

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL DAN KONGRES INDONESIAN PROTEIN SOCIETY (IPS)

Jember, 6–7 Juli 2012

Tema:

**Eksplorasi dan Inovasi Sumber Protein
untuk Penguatan Sains dan Teknologi**

Editor:

Dr. Ir. Miswar, M.Si.

Netty Ermawaty, SP., M.Sc, Ph.D.

Tri Handoyo, SP., Ph.D

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL DAN KONGRES INDOONESIAN PROTEIN SOCIETY (IPS)

Tema: Eksplorasi dan Inovasi Sumber Protein untuk Penguatan Sains dan Teknologi

Jember, 6–7 Juli 2012

Editor Dr. Ir. Miswar, M.Si.
Netty Ermawaty, SP., M.Sc., Ph.D.
Tri Handoyo, SP., Ph.D.

ISBN 978-979-803684-2

Penerbit



Kartika Mulya (Anggota IKAPI)
Jl. Potro Agung III No. 41C, Surabaya 60135
Tel. (031) 3715941, Fax. (031) 3770687
email: kartikamulya@gmail.com



UNIVERSITAS JEMBER



Indonesian Protein Society

Hak cipta dilindungi undang-undang.

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian/seluruh isi buku ini
tanpa izin tertulis dari penerbit

KATA PENGANTAR

Seminar Nasional dan Kongres Indonesian Protein Society merupakan forum ilmiah yang diselenggarakan oleh Universitas Jember bekerja sama dengan Organisasi profesi *Indonesian Protein Society* (IPS) pada tanggal 6-7 Juli 2012 di Jember. Seminar Nasional IPS dengan tema “Eksplorasi dan Inovasi Sumber Protein Untuk Penguatan Sains dan Teknologi” dimaksudkan sebagai sarana dalam pengembangan keilmuan dan informasi bagi peneliti dibidang protein dari semua aspek ilmu hayati.

Seminar ini menghadirkan beberapa pembicara tamu dari luar dan dalam negeri, antara lain Prof. Dr. Kyun Oh Lee (Korea), Prof. Dr. Young Ryun Chung (Korea), Prof. Dr. Sang Yeol Lee (Korea) Prof. Dr. Toshiharu Hase (Japan), Prof. Tomohiko Yamazaki (Japan), Prof. Dr. Nico Tjandra (USA), Prof. Dr. Maggy T. (IPB) dan Prof. Dr. Bambang Sugiharto (Univ. Jember), serta dihadiri oleh peneliti-peneliti dari berbagai institusi di Indonesia.

Makalah-makalah yang diseminarkan dan terangkum dalam prosiding ini terbagi dalam 3 bidang yaitu Bidang Pertanian dan Pangan, Bidang Kesehatan dan Farmasi serta Bidang Lingkungan dan Industri. Tim editor dalam menyusun prosiding ini tidak mengubah isi makalah, dan hanya melakukan beberapa penyesuaian menurut format redaksional yang telah ditetapkan. Adapun isi dari setiap makalah menjadi tanggung jawab masing-masing penulis.

Kami berharap semoga prosiding ini bermanfaat dan dapat menambah khasanah dalam pengembangan dan penerapan ilmu di bidang protein untuk kemakmuran dan kesejahteraan umat manusia.

Jember, Februari 2013

Tim Editor

Dr. Ir. Miswar, M.Si

Netty Ermawaty, SP., M.Sc, Ph.D

Tri Handoyo, SP., Ph.D.

DAFTAR ISI

	Halaman
Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	iv
Sambutan Ketua Panitia	viii
Sambutan Ketua IPS	ix
Sambutan Rektor Universitas Jember	x
Molecular Machineries for Photosynthetic Bio-Assimilation in Ferredoxin-Dependent Redox Metabolisms Toshiharu Hase	1
Molecular Properties of Redox-Chaperones and Their Physiological Roles Against External Stresses in Eukaryotic Cells Kyun Oh Lee and Sang Yeol Lee	3
N-Glycan Modification and Plant Development Kyun Oh Lee, Rikno Harmoko, Wahyu Indra Dwi Fanata, and Sang Yeol Lee	4
Structural Study Of Actin Cytoskeleton Regulation Nico Tjandra	5
Protein and Peptide Bioactive Maggy Thenawidjaja Suhartono	6
Having Future Sweet with Sucrose-Phosphate Synthase and Sucrose-Transporter Protein Bambang Sugiharto	8
Application of Protein Engineering to Biosensors Tomohiko Yamazaki	10
BIDANG PERTANIAN PANGAN	
Upaya Peningkatan Produksi dan Kualitas Tanaman Jagung Lokal Madura Melalui Seleksi Daur Ulang Fenotipe Sri Hartatik dan Zahratas Sakdijah	13
Pembuatan Antibodi Poliklonal Menggunakan Antigen Protein Rekombinan <i>Sucrose Transporter</i> (sut1) Popy Hartatie Hardjo, Nurul Holifah, Triliani Farlisa, Tri Handoyo, dan Bambang Sugiharto	19
Analisis lokasi gen carbonic anhydrase (MVFACS, MAFACS dan LVFACS) pada <i>Flaveria bidentis</i> Didik Pudji Restanto	24
Peranan <i>Synechococcus</i> sp. sebagai biofertilizer untuk meningkatkan kadar protein biji tanaman kedelai (<i>Glycine max</i> L. Merrill) R. Soedradjad dan Anang Syamsunhar	28

Formulasi <i>Filler</i> dan Uji Kinerja Enzim Bromelin untuk Pengempuk Daging (<i>Meat Tenderizer</i>) Ika Rahmatul Layly, Deden Rosid Waltam, Ayi Mufti dan Ruby Setiawan	113
Pengujian Nilai Kualitas Protein Hidrolisat Kacang Hijau dengan Metode NPU (<i>Net Protein Utilization</i>) Secara <i>In Vivo</i> Galih Kusuma Aji, Noer Lally, Alit Pangestu, Sri Peni Wijayanti, dan Fajarwati Utami	121
Metode Sterilisasi Permukaan Yang Murah Untuk Eksplan Daun Majegau (<i>Dysoxylum caudostachyum</i> Miq.) Pada Kultur <i>In Vitro</i> Novi Harun AR	127
DEPARTEMEN KESEHATAN DAN FARMASI	
Cloning And <i>In Vitro</i> Antimycobacterial Activity Of Lectin Protein in Combination with Streptomycin To Increase Sensitivity Against <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Ahyar Ahmad and Muh. Nasrum Masi	135
Isolasi dan Karakterisasi Protein Bioaktif dari Beberapa Jenis Spons sebagai Agent Antimikroba Audi Ilham Latunra dan Ahyar Ahmad	145
Spesifisitas Antibodi <i>hP</i> -116kDa Hasil Induksi Protein Non Kinase Membran Spermatozoa Manusia Pada Jaringan Somatik dan Reproduksi Manusia Umie Lestari	150
Identifikasi Protein Spesifik <i>Insulin-Like Growth Factors (IGFs)</i> pada Ayam Broiler sebagai Bahan Bioaktif Rosa Tri Hertamawati	155
Kajian Potensi Alergenisitas Nira Tebu Produk Rekayasa Genetika (PRG) NX1 4T dan NX1 6T Melalui Uji Praklinik Pada Hewan Coba Tikus Putih Nurmalasari, Natalia Tri Astuti, Agus Heri Setyo Wahyudi, Herra Studlawan, Tutik Sri Wahyuni	162
POSTER: Structure of 3-Ketosteroid Δ^1 -Dehydrogenase From <i>Rhodococcus erythropolis</i> SQ1: Where Pad Meets Tyrosines Ali Rohman, Niels van Oosterwijk and Bauke W. Dijkstra	168
Respon Antibodi Manusia terhadap Protein Salivary Gland (SG) <i>Aedes aegypti</i> Berpotensi sebagai Indikator Resistensi terhadap Demam Berdarah (DBD) Rike Oktarianti, Syubbanul Wathon, Dwi Esti F dan Kartika Senjarini	169
Efek Penghambatan Ekstrak Kelenjar Saliva Nyamuk Anopheles terhadap Derajat Parasitemia pada Mencit Model Untuk Malaria Yunita Armiyanti, Ina Soraya, Vinny dan Kartika Senjarini	176
Kajian Protein Alergi dan Fisiologi Biji Kakao Selama Proses Pra-Perkecambahan Tri Handoyo, Mega Kartika Suri, , Irwan Sadiman, Denna Eriani	183
Analisis Bioinformatika Motif Residu Lestari Domain $(\beta/\alpha)_5$ -Barrel GH51 A-L-Arabinofuranosidase Yang Berperan Pada Spesifitas Substrat Melalui Interaksi Sidik Jari Gugus Arabinofuranosil Much Zaenal Fanani, One Asmarani, Hery Suwito, Ni Nyoman Tri Puspaningsih	188
Isolasi Gen Pengkode Protein Antioksidan (AOP) pada Biji Melinjo (<i>Gnetum gnemon</i>) Arya Bagus Boedi Iswanto dan Tri Agus Siswoyo	193

Identifikasi Protein Spermatozoa dan Cairan Lumen pada Epididimis Sapi, Kaitannya dengan Maturasi Spermatozoa Mahrani dan Della Ratna Kartini	196
Diskriminasi Daun Gandarusa (<i>Justicia gendarussa</i> Burm.f.) Asal Surabaya, Jember dan Mojokerto Menggunakan Metode Elektroforesis Moch. Amrus Hidayat, Tri Handoyo dan Bambang Prajogo E.W.	205
Peningkatan Kemampuan Antioksidan Pada Biji Melinjo (<i>Gnetum Gnetum</i>) dengan Metode Enzimatik Tri Agus Siswoyo	210
Skrining Enzim Fibrinolitik dari Bakteri Tanah Madaniyah, Sattya Arimurti dan Evi Umayah Ulfa	216
Transformasi Gen Sy86 dalam Vektor Ekspresi pET TOPO 200 untuk Mendapatkan Protein Rekombinan sY86 Evi Hanzar	222
Aktivitas Trombolitik dan Antikoagulan Ekstrak Jamur Tiram Putih (<i>Pleoturus ostratus</i>) Secara <i>In Vitro</i> Khilwiyah Eka Putri, Evi Umayah Ulfa dan Sattya Arimurti	226
Isolasi Bakteri Penghasil dan Karakterisasi Enzim Dekstranase Miswar	233
IZANG LINGKUNGAN DAN INDUSTRI	
Produksi dan Aplikasi Kitinase Dari <i>B. licheniformis</i> HSA3-1a dalam Menghidrolisis Kitin dari Limbah Udang dan Dinding Sel Jamur <i>Ganoderma</i> sp. Hasnah Natsir, Abd. Rauf Patong, Maggy T. Suhartono dan Ahyar Ahmad	239
Pembuatan Keju Kedelai (<i>Soycheese</i>) Rendah Garam dengan Menggunakan <i>Rhizopus oligosporus</i> Neny Novita Yuliany, Eka Ruriani dan Nurhayati	244
Identifikasi Tanaman Potensial Penghasil Bahan Aktif Tanin Protein Komplek untuk Penghambatan Aktivitas Alpha Amylase Asriyah Firdausi dan Tri Agus Siswoyo	251
Kloning Gen B-Endoxilase Asal Mikroorganisme dalam Abdominal Rayap A.A. Istri Ratnadewi, Ni Nyoman Tri Puspaningsih, Wuriyanti Handayani dan Previta	255
Analisis <i>Scanning Electron Microscope</i> Terhadap Perubahan Struktur Permukaan Bonggol Kelapa Sawit Akibat Aktivitas Xilanase Dan Selulase Anita Kurniati dan Ni Nyoman Tri Puspaningsih	263
Profil Aktivitas Xilanase dalam Ionik Liquid Ika Oktavianuwati	267
Skrining Bakteri Xilanolitik Asal Kulit Buah Kakao Esti Utarti, Audiananti Meganandi Kartini dan Sattya Arimurti	271
Optimasi Ekstraksi Enzim Bromelin Berbahan Dasar Limbah Nanas Lokal Subang Ika Rahmatul Layly, Deden Rosid Waltam, Ayi Mufti dan Ruby Setiawan	279

Transformasi Gen *SoSUT1* Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* dan Eksplan Tunas Lateral

Anandang Ganni Wiyono¹, Nina Oktaria², Netty Ermawati³, Nurmalasari Darsono⁴,
Tri Handoyo¹ dan Bambang Sugiharto^{2*}

1) Fakultas Pertanian Universitas Jember, 2) Fakultas MIPA Universitas Jember, 3)
Laboratorium BIOSAIN Politeknik Negeri Jember, 4) Laboratorium Bioteknologi PT.
Perkebunan Nusantara XI Surabaya

*) Corresponding author, email : bbsghrt@yahoo.com

ABSTRAK

Gen *SoSUT1* merupakan gen pengkode protein *sucrose transporter* (SUT1) yang berperan dalam proses translokasi sukrosa dari *source* ke *sink*, dan memiliki afinitas yang tinggi terhadap sukrosa. Overekspresi gen *SoSUT1* pada tanaman tebu diharapkan dapat meningkatkan translokasi sukrosa dalam hubungannya dengan peningkatan kandungan sukrosa. Overekspresi dilakukan dengan cara transformasi melalui *Agrobacterium tumefaciens* strain GV 3101 yang mengandung konstruk gen *SoSUT1* dan gen penyandi ketahanan terhadap antibiotik *hygromycin* (*hptII*), adapun eksplan yang digunakan dalam transformasi adalah tunas lateral tebu. Analisis tanaman transforman dengan PCR menggunakan pasang primer *hptII* dapat membuktikan keberadaan gen *hptII* yang ditransformasikan ke dalam genom tanaman sebagai *selectable marker*. Hasil analisis PCR akan menunjukkan munculnya pita DNA pada tanaman transforman yang memiliki ukuran sesuai dengan panjang primer *hptII* yang digunakan sebesar 470 bp yang menunjukkan bahwa gen yang di transformasikan telah terinsersikan kedalam genom tanaman.

Kata kunci: Tebu, Overekspresi gen *SoSUT1*, *hptII*

PENDAHULUAN

Sukrosa dan pati merupakan produk utama fotosintesis (Buchanan *et al.*, 2000). Sukrosa ditranslokasikan dari jaringan asal (*source*) menuju jaringan penyimpanan (*sink*) melalui simplas maupun apoplas (Truemit, 2001). Transport sukrosa dipercantarkan oleh protein pentransport sukrosa yang terletak di membran plasma (Rae *et al.*, 2005). Protein pentransport sukrosa disebut sebagai *sucrose transport protein* (SUT), disandikan oleh gen yang disebut sebagai gen *SUT* (Aoki *et al.*, 2003). Ekspresi dari gen *SUT* dapat berpengaruh terhadap aktivitas transport sukrosa (Shiratake, 2007). Penelitian mengenai SUT pertama kali dilakukan oleh Riesmeier *et al* (1992) dengan mengisolasi cDNA SUT dari bayam. Sejak penelitian

Riesmeier, banyak dilakukan penelitian mengenai SUT untuk mempelajari peranan *sucrose transporter* pada tanaman, misalnya pada padi (Aoki *et al.*, 2003), kentang (Krugel *et al.*, 2008), dan tebu (Rae *et al.*, 2005). Pada tanaman kentang, overekspresi gen *SUT* dapat meningkatkan translokasi sukrosa dan hasil tanaman (Riesmeier *et al.*, 1994).

Transformasi merupakan suatu upaya untuk memanipulasi sifat genetik dengan cara mentransfer gen-gen asing yang diisolasi dari tanaman, virus, bakteri atau hewan ke dalam inti sel tanaman (Arenceibia *et al.*, 1998). Metode transformasi gen pada tanaman paling banyak menggunakan *A. tumefaciens*. Penggunaan *A. tumefaciens* dalam transformasi genetik mampu menunjukkan integrasi *single copy* gen kedalam genom

tanaman lebih stabil. Sehingga sedikit sekali terjadinya ketidakstabilan gen serta *gen silencing* (Hansen *et al.*, 1994).

BAHAN DAN CARA KERJA

Eksplan tunas lateral tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) dan *Agrobacterium tumefaciens* strain GV 3101. Isolasi DNA Genom dari daun tanaman tebu menggunakan metode Sambrook *et al* (1998), hasil isolasi DNA genom selanjutnya dilakukan analisis PCR. Bahan kimia yang digunakan diperoleh dari Sigma (Amerika) dan Merck (Jerman).

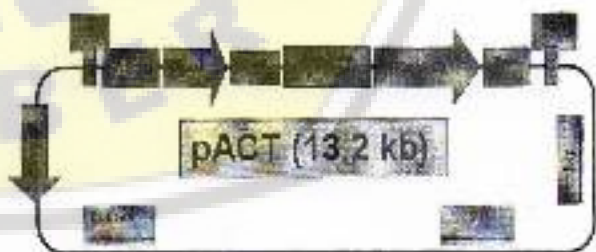
Isolasi DNA Genom dan Polimerase Chain Reaction (PCR)

Isolasi DNA genom dilakukan pada daun tebu. Ekstraksi dilakukan dengan menggerus 0,5 gram digerus dengan N_2 sampai halus. Serbuk daun dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse. Tambahkan 8 ml buffer ekstraksi, 10 μ l betamercapto dan 400 μ l SDS 20%. Vortex sampai homogen, inkubasi pada suhu 65°C selama 10 menit. Tambahkan 2,6 ml Potasium Acetat 5M, swirling. Inkubasi dalam es selama 20 menit, disentrifuse 10.000 rpm, 4°C , selama 20 menit. Ambil supernatan tambahkan 5 ml isopropanol, dibolak-balik perlahan. Jika DNA tampak melayang-layang, dikeringkan dan dilarutkan pada 600 μ l buffer TE. Bila tidak melayang, inkubasi pada suhu -20°C selama 30 menit. Sentrifuse 10.000 rpm, 4°C , selama 10 menit. DNA yang melayang layang diambil dengan pipet dan dikeringkan dengan vacuum. Tambahkan 600 μ l buffer TE.

Purifikasi DNA. Tambahkan 5 μ l RNA ase, inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Tambahkan PCI 700 μ l, kemudian divortex. Sentrifuse 12.000 rpm, 4°C selama 10 menit, tambahkan kloroform, kemudian sentrifuse kembali. Pindahkan larutan bagian atas, tambah 0,8 vol isopropanol dan 0,2 vol sodium asetat 3M, campur/divortex dan inkubasi pada suhu -20°C selama 1 jam. Sentrifuse 10.000

rpm, 4°C selama 10 menit. Pellet dicuci dengan 1 ml ethanol 70%, kemudian disentrifuse lagi. Pelet DNA dikeringkan dengan vacuum, tambahkan 200 μ l buffer TE. Estimasi kandungan DNA dengan spektrofotometer.

DNA yang memiliki konsentrasi 0,1-0,5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ dan kemurnian berkisar 1,7 dianalisa PCR. PCR menggunakan 2xPCR mastermix (Intron) menggunakan primer *hptII*. Adapun sekuen primer *hpt-F* (5'-CCGCAAGGAATCGGTCAATA-3) dan sekuen primer *hpt-R* (5'-CCCAAGCTGCATCATGGAAA-3) dengan ukuran 470 bp. PCR dilakukan dengan menggunakan reagen buffer PCR yaitu 100 mM tris-HCl, 100 mM MgCl_2 , 500 mM KCl pH 8,3 ditambah dNTP, air steril, Taq DNA polimerase, Primer dan DNA template. Total volume 20 μ l dengan larutan terdiri dari 2x PCR Master Mix (Intron) 10 μ l, masing-masing primer (forward dan reverse) 1 μ l, template genom 2 μ l dan H_2O 7 μ l. PCR dilakukan sebanyak 30 cycle meliputi tahapan predenaturasi 95°C selama 4 menit, denaturasi 95°C selama 30 detik, annealing 58°C selama 30 menit, elongation 72°C selama 2 menit dan final elongation 72°C selama 7 menit. Hasil PCR dielektroforesis menggunakan gel agarose 1%. Gambar 1 adalah *A. tumefaciens* strain GV 3101 yang mengandung plasmid pACT-SoSUT1.



Gambar 1. peta konstruk pACT yang telah disisipi gen *Sucrose Transporter1 (SUT1)* (Sugiharto *et al.*, 2010).

HASIL

Efisiensi Transformasi Menggunakan *A. tumefaciens* yang Mengandung Konstruk pAct-SoSUT1

Berdasarkan konstruk plasmid pAct-SoSUT1 yang digunakan dalam transformasi pada tanaman tebu, terdapat gen ketahanan terhadap antibiotik *hygromycin*. Tanaman transforman diseleksi dalam media tumbuh garam mineral *Murashige Skoog* dan ditambahkan antibiotik *hygromycin* 10 ppm. Eksplan transforman diseleksi selama 5 kali siklus (masing-masing siklus 3-4 minggu).

	Siklus 1 Seleksi	Siklus 2 Seleksi	Siklus 3 Seleksi	Siklus 4 Seleksi	Siklus 5 Seleksi
Explan	27	27	27	27	27
Survival	2	2	5	5	4

Tabel 1. Efisiensi Transformasi tanaman tebu menggunakan *A. tumefaciens* yang mengandung konstruk plasmid pAct-SoSUT1 dan Eksplan Tunas Lateral.

Analisa PCR DNA Genom Tanaman Tebu Transforman

Tanaman transforman yang dihasilkan 4 line (line 1, 2, 3 dan 4), line 2 memiliki anakan line 18 dan 20 begitu juga dengan line 3 memiliki anakan line 5.

Analisa PCR DNA genom daun tebu dilakukan menggunakan dua primer yaitu primer *hptII* (Gambar 2) dan memberikan hasil adanya pita DNA yang besarnya sama dengan pita DNA kontrol positifnya (DNA plasmid pAct-SoSUT1).



Gambar 2. Hasil PCR DNA genom tebu PRG dengan menggunakan primer *hptII* (470bp), line 1-20 adalah tanaman transforman, pAct adalah kontrol positif

plasmid pAct-SoSUT1 dan WT adalah kontrol negatif. Tanda panah merupakan pita DNA hasil PCR.

PEMBAHASAN

Efisiensi Transformasi Menggunakan *A. tumefaciens*

Tabel 1. menunjukkan persentasi eksplan tebu yang terinsersi genomnya oleh bagian Ti-plasmid *A. tumefaciens* yang mengandung gen ketahanan terhadap *hygromycin* dan gen interest *SoSUT1* akan tetap hidup dan berkembang pada tahapan seleksi menggunakan *hygromycin*. Media eliminasi hanya mengandung antibiotik *cefotaxime* dengan konsentrasi 500 mgL⁻¹ dan garam mineral MS. Penggunaan antibiotik *cefotaxime* diharapkan dapat meningkatkan penghambatan biosintesis di dinding sel bakteri dengan mengikat satu atau lebih penicillin pengikat protein (PBPs). Untuk penambahan antibiotik *hygromycin* 10ppm diharapkan dapat menyeleksi tanaman putative yang terinsersi Ti-plasmid bakteri. Hasil menunjukkan adanya tanaman putative transforman yang didapatkan setelah seleksi ke-5 dengan persentase 7% (4 planlet) dari 57 eksplan yang ditransformasikan.

Analisa PCR

Analisa PCR didahului proses isolasi DNA genom daun tebu. Isolasi menggunakan nitrogen cair untuk membantu memecahkan dinding sel tanaman agar dapat mengisolasi DNA yang berada dalam inti sel. Dengan teknik isolasi yang dilakukan diperoleh konsentrasi DNA sebesar 0,2 sampai 1 µg.µl⁻¹ dan kemurnian berkisar 1,7 setelah diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV/VIS pada panjang gelombang 260/280 nm. Primer yang digunakan adalah *hptII*. Penggunaan primer mengacu pada peta konstruk gen yang ditransformasikan. Pada penelitian ini promotor DNA target dan gen penyandi

ketahanan terhadap antibiotik digunakan sebagai primer.

Berdasarkan hasil analisis PCR diperoleh 5 tanaman tebu transforman yang positif mengandung gen *SUT1*. Hasil analisis PCR dari DNA genom sampel nomor 1, 2, 4, 18 dan 20 berhasil mengamplifikasi fragmen DNA dengan panjang \pm 470 bp (Gambar 2) yang sesuai dengan primer *hptII* yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa efektifitas transformasi gen *SUT1* menggunakan konstruk plasmid pATC-*SuSUT1* yang dikendalikan oleh promoter *Rice-Actin* sebesar 7%.

Pada sampel line 3 dan 5 tidak terdeteksi keberadaan pita DNANYa melalui elektroforesis agarose 1%. Hal ini menunjukkan tanaman tersebut tidak transforman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh MP3EI (Masterplan Percepatan dan perluasan Pembangunan Ekonomi Indonesia) dan PT. PERKEBUNAN NUSANTARA XI (PERSERO) tahun 2012 atas nama BS.

DAFTAR PUSTAKA

Aoki N, Hirose T, Scofield GN, Whitfield PR, Furbank RT. 2003. The sucrose transporter gene family in rice. *Plant and Cell Physiology*. 44: 223-232.

Arceneibia, A.D., Elva R, Carmona, Pillar Tellez, Ming-Tsair Chan, Su-May Yu, Luis E Trujillo And Pedro Oramas (1998). An Efficient Protocol for Sugarcane (*Saccharum spp. L.*) Transformation Mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Transgenic Research*. 7: 213-222.

Buchanan, B. B., Gruissem, W., and Jones, R. L. 2000. *Biochemistry and molecular biology of plant*. United States America.

Bradford, MM. 1976. A Rapid and sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantitative of Protein Utilizing The Principle of Protein Dye Binding. *Anal Biochem*, 72: 248-254.

Bruncau, J.M., A.C. Worrel, B. Cambow, D. Lando and T.A. Voelker. 1991. *Sucrose Phosphate Synthase*, a Key Enzim for Sucrose Biosynthesis In Plant. *Plant Physiol*. 89 : 518-524

Hansen, G., A. Das, and M.-D. Chilton. 1994. Constitutive expression of the virulence genes improves the efficiency of plant transformation by *Agrobacterium*. *Plant Biology*. 91:7603-7607.

Krugel U, Veenhoff LM, Langbein J, Wiederhold E, Liesche J, Friedrich T, Grimm B, Martinoia E, Poolman B, Kuhn C. 2008. Transport and sorting of the *Solanum tuberosum* sucrose transporter SUT1 is affected by posttranslational modification. *Plant Cell*. 20: 1-17

Laemmli, UK. (1970) Cleavage of a structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature* 227:680-685.

Rae, A. L., Perroux, J. M., dan Grof, C. P. L. 2004. Sucrose Partitioning Between Vascular bundles and Storage Parenchyma in The Sugarcane Stem: A Potential Role for The ShSUT1 Sucrose Transporter. *Planta*, 220: 817-825.

Riesmeier, J. W., Willmitzer, L., dan Frommer, W. B. 1992. Isolation and Characterization of A Sucrose Carrier cDNA from Spinach by Functional Expression in Yeast. *The EMBO Journal*, 11: 4705-4713.

Riesmeier, J. W., Willmitzer, L., dan Frommer, W. B. 1994. Evidence for An Essential Role of The Sucrose Transporter in Phloem Loading and Assimilate Partitioning. *The EMBO Journal*, 13: 1-7.

- Shiratake, K. 2007. Genetics of Sucrose Transporters in Plants. *Genes, Genomes, and Genomics*.
- Sambrook, J., E.F. Fritsh and T. maniatitis. 1989. Molecular Cloning a laboratory Manual. *Cold Spring Harbor Laboratory Press, America*, 18.6
- Sugiharto B. 2010. Peningkatan Produksi Gula Melalui Overekspresi Gen untuk *Sucrose-Phosphate Synthase* dan *Sucrose Transporter* Protein pada Tanaman Tebu. Tidak dipublikasikan. Laporan Akhir Hibah Kompetensi Tahun 2010.
- Truernit, E. 2001. The Importance of Sucrose Transporters. *Plant Physiology*, **11**: 169-171.
- Zhu, Y. L., E. Komor and P. H. Moore. 1997. Sucrose Accumulation in The Sugarcane Stem is Regulated by The Difference Between The Activities of *Soluble Acid Invertase* and *Sucrose Phosphate Synthase*. *Plant Physiol*, **115**: 609-616.

