

**AKTIVITAS KITINASE DAN PEROKSIDASE DARI BERBAGAI
JARINGAN DAN TINGKAT PERKEMBANGAN TANAMAN
Trichosanthes cucumerina var. *anguina***

Dewi Sukma¹, Evi T. Tondok², I Made Artika³,

¹Departemen Agronomi dan Hortikultura (AGROHORT) dan ²Departemen
Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian; ³Departemen Biokimia, Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor

Abstrak

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk (1) menginduksi kalus dan menganalisis aktivitas kitinase dan peroksidase pada ekstrak kasar protein dari kalus *in vitro* serta dari daun dan akar tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* dari lapangan dan (2) menganalisis aktivitas kitinase dan peroksidase pada ekstrak kasar protein dari akar, batang dan daun *T. cucumerina* var. *anguina* dari berbagai umur tanaman. Penelitian dibagi dalam dua percobaan. Pada percobaan 1, kalus diinduksi dalam media Murashige & Skoog (MS) yang ditambahkan zat pengatur tumbuh *Naphtalene Acetic Acid* (NAA) dan *Benzyladenine* (BA), sedangkan daun dan akar diambil dari tanaman berumur 2 bulan di lapangan. Media induksi kalus dinotasikan sebagai N1B1 (1 μ M NAA + 1 μ M BA), N2B2 (2 μ M NAA + 2 μ M BA), N3B3 (3 μ M NAA + 3 μ M BA), dan N4B4 (4 μ M NAA + 4 μ M BA). Aktivitas kitinase dan peroksidase dianalisis dari ekstrak kasar protein kalus, daun dan akar tanaman dari lapangan. Pada percobaan 2, dilakukan analisis aktivitas kitinase dan peroksidase dari akar, batang dan daun yang berasal dari bibit berumur 3 minggu setelah berkecambah (3 MSB), tanaman berumur 2 dan 3 bulan setelah tanam (BST) di lapangan. Hasil Percobaan 1 menunjukkan bahwa bobot kalus yang dihasilkan pada komposisi media yang diuji tidak berbeda nyata. Aktivitas kitinase dan peroksidase yang tinggi ditemukan pada akar tanaman dari lapangan dan kalus. Hasil percobaan 2 menunjukkan bahwa aktivitas kitinase pada akar dan batang lebih tinggi dari daun dan relatif stabil sampai tanaman berumur 2 BST. Aktivitas peroksidase paling tinggi ditemukan pada akar tanaman dan meningkat dengan bertambahnya umur tanaman.

Kata kunci : *Trichosanthes cucumerina* var. *anguina*, kalus *in vitro*, akar, batang, daun, umur tanaman, aktivitas kitinase, aktivitas peroksidase.

**CHITINASE AND PEROXIDASE ACTIVITIES OF CRUDE PROTEIN
EXTRACT FROM MANY KINDS OF TISSUES AND STAGE OF
DEVELOPMENT OF *Trichosanthes cucumerina* var. *anguina***

Abstract

The aims of the research were (1) to induce *in vitro* calli and analyze of chitinase and peroxidase activities of crude protein extract from *in vitro* calli, leaves and root of plant from the field, and (ii) to analyze the chitinase and peroxidase activities of crude protein extract of roots, stems and leaves from different age of *Trichosanthes cucumerina* var. *anguina* in field. The research was divided in two experiments. In the first experiment, calli was induced in Murashige and Skoog (MS) medium that contained *Naphtalene Acetic Acid* (NAA) dan *Benzyladenine* (BA) and the leaves and roots were taken from 2 months old plants in field. The medium for calli induction was noted as N1B1 (1 μ M NAA + 1 μ M BA), N2B2 (2 μ M NAA + 2 μ M BA), N3B3 (3 μ M NAA + 3 μ M BA), dan N4B4 (4 μ M NAA + 4 μ M BA). The chitinase and peroxidase activities of crude protein extract of calli, leaves and roots of plant from field. In the second experiment, the chitinase and peroxidase activities were analyzed in crude protein extract of roots, stems and leaves which were taken from 3 weeks old seedling (less than one month), one month and two month old of plants after planting in field. The first experiment results showed that the weight of calli produced in three kinds of medium was not significantly different. The crude protein extract of plant roots from field and *in vitro* calli had the highest chitinase and peroxidase activities. The second experiment showed that roots crude protein extract had the highest chitinase activity until two month after planting in field. Crude protein extract of roots also had the highest peroxidase activity and increased by the increasing of plant age.

Key words : *Trichosanthes cucumerina* var. *anguina*, *in vitro* calli, roots, stem, leaves, plant age, chitinase activity, peroxidase activity

Pendahuluan

T. cucumerina var. *anguina* dibeberepa daerah di Indonesia dikenal dengan nama lokal 'pare belut/pare ular'. *T. cucumerina* var. *anguina* merupakan satu-satunya spesies *Trichosanthes* yang dibudidayakan untuk diambil buahnya sebagai sayuran. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* yang ditanam di lapangan mengalami banyak gejala serangan hama dan penyakit terutama pada daun tanaman. Serangan hama dan penyakit pada daun tanaman makin meningkat ketika tanaman bertambah tua. Banyaknya gejala serangan hama dan penyakit pada tanaman menunjukkan rendahnya ketahanan tanaman terhadap hama dan penyakit. Ketahanan yang rendah dapat disebabkan lemahnya permukaan sel tanaman karena kurangnya lignifikasi sel sehingga memudahkan penetrasi patogen atau rendahnya ekspresi gen-gen yang berhubungan ketahanan seperti kitinase. Lignifikasi sel merupakan proses terbentuknya lignin pada dinding sel dan proses tersebut melibatkan enzim peroksidase.

Biosintesis protein atau enzim merupakan hasil dari suatu proses ekspresi gen. Demikian juga dengan proses biosintesis enzim kitinase dan peroksidase merupakan hasil dari ekspresi gen pengkode enzim tersebut. Ekspresi beberapa gen yang berhubungan dengan ketahanan terhadap hama dan penyakit pada tanaman dapat bersifat konstitutif maupun *inducible* atau bersifat spesifik pada jaringan dan tingkat perkembangan tanaman tertentu seperti dilaporkan pada tanaman strawberri oleh Khan (2002). Jika gen penyandi enzim kitinase atau peroksidase pada tanaman diekspresikan secara konstitutif, maka biosintesis enzim tersebut terjadi secara terus menerus pada jaringan tertentu atau pada seluruh bagian tanaman sepanjang waktu tanaman hidup. Sebaliknya jika ekspresi gen bersifat *inducible*, maka ekspresi gen terjadi atau meningkat ketika terdapat faktor yang dapat menginduksi ekspresinya. Hal ini berarti bahwa biosintesis enzim yang dikode oleh gen tersebut juga bersifat *inducible*. Ekspresi spesifik jaringan atau organ akan menghasilkan perbedaan jumlah enzim yang dihasilkan pada jaringan atau organ yang berbeda dan akan menimbulkan perbedaan aktivitas enzim pada jaringan atau organ tersebut.

Aktivitas kitinase dan peroksidase pada berbagai jaringan tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* belum pernah diteliti. Banyaknya hama dan penyakit yang menyerang tanaman dapat bersumber dari lemahnya ketahanan tanaman yang salah satunya bersumber dari rendahnya aktivitas enzim kitinase dan peroksidase pada jaringan tanaman. Dengan demikian perlu dipelajari pola aktivitas enzim kitinase dan peroksidase pada tanaman sehingga dapat diketahui bagian tanaman yang memiliki aktivitas tinggi dari kedua enzim tersebut.

Percobaan yang dilakukan bertujuan untuk (1) menginduksi kalus dan menganalisis aktivitas kitinase dan peroksidase dari ekstrak kasar protein kalus, akar dan daun *T. cucumerina* var. *anguina* dan (2) membandingkan aktivitas kitinase dari ekstrak kasar protein akar, batang dan daun dari umur tanaman yang berbeda. Hasil percobaan diharapkan dapat memberikan informasi bagian tanaman yang memiliki aktivitas kitinase dan peroksidase paling tinggi serta pola aktivitas kitinase dan peroksidase pada bibit hingga tanaman dewasa.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli – Oktober 2007. Lokasi penelitian untuk pembuatan kultur kalus *in vitro* adalah di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura IPB dan untuk penyiapan bahan tanaman dari lapang tanaman di tanam di lahan masyarakat di Desa Sinar Sari, Kecamatan Dramaga, Bogor.

Percobaan 1. Induksi Kalus dan Analisis Aktivitas Enzim Kitinase dan Peroksidase dari Ekstrak Kasar Protein Asal Kalus *In Vitro*, Daun dan Akar Tanaman *T. cucumerina* var. *anguina*

Kalus *in vitro* diinduksi dalam media MS dengan perlakuan 4 taraf NAA dan BAP yaitu 1 μM NAA + 1 μM BA (N1B1), N2B2 (2 μM NAA + 2 μM BA), 3 μM NAA + 3 μM BA (N3B3), atau 4 μM NAA + 4 μM BA (N4B4). Eksplan yang digunakan dalam induksi kalus adalah potongan batang bibit *T. cucumerina* var. *anguina* hasil pengecambahan benih dalam media MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh secara *in vitro*. Bibit *in vitro* untuk sumber eksplan dalam induksi kalus berumur \pm 2 minggu setelah perkecambahan. Potongan eksplan berukuran sekitar 1 cm ditanam dalam media perlakuan induksi kalus, dan kultur dipelihara dalam ruangan bersuhu 22 – 24°C dalam kondisi gelap 24 jam sehari. Kalus yang sudah terbentuk pada umur 4 minggu setelah tanam (MST) di panen, ditimbang bobot segarnya dan dilakukan ekstraksi kasar protein.

Daun (DLP) dan akar tanaman dari lapang (ALP) diambil dari tanaman yang sudah berbuah berumur 2 bulan setelah tanam. Tanaman tersebut berasal dari benih yang ditanam dalam polibag berukuran 40 x 40 cm² dengan media campuran tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1 (v/v). Daun yang diambil adalah daun yang sehat tidak ada gejala serangan penyakit dan sudah berkembang sempurna (daun dewasa). Sedangkan akar yang digunakan untuk analisis adalah akar primer, sekunder maupun tertier (akar serabut).

Percobaan 2. Analisis Aktivitas Kitinase dan Peroksidase pada Ekstrak Kasar Protein Akar, Batang dan Daun Tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* dari Lapang pada Berbagai Umur Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan terdiri dari tanaman T1 (berumur 3 minggu setelah berkecambah (3 MSB), T2 (tanaman berumur 1 bulan setelah tanam (1 BST) dan tanaman berumur 2 bulan setelah tanam (2 BST) di polibag. Benih ditanam di bak pembibitan dan dipanen pada umur 3 minggu setelah perkecambahan untuk tanaman 3 MSB. Untuk tanaman 1 dan 2 BST, bibit di pindah ke polibag berukuran 40 x 40 cm dengan media campuran tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1 (v/v) dan tanaman dipanen akar batang dan daunnya pada umur 1 dan 2 BST.

Analisis Kadar Protein Total (TPT)

Total protein diekstrak dari kalus dan tunas *in vitro* serta dari daun dan akar tanaman dari lapang. Setiap jenis jaringan terdiri dari 3 sampel (3 ulangan). Jaringan tanaman sebanyak 0.5 g basah, digerus dalam larutan penyangga fosfat (50 mM, pH 7) dingin dengan perbandingan 1:4 (b/v). Ekstraksi protein dari semua jaringan *T. tricuspidata* dilakukan dalam kondisi lingkungan yang bersuhu sekitar 4°C. Gerusan tanaman disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm dan suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan diambil dan ditentukan total protein terlarutnya (TPT) menggunakan metode Lowry *et al.* (1951).

Analisis Aktivitas Kitinase

Aktivitas kitinase dalam ekstrak kasar protein dari jaringan tanaman yang dianalisis ditentukan berdasarkan kemampuannya untuk mendegradasi substrat *dimmer p-nitrophenil N-asetil β-D glucosaminide* (pNP-NacGluc) mengikuti metode yang digunakan oleh Pujihartati *et al.* (2006a). Sebanyak 100 µl supernatan hasil ekstraksi protein dicampur dengan 10 µl substrat pNP-NacGluc 5 mM, divorteks, lalu diinkubasi selama 0 dan 3 jam. Setelah inkubasi, reaksi dihentikan dengan penambahan *Trichloroacetic Acid* (TCA) 20% sebanyak 125 µl, divorteks lalu disentrifugasi pada 5000 rpm selama 5 menit. Supernatan hasil sentrifugasi diambil sebanyak 0.3 ml dan ditambahkan 0.7 ml NaOH 0.5 mM. Larutan diinkubasi selama 30 menit, lalu nilai absorbansi larutan sesudah reaksi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang λ 405 nm. Aktivitas kitinase dihitung sebagai banyaknya pNP NacGluc (mM) yang dibebaskan per jam per mg protein (mM pNP/jam/mg protein).

Analisis Aktivitas Peroksidase

Aktivitas enzim peroksidase dari jaringan tanaman yang diuji ditentukan dengan metode yang digunakan sebelumnya (Kar & Mishra 1976; Pudjihartati *et al.* 2006b). Sebanyak 100 µl ekstrak protein jaringan ditambahkan ke dalam larutan
sebagai
menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang λ 420 nm setiap 30 detik dalam periode 0 – 150 detik, dengan menggunakan blanko campuran larutan yang sama tetapi tanpa ekstrak protein. Sebagai ganti ekstrak protein, ke dalam larutan blanko ditambahkan larutan penyangga fosfat. Aktivitas peroksidase dihitung sebagai peningkatan nilai absorbansi per satuan waktu per bobot protein (ΔA_{420} /menit/mg protein) pada kondisi analisis.

Hasil

Percobaan 1. Induksi Kalus dan Analisis Aktivitas Enzim Kitinase dan Peroksidase dari Ekstrak Kasar Protein Asal Kalus *In Vitro*, Daun dan Akar tanaman *T. cucumerina* var. *anguina*.

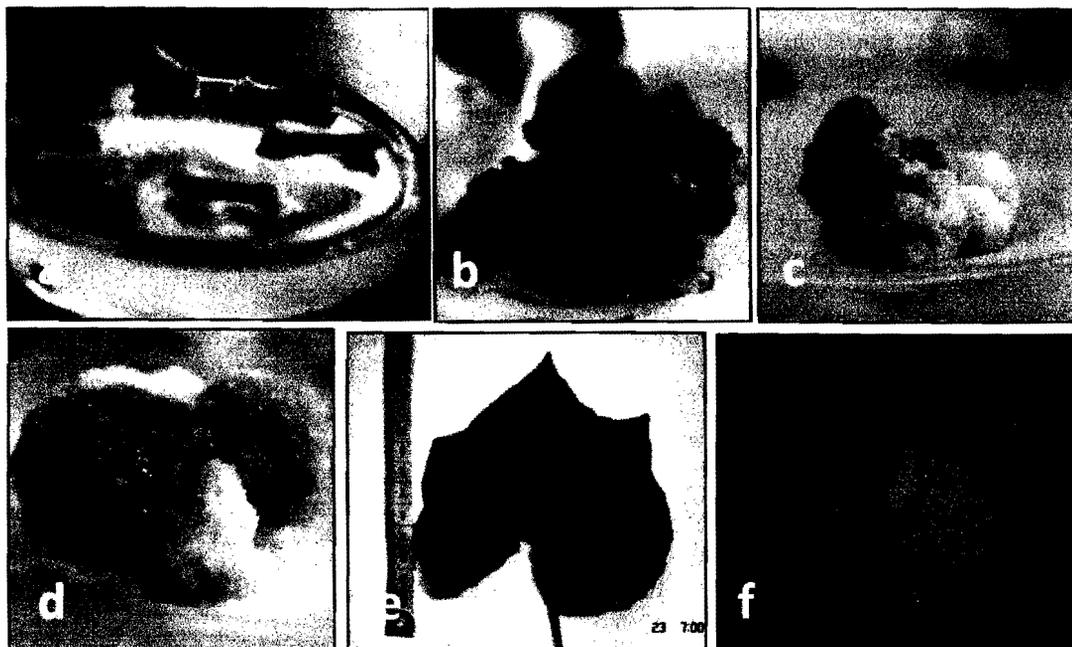
Pertumbuhan kalus *in vitro*

Kalus dapat dihasilkan pada empat komposisi media yang diuji N1B1 (1 μ M NAA + 1 μ M BA), N2B2 (2 μ M NAA + 2 μ M BA), N3B3 (3 μ M NAA + 3 μ M BA) dan N4B4 (4 μ M NAA + 4 μ M BA). Namun sebagian besar kalus pada media N2B2 terkontaminasi pada minggu ke-2 sehingga pengamatan tidak dapat dilanjutkan. Selanjutnya kalus yang dianalisis adalah dari media N1B1, N3B3 dan N4B4. Ketiga komposisi media tersebut memiliki rasio auksin dan sitokinin yang sama namun dengan konsentrasi yang berbeda. Bobot kalus yang dihasilkan pada ketiga komposisi media tidak berbeda nyata (Tabel 1). Morfologi kalus pada 3 komposisi media yang diuji terlihat agak berbeda antara kalus pada media N1B1 dengan kalus pada media N3B3 dan N4B4 seperti terlihat pada Gambar 1. Kalus pada media N1B1 berwarna kecoklatan sementara pada media N3B3 dan N4B4 berwarna putih dan kecoklatan pada beberapa bagiannya.

Tabel 1. Rataan bobot kalus *T. cucumerina* var. *anguina* pada 4 MST dari berbagai komposisi media MS dengan penambahan berbagai konsentrasi NAA dan BA

Perlakuan	Persentase eksplan berkalus	Jumlah akar pada kalus	Bobot kalus per eksplan (g)	Bobot kalus per botol (g)
N1B1	100%	0	0.75	2.25
N2B2	100%	0	-*	-
N3B3	100%	0	0.64	2.06
N4B4	100%	0	1.14	2.37

Keterangan : *Kalus terkontaminasi bakteri sehingga tidak didapatkan data bobot akhir



Gambar 1. Representasi jaringan yang dianalisis dalam percobaan 1: (a) eksplan untuk induksi kalus, (b, c, d) kalus pada media N1B1, N3B3 dan N4B4, (e) daun dan (f) akar tanaman dari lapang.

Total Protein Terlarut dan Kadar Protein Jaringan

Jenis bahan tanaman nyata berpengaruh terhadap rata-rata total protein terlarut (TPT) dari ekstrak kasar protein (Tabel 2). TPT dari ekstrak kasar protein daun nyata lebih tinggi dibandingkan pada akar maupun kalus. TPT pada ekstrak kasar protein kalus dari ketiga media yang digunakan tidak berbeda nyata. TPT pada akar tidak berbeda nyata dengan TPT pada kalus, kecuali pada kalus dari media N3B3.

Tabel 2. Rataan total protein terlarut dan kadar protein dari kalus *in vitro*, daun dan akar tanaman dari lapang tanaman *T. cucumerina* var. *anguina*

Bahan Tanaman	Total protein terlarut (mg/ml)	Kadar Protein Jaringan (mg/g BS)
Kalus N1B1	0.010 b	5.18 bc
Kalus N2B2	-	-
Kalus N3B3	1.76 b	7.07 b
Kalus N4B4	0.99 bc	3.96 bc
Daun Lapang (DLP)	5.17 a	20.69 a
Akar Lapang (ALP)	0.44 c	1.78 b

Keterangan : Kalus diinduksi dalam media N1B1 (1 μ M NAA + 1 μ M BA), N2B2 (2 μ M NAA + 2 μ M BA), N3B3 (3 μ M NAA + 3 μ M BA) dan N4B4 (4 μ M NAA + 4 μ M BA). BS = bobot segar. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada $\alpha=0.05$.

Kadar protein jaringan menunjukkan jumlah protein yang terdapat dalam setiap gram bobot jaringan segar. Rataan nilai kadar protein jaringan (KPJ) dari berbagai jaringan yang diuji seperti terlihat pada Tabel 2. KPJ pada berbagai jaringan tersebut mengikuti pola TPT. KPJ tertinggi ditemukan pada ekstrak kasar protein daun tanaman yaitu mencapai 20.69 mg protein per gram bobot segar daun atau sekitar 2%. KPJ paling rendah adalah pada akar tanaman dari lapang namun tidak berbeda nyata dengan KPJ yang diperoleh dari kalus yang dihasilkan dari tiga komposisi media yang diuji dalam percobaan.

Aktivitas Kitinase

Hasil uji aktivitas kitinase dari ekstrak kasar protein kalus, daun dan akar tanaman disajikan pada Tabel 3. Aktivitas kitinase paling tinggi ditemukan pada ekstrak kasar protein dari akar tanaman dari lapang dengan nilai yang nyata lebih tinggi dibanding aktivitas kitinase dari ekstrak kasar protein daun, namun tidak berbeda nyata dengan aktivitas kitinase dari ekstrak kasar protein kalus. Aktivitas kitinase dari ekstrak kasar protein kalus dari ketiga komposisi media yang diuji tidak berbeda nyata. Aktivitas kitinase dari ekstrak kasar protein akar mencapai hampir 39 kali lipat aktivitas kitinase pada ekstrak kasar protein daun, sementara aktivitas kitinase dari ekstrak kasar protein kalus antara 13 – 30 kali lipat aktivitas kitinase pada ekstrak kasar protein daun.

Aktivitas kitinase dari ekstrak protein kasar tanaman per gram bobot segar jaringan tanaman nyata dipengaruhi oleh jenis jaringan tanaman seperti terlihat pada Tabel 3. Aktivitas kitinase per gram jaringan segar sangat tergantung pada kadar protein jaringan. Makin tinggi kadar protein jaringan maka makin besar nilai aktivitas kitinase per gram bobot segar jaringan tanaman. Aktivitas kitinase per gram bobot segar paling tinggi pada kalus dari media N4B4, dengan nilai yang tidak berbeda nyata dengan aktivitas kitinase pada ekstrak kasar protein kalus dari media N1B1 namun berbeda nyata dengan kalus dari media N3B3.

Tabel 3. Rataan aktivitas kitinase per mg protein dan per gram bobot segar berbagai jaringan tanaman *T. cucumerina* var. *angulina*

Bahan Tanaman	Aktivitas kitinase (mM pNp/jam/mg protein)	Aktivitas kitinase (mM pNp/jam/g BS)
Kalus N1B1	4.03 a	22.37 ab
Kalus N2B2	-	-
Kalus N3B3	2.66 ab	17.03 bc
Kalus N4B4	6.03 a	23.64 a
Daun Lapang (DLP)	0.21 b	4.67 d
Akar Lapang (ALP)	7.70 a	11.17 c

Keterangan : Kalus diinduksi dalam media N1B1 (1 μ M NAA + 1 μ M BA), N2B2 (2 μ M NAA + 2 μ M BA), N3B3 (3 μ M NAA + 3 μ M BA) dan N4B4 (4 μ M NAA + 4 μ M BA). Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada $\alpha=0.05$.

Aktivitas kitinase per mg protein paling tinggi ditemukan pada ekstrak kasar protein akar. Akan tetapi, karena rendahnya kadar protein akar, aktivitas kitinase per gram bobot segar akar menjadi lebih kecil dibandingkan kalus. Sementara pada daun, aktivitas kitinase per mg protein jauh lebih kecil dibanding akar dan kadar protein daun yang tinggi tidak dapat meningkatkan aktivitas kitinase per gram bobot segar daun menjadi lebih tinggi dibanding akar.

Aktivitas Peroksidase

Aktivitas peroksidase per mg protein dari ekstrak kasar protein kalus, daun dan akar tanaman dari lapang disajikan pada Tabel 4. Aktivitas peroksidase per mg protein nyata paling tinggi pada ekstrak kasar protein akar tanaman dari lapang dan paling rendah pada ekstrak kasar protein daun tanaman. Ekstrak kasar protein akar mencapai 19 kali lipat aktivitas peroksidase dari ekstrak kasar protein daun. Aktivitas peroksidase per mg protein dari ekstrak kasar protein kalus dari ketiga komposisi media yang diuji tidak berbeda nyata satu sama lainnya. Sementara ekstrak kasar protein dari daun memiliki aktivitas peroksidase yang tidak berbeda nyata dengan aktivitas peroksidase dari ekstrak kasar protein kalus dari ketiga komposisi media.

Tabel 4. Rataan aktivitas peroksidase per mg protein dan per gram bobot segar berbagai jaringan tanaman *T. cucumerina* var. *angina*

Bahan Tanaman	Aktivitas peroksidase ($\Delta 420$ /menit/mg protein)	Aktivitas peroksidase ($\Delta 420$ /menit/g BS)
Kalus N1B1	0.10 b	0.50 b
Kalus N2B2	-	-
Kalus N3B3	0.10 b	0.63 b
Kalus N4B4	0.16 b	0.62 b
Daun Lapang (DLP)	0.05 b	0.97 ab
Akar Lapang (ALP)	0.96 a	1.58 a

Keterangan : Kalus diinduksi dalam media N1B1 (1 μ M NAA + 1 μ M BA), N2B2 (2 μ M NAA + 2 μ M BA), N3B3 (3 μ M NAA + 3 μ M BA) dan N4B4 (4 μ M NAA + 4 μ M BA). Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam satu kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada $\alpha=0.05$.

Aktivitas peroksidase per gram bobot segar jaringan tanaman seperti terlihat pada Tabel 4. Aktivitas peroksidase per gram bobot segar nyata dipengaruhi oleh jenis jaringan karena antar jaringan terdapat perbedaan kadar protein seperti disajikan pada Tabel 10. Namun pola aktivitas peroksidase per gram bobot segar jaringan memiliki pola yang sama dengan aktivitas peroksidase per mg protein. Aktivitas peroksidase per gram bobot segar jaringan paling tinggi adalah pada akar, nyata lebih tinggi dari kalus namun tidak berbeda nyata dengan daun.

Percobaan 2. Aktivitas Kitinase dan Peroksidase pada Ekstrak Kasar Protein Akar, Batang dan Daun Tanaman *T. cucumerina* dari Lapang pada Berbagai Umur Tanaman

Sebagian besar akar pada bibit berumur 3 MSB masih berukuran kecil atau merupakan akar serabut. Pada tanaman berumur 1 BST, akar primer sudah mulai sedikit membesar dengan diameter sekitar 0.25 cm. Pada tanaman berumur 2 BST, akar primer sudah membesar dengan diameter sekitar 0.5 – 1 cm. Tanaman berumur 1 BST sudah mulai membentuk bakal bunga pada ketiak daunnya dan tanaman berumur 2 BST sudah menghasilkan buah muda.

Total Protein Terlarut dan Kadar Protein Jaringan

Rataan nilai TPT dan KPJ (Tabel 5) nyata dipengaruhi oleh umur tanaman, jaringan tanaman dan interaksi antara umur dan jenis jaringan tanaman. Jika dibandingkan antar jaringan tanaman yang dianalisis, maka TPT paling tinggi adalah pada ekstrak kasar protein daun, berbeda nyata dengan TPT pada ekstrak kasar protein dari batang dan akar. TPT pada ekstrak kasar protein dari batang dan akar tidak berbeda nyata satu sama lainnya.

Pengaruh umur tanaman terhadap rata-rata nilai TPT menunjukkan bahwa TPT pada ekstrak kasar protein tanaman berumur 1 BST nyata lebih tinggi dari tanaman berumur 0 MSB, namun tidak berbeda nyata dengan tanaman berumur 2 BST. Sebaliknya TPT pada ekstrak kasar protein tanaman umur 3 MSB dan 2 BST tidak berbeda nyata.

Berdasarkan nilai rata-rata total protein yang disajikan pada Tabel 13 terlihat interaksi antara jenis organ dan umur tanaman terhadap TPT dari ekstrak protein jaringan tanaman. Pada daun terlihat secara nyata adanya peningkatan nilai TPT dari ekstrak kasar protein dengan bertambahnya umur tanaman, sedangkan pada akar dan batang belum terlihat peningkatan yang nyata dari TPT seiring dengan bertambahnya umur tanaman.

Tabel 5. Rataan TPT dan KPJ pada daun, akar dan batang tanaman *T. cucumerina* var. *angina* dari berbagai umur.

Jenis Jaringan	3 MSB	1 BST	2 BST	Rataan
Total Protein Terlarut (mg/ml)				
Akar	0.65 c*	0.23 c	0.20 c	0.36 B**
Batang	0.48 c	0.37 c	0.48 c	0.44 B
Daun	3.99 b	7.06 a	8.03 a	6.15 A
Rata-Rata	2.03 B	3.19 A	2.55 AB	
Kadar Protein Jaringan (mg/g bobot segar)				
Akar	2.59 c	0.91 c	0.82 c	1.44 B
Batang	1.93 c	1.46 c	1.90 c	1.78 B
Daun	15.98 b	28.20 a	32.11 a	24.60 A
Rata-Rata	8.14 B**	12.76 A	10.22 AB	

Keterangan : MSB = Minggu Setelah Berkecambah, BST = Bulan Setelah Tanam.

*Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada baris dan kolom dari masing-masing peubah tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan $\alpha=5\%$. **Angka yang diikuti huruf besar yang sama pada baris atau kolom dari masing-masing peubah tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan $\alpha=5\%$.

KPJ menunjukkan pola yang sama dengan nilai TPT. Kadar protein paling tinggi adalah pada jaringan daun, yang meningkat dengan bertambahnya umur tanaman. Sebaliknya pada akar dan batang nilai KPJ relatif stabil pada semua umur tanaman yang diuji dan menunjukkan belum adanya peningkatan yang nyata dari kadar protein jaringan akar dan batang hingga tanaman berumur 2 BST.

Aktivitas Kitinase

Aktivitas kitinase per mg protein dari ekstrak kasar protein nyata dipengaruhi oleh jenis jaringan dan umur tanaman (Tabel 6). Aktivitas kitinase per mg protein paling tinggi adalah pada ekstrak kasar protein akar diikuti oleh ekstrak kasar protein batang dan yang paling rendah pada daun. Aktivitas kitinase pada ekstrak kasar protein akar dan batang tidak berbeda nyata, namun berbeda nyata dengan aktivitas kitinase pada ekstrak kasar protein daun.

Tabel 6. Rataan aktivitas kitinase pada ekstrak protein daun, akar dan batang tanaman *T. cucumerina* var. *angina* dari berbagai umur.

Jenis Jaringan	3 MSB	1 BST	2 BST	Rataan
Aktivitas kitinase (mM pNp/jam/mg protein)				
Akar	2.82 b*	5.36 a	6.16 a	4.77 A**
Batang	2.89 b	4.44 ab	3.87 ab	3.76 A
Daun	0.37 c	0.16 c	0.12 c	0.23 B
Rataan	1.79 B**	2.87 AB	3.45 A	
Aktivitas kitinase (mM pNp/jam/g BS)				
Akar	7.04 a	4.25 ab	4.92 ab	5.40 AB
Batang	5.60 ab	6.49 ab	7.02 a	6.47 A
Daun	5.95 ab	4.34 ab	3.90 b	4.83 B
Rataan	6.16	4.92	5.53	

Keterangan : MSB = Minggu Setelah Berkecambah, BST = Bulan Setelah Tanam

* Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom pada masing-masing peubah tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan $\alpha=5\%$,

** Angka yang diikuti huruf besar yang sama pada baris atau kolom pada masing-masing peubah tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan $\alpha=5\%$,

Umur tanaman menyebabkan perbedaan yang nyata dari nilai rata-rata aktivitas kitinase per mg protein pada ekstrak kasar protein tanaman seperti terlihat pada Tabel 6. Aktivitas kitinase per mg ekstrak kasar protein pada akar tanaman nyata meningkat pada tanaman berumur 1 BST. Pada batang dan daun, aktivitas kitinase per mg protein tidak meningkat nyata dengan bertambahnya umur tanaman.

Aktivitas kitinase per g bobot segar jaringan tanaman seperti terlihat pada Tabel 6. Aktivitas kitinase per g bobot segar jaringan tanaman nyata dipengaruhi oleh jenis jaringan dan interaksi antara jenis jaringan dan umur tanaman. Meskipun demikian aktivitas kitinase per g bobot segar jaringan tanaman yang berbeda nyata hanya antara akar tanaman berumur 3 MSB dan batang tanaman berumur 2 BST dengan daun tanaman berumur 2 BST.

Aktivitas Peroksidase

Aktivitas peroksidase pada ekstrak kasar protein dari tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* nyata dipengaruhi oleh jenis jaringan, umur tanaman dan oleh interaksi antara jenis jaringan dan umur tanaman. Rata-rata aktivitas peroksidase pada ekstrak kasar protein tanaman yang diuji seperti tercantum pada Tabel 7.

Pengaruh jenis jaringan terhadap aktivitas peroksidase pada ekstrak kasar protein menunjukkan bahwa ekstrak kasar protein akar memiliki aktivitas peroksidase paling tinggi dan berbeda nyata dengan aktivitas peroksidase pada ekstrak kasar protein batang dan daun. Aktivitas peroksidase pada ekstrak kasar protein batang dan daun tidak berbeda nyata. Aktivitas peroksidase pada akar mencapai hampir 54 kali lipat aktivitas peroksidase pada ekstrak kasar protein daun dan sekitar 6 kali lipat aktivitas peroksidase pada ekstrak kasar protein batang.

Pengaruh umur tanaman terhadap aktivitas peroksidase per mg protein menunjukkan bahwa aktivitas peroksidase meningkat dengan bertambahnya umur tanaman. Aktivitas peroksidase paling tinggi pada tanaman berumur 1 BST, dan paling rendah adalah pada tanaman berumur 3 MSB.

Tabel 7. Rataan aktivitas enzim peroksidase dari ekstrak kasar protein total dari akar, batang dan daun tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* pada berbagai umur tanaman

Jenis Jaringan	3 MSB	1 BST	2 BST	Rataan
Aktivitas peroksidase ($\Delta 420$ /menit/mg protein)				
Akar	0.26 b	4.19 a	2.16 a	2.19 A**
Batang	0.17 b	0.26 b	0.24 b	0.23 B
Daun	0.02 b	0.05 b	0.05 b	0.04 B
Rataan	0.13 B	1.29 A	0.91 A	
Aktivitas peroksidase ($\Delta 420$ /menit/g BS)				
Akar	1.34 bc	1.14 bc	3.04 b	1.92 B
Batang	0.80 c	0.73 c	0.94 c	0.84 B
Daun	1.96 bc	5.98 a	7.72 a	4.90 A
Rataan	1.45 B**	3.01 A	3.42 A	

Keterangan : MSB = Minggu Setelah Berkecambah, BST = Bulan Setelah Tanam

* Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris atau kolom pada masing-masing peubah tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan $\alpha=5\%$,

** Angka yang diikuti huruf besar yang sama pada baris pada masing-masing peubah tidak berbeda nyata pada uji DMRT dengan $\alpha=5\%$,

Interaksi antara jenis jaringan dan umur tanaman menunjukkan bahwa pada akar, aktivitas peroksidase per mg ekstrak protein kasar nyata meningkat dengan bertambahnya umur tanaman. Akan tetapi pada batang dan daun belum ditemukan peningkatan yang signifikan dari aktivitas peroksidase per mg ekstrak kasar protein seiring dengan bertambahnya umur tanaman.

Aktivitas peroksidase per g bobot segar jaringan tanaman seperti tercantum pada Tabel 15. Aktivitas peroksidase per g bobot segar jaringan tanaman nyata meningkat dengan bertambahnya umur tanaman. Peningkatan

nyata mulai terlihat pada tanaman 1 BST, namun pada 2 BST tidak berbeda nyata dengan tanaman 1 BST. Jenis jaringan mempengaruhi aktivitas peroksidase per g bobot segar, dengan aktivitas peroksidase per g bobot segar paling tinggi pada daun. Tingginya aktivitas peroksidase per g jaringan daun disebabkan oleh tingginya kadar protein pada daun seperti terlihat pada Tabel 13. Meskipun aktivitas peroksidase per mg protein dari daun rendah, namun dengan kadar protein yang tinggi, maka aktivitas peroksidase per g bobot segar daun juga menjadi tinggi bahkan melebihi aktivitas peroksidase per g bobot segar akar.

Pembahasan

Berdasarkan hasil percobaan 1 dan 2, ditemukan bahwa total protein terlarut dan kadar protein paling tinggi adalah pada daun tanaman. Total protein yang tinggi pada daun kemungkinan disebabkan peran utama daun untuk proses fotosintesis, proses sintesis dan metabolisme senyawa-senyawa penting lainnya yang melibatkan banyak protein atau enzim-enzim.

Kalus dari *T. cucumerina* dapat diinduksi pembentukannya pada media yang sama. Namun kisaran NAA dan BA yang digunakan belum menimbulkan perbedaan bobot kalus yang dihasilkan. Kalus yang terbentuk pada media dengan perlakuan konsentrasi NAA dan BA yang rendah (1 -2 μ M) cenderung memiliki warna kecoklatan. Warna kecoklatan pada kalus menunjukkan kemungkinan sel-sel pada kalus sudah mulai mengalami penuaan atau mendekati senesen. Konsentrasi auksin dan sitokinin dalam media N1B1 dan N2B2, kemungkinan sudah menurun ketersediaan maupun aktivitasnya pada 4 Minggu Setelah Penanaman sehingga tidak dapat mempertahankan multiplikasi sel ataupun sifat meristematik sel kalus dibanding media N3B3 dan N4B4 dengan konsentrasi NAA dan BA yang lebih tinggi.

Aktivitas kitinase dari ekstrak kasar protein kalus dari media N1B1, N2B2 dan N4B4 tidak berbeda nyata satu sama lain menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi NAA dan BAP dalam media tidak mempengaruhi aktivitas kitinase dari kalus *T. cucumerina* var. *anguina*. Beberapa peneliti melaporkan bahwa auksin atau sitokinin dapat menginduksi biosintesis enzim kitinase dalam tanaman namun hal tersebut tidak ditemukan dalam hasil percobaan ini. Hughes dan Dickerson (1991), yang melaporkan tentang terjadinya peningkatan aktivitas kitinase dan glukonase oleh perlakuan auksin IAA pada *Phaseolus vulgaris*. Sementara Barwe *et al.* (2001) menunjukkan bahwa BA dapat menginduksi peningkatan aktivitas kitinase pada kotiledon kecambah ketimun. Jayabaskaran *et al.* (2005) telah melaporkan mekanisme molekuler dari sitokinin dalam menginduksi ekspresi PR-protein. Mekanisme induksi ekspresi gen penyandi enzim kitinase dan glukonase pada kotiledon melibatkan serangkaian proses fosforilasi protein dan transduksi sinyal yang melibatkan ion Ca^{2+} sebagai *second messenger*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas kitinase dan peroksidase paling tinggi ditemukan pada ekstrak kasar protein akar tanaman dari lapangan. Meskipun demikian pada percobaan 1 terlihat bahwa ekstrak kasar protein dari kalus pada media N4B4 memiliki aktivitas kitinase yang hampir sama dengan ekstrak kasar protein akar. Hasil ini menunjukkan aktivitas kitinase pada *T. cucumerina* var. *anguina* dapat ditemui pada tingkat organisasi sel yang paling

rendah yaitu kalus, maupun pada organ tanaman berupa akar. Perbedaan aktivitas kitinase dari organ atau jaringan yang berbeda menunjukkan bahwa aktivitas kitinase bersifat *organ-dependent*. Hal ini juga pernah dilaporkan oleh Samac *et al.* (1990) pada tanaman *Arabidopsis thaliana*, dimana ekspresi gen *basic chitinase* pada akar mencapai 10 kali lipat dari ekspresi pada daun, menunjukkan adanya perbedaan tingkat ekspresi gen pada jaringan tanaman yang berbeda.

Sebagian besar tanaman menghasilkan sejumlah isozim kitinase (EC.3.2.1.14) yang dikode oleh famili multigen (Broglie *et al.* Kombrik *et al.*, Legrand *et al.*, dalam Samac *et al.* 1990). Isozim tersebut kadang-kadang diregulasi secara berbeda sepanjang pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sehingga ada yang ekspresinya tergantung organ maupun umur tanaman. Khan (2002) menyatakan sebagian besar isoform kitinase diekspresikan secara konstitutif pada level rendah. Pada *Arabidopsis thaliana* ekspresi isozim *basic chitinase* bersifat *age and organ-dependent*. Ekspresi famili gen tersebut paling tinggi pada akar dan makin meningkat pada tanaman tua (tanaman umur 36 hari memiliki ekspresi gen yang lebih tinggi dari tanaman berumur 26 hari) (Samac *et al.* 1990).

Ekstrak kasar protein akar tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* dari lapangan memiliki aktivitas kitinase paling tinggi, yaitu mencapai sekitar 36 kali lipat dibanding aktivitas kitinase pada daun. Pada penelitian sebelumnya ditemukan banyak hama dan penyakit yang disebabkan cendawan yang menyerang daun, maka kemungkinan hal tersebut disebabkan rendahnya ketahanan pada daun dan kemungkinan juga berhubungan dengan rendahnya aktivitas kitinase pada daun.

Umur tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* memiliki pengaruh yang berbeda terhadap aktivitas kitinase dari ekstrak kasar protein asal akar, batang dan daun. Aktivitas kitinase pada ekstrak kasar protein dari akar bibit tetap tinggi sampai tanaman berumur 1 BST maupun 2 BST dan sebaliknya pada ekstrak kasar protein asal daun relatif stabil tetap rendah sampai pengamatan 2 BST. Aktivitas kitinase pada ekstrak protein batang berbeda dengan aktivitas kitinase pada akar dan daun. Pada batang, ekstrak kasar protein mencapai puncaknya pada tanaman berumur 1 BST dan menurun kembali pada tanaman berumur 2 BST. Meningkatnya aktivitas kitinase pada batang pada fase tersebut dapat dipengaruhi oleh tingkat perkembangan tanaman yang sedang memasuki masa pembungaan sehingga diduga aktivitas kitinase pada batang bersifat *age-dependent*.

Aktivitas peroksidase pada *T. cucumerina* var. *anguina* diduga bersifat *age and organ dependent* yang berarti bahwa pada jaringan tertentu aktivitas peroksidase lebih tinggi dibanding jaringan lainnya dan aktivitas peroksidase tersebut dapat berubah dengan bertambahnya umur tanaman. Hal tersebut terlihat pada akar dengan aktivitas peroksidase yang lebih tinggi dibanding daun dan batang dan juga meningkat dengan bertambahnya umur tanaman.

Perbedaan aktivitas peroksidase dari organ yang berbeda dari satu tanaman juga pernah dilaporkan Tyson dan Jui (1967), yaitu pada batang dan daun *Limnium utitatisimum*. Tingginya aktivitas peroksidase pada akar salah satunya kemungkinan karena peroksidase berperan penting dalam proses inisiasi akar (Hartman *et al.* 1990). Dengan diketahuinya bagian tanaman yang menunjukkan aktivitas peroksidase yang tinggi maka bagian tanaman tersebut digunakan untuk penelitian lanjutan seperti untuk purifikasi enzim maupun isolasi

gen.

Dalam penelitian ini, aktivitas peroksidase pada akar *T. cucumerina* var. *anguina* terlihat konsisten paling tinggi pada akar. Pada percobaan 1, aktivitas peroksidase pada akar mencapai 6 – 10 kali lipat aktivitas peroksidase dari ekstrak kasar protein kalus dan 20 kali lipat dari aktivitas peroksidase dari ekstrak kasar protein daun. Sementara pada percobaan 2, aktivitas peroksidase pada akar mencapai 48 kali aktivitas peroksidase pada daun dan 6 kali aktivitas peroksidase pada batang.

Aktivitas peroksidase pada daun *T. cucumerina* var. *anguina* memiliki pola yang berbeda dengan akar dan batang, karena terlihat dipengaruhi oleh umur tanaman. Aktivitas peroksidase pada daun tanaman paling tinggi ketika tanaman berumur 1 BST dan kembali menurun pada tanaman berumur 2 BST. Pada pengamatan di lapang, tanaman dari daun dewasa paling banyak mengalami serangan penyakit berupa penyakit bercak daun dan embun tepung. Untuk selanjutnya diperlukan penelitian bagaimana hubungan tingkat serangan penyakit pada daun dengan rendahnya aktivitas peroksidase pada daun tersebut.

Selain faktor *age and organ dependent*, berbagai faktor lain dapat mempengaruhi aktivitas peroksidase seperti adanya cekaman dari lingkungan (biotik maupun abiotik, bahkan cekaman fisik seperti adanya angin (Cippolini, 1998). Aktivitas peroksidase sering digunakan sebagai marker untuk respon tanaman terhadap cekaman (Evers *et al.* 1997). Pengaruh faktor lingkungan yang bervariasi seperti intensitas cahaya yang tinggi, ozon, kekeringan, logam berat, cekaman garam tinggi, dapat mendorong munculnya spesies oksigen aktif (AOS) seperti $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , dan $^{\bullet}OH$ (Meneguzzo *et al.* 1998). Karena itu tanaman mengembangkan sistem antioksidan untuk memperbaiki kerusakan karena AOS, diantaranya dengan induksi beberapa enzim seperti superoksida dismutase, katalase dan peroksidase (Ascher *et al.* 1991).

Aktivitas kitinase yang tinggi pada ekstrak protein akar *T. cucumerina* var. *anguina* berbeda dengan yang pernah dilaporkan Hou *et al.* (1998) pada berbagai bagian tanaman ubi jalar. Pada ubi jalar tersebut aktivitas kitinase yang tinggi justru ditemukan pada daun dengan urutan aktivitas kitinase dari yang tertinggi ke yang terendah adalah daun>sprout>kulit akar simpan>akar simpan tanpa kulit.

Simpulan

Berdasarkan hasil percobaan 1 diketahui bahwa kalus dari eksplan potongan batang *T. cucumerina* var. *anguina* dapat dihasilkan dalam media N1B1 (MS + 1 μ M NAA + 1 μ M BA), N3B3 (MS + 3 μ M NAA + 3 μ M BA), dan N4B4 (MS + 4 μ M NAA + 4 μ M BA) dengan bobot kalus yang dihasilkan hampir sama pada semua media. Akar tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* dari lapangan dan kalus *in vitro* memiliki aktivitas kitinase yang lebih tinggi dari daun. Aktivitas peroksidase yang paling tinggi adalah pada akar tanaman.

Berdasarkan hasil percobaan 2 dapat disimpulkan bahwa total protein pada tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* di lapangan paling tinggi pada daun dan meningkat dengan bertambahnya umur tanaman. Total protein pada akar dan batang cenderung stabil sepanjang umur tanaman. Aktivitas kitinase paling tinggi pada akar dan batang, dengan kecenderungan menurun pada batang seiring

meningkatnya umur tanaman, sebaliknya pada akar cenderung meningkat dengan bertambahnya umur tanaman, Aktivitas kitinase pada daun cenderung stabil sepanjang umur tanaman. Aktivitas peroksidase paling tinggi pada akar diikuti oleh batang dan daun. Aktivitas peroksidase pada akar meningkat dengan bertambahnya umur tanaman.

Daftar Pustaka

- Barwe P, Sonali, Sathiyabama, Muthukrishnan, Jayabaskaran, Chelliah. 2001. Induction of chitinase activity by exogenous cytokinins in excised dark-grown cucumber cotyledones: involvement of staurosporine-sensitive protein kinase (s) in cytokinin signalling. *J. Plant Physiol.* 158(1):1-7.
- Evers D, Schmit C, Mailliet Y, Hausman J F. 1997. Growth characteristics and biochemical changes of poplar shoots in vitro under sodium chloride stress. *J. Plant Physiol.* 151:748–753
- Hartmann HT, Kester DE, Davies Jr FT. 1990. *Plant propagation.* Prentice-Hall
- Hughes RK, Dickerson AG. 1991. Modulation of elicitor induced chitinase and β -1,3-glucanase activity by hormones in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Cell Physiol.* 32(6):853-861.
- Khan AA. 2002. Characterization of Chitinase Activities, and Cloning, Analysis, and Expression of Gene Encoding Pathogenesis-Related Proteins in Strawberry. Dissertation. Louisiana State University. Louisiana. 154p
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275, Download from www.jbs.org.by on April 23, 2007
- Meneguzzo S, Sgherri CL, Navari-Izzo F, Izzo R. 1998. Stromal and thylakoid-bound peroxidases in NaCl treated wheat. *Physiol. Plant.* 104:735–740;
- Pujihartati E, Siswanto, Ellyas S, Sudarsono. 2006^a. Aktivitas Kitinase pada Kacang Tanah yang Sehat dan yang Terinfeksi *Sclerotium rolfsii*. *Hayati* 13(2):73-78.
- Pujihartati E, Ilyas S, Sudarsono. 2006^b. Aktivitas pembentukan secara cepat spesies oksigen aktif, peroksidase, dan kandungan lignin kacang tanah terinfeksi *Sclerotium rolfsii*. *Hayati* 13 (4): 166-172
- Samac DA, Hironaka CM, Yallaly PE, Shah DM. 1990. Isolation and characterization of the genes encoding basic and acidic chitinase in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 93:907-914.

THE EFFECT OF SALYCILIC ACID AND ETHEPHON ON CHITINASE AND PEROXIDASE ACTIVITY OF CRUDE PROTEIN EXTRACT FROM *Trichosanthes tricuspidata* Lour. CALLI¹

Dewi Sukma², Roedhy Poerwanto³, Sudarsono⁴, Nurul Khumaida⁵, I Made Artika⁶, Suryo Wiyono⁷

^{2,3,4,5} Department of Agronomy and Horticulture, Faculty of Agriculture, Bogor Agricultural University

⁶ Department of Biochemistry, Faculty of Natural Sciences, Bogor Agricultural University

⁷ Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bogor Agricultural University

Abstract

Trichosanthes tricuspidata Lour. is a member of *Trichosanthes* genus in *Cucurbitaceae* family. This plant was found in some place around Bogor, lives as a wild plants. Some species of *Trichosanthes* had been reported to contain some defense related proteins such as ribosome in activating protein and chitinase. Salicylic acid and ethephon are well known as the chemical inducer for some pathogenesis related protein. The research was carried to analyze the effect of salicylic acid and ethephon on chitinase and peroxidase activities in crude protein extract from *T. tricuspidata* calli. Calli were induced in Murashige and Skoog medium containing 4 μ M NAA and 4 μ M BA. The one month old calli were dipped for 15 minutes in 0.00, 0.025, 0.05 or 0.01 mM of SA or ethephon. The chitinase and peroxidase activity was analyzed at 1, 2 and 3 days after treatment of SA and at 1, 18 and 26 hours after treatment of ethephon. The results of the experiments showed that SA 0.05 and 0.10 mM could increased the chitinase and peroxidase activity of protein extract from calli at three days after treatment. Ethephon 0.05 and 0.10 mM increased chitinase activity quickly at one hour after treatment. Adversely, ethephon tend to decreased the peroxidase activity in protein extract of calli.

Key words: *Trichosanthes tricuspidata* Lour., bioactive protein, crude protein extract, chitinase activity, peroxidase activity, salicylic acid, ethephon.

¹The poster will be presented at International Symposium on Tropical and Sub Tropical Fruits in Bogor, November 3-7, 2008.



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
FAKULTAS PERTANIAN

Jln. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680; Telp. (0251) - 629354; 629350; Fax. 629352

E-mail: pertalpb@bogor.indo.net.id

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, Dekan Fakultas Pertanian IPB menerangkan bahwa nama berikut :

Dewi Sukma
Departemen Agronomi dan Hortikultura IPB
I Made Artika
Departemen Biokimia IPB
Efi T. Tondok
Departemen Proteksi Tanaman IPB

telah mempresentasikan makalah secara oral yang berjudul :

POTENSI PROTEIN ANTICENDAWAN DARI TANAMAN *Trichosanthes Cucumerina* Var. *Anguina* DAN *Trichosanthes Tricuspidata*

pada Seminar Nasional Hasil Penelitian yang Dibiayai oleh Hibah Kompetitif yang diselenggarakan oleh Fakultas Pertanian IPB bekerja sama dengan Ditjen Pendidikan Tinggi Depdiknas dan Kantor Pusat Perlindungan Varietas Tanaman (PPVT) Deptan tanggal 1 & 2 Agustus 2007 di Fakultas Pertanian Kampus IPB Darmaga, Bogor.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bogor, 2 Agustus 2007



Dekan Fakultas Pertanian IPB

Prof. Dr. Ir. Didy Sopandie, M.Agr
131 124 019

