

## KARAKTERISTIK PERUBAHAN PROTEIN BIJI MELINJO (*GNETUM GNEMON*) PADA AWAL PERKECAMBAHAN

*Biochemical Characteristics of Melinjo Seed Protein (Gnetum gnemon) During Pre-Germination*

Adrian Syawaluddin Siregar, Tri Agus Siswoyo\*, Bambang Sukowardojo

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

Jalan Kalimantan III/23 Kampus Tegal Boto Jember 68121

\*E-mail: [triagus.faperta@unej.ac.id](mailto:triagus.faperta@unej.ac.id)

### ABSTRACT

Protein was one of macromolecule in seed which played an important role in the process of germination. Storage protein in seed was hydrolyzed to amino acid which are then used in the translation process for a genetic message interpreting and protein building in pre-germination process. Pre-Germination was the first step of germination that have many biochemical changes. The objectives of this research was to know biochemical characteristic of soluble protein and protein pattern of melinjo seed during pre-germination. Two varieties of melinjo seed Gentong and Kerikil was used in this research with three stages of treatment (initial seed, 3 weeks warm stratification seed and 1 month seed seedling). Seed samples are extracted to determine total soluble protein and protein pattern with 15 % SDS-PAGE. The results showed that total soluble protein have a change different at each stage of the treatment. Protein patterns analysis indicates band protein with molecular weight 66 kDa and 14 kDa change during pre-germination.

**Keywords:** *Melinjo Seed; Pre-Germination; Protein; SDS-PAGE*

### ABSTRAK

Protein merupakan salah satu makromolekul dalam biji yang berperan penting pada proses perkecambahan. Protein yang tersimpan pada biji dihidrolisis menjadi asam amino yang kemudian digunakan dalam proses translasi untuk menginterpretasi suatu pesan genetik dan membentuk protein dalam proses awal perkecambahan. Awal perkecambahan adalah tahapan pertama dari proses perkecambahan dimana perubahan biokimia telah banyak terjadi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakteristik perubahan kandungan protein terlarut dan pola protein biji tanaman melinjo pada awal perkecambahan. Penelitian ini menggunakan 2 varietas biji melinjo yaitu varietas Gentong dan Kerikil dengan tiga tahap perlakuan yaitu biji awal, biji setelah perlakuan stratifikasi hangat selama 3 minggu dan biji setelah 1 bulan semai. Sampel biji melinjo diekstrak untuk menentukan kandungan protein terlarut dan pola protein menggunakan 15% SDS-PAGE. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan protein terlarut mengalami perubahan yang berbeda pada setiap tahap perlakuan. Analisa pola protein menunjukkan adanya 2 jenis pita protein yang mengalami perubahan pada awal perkecambahan yaitu protein dengan berat molekul 66 kDa dan 14 kDa.

**Kata Kunci:** *Biji Melinjo; Awal Perkecambahan; Protein; SDS-PAGE*

**How to cite:** Siregar AS, TA Siswoyo, B Sukowardojo. 2013. Karakteristik perubahan protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) pada awal perkecambahan. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(2): 22-24.

### PENDAHULUAN

Tanaman melinjo memiliki banyak manfaat karena hampir seluruh bagian tanaman dapat dimanfaatkan seperti pada biji melinjo yang dapat dijadikan bahan dasar pembuatan emping (Pumomosidhi *et al.*, 2002). Masyarakat Indonesia umumnya lebih banyak mengenal melinjo khususnya biji melinjo sebagai sayuran dan bahan dasar pembuatan emping.

Biji melinjo diketahui mengandung berbagai macam senyawa yang bermanfaat baik makromolekul berupa protein maupun mikromolekul berupa senyawa fenolik dan flavonoid. Menurut Siswoyo *et al.* (2011), pada biji melinjo ditemukan 2 fraksi protein yang memiliki aktivitas antioksidan yang efektif menangkal radikal bebas.

Protein adalah polipeptida yang terdiri dari polimer asam amino yang dihubungkan dalam suatu urutan yang spesifik (Campbell *et al.*, 2000). Protein diklasifikasikan berdasarkan fungsi biologinya antara lain protein sebagai enzim, protein pembangun, protein kontraktil, protein pengangkut, protein hormon, protein pelindung, protein bersifat racun dan protein cadangan (storage protein). Pada biji tanaman salah satu protein yang berperan penting adalah protein cadangan. Pada perkecambahan, protein dihidrolisis menjadi asam amino, diangkut dan disintesis kembali pada sumbu embrio menjadi protein dalam komposisi asam amino yang seimbang (Wiradikusumah, 1989). Protein disintesis dari RNA melalui proses translasi, dimana translasi adalah sintesis polipeptida yang diarahkan oleh RNA. Melalui proses translasi suatu sel menginterpretasi suatu pesan genetik dan membentuk protein untuk pertumbuhan biji (Campbell *et al.*, 2000).

Awal perkecambahan (pre-germination) merupakan tahapan awal dari proses perkecambahan biji yang paling banyak mengalami peristiwa perubahan biokimia. Perubahan biokimia biji yang terjadi antara lain rehidrasi akibat imbibisi biji, sintesa protein, peningkatan metabolisme yang berakibat pada meningkatnya respirasi, hidrolisis cadangan makanan di dalam biji, perubahan struktur sel dan induksi pertumbuhan dan perkembangan sel untuk membentuk radikel (Bewley, 1997).

Berdasarkan penjelasan di atas, dapat dikatakan bahwa protein merupakan salah satu faktor penting yang mendukung dalam proses perkecambahan. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakteristik perubahan kandungan protein terlarut dan pola protein biji tanaman melinjo pada awal perkecambahan sehingga dengan mengetahui karakteristik tersebut diharapkan diperoleh informasi awal peran protein dalam perkecambahan biji melinjo.

### BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Analisis Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Maret sampai dengan Oktober 2012.

Bahan digunakan dalam penelitian ini adalah buah melinjo merah tua varietas Gentong dan Kerikil, aquades, larutan penguji Bradford, *Bovine Serum Albumin* (BSA), 0.1 M buffer fosfat pH 8, Lower gel (1.5 M Tris HCl pH 8.8, 10 % SDS, larutan acrylamid/bis (30% T, 2.7% C), 10 % APS (Ammonium Persulfat), dan TEMED (tetramethylethylenediamine)), Upper gel (0.5 M Tris HCl pH 6.8, larutan acrylamid/bis (30% T, 2.7% C), 10 % SDS, 10 % APS dan TEMED) dan bahan kimia pendukung lain.

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah sentrifuge DURAFUGE 200R, Spektrofotometer MAPADA V-1100D, dan alat pendukung lain pada laboratorium kimia.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 2 sampel biji melinjo yaitu varietas Gentong dan Kerikil. Sampel biji dianalisa dari 3 tahapan yaitu antara lain biji awal (G0), biji setelah perlakuan stratifikasi hangat 38°C selama 3 minggu (Gsh) dan biji setelah 1 bulan semai (Gsm) dengan masing-masing 3 ulangan. Analisa data menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5%.

**Pengambilan sampel di Lapangan.** Sampel biji melinjo diambil dari pohon melinjo betina yang telah masak optimum yang ditandai dengan kulit buah berwarna merah tua.

**Perlakuan Stratifikasi Hangat.** Perlakuan stratifikasi hangat dilakukan untuk mempercepat perkecambahan biji melinjo (Sudikno and Sudartim, 1991). Perlakuan ini dilakukan dengan mengupas kulit buah melinjo terlebih dahulu. Biji melinjo yang akan digunakan disterilkan dengan 70 % ethanol kemudian dicuci dengan aquades. Selanjutnya biji dikering anginkan selama 2 jam. Setelah 2 jam biji kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik ganda yang terlebih dahulu diisi dengan kapas yang telah dibasahi. Kantong plastik yang telah berisi biji melinjo diikat rapat kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 38°C selama 3 minggu. Setiap 3 hari sekali plastik dibuka untuk melakukan aerasi dan penyiraman.

**Penyemaian Biji.** Setelah biji melinjo diberi perlakuan stratifikasi hangat, biji disemai selama 1 bulan di dalam polibag yang berisi media tanah dan kompos dengan perbandingan 3 : 1. Media perkecambahan diletakkan di dalam green house dan dijaga kelembabannya dengan menyemprot air.

**Ekstraksi Sampel.** Sampel biji yang telah diperoleh pada masing-masing tahapan sebelum dianalisa terlebih dahulu diekstrak. Ekstraksi dilakukan dengan mencampur sampel dengan 0,1 M buffer fosfat pH: 8 dengan perbandingan 1 : 5 kemudian dihaluskan dengan menggunakan mortar. Ekstrak sampel yang didapat kemudian di sentrifuge dengan kecepatan 5.000 rpm selama 15 menit pada suhu 20°C. Supernatan yang dihasilkan kemudian disimpan untuk analisa kandungan protein terlarut dan pola protein.

**Penentuan Protein Terlarut dan Pola Protein dengan SDS-PAGE.** Penentuan kandungan total protein terlarut pada sampel menggunakan metode yang dikemukakan oleh Bradford (1976) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 5 µL sampel ditambahkan 45 µL aquades dan 950 µL Bradford, kemudian diinkubasi selama 15 menit. Nilai absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. *Bovine serum albumin* (BSA) digunakan sebagai standar untuk penentuan konsentrasi total protein terlarut dengan satuan mg BSA/gr sampel. Penentuan pola protein menggunakan 15 % Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) sesuai dengan metode Laemmli (1970).

## HASIL

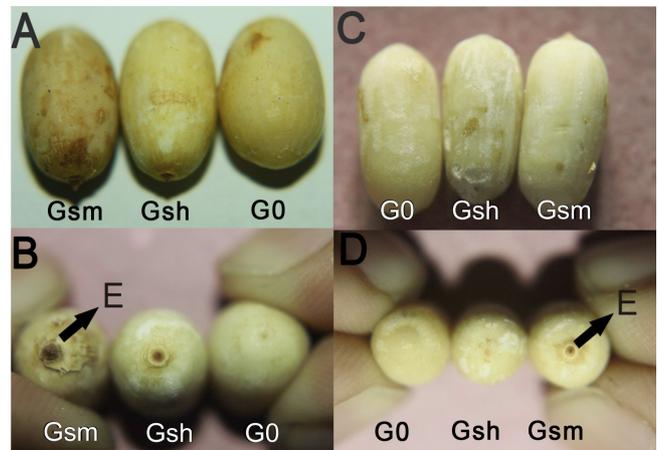
Berdasarkan pengamatan morfologi pada masing-masing biji dan tahap perlakuan terlihat sudah adanya calon radikel yang muncul baik pada biji melinjo gentong maupun kerikil dan hal ini sebagai tanda dari awal perkecambahan (Gambar 1). Selain itu, dengan munculnya calon radikel ini menandakan bahwa embrio telah terbentuk sempurna.

### Kandungan Protein Terlarut

Penentuan kandungan total protein terlarut protein benih dengan menggunakan metode Bradford dimana metode ini didasarkan pada pengikatan zat warna coomassie brilliant blue G-250 (CBB G-250) ke protein. Pengukuran protein dilakukan dengan menentukan jumlah zat warna dalam bentuk anionik (biru) yang diukur dengan spektrofotometer. Zat warna Coomassie Blue G-250 bereaksi cepat dengan residu arginil dan lysil dari protein. Protein dengan residu arginil dan lysil yang lebih banyak tentu akan menghasilkan warna biru yang lebih pekat (Bradford, 1976).

Hasil menunjukkan bahwa adanya perbedaan karakter perubahan protein kedua sampel biji melinjo (Tabel 1). Notasi huruf kapital menunjukkan beda nyata pada sampel biji Gentong, sedangkan notasi

huruf kecil menunjukkan beda nyata pada sampel biji Kerikil. Protein sampel biji melinjo Gentong memiliki kecenderungan perubahan protein yang menurun. Protein biji melinjo awal (G0) berbeda nyata dibandingkan dengan 2 tahapan berikutnya yang ditunjukkan dengan notasi huruf yang berbeda dengan tahap setelah perlakuan stratifikasi hangat (Gsh) dan 1 bulan semai (Gsm). Sedangkan protein setelah perlakuan stratifikasi hangat (Gsh) dengan 1 bulan semai (Gsm) berbeda tidak nyata (Tabel 1).



**Gambar 1.** Perubahan morfologi biji melinjo dari G0 (biji awal), Gsh (setelah perlakuan stratifikasi hangat) dan Gsm (setelah 1 bulan semai). A. Biji melinjo Gentong. B. Bagian atas biji melinjo Gentong. C. Biji melinjo Kerikil. D. Bagian atas biji melinjo Kerikil. E. Calon Radikel.

**Tabel 1.** Perubahan Kandungan Protein Terlarut pada Awal Perkecambahan

Varietas	Tahap G0	Tahap Gsh	Tahap Gsm
Gentong	10.97A	6.72B	6.45B
Kerikil	10.08a	9.69a	11.65b

Keterangan: Angka rata-rata yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama berbeda tidak nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

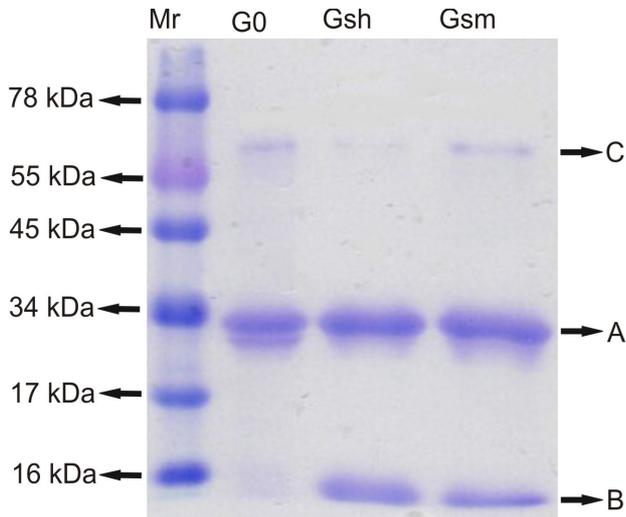
Perubahan komposisi protein juga terjadi pada sampel biji Kerikil. Protein sampel biji melinjo Kerikil memiliki kecenderungan perubahan protein yang meningkat. Protein biji melinjo awal (G0) dan biji melinjo setelah perlakuan stratifikasi hangat (Gsh) tidak berbeda nyata seperti ditunjukkan oleh Tabel 1, dimana memiliki notasi yang sama. Sedangkan protein biji melinjo setelah 1 bulan semai (Gsm) berbeda nyata dengan G0 dan Gsh.

### Pola Protein menggunakan 15 % SDS-PAGE

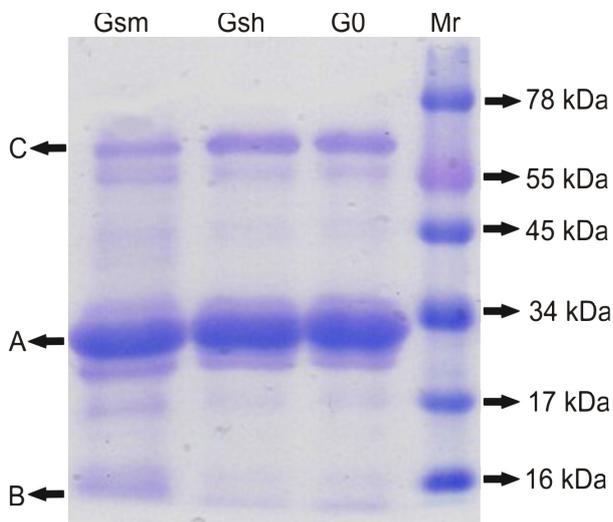
Selain pengukuran kandungan protein dengan metode Bradford, protein pada kedua sampel biji melinjo juga dianalisa menggunakan SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis) untuk mengetahui spesifikasi dan berubah tidaknya protein biji melinjo selama tahap perlakuan. Menurut Siswoyo *et al.* (2011), pada biji melinjo terdapat dua jenis protein utama yaitu protein dengan berat molekul  $\pm 30$  kDa dan  $\pm 14$  kDa.

Hasil analisa dengan SDS-PAGE menunjukkan adanya 3 karakteristik pita yang terlihat pada kedua sampel biji melinjo (Gambar 2 dan 3). Berdasarkan gambar tersebut terlihat bahwa 2 pita protein utama yang telah diketahui terlihat pada kedua sampel biji yaitu protein berat molekulnya sebesar  $\pm 30$  kDa yang ditunjukkan oleh huruf A dan protein dengan berat molekul  $\pm 14$  kDa yang ditunjukkan oleh huruf B. Selain itu juga terdapat pita protein lain yang ditunjukkan oleh huruf C dengan berat molekul  $\pm 66$  kDa.

Pada Gambar 2, terlihat bahwa terdapat perbedaan komposisi protein biji melinjo Gentong selama tahap perlakuan. Pita protein yang ditunjukkan oleh huruf A tidak mengalami perubahan. Pita protein yang ditunjukkan oleh huruf B semakin tebal, sedangkan pita protein yang ditunjukkan oleh huruf C semakin tipis. Hal ini menandakan bahwa adanya perubahan komposisi protein dimana protein yang ditunjukkan oleh huruf A dan C diduga sebagai protein cadangan (storage protein) sedangkan protein yang ditunjukkan oleh huruf B diduga sebagai protein yang berhubungan dengan pertumbuhan.



**Gambar 2.** Pola Perubahan Protein Biji Melinjo Gentong Selama Tahap Perlakuan dengan Menggunakan 15 % SDS-PAGE. Mr;Marker. A. Pita Protein dengan Berat Molekul ± 30 Kda. B. Pita Protein dengan Berat Molekul ± 14 Kda. C. Pita Protein dengan Berat Molekul ± 66 kDa.



**Gambar 3.** Pola Perubahan Protein Biji Melinjo Kerikil Selama Tahap Perlakuan dengan Menggunakan 15 % SDS-PAGE. Mr;Marker. A. Pita Protein dengan Berat Molekul ± 30 Kda. B. Pita Protein dengan Berat Molekul ± 14 Kda. C. Pita Protein dengan Berat Molekul ± 66 kDa.

Perbedaan komposisi protein juga terlihat pada sampel biji melinjo Kerikil selama tahap perlakuan. Pita protein yang ditunjukkan oleh huruf A tidak mengalami perubahan. Pita protein yang ditunjukkan oleh huruf B semakin menebal, sedangkan pita protein yang ditunjukkan oleh huruf C semakin tipis. Hal ini menandakan bahwa adanya perubahan komposisi protein dimana protein yang ditunjukkan oleh huruf A dan C diduga sebagai protein cadangan (*storage protein*) sedangkan protein yang ditunjukkan oleh huruf B diduga sebagai protein yang berhubungan dengan pertumbuhan.

### DAFTAR PUSTAKA

Bewley JD. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9:1055-1066.

Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.

Campbell NA, JB Reece, LG Mitchell. 2000. Biologi. Jakarta: Penerbit Erlangga.

Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.

Purnomosidhi P, Suparman, JM Roshetko, Mulawarman. 2002. Perbanyakan dan budidaya tanaman buah-buahan. International Centre for Research in Agroforestry (ICRAF) dan Winrock International. Bogor, Indonesia

Siswoyo TA., E Mardiana., KO Lee, K Hosokawa. 2011. Isolation and characterization of antioxidant protein fractions from melinjo (*Gnetum gnemon*) seeds. *J. Agric. Food Chem.* 59:5648-5656.

Sudikno, T Sudarti. 1991. Beberapa usaha untuk mempercepat perkecambahan biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *Agric. Sci.* 4(6): 257-272.

Wiradikusumah. 1989. Biokimia: Protein, Enzim, dan Asam Nukleat. Edisi II. Bandung: Penerbit ITB.