

OPTIMIZATION OF ISOPROPYL- β -D-THIOGALACTOPYRANOSIDE (IPTG) CONCENTRATION AS A TRIGGER FOR BOVINE LACTOFERRINE (bLf) GEN EXPRESSION

Optimasi Konsentrasi Isopropyl - β -D- Thiogalactopyranosid (IPTG) Sebagai Pemicu Ekspresi Gen Bovine Lactoferrine (bLf)

Luh Dewi Anggreni¹, Ni Made Ritha Krisna Dewi^{2*}, I Gusti Ngurah Kade Mahardika³, I Gusti Ngurah Narendra Putra⁴

¹PLP Ahli Madya Laboratorium Diagnosa Klinik, Patologi Klinik dan Radiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Denpasar, Bali, Indonesia

²Laboran Laboratorium Biomedik dan Biologi Molekuler Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Denpasar, Bali, Indonesia

³Dosen Virologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Bali, Indonesia

⁴Fungsional Medik Veteriner Ahli Muda Dinas Pertanian dan Pangan Kabupaten Badung, Bali, Indonesia

*Corresponding author email: dewinanaputri@gmail.com

How to cite: Anggreni LD, Dewi NMRK, Mahardika IGNK, Putra IGNN. 2024.

Optimization of isopropyl- β -d-thiogalactopyranoside (IPTG) concentration as a trigger for bovine lactoferrine (bLf) gen expression. *Bul. Vet. Udayana*. 16(6): 1778-1785. DOI: <https://doi.org/10.24843/bulvet.2024.v16.i06.p22>

Abstract

Lactoferrin in cow's milk is known as Bovine Lactoferrin (bLf). Currently, lactoferrin is being developed as an ingredient in vaccines and medicines. As a vaccine material, the plasmid gene bLf is expressed with Isopropyl- β -D-Thiogalactopyranoside (IPTG) to form recombinant proteins. The volume of IPTG used to induce gene expression depends on the bacteria's volume. Different concentrations of IPTG can generally affect the expression rate of recombinant proteins. Therefore, this study determined the optimal concentration of IPTG in expressing bLf protein. The study began with a gradual bLf culture from 1ml of Terrific Broth (TB) media, if the growth is good, upscaling to 10ml culture media. The bLf culture was incubated in a shaker incubator at a speed of 120rpm for 48 hours, at a temperature of 37°C. After the growth of good bacteria, it was induced using IPTG with varying final concentrations of 0.125mM, 0.25mM, 0.5mM and 1mM. Re-incubated in a shaker incubator for 4-6 hours. The bLf culture was then centrifuged for 10 min at 6000rpm. Centrifugation results in the form of supernatants were removed, while the sediment was added as much as 300 μ l of PBS. The culture was ultrasonicated for 10 years with an amplitude of 50%. Furthermore, it was analyzed using the SDS-PAGE method. The test began by adding a buffer of 15 μ l to 45 μ l of sonicated results and heated at 95°C for 10 minutes, then electrophoresis on acrylamide gel. The results showed that in each treatment or replicate there was a bLf protein. Visually, it was seen that there was no significant difference in the variation of IPTG concentration treatment for expressing the bLf plasmid gene. Adding IPTG to express bLf genes with lower or higher

concentrations did not affect the bLf proteins produced. Lowering the IPTG concentration from 1 μ M to 0.125 can reduce production costs. Further testing is needed to use lower concentrations of IPTG in other plasmid genes.

Keywords: Gen, IPTG, concentration, lactoferrin SDS-PAGE

Abstrak

Laktoferrin pada susu sapi dikenal dengan *Bovine Lactoferrin* (bLf). Saat ini, laktoferrin dikembangkan sebagai bahan vaksin dan obat-obatan. Sebagai bahan vaksin gen plasmid bLf diekspresikan dengan *Isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside* (IPTG) untuk membentuk protein rekombinan. Volume IPTG yang digunakan untuk menginduksi ekspresi gen tergantung dari volume bakteri. Konsentrasi IPTG yang berbeda umumnya dapat mempengaruhi laju ekspresi dari protein rekombinan. Oleh karena itu, penelitian ini menentukan konsentrasi IPTG yang optimum dalam mengekspresikan protein bLf. Penelitian diawali dengan kultur bLf secara bertahap dari 1 ml media *Terrific Broth* (TB), jika pertumbuhannya baik dilakukan *upscaling* ke media kultur 10 ml. Kultur bLf diinkubasikan pada *shaker incubator* kecepatan 120 rpm selama 48 jam, suhu 37°C. Setelah pertumbuhan bakteri baik, diinduksi menggunakan IPTG dengan konsentrasi akhir yang bervariasi yaitu 0,125 mM, 0,25 mM, 0,5 mM dan 1 mM. Diinkubasikan kembali pada *shaker incubator* selama 4-6 jam. Kultur bLf selanjutnya disentrifuse selama 10 menit dalam 6000 rpm. Hasil sentrifugasi berupa supernatan dibuang, sedangkan endapannya ditambahkan PBS sebanyak 300 μ l. Kultur diultrasonikasi selama 10 dengan *amplitudo* 50%. Selanjutnya dianalisis dengan metode SDS-PAGE. Pengujian diawali dengan menambahkan buffer sebanyak 15 μ l pada 45 μ l hasil sonikasi dan dipanaskan pada suhu 95°C selama 10 menit, kemudian dielektroforesis pada *gel acrylamide*. Hasil menunjukkan bahwa pada setiap perlakuan maupun ulangan terdapat adanya protein bLf. Secara visual menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada variasi perlakuan konsentrasi IPTG untuk mengekspresikan gen plasmid bLf. Penambahan IPTG dalam mengekspresikan gen bLf dengan konsentrasi yang lebih rendah maupun tinggi tidak berpengaruh pada protein bLf yang dihasilkan. Dengan menurunkan konsentrasi IPTG dari 1 μ M menjadi 0,125 dapat mengurangi biaya produksi. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk penggunaan konsentrasi IPTG yang lebih rendah pada gen plasmid lain.

Kata kunci: Gen, IPTG, konsentrasi, laktoferrin SDS-PAGE

PENDAHULUAN

Laktoferrin (*lactotransferrin*) merupakan glikoprotein pengikat besi. Pada tahun 1939 laktoferrin diisolasi pada susu sapi oleh Soerensen (Superti, 2020). Laktoferrin susu sapi dikenal dengan nama *Bovine Lactoferrin* (bLf) memiliki sebanyak 689 asam amino dengan rantai tunggal. Laktoferrin berfungsi sebagai antimikroba, antibakterial, antivirus antiparasit, antiinflamasi, imunomodulator, proliferasi dan diferensiasi sel (Bukowska-Ośko et al., 2021; Moore et al., 1997). Laktoferrin banyak dikembangkan sebagai bahan vaksin dan obat-obatan (Sebagai salah satu bahan vaksin, gen plasmid *Bovine lactoferrin* (bLf) perlu diekspresikan dengan cara induksi dengan menambahkan *Isopropyl-(β -D-thiogalactopyranoside* (IPTG) untuk membentuk protein rekombinannya. Karena tanpa penambahan IPTG, plasmid *Bovine lactoferrin* (bLf) tidak akan mengekspresikan protein *Bovine lactoferrin* (bLf). (Wang et al., 2019).

Isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside (IPTG) merupakan salah satu inducer untuk memicu ekspresi gen /promotor pada sel prokariot seperti pada bakteri *Escheria coli* (*E. coli*). Penambahan IPTG untuk menginduksi ekspresi gen berbasis plasmid dibawah kendali *lac promotor* adalah metode sederhana. Pada saat penambahan IPTG, akan menyebabkan terjadinya perubahan struktur ikatan protein repressor pada operator gen (Ko et al., 2003).

Dengan demikian pada saat IPTG berikatan dengan protein repressor dengan operator, sehingga tidak akan ada interaksi antara protein repressor dengan operator. Hal inilah yang akan menyebabkan proses transkripsi dan translasi gen target akan dimulai untuk menjadi protein rekombinan (Briand et al., 2016).

Volume IPTG yang digunakan untuk menginduksi ekspresi gen plasmid *Bovine lactoferrin* yang telah disisipkan dengan bakteri *E. coli* tergantung dari volume bakteri yang terdapat didalam media kultur. Tetapi untuk konsentrasi IPTG yang digunakan agar produksi protein *Bovine lactoferrin* (bLf) konsisten belum diketahui. Konsentrasi IPTG yang berbeda umumnya dapat mempengaruhi laju ekspresi dari protein rekombinan. Konsentrasi IPTG dapat mempengaruhi pelipatan protein dan juga dapat mencegah represor lac untuk berikatan dengan operator lac (Nurbayanti, 2020). Oleh karena itu, pada penelitian ini menentukan konsentrasi IPTG yang tepat/optimum dalam mengekspresikan protein *Bovine lactoferrin* (bLf) sebagai bahan baku vaksin.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik dan Biologi Molekuler Hewan FKH UNUD, pada Bulan Juni 2024. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa ini berupa gen plasmid *Bovine lactoferrin* (pET11a-bLf). Penelitian diawali dengan pembuatan media Terrific Broth (TB) sebagai media pertumbuhan bakteri *Bovine lactoferrin* (bLf). Bakteri bLf di kultur dalam media TB diinkubasikan pada incubator shaker selama 48 jam pada suhu 37°C dengan kecepatan 120rpm. Apabila pertumbuhan bakteri bLf baik maka dilanjutkan dengan *Upscaling* pada media TB dengan volume yang lebih besar dan diinkubasikan kembali selama 48 jam pada suhu 37°C dengan kecepatan 120rpm. Selanjutnya kultur bLf diinduksi menggunakan IPTG dengan konsentrasi akhir yang bervariasi yaitu 0,125mM, 0,25mM, 0,5mM dan 1mM. Selanjutnya kembali diinkubasikan pada *shaker incubator* selama 4-6 jam (120rpm, suhu 37°C).

Untuk mengkonfirmasi bahwa ekspresi gen protein bLf berhasil setelah dipicu dengan IPTG dilanjutkan dengan pengujian SDS-PAGE. Pengujian SDS-PAGE diawali dengan memanen kultur bakteri bLf yang ditumbuhkan pada media TB disentrifuse selama 10 menit dalam 6000rpm. Hasil sentrifugasi berupa supernatan dibuang, sedangkan endapannya ditambahkan dengan PBS (*Phospat Buffer Saline*) sebanyak 300µl. *Chamber* disiapkan dan diisi dengan es, kultur yang telah ditambahkan PBS dimasukkan dalam *chamber* dan diultrasonikasi selama 10 menit (dalam 1 menit interval sonikasi 30 detik *run* dan 30 detik *break*) dengan *amplitudo* 50%.

Sampel kultur yang telah diultrasonikasi siap untuk dianalisis dengan metode pengujian elektroforesis SDS-PAGE. Pengujian diawali dengan menambahkan buffer bold SDS-PAGE sebanyak 15µl pada tabung *eppendorf*, kemudian ditambahkan 45µl kultur hasil ultrasonikasi. Tabung *eppendorf* yang telah berisi sampel selanjutnya diberikan perlakuan panas 95°C selama 10 menit. Selanjutnya siap untuk dielektroforesis SDS-PAGE. Pengujian elektroforesis SDS-PAGE diawali dengan pembuatan gel *acrylamide* dan *chamber* SDS-PAGE yang telah berisi buffer.

Setelah gel *acrylamide* sudah siap didalam *chamber* selanjutnya marker disiapkan sebanyak 2,5µl, kontrol BL21 sebanyak 15µl dan sampel sebanyak 15µl. Semua bahan tersebut dimasukkan kedalam masing-masing sumuran yang berbeda, setelah itu dirunning pada mesin SDS-PAGE selama 1 jam dengan voltase 100 Volt. Setelah satu jam kemudian gel diangkat dan dicuci dengan aquadest, kemudian dilanjutkan dengan pencucian menggunakan Coomassie Blue Staining solution (Bio-Rad®) sebanyak 30ml selama 24 jam pada *shaker incubator* (kecepatan 80 rpm dan suhu 37°C). Setelah 24 jam dishaker kemudian ditambahkan destainer (10% Asam asetat, 50%metanol dan 40% aquabidest) diinkubasikan pada *shaker incubator*

selama 1 jam (tiap 30 menit diganti). Gel hasil elektroforesis SDS-PAGE siap diamati diatas Cahaya NeonBox.

Analisis data hasil elektroforesis pengujian SDS-PAGE untuk mengetahui konsentrasi IPTG yang optimum untuk mengekspresikan gen plasmid bLf ditampilkan secara deskriptif. Kontrol BL21 berfungsi sebagai *negative control*. Hasil pita bLf pada marker 70 kDa dari masing-masing perlakuan konsentrasi IPTG dibandingkan. Semakin tebal pita yang dihasilkan, maka semakin tepat/optimum konsentrasi IPTG untuk mengekspresikan gen plasmid *Bovine Lactoferrin* (bLf).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil kultur gen plasmid *Bovine Laktoferrin* (bLf) yang diinkubasinya pada suhu 37°C, kecepatan 120rpm selama 24 jam menunjukkan bahwa media sudah terlihat mulai keruh, yang menandakan bahwa pertumbuhan bLf sudah terjadi tetapi belum maksimal, sehingga perlu ditambahkan lagi masa selama 24 jam. Setelah 48 jam diinkubasikan pada *incubator shaker*, media terlihat lebih keruh dan endapan bakteri lebih banyak. Pertumbuhan bLf sudah maksimal setelah diinkubasikan selama 48 jam, dilanjutkan *diupscaling* (ditumbuhkan kembali) pada media dengan volume yang lebih banyak yaitu 10mL. Dari hasil kultur pada volume media 10ml, endapan bakteri diambil untuk dilakukan uji SDS-PAGE.

Hasil elektroforesis SDS-PAGE terlihat seperti gambar berikut. Dari Gambar 1 dan 2 menunjukkan bahwa pada setiap perlakuan maupun ulangan (bLf T1/K1 dan T2/K2) pada konsentrasi IPTG (0,125µM; 0,25µM; 0,5µM dan 1µM) terdapat adanya protein *Bovine lactoferrin* (bLf) pada ekspresi gen plasmid bLf. Secara visual menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada variasi perlakuan konsentrasi IPTG untuk mengekspresikan gen plasmid bLf. Penambahan IPTG dalam mengekspresikan gen bLf dengan konsentrasi yang lebih rendah maupun lebih tinggi tidak berpengaruh pada protein bLf yang dihasilkan. Karena pada konsentrasi IPTG yang lebih rendah masih bisa mengekspresikan gen bLf dengan baik yang ditandai dengan adanya protein *Bovine lactoferrin* (bLf) dengan berat 70 kDa.

Pembahasan

Pada media kultur bakteri Terrific Broth (TB) menggunakan antibiotika ampicilin sebanyak 1µl untuk setiap 1ml TB. Penggunaan antibiotik pada media kultur bertujuan untuk mencegah tumbuhnya bakteri lain selain bakteri penghasil protein target (kontaminan). Cara kerja ampicilin yaitu menghambat dinding sel dengan cara menyerang peptidoglikan (Anggita et al., 2022). Dalam penggunaan ampicilin juga berdasarkan pada jenis plasmid atau vector yang dapat membawa gen penyandi resistensi terhadap ampicilin seperti *Bovine Laktoferrin* (bLf). Sehingga pada saat proses pertumbuhan bakteri, tidak ada jenis bakteri lain yang dapat tumbuh selain *E. coli* BL21 yang disisipkan dengan vector bLf. Hasil inokulasi menunjukkan adanya perubahan warna media setelah diinkubasi selama 24 jam pada mesin inkubator shaker dengan suhu 37°C dengan kecepatan 120rpm. Tingkat kekeruhan pada media semakin meningkat setelah diinkubasi selama 48 jam, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* BL21 pembawa gen BLf berhasil tumbuh pada media tersebut. Suatu bakteri memerlukan kondisi optimum agar dapat tumbuh dengan baik dipengaruhi oleh faktor suhu dan pH, kemudian faktor kelengkapan nutrisi dari media yang digunakan, dimana bakteri tumbuh dengan baik pada suhu 37°C dan pH 7 (Dey et al., 2020)

Elektroforesis merupakan metode untuk memisahkan fraksi-fraksi yang berdasarkan atas pergerakan partikel koloid yang bermuatan listrik. Pengujian SDS-PAGE adalah teknik untuk

memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuan untuk bergerak dalam arus Listrik (Wiesner et al., 2021) Dari hasil elektroforesis SDS PAGE menunjukkan bahwa pada konsentrasi IPTG yang lebih rendah masih bisa mengekspresikan gen bLf dengan baik. Karena pada konsentrasi IPTG yang lebih rendah masih bisa mengekspresikan gen bLf dengan baik yang ditandai dengan adanya protein *Bovine lactoferrin* (bLf) dengan berat 70 kDa. Isopropil- β -D- tiogalaktopiranosida (IPTG) biasa digunakan sebagai induser molekular yang paling efisien untuk meregulasi aktivitas transkripsi dari promotor (Briand et al., 2016). Induksi ekspresi protein dapat dipicu/diekspresikan dengan menambahkan induser/senyawa penginduksi yaitu IPTG (Daber et al., 2007a), yang memiliki analog strukturnya dengan allolaktosa yang tidak akan dimetabolisme oleh bakteri (Briand et al., 2016). IPTG digunakan sebagai penginduksi gen karena mempunyai tingkat kestabilan dan keefektifan yang tinggi. Karena pada saat IPTG ditambahkan pada media pertumbuhan, repressor akan berikatan dengan operator sehingga RNA polymerase dapat mengenali promotornya dan dapat melakukan proses transkripsi gen (Daber et al., 2007). Penggunaan IPTG memiliki beberapa kerugian yaitu harganya yang cukup mahal dan memiliki toksisitas yang cukup tinggi (Lee & Keasling, 2008), oleh karena itu dalam penelitian ini untuk menghemat biaya produksi sehingga penggunaan konsentrasi IPTG dalam mengekspresikan gen *Bovine Lactoferrin* (bLf) diturunkan dari 1 μ M menjadi 0,125 μ M. Walaupun dengan menurunkan konsentrasi IPTG tersebut, ekspresi LacI dalam proses transkripsi gen *Bovine Laktoferrin* (bLf) tetap berjalan dengan baik sehingga menghasilkan protein. Sistem ekspresi dengan IPTG dosisi rendah cocok diterapkan pada gen target yang berbeda (Tran et al., 2017).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Adapun simpulan yang dapat diambil pada penelitian ini adalah untuk menghemat biaya produksi dalam pembuatan vaksin dapat mengurangi penggunaan IPTG dalam mengekspresikan gen bLf dengan menurunkan konsentrasinya. Pada penelitian ini, hasil elektroforesis SDS PAGE secara visual menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada variasi perlakuan IPTG dalam mengekspresikan gen plasmid bLf. Karena pada konsentrasi IPTG yang lebih rendah masih bisa mengekspresikan gen bLf dengan baik yang ditandai dengan adanya protein *Bovine lactoferrin* (bLf) dengan berat 70 kDa pada konsentrasi IPTG 1 μ M diturunkan menjadi 0,125 μ M. Penambahan IPTG dalam mengekspresikan gen bLf dengan konsentrasi yang lebih rendah maupun lebih tinggi tidak berpengaruh pada protein bLf yang dihasilkan.

Saran

Adapun saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah perlu dilakukan pengujian lanjutan dalam mengekspresikan untuk gen plasmid yang lain dengan konsentrasi IPTG yang rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

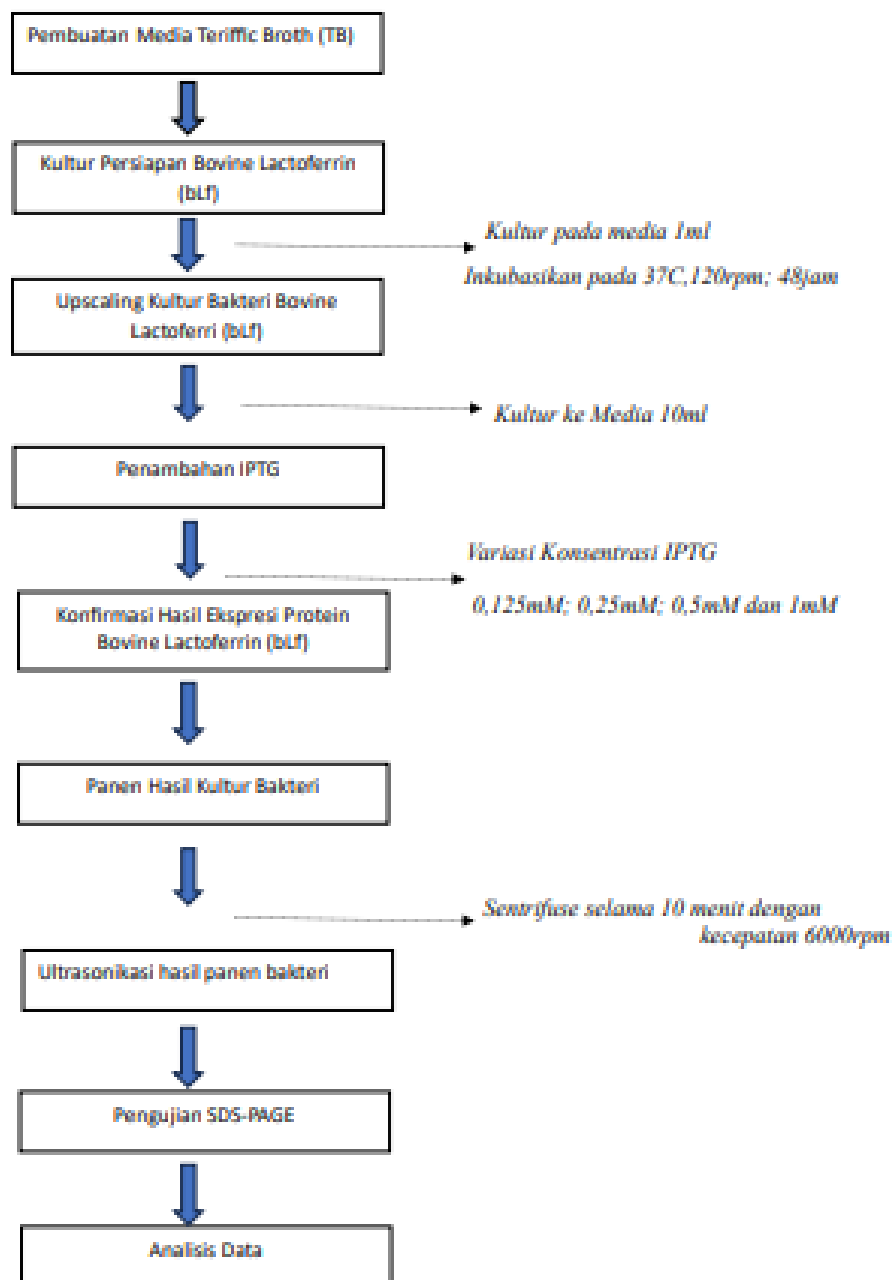
Terimakasih yang sebesar besarnya peneliti sampaikan kepada LPPM UNUD yang telah memberikan hibah Pranata Laboratorium dari dana DIPA PNBPU Universitas Udayana TA-2024, sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Penelitian Nomor: B/255.122/UN14.4.A/PT.01.03/2024, tanggal 17 April 2024.

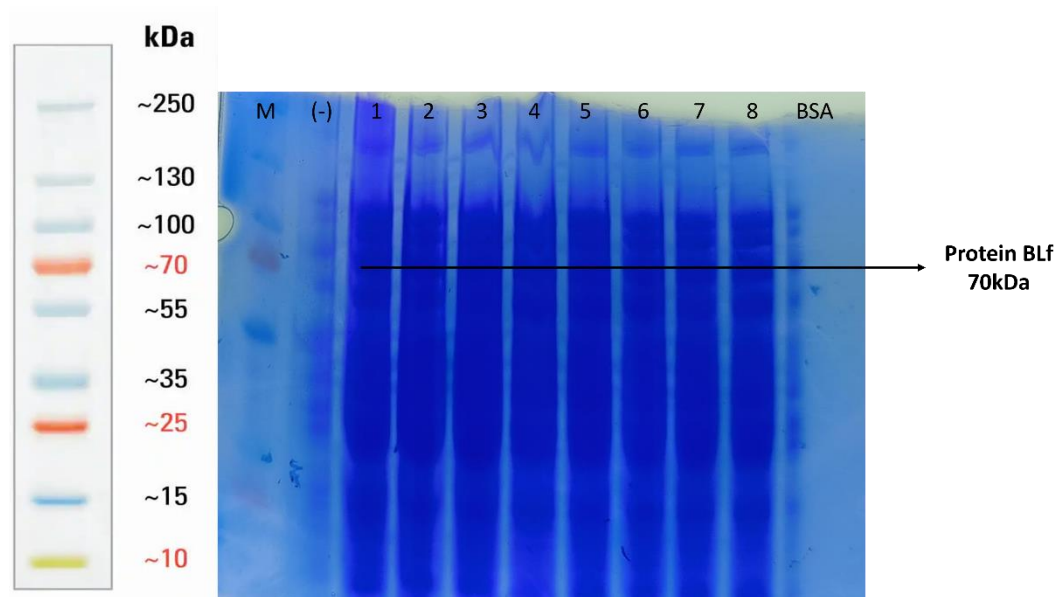
DAFTAR PUSTAKA

Anggita, D., Nurisyah, S., & Wiriansya, E. P. (2022). Mekanisme Kerja Antibiotik: Review Article. *UMI Medical Journal*, 7(1), 46–58. <https://doi.org/10.33096/umj.v7i1.149>

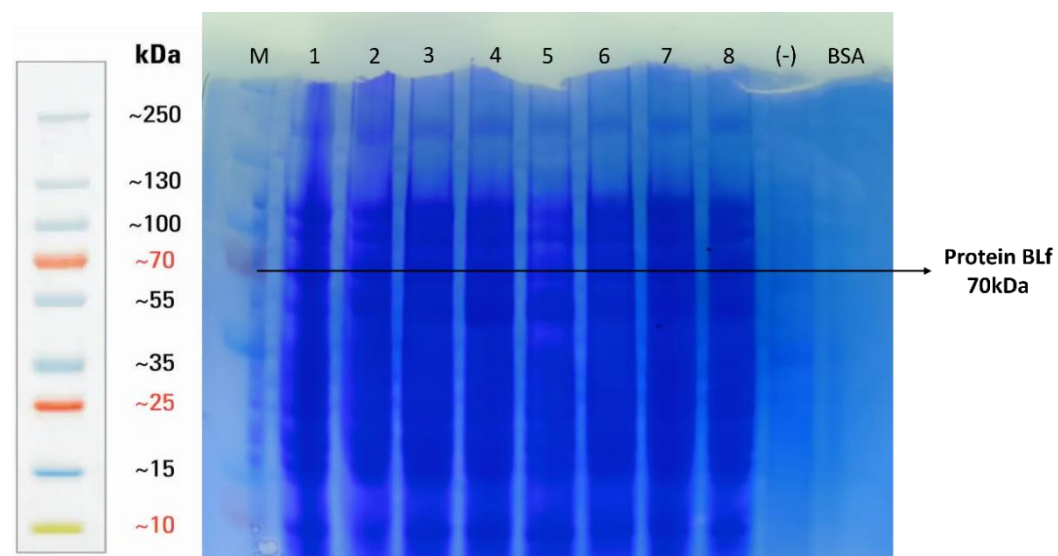
- Briand, L., Marcion, G., Kriznik, A., Heydel, J. M., Artur, Y., Garrido, C., Seigneuric, R., & Neiers, F. (2016a). A self-inducible heterologous protein expression system in *Escherichia coli*. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep33037>
- Briand, L., Marcion, G., Kriznik, A., Heydel, J. M., Artur, Y., Garrido, C., Seigneuric, R., & Neiers, F. (2016b). A self-inducible heterologous protein expression system in *Escherichia coli*. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep33037>
- Daber, R., Stayrook, S., Rosenberg, A., & Lewis, M. (2007a). Structural Analysis of Lac Repressor Bound to Allosteric Effectors. *Journal of Molecular Biology*, 370(4), 609–619. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.04.028>
- Daber, R., Stayrook, S., Rosenberg, A., & Lewis, M. (2007b). Structural Analysis of Lac Repressor Bound to Allosteric Effectors. *Journal of Molecular Biology*, 370(4), 609–619. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.04.028>
- Dey, A., Bokka, V., & Sen, S. (2020). Dependence of bacterial growth rate on dynamic temperature changes. *IET Systems Biology*, 14(2), 68–74. <https://doi.org/10.1049/iet-syb.2018.5125>
- Ko, K. S., Kruse, J., & Pohl, N. L. (2003). Synthesis of isobutyl-C-galactoside (IBCG) as an isopropylthiogalactoside (IPTG) substitute for increased induction of protein expression. *Organic Letters*, 5(10), 1781–1783. <https://doi.org/10.1021/ol034444m>
- Lee, S. K., & Keasling, J. D. (2008). Heterologous protein production in *Escherichia coli* using the propionate-inducible pPro system by conventional and auto-induction methods. *Protein Expression and Purification*, 61(2), 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2008.06.008>
- Moore, S. A., Anderson, B. F., Groom, C. R., Haridas, M., & Baker, E. N. (n.d.). *Three-dimensional Structure of Diferric Bovine Lactoferrin at 2.8 Å Resolution*.
- Nurbayanti, S. H. (n.d.). Tinjauan jurnal strategi penggunaan iptg untuk ekspresi protein rekombinan.
- Superti, F. (2020). Lactoferrin from bovine milk: A protective companion for life. In *Nutrients* (Vol. 12, Issue 9, pp. 1–26). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12092562>
- Tran, D. T. M., Phan, T. T. P., Huynh, T. K., Dang, N. T. K., Huynh, P. T. K., Nguyen, T. M., Truong, T. T. T., Tran, T. L., Schumann, W., & Nguyen, H. D. (2017). Development of inducer-free expression plasmids based on IPTG-inducible promoters for *Bacillus subtilis*. *Microbial Cell Factories*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0747-0>
- Wang, B., Timilsena, Y. P., Blanch, E., & Adhikari, B. (2019). Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 59, Issue 4, pp. 580–596). Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1381583>
- Wiesner, R., Scheller, C., Krebs, F., Wätzig, H., & Oltmann-Norden, I. (2021). A comparative study of CE-SDS, SDS-PAGE, and Simple Western: Influences of sample preparation on molecular weight determination of proteins. *Electrophoresis*, 42(3). <https://doi.org/10.1002/elps.202000199>

RANCANGAN PENELITIAN





Gambar 1. M= Marker ; (-) = Kontrol negatif; 1= bLf T1 0,125μM; 2= bLf K1 0,125 μM; 3= bLf T1 0,25μM; 4= bLf K1 0,25μM; 5= bLf T1 0,5μM; 6= bLf K1 0,5μM; 7= bLf T1 1μM; 8= bLf K1 1μM; BSA



Gambar 2. M= Marker ; 1= bLf T2 0,125μM; 2= bLf K2 0,125 μM; 3= bLf T2 0,25μM; 4= bLf K2 0,25μM; 5= bLf T2 0,5μM; 6= bLf K2 0,5μM; 7= bLf T2 1μM; 8= bLf K2 1μ; (-) = Kontrol negatif; BSA