



**RESPON EKSPLAN TOMAT (*Lycopersicon esculentum* Mill.)  
TERHADAP TRANSFORMASI GEN *SoSUT1* DENGAN  
MENGUNAKAN *Agrobacterium tumefaciens***

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Bernet Agung Saputra  
NIM. 051510101046**

**JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2011**



**RESPON EKSPLAN TOMAT (*Lycopersicon esculentum* Mill.)  
TERHADAP TRANSFORMASI GEN *SoSUT1* DENGAN  
MENGUNAKAN *Agrobacterium tumefaciens***

**SKRIPSI**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Persyaratan untuk Menyelesaikan Progam  
Strata Satu (S1) Progam Studi Agronomi Jurusan Budidaya Pertanian  
Fakultas Pertanian Universitas Jember

**Oleh:**

**Bernet Agung Saputra  
NIM. 051510101046**

**JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2011**

**KARYA ILMIAH TERTULIS  
(SKRIPSI)**

**RESPON EKSPLAN TOMAT (*Lycopersicon esculentum* Mill.)  
TERHADAP TRANSFORMASI GEN *SoSUT1* DENGAN  
MENGUNAKAN *Agrobacterium tumefaciens***

Oleh:

Bernet Agung Saputra  
NIM. 051510101046

Pembimbing:

Pembimbing Utama :Dr. Ir. Miswar, M.Si.  
NIP. 196410191990021002

Pembimbing Anggota :Ir. Didik Pudji Restanto, M.S., Ph.D  
NIP. 196504261994031001

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul: **Respon Eksplan Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Terhadap Transformasi Gen *SoSUT1* dengan Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens***, telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Pertanian pada:

Hari : Jum'at

Tanggal : 27 Mei 2011

Tempat : Ruang Sidang Fakultas Pertanian UNEJ

Tim Penguji  
Anggota 1,

Dr. Ir. Miswar, M.Si.  
NIP. 196410191990021002

Anggota 2,

Anggota 3,

Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D  
NIP. 196504261994031001

Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MS  
NIP. 196003171983032001

MENGESAHKAN  
Dekan,

Dr. Ir. Bambang Hermiyanto, MP  
NIP. 196111101988021001

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Bernet Agung Saputra

NIM : 051510101046

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul **”Respon Eksplan Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Terhadap Transformasi Gen *SoSUT1* dengan Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*”** 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 kabsahan 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 2011

Yang menyatakan,

Bernet Agung Saputra  
NIM. 051510101046

## RINGKASAN

**Respon Eksplan Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Terhadap Transformasi Gen *SoSUT1* dengan Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens***; Bernet Agung Saputra; NIM. 051510101046; Program Studi Agronomi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

Gen *SoSUT1* adalah gen pengkode protein *sucrose transporter* yang diisolasi dari jaringan daun tanaman tebu (*Sacharum officinarum*). Protein *sucrose transporter* pada tanaman tingkat tinggi berfungsi dalam translokasi sukrosa dari organ *source* menuju ke *sink*. Perakitan tanaman dengan aktivitas translokasi sukrosa yang tinggi dapat dilakukan dengan penyisipan gen SUT menggunakan metode DNA rekombinan. Pengembangan metode DNA rekombinan membutuhkan tanaman model yang mampu memberikan informasi secara luas. Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) merupakan tanaman model yang sering digunakan karena mudah di transformasi dan memiliki potensi organogenesis yang tinggi.

Dalam penelitian ini, gen *SoSUT1* dikonstruksi dalam plasmid pAct yang selanjutnya disebut pAct:*SoSUT1* dan ditransformasi ke dalam *Agrobacterium tumefaciens* (*A.tumefaciens*) strain GV3101. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui respon eksplan tomat terhadap transformasi gen *SoSUT1* dengan menggunakan *A.tumefaciens*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu informasi dalam upaya peningkatan translokasi sukrosa pada tanaman budidaya.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Fakultas MIPA, Universitas Jember pada bulan Juni sampai November 2010. Bahan yang digunakan adalah tunas pucuk (axillary buds) tomat; *A.tumefaciens* strain GV3101; media *yeast-extract peptone* (YEP), media MS (*Murashige Skoog*); primer F/R *nptII* dan 2F/2R SUT; dan PCR Master mix (iNtRON). Tahapan penelitian yang dilakukan, 1) transformasi *binary plasmid* pAct:*SoSUT1* ke dalam *A.tumefaciens* menggunakan metode  $\text{CaCl}_2$ , 2) konfirmasi *binary plasmid* pAct:*SoSUT1* di dalam *A.tumefaciens* menggunakan metode PCR dengan menggunakan primer F/R *nptII* dan 2F/2R SUT, 3) transformasi gen *SoSUT1* pada eksplan tomat. Hasil transformasi gen *SoSUT1* pada tomat dapat diketahui dengan menghitung persentase planlet yang tahan pada media penyeleksi hingga seleksi ke-5 dan persentase kemampuan planlet membentuk tunas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *binary plasmid* pAct:*SoSUT1* telah terintegrasi ke dalam *A.tumefaciens*. Koloni bakteri yang mampu bertahan pada media YEP yang mengandung antibiotik rifampicin  $100 \text{ mgL}^{-1}$  dan kanamycin  $50 \text{ mgL}^{-1}$  merupakan *A.tumefaciens* transforman. Berdasarkan hasil analisis menggunakan metode PCR dengan dua pasang primer menunjukkan pita DNA pada panjang 550 bp dan 1000 bp. Respon eksplan terhadap transformasi gen *SoSUT1* di dalam media MS yang mengandung antibiotik hygromycin  $10 \text{ mgL}^{-1}$  sebesar 13,2 persen dengan kemampuan membentuk tunas sebesar 21,45 persen.

Kata kunci: transformasi, gen *SoSUT1*, plasmid pAct (14,3 bp), *A.tumefaciens*

## SUMMARY

**Response of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Explant to The *Agrobacterium*-mediated Transformation *SoSUT1* Gene;** Bernet Agung Saputra; NIM. 051510101046; Department of Agronomy; The Faculty of Agriculture, University of Jember.

*SoSUT1* gene is encode *sucrose transporter* protein, isolated from sugarcane (*Sacharum officinarum*) leaf. Plant sucrose transporter play a key role in sucrose translocation from source to the sink organs. Several studies have been known using DNA recombinant methods to produce high level translocation of sucrose through insertion the SUT gene from another plants. This method require a plant model which provide wide range information. Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) has been frequently used as a plant model because is easily to the transform and provide high potentially organogenesis.

*SoSUT1* gene has been constructed on pAct binary plasmid (pAct:*SoSUT1*) and transformed into *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101. The major aim of this studies is to know response of tomato explant to the *A.tumefaciens*-mediated transformation *SoSUT1* gene. Furthermore, this experiment result can be providing the information to increase potential of sucrose translocation on plant.

This experiment was conducted at the Laboratory of Botany and Tissue Culture, Faculty of Mathematic and Natural Science, University of Jember, periode June - November 2010. Tomato axillary buds; *A.tumefaciens* strain GV3101; *yeast-extract peptone* (YEP) medium, *Murashige Skoog* (MS) medium; and PCR Master mix (iNtRON) were used as main materials for this experiment. The experiment devided to the three major activities, 1) transformation *pAct:SoSUT1* binary plasmid into *A.tumefaciens* using  $\text{CaCl}_2$  method, 2) confirmation of *pAct:SoSUT1* binary plasmid on *A.tumefaciens* using PCR method with F/R *nptII* and 2F/2R SUT primers, and 3) transformation *SoSUT1* gene into tomato explant. Percentage of resistance tomato planlets and shoots on screening medium were using as parametric on plant transformation method.

The binary plasmid pAct:*SoSUT1* has been integrated into *A.tumefaciens*. Transformant bacteria would be resistance in YEP medium which containing rifampicin  $100 \text{ mgL}^{-1}$  and kanamycin  $50 \text{ mgL}^{-1}$ . Based on PCR analysis to confirm pAct:*SoSUT1* has been shown single band of DNA plamid at 550 bp and 1000 bp. Putatif transforman planlets which responsible to the transformation *SoSUT1* gene achieve 13.2 percens on MS medium containing hygromycin  $10 \text{ mgL}^{-1}$  with shoots regeneration ability around 21.45 percens.

Keywords: transformation, *SoSUT1* gene, binary *plasmid* pAct (14,3 bp), *A.tumefaciens*

## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, atas rahmat, nikmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis (skripsi) dengan judul “*Respon Eksplan Tomat (Lycopersicon esculentum Mill.) Terhadap Transformasi Gen SoSUT1 dengan Menggunakan Agrobacterium tumefaciens*”. Sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Program Strata Satu (S1) pada Program Studi Agronomi, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Dalam proses penulisan skripsi ini penulis menyadari tidak terlepas dari bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ayahanda Rahmad Djasari, Ibunda Sringatin, adinda Nursiyama Sari Rahmawati yang selalu memberikan do'a, dukungan baik moril serta materiil.
2. Dr. Ir. Miswar, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama, Ir. Didik Pudji Restanto, M.S., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Anggota, Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik MS. selaku Dosen Pembimbing Akademik, Prof. Ir. Bambang Sugiharto M.Agr, Sc., D.Agr.Sc., Ir. Parawita Dewanti, MP, Tri Agus Siswoyo, S.P, M.Agr., Ph.D, Tri Handoyo S.P, M.Agr., Ph.D, dan Purnama Okviandari S.P, MP terimakasih atas bimbingan dan pengarahannya selama proses penelitian berlangsung.
3. Dr. Ir. Bambang Hermiyanto, MP selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
4. Ir. Sigit Soeparjono, M.S., Ph.D selaku Ketua Jurusan Budidaya Petanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
5. Pengurus dan Staf di Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
6. Rekan-rekan di Program Studi Agronomi, Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Jember (Anom, Deddy, Heru, Erwin, Bachtiar, Kristian Agung, Dhirta, Ghani) serta rekan-rekan yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih telah bersedia berbagi suka dan duka bersama.



7. Senior dan rekan-rekan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Jember (Hilda, Seagames, Ubaidillah, Ryza, Adiya, Adianto Sembiring) dan Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Fakultas MIPA Universitas Jember (Septyan, Anandang Ghani, Ratna, Indah) serta rekan-rekan yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih atas kerjasama dan semangat yang diberikan selama proses penelitian berlangsung.
8. Semua pihak yang telah membantu penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi 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, 27 Mei 2011

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>RINGKASAN</b> .....	v
<b>SUMMARY</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan dan Manfaat .....	3
1.3.1 Tujuan .....	3
1.3.2 Manfaat .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Sukrosa dan Protein Sucrose transporter (SUT) pada Tanaman..	5
2.2 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> dan Plasmid .....	6
2.3 Transformasi Menggunakan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> pada Tomat .....	7
2.4 Eksplan Tomat dan Antibiotik Penyeleksi Dalam Transformasi Genetik .....	9
2.5 Hipotesis .....	10
<b>BAB 3. METODOLOGI</b> .....	11
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	11
3.2 Bahan dan Alat .....	11
3.3 Metode Percobaan .....	11

3.4 Pelaksanaan .....	12
3.4.1 Transformasi Plamid pAct:SoSUT1 Ke Dalam <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	12
3.4.2 Konfirmasi Keberadaan pAct:SoSUT1 Dalam <i>Agrobacterium tumefaciens</i> Transforman .....	13
3.4.3 Pembuatan Media .....	14
3.4.3.1 Media Murashige Skoog (MS) .....	14
3.4.3.2 Media Yeast-extract Peptone (YEP) .....	15
3.4.4 Persiapan Eksplan .....	15
3.4.5 Inokulasi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> pAct:SoSUT1 .....	15
3.4.6 Infeksi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> Ke Dalam Tanaman .	16
3.4.7 Kokultivasi .....	16
3.4.8 Eliminasi .....	16
3.4.9 Seleksi dan Regenerasi Eksplan Putatif Transforman .....	17
3.5 Parameter Pengamatan .....	17
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	19
4.1 Transformasi <i>binary plasmid</i> pAct:SoSUT1 Ke Dalam <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	19
4.2 Tomat ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.) Putatif Transforman Gen <i>SoSUT1</i> .....	22
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	29
5.1 Kesimpulan .....	29
5.2 Saran .....	29
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	30
<b>LAMPIRAN</b> .....	35

## DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Media pertumbuhan dan regenerasi eksplan pada tahapan perkecambahan, kokultivasi, eliminasi, dan seleksi .....	14
2. Persentase eksplan tahan yang mampu beregenerasi menjadi planlet .....	23
3. Respon eksplan terhadap media kultur <i>In vitro</i> .....	25

## DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Konstruksi plasmid pAct:SoSUT1 (14,3 kb) dengan promoter <i>Rice actin</i> dan gen ketahanan terhadap hygromycin .....	12
2. Transformasi GV-pAct SoSUT1 klon (2, 61, 62) .....	20
3. Hasil elektroforesis DNA plasmid pAct menggunakan primer F/R <i>nptII</i> dan 2F/2R SUT .....	21
4. Peta plasmid pAct:SoSUT1 (14,3 kb) dengan working primer 2F/2R SUT dan F/R <i>nptII</i> .....	21
5. Regenerasi eksplan pada media kultur <i>In vitro</i> .....	24