

Rekonstruksi Sekuens Lengkap cDNA Gen PFP (Pyrophosphate Dependent Phosphofruktokinase) Subunit- $\beta$  Dari Klon Genom Parsial Gen PFP Subunit- $\beta$  Tanaman Tebu *Saccharum officinarum* Menggunakan Sekuens cDNA EST (Expressed Sequence Tags)

**Mahasiswa:**

Bagus Djoko Prasodjo

**Pembimbing:**

Dr. Sony Suhandono

**Gelar:**

S1, Wisuda Maret 2008

**Abstrak**

Dalam mengetahui karakteristik suatu gen, salah satu cara yang biasa dilakukan adalah melihat pola dari ekson dan intron dalam urutan DNA pada suatu genom. Belum ada penelitian yang dapat menunjukkan urutan lengkap dari gen PFP (Pyrophosphate Dependent Phosphofruktokinase) subunit- $\beta$  dari genom (Suzuki *et al.*, 2003). Penelitian ini ditujukan untuk melihat pola ekson dan intron dari gen PFP subunit- $\beta$  yang merupakan salah satu kunci dalam tahap glikolisis. Enzim ini berperan dalam mengubah fruktosa – 6 – fosfat menjadi fruktosa – 1,6 – bifosfat secara reversibel (Plaxton, 1996). Namun dalam perjalanan penelitian, hasil tidak menunjukkan adanya intron sehingga analisis terhadap urutan ini dilakukan dan menunjukkan kesamaan dengan urutan cDNA hasil amplifikasi mRNA dari penelitian sebelumnya. Penelitian selanjutnya dilakukan dengan menggunakan EST (*Expressed Sequence Tags*) dari gen bank untuk melihat urutan lengkap dari cDNA gen PFP subunit- $\beta$  (Abernathy, 2006). DNA tebu diisolasi dari daun muda. Fragmen parsial dari gen PFP subunit –  $\beta$  kemudian diamplifikasi dengan menggunakan PCR. Fragmen hasil PCR berukuran 645 bp. Fragmen ini kemudian di klon dan disekuensing untuk mendapatkan urutan DNA-nya. Fragmen dibandingkan dengan urutan cDNA hasil penelitian sebelumnya yang didapatkan dari sekuen mRNA dan juga dibandingkan dengan urutan cDNA gen PFP subunit- $\beta$  yang dipatenkan oleh Botha *et al.* (2002). Selanjutnya, pencarian EST yang sesuai dengan urutan DNA fragmen parsial gen PFP subunit –  $\beta$ , dilakukan dengan program BLAST pada situs NCBI. EST yang didapatkan diujarkannya sehingga didapatkan sekuen yang berselingkupan dengan nilai kesamaan (*identity value*) yang tertinggi. Pada tahap ini didapatkan empat EST yang memperpanjang ke arah 5' dan empat EST yang memperpanjang ke arah 3' dan memiliki nilai identitas yang tinggi. Pencarian EST yang memperpanjang ke arah 5' dan 3' dilakukan kembali agar didapatkan sekuen yang lebih panjang. Pada pencarian kedua didapatkan 3 EST yang memperpanjang ke arah 5' tetapi pada arah 3' tidak menunjukkan

nilai kesamaan yang tinggi. Pemilihan EST dilakukan dengan melihat daerah yang lestari sehingga didapatkan urutan cDNA gen PFP Subunit Beta. Dengan metode ini, maka rekonstruksi sekuen cDNA gen PFP Subunit Beta dapat dilakukan sehingga menghasilkan urutan cDNA PFP Subunit Beta secara lengkap.

Kata Kunci: **EST, Gen PFP, rekonstruksi gen, tebu**

Reconstruction of Complete cDNA Sequence of PFP (Pyrophosphate Dependent Phosphofruktokinase) Subunit- $\beta$  Gene From Partial Gene of Sugarcane *Saccharum officinarum* Using cDNA EST (Expressed Sequence Tags)

**Student:**

Bagus Djoko Prasodjo

**Advisors:**

Dr. Sony Suhandono

**Degree:**

Bachelor, Period March 2008

**Abstract**

The gene characteristics could be identified by analyzing the exon and intron pattern from the genome sequence. Nowadays, PFP (Pyrophosphate Dependent Phosphofruktokinase) subunit- $\beta$  genome sequence has not been publishing (Suzuki *et al.*, 2003). On these research, the pattern of exon and intron from PFP subunit- $\beta$  gene that play the role in glycolysis step is going to be identified. This enzyme convert fructose – 6 – phosphate to fructose – 1,6 – biphosphate in a reversible reaction (Plaxton, 1996). When the research was in progress, data did not show any intron so that this sequence was compared by cDNA from the previous research. The next step of this research was to get the complete cDNA sequence of PFP subunit- $\beta$  gene using EST (*Expressed Sequence Tags*) database from gene bank (Abernathy, 2006). The DNA was isolated from young-leaf sugarcane. Fragment of PFP subunit- $\beta$  gene then amplified with PCR. Fragment of this gene has 645 bp length. The PFP subunit- $\beta$  gene fragment were cloned and sequenced so that the DNA sequence could be analyzed. These fragment then compared with cDNA from previous research and patented PFP subunit- $\beta$  gene cDNA sequence (Botha *et al.*, 2002). To find the EST sequences that based on PFP subunit- $\beta$  gene fragment, BLAST program from NCBI is used. EST that match with PFP subunit- $\beta$  gene fragment is selected from the highest identity value. BLAST result showed that four EST overlap to 5' and four EST overlap to 3'. Those EST were Re-BLAST to find the longest PFP subunit- $\beta$  gene cDNA construct. From re-BLAST, three EST overlapped to 5' but none of EST overlapped to 3'. The ESTs were selected based on the conserve region to get new complete cDNA PFP subunit- $\beta$  gene sequence. By using this method, the reconstruction of PFP subunit- $\beta$  gene could be done to find the full-length sequence of PFP subunit- $\beta$  gene cDNA.

**Key words:** EST, gene reconstruction, PFP gene, Sugarcane

