



**KARAKTERISASI FISILOGIS TANAMAN TOMAT  
(*Lycopersicon esculentum* Mill.) TRANSGENIK  
OVEREKSPRESI GEN *SoSPSI* DAN *SoSUT1***

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Frengky Hermawan Hadi Prasetyo  
081510501149**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2013**



**KARAKTERISASI FISILOGIS TANAMAN TOMAT  
(*Lycopersicon esculentum* Mill.) TRANSGENIK  
OVEREKSPRESI GEN *SoSPS1* DAN *SoSUT1***

**SKRIPSI**

diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan  
untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) pada  
Program Studi Agroteknologi Minat Agronomi  
Fakultas Pertanian Universitas Jember

**Oleh:**

**Frengky Hermawan Hadi Prasetyo  
081510501149**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2013**

## **PERSEMBAHAN**

Dengan menyebut nama Allah SWT Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang serta Nabi Muhammad SAW junjungan seluruh umat manusia, kupersembahkan skripsi ini kepada:

1. Ibunda Sri Suhartini dan Ayahanda Moch. Ali tercinta, kuhaturkan terimakasih yang tak terhingga atas segala pengorbanan, kasih sayang, dan do'a yang mungkin tidak dapat terbalas sepenuhnya;
2. Kakakku tercinta Devi Rosaria Margareta Anggraini, S.Pd., atas motivasi, dorongan, pengorbanan yang tidak terhingga banyaknya dalam setiap langkah.
3. Seluruh keluarga besar yang telah begitu banyak memberikan dorongan dan dukungan dalam setiap kegiatan;
4. Semua guru-guru yang telah mendidik dan memberikan ilmunya, terimakasih yang tak terhingga atas ilmu yang diberikan;
5. Almamater Universitas Jember.

## **MOTTO**

**“Kita boleh dilahirkan sebagai orang miskin,  
tapi kita harus mati sebagai orang kaya”**

**(George Soros)**

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Frengky Hermawan Hadi Prasetyo

NIM : 081510501149

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Karakterisasi Fisiologis Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Transgenik Overekspresi Gen *SoSPSI* dan *SoSUTI*”** adalah benar-benar hasil karya 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, 28 Januari 2013

Yang Menyatakan,

Frengky Hermawan Hadi Prasetyo

NIM. 081510501149

**SKRIPSI**

**KARAKTERISASI FISIOLOGIS TANAMAN TOMAT  
(*Lycopersicon esculentum* Mill.) TRANSGENIK  
OVEREKSPRESI GEN *SoSPS1* dan *SoSUT1***

**Oleh:**

**Frengky Hermawan Hadi Prasetyo  
081510501149**

**Pembimbing:**

**Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP.  
NIP. 19650425 199002 2.002**

**Dosen Pembimbing Anggota : Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr. Sc.  
NIP. 19551022 198212 1.001**

## PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “Karakterisasi Fisiologis Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Transgenik Overekspresi Gen *SoSPS1* dan *SoSUT1*” telah diuji dan disahkan pada :

Hari : Senin

Tanggal : 28 Januari 2013

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji

Penguji I,

Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP.  
NIP. 19650425 199002 2.002

Penguji II,

Penguji III,

Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr. Sc  
NIP. 19551022 198212 1.001

Tri Handoyo, SP.,Ph.D.  
NIP. 19711202 199802 1.001

Mengesahkan

Dekan,

Dr. Ir. Jani Januar, M.T.  
NIP. 19590102 198803 1.002

## RINGKASAN

**Karakterisasi Fisiologis Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Transgenik Overekspresi Gen *SoSPS1* dan *SoSUT1*.** Frengky Hermawan Hadi Prasetyo. 081510501149. 2013. Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Pertumbuhan dan perkembangan tanaman ditentukan oleh laju fotosintesis dan hasil akhir dari fotosintesis adalah sukrosa dan pati. Selanjutnya hasil fotoasimilat yang berupa sukrosa kemudian ditranslokasikan ke seluruh bagian tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Proses metabolisme karbohidrat menjadi sukrosa tersebut melibatkan peran UDP-glucose dan sucrose phosphate synthase (SPS), sedangkan translokasi sukrosa dari *source* ke *sink* dikendalikan oleh protein sucrose transporter (SUT). SPS merupakan enzim yang berfungsi untuk mengkatalis fruktosa-6-phosphate dan UDP-Glucose menjadi sucrose-6-phosphate. Sedangkan Sucrose Transport (SUT) merupakan protein membran yang berperan penting dalam akumulasi sukrosa pada tanaman. Transformasi pada tanaman tomat dengan penambahan gen *SPS* akan menyebabkan peningkatan biosintesis sukrosa, sedangkan penambahan *SUT* akan meningkatkan translokasi sukrosa dari *source* ke *sink*. Transformasi gen *SPS* dan *SUT* pada tanaman tomat bertujuan agar tanaman tomat mengalami *overekspresi* ganda *SPS* dan *SUT*. Pada penelitian sebelumnya telah didapatkan tanaman dari hasil transformasi *overekspresi* gen *SPS* dan *SUT*, namun bagaimana pengaruh *overekspresi SoSPS1* dan *SoSUT1* dalam meningkatkan kandungan protein SPS dan SUT, sintesis dan translokasi sukrosa perlu diteliti. Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah untuk mengetahui karakter fisiologis tanaman tomat transgenik *overekspresi* gen *SoSPS1* dan *SoSUT1*.

Penelitian ini dilaksanakan dengan beberapa metode yaitu: 1) penanaman tanaman tomat transgenik dan kontrol, 2) isolasi tanaman genom, 3) analisis PCR, 4) ekstraksi protein SPS dan SUT, 5) analisis *western blot*, 6) analisis kandungan sukrosa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari semua tanaman tomat putatif transgenik yang dianalisis ternyata hanya *event 4.4* yang terdeteksi *overekspresi* ganda gen *SoSPS1* dan *SoSUT1*. Tidak terdeteksinya sebagian tanaman yang dianalisis menyebabkan analisis lebih difokuskan pada tanaman tomat yang terdeteksi positif. Pada analisis *western blot* membuktikan bahwa gen *SoSUT1* maupun *SoSPS1* yang diinsersikan ke dalam genom tanaman tomat dapat diekspresikan pada tingkat translasi sehingga dapat meningkatkan kandungan protein SPS maupun SUT. Selanjutnya pada analisis lainnya terbukti bahwa dengan *overekspresi* ganda gen *SoSPS1* dan *SoSUT1* dapat meningkatkan kandungan sukrosa daun dan buah, pertumbuhan serta produksi tanaman tomat transgenik.

Kata Kunci : Tomat (*Lycopersicon esculentum*), *Sucrose Phosphate Synthase (SPS)*, *Sucrose Transporter (SUT)*, *Overekspresi*, *Biosintesis Sukrosa*, *Translokasi Sukrosa*.



## SUMMARY

**Characterization of Physiologies Tomato Plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Transgenic Over Expression *SoSPS1* and *SoSUT1* Genes.** Frengky Hermawan Hadi Prasetyo. 081510501149. 2013. Department of Agrotechnology, Agriculture Faculty, University of Jember.

The growth and development of plants are determined by the rate from photosynthesis and the end result of this are sucrose and starch. Furthermore, the results in the form of sucrose fotoasimilat then transported to all parts of the plant for growth and development. Metabolism of Carbohydrate to sucrose involves the role for *UDP-glucose* and *sucrose phosphate synthase* (SPS), whereas translocation of sucrose from source to sink is controlled by a protein *sucrose transporter* (SUT). SPS is an enzyme which has function to catalyze fructose-6-phosphate and UDP-glucose into *sucrose-6-phosphate*. While *Sucrose Transport* (SUT) is a membrane protein that plays an important role in the accumulation of sucrose in plants. Transformation on tomato plants with the addition of SPS genes will lead to an increase in the biosynthesis of sucrose, while the addition of the SUT will enhance the translocation of sucrose from source to sink. Transformation of SPS and SUT genes in tomato plants have aim to double overexpression of SPS and SUT in them. Previous studies have found plants from transformation overexpression *SPS* and *SUT* genes, but the effect of overexpression from *SoSPS1* and *SoSUT1* in increasing the protein content for SPS and SUT, synthesis and translocation sucrose need to be investigated.

The methods that used in this research are: 1) Planting Transgenic tomato plant and control, 2) Isolation of DNA genome, 3) PCR analysis, 4) Extraction of SPS and SUT Protein, 5) *Western blot* analysis, 6) sucrose analysis.

The results showed that of all the tomato were analyzed putative Transgenic 4.4 event was only detected overexpression of multiple *SoSUT1* and *SoSPS1* genes. No detection of some plants were analyzed, there for this analysis focused on tomato plants were detected positive. Overexpression multiple of *SoSPS1* and *SoSUT1* genes can increase the content of sucrose, growth and production of Transgenic tomato plants.

**Keywords:** *Tomato (Lycopersicon esculentum)*, *Sucrose Phosphate Synthase* (SPS), *Sucrose Transporter* (SUT), Overexpression, biosynthesis of sucrose, translocation of Sucrose

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Fisiologis Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Transgenik Overekspresi Gen *SoSPSI* dan *SoSUTI*”. Penelitian ini dibiayai oleh “MP3EI dari DIKTI Tahun 2012 dan PT. Perkebunan XI (Persero)”

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Ibunda Sri Suhartini, Ayahanda Moch. Ali, serta Kakakku Devi Rosaria Margareta Anggraini, Sp.d. tercinta, yang selalu memberikan doa, kasih sayang, semangat, dan motivasi sepanjang perjalanan hidupku sampai sekarang.
2. Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP., selaku dosen pembimbing utama dan Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc selaku dosen pembimbing anggota yang dengan penuh kesabaran memberikan pengarahan, saran, dan bimbingan dalam penelitian maupun penulisan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati, MS., selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Keluarga besar BIOMOL dan pihak-pihak lain yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu dan memberi semangat selama di kampus.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan karya ilmiah tertulis ini masih terdapat banyak kekurangan, untuk itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi penyempurnaan karya ilmiah tertulis ini. Semoga Karya Ilmiah Tertulis ini bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi perkembangan ilmu pertanian.

Jember, Januari 2013

Penulis

## 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 PEMBIMBINGAN</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>viii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Perumusan Masalah</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3 Tujuan dan Manfaat</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3.1 Tujuan</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3.2 Manfaat</b> .....	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1 Proses Asimilasi Karbon Pada Tanaman Tomat</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2 Peranan <i>Sucrose Phosphate Synthase</i> (SPS) dalam Sintesis Sukrosa</b> .....	<b>5</b>
<b>2.3 Peranan <i>Sucrose Transport</i> (SUT)</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1 Hipotesis</b> .....	<b>7</b>
<b>BAB 3. METODOLOGI</b> .....	<b>8</b>
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	<b>8</b>
<b>3.2 Bahan dan Alat</b> .....	<b>8</b>

3.3 Metode Percobaan .....	8
3.4 Prosedur Penelitian .....	9
3.4.1 Penanaman Tanaman Tomat Transgenik dan Kontrol .....	9
3.4.2 Isolasi DNA Genom .....	9
3.4.3 Analisis Polimerase Chain Reaction (PCR) .....	10
3.4.4 Ekstraksi Protein SPS dan SUT .....	11
3.4.5 Analisis Western Blot .....	11
3.4.6 Analisis Kandungan Sukrosa .....	12
3.5 Parameter Penelitian .....	13
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>14</b>
4.1 Kondisi Umum Penelitian .....	14
4.2 Konfirmasi Tanaman Tomat Transgenik gen <i>SoSPSI</i> dan <i>SoSUT1</i> .....	14
4.3 Hasil Analisis <i>Western Blot</i> .....	16
4.4 Analisa Kandungan Sukrosa Daun dan Buah .....	17
4.5 Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Tomat Transgenik .....	20
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>23</b>
5.1 Kesimpulan .....	23
5.2 Saran .....	23
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>24</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>28</b>

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Siklus Calvin Benson .....	4
2.2 Sintesis Sukrosa dan Hubungannya Dengan Siklus Calvin .....	6
4.1.1 Elektroforesis 1% gel agarose DNA hasil PCR menggunakan pasangan primer <i>hptII-2F/2R</i> .....	15
4.1.2 Elektroforesis 1% gel agarose DNA hasil PCR menggunakan pasangan primer <i>nptII-F/R</i> .....	15
4.2.1 Hasil analisis <i>western blot</i> protein SUT .....	16
4.2.2 Hasil analisis <i>western blot</i> protein SPS .....	17
4.3.1 Kandungan sukrosa daun pada tanaman tomat transgenik dan kontrol .....	18
4.3.2 Kandungan sukrosa buah pada tanaman tomat transgenik dan kontrol .....	19
4.4.1 Tinggi tanaman pada tanaman tomat transgenik dan tanaman kontrol	20
4.4.2 Persentase bunga jadi Buah .....	21
4.4.3 Berat buah total pertanaman dan berat rata-rata per buah pada tanaman tomat Transgenik dan tanaman kontrol .....	21

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1 Pembuatan Standart Sukrosa .....	28
Lampiran 2 Kurva Standart Sukrosa .....	29
Lampiran 3 Hasil Pengukuran Kandungan Sukrosa .....	30
Lampiran 4 Contoh Perhitungan Kandungan Sukrosa .....	31
Lampiran 5 Hasil Pengamatan Agronomis .....	32
Lampiran 6 Metode Untuk Deteksi Keberadaan Gen <i>SoSPS1</i> dan <i>SoSUT1</i> Isolasi DNA Genom .....	33

## DAFTAR SINGKATAN

ADP	: Adenosine diphosphate
ATP	: Adenosine triphosphate
BCIP	: 5 bromo-4-chloro-3-indolyphosphate
bp	: Basepair
DNA	: Deoxyribonucleic acid
DTT	: <i>Dithiothreitol</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
<i>hptII</i>	: <i>hygromycin phosphotransferaseII</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NBT	: <i>nitro-blue tetrazolium chloride</i>
<i>nptII</i>	: <i>neomycin phosphotransferaseII</i>
OPT	: Organisme Pengganggu Tumbuhan
PCI	: <i>Phenol Chloroform Isoamylalcohol</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PSMF	: <i>Phenilmethilsulvinil fluoride</i>
PVP	: <i>Polyvinylpyrrolidone</i>
SDS-PAGE	: <i>Sodium Dodecyl Sulfat - Poliacrylamide Gel Electroforesis</i>
SPS	: <i>Sucrose Phosphate Synthase</i>
<i>SoSPS1</i>	: <i>Saccharum officinarum Sucrose Phosphate Synthase</i>
<i>SoSUT1</i>	: <i>Saccharum officinarum Sucrose Transport</i>
SUT	: <i>Sucrose Transport</i>
TE	: Tris- EDTA
UDP-glucose	: <i>uridine diphosphate glucose</i>
UTP	: <i>uridylyltransferase</i>
pAct	: <i>Plasmid actin</i>
pKYS	: <i>Plasmid Keyko Sakakibara</i>
mRNA	: messenger-Ribonucleic acid