



**PRODUKSI PROTEIN REKOMBINAN SUCROSE TRANSPORTER
MELALUI OVEREKSPRESI cDNA-*SsSUT1* PADA SEL BAKTERI
Escherichia coli STRAIN BL21**

SKRIPSI

Oleh
TRILIANI FARLISA
NIM. 071810401081

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



**PRODUKSI PROTEIN REKOMBINAN SUCROSE TRANSPORTER
MELALUI OVEREKSPRESI cDNA-*SsSUT1* PADA SEL BAKTERI
Escherichia coli STRAIN BL21**

SKRIPSI

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

Oleh
TRILIANI FARLISA
NIM. 071810401081

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

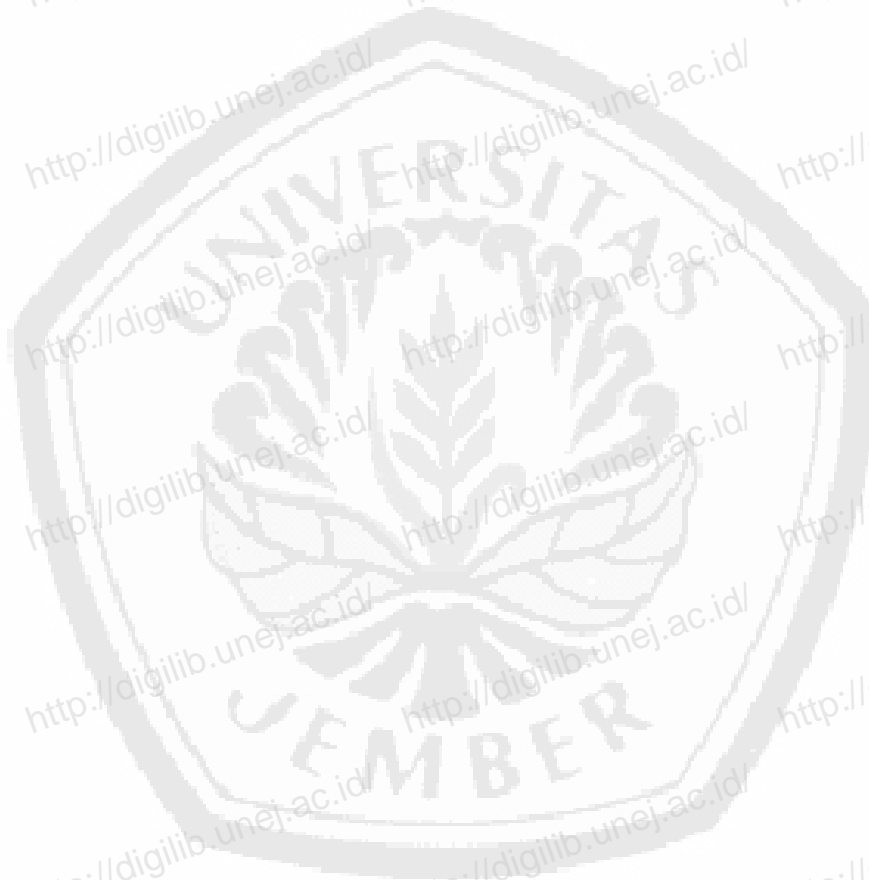
PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang serta Nabi Muhammad SAW junjungan seluruh umat manusia, kupersembahkan skripsi ini kepada:

1. Ayahanda Faruq Makki dan Ibunda Holisah tercinta, kuhaturkan terima kasih yang tak terhingga atas segala pengorbanan, kasih sayang dan doa yang terus mengalir;
2. Ayunda Eva Prima Farlisa, S.Psi dan Dwi Nita Farlisa, S.S , dan kakak ipar Fatikul Himami, M.E.I, atas motivasi, semangat dan dukungan untuk menjadi orang yang lebih baik;
3. Adinda Vero Nancy Yuli A.F. dan Moh. Afridila F. serta ponakanku Khansa Zahabiya H. terimakasih atas semua keceriaan yang diberikan;
4. seluruh keluarga besar yang telah begitu banyak memberikan dorongan dan dukungan dalam setiap kegiatan;
5. semua guru-guru yang telah mendidik dan memberikan ilmu, terima kasih yang tak terhingga atas ilmu yang diberikan;
6. Almamater Unuversitas Jember.

MOTTO

Hai orang-orang yang beriman, jadikanlah sabar dan shalatmu Sebagai penolongmu,
sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar.
(terjemahan Surat Al-Baqarah ayat 153)^{*)}



^{*)}Departemen Agama Republik Indonesia. 2009. Al-Qur'an dan Terjemahan. Jakarta Timur: CV. Pustaka Al-Kautsar.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Triliani Farlisa

NIM : 071810401081

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Produksi Protein Rekombinan *Sucrose Transporter* melalui Overekspresi cDNA-*SoSUT1* pada Sel Bakteri *Escherichia coli* Strain BL21” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun dan 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 mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juni 2012

Yang Menyatakan,

Triliani Farlisa
NIM. 071810401081

SKRIPSI

**PRODUKSI PROTEIN REKOMBINAN SUCROSE TRANSPORTER
MELALUI OVEREKSPRESI cDNA-*SoSUT1* PADA SEL BAKTERI
Escherichia coli STRAIN BL21**

Oleh
TRILIANI FARLISA
NIM 071810401081

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Anggota: Dr. rer.nat Kartika Senjarini, Ssi. M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Produksi Protein Rekombinan *Sucrose Transporter* melalui Overekspresi cDNA-*SoSUT1* pada Sel Bakteri *Escherichia coli* Strain BL21 ” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi Universitas Jember pada:

Hari :

Tanggal :

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Prof.Dr.Bambang Sugiharto,M.Agr.Sc
NIP 195510221982121001

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

Anggota

Penguji I,

Penguji II

Dr. Hidayat Teguh W., M.Pd
NIP 1958052821988021002

Sattya Arimurti, S.P, M.Si
NIP 197403311999032001

Mengesahkan

Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA., PhD.
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

Produksi Protein Rekombinan *Sucrose Transporter* melalui Overekspresi cDNA-*SoSUT1* pada Sel Bakteri *Escherichia coli* Strain BL21; Triliani Farlisa; 071810401081; 2012; 28 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Sucrose transporter protein merupakan suatu protein yang berperan dalam translokasi sukrosa secara aktif di dalam jaringan tanaman. Protein *sucrose transporter* berperan sebagai penentu besarnya sukrosa yang dapat diakumulasi pada tanaman. Protein SUT (*Sucrose transporter*) berdasarkan homologinya diklasifikasikan menjadi tiga famili antara lain seperti SUT1, SUT2 dan SUT4. Perbedaan dari ketiga famili protein SUT berdasarkan afinitas substrat dan fungsi masing-masing SUT. SUT1 memiliki afinitas yang tinggi tetapi daya muat pengangkutannya rendah.

Overekspresi gen SUT1 merupakan salah satu cara untuk meningkatkan translokasi dan akumulasi sukrosa pada tanaman. Hal ini dapat diamati dengan melihat karakterisasi ekspresi protein rekombinan SUT1. Oleh karena produksi, isolasi dan purifikasi dari sel tanaman secara langsung tidak mudah, maka karakterisasi protein SUT1 dapat dilakukan dengan menggunakan organisme model. Tersedianya fragmen cDNA-*SoSUT1* yang disisipkan ke dalam vektor ekspresi pET28a dan ditransformasikan ke dalam bakteri *Escherichia coli* strain BL21, digunakan untuk produksi protein rekombinan SUT1. Pada penelitian ini akan dilakukan optimasi kondisi ekspresi protein rekombinan SUT1, produksi dan purifikasi protein rekombinan SUT1.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konstruk plasmid pET28a-*SoSUT1* berhasil dikonfirmasi keberadaannya dengan analisis enzim restriksi dan PCR di dalam *Escherichia coli* strain BL21. Pengujian ekspresi protein rekombinan SUT1 dapat diekspresikan dengan penambahan 1 mM IPTG dan suhu induksi 37°C. Selanjutnya dilakukan produksi protein rekombinan SUT1. Protein rekombinan SUT1 yang telah diperoleh dipurifikasi dengan menggunakan Ni-NTA resin, dengan konsentrasi 5,75 mg yang berasal dari 2,5 L biakan *Escherichia coli* BL21 yang telah tersisipi pET28a-*SoSUT1*.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Produksi Protein Rekombinan *Sucrose Transporter* melalui Overekspresi cDNA-*SoSUT1* pada Sel Bakteri *Escherichia coli* Strain BL21”. 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 dengan judul Produksi Protein Rekombinan *Sucrose Transporter* melalui Overekspresi cDNA-*SoSUT1* pada Sel Bakteri *Escherichia coli* untuk Pembuatan Antibodi”.

Penyusunan skripsi ini tak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Bambang Sugiharto selaku dosen pembimbing utama dan Dr. rer. nat Kartika Sejarini, S. Si., M.Si selaku dosen pembimbing anggota yang penuh kesabaran memberikan pengarahan, saran dan bimbingan dalam penulisan skripsi ini;
2. Sattya Arimurti, S.P., M.Si. dan Dr. Hidayat Teguh W., M.Pd selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. Asmoro Lalen, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan motivasi dan bimbingan selama menjadi mahasiswa;
4. Purnama Okviandari, M.P., Dr. Ir. Didik Pudji R. M.S., Dr. Evi Hanizar. M. Kes., Dr. Ir. Parawita D. M.P. dan Netty Ermawati, Ph.D. yang telah memberikan dukungan dan masukan atas jalannya skripsi ini;
5. kedua orang tua: Faruq Makki dan Holisah, kakak-kakak: Eva Prima Farlisa, S.Psi dan Dwi Nita Farlisa, S.S , serta kakak ipar Fatikul Himami, M.E.I, adik-adik: adinda Vero Nancy Yuli A.F. dan Moh. Afridila F. serta ponakanku Khansa Zahabiya H. terima kasih atas kasih sayang, perhatian

serta kelulusan doa yang terus mengalir serta segala pengorbanannya selama ini;

6. teman-teman *Sugar Group*: Nina Oktaria, S.Si., Nurul Holifah, Ahmad Fudhaili, S.Si., Mutik Mahtuhfatul, Yunianzi Tiara, Aji Baskoro, S.P., Aditya Nurmalita, Septyan Crstanto, S.P., Anandang Gani, S.P., Hilda Safitri, S.Si., Rikno Harmoko, S.P., Ryza Aditya P., S.Si., dan teman-teman Puri Asri Yunita, Husnul “Tacik”, Fergie, Devi, Sonia, Della, Seli, S. Rohmah, Epin dan Reza rizki febriandy, S.Si, serta teman-teman seluruh angkatan 2007, terima kasih atas perhatian, dukungan dan bantuannya.
7. 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.

Jember, Juni 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR ISTILAH	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat	2
1.3.1 Tujuan	2
1.3.2 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Sucrose Transporter</i> (SUT)	4
2.2 Produksi Protein Rekombinan pada Sel <i>Escherichia coli</i>	5
2.3 Purifikasi Protein Rekombinan <i>Sucrose Transporter</i>	7
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	9
3.2 Alat dan Bahan	9

3.3 Metode Penelitian.....	10
3.3.1 Konfirmasi Keberadaan Konstruk Plasmid pET28a- SoSUT1 pada <i>Escherichia coli</i> strain BL21	10
3.3.1.1 Isolasi DNA Plasmid.....	10
3.3.1.2 Analisis Enzim Restriksi	10
3.3.1.3 Analisis PCR.....	11
3.3.2 Ekspresi Protein Rekombinan SUT 1 pada Sel Bakteri <i>Escherichia coli</i> strain BL21.....	11
3.3.2.1 Pengaruh IPTG Terhadap Ekspresi Protein Rekombinan SUT1	11
3.3.2.2 Ekstraksi Protein Rekombinan SUT1.....	12
3.3.2.3 Pengaruh Perbedaan Suhu Induksi untuk Solubelisasi Protein Rekombinan SUT1.....	13
3.3.3 Produksi dan Purifikasi Protein Rekombinan SUT 1 pada Sel Bakteri <i>Escherichia coli</i> strain BL21.....	13
3.3.3.1 Produksi Protein Rekombinan SUT 1 pada Sel Bakteri <i>Escherichia coli</i> strain BL21.....	13
3.3.3.2 Purifikasi Protein Rekombinan SUT1 dengan kolom afinitas kromatografi Ni-NTA resin.....	14
3.3.4 Elektroforesis Protein.....	14
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Konfirmasi Keberadaan fragmen cDNA-<i>SoSUT1</i> dalam vektor plasmid pET28a.....	16
4.1.1 Analisis Enzim Restriksi dan PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).....	16
4.2 Ekspresi Protein Rekombinan SUT1 pada Sel <i>Escherichia coli</i> strain BL21.....	18

4.2.1 Pengaruh IPTG Terhadap Ekspresi Protein Rekombinan SUT1	18
4.2.2 Solubelisasi Protein Rekombinan SUT1.....	19
4.3 Overproduksi dan Purifikasi Protein Rekombinan SUT1	21
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	24
5.1 Kesimpulan	24
5.2 Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
DAFTAR LAMPIRAN	29



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Mekanisme translokasi sukrosa dari <i>source</i> ke <i>sink</i>	4
Gambar 2.2	Proses purifikasi protein rekombinan yang mengandung 6x-Histag dengan Ni-NTA.....	8
Gambar 3.1	Peta enzim restriksi vektor plasmid pET28a yang telah disisipi oleh fragmen cDNA- <i>SoSUT1</i>	9
Gambar 4.1	Analisis enzim restriksi pada plasmid pET28a- <i>SoSUT1</i> dengan menggunakan enzim retrisi Xba I dan Xho I.....	16
Gambar 4.2	Hasil analisis PCR	17
Gambar 4.3	Hasil pengaruh IPTG (Isopropyl- β -D-thiogalactoside) terhadap ekspresi protein rekombinan SUT1.....	18
Gambar 4.4	Hasil solubelisasi protein rekombinan SUT1 dengan perlakuan suhu.....	20
Gambar 4.5	Hasil SDS-PAGE 15% tahapan purifikasi.....	22
Gambar 4.6	Hasil purifikasi protein rekombinan SUT1 dengan analisis SDS-PAGE 15%.....	23

DAFTAR LAMPIRAN

1. Gambar hasil pengukuran konsentrasi protein rekombinan SUT1 dengan menggunakan analisis Bradford..... 29



DAFTAR ISTILAH

<i>SoSUT1</i>	: <i>Saccharum officinarum Sucrose Transporter</i>
cDNA	: <i>Complementary Deoxyribosenucleic acid</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid</i>
IPTG	: <i>Iso Propyl Thio-β-D-Galactoside</i>
NI-NTA	: <i>Nickel- Nitrilotriacetic Acid</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
NaH ₂ PO ₄	: <i>Natrium dihidrogen fosfat</i>
NaCl	: <i>Natrium Chlorida</i>
SDS-PAGE	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>

