

Natalia Tri Astuti.2016, Sintesis Dan Purifikasi Protein Rekombinan Kapsid Sugarcane Mosaic Virus (SCMV) Pada *Escherichia coli*.

Tesis ini dibawah bimbingan: Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si. dan Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc., Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRAK

Sugarcane Mosaic Virus (SCMV) merupakan satu di antara virus tanaman tebu yang tersebar luas dan tergolong genus Potyvirus, familia Potyviridae. Tanaman terinfeksi SCMV dapat dikenali dari gejala visual berupa warna daun hijau pucat dan membentuk garis-garis seperti klorosis. Hingga saat ini deteksi SCMV secara molekuler masih merupakan metode paling akurat namun secara umum tidak efektif digunakan untuk deteksi rutin untuk banyak sampel. Oleh karena itu, pendekatan serologis menggunakan metode Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) lebih disarankan. Dalam uji serologi, antibodi spesifik merupakan reagen penting. Hingga saat ini, belum ada antibodi yang secara spesifik mendeteksi isolat SCMV dari Indonesia, khususnya Jawa Timur. Oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan sintesis rekombinan protein kapsid SCMV pada *E.coli* sebagai langkah awal untuk pembuatan antibodi. Gen protein kapsid SCMV telah diisolasi dari tanaman tebu varietas Ps 881 terinfeksi SCMV di Jember. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan kloning gen penyandi protein kapsid SCMV pada vektor ekspresi, produksi protein rekombinan pada *E.coli* BL 21, dan purifikasi protein rekombinan dengan kromatografi afinitas Ni-NTA. Penelitian diawali dengan sub kloning cDNA penyandi protein kapsid dari vektor kloning pJET 1.2 ke vektor ekspresi pET-28a(+). Hasil sub kloning ditransformasi ke *E.coli* BL 21 untuk produksi protein rekombinan yang diinduksi dengan IPTG. Konfirmasi protein dilakukan dengan SDS-PAGE dilanjutkan dengan purifikasi metode kromatografi afinitas Ni-NTA, pemekatan protein dan pengukuran konsentrasi. Dari hasil yang diperoleh, gen protein kapsid SCMV yang berukuran 925 bp berhasil disisipkan ke dalam vektor pET-28a(+). Verifikasi keberhasilan dengan PCR koloni menggunakan primer T7 menghasilkan amplikon pada posisi 1208 bp. Produksi rekombinan protein kapsid SCMV pada *E.coli* dilakukan dengan induser IPTG 0,1 mM, pada suhu 37°C dalam waktu 4 jam. Protein yang terbentuk bersifat insolubel dengan berat molekul sekitar 40 kDa. Protein berhasil dipurifikasi dengan kromatografi afinitas Ni-NTA dilanjutkan pemurnian menggunakan elektroelusi dan dialisis. Hasil pemekatan protein menghasilkan konsentrasi protein rekombinan kapsid SCMV sebesar 16,18 mg/mL dan berpotensi sebagai antigen untuk pembuatan antibodi.

Kata kunci: protein kapsid, SCMV, kloning, vektor ekspresi, SDS PAGE, kromatografi Ni-NTA