



**EFEKTIFITAS TRANSFORMASI GEN *SoSPSI* MENGGUNAKAN  
KONSTRUK PLASMID pSMAB-*SoSPSI* DENGAN EKSPLAN  
TUNAS LATERAL PADA TANAMAN TEBU  
(*Saccharum officinarum* L.)**

**SKRIPSI**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Persyaratan untuk Menyelesaikan  
Program Strata Satu (S1) Program Studi Biologi Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Jember

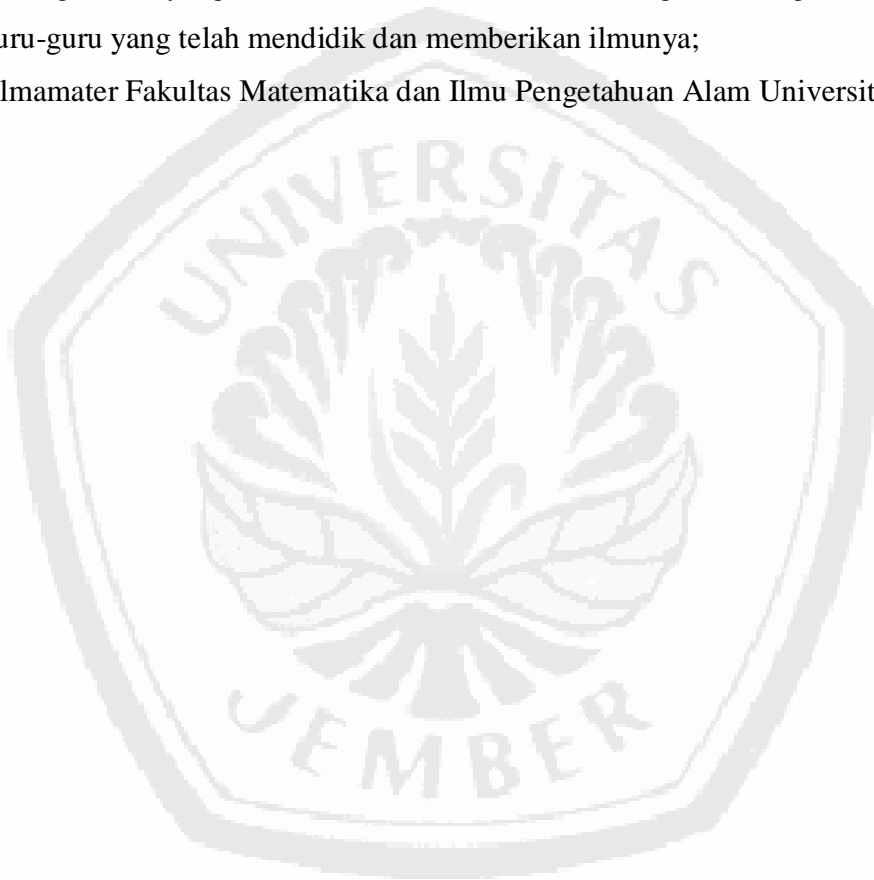
Oleh  
**Yunianzi Tiara Prima**  
**NIM 071810401074**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2012**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Supriyono, S.Sos dan Ibunda Mamiiek Utami yang telah memberikan cinta, doa dan semangat yang tak terhingga;
2. keluarga besar yang telah memberikan doa serta dorongan semangat hingga kini;
3. guru-guru yang telah mendidik dan memberikan ilmunya;
4. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.



## MOTTO

“Allah meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”  
(terjemahan Surat Al-Mujadalah ayat 11) \*)

Jika saya bisa memikirkan dan hati saya meyakinkannya,  
maka saya tahu saya pasti bisa menggapainya  
(Jesse Jackson) \*\*)



\*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2009. Al-Qur'an dan Terjemahan. Jakarta Timur: CV. Pustaka Al-Kautsar.

\*\*\*) Politikus Amerika, Jesse Jackson.

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yunianzi Tiara Prima

NIM : 071810401074

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Efektifitas Transformasi Gen *SoSPSI* Menggunakan Konstruksi Plasmid pSMAB-*SoSPSI* Dengan Eksplan Tunas Lateral Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika disebutkan sumber-sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juli 2012

Yang menyatakan,

Yunianzi Tiara Prima

NIM 071810401074

**KARYA ILMIAH TERTULIS  
(SKRIPSI)**

**EFEKTIFITAS TRANSFORMASI GEN *SoSPSI* MENGGUNAKAN  
KONSTRUK PLASMID *pSMAB-SoSPSI* DENGAN EKSPAN TUNAS  
LATERAL PADA TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.)**

Oleh

**Yunianzi Tiara Prima  
NIM 071810401074**

**Pembimbing:**

**Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr. Sc  
NIP. 19551022 198212 1 001**

**Dosen Pembimbing Anggota : Dra. Dwi Setyati, M.Si  
NIP. 19640417 199103 2 001**

## PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “Transformasi Gen *SoSPSI* Menggunakan Konstruksi Plasmid pSMAB-*SoSPSI* Dengan Eksplan Tunas Lateral Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.)” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, Tanggal :

Tempat : Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji

Ketua (DPU)

Sekretaris (DPA)

Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr. Sc.  
NIP 195510221982121001

Dra. Dwi Setyati, M.Si.  
NIP 196404171991032001

Anggota

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Dr. rer.nat. Kartika Senjarini, S.Si., M.Si.  
NIP 19750913200002001

Sattya Arimurti, S.P., M.Si.  
NIP 197403311999032001

Mengesahkan  
Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA. Ph.D.  
NIP 196101081986021001

## RINGKASAN

**Efektifitas Transformasi Gen *SoSPS1* Menggunakan Konstruk Plasmid pSMAB-*SoSPS1* Dengan Eksplan Tunas Lateral Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.):** Yunianzi Tiara Prima, 071810401074; 2012, 21 halaman; Program Studi Biologi; Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam; Universitas Jember.

*Sucrose phosphate synthase* (SPS) merupakan enzim yang berperan penting dalam biosintesis sukrosa dan berpengaruh terhadap akumulasi sukrosa pada tanaman. Aktivitas SPS mempengaruhi peningkatan kandungan sukrosa pada tebu. Upaya peningkatan kandungan sukrosa pada tebu dapat dilakukan dengan cara overeksresi gen *SPS* menggunakan vektor *Agrobacterium tumefaciens*.

Transformasi gen *SoSPS1* dilakukan menggunakan konstruk plasmid pSMAB-*SoSPS1* dengan promotor RUBQ2 dengan eksplan tunas lateral. Penggunaan promotor RUBQ2 dikarenakan efektif digunakan untuk transformasi pada tanaman monokotil. Penggunaan eksplan tunas lateral dapat menghindari variasi somklonal, waktu regenerasi lebih cepat serta dapat meningkatkan efisiensi transformasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas transformasi gen *SoSPS1* menggunakan konstruk plasmid pSMAB-*SoSPS1* dengan eksplan tunas lateral pada tebu (*Saccharum officinarum* L.).

Tahapan penelitian ini meliputi: infeksi, eliminasi, seleksi, pengakaran, aklimatisasi, isolasi DNA genom dan analisis *polymerase chain reactions* (PCR) dengan pasangan primer *bar* (*forward*) dan *bar* (*reverse*) yang memiliki ukuran 462 bp. Tanaman putatif transforman yang didapat sebanyak 18 tanaman untuk selanjutnya diaklimatisasi. Keberhasilan aklimatisasi sebesar 70% yaitu 12 tanaman dari 18 tanaman. Dari 12 tanaman yang berhasil diaklimatisasi kemudian dilakukan analisis PCR dan hanya didapatkan 1 tanaman transforman. Hal ini ditandai dengan adanya pita DNA yang teramplifikasi pada ukuran 462 bp. Adanya hasil analisis PCR

menunjukkan bahwa efektifitas transformasi gen *SoSPSI* menggunakan konstruk plasmid pSMAB-*SoSPSI* dengan eksplan tunas lateral sebesar 2%. Dibandingkan dengan efektifitas menggunakan konstruk plasmid pKYS-*SoSPSI* sebesar 4% dan pCI4-*SoSPSI* sebesar 12%, efektifitas transformasi gen *SoSPSI* menggunakan pSMAB-*SoSPSI* masih rendah.





## PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektifitas Transformasi Gen *SoSPSI* Menggunakan Konstruksi Plasmid pSMAB-*SoSPSI* Dengan Eksplan Tunas Lateral Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.)”. Penelitian ini didanai oleh Penelitian Prioritas Nasional MP3EI tahun 2011-2012 atas nama Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc. Dalam proses penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ayahanda Supriyono S.Sos, Ibunda Mamiék Utami yang selalu memberikan cinta, doa dan motivasi yang tak terhingga sepanjang hidup. Eyang (Alm), Adikku Prima Resakti Putra, kakak-kakakku Afiat Meiristian, S.Pd, Ita Rahmawati S.Pd, Utarid Eprilia Amd dan si kecil Aquinta Mi Isaura, terima kasih atas doa, semangat dan dukungannya. Dwi Marta Siswa, S.E terima kasih telah menemani dalam suka maupun duka;
2. Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc selaku dosen pembimbing utama dan Dra. Dwi Setyati M.Si selaku dosen pembimbing anggota yang telah luar biasa sabar memberikan pengarahan, saran, bimbingan serta motivasi dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini;
3. Dr. rer. nat. Kartika Senjarini, S.Si, M.Si dan Sattya Arimurti, S.P, M.Si selaku dosen penguji, terima kasih atas saran dan kritik membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Drs. Sutoyo M.Si selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan motivasi selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Purnama Okviandari S.P, M.P, yang telah memotivasi serta memberi saran dalam menjalankan penelitian;
6. Hilda Safitri S.Si, Ajie Baskoro S.P dan Anandang Ganni S.P sebagai keluarga tebu, terima kasih atas semangat, inspirasi dan diskusinya;

7. rekan-rekan *Sugar Group* (BS) Mutik Mahtuhfatul B, Nina Oktaria S.Si, Triliani Farlisa S.Si, Ahmad Fudhaili S.Si, Tri Ratnasari S.Si, Septhyan C S.P, Bernet Agung S.P, Nurul Holifah, Aditya Pervitasari, Yahya Agung, Rinda, Edia, Hidayah dan Frengky terima kasih atas dorongan semangat, doa serta rasa kekeluargaan yang telah diberikan kepada penulis;
8. rekan-rekanku Pining, Yogi dan Biologi angkatan 2007, saudara-saudaraku Oyan, Muhdar, Arif, Riski, Amir, Erda dan keluarga besar Halmahera raya;
9. semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis memohon maaf apabila dalam penulisan skripsi ini masih terdapat beberapa kesalahan. Saran serta kritik yang positif sangat kami harapkan untuk perbaikan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi para pembaca, amin.

Penulis

Jember, 2012

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR ISTILAH</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan dan Manfaat .....	2
1.3.1 Tujuan Penelitian .....	2
1.3.2 Manfaat Penelitian .....	2
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>3</b>
2.1 Fotosintesis dan Biosintesis Sukrosa .....	3
2.2 Transformasi Menggunakan <i>Agrobacteriumtumefaciens</i> .....	4
2.3 Promoter RUBQ2 .....	6
2.4 Sumber eksplan .....	7

<b>BAB 3. BAHAN DAN METODE PENELITIAN.....</b>	<b>8</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	8
3.2 Alat dan Bahan .....	8
3.3 Cara Kerja .....	8
3.3.1 Persiapan dan Pertumbuhan Eksplan.....	8
3.3.2 Optimasi konsentrasi <i>phosphinotricyn</i> sebagai agen seleksi .....	9
3.3.3 Konfirmasi keberadaan <i>A. tumefaciens</i> GV 3101 pSMAB- <i>SoSPS1</i> .....	9
3.3.4 Transformasi, Ko-kultivasi, Eliminasi, Seleksi, Pengakaran .....	10
3.3.5 Aklimatisasi Tanaman Putatif Transforman .....	11
3.3.6 Analisis keberadaan gen yang diinsersi pada tanaman....	11
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>13</b>
4.1 Persiapan dan Pertumbuhan Eksplan .....	13
4.2 Optimasi Konsentrasi Phosphinotricyn Sebagai Agen Seleksi .....	14
4.3 Konfirmasi Keberadaan Gen <i>SoSPS1</i> Pada Konstruk Plasmid pSMAB- <i>SoSPS1</i> .....	15
4.4 Transformasi, Ko-Kultivasi, Eliminasi, Seleksi dan Pengakaran ..	16
4.5 Aklimatisasi Tanaman Putatif Transforman.....	18
4.6 Analisis Keberadaan Gen yang Diinsersi Pada Tanaman.....	19
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>21</b>
5.1 Kesimpulan .....	21
5.2 Saran.....	21
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>22</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>26</b>

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
<b>Gambar 2.1</b> Skema proses asimilasi karbon dan biosintesis sukrosa.....	4
<b>Gambar 2.2</b> Transformasi T-DNA ke dalam genom tanaman.....	6
<b>Gambar 3.1</b> Konstruksi plasmid pSMAB- <i>SoSPSI</i> .....	10
<b>Gambar 4.1</b> Kultur tebu melalui tunas lateral.....	13
<b>Gambar 4.2</b> Pertumbuhan tebu <i>in vitro</i> pada media seleksi dengan konsentrasi <i>phosphinotricyn</i> berbeda .....	15
<b>Gambar 4.3</b> Analisa hasil PCR DNA plasmid pSMAB- <i>SoSPSI</i> dengan pasangan primer 2F/2R SPS .....	16
<b>Gambar 4.4</b> Pertumbuhan eksplan pada media ko-kultivasi, eliminasi dan seleksi .....	17
<b>Gambar 4.5</b> Perkembangan aklimatisasi tanaman putatif transforman.....	18
<b>Gambar 4.6</b> Analisa DNA genom tanaman hasil PCR dengan pasangan primer Bar F/R .....	19

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
A. Komposisi Media <i>Murashige and Skoog</i> (MS).....	26
B. Komposisi Media YEP .....	27



## DAFTAR ISTILAH

BAP	: <i>Benzil Adenin Purin</i>
BL	: <i>Bulu Lawang</i>
BSC	: <i>Bundle sheat cell</i>
CaMV 35S	: <i>Cauliflower mosaic viruss</i>
GA3	: <i>Giberelin</i>
LAF	: <i>Laminar Air Flow</i>
MS	: <i>Murashige and Skoog</i>
NAA	: <i>Naphtalene Acetic Acid</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PPT	: <i>Phosphinotricyn</i>
RUBQ2	: <i>Rice Ubiquitin 2</i>
SPS	: <i>Sucrose phosphate synthase</i>
Vir	: <i>Virulance</i>
YEP	: <i>Yeast Extract Peptone</i>
ZPT	: <i>Zat Pengatur Tumbuh</i>

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 4.1 Jumlah tanaman putatif transforman pada saat ko-kultivasi, eliminasi dan seleksi .....	18

