



Forum Peneliti Muda Indonesia (ForMIND)

Forum Peneliti Muda Indonesia



Bunga Rampai
ForMIND
2018

Bunga Rampai ForMIND 2018



Gedung Perpustakaan Pusat ITB
Lantai Basemen, Jl. Ganesa No. 10
Bandung 40132, Jawa Barat
Telp. 022 2504257. Fax. 022 2534155
e-mail : office@itbpress.itb.ac.id
web : www.itbpress.itb.ac.id
Anggota Ikapi No. 043/JBA (1) dan APPTI



TAHUN ITB
&
Pendidikan Tinggi Teknik
di Indonesia

Siapa saja untuk perwujudannya dan siapa yang...

ISBN 978-602-0705-19-4



Bunga Rampai
Forum Peneliti Muda Indonesia
2018



Hak cipta © pada penulis dan dilindungi Undang-undang
Hak penerbitan pada ITB Press

Dilarang mengutip sebagian ataupun seluruh buku ini dalam bentuk
apa pun tanpa izin dari penulis dan penerbit.

Bunga Rampai Forum Peneliti Muda Indonesia 2018

Penulis : Forum Peneliti Muda Indonesia
Penyunting Utama : Ketut Wikantika
Penyunting : Adelina Nur Afiani
Dina Noviana Rahmawati
I Gede Dalem Elang Erlangga
Jeremy Linggom Panjaitan
Sonia Fatima Devy Koesyani
Penelaah Makalah : Ketut Wikantika
Fenny M. Dwivany
Deni Suwardhi
Lissa Fajri Yayusman
Pewajah Sampul : Tombayu Amadeo Hidayat

KATALOG DALAM TERBITAN (KDT)

*Bunga Rampai Forum Peneliti Muda Indonesia 2018 / Forum Peneliti
Muda Indonesia;*

Ketut Wikantika (peny.).—Ed.1.—Cet.1.—Bandung:
ITB Press, 2018
(viii, 314 hlm.); 17,6 x 25 cm

ISBN: 978r6o2ro7o5r19rç



**ITB
Press**

Gedung Perpustakaan Pusat ITB
Lantai Basemen, Jl. Ganesa No. 10
Bandung 40132, Jawa Barat
Telp. 022 2504257. Fax. 022 2534155
e-mail : office@itbpress.itb.ac.id
web : www.itbpress.itb.ac.id
Anggota Ikapi No. 043/JBA (1) dan APPTI

Kata Pengantar

Setiap tanggal 28 Oktober, dalam rangkaian memperingati Hari Sumpah Pemuda, Forum Peneliti Muda Indonesia (ForMIND) melaksanakan kegiatan konferensi tahunannya. Tahun ini, tuan rumah kegiatan konferensi bertempat di Osaka University, Jepang dan seperti biasa menerbitkan Buku Bunga Rampai ForMIND 2018.

Buku Bunga Rampai ForMIND merupakan kumpulan artikel ilmiah, semi-ilmiah dan populer-ilmiah dari berbagai disiplin ilmu yang disusun sedemikian rupa sehingga dapat memberikan gambaran yang jelas secara ilmiah, serta dapat memberikan ilustrasi tentang suatu keilmuan sehingga dapat dengan mudah dimengerti oleh tidak hanya bagi anggota ForMIND saja tetapi masyarakat umum. Buku ini akan menjadi sumber referensi alternatif terkait perkembangan ilmu dan teknologi serta status penerapannya di Indonesia. Untuk penerbitan tahun 2018 ini kontribusi penulis dari berbagai lembaga dan perguruan tinggi semakin beragam yang berasal dari dalam dan luar negeri. Para penulis berasal dari lembaga riset seperti PT. Bio Farma (Persero), *Banana Group ITB*, *Bali International Research Center for Banana*, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Jambi, Dinas Pariwisata Provinsi Maluku serta perguruan tinggi selain ITB yaitu Universitas Indonesia, Universitas Islam Indonesia, Universitas Yarsi, Universitas Nahdlatul Ulama Indonesia, Universitas Bina Nusantara, Universitas Jember, Universitas Andalas, Universitas Budi Luhur, Universitas Brawijaya, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta, Universitas Airlangga dan Universitas Diponegoro. Sedangkan dari luar negeri adalah *Osaka University* (Jepang), *Nara Institute of Science and Technology* (Jepang) dan *University of College London*.

Kami ucapkan terimakasih banyak kepada semua para kontributor atas makalahnya, para *reviewer*, dan para editor sehingga Buku Bunga Rampai ForMIND dapat diterbitkan. Sekali lagi kami mengundang partisipasi rekan-rekan semua, para peneliti untuk menyumbangkan makalahnya pada penerbitan Buku Bunga Rampai tahun berikutnya. Semoga buku ini memberi manfaat kepada para insan peneliti, pendidik, praktisi, pemerintah, lembaga lain serta industri khususnya yang ada di Indonesia.

Bandung, 28 Oktober 2018



Ketut Wikantika

Editor Utama



Daftar Isi

Review Article

Keterbatasan HAM: Sebuah Disonansi dalam Universalisme HAM, Kasus Sekolah Negeri Jakarta.....	1
<i>Family According to William J. Goode and Soerjono Soekanto</i>	19
Strategi Pemberdayaan Masyarakat Penghayat Kepercayaan terhadap Tuhan Yang Maha Esa	34
Fenomena Anak dalam Lingkaran Prositusi Online di Dunia Maya.....	46
Pentingnya Pengembangan Insulin di Indonesia.....	67
Metabolomik Mikrobiologi	77
Aplikasi Pendekatan Metabolomik untuk Ilmu Pematangan Buah.....	87
Aplikasi Senyawa Fotokatalis untuk Memperpanjang Umur Buah	99
Studi Regulasi dan Ekspresi Gen pada Proses Embriogenesis Somatik Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	105

Research Article

Pengembangan Komunikasi Pemasaran Pariwisata Maluku Untuk Peningkatan Kunjungan Wisatawan Nusantara.....	117
Aplikasi <i>Support Vector Machine</i> Pada Data Transkriptomik Jagung	130
Hubungan antara Alel Human Leucocyte Antigen (HLA) B dan Hipersensitivitas Terhadap Obat.....	142
Identifikasi Isolat Jamur <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>cubense</i> Tropical Race 4 (Foc TR4) dari Sampel Tanaman Pisang Sakit di Bali	154
Medium Interaksi dalam Studi Ketahanan Pisang terhadap Infeksi <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Cubense</i>	162
Rekayasa <i>Sucrose Phosphate Synthase</i> Untuk Meningkatkan Sukrosa Sebagai Sumber Karbon dan Energi Bagi Pertumbuhan Tanaman	173
Metode <i>Site-Directed Mutagenesis</i> dalam Pengembangan Biologi Molekuler dan Bioteknologi.....	181
Model Pengembangan Pertanian Perdesaan Melalui Inovasi (M-P3mi)	



Berbasis Tanaman Padi Pada Agroekosistem Sawah Irigasi Provinsi Jambi	192
Penyelesaian Alokasi Emisi CO ₂ Dalam Proses Pengolahan Minyak Bumi Dengan <i>Fuzzy Linear Programming</i>	215
Pengembangan Model <i>Virtual Heritage</i> Legenda Candi Prambanan Dalam Perlindungan Cerita Rakyat di Indonesia	232
Deteksi Area Lahan Terbakar dengan <i>Normalized Burned Ratio Thermal</i> (NBRT) dan Model Linier (Vegetasi, Air dan Suhu) untuk studi proses Suksesi Lahan.....	243
Analisis Morfologi Kawah Gunung Agung dan Tutupan Produk Vulkanik dengan Data Sentinel-1A.....	262
Pemodelan Lahar Erupsi Gunungapi Agung Menggunakan Data Sentinel 2 Serta Tiga Data DEM: TerraSAR-X, SRTM <i>1-Arc Second Global</i> , dan DTM Peta RBI skala 1:25.000	275
Analisis Termal Kawah Gunung Agung Dengan Data <i>Remote Sensing</i> ASTER TIR Multitemporal.....	289
Analisis Reflektansi Spektral dan Proses Pematangan Buah pada Pisang Cavendish	305
Analisis Fase Erupsi Gunung Agung 2017-2018 Berdasarkan Deformasi PLT D-InSAR dengan Data Sentinel-1A.....	319



Research Article

Metode *Site-Directed Mutagenesis* dalam Pengembangan Biologi Molekuler dan Bioteknologi

Widhi Dyah Sawitri^{1,2*}, Yudhi Nugraha^{3,4**}, Muchammad Zainal Fanani^{5,6***}, Muhammad Idris^{7,8****}

¹UPT. Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (CDAST), Universitas Jember, Indonesia

²Prodi Magister Bioteknologi, Program Pascasarjana, Universitas Jember, Indonesia

³Fakultas Kedokteran, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran”, Jakarta, Indonesia

⁴Structural Biology Laboratory, Department of Biological Science, Nara Institute of Science and Technology, Ikoma – Nara, Japan

⁵Lembaga Penyakit Tropis, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

⁶Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University, Osaka, Japan

⁷Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis, Padang, Sumatera Barat, Indonesia

⁸Functional Biology of Natural History, Botanical Gardens, Graduate School of Science, Osaka City University, Osaka, Japan

email : *widhi.pasca@unej.ac.id, **yudhi.nugraha.yg9@bs.naist.jp
muchammad_fanani@bio.eng.osaka-u.ac.jp, *midris@sci.unand.ac.id

Abstrak

Site-directed mutagenesis (SDM) merupakan metode biologi molekuler yang digunakan untuk menghasilkan perubahan pada sekuens DNA. Hal ini telah dibuktikan dengan analisis hubungan antara struktur dan fungsi protein, dimana perubahan struktur protein dapat berpengaruh pada fungsinya. Teknik mutasi yang umum dilakukan berupa substitusi, insersi dan delesi pada satu atau beberapa asam amino. Langkah penting dalam melakukan SDM adalah mendesain primer yang mengandung poin mutasi dan memperbanyaknya menggunakan PCR. Berdasarkan beberapa studi yang telah dilaporkan, SDM menjadi metode yang penting dalam pengembangan biologi molekuler dan bioteknologi.

Kata kunci: Site-directed mutagenesis, biologi molekuler, bioteknologi, mutasi

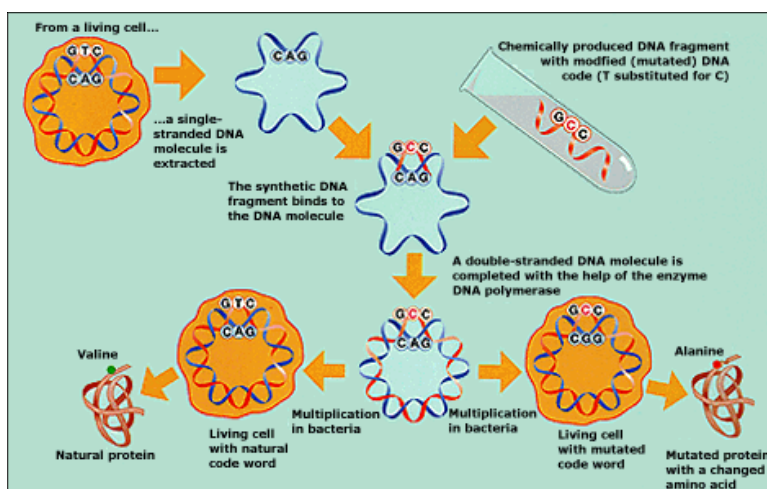
Abstract

Site-directed mutagenesis (SDM) is a molecular biology method that is used to generate intentional changes to DNA sequence. The SDM has proven to be valuable for analyzing the structure–function relationship of proteins. This method can be used to substitute, insert, and delete single or multiple amino acid residues. The mutation process can be carried out using two complementary mutagenic primer and extension PCR. In addition, SDM becomes an important tool in molecular biology and biotechnology.

Keywords: *Site-directed mutagenesis, molecular biology, biotechnology, mutation*

1. PENDAHULUAN

Salah satu dasar mempelajari interaksi antara DNA, RNA, protein, dan regulasi metabolisme, adalah untuk memahami fungsi dan aktifitas biologis di dalam sel. Biologi molekuler merupakan cabang ilmu hayati yang mempelajari komposisi, struktur, dan interaksi molekul di dalam sel, seperti asam nukleat dan protein yang membawa proses biologi yang penting untuk fungsi dan koordinasi sel (Astbury, 1961). Biologi molekuler menggunakan metode spesifik yang mengkombinasikan disiplin ilmu lain, yaitu antara genetika dan biokimia. Dewasa ini, *site-directed mutagenesis* (SDM) dikembangkan secara luas untuk memahami sistem biologi di dalam sel. SDM didefinisikan sebagai salah satu metode biologi molekuler yang bertujuan untuk mengubah sekuens DNA pada posisi tertentu dan menganalisis struktur-fungsi molekul DNA, RNA, protein. Berdasarkan aplikasinya, SDM juga memiliki prospek dalam pengembangan bioteknologi dan rekayasa protein (*protein engineering*).



Gambar 1. Tahap SDM pada metode Q5 site-directed mutagenesis (Smith, 1993)

Metode SDM berawal dari konsep *mutagenesis* yaitu perubahan informasi genetik pada suatu organisme yang terjadi secara random atau spontan di alam. Faktor yang

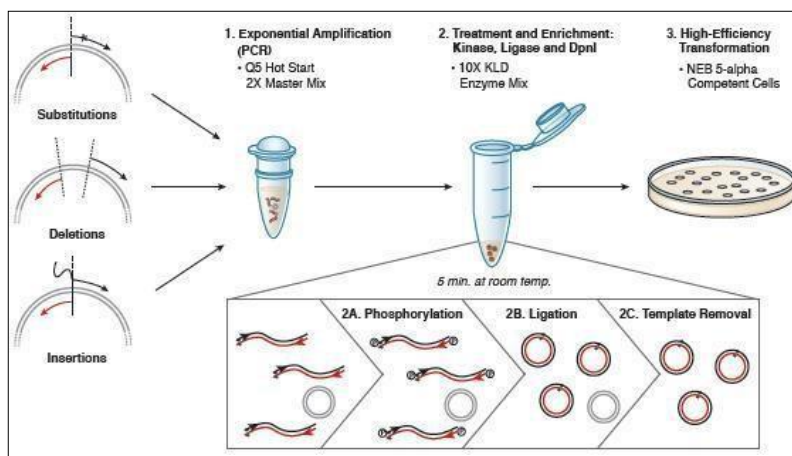
dapat menginduksi terjadinya mutasi adalah karena adanya paparan radiasi sinar x-ray dan senyawa kimia yang bersifat mutagenik. Berdasarkan analogi, maka dikembangkan metode agar dapat menghasilkan poin mutasi yang terlokalisasi. Contoh senyawa kimia yang digunakan diantaranya adalah *aminopurine* (Caras, dkk., 1982), *nitrosoguanidine* (McHugh, dkk., 1974), dan *bisulfite* (Shortle dan Nathans, 1978). Pertama kali SDM diperkenalkan tahun 1974 oleh Charless Weissman. Tahun 1978 Clyde Hutchison dan Michael Smith menyempurnakan metode SDM sehingga lebih fleksibel dengan menggunakan DNA polimerase dan penambahan oligonukleotida pada primer (Hutschison *et. al.*, 1978). Penemuan ini membawa Michael Smith menjadi peraih Nobel Prize di bidang kimia tahun 1993 bersama Kary Mullis, seorang inventor mesin *polymerase chain reaction* (PCR) (Kresge, dkk., 2006). Teknik SDM berkembang secara signifikan setelah ditemukannya teknik perbanyak (amplifikasi) untai DNA melalui metode PCR.

2. MEKANISME DASAR SDM

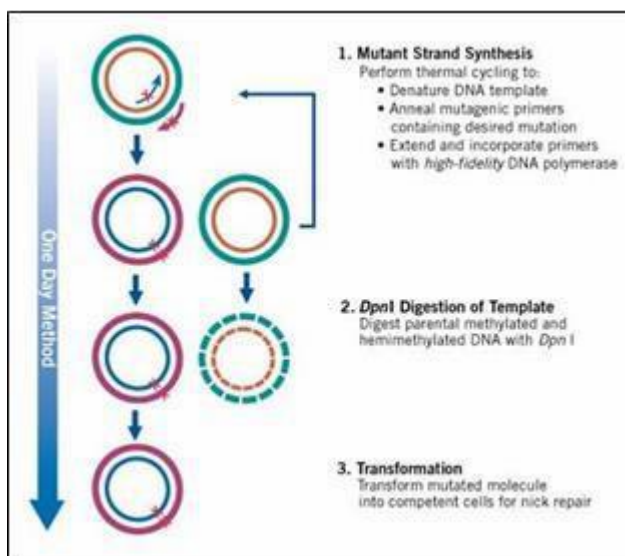
Prosedur SDM didesain dalam skala *in vitro* dan umumnya menggunakan teknologi rekombinan DNA karena memungkinkan untuk melakukan rekayasa struktur dan fungsi protein melalui modifikasi pada gen penyandinya. Teknologi rekombinan DNA merupakan teknik penggabungan dua molekul DNA berbeda, yaitu menggabungkan antara DNA yang dikehendaki dengan plasmid DNA, untuk memproduksi kombinasi genetik baru.

Tahap awal yang dibutuhkan untuk melakukan teknik SDM adalah mendesain dan mensintesis pasang nukleotida (primer DNA). Primer tersebut harus mengandung target nukleotida yang akan dimutasi dan dapat diamplifikasi dalam untai ganda (*double stranded*) DNA target. Mutasi melalui SDM dapat dilakukan dengan satu atau beberapa poin mutasi berupa delesi (penghilangan nukleotida), substitusi (penggantian nukleotida), ataupun insersi (memasukkan nukleotida). Gen hasil dimutasi dimasukkan (transformasi) ke dalam *host cell* seperti sel *E. coli*, selanjutnya dilakukan seleksi mutan dan konfirmasi melalui DNA sekuensing.

Ada beberapa teknik SDM yang telah ditinggalkan sejak tahun 2000, yaitu *Cassete Mutagenesis* (Wells dan Estell, 1988) dan *Kunkel's method* (Kunkel, 1985). Banyak perusahaan yang memproduksi kit SDM untuk melakukan rekayasa rekombinan DNA dengan tingkat efisiensi tinggi dan relatif mudah digunakan. Contoh yang sering dipakai saat ini adalah menggunakan metode Q5 site-directed mutagenesis dan QuickChange. Perbedaan antara metode tersebut terletak pada primer yang didesain. Metode Q5 site-directed mutagenesis menggunakan primer desain berlawanan arah (*back-to-back orientation*) (Gambar 1), sedangkan QuickChange menggunakan primer dengan desain saling tumpang tindih (*overlapping*) (Gambar 2). Selain itu, metode terbaru teknik SDM yang dikembangkan sejak tahun 2013 adalah teknologi CRISPR-Cas9. Kelebihan dari CRISPR-Cas9 diantaranya dapat melakukan mutasi pada DNA genom yang berukuran besar dan tidak meninggalkan marker genetik, sehingga teknologi ini sering disebutkan sebagai *genome editing* (Biot-Pelletier dan Martin, 2016).



Gambar 2. Tahap SDM pada metode Q5 site-directed mutagenesis (New England Bi-oLabs, 2017)



Gambar 3. Tahap SDM pada metode QuickChange (Stratagene, 2010)

3. APLIKASI SDM DALAM BIOLOGI MOLEKULER DAN BIOTEKNOLOGI

SDM telah banyak dikembangkan di berbagai disiplin ilmu diantaranya bioteknologi kesehatan, pertanian, bioproses, dan ilmu dasar melalui karakterisasi suatu makromolekul tertentu. Berikut adalah beberapa contoh aplikasi SDM saat ini.

SDM untuk karakterisasi protein dan mempelajari fungsi fisiologis

Protein merupakan bagian penting dalam setiap makhluk hidup karena lebih dari 50%

berat kering sel terdiri atas protein. Dalam proses metabolismenya, fungsi protein bermacam-macam diantaranya sebagai katalis (enzim), transport, imunitas (anti-bodi), termasuk sebagai komunikasi (reseptor). Metode SDM pada tanaman digunakan untuk mengkaji fungsi dasar dari protein yang terlibat dalam metabolisme tumbuhan serta untuk *molecular breeding* (terutama pada tanaman pangan) dalam upaya peningkatan fungsi dari protein yang terlibat dalam proses metabolisme (Bachman, 2013; Podevin dkk, 2013; Oladosu dkk, 2016). Teknik SDM melibatkan penggunaan analisis *immunoblotting* dan *green fluorescent protein* (GFP) untuk mendeteksi lokalisasi ekspresi protein yang mengalami mutasi (Pang dkk, 1996; Ckurshumova dkk, 2011; Tanz dkk, 2013; Sattarzadeh dkk, 2015; Songstad dkk, 2017).

Aplikasi SDM dalam mengkaji fungsi dasar protein pada proses metabolisme umumnya dilakukan pada tanaman model *Arabidopsis thaliana*. Salah satu kajian penting adalah fungsi reseptor cahaya yang berkaitan dengan adaptasi tanaman terhadap sinar ultraviolet-B (UV-B) sebagai faktor penting yang mempengaruhi proses pertumbuhan. Protein reseptor yang penting dalam merespon sinar UV-B adalah *UV Resistance Locus 8* (UVR8) dimana struktur protein UVR8 telah diketahui melalui metode kristalografi sinar-X oleh (Wu dkk, 2012). Akan tetapi, adanya struktur protein saja tidak dapat menjawab mekanisme kerja protein UVR8 secara presisi. Oleh karenanya dilakukan SDM untuk meregenerasi variasi protein UVR8 pada *Arabidopsis* dalam mengkaji fungsi vital dari asam amino triptofan dan arginin terhadap proses fotomorfogenesis yang di induksi oleh UV-B (O'Hara dan Jenkins, 2012; Huang dkk, 2014; Jenkins, 2014).

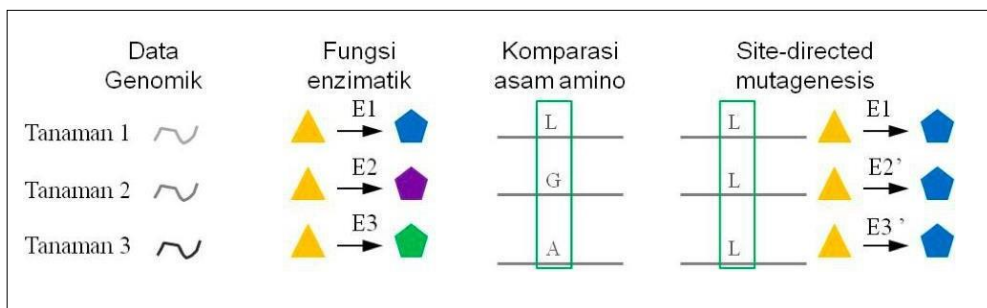
Penggunaan teknik SDM dalam mengkaji fungsi spesifik protein juga telah banyak dilakukan pada tanaman pangan, salah satunya adalah tebu (*Sacharum officinarum*). Teknik SDM digunakan dalam mengkaji fungsi protein yang memegang peran penting pada biosintesis sukrosa yaitu enzim *sucrose phosphate synthase* (SPS). Karakterisasi fungsi enzim SPS dalam biosintesis sukrosa pada tanaman transgenik tebu hasil mutase enzim SPS diidentifikasi melalui skrining mutasi delesi N-terminal (Sawitri dkk, 2016) dan skrining mutasi menjadi asam amino alanin (Sawitri dkk, 2018).

3.1 SDM untuk Rekonstruksi Model Metabolik Pada Metabolit Sekunder Tanaman

Tanaman menghasilkan metabolit primer yang memiliki fungsi penting dan fisiologis untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Selain itu, tanaman juga menghasilkan metabolit sekunder atau disebut dengan *plant specialized metabolites* yang memiliki peranan penting dalam interaksi tanaman dengan lingkungan, termasuk respon terhadap biotik dan abiotik. Manusia umumnya memanfaatkan metabolit sekunder untuk pengobatan, kosmetik, dan pertanian. Metabolit sekunder memiliki fungsi biologis yang dipengaruhi oleh peran enzim dalam sintesis metabolit sekunder tersebut. Hal yang menarik adalah keragaman metabolit sekunder di alam yang tinggi, mulai dari tingkat genus, spesies dan kultivar tanaman. Oleh karena itu, keragaman metabolit sekunder tanaman perlu dikaji lebih detil sehingga memung-

kinkan untuk rekonstruksi model metabolik dalam upaya penemuan obat baru.

Berbagai informasi genetik, salah satunya data transkriptomik, telah banyak dilaporkan seperti pada proyek 1KP (Matasci, dkk., 2014). Eksplorasi enzim yang terlibat dalam biosintesis metabolit sekunder telah banyak dilakukan, baik menggunakan metode *gene mining* maupun *co-expression analysis*. Urutan asam amino dari enzim sejenis dibandingkan antar spesies sehingga menunjukkan adanya urutan asam amino yang sama (*conserve*) dan beragam. Keragaman urutan asam amino memiliki peran penting dalam fungsi enzimatik dan keragaman metabolit sekunder. Salah satu metode yang memungkinkan untuk menghasilkan metabolit sekunder baru adalah rekayasa enzim yang terlibat dalam sintesis metabolit sekunder menggunakan SDM (Gambar 4).



Gambar 4. Rekonstruksi model metabolik melalui SDM pada enzim yang terlibat dalam sintesis metabolit sekunder

3.2 SDM untuk Pengembangan dan Pencarian Obat (*Drug Design Development*)

Obat merupakan molekul organik berukuran kecil yang memiliki kemampuan untuk mengaktifkan ataupun menghambat fungsi dari biomolekul dalam tubuh, salah satunya protein. Aktivasi atau penghambatan protein ini yang kemudian menciptakan aktifitas molekular sesuai dengan tujuan kerja obat dibuat. Teknik SDM ini berguna untuk mengidentifikasi situs penempelan obat tersebut pada proteinnya. Pada tahap pengembangan dan pencarian senyawa baru dari alam yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, dipelajari juga kemungkinan jalur mekanisme kerja senyawa tersebut. Untuk mempelajari jalur ini, teknik mutasi pada situs kunci suatu protein adalah tahap awal dan fundamental untuk memahami interaksi antara protein target dan mekanisme dari kandidat senyawa aktif. Selain itu, pemodelan molekular berdasarkan SDM juga dapat memberikan gambaran tentang kemungkinan adanya variasi resistensi obat tertentu (Koch, *et. al.*, 2012).

Dengan melakukan mutasi spesifik pada sekuens DNA, maka fungsi protein target dapat diketahui. Sebagai contoh, penelitian tentang mutasi asam amino serin menjadi alanin pada substrat protein terbukti mencegah penempelan grup fosfat. Melalui hasil penelitian ini, proses fosforilasi dapat dipelajari secara utuh. Berdasarkan konsep ini juga mekanisme fosforilasi protein *CREB binding protein* (CBP) oleh *homeodomain interacting protein kinase 2* (HIPK2) berhasil dipelajari secara dalam (Ko-

vács *et al.*, 2015). Selain itu, identifikasi residu kunci yang berperan paling penting pada *rice manganese transporter* OsMTP8.1 juga telah berhasil dijelaskan menggunakan pemanfaatan metode SDM ini (Chen *et al.*, 2016a). Situs aktif pada beberapa protein telah banyak dipelajari secara mendalam menggunakan metode SDM (Chen *et al.*, 2016 b). Bahkan saat ini, peneliti dapat mengembangkan dan menganalisa mutasi-mutasi penting pada suatu molekul protein berdasarkan penjajaran sekuens protein dalam basis data melalui website (<http://mutationmapper.bioch.ox.ac.uk>) (Vohra dan Biggin, 2013).

Aplikasi SDM juga digunakan untuk validasi domain atau bagian penting pada protein yang menjadi pengembangan dan pencarian obat baru berdasarkan konsep desain rasional berdasarkan struktur (Liu, 2016). Desain rasional obat berdasarkan struktur atau dikenal *structure-based rational drug design* (SBDD) adalah proses pencarian dan pengembangan obat baru berdasarkan kemungkinan mekanisme kerja obat yang sudah diketahui.

4. KESIMPULAN

Site-directed mutagenesis (SDM) adalah salah satu metode biologi molekular yang bertujuan untuk mengubah satu poin atau daerah nukleotida tertentu pada sekuens DNA yang diinginkan. Tujuan utama SDM ini adalah untuk mempelajari fungsi protein berdasarkan strukturnya. Beberapa contoh telah diulas mengenai aplikasi SDM yang memiliki prospek dalam pengembangan riset biologi molekular dan bioteknologi, khususnya di Indonesia.

DAFTAR REFERENSI

- Astbury, W.T. 1961. Molecular biology or ultrastructural biology? *Nature*. Vol. 190: hal. 1124
- Biot-Pelletier, D. dan Martin, V.J.J. 2016. Seamless site-directed mutagenesis of the *Saccharomyces cerevisiae* genome using CRISPR-Cas9. *Journal of Biological Engineering*. Vol. 10, No. 6. DOI 10.1186/s13036-016-0028-1
- Bachman, J. 2013. Site-Directed Mutagenesis. *Methods in Enzymology*. Vol. 529: hal. 241-248.
- Caras, I.W., MacInnes, M.A., Persing, D.H., Coffino, P., dan Martin Jr, D.W. 1982. Mechanism of 2-aminopurine mutagenesis in mouse T-lymphosarcoma cells. *Mol. Cell Biol*. Vol. 2, No. 9: hal. 1096-1103
- Chen, X., Li, J., Wang, L., Ma, G., dan Zhang, W. 2016a. A mutagenic study identifying critical residues for the structure and function of rice manganese transporter OsMTP8.1. *Scientific Reports*. Vol. 6: hal. 32073
- Chen, X., Song, W., Gao, C., dkk. 2016b. Fumarate production by *Torulopsis glabrata*: engineering heterologous fumarase expression and improving acid tolerance. *PLoS One*. Vol. 11: hal. e0164141
- Huang, X., Yang, P., Ouyang, X., Chen, L., dan Deng, X.W. 2014. Photoactivated UVR8-

- COP1 module determines photomorphogenic UV-B signaling output in Arabidopsis. *PLoS Genetic*. Vol. 10: hal. e1004218.
- Hutchison CA III, Phillips S, Edgell MH, et al. 1978. Mutagenesis at a specific position in a DNA sequence. *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 253, No. 18: hal. 6551–6560
- Jenkins, G.I. 2014. The UV-B Photoreceptor UVR8: from structure to physiology. *The Plant Cell*. Vol. 26: hal. 21-37
- Koch, B., Buchholz, M., Wermann, M., dkk. 2012. Probing secondary glutaminy cyclase (QC) inhibitor interactions applying an in silico-modeling/site-directed mutagenesis approach: implications for drug development. *Chemical Biology & Drug Design*. Vol. 80, No. 6: hal. 937–946
- Kovács, K.A., Steinmann, M., Halfon, O., Magistretti, P.J., Cardinaux, J.R. 2015. Complex regulation of CREB-binding protein by homeodomain-interacting protein kinase 2. *Cellular Signaling*. Vol. 27, No. 11: hal. 2252–2260
- Kresge, N., Simoni, R.D., dan Hill, R.L. 2006. The development of site-directed mutagenesis by Michael Smith. *J. Biol. Chem*. Vol. 281: hal. e31
- Kunkel, T.A. 1985. Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 82: hal. 488-492
- Liu, C.L., Hung, H.C., Lo, S.C., dkk. 2016. Using mutagenesis to explore conserved residues in the RNA-binding groove of influenza virus nucleoprotein for antiviral drug development. *Scientific Reports*, Vol. 6: hal. 21662
- Matasci, N., Hung, Hung, L.H., Yan, Z., Carpenter, E.J., dkk. 2016. Data access for the 1,000 Plants (1KP) project. *Giga Science*. Vol. 3, No. 1. DOI 10.1186/2047-217X-3-17
- McHugh, G.L., dan Miller, C.G. 1974. Isolation and characterization of proline peptidase mutants of *Salmonella typhimurium*. *J. Bacteriol*. Vol. 120, No. 1: hal. 364-371
- New England Biolabs. 2017. *DNA modifying enzyme: Q5® Site-Directed Mutagenesis*. <https://www.neb.com/applications/cloning-and-synthetic-biology/site-directed-mutagenesis>. Diakses pada tanggal 30 September 2018.
- O’Hara, A., dan Jenkins, G.I. 2012. In vivo function of tryptophan in the Arabidopsis UV-B photoreceptor UVR8. *The Plant Cell*. Vol. 24: hal. 3755-3766.
- Oladosua, Y., Raffi, M.Y., Abdullaha, N., Hussin, G., Ramlie, A., Rahim, H.A., Miaha, G., dan Usman, M. 2016. Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. Vol. 30: hal. 1-16.
- Pang, S.Z., DeBoer, D.L., Wang, Y., Ye, G., Layton, J.G., Neher, M.K., Armstrong, C.L., Fry, J.E., Hinchee, M.A.W., dan Fromm, M.E. 1996. An improved green fluorescent protein gene as a vital marker in plants. *Plant Physiology*. Vol. 112: hal. 893-900.
- Podevin, N., Davies, H.V., Hartung, F., Nogue, F., dan Casacuverta, J.M. 2013. Site-directed nucleases: a paradigm shift in predictable, knowledge-based plant breeding. *Trends in Biotechnology*. Vol. 31: hal. 375-383.
- Sattarzadeh, A., Saberianfar, R., Zipfel, W.R., Menassa, R., dan Hanson, M.R. 2015. Green to red photoconversion of GFP for protein tracking in vivo. *Scientific Reports*. Vol. 5:

hal. 11771.

- Sawitri, W.D., Narita, H., Ishizaka-Ikeda, E., Sugiharto, B., Hase, T., dan Nakagawa, A. 2016. Purification and characterization of recombinant sugarcane sucrose phosphate synthase expressed in *E. coli* and insect Sf9 cells: an importance of the N-terminal domain for an allosteric regulatory property. *The Journal of biochemistry*. Vol. 159: hal. 599-607.
- Sawitri, W.D., Afidah, S.N., Nakagawa, A., Hase, T., dan Sugiharto, B. 2018. Identification of UDP-glucose binding site in glycosyltransferase domain of sucrose phosphate synthase from sugarcane (*Saccharum officinarum*) by structure-based site-directed mutagenesis. *Biophysical Reviews*. Vol. 10: hal. 293-298
- Shortle, D. dan Nathans, D. 1978. Local mutagenesis: A method for generating viral mutants with base substitutions in preselected regions of the viral genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 75. No. 5: hal. 2170-2174
- Smith, M. 1993. *Site-direct mutagenesis reprograms DNA*. https://www.nobelprize.org/prizes/uncategorized/site-directed-mutagenesis-reprograms-dna__trashed/ Diakses tanggal 30 September 2018
- Songstad, D.D., Petolino, J.F., Voytas, D.F., dan Reichert, N.A. 2017. Genome Editing of Plants. *Critical Review in Plant Sciences*. Vol. 36: hal. 1-23.
- Stratagene. *QuickChange XL- Site Directed Mutagenesis Kit Instruction Manual*. <https://www.agilent.com/en/quikchange-site-directed-mutagenesis-kits-details>. Diakses pada tanggal 30 September 2018.
- Tanz, S.K., Castleden, I., Small, I.D., dan Millar, A.H. 2013. Fluorescent protein tagging as a tool to define the subcellular distribution of proteins in plants. *Frontier in Plants Science*. Vol. 4: hal. 214.
- Vohra, S dan Biggin, P.C. 2013. Mutation mapper: a tool to aid the mapping of protein mutation data. *PLoS One*. Vol. 8, No. 8: hal. e71711
- Wells, J.A. dan Estell, D.A. 1988. Subtilisin-an enzyme designed to be engineered. Vol. 13, No. 8: hal. 291-297
- Wenzislava Ckurshumova, W., Caragea, A.E., Goldstein, R.S., dan Berleth, T. 2011. Glow in the dark: fluorescent proteins as cell and tissue-specific markers in plants. *Molecular Plant*. Vo. 4: hal. 794-804.
- Wu, D., Hu, Q., Yan, Z., Chen, W., Yan, C., Huang, Xi., Zhang, J., Yang, P., Deng, H., Wang, J., Deng, X.W., dan Shi, Y. 2012. Structural basis of ultraviolet-B perception by UVR8. *Nature*. Vol. 484: hal. 214-219.

BIOGRAFI PENULIS

Widhi Dyah Sawitri



Widhi Dyah Sawitri adalah dosen di Prodi Magister Bioteknologi, Program Pascasarjana, Universitas Jember dan di Lab. Bioteknologi dan Biologi Molekul UPT. Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (CDAST), Universitas Jember. Riwayat pendidikan yang ditempuh adalah S1 Biologi, Universitas Airlangga; S2 di bidang *Agriculture*, *Kyungpook National University*, Korea Selatan; dan S3 mengambil fokus *supramolecular crystallography* di Institute for Protein Research, Osaka University, Jepang. Saat ini melakukan penelitian mengenai rekayasa proteomik pada enzim.

Yudhi Nugraha



Yudhi Nugraha menyelesaikan program magister ilmu biomedik dari Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada tahun 2014. Pernah bekerja di Institute of *Human Virology and Cancer Biology FKUI-RSCM* (2011-2013) dan Kalbe Genomic Laboratory, PT. Kalbe Farma Tbk (2013-2014). Pada tahun 2015 bergabung menjadi Dosen di Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta, sebelum akhirnya memutuskan untuk melanjutkan Program Doktorat di *Nara Institute of Science and Technology*.

Much Z. Fanani



Much Z. Fanani menyelesaikan pendidikan sarjana dan master di Departemen Kimia Universitas Airlangga. Saat ini sedang menempuh program doktorat di Bioteknologi *Osaka University* dengan beasiswa Monbukagakusho Jepang. Fokus penelitian yang ditekuni adalah tentang diversifikasi *specialized metabolites* dan evolusi enzim yang terlibat biosintesis dari tanaman *Fabaceae*.

Muhammad Idris



Muhammad Idris adalah dosen fisiologi tumbuhan di Jurusan Biologi, Universitas Andalas. Saat ini sedang menempuh program doctoral di bidang fisiologi tumbuhan pada *Functional Biology of Natural History, Botanical Gardens, Graduates School of Science, Osaka City University*. Fokus penelitian saat ini adalah mempelajari respon fotomorfogenesis tumbuhan terhadap efek ultraviolet-B (UV-B) melalui pendekatan fisiologi dan molekuler.