk membentuk ATP dan NADH. Sukrosa merupakan disakarida dan terhidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa yang dapat digunakan sebagai sumber karbon dan energi lebih besar untuk pertumbuhan. Glukosa

Tabel 4. Rata-rata penambahan berat basah (BB) (g) bulan kedua dan ketiga akar rambut purwoceng pada media dengan sumber karbon sukrosa atau glukosa

Table 4. The average-increase of pruatjan's hairy roots fresh weight (FW) (g) at the 2nd and 3rd months on media with the addition of sucrose or glucose as carbon sources

Sumber karbon/ Carbon sources	Penambahan BB bulan kedua/ FW increase at 2 nd month ¹⁾	Penambahan BB bulan ketiga/ FW increase at 3 rd month ¹⁾
Sukrosa	0,441 a	0,834 a
Glukosa	0,339 b	0,622 b

Keterangan/Note :

1) Data hasil transformasi dengan $\sqrt{x + 1}$ / The numbers are transformed by $\sqrt{x + 1}$

2) Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji DMRT taraf 5% / Numbers followed by the same letters on same column are not significantly different by DMRT test at 5% level

merupakan monosakarida yang menghasilkan energi lebih rendah dibanding sukrosa. Hal ini menyebabkan sukrosa mampu menyuplai energi dan karbon yang lebih besar dibanding glukosa, sehingga penambahan BB dan BK pada akar rambut purwoceng lebih optimal. Hidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa dalam sel mempengaruhi tekanan osmotik sel. Hidrolisis sukrosa ini menyebabkan penyerapan air ke dalam sel lebih banyak sehingga tekanan turgor meningkat, yang selanjutnya menyebabkan pembesaran dan pemanjangan sel (Suskendriyati *et al.* 2004).

Pada fase awal pertumbuhan, morfologi akar rambut umumnya terlihat lebih halus dan berwarna putih. Selanjutnya pada fase pertumbuhan optimum (3 bulan), struktur akar rambut yang diharapkan mempunyai ciri morfologi akar rambut lebih kompak dan berwarna putih kekuningan (Tabel 5). Struktur kalus terbaik diperoleh dari media $\frac{1}{2}$ DKW sukrosa dan $\frac{1}{2}$ MS sukrosa (Gambar 1).

Faktor penting yang perlu diperhatikan dalam budidaya tanaman obat, adalah kandungan bahan aktif. Penggunaan tanaman dalam industri farmasi, kosmetika, makanan, dan minuman tergantung pada bahan aktif yang terkandung di dalamnya. Oleh karena itu, mutu simplisianya perlu diperhatikan (Rostiana *et al.* 2007).

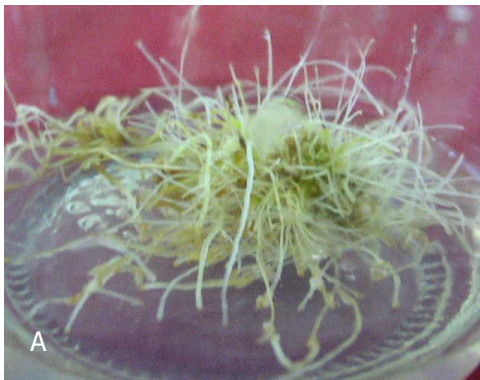
Salah satu keuntungan kultur akar rambut adalah kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan lebih tinggi daripada kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan dari tanaman yang dibudidayakan secara konvensional (Ernawati 1992). Untuk mengetahui media terbaik untuk pertumbuhan akar rambut yang dicerminkan dengan BK tertinggi apakah juga mempunyai kandungan metabolit sekunder tinggi, maka analisa bahan aktif dilakukan pada kombinasi perlakuan BK tertinggi setelah panen.

Kandungan metabolit sekunder (sitosterol, stigmasterol, dan saponin) akar rambut purwoceng umur 3 bulan pada perlakuan $\frac{1}{2}$ DKW dan $\frac{1}{2}$ MS sukrosa terlihat lebih tinggi dibanding-

Tabel 5. Warna dan morfologi akar rambut purwoceng pada berbagai komposisi media dan sumber karbon

Table 5. *Colour and morphology of pruatjan's hairy roots on some media compositions and carbon sources*

Media	Warna		Morfologi	
	Sukrosa	Glukosa	Sukrosa	Glukosa
B5	putih kekuningan	putih kekuningan	Akar berkalus	Akar berkalus
DKW	putih kekuningan	putih kekuningan	Akar berkalus	Akar tidak berkalus
MS	putih kekuningan	putih kehijauan	Akar berkalus	Akar berkalus
½ B5	putih kekuningan	putih kekuningan	Akar berkalus	Akar berkalus
½ DKW	hijau pucat	putih kekuningan	Akar tidak berkalus	Akar berkalus
½ MS	putih kekuningan	putih kekuningan	Ujung akar rambut berkalus	Akar berkalus
MS Vit DKW	kuning kehijauan	hijau kekuningan	Akar berkalus	Keluar tunas



Gambar 1. Akar rambut purwoceng umur 3 bulan pada media ½ DKW sukrosa (A) terlihat kompak dan tumbuh kalus pada ujung akar, sedangkan pada media ½ MS sukrosa, akar rambut lebih banyak tanpa pertumbuhan kalus (B)

Figure 1. *Pruatjan's hairy roots at 3rd months age on ½ DKW Sucrose medium, a compact hairy roots's structure with calli at the end of hairy roots (A), while vigorous hairy roots without calli was found on ½ MS sucrose medium (B)*

kan kandungan metabolit sekunder akar purwoceng umur 9 bulan dilapang. Kandungan sitosterol akar rambut yang terbentuk pada perlakuan dengan media ½ DKW dan sumber karbon sukrosa 2,44 kali, stigmasterol 12,23, dan saponin 31,78 lebih tinggi dibanding dengan bahan aktif bahan tersebut pada purwoceng yang ditanam dilapang. Sedangkan kandungan sitosterol akar rambut dengan media ½ MS dan sumber karbon sukrosa lebih tinggi 2,22 kali, stigmasterol 17,03, dan saponin 39,35 kali (Tabel 6).

Seperti halnya dengan perbandingan kandungan metabolit sekunder tanaman di lapang umur 9 bulan, kandungan metabolit sekunder dari akar rambut ini juga lebih tinggi daripada tanaman di lapang umur 6 bulan. Hasil penelitian Rostiana *et al.* (2007) menunjukkan bahwa bahan tanaman umur 6 bulan yang ditanam di Gunung Putri mempunyai kandungan bahan aktif sitosterol tertinggi 0,159%, stigmasterol 0,138%, saponin 0,188%, dan bergapten 0,069%. Kandungan sitosterol akar rambut pa-

Tabel 6. Kandungan metabolit sekunder (%) akar rambur purwoceng umur 3 bulan dan akar tanaman asal lapang umur 9 bulan

Table 6. Secondary metabolites contents (%) of pruatjan's hairy roots at 3rd months and roots from field at 9th months

Bahan/ <i>Materials</i>	Sitosterol/ <i>Cytosterol</i>	Stigmasterol/ <i>Stigmasterol</i>	Saponin/ <i>Saponin</i>	Bergapten/ <i>Bergapten</i>
Akar rambur ½ DKW sukrosa	0,3809	5,9047	3,5308	0,0000
Akar rambur ½ MS sukrosa	0,3451	8,2255	4,3715	0,0000
Akar tanaman lapang umur 9 bulan	0,1558	0,4830	0,1111	0,0391

da media ½ DKW lebih tinggi 2,40 kali, stigmasterol 43,42, dan saponin 18,78 kali dibanding akar tanaman purwoceng di lapang umur 9 bulan. Sedangkan kandungan sitosterol akar rambur ½ MS lebih tinggi 2,17 kali, stigmasterol 60,48, dan saponin 23,25 kali.

Pada simplisia purwoceng dari lapang terdeteksi adanya bergapten, sedangkan pada akar rambur tidak terdeteksi. Hal ini kemungkinan disebabkan lingkungan dan faktor budidaya mempengaruhi produksi bergapten. Rahardjo *et al.* (2006) menyatakan bahwa perlakuan pemupukan anorganik pada tanaman purwoceng yang dilakukan di DT. Dieng terbukti meningkatkan kandungan bahan aktifnya secara signifikan.

KESIMPULAN

Pertumbuhan akar rambur purwoceng terbaik diperoleh pada komposisi media ½ MS dengan sumber karbon sukrosa, ditunjukkan dengan penambahan bobot kering tertinggi pada bulan kedua (0,126 g). Sukrosa adalah sumber karbon terbaik untuk pertumbuhan akar rambur purwoceng, ditunjukkan dengan penambahan bobot basah bulan kedua (0,441 g) dan ketiga (0,834 g) lebih tinggi daripada sumber karbon glukosa. Kandungan sitosterol tertinggi (0,3809%) diperoleh pada

perlakuan komposisi media ½ DKW dengan penambahan sukrosa. Kandungan stigmasterol dan saponin tertinggi (8,2255% dan 4,3715%) diperoleh pada perlakuan komposisi media ½ MS dengan penambahan sukrosa. Kandungan sitosterol, stigmasterol, dan saponin pada akar rambur purwoceng umur 3 bulan lebih tinggi 2,22, 17,03, dan 39,35 kali dibanding akar tanaman purwoceng di lapang umur 9 bulan (sitosterol 0,1558%, stigmasterol 0,4830%, saponin 0,1111%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Susi Noor Syamsiah yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aryanti. 2001. Variasi Kandungan Artemisinin dari Akar Rambut dan Regenerasi *Artemisia cina* Berg ex Poljakov sebagai Antikanker. Thesis. Institut Pertanian Bogor. <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123-3456789/4012/2001ary.pdf?sequence=4>. Diakses tanggal 6 Juni 2011.
- Burkill, I.H. 1935. A Dictionary of The Economic Product of The Malay Peninsula Vol II. London. 1281 p.
- Caropeboka, A.M. dan I. Lubis. 1975. Pemeriksaan Pendahuluan Kandung-

- an Kimia Akar *Pimpinella alpina* (Purwoceng). hlm. 153-158. Prosiding Simposium Penelitian Tanaman Obat I, Bogor, 8-9 Desember 1975. Bagian Farmakologi-Departemen Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Darwati, I. 2007. Optimasi Pertumbuhan Akar Rambut Purwoceng pada Berbagai Komposisi Media Dasar dan Konsentrasi Glukosa. hlm. 111-124. *Dalam* Kultur Kalus dan Kultur Akar Rambut Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.) untuk Menghasilkan Metabolit Sekunder. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Driver, J.A. dan A.H. Kuniyaki. 1984. *In Vitro* propagation of paradox walnut rootstock. Hort. Science. 19 : 507-509.
- Ercan, A.G. dan K.M. Taskin. 1997. *Agrobacterium rhizogenes*-Mediated Hairy Root Formation in Some *Rubia tinctorum* L. Population Growth In Turkey. Tr. J. Bot. 23 : 373-377.
- Ernawati, A. 1992. Produksi Senyawa-senyawa Metabolit Sekunder dengan Kultur Jaringan Tanaman. hlm. 169-208. *Dalam* G.A. Wattimena, N.A. Mattjik, E. Syamsudin, N.M.A. Wien-di, dan A. Ernawati (Penyusun). *Bioteknologi*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor.
- Gamborg, O.L., Miller, R.A., dan Ojima, K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean roots cells. *Experimental Cell Research*. 50 : 151-158.
- Hernani dan Yuliani, S. 1990. Obat-obat afrodisiak yang bersumber dari bahan alam. hlm. 130-134. *Dalam*. Zuhud, E.A.M. (Ed.). Prosiding Pelestarian Pemanfaatan Tumbuhan Obat dari Hutan Tropis Indonesia. Jurusan Konservasi Sumber Daya Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor dan Yayasan Pembinaan Suaka Alam dan Margasatwa Indonesia (*The Indonesian Wildlife Fund*) Bogor.
- _____ dan O. Rostiana. 2004. Analisis Kimia Akar Purwoceng (*Pimpinella pruatjan*). Makalah pada Seminar Indonesia Biopharmaka Exhibition and Conference. Yogyakarta, 13-15 Juli 2004. 10 p.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia III. Diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan. Jakarta. pp. 1550.
- Hooykaas, P.J.J. 2000. *Agrobacterium*, A Natural Metabolic Engineer of Plants, pp. 51-67. *Dalam* Verpoorte, R. dan A. W. Alfermann (Eds.). *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Murashige, T. dan Skoog, F.A. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture physial. *Plant*. 15 : 473-497.
- Nilsson, O. dan O. Olsson. 1997. Getting to The Root: The Role of The *Agrobacterium rhizogenes* Rol Genes in The Formation of Hairy Roots. *Physiol. Plant.*, 100, 463-473.
- Novizan. 2005. Petunjuk Pemupukan yang Efektif. AgroMedia Pustaka. Jakarta. 116 hlm.
- Rahardjo, M., S. Wahyuni, O. Trisilawati, dan E. Djauhariya. 2006. Ciri Agromis, Mutu, dan Lingkungan Tumbuh Tanaman Obat Langka Purwoceng (*Pimpinella pruatjan* Molk.). hlm. 62-71. *Dalam* Supriadi, M. Januwati, R. Balfas, N. Bermawi, M.

- Rahardjo (Ed.). Prosiding Seminar Nasional dan Pameran Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII. Kerjasama Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia, Direktorat Tanaman Sayuran dan Biofarmaka, dan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor, 15-16 September 2005.
- Rosli, N., M. Naziah, K.L. Chan, dan S. Sreeramanan. 2009. Factors affecting the accumulation of 9-methoxy-xanthone in callus cultures of *Eurycoma longifolia*. *Journal of Forestry Research*. 20 : 54-58.
- Rostiana, O., W. Haryudin, Rosita, S.M. D., S.F. Syahid, S. Aisyah dan Nasrun. 2007. Karakterisasi Nomor-nomor Koleksi Purwoceng. hlm. 274-284. *Dalam* Supriadi, J. Pitono, M. Rizal, E. Hadipoentiyanti, M. Rahardjo, O. Trisilawati, L. Mauludi, dan Muchtar (Ed.). Laporan Teknis Penelitian TA 2007. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Bogor.
- Sidik, Sasongko, E. Kurniati dan Ursula. 1975. Usaha Isolasi Turunan Kumin dari Akar Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk.) Asal Dataran Tinggi Dieng. hlm. 135-138. *Dalam* Prosiding Simposium Penelitian Tanaman Obat I, Bogor, 8-9 Desember 1975. Bagian Farmakologi-Departemen Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Sivakumar, G.K.W.Y.U., E.J. Hahn dan K.Y. Peak. 2005. optimization of organic nutrients for ginseng hairy roots production in large-scale bioreactor. *Current Sci*. 89 : 641-649.
- Sukma, D. 2002. Uji Pengaruh Sukrosa dan Stabilitas Produksi Biomassa serta Protein Total dari Akar Transgenik *Trichosanthes cucumerina* L. hlm. 54-76. *Dalam* Kultur Akar Transgenik dari *Trichosanthes cucumerina* L.: Beberapa Faktor yang Berpengaruh terhadap Biomassa dan Hasil Protein Total, serta Aktivitas Cendawan dari Protein Asal Akar Transgenik. Thesis. Institut Pertanian Bogor.
- Suskendriyati, H., Solichatun, dan A.D. Setyawan. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. dengan Variasi Pemberian Karbon. *BioSmart* 6 : 19-23. <http://www.mipa.uns.ac.id/>, diakses tanggal 11 Maret 2009.
- Suzery, M., B. Cahyono, Ngadiwiyana, dan H. Nurhasnawati. 2004. Senyawa Stigmasterol dari *Pimpinella alpina* Molk. (Purwoceng). *Suplemen* 39 : 39-41.
- White, P.J. dan M.R. Broadley. 2003. Calcium in Plants. *Oxford Journal*. 92 : 487-511.