



**UJI ALERGENITAS PROTEIN UMBI PORANG (*Amorphophallus muelleri*
Blume.) DENGAN METODE WESTERN BLOT**

SKRIPSI

Oleh

Aru Mahendra Wibowo
NIM 092210101049

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER

2014



**UJI ALERGENITAS PROTEIN UMBI PORANG (*Amorphophallus muelleri*
Blume.) DENGAN METODE WESTERN BLOT**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

Aru Mahendra Wibowo
NIM 092210101049

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER

2014

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bapak Harsito dan Ibu Endang Sri Haryani tercinta yang selalu mendoakan, mendukung baik spiritual maupun material, serta senantiasa memberi kasih sayang yang menyemangatkan.
2. Kakak-kakakku Edo Maharu Wibowo dan Rio Mahadi Wibowo yang juga selalu mendoakan dan memberikan semangat dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Dosen-dosen saya di Perguruan Tinggi yang telah dengan sabar menuntun dan memberikan ilmunya kepada saya.
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Maka sesungguhnya beserta kesukaran ada kemudahan,
sesungguhnya beserta kesukaran ada kemudahan.

Terjemahan Surat Al Insyiraah Ayat 5-6 *)

Tanyakan pada dirimu, apa kemungkinan terburuk yang akan terjadi, persiapkan dirimu untuk menerima dan menghadapinya, kemudian hadapi dengan tenang untuk menjadikan kemungkinan terburuk itu menjadi lebih baik **)

Hidup adalah kegelapan jika tanpa hasrat dan keinginan. Dan semua hasrat dan keinginan adalah buta jika tidak disertai pengetahuan. Dan pengetahuan adalah hampa jika tidak diikuti pelajaran. Dan semua pelajaran akan sia-sia jika tidak disertai cinta ***)

*) Adlany, N., dkk. 2005. *Al Qur'an Terjemah Indonesia*. Jakarta: PT. Sari Agung

**) Al-Qarni, A. 2005. *La Tahzan Jangan Bersedih*. Jakarta: Qisthi Press

***) Kahlil Gibran

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aru Mahendra Wibowo

NIM : 092210101049

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul *Uji Alergenitas Protein Umbi Porang (Amorphophallus muelleri Blume.) dengan Metode Western Blot* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 28 November 2014

Yang menyatakan,

Aru Mahendra Wibowo

NIM 092210101049

SKRIPSI

UJI ALERGENITAS PROTEIN UMBI PORANG (*Amorphophallus muelleri* Blume.) DENGAN METODE WESTERN BLOT

Oleh:
Aru Mahendra Wibowo
NIM 092210101049

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Tri Handoyo, SP.,M.Agr.,Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : Moch. Amrun Hidayat, S.Si.,Apt.,M.Farm

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Alergenitas Protein Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume.) dengan Metode Western Blot” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : 28 November 2014

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Tri Handoyo, SP.,M.Agr.,Ph.D

Moch. Amrun Hidayat S.Si.,Apt.,M.Farm

NIP 197112021998021001

NIP 197801262001121004

Tim Penguji

Penguji I,

Penguji II,

Siti Muslichah, S.Si.,M.Sc.,Apt

Endah Puspitasari, S.Farm.,M.Sc.,Apt

NIP 197305132005012001

NIP 198107232006042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lesty Wulandari S.Si.,M.Farm.,Apt

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Alergenitas Protein Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume.) dengan Metode *Western Blot*; Aru Mahendra Wibowo, 092210101049; 2014; 57 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume.) dari suku Araceae merupakan tanaman yang hidup di daerah tropis dan tumbuh hampir di seluruh hutan di Indonesia. Porang banyak dibudidayakan di kawasan hutan Jawa Timur oleh masyarakat bekerjasama dengan Perum Perhutani Unit II. Porang tersebar luas di daerah hutan jati Nganjuk, Ngawi, Bojonegoro, dan Madiun dengan luas areal masing-masing 55.000 Ha, 45.000 Ha, 60.000 Ha, dan 75.000 Ha. Pada tahun 2009, produksi porang di Jawa Timur mencapai 600-1.000 ton *chip* kering, sedangkan kebutuhan industri mencapai 3.400 ton *chip* kering. Dalam meningkatkan nilai jual umbi porang, perlu ditemukan manfaat lain umbi porang. Umbi porang memiliki kandungan berupa protein. Secara umum, beberapa protein pada tanaman dapat menimbulkan alergi, misalnya protein pada gandum (30-50 kDa) dan kedelai (55 kDa). Belum diketahui secara pasti apakah protein dalam porang dapat menyebabkan alergi. Oleh karena itu, dilakukan uji alergenitas pada protein porang yang diharapkan nantinya kandungan protein pada porang tidak menimbulkan alergi. Umbi porang diekstraksi berdasarkan kelarutannya ke dalam empat pelarut yang berbeda yaitu air, garam (NaCl 5%), basa (NaOH 0,02 M), dan alkohol (etanol 70%). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan pola protein umbi porang dalam ekstrak air, garam, basa, dan alkohol terhadap alerginesitas secara umum.

Pembuatan ekstrak protein umbi porang dilakukan dengan ekstraksi bertingkat, mula-mula merendam simplisia dalam pelarut air selama 4 jam pada suhu ruang, kemudian disentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit pada suhu 20°C dan diambil supernatannya. Selanjutnya residu diekstraksi dengan NaCl 5%, disentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit pada suhu 20°C dan diambil supernatannya. Residu yang

dihasilkan lalu diekstraksi dengan NaOH 0,02 M, disentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit pada suhu 20°C dan diambil supernatannya, dan terakhir residu yang dihasilkan diekstraksi dengan etanol 70%, disentrifugasi 5.000 rpm selama 20 menit pada suhu 20°C juga diambil supernatannya. Supernatan dari keempat pelarut kemudian dikeringkan pada suhu 4°C dengan menggunakan oven vakum sehingga didapatkan ekstrak kering. Ekstrak kering protein umbi porang diresuspensikan dengan *Buffer* Tris HCl pH 8 10x berat ekstrak kering.

Hasil analisis profil protein dengan SDS-PAGE 12,5% menggunakan pewarna *coomassie brilliant blue* (CBB) diperoleh pita protein larut air dengan berat molekul sekitar 18 kDa, 19 kDa, 20 kDa, 22 kDa, 25 kDa, 27 kDa, 28 kDa dan 33 kDa, berat molekul protein larut NaCl 5% sekitar 26 kDa dan 31 kDa, berat molekul protein larut NaOH 0,02 M sekitar 31 kDa, dan berat molekul etanol 70% sekitar 26 kDa dan 31 kDa. Hasil uji alergenitas dengan metode *Western Blot* menggunakan antibodi primer *anti-human* IgE serum dan antibodi sekunder *alkaline phosphatase* (AP) *conjugated* menunjukkan bahwa protein yang larut dalam pelarut air, NaCl 5%, NaOH 0,02 M, dan etanol 70% serta kontrol negatif tidak mengandung protein alergen, sedangkan pada kontrol positif (protein albumin yang diisolasi dari gandum) menunjukkan adanya pita protein alergen pada berat molekul 27 kDa. Hasil tersebut menunjukkan bahwa protein larut air, NaCl 5%, NaOH 0,02 M, dan etanol 70% umbi porang tidak memiliki protein penyebab alergi.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala hikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Uji Alergenitas Protein Umbi Porang (Amorphophallus muelleri Blume.) dengan Metode Western Blot*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dukungan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Allah S.W.T untuk karunia yang diberikan;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si.,Apt.,M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Bapak Tri Handoyo, SP.,M.Agr.,Ph.D selaku DPU dan bapak Moch. Amrun Hidayat S.Si.,Apt.,M.Farm selaku DPA yang telah memberikan dukungan dan semangat untuk penyelesaian skripsi ini;
4. Ibu Siti Muslichah, S.Si.,M.Sc.,Apt dan Ibu Endah Puspitasari, S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku dosen penguji yang banyak memberikan saran dan kritik yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Bapak Drs. Wiratmo, M.Sc.,Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik atas masukan dan bimbingannya beserta seluruh bapak dan ibu dosen yang telah memberikan bekal ilmu selama menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Bapak Harsito, Ibu Endang, serta kakak-kakakku Edo dan Rio di Sidoarjo yang telah banyak berkorban dan memberikan dukungan, semangat, doa, dan kasih sayang yang menjadi semangat utamaku menyelesaikan skripsi ini;
7. Karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah banyak membantu;
8. Sahabatku Diar, Nadia dan Andini untuk pengalaman, doa dan semangat yang tiada henti;

9. Seluruh keluarga besar *The Niners* untuk 4 tahun yang penuh cerita;
10. Teman-teman KKT Gelombang I 2013 Kecamatan Puger untuk 45 hari yang berkesan;
11. Teman-teman Kos Djuwito *Club* untuk kebersamaan, persahabatan, doa, serta semangat;
12. Keluarga MPM Fakultas Farmasi 2010-2012 atas kebersamaan, pelajaran serta pengalamannya;
13. Putu G. M. W. Mahayasih, S.Farm untuk bantuan, bimbingan, inspirasi, kesabaran, dan pengertiannya sebagai adik, teman, juga sahabat.

Penulis menerima saran dan kritik yang membangun dari semua pihak karena penulis menyadari skripsi ini tidaklah sempurna. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Jember, 28 November 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Mengenai Porang	4
2.1.1 Klasifikasi	4
2.1.2 Morfologi Tanaman	6
2.1.3 Kandungan Umbi Porang	7
2.2 Tinjauan Mengenai Protein	7
2.2.1 Klasifikasi Protein	8

2.2.2 Pemurnian Protein	10
2.2.3 Protein Alergen	11
2.3 Alergi	12
2.3.1 Antigen	14
2.3.2 Antibodi	15
2.4 Reaksi Alergi	18
2.5 Uji Aktivitas Alergi	19
2.5.1 Metode <i>In Vivo</i>	20
2.5.1.1 Pemeriksaan Tes Kulit	20
2.5.1.2 Pemeriksaan Uji Provokasi Hidung	21
2.5.2 Metode <i>In Vitro</i>	21
2.6 Elektroforesis Gel SDS-PAGE	22
2.7 <i>Western Blot</i>	25
2.8 Metode Deteksi	27
2.8.1 Kolorimetri	28
2.7.1.1 Kolorimetri <i>Horseradish Peroksidase</i> (HRP)	28
2.7.1.2 Kolorimetri <i>Alkaline Phosphatase</i> (AP)	29
2.7.2 <i>Chemiluminescence</i>	30
2.7.3 <i>Fluorescent</i>	30
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	31
3.1 Jenis Penelitian.....	31
3.2 Rancangan Penelitian.....	31
3.3 Sampel	32
3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	32
3.4.1 Variabel Bebas	32
3.4.2 Variabel Terikat	32
3.4.3 Variabel Terkendali	32
3.4.4 Definisi Operasional	32

3.5 Bahan dan Instrumen	33
3.5.1 Bahan penelitian	33
3.5.2 Instrumen Penelitian	33
3.6 Waktu dan Lokasi Penelitian	33
3.6.1 Waktu Penelitian.....	33
3.6.2 Lokasi Penelitian.....	33
3.7 Prosedur Penelitian	34
3.7.1 Proses Pembuatan Serbuk Simplisia Umbi Porang	34
3.7.2 Ekstraksi Protein Umbi Porang	34
3.7.3 Pembuatan Gel Elektroforesis SDS-PAGE	34
3.7.3.1 Pembuatan <i>Separating Gel</i>	34
3.7.3.2 Pembuatan <i>Stacking Gel</i>	35
3.7.4 Proses Elektroforesis	35
3.7.5 Pewarnaan dengan <i>Coomassie Brilliant Blue</i>	35
3.7.6 Penentuan Berat Molekul	35
3.7.7 Penentuan Protein Alergen dengan <i>Western Blot</i>	36
3.8 Skema Kerja Penelitian	37
3.8.1 Alur Ekstraksi Protein Umbi Porang	37
3.8.2 Alur Pembuatan Profil Protein Porang	38
3.8.3 Alur Pembuatan Profil Alergenitas Ekstrak Porang	39
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	40
4.1 Proses Pembuatan Simplisia	40
4.2 Pembuatan Ekstrak Protein Umbi Porang Larut Air, NaCl 5% , NaOH 0,02 M, dan Etanol 70%	40
4.3 Pembuatan Profil Protein Umbi Porang	40
4.4 Penentuan Protein Alergen dengan <i>Western Blot</i>	42
4.5 Pembahasan.....	43
4.5.1 Profil Protein Umbi Porang Menggunakan SDS-PAGE ...	43

4.5.2 Uji Alergenitas Umbi Porang menggunakan <i>Western</i>	
<i>Blot</i>	44
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan umbi porang	7
Tabel 4.1 Hasil penimbangan ekstrak kering protein umbi porang	40

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Gambaran morfologi umbi porang	5
Gambar 2.2 Struktur umum asam amino.....	8
Gambar 2.3 Proses sensitisasi dan degranulasi	13
Gambar 2.4 Pemisahan campuran protein dengan elektroforesis, transfer ke membran nitroselulosa dan deteksi protein target	27
Gambar 2.5 Mekanisme metode deteksi	28
Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian penentuan alergenitas protein umbi porang.....	31
Gambar 3.2 Alur ekstraksi protein umbi porang.....	37
Gambar 3.3 Alur pembuatan profil protein porang	38
Gambar 3.4 Alur pembuatan profil alergenitas ekstrak protein porang	39
Gambar 4.1 Profil protein umbi porang	41
Gambar 4.2 Profil protein umbi porang dengan <i>Western Blot</i>	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Berbagai macam komposisi bahan yang digunakan.....	55
B. Dokumentasi penelitian.....	57