

**LAPORAN HASIL PENELITIAN
FUNDAMENTAL**



**Konstruksi Dan Analisis Ekspresi Gen Sucrose Transporter (SUT) Menggunakan Kapang
(*Saccharomyces Cerevisiae*)**

Peneliti :
Slameto
Tri Handoyo
Didik Pudji Restanto

(Sumber Dana : Penelitian Fundamental Tahun 2010, DIPA Universitas Jember Nomor: 0106/023-04.2/XV/2010, Tanggal 31 Desember 2009)

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2010

Katalog Abstrak : A2010091

Konstruksi Dan Analisis Ekspresi Gen Sucrose Transporter (SUT) Menggunakan Kapang (*Saccharomyces Cerevisiae*)

(Sumber Dana : Penelitian Fundamental Tahun 2010, DIPA Universitas Jember Nomor: 0106/023-04.2/XV/2010, Tanggal 31 Desember 2009)

Peneliti : Slameto, Tri Handoyo, Didik Pudji Restanto (*Fakultas Pertanian Universitas Jember*)

ABSTRAK

Protein *sucrose transporter* merupakan protein yang berperan penting dalam akumulasi sukrosa pada tanaman. Sukrosa banyak digunakan tanaman sebagai bahan yang ditimbun untuk cadangan makanan. *S. cerevisiae* digunakan sebagai media ekspresi gen telah banyak dilakukan pada penelitian sebelumnya. Penggunaan yeast dalam pengujian *sucrose carrier* semakin berkembang ketika ditemukannya yeast transforman yang memiliki karakter tidak mampu menghasilkan invertase. Invertase merupakan enzim yang diproduksi oleh yeast untuk memecah molekul gula menjadi monosakarida yang dapat langsung digunakan untuk metabolisme. Penggunaan yeast diantaranya *S. cerevisiae* sebagai media ekspresi secara luas didasarkan atas berbagai keuntungan yang diperoleh diantaranya adalah: pertumbuhan sel yang cepat, transformasi cDNA dapat dilakukan dengan mudah dan efisien serta proses preparasi untuk pengukuran *sugar uptake* dapat dilakukan dengan cara yang sederhana.

Hasil sequencing cDNA SoSUT1 menunjukkan berdasarkan tingkat homologi dapat diketahui bahwa antara nukleotida SUT1 hasil kloning dari tanaman tebu dengan nukleotida ShSUT1 tanaman tebu hibrida (nomer aksesori AY780256) memiliki tingkat homologi 99%, dengan tanaman padi (nomer aksesori BAA24071) homologi 84% dan dengan DNA tanaman jagung (nomer aksesori BAA83501) homologi 96%. Pengamatan terhadap konstruksi cDNA SUT1 pada yeast menunjukkan bahwa yeast kontrol tidak dapat tumbuh pada media seleksi sedangkan yeast transforman SUT1 dapat tumbuh. Yeast diperkirakan memasuki fase eksponensial pada jam ke-2 hingga jam ke-12 dan akan memasuki fase stasioner di atas jam ke-12. Pada fase ini metabolisme yeast dalam memanfaatkan substrat berada dalam kemampuan yang optimal karena digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel yang terjadi dengan cepat. Oleh karena itu, pengukuran kandungan sukrosa dilakukan saat yeast berada dalam fase eksponensial

Pengujian untuk mengamati aktivitas transport sukrosa pada yeast kontrol dan transforman dilakukan pada YPD media dengan interval pengambilan kultur adalah pada jam ke-1, 2, 3, 5, 7, 10. Penggunaan interval ini didasarkan pada tahapan fase eksponensial pada pertumbuhan yeast dalam kultur sehingga diharapkan metabolisme yang terjadi pada kultur berada dalam keadaan yang optimal. Hasil pengujian menunjukkan bahwa yeast transforman SUT1 memiliki kemampuan untuk mentransport sukrosa lebih baik dibandingkan yeast kontrol INVSc1 yaitu hingga mencapai rata-rata 125% dari kontrol. Perbedaan hasil ini menunjukkan bahwa gen yang telah ditransformasi pada sel yeast transforman SUT1 merupakan gen SUT1 tanaman tebu yang mampu diekspresikan dan berfungsi dengan baik sebagai gen yang berperan terhadap translokasi sukrosa dari luar sel ke dalam sel.

Yeast transforman SUT1 secara fisiologis mampu mengekspresikan gen pengkode *sucrose transporter protein* (SUT1) tanaman Tebu yang telah ditransformasi yang berperan dalam proses transport sukrosa. Afinitas yeast SUT1 lebih tinggi dibandingkan yeast kontrol INVSc1 dengan nilai Km pada SUT1 3,65 mM sedangkan INVSc1 adalah sebesar 10,73 mM Sukrosa.

Kata kunci : *sucrose transporter, INVSc1*