



**TRANSFORMASI GEN *SoSUT1* PADA TANAMAN TEBU
(*Saccharum officinarum* L var. BL) TRANSGENIK
OVEREKSPRESI GEN *SoSPS1* MENGGUNAKAN
VEKTOR *Agrobacterium tumefaciens***

SKRIPSI

Oleh :

**Almansyah Nur Sinatrya
NIM 101510501051**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**TRANSFORMASI GEN *SoSUTI* PADA TANAMAN TEBU
(*Saccharum officinarum* L var. BL) TRANSGENIK
OVEREKSPRESI GEN *SoSPSI* MENGGUNAKAN
VEKTOR *Agrobacterium tumefaciens***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh :

**Almansyah Nur Sinatrya
NIM 101510501051**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, kupersembahkan skripsi ini kepada:

1. Seluruh teman, sahabat dan saudara yang dapat merasakan manfaat dari skripsi ini.
2. Ibunda Sri Mumpuni RA, Ayahanda Heri Prasetyo, Kakak Anjartika Pramodhawardani.
3. Para guru kehidupanku yang telah mengajarkan makna kehidupan melalui ilmu serta pengalaman.
4. Almamater Universitas Jember

MOTO

“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia yang lain.”
(HR. Thabrani dan Daruquthni)*)

*)Shahih al-Jami’ No. 3289 (Hasan)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Almansyah Nur Sinatrya

NIM : 101510501051

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Transformasi Gen *SoSUT1* pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum L var. BL*) Transgenik Overekspresi Gen *SoSPSI* Menggunakan Vektor *Agrobacterium tumefaciens*” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.**

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

Jember, 19 Maret 2015
Yang menyatakan,

Almansyah Nur Sinatrya
NIM. 101510501051

SKRIPSI

TRANSFORMASI GEN *SoSUTI* PADA TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L var. BL) TRANSGENIK OVEREKSPRESI GEN *SoSPS1* MENGGUNAKAN VEKTOR *Agrobacterium tumefaciens*

Oleh

Almansyah Nur Sinatrya
NIM. 101510501051

Pembimbing:

Pembimbing Utama : Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS
NIP. 19650426 199403 1 001

Pembimbing Anggota : Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr. SC
NIP. 19551022 198212 1 001

PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “**Transformasi Gen *SoSUT1* pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum L var. BL*) Transgenik Overekspresi Gen *SoSPS1* Menggunakan Vektor *Agrobacterium tumefaciens*” telah diuji dan disahkan pada:**

Hari : Kamis

Tanggal : 02 April 2015

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

TIM PENGUJI

Penguji

Ummi Sholikhah, SP., MP.
NIP. 19781130 200812 2 001

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.
NIP. 19650426 199403 1 001

Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr. SC.
NIP. 19551022 198212 1 001

MENGESAHKAN

Dekan,

Dr. Ir. Jani Januar, M.T.
NIP. 19590102 198803 1 002

SUMMARY

SoSUT1 Gene Transformation at SoSPS1 Gene Overexpression Sugarcane Transgenic Plant (*Saccharum officinarum* L var. BL) Using *Agrobacterium tumefaciens* Vector; Almansyah Nur Sinatrya; 101510501051; Agrotechnology Department; Agriculture Faculty; University of Jember

This research aims to get the sugar cane plant products as a new stub that has a higher sucrose content. The method used is the Genetic Transformation with *SoSUT1* Gene inserted into the genome of a plant sugar cane (*Saccharum officinarum* L. var. BL) which in previous studies has been expressing *SoSPS1* gene by using *Agrobacterium tumefaciens* as gram-negative transformation bacteria vector. This research held in the laboratory of Molecular Biology and Biotechnology Division, CDAST (Center for Development of Advanced Sciences and Technology) University of Jember began November 2013 until January 2015. A preliminary study of explant reproduction associated with 5 kinds of formulation media as follows: I: MS0; II: MS0 Glutamine 50 + mgL-1; III: MS0 + Glycine 2 mgL-1; IV: MS0 Glutamine 50 + mgL-1 + Glycine 2 mgL-1; V: MS0 + 2,4-D 2 mgL-1 + BAP 2 mgL-1, it can be noted that the formulation of the best media for duplication of shoots is the use of the MS0 media + 2,4-D 2 mgL-1 + BAP 2 mgL-1 composition with the average result of the three shoots 7.67 deuteronomy plantlet. While the results of the analysis of the PCR to confirm the existence of genes transformation results *SoSUT1* also *SoSPS1* found 5 plantlet with G5, H2, H3, J2 and J3 code are positively express both of these genes, with the effectiveness of the transformation by 10% (5 plants) on the 4th transformation.

RINGKASAN

Transformasi Gen *SoSUT1* pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L var. *BL*) Transgenik Overekspresi Gen *SoSPSI* Menggunakan Vektor *Agrobacterium tumefaciens*; Almansyah Nur Sinatrya; 101510501051; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan produk tanaman tebu sebagai rintisan baru yang memiliki kandungan sukrosa lebih tinggi. Metode yang digunakan adalah Transformasi Genetik dengan menyisipkan Gen *SoSUT1* ke dalam genom tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L. var. *BL*) yang pada penelitian sebelumnya telah overekspresi gen *SoSPSI* dengan menggunakan vektor transformasi berupa bakteri gram negatif *Agrobacterium tumefaciens*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Divisi Bioteknologi dan Biologi Molekuler, CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember mulai November 2013 hingga Januari 2015. Penelitian pendahuluan terkait perbanyakan eksplan dengan 5 macam formulasi media sebagai berikut: I: MS0; II: MS0 + Glutamin 50 mgL⁻¹; III: MS0 + Glisin 2 mgL⁻¹; IV: MS0 + Glutamin 50 mgL⁻¹ + Glisin 2 mgL⁻¹; V: MS0 + 2,4-D 2 mgL⁻¹ + BAP 2 mgL⁻¹, dapat diketahui bahwa formulasi media terbaik untuk perbanyakan tunas adalah penggunaan komposisi media MS0 + 2,4-D 2 mgL⁻¹ + BAP 2 mgL⁻¹ dengan rata rata hasil 7,67 tunas dari tiga ulangan planlet. Sedangkan hasil analisis PCR untuk konfirmasi keberadaan gen *SoSUT1* hasil transformasi dan gen bawaan *SoSPSI* didapati 5 planlet dengan kode G5, H2, H3, J2 dan J3 yang positif mengekspresikan kedua gen tersebut, dengan efektifitas transformasi sebesar 10% (5 tanaman) pada transformasi ke-4.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Transformasi Gen *SoSUTI* pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum L var. BL*) Transgenik Overekspresi Gen *SoSPSI* Menggunakan Vektor *Agrobacterium tumefaciens*”. Penelitian ini dibiayai oleh Proyek MP3EI (Masterplan Percepatan dan Perluasan Pembangunan Ekonomi Indonesia) Tahun Anggaran 2014.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan segenap pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Ayahanda Drs. Heri Prasetyo, Ibunda Dra. Sri Mumpuni RA serta Saudari Anjartika Pramodhawardhani, SKM, yang telah dan selalu menjadi orang yang mencintai dan kucintai sepanjang hidupku.
2. Prof. Dr, Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc., Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS. dan Ummi Sholikhah, SP, MP., selaku dosen pembimbing yang dengan penuh kesabaran, dedikasi dan kasih sayang memberikan pengarahan, saran serta bimbingan dalam penelitian maupun penulisan skripsi ini.
3. Laboratorium Divisi Bioteknologi dan Biologi Molekuler, *Center for Development of Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember.
4. Semua teman, rekan dan saudara-saudara yang telah mengajari saya bahwa hidup ini layak untuk diperjuangkan agar dapat senantiasa memberi arti.

Penulis menyadari dalam penyusunan karya ilmiah ini terdapat kekurangan, maka dengan segenap kerendahan hati penulis menerima segala kritik, masukan dan saran dari semua pihak. Akhirnya, penulis berharap skripsi dan hasil penelitian ini dapat bermanfaat.

Penulis.

DAFTAR ISI

	Hal.
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
SUMMARY	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat	3
1.3.1 Tujuan	3
1.3.2 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Transformasi Gen Melalui <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	4
2.2 <i>Sucrose Transporter</i> (SUT) pada Tanaman	7
2.3 <i>Sucrose Phosphat Synthase</i> (SPS) pada Tanaman	8
2.4 Hipotesis.....	9
BAB 3. METODE PENELITIAN	10
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10

3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Prosedur Penelitian	11
3.3.1 Persiapan Eksplan	11
3.3.2 Inokulasi <i>A. tumefaciens</i>	11
3.3.3 Isolasi DNA Plasmid dan PCR	12
3.3.4 Infeksi <i>A. tumefaciens</i> pada Eksplan	12
3.3.5 Ko-Kultivasi.....	12
3.3.6 Eliminasi <i>A. tumefaciens</i>	13
3.3.7 Seleksi Eksplan <i>Putative</i> Transforman	13
3.3.8 Efektifitas Transformasi.....	13
3.3.9 Isolasi DNA Genom Tanaman <i>Putative</i> Transforman.....	14
3.3.10 Analisis <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Perbanyak Eksplan	16
4.2 Konfirmasi Keberadaan Plasmid <i>pAct</i> dalam <i>A. tumefaciens</i>	18
4.3 Transformasi Eksplan Transforman Overekspresi Gen SoSPS1 dengan Gen SoSUT1 Menggunakan Vektor <i>A. tumefaciens</i>	20
4.4 Analisis PCR tebu Overekspresi Gen SoSPS1 <i>Putative</i> Transforman Gen SoSUT1.....	26
BAB 5. PENUTUP	31
5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32

DAFTAR TABEL

No.	Judul	Hal.
1	Hasil Transformasi ke-1, 2 dan ke-3	21
2	Hasil Transformasi ke-4 dan ke-5	24

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Hal.
2.1	<i>Tumor inducing</i> plasmid (Ti-plasmid) pada <i>A. tumefaciens</i> (Kakkar dan Verma, 2011).....	5
2.2	Mekanisme interaksi <i>A. tumefaciens</i> dengan sel tanaman (Kakkar dan Verma, 2011).....	6
2.3	Sketsa Alur Biosintesa Sukrosa Pada Daun Tanaman (Cheikh and Brenner, 1992).....	10
3.1	Konstruksi plasmid <i>pAct-SoSUTI</i> (Sugiharto, 2010).....	11
4.1	Grafik uji <i>Duncan</i> kepercayaan 95% jumlah tunas eksplan 1.1 E (6) pada minggu ke-4 setelah tanam.....	16
4.2	Elektroforesis DNA plasmid <i>A. tumefaciens</i> GV 3101 <i>pAct-SoSUTI</i> hasil PCR dengan primer 1F/1R <i>hptII</i> . Baris M: Marker 1 kb Ladder; <i>pAct</i> : DNA plasmid <i>pAct-SoSUTI</i>	19
4.3	Kondisi planlet tebu sebagai eksplan transformasi. a. Planlet tebu <i>in vitro</i> pada media perbanyakan; b. Planlet yang telah dipisahkan dari rumpun sebelum diambil bagian pangkal tunasnya; c. Pangkal tunas atau basal tebu <i>in vitro</i> berukuran panjang ± 5 mm sebagai eksplan transformasi	21
4.4	Perbandingan kondisi eksplan pasca transformasi a. Kondisi eksplan pada media co-cultivasi sebelum terjadi overgrowth; b. Kondisi eksplan pada media seleksi saat terjadi overgrowth, dapat dilihat dari peledakan jumlah bakteri <i>A. tumefaciens</i> di permukaan media <i>in vitro</i> yang mengelilingi eksplan.	22
4.5	Proses pelukaan pada eksplan menggunakan jarum suntik steril yang bertujuan untuk memfasilitasi proses infeksi <i>A. tumefaciens</i>	23

4.6	Perbandingan kondisi morfologis pada beberapa planlet hasil transformasi ke-4 dan ke-5. T4: Kondisi morfologis eksplan transformasi ke-4 pada media seleksi 5; T5: Kondisi morfologis eksplan transformasi ke-4 pada media seleksi 5.....	25
4.7	Elektroforesis DNA hasil PCR menggunakan pasangan primer 1F/1R <i>npt II</i> . M: Marker 1 kb ladder; K+: DNA plasmid <i>pCl4-SoSPS1</i> (kontrol positif); G5-J6: sampel DNA tanaman tebu yang telah ditransformasi pada transformasi pertama.....	26
4.8	Elektroforesis DNA hasil PCR menggunakan pasangan primer 1F/1R <i>hpt II</i> . M: Marker 1 kb ladder; K+: DNA plasmid <i>pAct-SoSUT1</i> (kontrol positif); G5-J6: sampel DNA tanaman tebu yang telah ditransformasi pada transformasi pertama.....	27
4.9	Elektroforesis DNA hasil PCR menggunakan pasangan primer 1F/1R <i>npt II</i> . M: Marker 1 kb ladder; K+: DNA plasmid <i>pCl4-SoSPS1</i> (kontrol positif); B1-D4: sampel DNA tanaman tebu yang telah ditransformasi pada transformasi pertama.....	28
4.10	Elektroforesis DNA hasil PCR menggunakan pasangan primer 1F/1R <i>hpt II</i> . M: Marker 1 kb ladder; K+: DNA plasmid <i>pAct-SoSUT1</i> (kontrol positif); B1-D4: sampel DNA tanaman tebu yang telah ditransformasi pada transformasi kedua	29