



**PEMBUATAN ANTIBODI POLIKLONAL PROTEIN *SUCROSE*
TRANSPORTER MENGGUNAKAN ANTIGEN PROTEIN
REKOMBINAN SUT1 DARI TANAMAN
TEBU (*Saccharum officinarum* L.)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

**NURUL HOLIFAH
NIM 071810401096**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2012**

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, skripsi ini saya persembahkan untuk:

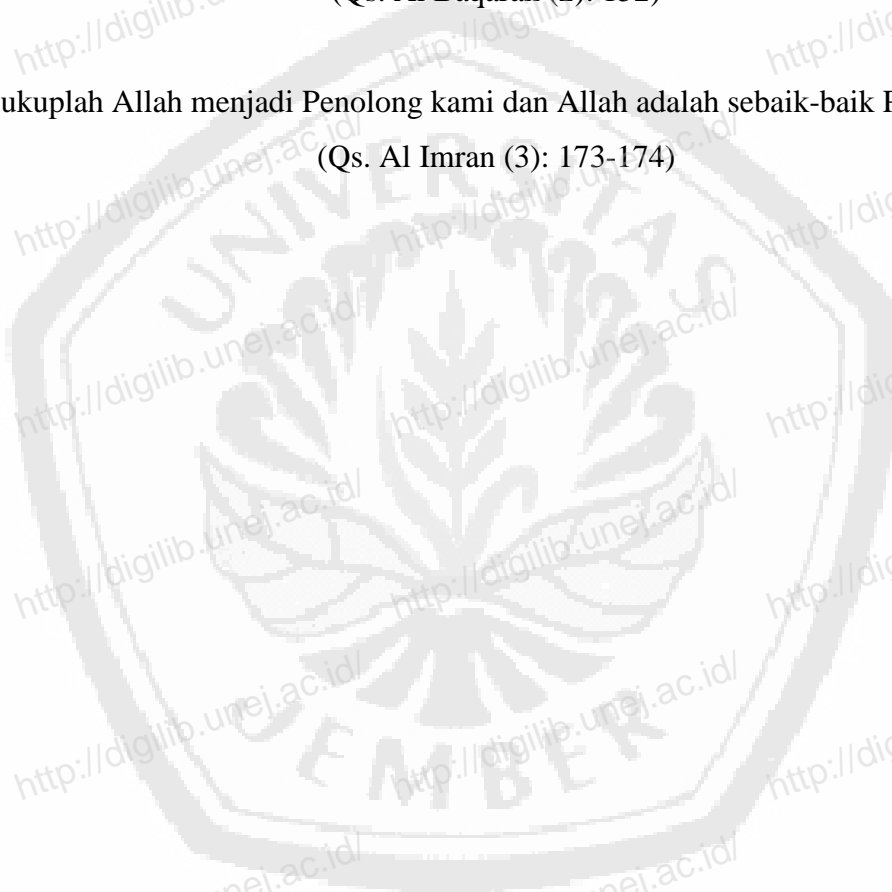
1. Almarhum Ayahanda H. Ashari dan Ibunda Sumi tercinta, terimakasih yang tak terhingga atas segala pengorbanan, kasih sayang dan doa yang terus mengalir;
2. Abah Taksin dan Umi Sofia yang telah merawat dan mendidik penulis sampai saat ini;
3. seluruh keluarga besar yang telah memberikan do'a, dukungan dan semangat untuk menuntut ilmu;
4. semua guru-guru yang telah mendidik dan memberikan ilmunya, terima kasih yang tak terhingga atas ilmu yang telah diberikan;
5. almamater universitas Jember.

“Karena itu, ingatlah kamu kepada-Ku niscaya Aku ingat (pula) kepadamu”

(Qs. Al Baqarah (2): 152)

“Cukuplah Allah menjadi Penolong kami dan Allah adalah sebaik-baik Pelindung”

(Qs. Al Imran (3): 173-174)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nurul Holifah

NIM : 071810401096

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: “*Pembuatan Antibodi Poliklonal Protein Sucrose Transporter Menggunakan Antigen Protein Rekombinan SUT1 dari Tanaman Tebu (Saccharum officinarum L.)*” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 05 November 012

Yang menyatakan

Nurul Holifah
NIM 071810401096

SKRIPSI

**PEMBUATAN ANTIBODI POLIKLONAL PROTEIN *SUCROSE*
TRANSPORTER MENGGUNAKAN ANTIGEN PROTEIN
REKOMBINAN SUT1 DARI TANAMAN
TEBU (*Saccharum officinarum* L.)**

Oleh:

**NURUL HOLIFAH
NIM 071810401096**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Hidayat Teguh Wiyono., M.Pd

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Pembuatan Antibodi Poliklonal Protein Sucrose Transporter Menggunakan Antigen Protein Rekombinan SUT1 dari Tanaman Tebu (Saccharum officinarum L.)* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi Universitas Jember pada:

Hari :
Tanggal :
Tempat : Fakultas MIPA Universitas Jember

Tim Penguji,

Ketua,

Sekretaris,

Prof. Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc
NIP. 19551022198212001

Dr. Hidayat Teguh Wiyono., M.Pd
NIP. 195805281988021002

Anggota,

Penguji I,

Penguji II,

Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, S.Si, M.Si
NIP. 197509132000032001

Sri Mumpuni W.W., S.Pd, M.Si
NIP. 197105101999032002

Mengesahkan,

Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA. Ph.D
NIP. 196101081986021001

RINGKASAN

Pembuatan Antibodi Poliklonal Protein *Sucrose Transporter* Menggunakan Antigen Protein Rekombinan SUT1 dari Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) : Nurul Holifah, 071810401096; 2012, 31 Halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Sucrose transporter (SUT) merupakan protein translokator pada proses translokasi hasil fotosimilasi dalam bentuk sukrosa dari organ *source* menuju organ penyimpanan (*sink*). Protein ini diketahui terdapat pada membran plasma. Berdasarkan analisis filogenetik gen *SUT* dibagi menjadi tiga subfamili antara lain; *SUT1*, *SUT2* dan *SUT4*. *SUT1* memiliki afinitas yang tinggi terhadap sukrosa dan daya muat yang rendah terhadap sukrosa. *SUT2* mempunyai sifat afinitas rendah dan daya muat pengangkutannya tinggi. Sedangkan protein *SUT4* mempunyai afinitas rendah dan daya muat pengangkutan yang rendah

Pentingnya *SUT1* dalam tanaman mendorong banyak penelitian mengarah pada deteksi keberadaan *SUT1* dalam tanaman karena sifat *SUT1* yang paling diantara famili *SUT*. Deteksi protein tanaman dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain: *western blotting*, *double diffusion*, dan imunohistokimia menggunakan antibodi spesifik sebagai *probe*. Antibodi merupakan immunoglobulin yang disintesis oleh hewan sebagai respon terhadap substansi asing yang masuk ke dalam tubuh. Setiap antibodi memiliki afinitas spesifik terhadap materi asing yang memicu sintesis antibodi tersebut. Berdasarkan latar belakang tersebut, pentingnya *SUT1* pada tanaman dan belum tersedianya antibodi *SUT1* maka perlu dilakukan pembuatan antibodi *SUT1* untuk mendeteksi keberadaan *SUT1* dalam tanaman sehingga dapat dipelajari proses translokasi sukrosa. Lebih lanjut penelitian bermanfaat sebagai acuan dalam upaya untuk meningkatkan transport dan kandungan sukrosa pada tanaman.

Pembuatan antibodi dilakukan pada *New Zealand White Rabbit* menggunakan antigen protein rekombinan *SUT1* hasil overekspresi *E. coli* strain BI-21 yang telah

disisipi vektor mengandung cDNA-*SoSUT1*. Antigen dicampur dengan *Freund's* adjuvant dan diimmunisasi secara subkutan. Antibodi yang terbentuk digunakan untuk analisis molekuler tanaman seperti deteksi keberadaan protein SUT1.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa antibodi terdeteksi pada minggu ke-5 setelah imunisasi pertama dan minggu kedua setelah *booster* pertama, namun titer antibodi masih rendah. Titer antibodi meningkat sampai pada minggu ke-8 setelah injeksi pertama dan mengalami penurunan pada minggu ke-9. Deteksi titer antibodi menunjukkan bahwa antibodi yang didapat memiliki titer yang tinggi karena mampu mendeteksi antigen protein rekombinan pada konsentrasi 1 nanogram dengan pengenceran antibodi 1 : 2000. Sedangkan deteksi SUT1 pada tanaman mampu mendeteksi keberadaan SUT1 pada fraksi *insoluble* dengan ukuran ± 75 kDa dan ± 25 kDa.

PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul *Pembuatan Antibodi Poliklonal Protein Sucrose Transporter Menggunakan Antigen Protein Rekombinan SUT1 dari Tanaman Tebu (Saccharum officinarum L.)*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Penelitian ini dibiayai oleh Hibah Fundamental Dirjen Dikti Tahun 2011-2012 dengan judul “Produksi Protein Rekombinan *Sucrose Transporter* melalui Overekspresi cDNA-*SoSUT1* pada Sel Bakteri *Escherichia coli* untuk Pembuatan Antibodi”

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc selaku dosen pembimbing utama dan Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd selaku dosen pembimbing anggota yang dengan penuh kesabaran memberikan pengarahan, bimbingan, dan saran dalam penulisan skripsi ini;
2. Dr.rer.nat Kartika Senjarini dan Sri Mumpuni S.Pd., M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. Dra. Retno Wimbaningrum M.Si selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan arahan dan motivasi selama menjadi Mahasiswa Universitas Jember;
4. Ir. Popy Hartati Hardjo, M.Si, Purnama Okviandari M.P, Dr. Tri Handoyo, Dr. Netty Ermawati dan keluarga besar peneliti Biologi Molekuler yang telah memberikan bantuan, dukungan dan masukan atas jalannya penelitian;
5. rekan kerja dan teman-teman seperjuangan; Triliani Farlisa S.Si, Nina Oktaria S.Si, Ahmad Fudhaili S.Si, Yunianzi Tiara P. Mutik Mahtuhfatul, Yahya

Agung, Aji Baskoro S.P., Anandang Gani S.P., Septyan Cristanto S.P., Aditya Nurmalita, Saniya Rohma, Siti Komariah, adik-adik (Frengky Hermawan, Edia Fitri, Rinda Media dan Hidayah M.N) serta seluruh teman-teman angkatan 2007 terimakasih atas kebersamaan, dukungan dan bantuannya;

6. Zainollah dan Keluarga terimakasih atas dukungan dan semangat yang diberikan;
7. teman-teman Wisma Bunda 57; Dipsy, Sulis, Aminatus zuhra, Inayatul Maula, Triya, Yessi, Lutfi, Elia dan Hydrilla terimakasih atas kebersamaan dan keceriaan yang selama selalu ada di Wisma Bunda 57;
8. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

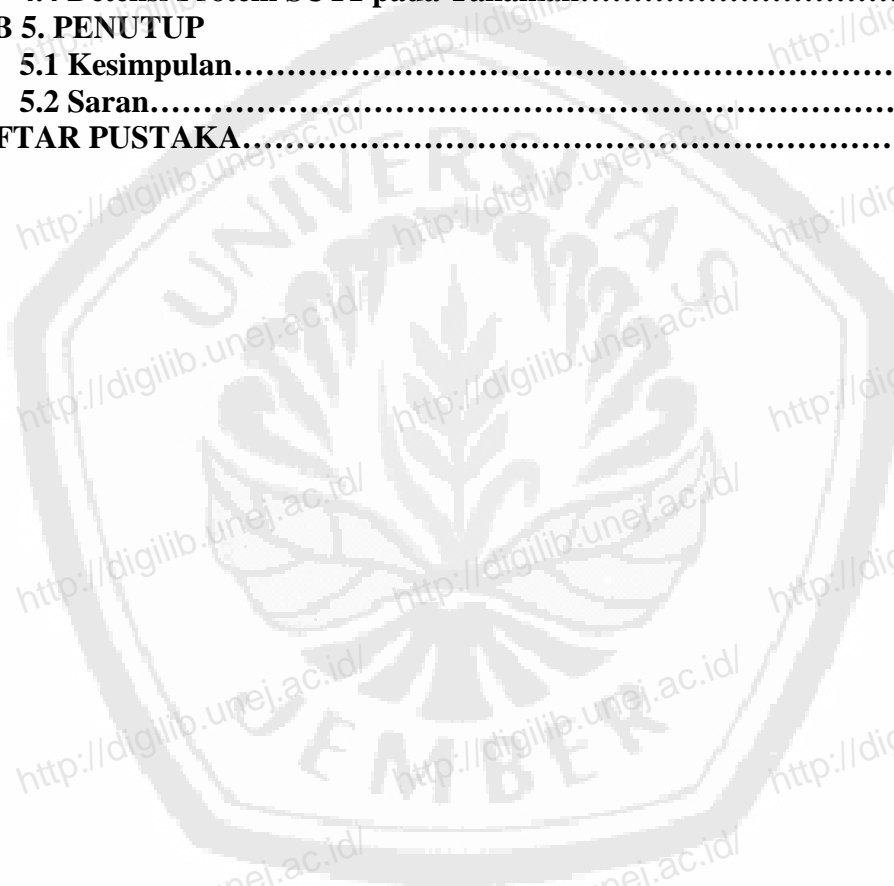
Penulis

Jember, 05 November 2012

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan dan Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Sucrose transporter (SUT)</i>	4
2.2 Protein Rekombinan	5
2.3 Struktur Antibodi	6
2.4 Interaksi Antigen-Antibodi	8
2.5 Pembuatan Antibodi Poliklonal	9
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	11
3.2 Bahan Penelitian	11
3.3 Prosedur Penelitian	12
3.3.1 Preparasi antigen	12
3.3.1.1 Produksi Protein Rekombinan SUT1 pada Sel Bakteri <i>Escherichia coli</i> strain BL21.....	12
3.3.1.2 Ekstraksi dan Solubelisasi Protein Rekombinan SUT1....	12
3.3.1.3 Purifikasi Protein menggunakan Kolom Afinitas Kromatografi Ni-NTA Resin.....	13
3.3.1.4 Analisa SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate- polyacrylamide gel electrophoresis).....	13
3.3.1.5 <i>Electroelution</i> protein.....	14
3.3.1.6 Dialisis.....	14
3.3.1.7 Penentuan Kandungan Protein Terlarut.....	14
3.3.2 Pembuatan Antibodi Poliklonal SUT1 Pada Kelinci	14
3.3.3 Analisis <i>Ouchterlony</i>	15
3.3.4 Ekstraksi Protein SUT pada Tanaman Tebu	16

3.3.5 Analisis <i>Western blotting</i>	16
3.3.5.1 Penentuan Titer Antibodi Poliklonal SUT1.....	16
3.3.5.2 Deteksi Protein SUT1 pada Tanaman Tebu.....	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Preparasi Antigen Protein Rekombinan SUT1	18
4.2 Pembuatan Antibodi Poliklonal SUT1 Pada Kelinci dan Analisa <i>Ouchterlony</i>	20
4.3 Penentuan Titer Antibodi Dengan Analisa <i>Western Blotting</i> ...	23
4.4 Deteksi Protein SUT1 pada Tanaman	24
BAB 5. PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Lokasi <i>sucrose transporter</i> dalam sel.....	5
Gambar 2.2	Model struktur immunoglobulin G (IgG).....	7
Gambar 3.1	Peta konstruk plasmid pET28a yang telah disisipi oleh fragmen cDNA- <i>SoSUT1</i>	11
Gambar 4.1	Purifikasi protein SUT1 menggunakan resin Ni-NTA.....	18
Gambar 4.2	Analisa SDS-PAGE protein hasil elektroelusi.....	19
Gambar 4.3	Uji <i>Ouchterlony</i> dengan antigen protein rekombinan SUT1.....	21
Gambar 4.4	Analisa <i>western blotting</i> antigen protein rekombinan SUT1.....	23
Gambar 4.5	Analisa <i>ouchterlony</i> protein SUT1 dari tanaman tebu.....	24
Gambar 4.6	Analisa <i>western blotting</i> protein SUT1 dari daun tanaman tebu....	25

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Frekuensi injeksi antigen dengan adjuvant dan pengambilan serum	15
Tabel 4.1	Hasil Penentuan Kandungan Protein Rekombinan SUT1 Hasil Purifikasi yang digunakan Sebagai Antigen.....	20
Tabel 4.2	Daftar pembentukan antibodi poliklonal SUT1 berdasarkan uji <i>ouchterlony</i>	22

