

STUDY VARIASI MORFOLOGI DAN PROFIL POLA PITA PROTEIN PADA 3 VARIETAS LOKAL TANAMAN WALUH (*Cucurbita moschata*) DARI JAWA TENGAH

Suwarno¹⁾, Suranto²⁾

¹⁾Pendidikan Biologi FKIP Universitas Sebelas Maret

²⁾Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret

Email: suwarnoswami@yahoo.com

ABSTRAK

Di Indonesia banyak varietas tanaman waluh yang dibudidayakan oleh petani. Tanaman waluh memiliki banyak sekali manfaat dan keunggulan sebagai bahan pangan alternative. Salah satu penghasil waluh yang ada di Indonesia adalah Jawa Tengah. Tanaman waluh biasanya dibudidayakan dilahan kering dan hanya sebagai tanaman sekunder ketika musim kemarau menjelang. Tanaman waluh memiliki kandungan gizi yang sangat tinggi dan sangat mungkin dijadikan makanan alternative pengganti nasi sehingga jika dioptimalkan akan mampu menanggulangi krisis pangan yang sekarang melanda dunia.

Tujuan penelitian ini adalah; 1) Untuk mengetahui adanya variasi morfologi pada beberapa varietas tanaman waluh (*Cucurbita moschata*) yang ada di Jawa Tengah, 2) Untuk mengetahui adanya variasi genetic (pola pita protein) pada beberapa varietas tanaman waluh (*Cucurbita moschata*) yang ada di Jawa Tengah. Pendekatan morfologi yang digunakan dalam pengamatan morfologi yaitu dengan mengukur panjang dan lebar dan diameter bunga, bentuk buah dan berat biji. Dan pola pita protein dengan pendekatan elektroforesis (PCR).

Hasil penelitian menunjukkan adanya variasi pada ketiga varietas tanaman waluh. Waluh hijau ;panjang daun 25,46 cm, lebar 19,3 cm, diameter bunga 8,02 cm, bentuk buah bokor (bulat),warna kulit kuning hijau, daging buah kuning terang dan agak tipis, berat basah biji 21,5 gr/100 biji. Waluh klenting; panjang daun 25,08 cm, lebar 17,76 cm, diameter bunga 17,56 cm, bentuk buah, bokor warna kulit kuning polos, daging buah kuning terang dengan daging buah agak tipis, berat basah biji 19 gr/100gr. Waluh kuning; panjang daun 21,42 cm, lebar 15,88 cm, diameter bunga 17,36 cm, bentuk buah lonjong, warna kulit kuning polos, daging buah berwarna jingga, berat basah biji 14,5 gr/100gr.

Kata kunci: waluh,morfologi,elektroforesis

PENDAHULUAN

Waluh memiliki berbagai nama daerah antara lain labu parang, labu kuning, labu merak, labu manis dan pumpkin (ingg). Tanaman ini merupakan tanaman menjalar yang hidup semusim, setelah berbuah sekali kemudian mati (Lies Suprpti, 2005). Di Indonesia, sudah banyak ditanam labu kuning varietas lokal dari berbagai jenis, seperti misalnya jenis bokor (crème), kelenting dan ular. Selain itu terdapat beberapa varietas yang merupakan introduksi dari beberapa Negara, seperti Taiwan, Australia, Jepang dan Amerika (Henny K, 2003). Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran. Dengan demikian elektroforesis dapat



digunakan untuk separasi makromolekul (seperti protein dan asam nukleat). Posisi molekul yang terseparasi pada gel dapat dideteksi dengan pewarnaan atau autoradiografi, ataupun dilakukan kuantifikasi dengan densitometer. Analisa molekuler secara modern merupakan pemaparan bahan genetik menggunakan alat yang dikenal sebagai elektroforesis. Prinsip dasar elektroforesis yaitu bahwa setiap genom tumbuhan (enzim/protein dan DNA) mempunyai berat yang berbeda-beda sehingga kecepatan Bergeraknya pada media gel juga berbeda-beda dan hal ini dapat dilihat melalui pewarnaan (Sudarmono, 2006). Pendekatan keanekaragaman hayati melalui pola pita protein banyak dilakukan pada protein cadangan makanan dalam biji (*seed protein*). Visualisasi dilakukan dengan pewarna protein, misalnya Coomassie Blue dan Indigo Black. Dengan metode ini setiap protein biji dapat memunculkan lebih dari 20 pita dengan pola yang kompleks sehingga sulit diinterpretasikan. Di samping itu pola pita yang dihasilkan kadangkala tidak stabil dan sangat tergantung kondisi peralatan elektroforesis, sehingga perlu banyak ulangan (Crawford, 1990).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya variasi morfologi dan profil pola pita protein pada 3 varietas tanaman Cucurbita moschata (waluh) local dari Jawa Tengah.

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Tanaman waluh (*Cucurbita moschata*) local Jawa Tengah yang terdiri dari 3 varietas; waluh hijau, waluh klenting dan waluh kuning.

Bahan kimia yang digunakan untuk analisa protein adalah akuabides, Sodium Dodecyl Sulphate (SDS), N-N-N-N'-Tetra-Methyl- Ethylnediamine (TEMED), Ammonium Persulphate (APS), iso-butanol jenuh, acrylamid, bisacrylamid, Tris HCl, Mercaptoethanol, Glycerol, Glycine, DTT, Bromphenol blue, Alkohol, Comassie blue, asam asetat glacial, dan marker protein Sigma M 4038.

B. Metode Penelitian

Pengamatan morfologi daun *Cucurbita moschata* dilakukan dengan cara mengukur panjang dan lebar, Pengambilan sampel daun mulai urutan keenam dari ujung tanaman yang pertumbuhannya optimum dengan penampilan, umur dan ukuran relative seragam. Sedangkan pengamatan morfologi bunga adalah meliputi tentang data diameter.

Untuk melakukan analisis pola pita protein dilakukan dengan metode SDS PAGE (Laemmli, 1970). Adapun langkah langkahnya sebagai berikut:

Pembuatan buffer ekstrak : 100 mM Tris

HCl pH 8,5; 4% Mercaptoethanol; 20% Glycerol. Stok Polyacrylamid 30%: 29 gram Acrylamid; 1 gram Bisacrylamid; ditambah akuabides hingga volumenya mencapai 100 ml. SDS PAGE 12% : 4,8 ml stok polyacrylamid; 3 ml 1,5 M Tris pH 8,8; 0,12 10% SDS; ditambah akuabides hingga volumenya mencapai 12 ml. Stacking gel 3%: 2 ml stok polyacrylamid; 2,52 ml 1,5 M Tris pH 6,8; 0,3 ml SDS 10%; ditambah akuabides hingga volemnya mencapai 20 ml.



Buffer Elektroda: 3 gr Tris; 14,4 gr Glycine; 10 ml SDS 10%. SDS sampel buffer: 2,5 ml 1,5 M Tris pH 6,8; 2 gr SDS;

0,5 gr DTT; 10 mg Bromphenol blue; 10 ml

Glycerin; ditambah akuabides hingga volumenya mencapai 20 ml. Comassie blue: 0,1% Comassie blue dalam 100 ml destaining. Destaining: 50% methanol; 10% asam asetat glacial; 40% akuabides Setelah semua larutan dibuat, kemudian dilakukan langkah-langkah berikut. Daun dan biji ditimbang seberat 0,5 gram, dihancurkan dengan mortar dan pestle dicampur dengan extract buffer 1000 µl. Setelah hancur dan homogen dimasukkan dalam tabung ependorf. Centrifuge disiapkan dan apabila centrifuge telah dingin (suhu +0oC), maka tabung ependorf dapat dimasukkan untuk disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Supernatant direbus selama dua menit, dengan tujuan supaya protein membuka.

Membuat gel Polyacrylamide yang terdiri dari 2 bagian, yaitu separating gel yang terletak di bagian bawah dengan konsentrasi 12% dan stacking gel yang terletak di bagian atas dengan kepekatan 3%. Separating Gel dibuat dengan cara mencampur 10 ml Stok SDS PAGE 12%, ditambah 7 µl Temed, dan 80 µl APS 10%. Sedangkan stacking gel 3% dibuat dengan cara mencampur 5 ml stok 3% stacking gel, ditambah 3,5 µl Temed, dan 50 µl APS 10%. Larutan Gel Polyacrylamide dicampur, setelah homogen separating gel dimasukkan dalam glass elektroforesis, setelah agak mengental ditambahkan isobutanol jenuh. Kemudian isobutanol jenuh tersebut dibuang dan stacking gel dimasukkan dalam glass elektroforesis tepat di atas running gel. Sample comb kemudian dipasang pada stacking gel dan dilepas setelah memadat.

Supernatan diisikan ke dalam lubang sampel sebanyak 10 µl dengan menggunakan alat injeksi (stepper). Sebelum pemasangan plat kaca pada bak elektroforesis dipastikan bahwa sirkulator menunjukkan suhu tidak lebih dari 40C. Selanjutnya klip penjepit dan shield tube dari plat kaca dilepas dan selanjutnya plat kaca dipasang pada bak elektroforesis secara berhadap-hadapan, dengan plat kaca yang bertakik berada di sebelah dalam. Selanjutnya buffer elektroda diisikan lagi hingga penuh dan bak penutup dipasang kembali. Power supply dihidupkan untuk menjalankan proses elektroforesis dengan arus listrik sebesar 125 volt selama 90 menit atau supernatant sampai batas bawah. Setelah proses elektroforesis selesai, gel diambil dan dilanjutkan staining atau pewarnaan. Pewarnaan dilakukan dengan meletakkan gel yang telah dikeluarkan dari glass elektroforesis ke dalam baki plastik, kemudian dituang ke dalam larutan comassie blue dan dishaker selama semalam. Setelah direndam dalam comassie blue, kemudian gel dibilas dengan destaining sampai jernih. Bila gel sudah jernih, maka pencucian distop dengan cara mengganti destaining dengan larutan asam asetat glasial 10%.

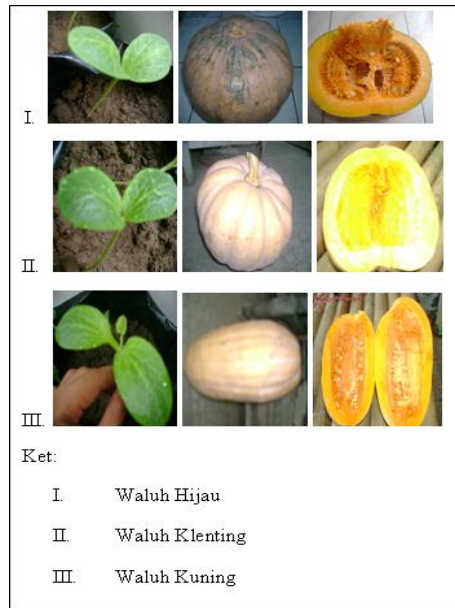
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Morfologi Tanaman *Cucurbita moschata*

Hasil penelitian terhadap keragaman morfologi daun, bunga, buah dan biji menunjukkan adanya variasi. Adapun keragaman tersebut meliputi panjang, lebar

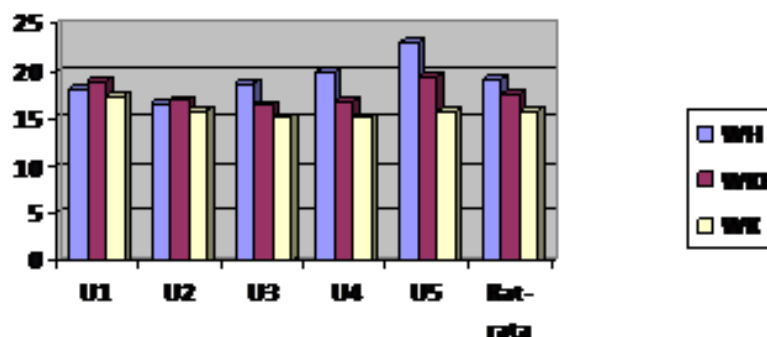


daun, diameter bunga, warna dan ketebalan buah serta berat biji. Seperti pada gambar berikut ini



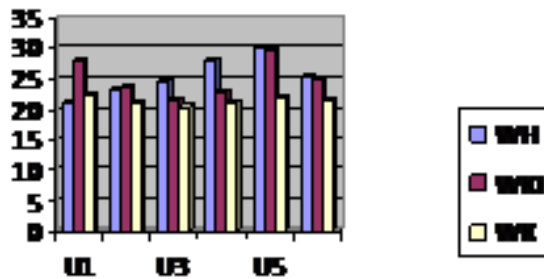
Tabel 1. Rata-rata Panjang Daun

Spesies	U1	U2	U3	U4	U5	Rata-rata
Waluh Hijau	18,2	16,7	18,7	19,9	23,0	19,3
Waluh Klenting	19,0	17,0	16,5	16,8	19,5	17,76
Waluh Kuning	17,3	15,8	15,2	15,2	15,9	15,88



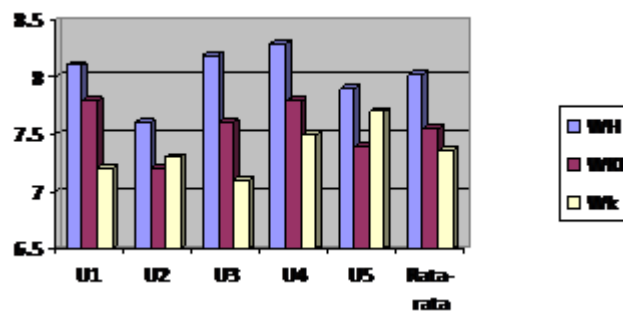
Tabel 2. Rata-rata Lebar Daun

Spesies	U1	U2	U3	U4	U5	Rata-rata
Waluh Hijau	21,3	23,2	24,5	28,0	30,3	25,46
Waluh Klenting	27,8	23,6	21,5	23,0	29,5	25,08
Waluh Kuning	22,3	21,0	20,5	21,3	22,0	21,42



Tabel 3. Rata-rata Diameter Bunga

Spesies	U1	U2	U3	U4	U5	Rata-rata
Waluh Hijau	8,1	7,6	8,2	8,3	7,9	8,02
Waluh Klenting	7,8	7,2	7,6	7,8	7,4	7,56
Waluh Kuning	7,2	7,3	7,1	7,5	7,7	7,36



1. Panjang dan Lebar Daun

Pengukuran panjang dan lebar daun pada ketiga varietas *Cucurbita moschata* dilakukan pada daun ke-6 sampai daun ke-10. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan daun dengan besar yang sama dan konstan. Dari pengukuran diperoleh rata-rata panjang dan lebar daun untuk varietas *Cucurbita moschata* hijau adalah 19,3 cm dan 25,46 cm. Untuk varietas *Cucurbita moschata* klenting diperoleh rata-rata panjang dan lebar daun adalah 17,76 cm dan 25,08 cm. Untuk varietas *Cucurbita moschata* Kuning diperoleh rata-rata panjang dan lebar daun adalah 15,88 cm dan 21,42 cm.

2. Diameter Bunga

Pengukuran diameter bunga dilakukan pada 5 bunga pertama yang muncul dari masing-masing varietas. Dari data pengukuran diperoleh rata-rata untuk varietas *Cucurbita moschata* hijau adalah 8,02 cm, untuk varietas *Cucurbita moschata* klenting 7,56 cm dan *Cucurbita moschata* kuning 7,36 cm.

Selain itu, perbedaan morfologi pada buah dan biji juga terlihat nyata. Waluh hijau memiliki bentuk bulat (bokor) dengan warna kulit buah kuning hijau, serta memiliki daging buah berwarna kuning terang, agak tipis. Berat basah biji adalah 21,5 gr/100 biji dan bijinya paling besar diantara varietas yang lain. Waluh kuning memiliki bentuk bulat (bokor) dengan warna kulit kuning polos, serta memiliki daging buah berwarna kuning terang, agak tipis. Berat basah biji adalah 19 gr/ 100 biji. Waluh klenting memiliki bentuk lonjong memanjang dengan warna kulit kuning polos, serta memiliki daging buah kuning jingga dan



paling tebal diantara varietas yang lain. Berat basah biji adalah 14,5 gr / 100 biji dan bijinya paling kecil diantara varietas yang lain.

B. Analisis Profil Pola Pita Protein

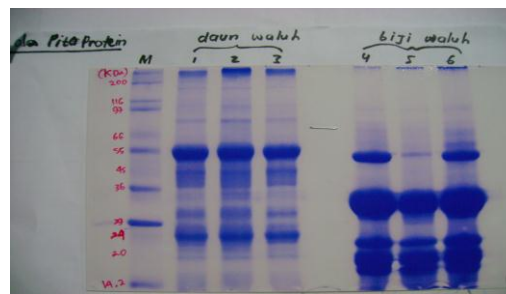
1. Pola Pita Protein daun *Cucurbita moschata*

Hasil elektroforesis pada gel polyakrilamid mengenai pola pita protein daun dari ketiga varietas *Cucurbita moschata* dengan marker kode M 4038 ditunjukkan pada gambar 6.

Pola pita protein dari ketiga varietas *Cucurbita moschata* memiliki tingkat ketebalan yang seragam. Hal ini menunjukkan tidak adanya variasi pola pita protein yang terdapat pada daun dari ketiga varietas *Cucurbita moschata*.

2. Pola Pita Protein Biji *Cucurbita moschata*

Hasil elektroforesis pada gel polyakrilamid mengenai pola pita protein biji dari ketiga varietas *Cucurbita moschata* dengan marker kode M 4038 ditunjukkan pada gambar 6. Dari hasil elektroforesis diperoleh adanya variasi pola pita protein yang dimiliki oleh *Cucurbita moschata* hijau. Berdasarkan marker dengan kode M 4038, pita protein dengan berat molekul 55 kDa pada varietas *Cucurbita moschata* hijau tampak paling tipis jika dibandingkan dengan dua varietas yang lainnya (*C. moschata* var. *klenting* dan var. *kuning*).



Gambar profil pola pita protein daun dan biji waluh.

Keterangan:

M = marker

1. daun var.klenting

2. daun var. Hijau

3. daun var. Kuning

4. biji var.klenting

5. biji var.hijau

6. biji var.kuning

KESIMPULAN

Terdapat keragaman morfologi dari ketiga varietas *Cucurbita moschata* (*hijau*, *klenting* dan *kuning*), daun yang terpanjang adalah var. *hijau* (23,0) cm dan terpendek adalah var. *kuning* (15,2) cm, daun terlebar adalah var.*hijau* (30,3) cm dan tersempit adalah var.*kuning* (21,0) cm. Diameter bunga terlebar adalah var.*hijau* (8,3) cm dan tersempit adalah var.*kuning* (7,1) cm. Warna kulit pada var.*hijau* adalah kuning hijau, var.*klenting* dan var.*kuning* adalah kuning polos. Bentuk buah pada var.*hijau* dan var.*klenting* adalah bokor, dan var.*kuning* adalah oval memanjang. Berat basah per 100 biji untuk var.*hijau* adalah 21,5 gr, var.*klenting* 19 gr dan var.*kuning* 14,5 gr.



Berdasarkan analisis pola pita protein, pada ketiga varietas *Cucurbita moschata* tidak memiliki variasi pola pita protein dalam daun, namun pada analisis biji menunjukkan adanya keragaman pola pita protein.

DAFTAR PUSTAKA

- Henny Krissetiana. 2003. Tepung Labu Kuning. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Lies Suprapti. 2005. Kuaci dan Manisan waluh. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Suranto. 1991. Studies of Population Variation in Spesies of Ranunculus. Thesis Departement of Plant Science-University of Tasmania. Hobart.
- Suranto, K.H.Gough, D.D.Shukla, and C.K.Pallaghy. 1998. Coat Protein Sequence of Krish-Infecting Strain of Jhonsongrass Mosaic Potyvirus. International Journal of *Archives of Virology*. 143 : 1015-1020.
- Suranto. 2002. Electrophoresis Studies of Ranunculus Triplodontus Population. Biodiversitas. 1(1) 1-7.
- Susanto dan Sirrapa, 2005. Prospek dan Strategi pengembangan jagung untuk mendukung ketahanan pangan di Maluku. Jurnal Litbang Pertanian 24 (2)
- Sutoro, Hadiatmi, S. B. Gajatri, H. Purwanti dan Nurhayati, 2000. Evaluasi dan Identifikasi Markah Molekuler untuk Sifat Tahan Penyakit Bulai dan Heterosis pada Tanaman. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor.
- Toha, AHA. 2001. Deoxyribo Nucleic Acid, Keragaman, Ekspresi, Rekayasa, & Efek Pemanfaatannya. Penerbit Alfabeta, Bandung.
- Widiyanti, 2007. Studi Variasi Morfologi Biji, Serbuk sari dan pola pita Isozim padi (*oryza sativa*) Varietas Rojolele. Tesis Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Wisnuanto, 2005 Karakterisasi keragaman genetic jeruk keprok (*citrus*) Tawangmangu dan Grabag Propinsi jawa tengah berdasarkan penanda Morfologi dan Isozim. Tesis Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- www.manifestftpunej.wordpress.com/2008/04/24/waluh-kuning-dari-legenda-sampai-diversifikasi/
- www.tanimerdeka.com/modules.php?name=News&file=categories&op=newindex&catid=13
- Yudo Sudarto. 2000. Budidaya Waluh. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Yusad Yusniwati, 2003. Situasi pangan di dunia. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Yuwono, T. 2005. Biologi Molekuler. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=431
- <http://maribertani.blogspot.com/2008/06/bertani-labu-kuning.html>

