

Uji Aktivitas Protein Larut Air Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

(Antibacterial Activity of Water Soluble Protein from Porang Tubers (*Amorphophallus muelleri* Blume) Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*)

Putu Gita Maya Widyaswari Mahayasih¹, Tri Handoyo², Moch. Amrun Hidayat²

¹Fakultas Farmasi Universitas Jember

²Fakultas Pertanian Universitas Jember

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

e-mail korespondensi: trihandoyo.faperta@unej.ac.id

Abstract

The objective of this study was to determine antibacterial activity of water soluble protein of Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) tuber. The water soluble protein extract was tested against both *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using filter paper disk method. The inhibition zone of bacterial growth was calculated for both of bacterial cultures. It was found that water soluble protein exhibited antibacterial activity at linear range 0.3-1.9 μg and 0.1-1.9 μg for *E. coli* and *S. aureus* respectively, suggesting that *S. aureus* was more susceptible than *E. coli* to this protein. From the electrophoretic profile using 12.5% sodium dodecyl sulfate (SDS) and comassie blue staining (CBS), two protein bands were observed with molecular weight 17 and 19 kDa respectively. The water soluble protein were further evaluated using periodic acid staining (PAS). Pink band with molecular weight 250 kDa and > 250 kDa was found in PAS profile, suggesting the availability of carbohydrate molecule in water soluble protein extract of porang tubers.

Keywords: antibacterial protein, *E. coli*, protein, porang tuber, *S. aureus*

Abstrak

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri protein larut air umbi porang (*Amorphophallus muelleri* Blume). Ekstrak protein larut air diuji pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode *filter paper disk*. Zona hambat pertumbuhan bakteri diukur pada kedua media pertumbuhan bakteri. Dari hasil ditemukan bahwa ekstrak protein larut air menunjukkan aktivitas antibakteri pada jumlah protein 0,3 – 1,9 μg dan 0,1 -1,9 μg untuk masing-masing *E. coli* dan *S. aureus*, sehingga ekstrak protein larut air umbi porang lebih efektif pada bakteri *S. Aureus* daripada *E. coli*. Dari profil elektroforesis protein menggunakan *sodium dodecyl sulfate* (SDS) dan pewarnaan *coomassie brilliant blue* (CBB), dua pita protein ditemukan pada berat molekul 17 dan 19 kDa. Ekstrak protein larut air juga dievaluasi menggunakan *periodic acid staining*. Pita merah muda ditemukan pada berat molekul 250 dan > 250 kDa dengan menggunakan PAS, sehingga mengindikasikan adanya molekul karbohidrat pada ekstrak protein larut air umbi porang.

Kata kunci: *E. coli*, protein, protein antibakteri, *S. aureus*, umbi porang

Pendahuluan

Porang (*Amorphophallus muelleri*) merupakan tanaman yang hidup di daerah tropis dan tumbuh hampir di seluruh hutan di Indonesia. Porang memiliki kandungan glukomanan yang tinggi.

Kandungan glukomanan pada umbi porang juga memiliki kemampuan membentuk lapisan film yang baik, *biocompatibility* yang baik, *biodegradable* serta memiliki kemampuan membentuk gel, oleh karena itu umbi porang dapat dijadikan sebagai bahan dasar pembuatan *biopolimer* atau *biodegradable polimer* [1]. Sifat umbi porang sebagai biopolimer dapat dimanfaatkan dalam bidang industri farmasi sebagai pengganti gelatin untuk pembuatan cangkang kapsul.

Sebagai bahan pembungkus, bahan untuk cangkang kapsul diharapkan juga memiliki sifat antimikroba agar mampu melindungi bahan yang dibungkus terhadap jamur maupun bakteri. Salah satu bakteri yang diharapkan tidak tumbuh pada *film* pelapis kapsul adalah *Escherichia coli* [2]. Bakteri *E. coli* yang tergolong dalam bakteri gram negatif merupakan salah satu bakteri penginfeksi usus penyebab diare yang ditandai dengan seringnya mengalami defekasi, infeksi saluran kemih, sepsis, dan meningitis [3]. Selain bakteri gram negatif, ada pula bakteri gram positif. Salah satu jenis bakteri gram positif yang patogen terhadap manusia adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* selama hidupnya, dengan derajat keparahan yang beragam, dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan hingga berat [3]. Selain glukomanan, umbi porang juga memiliki kandungan berupa protein yang belum dieksplorasi manfaatnya. Secara umum, protein pada tumbuhan telah diketahui memiliki peran penting dalam mencegah pertumbuhan mikroba atau sebagai protein antimikroba [4]. Hingga saat ini telah ditemukan beberapa protein antimikroba yang berasal dari tanaman baik dari biji, umbi, akar, batang, atau bagian tumbuhan lainnya, misalnya MJ-AMP-1 dan MJ-AMP-2 dari *Mirabilis jalapa* [5], Pa-AMP-1 dari *Phytolacca americana* [6], Tu-AMP-1 dan Tu-AMP-2 dari *Tulipa gesneriana* L. [7], LJAMP1 dari *Leonurus japonicus* [8], snakin 1 dan snakin 2 dari *Solanum tuberosum* [9], dan lain-lain.

Jenis protein yang dapat berfungsi sebagai protein antimikroba salah satunya adalah lektin. Lektin merupakan kelompok protein yang berikatan dengan karbohidrat yang

spesifik. Lektin banyak terdapat di biji maupun umbi [4]. Beberapa contoh lektin tanaman yang telah diuji aktivitas antibakterinya antara lain: umbi *A. maculatum* [10] serta protein dari biji *D. regia* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan beberapa bakteri lainnya [11]. Glukomanan pada umbi porang merupakan heteropolisakarida [12] atau karbohidrat yang diduga berikatan dengan protein. Atas dasar ini, protein umbi porang yang diduga berikatan dengan glukomanan juga diduga tergolong dalam lektin, sehingga kemungkinan dapat berfungsi sebagai protein antibakteri.

Secara umum berdasarkan kelarutannya, protein dapat dikelompokkan menjadi: protein larut air, protein larut garam (globulin), protein larut basa (glutelin), serta protein larut alkohol (prolamin) [13]-[14]. Berdasarkan sifat kelarutan protein ini dilakukan uji pendahuluan mengenai aktivitas antibakteri keempat protein terlarut terhadap pertumbuhan bakteri dan dari uji yang dilakukan, diketahui bahwa yang memiliki aktivitas antibakteri adalah ekstrak protein larut air umbi porang. Oleh karena itu, maka dilakukan penelitian mengenai aktivitas protein larut air umbi porang sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri gram negatif dan gram positif. Pada penelitian ini digunakan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Metode Penelitian

Bahan

Umbi porang, akuades, bakteri *E. coli* dan *S. aureus* serta media Mueller Hinton untuk uji aktivitas antibakteri dan Nutrient Agar serta agar darah untuk media pertumbuhan bakteri, bahan-bahan SDS-PAGE diantaranya *stacking gel* dan *separating gel*, *sampel buffer*, *running buffer*, larutan *destaining*, *coomassie brilliant blue* (CBB), *Periodic acid staining* (*periodic acid*, *Carnoy's Fixative*, reagen Schiff), larutan *bradford*, *buffer tris HCl pH 8*, *bovine serum albumin* (BSA), marker protein dengan berat molekul 15 – 250 kDa, alkohol.

Alat

Inkubator, vortex, cawan petri berdiameter 10 cm, neraca analitik, blender, oven vakum, jangka sorong, sentrifuse (Durafuge), autoklaf, mikropipet, *blue tip*, *yellow tip*, satu set alat SDS-PAGE (Bio-Rad), pemanas magnetik, *laminar air flow*, inkubator (Carbolite),

spektrofotometer (Genesys tipe 10S UV-Vis), *mikrotube*.

Preparasi umbi porang

Umbi porang mula-mula dikupas sekitar 1 cm kemudian dijemur sampai kering dan digerus sampai halus. Selanjutnya irisan porang yang sudah kering lalu dihaluskan dengan blender sampai menjadi tepung dan di saring dengan ayakan sehingga didapatkan bubuk yang halus. Bubuk porang yang dihasilkan lalu disimpan pada kulkas sampai siap digunakan.

Sebanyak 10 g serbuk umbi porang diekstraksi dengan menggunakan akuades dan digojog menggunakan *shaker* selama 4 jam. Ekstrak kemudian disentrifugasi pada 5000 rpm selama 20 menit, suhu 20°C. Ekstraksi diulangi sebanyak 5 kali. Supernatan kemudian dipisahkan dengan menggunakan oven vakum pada suhu 4°C hingga bobotnya tetap. Ekstrak kering protein larut air umbi porang kemudian diresuspendikan dengan menggunakan Buffer Tris-HCl pH 8 10x massa ekstrak kering. Pengukuran kandungan protein larut air umbi porang dengan menggunakan metode Bradford pada panjang gelombang 595 nm.

Profil protein larut air umbi porang

Profil protein larut air umbi porang dibuat dengan menggunakan SDS-PAGE dengan konsentrasi akrilamid 12,5%. Pewarnaan dengan menggunakan *Coomassie Brilliant Blue* (CBB) dan destaining dengan 10% metanol dan 10% asam asetat. Karbohidrat dideteksi dengan menggunakan *periodic acid staining* (PAS) dengan konsentrasi 0,5%.

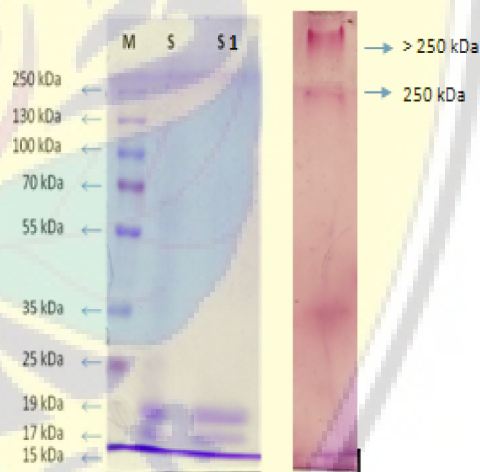
Uji aktivitas antibakteri protein larut air umbi porang

Uji aktivitas antibakteri protein larut air umbi porang dilakukan dengan menggunakan metode filter paper disk. Sebanyak masing-masing 100 µl suspensi bakteri *E. Coli* dan *S.aureus* yang telah distandarasi dengan Mc Farland 0,5 diratakan di atas permukaan media Mueller Hinton padat yang berbeda dengan menggunakan *sphreader* steril dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya kertas saring steril yang berukuran diameter 6 mm dan tebal 1,5 mm diletakkan pada permukaan media yang telah ditumbuhi bakteri. Sebanyak 10 µl sampel protein dengan konsentrasi 9,98 µg/ml; 20,01 µg/ml; 39,98 µg/ml; 50,01 µg/ml; 100,01 µg/ml; 149,98 µg/ml; 199,98 µg/ml, sehingga jumlah proteinnya

menjadi 0,0998 µg; 0,2001 µg; 0,3998 µg; 0,5001 µg; 1,001 µg; 1,4998 µg; dan 1,9998 µg; serta buffer Tris HCl sebagai kontrol negatif diimpregnasi pada kertas saring steril (15), dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter zona bening pertumbuhan bakteri pada setiap disk diukur dengan jangka sorong untuk mendapatkan diameter hambat bakteri.

Hasil Penelitian

Hasil ekstraksi protein larut air umbi porang didapatkan rendemen sebesar 24,5%b/b dan dengan susut pengeringan sebesar 98,77%. Pada pengukuran jumlah protein dengan metode Bradford didapatkan kadar protein larut air umbi porang sebesar 514,5 µg/ml. Hasil SDS-PAGE dengan pewarnaan CBB menunjukkan terdapat dua pita protein pada BM 17 kDa dan 19 kDa, sedangkan ketika dilakukan pewarnaan dengan PAS tidak didapatkan pita protein pada BM yang sama, tetapi pada BM ≥ 250 kDa. Hal ini seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Profil Protein Umbi Porang (a) menggunakan pewarna CBB; M (marker), S (sampel sebanyak 10 µl), S₁ (sampel sebanyak 50 µl); (b) menggunakan *periodic acid staining*.

Hasil uji aktivitas antibakteri pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menunjukkan peningkatan zona hambat seiring dengan meningkatnya jumlah protein, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan penghambatan. Hasil pengukuran zona hambat protein terhadap *E. coli* dan *S. Aureus* dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Zona Bening Ekstrak Protein Larut Air Umbi Porang terhadap Pertumbuhan Bakteri *E. Coli*.

Konsentrasi Protein uji (µg/ml)	Diameter Hambat (mm ± SD)
Kontrol negatif	-
0,0998	-
0,2001	-
0,3998	1,85±0,42
0,5001	6,86±0,33
1,0001	13,42±0,99
1,4998	16,50±0,29
1,9998	Tidak dapat diukur

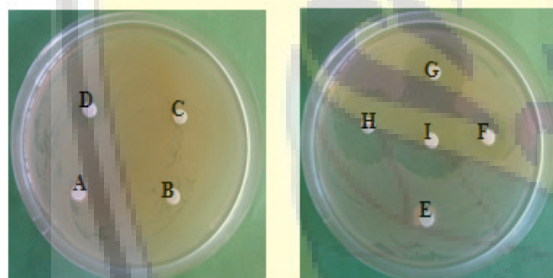
Tanda (-) : Tidak ada hambatan pertumbuhan bakteri.
Tanda (+): Terdapat hambatan pertumbuhan bakteri.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Zona Bening Ekstrak Protein larut Air Umbi Porang Terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus*.

Konsentrasi Protein uji (µg/ml)	Diameter Hambat (mm ± SD)
Kontrol negatif	-
0,0998	11,19±0,28
0,2001	14,02±0,20
0,3998	16,09±0,21
0,5001	Tidak dapat diukur
1,0001	Tidak dapat diukur
1,4998	Tidak dapat diukur
1,9998	Tidak dapat diukur

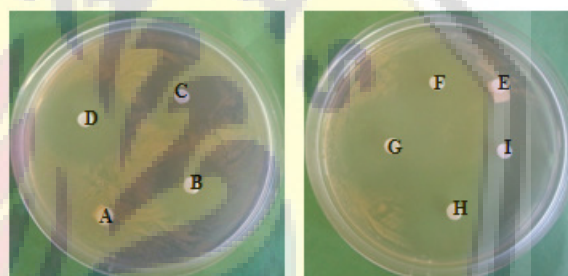
Tanda (-) : tidak ada hambatan pertumbuhan bakteri
Tanda (+): Terdapat hambatan pertumbuhan bakteri

Hasil pengamatan uji aktivitas ekstrak protein larut air umbi porang terhadap bakteri *E. coli* dan *S. Aureus* dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Hasil uji aktivitas antibakteri protein antibakteri umbi porang terhadap bakteri *E. Coli*.

- A : Kontrol negatif
- B : Jumlah protein 0,0998 µg
- C : Jumlah protein 0,2001 µg
- D : Jumlah protein 0,3998 µg
- E : Kontrol negatif
- F : Jumlah protein 0,5001 µg
- G : Jumlah protein 1,0001 µg
- H : Jumlah protein 1,4998 µg
- I : Jumlah protein 1,9998 µg



Gambar 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri protein antibakteri umbi porang terhadap bakteri *S. Aureus*

- A : Kontrol negatif
- B : Jumlah protein 0,0998 µg
- C : Jumlah protein 0,2001 µg
- D : Jumlah protein 0,3998 µg
- E : Kontrol negatif
- F : Jumlah protein 0,5001 µg
- G : Jumlah protein 1,0001 µg
- H : Jumlah protein 1,4998 µg
- I : Jumlah protein 1,9998 µg

Pembahasan

Profil protein umbi porang dibuat menggunakan pewarna CBB dan PAS. Pada pewarnaan dengan menggunakan CBB, terdapat dua pita protein dengan berat molekul rendah, yaitu berkisar antara 19 kDa dan 17 kDa, sedangkan ketika dilakukan pewarnaan dengan PAS untuk mengetahui adanya ikatan protein dengan glikogen (glikoprotein), tidak terlihat pita protein pada posisi yang sama. Pita berwarna merah muda-keunguan terlihat pada

berat molekul ≥ 250 kDa. Adanya perbedaan ini dapat dimungkinkan karena terputusnya ikatan antara protein dan glikogen (karbohidrat). Terputusnya ikatan protein-karbohidrat ini dapat dikarenakan adanya pengaruh dari SDS dan pemanasan saat preparasi sampel untuk elektroforesis. SDS yang merupakan deterjen anionik dapat berperan dalam pemutusan ikatan struktur sekunder, tersier dan kuartener dari protein agar menjadi rantai primer. Saat proses ini berlangsung, dimungkinkan ikatan antara protein-karbohidrat juga turut terputus. Dalam SDS, glikoprotein juga diperkirakan bermigrasi secara tidak normal sebab komponen non-protein yang dimiliki tidak terikat secara keseluruhan dengan SDS [16]. selain itu, adanya pemanasan yang dapat menyebabkan denaturasi protein juga diperkirakan menjadi pemicu putusannya ikatan protein-karbohidrat. Oleh karena protein yang masuk pada gel tidak berikatan dengan karbohidrat, maka pewarnaan dengan PAS tidak memberikan hasil positif pada berat molekul yang sama. Namun, dari hasil ini dapat diketahui bahwa pada ekstrak protein larut air umbi porang terdapat kandungan berupa protein dan karbohidrat.

Marker penciri protein berat molekul rendah digunakan untuk mengetahui berat molekul dari protein antibakteri. Pada Gambar 1 dapat dilihat terdapat dua pita protein dengan berat molekul sekitar 17 kD dan 19 kD. Hal ini sesuai dengan beberapa hasil penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa protein antibakteri rata-rata memiliki berat molekul yang relatif rendah atau sering disebut dengan *Low Molecular Weight* dengan kisaran antara 10-30 kD [9], [17].

Pada uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa kontrol negatif yang digunakan, yaitu Buffer Tris HCl pH 8 tidak memberikan zona hambatan. Hal tersebut membuktikan bahwa pelarut tidak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri, sehingga aktivitas hanya berasal dari larutan uji dan bukan dari pelarut yang dipakai. Buffer Tris HCl pH 8 digunakan sebagai kontrol negatif dengan tujuan untuk melarutkan protein yang terlarut pada ekstrak air umbi porang sekaligus untuk menjaga kestabilan protein. Pada Gambar 2 dan Gambar 3 dapat dilihat gambaran diameter zona hambatan pertumbuhan dalam berbagai jumlah protein. Gambar ini menunjukkan bahwa protein larut air umbi porang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* yang ditandai dengan adanya daerah hambatan atau zona bening pertumbuhan bakteri di sekitar *paper*

disk. Protein larut air umbi porang memberikan daya hambat yang lebih besar pada bakteri *S. aureus* daripada *E. coli*. Pada jumlah protein 0,0998 μg , larutan uji dapat memberikan zona hambatan pertumbuhan bakteri sebesar 11,19 mm pada bakteri *S. aureus*, sedangkan pada *E. coli*, untuk mendapatkan zona hambatan yang serupa dibutuhkan jumlah protein sebesar 1,0001 μg . Aktivitas penghambatan protein larut air terhadap bakteri *E. coli* baru terlihat pada jumlah protein 0,3998 μg yaitu sebesar 1,85 mm dan tidak memberikan aktivitas penghambatan pada jumlah protein 0,0998 μg dan 0,2001 μg . Zona hambatan pertumbuhan bakteri yang dihasilkan juga semakin meningkat dengan bertambahnya jumlah protein.

Berdasarkan besar penghambatan yang diperoleh, ekstrak protein larut air umbi porang lebih mudah menghambat bakteri Gram positif (*S. aureus*) dibandingkan bakteri Gram negatif (*E. coli*). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan struktur membran sel bakteri. Bakteri Gram negatif mempunyai dua sel membran, yaitu membran luar dan membran dalam, sedangkan bakteri Gram positif hanya memiliki membran luar [3]. Protein antibakteri yang diduga memiliki mekanisme aksi pada membran sel bakteri, akan lebih sulit dalam merusak membran bakteri Gram negatif. Pada bakteri Gram negatif, dalam menjalankan aktivitasnya, protein harus berikatan dengan kedua membran tersebut (membran luar dan membran dalam). Kemampuan protein membunuh bakteri bakteri gram negatif lebih ditentukan oleh gangguan pada membran dalam. Sebaliknya, pada bakteri Gram positif yang hanya memiliki membran luar menyebabkan kerja protein lebih mudah, dimana protein antibakteri hanya harus mengganggu permeabilitas satu lapis membran dari Gram positif. Efek dari paparan protein antibakteri terhadap bakteri gram positif akan meningkatkan aliran air dan ion, efflux dari K^+ , *swelling* dan disregulasi osmotik (18). Mekanisme kerja ini juga berlaku bagi protein yang memiliki mekanisme aksi pada bagian dalam sel bakteri. sebelum memasuki bagian dalam sel, protein akan lebih sulit menembus membran bakteri Gram negatif daripada Gram positif. Oleh karena itu, daya hambat antibakteri ekstrak protein larut air umbi porang lebih besar pada bakteri Gram positif daripada bakteri Gram negatif.

Berdasarkan hasil uji aktivitas, dapat dikatakan bahwa ekstrak protein larut air umbi porang memiliki aktivitas dalam menghambat bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Sifat umbi porang

ini dapat menjadi nilai tambah umbi porang sebagai bahan polimer, terutama sebagai pengganti gelatin untuk cangkang kapsul. Kemampuan ekstrak protein larut air dalam menghambat pertumbuhan bakteri akan menjadikan cangkang kapsul yang dihasilkan memiliki kemampuan sebagai pengawet alami, sehingga dapat mencegah kontaminasi bakteri khususnya bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Simpulan dan Saran

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa berat molekul protein larut air umbi porang yang kemungkinan memiliki aktivitas antibakteri adalah protein dengan BM 17 kDa dan 19 kDa. Protein larut air umbi porang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan efektifitas penghambatan lebih besar pada bakteri *S. aureus* daripada *E. coli*.

Saran dari penelitian ini adalah perlu adanya uji lebih lanjut mengenai aplikasi protein larut air umbi porang dalam aplikasinya sebagai cangkang kapsul. merupakan simpulan dari hasil dan pembahasan disertai dengan saran yang diajukan penulis untuk pengembangan berikutnya.

Daftar Pustaka

- [1] Liu, C.H. and Xiao, C.B. Characterization of konjac glucomannan quaternize poly (4-vinyl-N-butyl) pyridine blend films and their preservation effect. *Journal of Applied Polymer Science*. 2004; 93: 1868–1875.
- [2] GMIA. *Gelatin Handbook*. Amerika: Gelatin Manufactures Institute of America Members as of January 2012; 2012.
- [3] Jawetz, E., Melnick, J., Adelberg, E., Brooks, G. F., Janet, S. B., dan Stephen, A. M. *Mikrobiologi Kedokteran*. 23th Edition. Jakarta: EGC; 2008.
- [4] Candido, E. S., Pinto, M. F. S., Pelegrini, P. B., Lima, T. B., Silva, O. N., Pogue, R., Grossi-de-Sa, M. F., & Franco, O. L. 2011. Plant Storage Proteins with Antimicrobial Activity: Novel Insights into Plant Defense Mechanisms. *The FASEB Journal Article*; 2011. 25: 1117-1125
- [5] Cammue BPA., De Bolle MFC., Terras FRG., Proost P., Damme JV., Rees SB., Vanderleyden J & Broekaert WF. Isolation and characterization of a novel class of plant antimicrobial peptide from *Mirabilis jalapa* L. seeds. *J Biol Chem*; 1992. 267:2228-2233.
- [6] Liu, Y., J. Luo, C. Xu, F. Ren, C. Peng, G. wu, and J. Zhao. Purification, Characterization, and Molecular Cloning of the Gene of a Seed-Specific Antimicrobial Protein from Pokeweed. *Plant Physiology*; 2000. 122: 1015-1024.
- [7] Fujimura M., M. Ideguchi., Y. Minami., K. Watanabe And K. Tadera. Purification, Characterization, And Sequencing Of Novel Antimicrobial Peptides, Tu-Amp 1 And Tu-Amp 2, From Bulbs Of Tulip (*Tulipa Gesneriana* L.). *Bioscience, Biotechnology And Biochemistry*; 2004. 68(3) : 571–577.
- [8] Yang, X., Y. Xiao., X. Wang., and Y. Pei. Expression of a Novel Small Antimicrobial Protein from the Seeds of Motherwort (*Leonurus japonicus*) Confers Disease Resistance in Tobacco. *Applied And Environmental Microbiology*; 2007. 73 (3) : 939-946.
- [9] Pelegrini, P.B., R.P. del Sarto., O. N. Silva., O.L. Franco., and M. F. Grossi-de-Sa. Antimicrobial Peptides from Plants: What They Are and How They Probably Work. *Biochemistry Research International.*; 2011. 2011: 1-9.
- [10] Majumder, P., Banerjee S., Das, S. Identification of Receptors Responsible For Binding of the Mannose Specific Lectin to the Gut Epithelial Membrane of the Target Insects. *GlycoconjugateJ*; 2004. 20 : 525-530
- [11] Sammour, R. H and El-Shanshoury, A. R. Antimicrobial Activity of Legume Seed Proteins. *Botanical Bulletin Academia Sinica*; 1992. 31: 185-190.
- [12] Akesowan, A. Viscosity and Gel Formation of a Konjac Flour from *Amorphophallus oncophyllus*. Faculty of Science, University of the Thai Chamber of Commerce Bangkok; 2003. Thailand. 142-149.
- [13] Robinson, T. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : ITB; 1995.
- [14] Sumardjo, D. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta : EGC; 2009.
- [15] Moniharapon E and Hashinaga F. 2004. Antimicrobial activity of Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk) fruit extract. *Pakistan Journal Biological Science*; 2004. 7(6): 1057-1061.
- [16] Garfin, D. E. *Gel Electrophoresis of Protein*. Essential Cell Biology; 2003. 1(7): 197-268.

[17] Marshall, S. H dan Arenas. Antimicrobial peptides: A natural alternative to chemical antibiotics and a potential for applied biotechnology. *Electronic Journal of Biotechnology*; 2003. 6(2): 271-284

[18] Yeaman, M.R. and N.Y. Yount. Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance. *Pharmacological Reviews*; 2003. 55 (1): 27-55.

