

Belleh Cee

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
TAHUN ANGGARAN 2015



TRANSFORMASI GEN *KNAT1* KE DALAM *PROTOCORM*
ANGGREK *Dendrobium luisianthera* J. J. Sm.:
UPAYA MENINGKATKAN PRODUKSI BIBIT

Tahun ke-1 dari rencana 3 tahun

Oleh:

1. Dr. Edy Setiti/Wida Utami, M.S. NIDN 0021045707
2. Dr. Sucipto Hariyanto, DEA. NIDN 0009025604
3. Dr. Y. Sri Wulan Manuhara, M.SI. NIDN 0003036494

Dibiayai oleh DIPA Ditlitabmas Tahun Anggaran 2015 sesuai dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga Tentang Pelaksanaan Hibah Kegiatan Penelitian dan
Program Pengabdian kepada Masyarakat Baru dan Lanjutan
Dana DIPA Ditlitabmas Tahun Anggaran 2015
Nomor: 519/UN3/2015, Tanggal 26 Maret 2015

Universitas Airlangga
Oktober, 2015

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
TAHUN ANGGARAN 2015**



**TRANSFORMASI GEN *KNATI* KE DALAM *PROTOCOL*
ANGGREK *Dendrobium lasianthera* J. J. Sm.:
UPAYA MENINGKATKAN PRODUKSI BIBIT**

Tahun ke-1 dari rencana 3 tahun

Oleh:

- 1. Dr. Edy Setiti Wida Utami, M.S, NIDN 0021045707**
- 2. Dr. Sucipto Hariyanto, DEA, NIDN 0009025604**
- 3. Dr. Y. Sri Wulan Manuhara, M.Si, NIDN 0003036404**

**Dibiayai oleh DIPA DITLITABMAS Tahun Anggaran 2015 sesuai dengan Surat Keputusan
Rektor Universitas Airlangga Tentang Pelaksanaan Hibah Kegiatan Penelitian dan
Program Pengabdian kepada Masyarakat Baru dan Lanjutan
Dana DIPA Ditlitabmas Tahun Anggaran 2015
Nomor: 519/UN3/2015, Tanggal 26 Maret 2015**

**Universitas Airlangga
Oktober, 2015**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : TRANSFORMASI GEN KNAT1 KE DALAM
PROTOCOL ANGGREK *Dendrobium lasianthera* J. J.
Sm. : UPAYA MENINGKATKAN PRODUKSI BIBIT

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : Dr. EDY SETITI WIDA UTAMI Dra.,M.S.
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
NIDN : 0021045707
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Biologi
Nomor HP : 081332954433
Alamat surel (e-mail) : edysetiti@yahoo.com

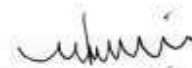
Anggota (1)
Nama Lengkap : Dr. SUCIPTO HARIYANTO DEA.
NIDN : 0009025604
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Anggota (2)
Nama Lengkap : Dr. YOSEPHINE SRI WULAN M M.Si.
NIDN : 0003036404
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
Institusi Mitra (jika ada) : -
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 50.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 150.000.000,00

Mengetahui,
Dekan FST UNAIR

Surabaya, 29 - 10 - 2015
Ketua,


(Prof. Win Darmanto Ph.D)
NIP/NIK 196106161987011001


(Dr. EDY SETITI WIDA UTAMI Dra.,M.S.)
NIP/NIK 195704211984032003

Menyetujui,
Ketua LPI UNAIR

(Prof.H.Hery Purnobasuki, M.Si. Ph.D)
NIP/NIK 196705071991021001

RINGKASAN

Dendrobium lasianthera J.J.Sm adalah jenis anggrek yang dikenal sebagai anggrek stroberi dan sebagai tanaman obat. Dari 3 organ vegetatif yaitu akar, batang dan daun bersifat toksik dan berpotensi sebagai antikanker.

Tujuan penelitian tahun pertama adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian pepton terhadap perkecambahan biji dan pembentukan *protocorm* (embrio tahap 3) *D. lasianthera*, mendapatkan konsentrasi pepton dan waktu inkubasi yang tepat dalam upaya menyediakan eksplan *protocorm* di atas 70% sebagai target transformasi dan mengetahui kemampuan regenerasi eksplan (*protocorm*) secara *in vitro*.

Penelitian ini menggunakan eksplan biji berumur 14 minggu hasil *self pollination* dan dikecambahkan pada media VW diberi pepton (0, 1, 2, 3 g/L). Pengamatan perkecambahan biji dilakukan pada minggu ke-4, ke-8 dan ke-12 setelah dikultur. Setelah 12 minggu dikultur, tunas yang berasal dari perkecambahan biji disubkultur secara individual pada media VW ditambah dengan nutrisi organik 15% air kelapa, 2 g/L pepton, 150 g/L bubuk pisang dan tanpa nutrisi organik digunakan sebagai kontrol. *Plantlets Dendrobium lasianthera* J.J.Sm dengan sekitar 4-5 daun, 4-6 akar (tinggi sekitar 2-3 cm) dikeluarkan dari botol kultur dan dicuci dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan agar. *Plantlets* selanjutnya ditanam dalam pot plastik berdiameter 10 cm yang mengandung campuran serabut kelapa dan sphagnum moss (3:1). Semua pot disimpan dalam greenhouse dan disiram 2 kali sehari selama aklimatisasi. Penelitian ini dirancang menggunakan rancangan acak lengkap. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian. Jika ada pengaruh perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada tingkat signifikansi $\alpha = 0.05$ (Duncan, 1955).

Hasil penelitian menunjukkan dari berbagai konsentrasi pepton yang ditambahkan ke dalam media VW padat mempengaruhi perkecambahan dan pembentukan *protocorm* anggrek *Dendrobium lasianthera*. Konsentrasi pepton terbaik yang mampu menyediakan *protocorm* sebagai target transformasi > 70% adalah 3 g/L. Waktu inkubasi yang tepat dalam menyediakan eksplan *protocorm* sebagai target transformasi adalah selama 8 minggu. *Protocorm* yang dihasilkan pada penelitian ini mampu ber regenerasi membentuk *plantlet*.

Key words: Dendrobium lasianthera, kultur biji in vitro, protocorm, pepton,

PRAKATA

Alhamdulillah, puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala, berkat bimbinganNYA penelitian dengan judul Transformasi Gen *KNATI* ke dalam *Protocorm* Anggrek *Dendrobium lasianthera* J. J. Sm.: Upaya Meningkatkan Produksi Bibit (Penelitian Tahun ke-1) dapat terlaksana dengan lancar. Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah membantu selama pelaksanaan penelitian. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Pimpinan Universitas Airlangga, Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi, Pimpinan Fakultas Sains dan Teknologi yang telah berkenan memfasilitasi dan membiayai penelitian ini.
2. Ketua Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
3. Mahasiswa angkatan 2012, Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga yang telah berperan serta dalam penelitian ini.
4. Rekan-rekan yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini yang belum penulis sebutkan satu persatu.

Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan dari tulisan ini. Akhirnya, semoga karya penelitian ini dapat bermanfaat.

Surabaya, Oktober 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Tentang <i>Dendrobium</i>	4
2.2 Transformasi dengan perantara <i>A tumefaciens</i>	4
2.3 Transformasi genetik pada tanaman anggrek.....	6
2.4 Tinjauan tentang Gen <i>KNAT1</i>	6
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	8
BAB IV. METODE PENELITIAN	9
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
BAB VI. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	19
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	20
DAFTAR PUSTAKA	

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
5.1.	Pengaruh pemberian pepton terhadap perkecambahan biji dan perkembangan <i>protocorm D. lasianthera</i> J.J.Sm pada minggu ke-4 setelah dikultur	13
5.2.	Pengaruh pemberian pepton terhadap perkecambahan biji dan perkembangan <i>protocorm D. lasianthera</i> J.J.Sm pada minggu ke-8 setelah dikultur	13
5.3.	Pengaruh pemberian pepton terhadap perkecambahan biji dan perkembangan <i>protocorm D. lasianthera</i> J.J.Sm pada minggu ke-12 setelah dikultur.....	14
5.4.	Pengaruh pemberian berbagai nutrien organik terhadap pembentukan akar dan perkembangan tunas <i>D. lasianthera</i> J.J.Sm pada minggu ke-16 setelah kultur	15

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
5.1.	Perkecambahan biji dan pembentukan tunas <i>D. lasianthera</i> J.J.Sm.....	12
5.2.	Perkembangan tunas <i>D. lasianthera</i> J.J.Sm.	15

DAFTAR LAMPIRAN

1. Personalia tenaga peneliti dan kualifikasinya
2. Publikasi

BABI. PENDAHULUAN

Saat ini anggrek telah menjadi komoditas perdagangan yang penting di Indonesia. Anggrek memiliki potensi ekonomi sebagai komoditas ekspor non migas yang dapat menambah devisa negara. Selain sebagai penopang industri bunga potong, ternyata anggrek khususnya genus *Dendrobium* telah dikenal luas sebagai obat tradisional. Produk obat-obatan tradisional yang berasal dari anggrek bahkan telah lama diperdagangkan di China (Bulpitt, 2005). Berbagai metabolit sekunder bibenzyls, fluorenones dan giganol telah di isolasi dari *Dendrobium nobile* yang mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding vitamin C yang potensial sebagai antikanker (Rosa, 2010; Zhang *et al.*, 2007). Ekstrak daun, batang, akar dan pseudobulb anggrek *Dendrobium crumenatum* mempunyai aktivitas antimikroba (Uma *et al.*, 2004). Senyawa baru dendroside D, dendroside E, dendroside F dan dendroside G telah ditemukan pada *Dendrobium nobile* dan menunjukkan aktivitas immunomodulatory (Ye *et al.*, 2012). Satu diantara jenis anggrek Indonesia yang berpotensi sebagai obat antikanker adalah anggrek stroberi *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm.

Hartanto *et al.* (2011) telah meneliti toksisitas dan potensi antikanker pada berbagai organ vegetatif *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm. Dari 3 organ vegetatif (akar, batang dan daun), semua organ bersifat toksik dan berpotensi sebagai antikanker, namun organ yang paling toksik dan mempunyai aktivitas antikanker payudara T47D adalah batangnya dengan nilai LC50 ($\mu\text{g/mL}$) = $117 \pm 6,35$. Sehubungan dengan potensinya yang cukup besar sebagai bahan baku obat antikanker dan untuk produksi bunga potong maka anggrek *Dendrobium lasianthera* ini merupakan tanaman bernilai ekonomi tinggi dan sangat potensial untuk dikembangkan.

Permasalahan utama dalam pengembangan tanaman anggrek untuk dapat digunakan sebagai bahan baku obat adalah 1) teknik perbanyakan masal relatif sulit, 2) terlalu lamanya fase vegetatif dalam siklus hidupnya (1-2 tahun), dan 3) stabilitas genetik tanaman. Anggrek dapat diperbanyak secara generatif dengan biji dan secara vegetatif. Anggrek menghasilkan biji dalam jumlah besar (2-3 juta biji/buah), namun karena biji anggrek tidak mempunyai endosperm fungsional, maka hanya 0,2-0,3% biji yang mampu berkecambah di alam dan *seedling* yang dihasilkan dari perkecambahan biji mempunyai variasi genetik yang luas, sehingga penyediaan bibit menjadi terbatas dan bervariasi (Arditti,1991). Perbanyakan