

## RINGKASAN

Judul Penelitian : PEMBENTUKAN SEL RAGI (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*)-GALUR BARU YANG MAMPU MENCERNA PATI SECARA LANGSUNG MENJADI ETANOL MELALUI KLONING GEN AMILASE

Nama Peneliti : Ni Nyoman Tri Puspaningsih<sup>(1)</sup>  
 Akhmaloka<sup>(2)</sup>  
 Bambang Irawan<sup>(3)</sup>  
 Y. Sriwulam Manuhara<sup>(3)</sup>  
 Sofyan Hadi<sup>(1)</sup>

Jurusan : Kimia<sup>(1,2)</sup>  
 Biologi<sup>(3)</sup>

Fakultas : MIPA

Perguruan Tinggi : Unair<sup>(1,3)</sup>  
 ITB<sup>(2)</sup>

Sumber Dana : DP3M-PHB V/3, Tahun 1998/1999

No & Th.kontrak : 18/P2IPT/DPPM98/PHBV/3/V/1998,tanggal 31Mare. 98

Penyisipan gen pengkode amilase ke dalam ragi *Saccharomyces cerevisiae* mampu meningkatkan fungsi dan kerja ragi *S. cerevisiae* dalam mencerna substrat yang lebih murah, yaitu pati secara langsung menjadi etanol.

Untuk mencapai tujuan tersebut di atas, maka penelitian ini dilaksanakan selama 3 tahun. Pada tahun pertama (HB V/1 1996/1997) dan tahun kedua (HB V/2 1997/1998) telah dihasilkan 617 transforman dalam *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ . Selain itu, pada tahun kedua telah pula dihasilkan amplikon lokus gen amilase (*ALP1*) yang berukuran sekitar 1400 pb. Amplikon tersebut telah dikarakterisasi dan diinsersikan ke dalam vektor T-pMOSBlue.

Pada tahun ketiga penelitian ini, dilakukan analisis adanya insersi gen amilase dalam transforman *E.coli* DH5 $\alpha$  dengan teknik *Direct Screening PCR*. Kondisi amplifikasi PCR yang digunakan sama dengan kondisi PCR pada tahun kedua, yaitu denaturasi pada suhu

94°C selama 1 menit, *annealing* pada suhu 50°C selama 1 menit dan *extention* pada suhu 72°C selama 2 menit. Jumlah siklus adalah 30 dengan 1 kali pemantapan *extention* selama 4 menit. Sebagai DNA templat adalah DNA total dalam transforman *E.coli* DH5 $\alpha$ . Sebagai kontrol positif adalah pSF $\alpha$ 1 dan ampikon (hasil tahun kedua). Selanjutnya, koloni transforman positif dianalisis lebih lanjut, meliputi isolasi dan karakterisasi klon serta uji ekspresi amilase dengan metode Nelson Somogyi.

Hasil *Direct Screening PCR* menunjukkan adanya 3 koloni transforman yang diduga mengandung *insert* gen amilase. Namun hasil isolasi DNA plasmid dalam skala kecil menunjukkan bahwa ketiga koloni tersebut mengandung DNA rekombinan yang sama. Selanjutnya hasil karakterisasi DNA rekombinan tersebut dengan enzim restriksi *StuI*, *HincII* dan *EcoRI* menunjukkan urutan nukleotida daerah *insert*. Pemotongan dengan enzim *StuI* menghasilkan 3 pita yang berukuran  $\pm 5700$ ,  $\pm 3000$  dan  $\pm 700$  pb.; enzim *HincII* menghasilkan 4 pita yang berukuran  $\pm 3200$ ,  $\pm 2300$ ,  $\pm 2100$  dan  $\pm 1800$  pb dan *EcoRI* menghasilkan 2 pita yang berukuran  $\pm 700$  pb (diduga pada daerah *insert*) dan  $\pm 8700$  pb (diduga pada daerah vektor asal YCp50). Pemotongan dengan enzim restriksi *ClaI* hanya memberikan 1 pita yang berukuran  $\pm 9400$  pb. Ukuran ini lebih besar dari ukuran vektor asalnya YCp50, sehingga diduga ukuran *insert*nya adalah  $\pm 1500$  pb. Transforman ini menunjukkan aktivitas amilase sebesar 88,0265 Unit dengan metode Nelson-Somogyi pada  $\lambda = 748$  nm. Hasil ini lebih besar dibandingkan kontrolnya.