



PROSIDING SEMINAR NASIONAL DAN KONGRES INDONESIAN PROTEIN SOCIETY (IPS)

Jember, 6–7 Juli 2012

Tema:

**Eksplorasi dan Inovasi Sumber Protein
untuk Penguatan Sains dan Teknologi**

Editor:

Dr. Ir. Miswar, M.Si.

Netty Ermawaty, SP., M.Sc, Ph.D.

Tri Handoyo, SP., Ph.D

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL DAN KONGRES INDOONESIAN PROTEIN SOCIETY (IPS)

Tema: Eksplorasi dan Inovasi Sumber Protein untuk Penguatan Sains dan Teknologi

Jember, 6–7 Juli 2012

Editor Dr. Ir. Miswar, M.Si.
Netty Ermawaty, SP., M.Sc., Ph.D.
Tri Handoyo, SP., Ph.D.

ISBN 978-979-803684-2

Penerbit



Kartika Mulya (Anggota IKAPI)
Jl. Potro Agung III No. 41C, Surabaya 60135
Tel. (031) 3715941, Fax. (031) 3770687
email: kartikamulya@gmail.com



UNIVERSITAS JEMBER



Indonesian Protein Society

Hak cipta dilindungi undang-undang.

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian/seluruh isi buku ini
tanpa izin tertulis dari penerbit

KATA PENGANTAR

Seminar Nasional dan Kongres Indonesian Protein Society merupakan forum ilmiah yang diselenggarakan oleh Universitas Jember bekerja sama dengan Organisasi profesi *Indonesian Protein Society* (IPS) pada tanggal 6-7 Juli 2012 di Jember. Seminar Nasional IPS dengan tema "**Eksplorasi dan Inovasi Sumber Protein Untuk Penguatan Sains dan Teknologi**" dimaksudkan sebagai sarana dalam pengembangan keilmuan dan informasi bagi pencabang protein dari semua aspek ilmu hayati.

Seminar ini menghadirkan beberapa pembicara tamu dari luar dan dalam negeri, antara lain Prof. Dr. Kyun Oh Lee (Korea), Prof. Dr. Young Ryun Chung (Korea), Prof. Dr. Sang Y Lee (Korea), Prof. Dr. Toshiharu Hase (Japan), Prof. Tomohiko Yamazaki (Japan), Prof. Nico Tjandra (USA), Prof. Dr. Maggy T. (IPB) dan Prof. Dr. Bambang Sugiharto (UJember), serta dihadiri oleh peneliti-peneliti dari berbagai institusi di Indonesia.

Makalah-makalah yang diseminarkan dan terangkum dalam prosiding ini terbagi dalam bidang yaitu Bidang Pertanian dan Pangan, Bidang Kesehatan dan Farmasi serta Bidang Lingkungan dan Industri. Tim editor dalam menyusun prosiding ini tidak mengubah makalah, dan hanya melakukan beberapa penyesuaian menurut format redaksional yang ditetapkan. Adapun isi dari setiap makalah menjadi tanggung jawab masing-masing penulis.

Kami berharap semoga prosiding ini bermanfaat dan dapat menambah khasanah dalam pengembangan dan penerapan ilmu di bidang protein untuk kemakmuran dan kesejahteraan umat manusia.

Jember, Februari 2013

Tim Editor

Dr. Ir. Miswar, M.Si

Netty Ermawaty, SP., M.Sc, Ph.D

Tri Handoyo, SP., Ph.D.

EMBER

DAFTAR ISI

	Halaman
Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	iv
Sambutan Ketua Panitia	viii
Sambutan Ketua IPS	ix
Sambutan Rektor Universitas Jember	x
Molecular Machineries for Photosynthetic Bio-Assimilation in Ferredoxin-Dependent Redox Metabolisms Toshiharu Huse	1
Molecular Properties of Redox-Chaperones and Their Physiological Roles Against External Stresses in Eukaryotic Cells Kyun Oh Lee and Sang Yeol Lee	3
N-Glycan Modification and Plant Development Kyun Oh Lee, Rikno Harmoko, Wahyu Indra Duwi Fanata, and Sang Yeol Lee	4
Structural Study Of Actin Cytoskeleton Regulation Nico Tjandra	5
Protein and Peptide Bioactive Maggy Thenawidjaja Suhartono	6
Having Future Sweet with Sucrose-Phosphate Synthase and Sucrose-Transporter Protein Bambang Sugiharto	8
Application of Protein Engineering to Biosensors Tomohiko Yamazaki	10
PIBANG PERTANIAN PANGKAL	
Upaya Peningkatan Produksi dan Kualitas Tanaman Jagung Lokal Madura Melalui Seleksi Daur Ulang Fenotipe Sri Hartatik dan Zahratu Saktijah	13
Pembuatan Antibodi Poliklonal Menggunakan Antigen Protein Rekombinan <i>Sucrose Transporter</i> (sut1) Popy Hartatik Hardjo, Nurul Holifah, Triliani Farlisu, Tri Handoyo, dan Bambang Sugiharto	19
Analisis lokasi gen carbonic anhydrase (MVFACS, MAFACS dan LVFACS) pada <i>Flaveria bidentis</i> Didik Pudji Restanto	24
Peranan <i>Synechococcus</i> sp. sebagai biofertilizer untuk meningkatkan kadar protein biji tanaman kedelai (<i>Glycine max</i> L. Merrill) R. Soedradjad dan Anung Syumsunihar	28

Penggunaan Prebiotik Oligosakarida dalam Ransum terhadap Performa dan Populasi Mikroflora Saluran Cerna Ayam Pedaging yang Diinfeksi *E.Coli*

Muhammad Daud, M.Aman Yaman, Wiranda G Piliang, Komang G Wiryawan dan Agus Setiyono

Peran *Sucrose Phosphate Synthase* (SPS) dan *Sucrose Transporter* (SUT) dalam Akumulasi Sukrosa pada Tomat (*Lycopersicon esculentum*) Transgenik

Parawita Dewanti, Tri Ratnasari, Septyan Christanto dan Bambang Sugiharto

Fungsional karakterisasi protein nac32 transkripsi faktor (TF) dari tanaman arabidopsis sebagai respon terhadap stres

Netty Ermawati and Daeyoung Son

Suplementasi protein limbah asal sereal dalam ransum fermentasi untuk memacu produksi, meningkatkan kualitas karkas dan efisiensi pakan ayam Lokal pedaging unggul

M. Aman Yaman, Zulfan, Muhammad Daud dan Abinawanto

Perakitan Mutan Kedelai Tahan Kering Berkadar Protein Biji Tinggi dengan Ethyl methanesulfonate (EMS)

Denna Eriani Munandar

Kajian protein ketahanan kekeringan pada beberapa Varietas tebu non komersial

Ardian Firmansyah, Tri Handoyo, Anis Khikmawati, Netty Ermawati

Pengaruh Pupuk Organik dan Bioorganik Terhadap Kandungan Protein Pada Tanaman Sawi (*Brassica juncea*)

Minhajli Abidin, Boedi Santoso, Tri Agus Siswoyo

Pemanfaatan Kuskus Sebagai Sumber Protein Bagi Masyarakat Lokal Di Pulau Yamna Kabupaten Sarmi

Diana Sawen dan Faidiban O. Rudolf

Transformasi Gen *SoSut1* Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.)

Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* dan Eksplan Tunas Lateral

Anandang Ganni Wiyono, Nina Oktaria, Netty Ermawati, Nurmalisari Darsono, Tri Handoyo dan Bambang Sugiharto

Peningkatan Aktivitas *Sucrose Phosphat Synthase* Pada Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum*) TI Overekspresi Gen *SoSPS1*

Purnama Okviandari, Tri Ratnasari, Evy Hanizar, Bambang Sugiharto

POSTER: Produksi dan Purifikasi *Loop Domain* Protein Rekombinan *Sucrose Transporter* Melalui cDNA-*SoSUT1* Tanaman Tebu Pada Sel *Escherichia coli*

Triliani Farlisa, Nurul Holifah, Poppy Rahardjo, Rikno Harmoko, Tri Handoyo dan Bambang Sugiharto

POSTER: Ekspresi dan Karakterisasi Isoform *Sucrose-Phosphate Synthase* (SPS) Tanaman Tebu Pada *Escherichia coli* strain BL21

Ahmad Fudhaili and Bambang Sugiharto

Efektifitas Transformasi Gen *SoSPS1* (*Sucrose Phosphate Synthase*) Menggunakan Agen Seleksi Kanamycin dan Phosphinothricin Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.)

Aji Baskoro, Yunlanzi Tiara, Didik Pudji Restanto, Tri Handoyo, Netty Ermawati, dan Bambang Sugiharto

POSTER: Efektifitas Transformasi Gen *SoSPS1* Menggunakan Promoter *Rice Ubiquitin2* (RUBQ2) dan Eksplan Epikotil Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Mutik Mahtuhfatul B. dan Bambang Sugiharto

Formulasi <i>Filler</i> dan Uji Kinerja Enzim Bromelin untuk Pengempuk Daging (<i>Meat Tenderizer</i>) Ika Rahmatul Layly, Deden Rosid Waltam, Ayi Mufti dan Ruby Setlawan	113
Pengujian Nilai Kualitas Protein Hidrolisat Kacang Hijau dengan Metode NPU (<i>Net Protein Utilization</i>) Secara <i>In Vivo</i> Galli Kusuma Aji, Noer Laily, Alit Pangestu, Sri Peni Wijayanti, dan Fajarwati Utami	121
Metode Sterilisasi Permukaan Yang Murah Untuk Eksplan Daun Majegau (<i>Dysoxylum caulostachyum</i> Miq.) Pada Kultur <i>In Vitro</i> Novi Harun AR	127
PIBANG KESEHATAN DAN FARMASI	
Cloning And <i>In Vitro</i> Antimycobacterial Activity Of Lectin Protein in Combination with Streptomycin To Increase Sensitivity Against <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Ahyar Ahmad and Muh. Nasrum Massi	135
Isolasi dan Karakterisasi Protein Bioaktif dari Beberapa Jenis Spons sebagai Agent Antimikroba Andi Iham Latanra dan Ahyar Ahmad	145
Spesifisitas Antibodi hP-116kDa Hasil Induksi Protein Non Kinase Membran Spermatozoa Manusia Pada Jaringan Somatik dan Reproduksi Manusia Umie Lestari	150
Identifikasi Protein Spesifik <i>Insulin-Like Growth Factors (IGFs)</i> pada Ayam Broiler sebagai Bahan Bioaktif Rosa Tri Hertanawati	155
Kajian Potensi Alergenisitas Nira Tehu Produk Rekayasa Genetika (PRG) NXI 4T dan NXI 6T Melalui Uji Praktikum Pada Hewan Coba Tikus Putih Nurmalasari, Natalia Tri Astuti, Agus Heri Setyo Wahyudi, Herra Studiawan, Tutik Sri Wahyuni	162
POSTER: Structure of 3-Ketosteroid Δ^1 -Dehydrogenase From <i>Rhodococcus erythropolis</i> SQ1: Where Fad Meets Tyrosines Ali Rohman, Niels van Oosterwijk and Bauke W. Dijkstra	168
Respon Antibodi Manusia terhadap Protein Salivary Gland (SG) <i>Aedes aegypti</i> Berpotensi sebagai Indikator Resistensi terhadap Demam Berdarah (DBD) Rike Oktarianti, Syubbanul Wathon, Dwi Esti F dan Kartika Senjarini	169
Efek Penghambatan Ekstrak Kelenjar Saliva Nyamuk Anopheles terhadap Derajat Parasitemia pada Mencit Model Untuk Malaria Yunita Armiyanti, Ina Soraya, Viany dan Kartika Senjarini	176
Kajian Protein Alergi dan Fisiologi Biji Kakao Selama Proses Pra-Perkecambahan Tri Handoyo, Mega Kartika Sari, Irwan Sadiman, Denna Eriani	183
Analisis Bioinformatika Motif Residu Lestari Domain $(\beta/\alpha)_2$ -Barrel GH51 A-L-Arabinofuranosidase Yang Berperan Pada Spesifitas Substrat Melalui Interaksi Sidik Jari Gugus Arabinofuranosil Much Zaenal Fanani, One Asmarani, Hery Suwito, Ni Nyoman Tri Puspaningsih	188
Isolasi Gen Pengkode Protein Antioksidan (AOP) pada Biji Melinjo (<i>Gnetum gnemon</i>) Arya Bagus Boedi Iswanto dan Tri Agus Siswoyo	193

Identifikasi Protein Spermatozoa dan Cairan Lumen pada Epididimis Sapi, Kaitannya dengan Maturasi Spermatozoa

Mahriani dan Della Ratna Kartini

Diskriminasi Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.f.) Asal Surabaya, Jember dan Mojokerto Menggunakan Metode Elektroforesis

Moch. Amrun Hidayat, Tri Handoyo dan Bambang Prajogo E.W.

Peningkatan Kemampuan Antioksidan Pada Biji Melinjo (*Gnetum Gnetum*) dengan Metode Enzimatis

Tri Agus Siswoyo

Skrining Enzim Fibrinolitik dari Bakteri Tanah

Madaniyah, Sattya Arimurti dan Evi Umayah Ulfa

Transformasi Gen Sy86 dalam Vektor Ekspresi pET TOPO 200 untuk Mendapatkan Protein Rekombinan sY86

Evi Hanzar

Aktivitas Trombolitik dan Antikoagulan Ekstrak Jamur Tiram Putih (*Pleoturus ostratus*) Secara *In Vitro*

Khilwiyah Eka Putri, Evi Umayah Ulfa dan Sattya Arimurti

Isolasi Bakteri Penghasil dan Karakterisasi Enzim Dekstranase

Miswar

LINGKUNGAN DAN INDUSTRI

Produksi dan Aplikasi Kitinase Dari *B. licheniformis* HSA3-1a dalam Menghidrolisis Kitin dari Limbah Udang dan Dinding Sel Jamur *Ganoderma* sp.

Hasnah Natsir, Abd. Rauf Patong, Maggy T. Suhartono dan Ahyar Ahmad

Pembuatan Keju Kedelai (*Soycheese*) Rendah Garam dengan Menggunakan *Rhizopus oligosporus*

Neny Novita Yuliany, Eka Ruriani dan Nurhayati

Identifikasi Tanaman Potensial Penghasil Bahan Aktif Tanin Protein Komplek untuk Penghambatan Aktivitas Alpha Amylase

Asriyah Firdausi dan Tri Agus Siswoyo

Kloning Gen B-Endoxilase Asal Mikroorganisme dalam Abdominal Rayap

A.A. Istri Ratnadewi, Ni Nyoman Tri Puspaningsih, Wuriyanti Handayani dan Previtu

Analisis *Scanning Electron Microscope* Terhadap Perubahan Struktur Permukaan Bonggol Kelapa Sawit Akibat Aktivitas Xilanase Dan Selulase

Anita Kurniati dan Ni Nyoman Tri Puspaningsih

Profil Aktivitas Xilanase dalam Ionic Liquid

Ika Oktavianawati

Skrining Bakteri Xilanolitik Asal Kulit Buah Kakao

Esti Utarti, Audiananti Meganandi Kartini dan Sattya Arimurti

Optimasi Ekstraksi Enzim Bromelin Berbahan Dasar Limbah Nanas Lokal Subang

Ika Rahmatul Layly, Deden Rosid Walfam, Ayi Mufli dan Ruby Setiawan

Diskriminasi Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm.f.) Asal Surabaya, Jember dan Mojokerto Menggunakan Metode Elektroforesis**Moch. Amrun Hidayat¹, Tri Handoyo², Bambang Prajogo E.W.³**

1) Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember

2) Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jember

3) Bagian Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Abstract

Gandarusa leaf (*Justicia gendarussa* Burm.f.) has been used traditionally by the Papuan indigenous people for the male contraception remedy. This plant has been further explored to determine the mechanism of its reported activity. It was known that the activity through its inhibition on sperm hyaluronidase enzyme which was competitive and reversible. This plant has been undergoing phase II-clinical trial in Surabaya, Indonesia for the non hormonal male contraceptive remedy since 2009.

The gandarusa samples was harvested from East Java area : Surabaya, Jember and Mojokerto. As a part of the standardization of raw material, the protein profiling has been done to seek any proteins which can be used as a marker for the gandarusa leaf. The proteomic study was performed by one and two dimensional SDS PAGE (1 & 2-D). The area of protein spots was measured and compared using ImageJ program.

The results showed that all three samples of gandarusa had relatively similar 1-D profiles. In this regard, the 2-D profiles were made to see the difference of their proteomics. Discrimination of gandarusa samples were made based on the availability of individual protein spot, and the color intensity of the same protein spot in all samples. It can be suggested that 2-DE profiles can be used to differentiate the gandarusa samples.

Key words : Gandarusa leaf, protein profiling, 1 & 2-D**PENDAHULUAN**

Penilaian keseragaman (*uniformity*) tanaman umumnya bergantung kepada metode morfologi yang subyektif dan dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan (Goodrich *et al.*, 1985). Sayangnya, ciri-ciri morfologi tidak cukup kuat untuk mengekspos keragaman genetika diantara tanaman-tanaman yang memiliki ciri morfologi yang sama atau tumpang tindih (Gardiner & Forde, 1988). Oleh karenanya dibutuhkan suatu metode yang mampu mengakomodir hal tersebut.

Saat ini, metode elektroforesis telah berkembang menjadi piranti analisis yang dapat digunakan sebagai pelacak gen (*genome probing*) secara tidak langsung dengan cara mengekspos variasi struktur enzim atau protein gen lainnya. Hasil

elektroforesis (*electrophoretic markers*) muncul karena gen-gen yang netral yang tidak terkait oleh lokus manapun yang berpengaruh terhadap suatu tanaman (Gilliland, 1989). Selain itu, hasil elektroforesis tidak terpengaruh oleh morfologi dan fisiologi tanaman, sehingga lebih menguntungkan jika dibandingkan dengan metode morfologi. Pada metode elektroforesis, digunakan protein konservatif sebagai protein penanda (*protein markers*) (misal: protein penyimpan pada biji) yang bermanfaat untuk identifikasi spesies dan atau varitas tanaman secara cepat, relatif murah, tanpa menunggu tanaman menjadi matang (*mature*) dan tidak terpengaruh oleh lingkungan (Sammour, 1991).

Fitofarmaka mensyaratkan adanya kandungan aktif yang terstandar dari suatu simplisia atau ekstrak sebagai bahan baku fitofarmaka untuk menjamin kualitas dan efikasinya. Kandungan aktif suatu tanaman obat pada umumnya berasal dari metabolit sekunder, sehingga standarisasi bahan baku fitofarmaka umumnya dilakukan terhadap metabolit sekunder yang bioaktif. Namun demikian, akhir-akhir ini standarisasi mulai dilakukan terhadap metabolit primer seperti halnya protein untuk menjamin kualitas suatu tanaman obat. Penelitian ini bertujuan untuk membedakan sampel daun gandarusa berdasarkan profil proteinnya dengan menggunakan metode elektroforesis sebagai upaya standarisasi tanaman obat sebagai bahan baku fitofarmaka. Selain itu, metode elektroforesis dua dimensi belum banyak digunakan untuk identifikasi tanaman obat, sehingga peneliti tertarik untuk melakukannya.

METODE PENELITIAN

Isolasi protein daun

Daun gandarusa sebanyak 0,05 g ditambah buffer ekstrak 500 μ l dan dihomogenasi dalam keadaan dingin. Homogenat yang terbentuk dipindahkan ke dalam ependorf baru dan ditambahkan 26 μ l PMSF 40 mM. Kemudian homogenat diinkubasi selama 1 jam di dalam refrigerator sambil sesekali digoyang-goyangkan dan dipusingkan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4° C. Supernatan dipindahkan ke dalam ependorf baru dan disimpan dalam refrigerator. Endapan disuspensikan dengan ditambahkan 500 μ l buffer ekstrak dan 26 μ l PMSF kemudian diinkubasi selama 1 jam dan sesekali digoyang-goyang. Lalu dipusingkan dengan kecepatan 13000 rpm selama 5 menit dalam suhu 4° C. Supernatan yang didapatkan dicampur dengan supernatan yang pertama dan diendapkan dengan TCA 20% (1 ml supernatan ditambahkan 200 μ l TCA). Selanjutnya campuran diinkubasi pada suhu -20° C selama 1 jam dan dipusingkan

13000 rpm selama 5 menit pada suhu 4° C. Kemudian supernatan dibuang dan endapan yang terendapkan dicuci dengan aseton absolut sebanyak 1000 μ l dan disentrifuse 13000 rpm selama 1 menit pada suhu 4° C. Sentrifuse ini dilakukan sebanyak dua kali. Setelah itu, aseton dibuang dan dikeringkan dengan diangin-anginkan selama \pm 20 menit. Isolat protein yang didapatkan dilarutkan dengan 10 μ l Tris-Cl.

Elektroforesis Sampel Protein

Dua buah lempeng kaca dirangkai dengan jarak antar lempeng =1 mm. Larutan separating gel dimasukkan sedikit demi sedikit sampai tanda. Dibiarkan 10-30 menit sampai terbentuk gel. Stacking gel dituangkan di atas separating gel dan dipasang sisir, dibiarkan selama 30 menit. Setelah terbentuk gel dan sumurannya, sisir diangkat. Kemudian lempeng dipasangkan pada alat elektroforesis dan dimasukkan ke dalam bejana elektroforesis. Larutan buffer elektroforesis dituangkan ke dalam bejana.

Larutan sampel sebanyak 15 μ l ditambahkan larutan RSB sebanyak 15 μ l, dimasukkan ke dalam ependorf dan dipanaskan dalam penangas air dengan suhu 100° C selama 3 menit. Setelah dingin, sampel dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 10 μ l. Protein marker diperlakukan sama dengan sampel. Sampel dielektroforesis dengan 130 Volt, 30 mA selama 3,5 jam.

Pelaksanaan Iso Electric Focusing (IEF)

Isolat protein di larutkan dalam 20 μ l larutan urea 8,5 M dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Gel untuk elektroforesis dua dimensi dimasukkan ke dalam tubing kapiler dan dipasang pada alat *isoelectric focusing*. Bejana bagian bawah diisi dengan 10 mM H_3PO_4 sedangkan bejana atas diisi dengan 20 mM NaOH. kemudian di *pre-running* (200 V selama 10 menit, 300 V selama 15 menit, 400 V 15 menit). Setelah itu, di *running* dirunning 500 V selama 10 menit dan 400 V selama 6 jam.

Gel dikeluarkan dari tubing kupiler, direndam dalam bufer 6,2 mM Tris-Cl pH 6,8 yang mengandung 2% SDS dan 5 % β -mercaptoethanol. Gel akrilamid (10-12 %) dipasang pada lempeng kaca dengan hanya menggunakan *separating* gel tanpa *stacking* gel. Kemudian dielektroforesis dengan 25 volt selama 1 jam dan 80 volt selama 5 jam. Selanjutnya gel diwarnai dengan comassie blue dan di *destaining*.

Perhitungan berat molekul protein

Hasil elektroforesis discan, kemudian ditentukan berat molekul proteinnya dengan membandingkannya dengan protein marker, yaitu dengan menghitung Rf sampel dan protein marker dengan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Hasil dan Pembahasan

Analisis Protein Daun Gandarusa

Pada analisis protein, berat molekul relatif sampel protein dihitung berdasarkan kurva baku protein standar. Hasil perhitungan berat molekul dapat dilihat pada tabel 1. Perhitungan berat molekul relatif ini mempermudah dalam mengidentifikasi protein pada elektroförogram (1-D dan 2-D).

Tabel 1. Perhitungan berat molekul relatif (kDa) protein gandarusa hasil elektroforesis 1 dimensi (1-D) dan 2 dimensi (2-D).

No.	Rf standar	BM standar	Rf 1-D	BM 1-D	Rf 2-D	BM 2-D
1	0.02	205	0.02	130	0.17	82
2	0.04	115	0.10	101	0.19	76
3	0.09	97	0.19	76	0.27	60
4	0.15	80	0.31	54	0.42	38
5	0.19	68	0.38	42	0.5	30
6	0.27	55	0.46	34	0.62	21
7	0.35	45	0.48	32	0.65	19
8	0.42	30	0.54	27	0.73	15
9	0.65	21	0.58	24	0.75	14
10	0.78	14	0.62	21	0.77	13
11	0.92	8.5	0.69	17	0.79	12
12	-	-	0.77	13	-	-

Profil elektroforesis dua dimensi

Profil elektroforesis dua dimensi (2-D) sampel gandarusa di 3 lokasi dapat dilihat pada gambar 1. Pada profil 2-D ditemukan beberapa perbedaan pola protein berdasarkan ada tidaknya spot protein atau perbedaan intensitas warna spot protein. Intensitas warna spot protein diukur dengan program ImageJ. Diskriminasi sampel gandarusa dapat diketahui dengan melihat ada tidaknya suatu spot protein pada pl yang sama. Sebagai contoh, pada area pengukuran 1, terdapat 3 spot protein di ketiga sampel gandarusa.

Sampel daun dari Surabaya terdapat 1 spot protein di antara 2 spot protein dengan BM \pm 76 dan 82 kDa, sedangkan pada sampel Jember dan Mojokerto terdapat 3 spot protein dengan BM + 12, 76 dan 82 kDa. Pada area pengukuran 4 dan 7, terdapat 1 spot protein dengan BM = 101 dan 82 kDa yang dijumpai pada sampel Surabaya, tetapi tidak dijumpai pada sampel Jember dan Mojokerto. Di lain pihak, pada area pengukuran 5, terdapat 3 spot protein dengan BM \pm 13, 14 dan 15 kDa pada sampel Mojokerto dan Surabaya; sedangkan pada sampel Jember tidak terdapat spot protein.

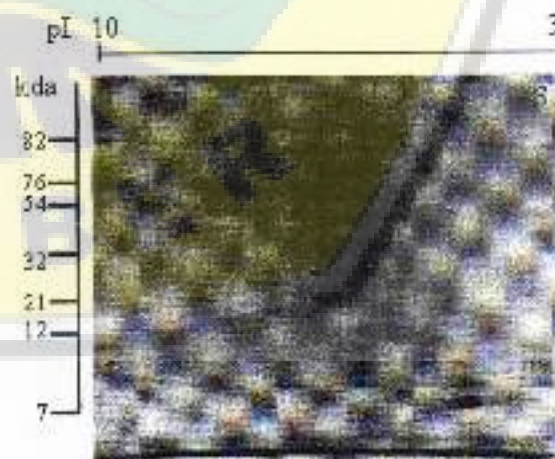
Tabel 2. Hasil pengukuran luas area spot-spot protein gandarusa di 3 lokasi.

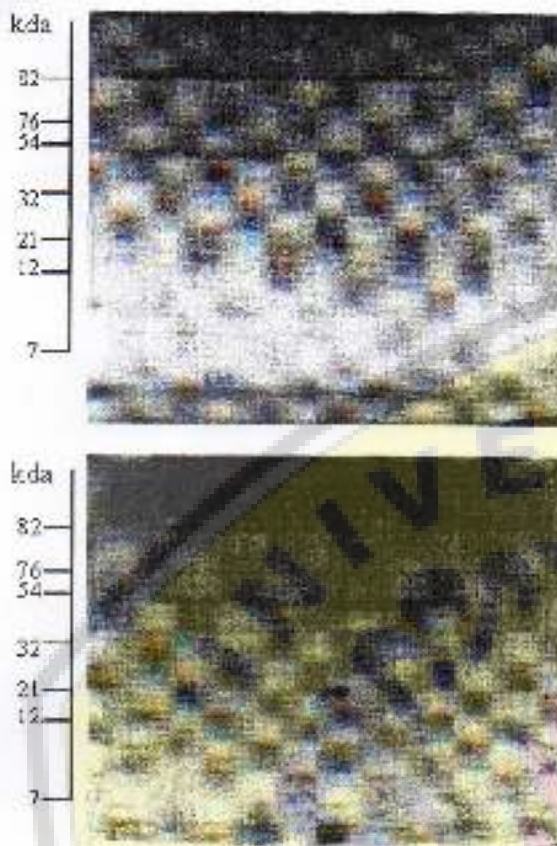
Area pengukuran	Surabaya		Jember		Mojokerto	
	Spot	Area	Spot	Area	Spot	Area
1	1	1417.8	1	1643.0	1	420.8
	2	2318.7	2	906.7	2	1913.9
	3	1067.8	3	1199.9	3	1082.8
2	1	4847.8	1	5934.6	1	2564.6
	2	2058.0	2	296.1	2	628.4
	3	295.5	3	354.5	3	1811.3
	4	778.4	4	876.9	4	192.8
3	1	2793.4	1	1733.0	1	1418.7
	2	186.2	2	331.6	2	288.0
	3	1972.2	3	291.4	3	214.9
	4	4630.5	4	2050.2	4	1665.3
	5	3004.1	5	428.5	5	237.7
	6	6677.5	6	2821.3	6	5976.0
4	1	3932.9	1	1024.2	1	146.3
5	1	1318.8	1	84.0	1	2131.2
	2	872.6	2	200.9	2	720.0
	3	3081.4	3	376.2	3	635.5
6	1	16118.2	1	5286.7	1	7738.6
7	1	4804.4	1	271.2	1	292.8
	2	1673.5	2	65.5	2	147.9

Diskriminasi sampel gandarusa selanjutnya adalah dengan membandingkan intensitas warna pada spot-spot protein yang sama. Sebagai contoh misalnya pada area pengukuran 2, terdapat 1 spot protein dengan BM ± 21 kda dengan intensitas warna tertinggi pada sampel Mojokerto jika dibandingkan dengan sampel Surabaya dan Jember. Perbedaan intensitas warna pada protein yang memiliki pI sama di seluruh sampel gandarusa ini juga ditemui pada area pengukuran 3, 5 dan 6. Pada area pengukuran 3 terdapat 6 spot protein dengan BM = 21-82 kda dengan intensitas warna berurutan dari tertinggi ke terendah : Surabaya, Mojokerto dan Jember.

Pada ketiga sampel, spot dengan BM ± 21, 76 dan 82 kda intensitas warnanya lebih tinggi daripada spot dengan BM ± 30, 38 dan 60 kda. Pada area pengukuran 5, spot dengan BM ± 15 kda, intensitas warna sampel Mojokerto lebih tinggi daripada sampel Surabaya. Pada area pengukuran 6

terdapat 1 spot protein dengan BM + 7 kda dengan intensitas warna berurutan dari tertinggi ke terendah: Surabaya, Mojokerto dan Jember.





Gambar 1. Profil 2-D sampel gandarusa 3 lokasi dengan menggunakan gel SDS 15% (S=Surabaya, J=Jember, M=Mojokerto).

KESIMPULAN

Metode elektroforesis satu dimensi dan dua dimensi dapat digunakan untuk diskriminasi sampel gandarusa dari daerah Surabaya, Jember dan Mojokerto.

DAFTAR PUSTAKA

- Gardiner SE, Forde MB, 1988. Identification of cultivars and species of pasture legumes by sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis of seed protein. *Plant Varieties and Seeds*. 1:13-26.
- Gilliland TJ, 1989. Electrophoresis of sexually and vegetatively propagated cultivars of allogamous species. *Plant Varieties and Seeds*. 2: 15-25.
- Goodrich WJ, Cooke RJ, Morgan AG, 1985. The application of electrophoresis to the characterization of cultivars of *Vicia faba* L., *FABIS Newsletter*. 13: 8.
- Sammour RH, 1991. Using electrophoretic techniques in varietal identification, biosystematic analysis, phylogenetic relations and genetic resources management. *Journal of Islamic Academy of Sciences*. (4) 3: 221-226.