



**SKRINING DAN UJI STABILITAS GENETIK TEBU PRODUK
REKAYASA GENETIK (PRG) *SoSUTI* BERDASARKAN
PENANDA GEN *hptII***

SKRIPSI

**Oleh
Anna Sofyana
NIM 091510501121**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2014**



**SKRINING DAN UJI STABILITAS GENETIK TEBU PRODUK
REKAYASA GENETIK (PRG) *SoSUTI* BERDASARKAN
PENANDA GEN *hptII***

SKRIPSI

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

Oleh
Anna Sofyana
NIM 091510501121

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2014**

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur alhamdulillah, saya persembahkan skripsi ini kepada:

1. Ibunda Kani Maslukhanah dan Ayahanda Mudjiatno, saya ucapkan terima kasih yang tak terhingga atas segala pengorbanan, nasehat, kasih sayang, dan do'a yang selalu dipanjatkan;
2. Kedua saudaraku, Mukhlis Arif Rahman dan Mirna Ayu Agustin atas semangat yang telah diberikan;
3. Seluruh keluarga besar yang telah banyak memberikan dorongan dan dukungan dalam setiap langkahku;
4. Almamater Universitas Jember.

MOTTO

Pada dasarnya, kekuatan yang anda miliki di dalam diri anda lebih besar
dibanding hambatan yang sedang anda hadapi

(Greg Philips)

Pohon yang kokoh tidak tumbuh seketika, tetapi batang pohon itu menguat seiring
dengan kekuatannya menghadapi angin

(Williard Marriott)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anna Sofyana

NIM : 091510501121

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Skринing dan Uji Stabilitas Genetik Tebu Produk Rekayasa Genetik (PRG) *SoSUTI* Berdasarkan Penanda Gen *hptII*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Penelitian ini dibiayai dari dana penelitian MP3EI tahun 2013 dengan peneliti utama Prof. Dr. Bambang Sugiharto. 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 28 Mei 2014

Yang Menyatakan,

Anna Sofyana

NIM 091510501121

SKRIPSI

**SKRINING DAN UJI STABILITAS GENETIK TEBU PRODUK
REKAYASA GENETIK (PRG) *SoSUT1* BERDASARKAN
PENANDA GEN *hptII***

**Oleh
Anna Sofyana
NIM 091510501121**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP.

Dosen Pembimbing Anggota : Prof. Dr. Bambang Sugiharto

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Skrining dan Uji Stabilitas Genetik Tebu Produk Rekayasa Genetik (PRG) *SoSUT1* Berdasarkan Penanda Gen *hptII*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Pertanian Universitas Jember pada :

Hari :
Tanggal :
Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji

Penguji I,

Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP.
NIP.196504251990022002

Penguji II,

Penguji III,

Prof. Dr. Bambang Sugiharto
NIP.195510221982121001

Dr. Ir. Miswar. M.Si
NIP.19641019199021002

Mengesahkan
Dekan,

Dr. Ir. Jani Januar, MT.
NIP. 195901021988031002

RINGKASAN

Skrining dan Uji Stabilitas Genetik Tebu Produk Rekayasa Genetik (PRG) *SoSUTI* Berdasarkan Penanda Gen *hptII*; Anna Sofyana ; 091510501121 ; 2014 ; 24 halaman ; Program Studi Agroteknologi Universitas Jember.

Tanaman tebu PRG *SoSUTI* merupakan tanaman produk rekayasa genetika yang didapatkan melalui transformasi gen *SoSUTI* ke dalam sel tanaman tebu. Menurut beberapa referensi, tanaman tebu produk rekayasa genetika (PRG) pada T₁ secara genetik masih heterogen dan baru homogen pada T₃. Perbanyakan secara konvensional sulit dilakukan untuk mendapatkan biji tebu pada T₃ karena biji tebu berukuran kecil dan membutuhkan waktu yang lama untuk mendapatkannya. Oleh karena itu, dilakukan skrining secara *in vitro* melalui kultur jaringan. Tanaman yang lolos skrining perlu dilakukan konfirmasi gen untuk mendeteksi keberadaan gen *SoSUTI* sehingga diketahui kestabilan genetiknya.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar Fakultas MIPA Universitas Jember dan *Center Development of Advanced Science and Technology* (CDAST) Universitas Jember pada bulan Januari 2013 sampai Maret 2014. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 6 *event* yang berhasil tumbuh secara *in vitro* yaitu *event* B1.1 ; B3.1 ; C1.1 ; C1.2 ; C2.1 dan C2.3. Telah didapatkan *event* yang lolos skrining antibiotik *hygromycin* dari 6 *event* tebu PRG *SoSUTI*. Enam *event* Tebu PRG *SoSUTI* T₁ yang dikonfirmasi keberadaan gennya merupakan planlet yang memiliki kestabilan genetik, terbukti munculnya pita DNA *hptII* pada ukuran 470 bp.

SUMMARY

Screening and Genetic stability Check of Genetik Modified (GM) Sugarcane *SoSUTI* Based Selectable Marker Gene *hptII*; Anna Sofyana; 091510501121; 2014; 24 Pages; Agrotechnology Study Program; The University of Jember.

GM Sugarcane *SoSUTI* is a kind of sugarcane gained from genetic transformation *SoSUTI* into the sugarcane cells. According to some references, the GM sugarcane on T1 is genetically heterogen and will be homogen on T3. Conventional multiplying is hard to conduct to get new T3 variant because it is small and it needs much time to gain the new variant. Therefore, it is necessary to conduct *in vitro* screening through tissue culture. The plants are gone through from screening need to be done confirm gene to detect the *SoSUTI* genes existence though are known genetic's stability.

The research was conducted at Biology Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Science, The University of Jember and *Center Development of Advanced Science and Technology* (CDAST) The University of Jember from January 2013 to March 2014. The result of the research showed that there were 6 *events* which grew *in vitro*, they are events B1.1; B3.1; C1.1; C1.2; C2.1; and C2.3. It was gained event which had gone through hygromycin antibiotics screening from the 6 event GM sugarcane *SoSUTI*. Six events sugarcane GM *SoSUTI*, in which its gen was confirmed genes existence was plantlet which had genetic stability, it is proved by the emergence of DNA string *hptII* with 470 bp size.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Skrining dan Uji Stabilitas Genetik Tebu Produk Rekayasa Genetik (PRG) *SoSUTI* Berdasarkan Penanda Gen *hptII*”. Penelitian ini dibiayai oleh dana penelitian MP3EI tahun 2013 dengan peneliti utama Prof. Dr. Bambang Sugiharto. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

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

1. Dr. Parawita Dewanti, MP. Selaku dosen pembimbing utama, Prof. Dr. Bambang Sugiharto, selaku dosen pembimbing anggota yang dengan penuh kesabaran memberikan pengarahan, saran, maupun bimbingan dalam penelitian dan penulisan skripsi ini;
2. Dr. Ir. Miswar. M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. Slamet Haryanto, MP (Alm.) dan Ir. Syaifuddin Hasjim, MP. selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing dan memberikan nasehat selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Seluruh keluarga besarku yang telah banyak memberikan motivasi dan dukungan;
5. Dr. Hari Sukarno, MM sekeluarga yang banyak memberikan jasa dan dukungan selama penulis menjadi mahasiswa;
6. Purnama Okviandari, SP, M.P. dan rekan-rekan kerja; Eni Kusriani, Novita Berliana Gunawan, Dina Dwijayanti, Wimbuh Tri Widodo, Fadrian Ramadhan, Rizky Mulana Anur, Ifan Yulianto, para juniorku di CDAST (Aping, Fragaria, Nana, Narita, Wardah, Derta, dll) beserta para seniorku Anandang Ganni SP, Aji Baskoro SP, A. Fudhaili S.Si, Frengky Hermawan HP, SP., Hidayah MN, S.Si., Edia FD, S.Si., Rinda N, S.Si

yang telah memberikan masukan dan semangat selama menjalankan tugas akhir;

7. Teman-teman DNA Community yang telah memberikan kesan, motivasi dan semangat selama kuliah;
8. Seluruh pihak terkait yang tidak bisa disebutkan satu persatu;

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Mei 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat	2
1.3.1 Tujuan	2
1.3.2 Manfaat	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Kultur Jaringan Tebu	3
2.2 Tanaman PRG <i>SoSUTI</i>	4
2.3 Stabilitas Genetik Tanaman PRG	4
2.4 Hipotesis	5
BAB 3. METODE PENELITIAN	6
3.1 Tempat dan Waktu	6
3.2 Bahan dan Alat	6
3.3 Metode Penelitian	7
3.3.1 Alur Penelitian	7

3.4 Pelaksanaan Penelitian	8
3.4.1 Mikropropagasi 12 <i>event</i> tebu PRG <i>SoSUTI</i> dan <i>Wildtype</i>	8
3.4.1.1 Pembuatan Media Tunas Pucuk.....	8
3.4.1.2 Pembuatan Media Tunas Samping.....	8
3.4.1.3 Sterilisasi Laminar dan Eksplan.....	9
3.4.1.4 Penanaman, Perbanyakkan dan Subkultur Eksplan Tanaman <i>In Vitro</i>	9
3.4.2 Skrining	10
3.4.2.1 Pembuatan Media Antibiotik	10
3.4.2.2 Skrining Tanaman PRG	10
3.4.3 Analisis DNA	10
3.4.3.1 Isolasi DNA Genom Tanaman Transforman	10
3.4.3.2 Konfirmasi Gen <i>SoSUTI</i> Berdasarkan Penanda Gen <i>hptII</i>	11
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	12
4.1 Hasil Penelitian	12
4.1.1 Mikropropagasi Tebu PRG <i>SoSUTI</i> pada T1	12
4.1.2 Skrining Planlet Tebu PRG <i>SoSUTI</i> dan <i>Wildtype</i> Menggunakan Antibiotik <i>Hygromycin</i>	13
4.1.3 Konfirmasi Gen <i>SoSUTI</i> Berdasarkan Penanda Gen <i>hptII</i>	17
4.2 Pembahasan.....	17
4.2.1 Mikropropagasi Tebu PRG <i>SoSUTI</i> pada T1	17
4.2.2 Skrining Planlet Tebu PRG <i>SoSUTI</i> dan <i>Wildtype</i> Menggunakan Antibiotik <i>Hygromycin</i>	19
4.2.3 Konfirmasi Gen <i>SoSUTI</i> Berdasarkan Penanda Gen <i>hptII</i>	20
BAB 5. PENUTUP.....	21
5.1 Kesimpulan.....	21

5.2 Saran	21
DAFTAR PUSTAKA	22
LAMPIRAN	25

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 4.1	Hasil mikropropagasi tebu PRG <i>SoSUT1</i> dan <i>wildtype</i>	12
Tabel 4.2	Hasil skrining antibiotik <i>hygromycin 6 event</i> tebu PRG <i>SoSUT1</i> dan <i>wildtype</i>	16

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1	Peta konstrak plasmid pAct- <i>SoSUT1</i> 6
Gambar 4.1	Plantlet yang akan diskriming antibiotik..... 13
Gambar 4.2	Kondisi planlet dan perakaran pada akhir skrining : skrining 1 (a dan b), skrining 2 (c dan d) dan skrining 3 (e dan f)..... 14
Gambar 4.3	Kondisi planlet <i>wildtype</i> pada saat akhir seleksi : (a) seleksi 1, (b) seleksi 2, dan (c) seleksi 3..... 15
Gambar 4.4	Hasil elektroforesis 1% gel agarose DNA 6 event tebu PRG <i>SoSUT1</i> dengan pasangan primer <i>hptII</i> -1F/1R dan <i>template</i> sampel DNA genom planlet tebu. M: Marker, K+: DNA plasmid pAct, K ⁻ : planlet kontrol (<i>wildtype</i>)..... 17
Gambar 4.5	Plantlet yang mengalami stagnansi pertumbuhan : (a) Plantlet yang berasal dari tunas pucuk, (b) Plantlet yang berasal dari tunas samping..... 18

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN A	25
LAMPIRAN B	27