Bidang Ilmu : Pertanian

LAPORAN PENELITIAN HIBAH BERSAING

JUDUL :

EKSPLORASI PROTEIN ANTIMIKROBA DARI AKAR *Trichosanthes* sp. MELALUI SISTEM KULTUR AKAR NORMAL DAN AKAR TRANSGENIK (*HAIRY ROOT) IN VITRO*

Peneliti:
Dewi Sukma, SP.MSi (Ketua)
Dr.Ir.I Made Artika, MApp.Sc. (Anggota)
Evi. T. Tondok,SP.MSc. (Anggota)

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Desentralisasi Penelitian Nomor : 318/SP2H/PP/DP2M/III/2008, tanggal 5 Maret 2008

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2008

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR

1. Judul Penelitian : Eksplorasi Protein Antimikroba dari Akar *Trichosanthes* sp. Melalui Sistem Kultur Akar Normal dan Transgenik (*Hairy Root) In Vitro*
2. Ketua Peneliti :
   a. Nama Lengkap : Dewi Sukma, SP.MSi.
   b. Jenis Kelamin : Perempuan
   c. NIP : 132 166 488
   d. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
   e. Jabatan Struktural : -
   f. Bidang Keahlian : Kultur Jaringan/Bioteknologi Tanaman
   g. Fakultas/Jurusan : Pertanian/Departemen Agronomi dan Hortikultura
   h. Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor
   i. Tim Peneliti :

No	Nama	Bidang Keahlian	Fakultas/Jurusan	Perguruan Tinggi
1.	Dr. Ir. I Made Artika, M.App.Sc.	Biokimia	FMIPA/ Biokimia	IPB
2.	Efi Toding Tondok, SP. MSc.	Proteksi Tanaman	Faperta/ Proteksi Tanaman	IPB

3. Pendanaan dan jangka waktu penelitian
   a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 3 tahun
   b. Biaya total yang diusulkan : Rp. 149.472.000
   c. Biaya yang disetujui tahun 2008 : Rp. 48.178.000

Bogor, 24 Oktober 2008

Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian

Prof.Dr.Ir. Didy Sopandie, MAgr.
NIP. 131 124 019

Ketua Peneliti

Dewi Sukma, SP.MSi.
NIP. 132 166 488

Menyetujui
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Institut Pertanian Bogor

Prof. Dr. Ir. Bambang Pramudya N., M.Eng
NIP. 130 541 469

DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
FAKULTAS PERTANIAN
DEPARTEMEN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA
BOGOR AGRICULTURAL UNIVERSITY, FACULTY OF AGRICULTURE
DEPARTMENT OF AGRONOMY AND HORTICULTURE
Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680; Telp./Fax (0251) 629353
E-mail : agronipb@indo.net.id

SURAT KETERANGAN
NO. 40 /I3.1.2/KP/2009

Yang bertandatangan di bawah ini Ketua Departemen Agronomi Dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Menerangkan bahwa tulisan atau laporan Saudara : Dewi Sukma, I Made Artika, Evi T.Tondok. Dengan Judul :

Eksplorasi Protein Antimikroba dari Akar Tanaman *Trichosanthes* sp. Melalui Sistem Kultur Akar Normal dan Akar Transgenik (*Hairy Root*) *in Vitro*
Th. Penulisan 2008

Telah didokumentasikan pada Perpustakaan Departemen Agronomi Dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Bogor, 19 Januari 2009
Ketua Departemen,

Prof. Dr Ir Bambang S.Purwoko, MSc
NIP. 131 404 220

A. LAPORAN HASIL PENELITIAN

RINGKASAN

Eksplorasi Protein Antimikroba dari Akar *Trichosanthes* sp. Melalui Sistem Kultur Akar Normal dan Akar Transgenik (*Hairy Root) In Vitro* (Dewi Sukma, I Made Artika, Efi T.Tondok)

Penelitian ini dilakukan dilakukan sebagai upaya untuk menggali potensi tanaman *Trichosanthes* sp. sebagai sumber protein bioaktif antimikroba. Berbagai jenis protein bioaktif antimikroba antara lain berupa *Pathogenesis Related-Proteins* (PR-Protein), *defensin, cyclophilin like-protein, glycine/histidin rich protein, Ribosome Inactivating Proteins (RIP), LTPs, killer proteins/killer toxin* dan *protease inhibitor*. PR-protein terdiri dari PR-1, PR-2 ((β-*glucanase*), PR-3 (chitinase), PR-4 (chitin binding protein) dan PR-5 antara lain seperti zeamatin dari jagung. Protein atau enzim lain yang umum pada tanaman yang berperan dalam penguatan struktur dinding sel dengan lignifikasi sel adalah peroksidase. Penelitian ini bertujuan untuk (1) mengetahui mengoleksi plasmanutfah, mengamati morfologi, pertumbuhan dan perkembangan serta hama dan penyakit tanaman *Trichosanthes* di lapangan, (2) mendapatkan kultur *in vitro* tanaman *Trichosanthes* berupa kultur tunas, kultur akar normal dan kultur akar transgenic (*hairy* root), (3) Mengetahui kadar protein dan aktivitas protein antimikroba/anticendawan (berupa aktivitas kitinase dan peroksidase dari berbagai bagian tanaman, (4) Mengetahui perlakuan yang dapat meningkatkan aktivitas kitinase dan peroksidase dari bagian tanaman di lapang dan kultur *in* vitro, (5) Mengetahui kemampuan protein dalam menghambat pertumbuhan mikroba (cendawan) secara *in vitro* dan (6) mengetahui hasil elektroforesis/karakterisasi protein asal tanaman *Trichosanthes.* Tahapan penelitian terdiri dari: (1) Koleksi dan evaluasi morfologi, pertumbuhan dan hama penyakit 3 spesies *Trichosanthes* di lapangan, (2) Inisiasi kultur tunas *in vitro,* kultur akar normal dan akar transgenic (*hairy* root) dari *Trichosanthes,* (3) Analisis total protein, aktivitas kitinase dan peroksidase dari berbagai bagian tanaman dan kultur *in vitro* (4) Induksi aktivitas kitinase dan peroksidase pada kultur *in vitro* dan tanaman di

lapang, (5) Uji aktivitas anticendawan dari protein asal tanaman *Trichosanthes* dan (6) Elektroforesis protein dari berbagai bagian tanaman *Trichosanthes.*

Hasil penelitian ini menunjukkan perbedaan morfologi dari *T.cucumerina* var. *anguina, T. tricuspidata,* dan *T.* quinquangulata. Perbedaan lain juga terlihat pada kebiasaan hidup (annual/perenial) dan gejala kerusakan karena serangan hama dan penyakit. *T. cucumerina* var. *anguina* menghadapi lebih banyak masalah hama dan penyakit dibanding *T. tricuspidata* dan *T. quinquangulata.*

Kultur *in vitro* berupa tunas dan kalus dapat dihasilkan pada *T. tricuspidata* dan *T. cucumerina* var. *anguina,* sedangkan kultur akar dan akar transgenic *(hairy root)* mengalami kendala dalam pemantapan pertumbuhan akar dan produksi biomassa yang rendah. Hasil analisis total protein menunjukkan bahwa kadar protein tanaman ada yang berbeda dari berbagai bagian tanaman yang di analisis seperti akar, batang, daun, tunas maupun kalus *in vitro.* Ekstrak kasar protein dari tunas *in vitro T. tricuspidata,* kalus dan akar tanaman dari lapang memiliki aktivitas kitinase lebih tinggi dibanding daun sedangkan aktivitas peroksidase paling tinggi ditemukan pada ekstrak kasar protein akar tanaman dari lapang. Pada *T. cucumerina* var. *anguina* aktivitas kitinase dan peroksidase paling tinggi ditemukan pada ekstrak kasar protein dari akar tanaman dari lapang dan kalus *in vitro.* Uji aktivitas kitinase dan peroksidase juga dilakukan pada ekstrak kasar protein dari akar, batang dan daun tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* dari lapang yang berumur 3 Minggu Setelah Berkecambah (MSB), tanaman berumur 1 bulan setelah penanaman (1 BST) dan tanaman berumur 2 bulan setelah penanaman di polibag (2 BST). Hasil pengujian menunjukkan bahwa aktivitas kitinase dan peroksidase pada *T. cucumerina* var. *anguina* paling tinggi pada ekstrak kasar protein akar, diikuti oleh batang dan daun dan cenderung meningkat dengan bertambahnya umur tanaman. Akar juga menunjukkan aktivitas kitinase dan peroksidase yang tinggi pada bibit, tanaman muda dan tanaman dewasa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tanaman *T. tricuspidata* di lapang salicyilic acid (SA) tidak meningkatkan aktivitas kitinase namun dapat meningkatkan aktivitas peroksidase. SA dapat meningkatkan aktivitas kitinase dan peroksidase pada ekstrak kasar protein dari kalus *in vitro.* Sementara perlakuan etefon (ETF) dapat meningkatkan aktivitas kitinase dari ekstrak kasar protein kalus *T. tricuspidata* namun menekan aktivitas peroksidase. Pada *T. cucumerina* var. anguina, SA tidak dapat meningkatkan aktivitas kitinase pada tanaman di lapang maupun pada kalus *in vitro.* Sebaliknya SA dapat meningkatkan aktivitas peroksidase pada akar tanaman *T. cucumerina* var. *anguina* di lapangan dan juga pada kalus *in vitro.*

Hasil pengujian aktivitas anticendawan dengan uji perkecambahan spora, ekstrak kasar protein dari tunas *in vitro T. tricuspidata* dapat menghambat perkecambahan spora beberapa cendawan patogen tanaman yaitu *Fusarium* sp. dari tanaman *T. cucumerina, Fusarium oxysporum* dari bawang merah, *Puccinia arachidis* dari kacang tanah dan *Pseudoperonospora cubensis* dari ketimun. Namun protein tersebut tidak dapat menghambat perkecambahan spora *Curvularia eragrostidis* dari anggrek *Dendrobium.* Pada uji penghambatan pertumbuhan hifa, esktrak kasar protein dari daun dan akar tanaman *T. tricuspidata* menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan hifa cendawan *Helminthosporium turcicum.*. Ekstrak protein dari akar menunjukkan efek penghambatan yang lebih besar terhadap pertumbuhan hifa cendawan dibanding protein daun. Pada *T. cucumerina* var. *anguina,* ekstrak protein dari batang menunjukkan penghambatan yang lebih besar terhadap pertumbuhan hifa cendawan *Helminthosporium turcicum* dibanding ekstrak protein dari akar atau daun.