



**TRANSFORMASI TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L. var. BL)
DENGAN GEN *SoSUT1* MENGGUNAKAN *Agrobacterium tumefaciens*
strain GV3101 dan EKSPLAN KALUS**

SKRIPSI

**Oleh:
Anisa Indah Purnamasari
051810401026**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2011**



**TRANSFORMASI TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L. var. BL)
DENGAN GEN *SoSUT1* MENGGUNAKAN *Agrobacterium tumefaciens*
strain GV3101 dan EKSPLAN KALUS**

SKRIPSI

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

Oleh:
Anisa Indah Purnamasari
051810401026

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2011**

PERSEMBAHAN

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

1. ayahanda Suhaimi dan Ibunda Nurhaida serta adik tercinta Emilda Amalia sebagai sumber semangat yang senantiasa mengiringi setiap langkah.
2. kakek dan nenek tercinta yang senantiasa selalu mendoakan dalam setiap langkah.
3. keluarga besar yang telah begitu banyak memberikan dukungan dalam setiap kegiatan.
4. Guru sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi.
5. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

“Dan rendahkanlah dirimu terhadap mereka berdua (orang tuamu) dengan penuh kesayangan dan ucapkanlah: “ Wahai Tuhanku, kasihanilah mereka keduanya, sebagaimana mereka berdua telah mendidik aku waktu kecil”.

(QS.Al-Isra’ 17:24)

Sayangilah ibu bapakmu, karena setangkai bunga mawar yang kau berikan kepada ibumu JAUH LEBIH BAIK dibandingkan 100 mawar yang kau berikan kepada kuburan ibumu ketika ibumu telah tiada.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anisa Indah Purnamasari

NIM : 051810401026

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Transformasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. var. BL) Dengan Gen *SoSUTI* Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101 dan Eksplan Kalus” 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, 22 Februari 2011

Yang Menyatakan,

Anisa Indah Purnamasari

NIM 051810401026

SKRIPSI

**TRANSFORMASI TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L. var. BL)
DENGAN GEN *SoSUT1* MENGGUNAKAN *Agrobacterium tumefaciens*
strain GV3101 dan EKSPLAN KALUS**

**Oleh
Anisa Indah Purnamasari
NIM 051810401026**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr. Sc

Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Sumadi, MS

PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “Transformasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. var. BL) Dengan Gen *SoSUTI* Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101 dan Eksplan Kalus” 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

Ir. Sumadi, MS
NIP 194410061973021001

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP 196404171991032001

Esti Utarti, S.P.M.Si
NIP 197003031999032001

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA., PhD
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

Transformasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. var. BL) Dengan Gen *SoSUTI* Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101 dan Eksplan Kalus; Anisa Indah Purnamasari; 051810401026; 2011; 29 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman yang tumbuh baik di daerah tropis. Tanaman ini termasuk jenis rumput-rumputan dan merupakan tanaman yang ditanam untuk menghasilkan bahan baku gula. Produksi gula di Indonesia hampir seluruhnya berbahan dasar tebu, sehingga perlu adanya pengembangan produktivitas dari tanaman tebu. Usaha peningkatan produktivitas tanaman tebu dapat dilakukan dengan berbagai macam metode, salah satunya adalah rekayasa genetik.

Rekayasa genetika pada tanaman tebu salah satunya dapat dilakukan dengan menggunakan metode transformasi. Transformasi adalah upaya untuk memanipulasi sifat genetik dengan cara mentransfer gen-gen asing yang diisolasi dari tanaman, virus, bakteri atau hewan ke dalam inti sel tanaman (Arencibia *et al.*, 1998). Metode transformasi gen pada tanaman paling banyak menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan tanaman *putative* transforman tebu melalui infeksi *A. tumefaciens* yang membawa gen *Sucrose Transporter (SoSUTI)* dan diharapkan dapat meningkatkan translokasi sukrosa pada tanaman tebu.

A. tumefaciens yang digunakan adalah *A. tumefaciens* strain GV3101 dengan plasmid pACT-*SoSUTI*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gulungan daun muda (*spindle leaf*) yang diambil dari tanaman tebu varietas BL. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu; penyediaan kalus sebagai eksplan, persiapan bakteri *A. tumefaciens*, transformasi *A. tumefaciens* dan Ko-kultivasi, Eliminasi dan Seleksi terhadap tanaman transforman.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa metode transformasi menggunakan *A. tumefaciens* strain GV3101 yang mengandung plasmid pACT-*SoSUT1*, dengan eksplan kalus yang berasal dari gulungan daun muda (*spindle leaf*), mampu menghasilkan tanaman *putative* transforman. Prosentase yang di dapat sebesar 1% dari jumlah eksplan awal dan tanaman *putative* transforman siap untuk diaklimatisasi serta dianalisis keberhasilannya menggunakan PCR.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Transformasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. var. BL) Dengan Gen *SoSUT1* Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* Strain GV3101 dan Eksplan Kalus”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Penelitian ini dibiayai oleh Hibah Kompetensi dengan judul ”Peningkatan Produksi Gula Melalui Overekspresi Gen *Sucrose-Phosphate Synthase* dan *Sucrose Transporter* Protein pada Tanaman Tebu” dengan peneliti utama Prof.Dr.Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc.

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

1. Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc selaku Dosen Pembimbing Utama, Ir. Sumadi, M.S selaku Dosen Pembimbing Anggota, Dra. Dwi Setyati, M.Si. selaku Dosen Penguji I dan Esti Utarti, S.P,M.Si selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
2. Dra. Mahriani, M.Si selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. keluarga besar saya yang telah memberikan dorongan dan doa demi terselesaikannya skripsi ini;
4. Purnama Okviandari, MP dan seluruh keluarga besar Biologi Molekul yang telah memberikan dorongan, semangat dan senantiasa mengiringi selama menjalankan tugas akhir;
5. Andi Hari Wibowo, S.Sos yang telah memberikan doa, semangat, dukungan dan waktu demi terselesaikannya skripsi ini;
6. para sahabat dan rekan kerja: Restu Prasetya R, Diana Novita S.Si, Hilda Safitri S.Si, M. Ubaidillah S.Si, Ryza Aditya Priatama S.Si, Bernet Agung

Saputra, Tri Ratnasari S.Si, Septyan Christanto atas segala bantuan dan motivasi yang diberikan;

7. keluarga Bapak Misiran dan Ibu Puji hartatik yang telah memberikan doa, dukungan serta semangat;
8. seluruh keluarga biologi angkatan 2005 yang telah menambah warna hidup selama ini;
9. semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini dan tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, Februari 2011

Penulis

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.3.1 Prosentase jumlah eksplan kalus yang berhasil ditransformasi menggunakan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> yang sudah disisipi gen <i>SoSUT1</i>	20

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1.1 Mekanisme translokasi sukrosa dari <i>source</i> ke <i>sink</i>	4
2.2.1 Konstruk pACT yang telah disisipi gen penyandi enzim <i>Sucrose Transporter (SoSUT1)</i> dan gen ketahanan terhadap <i>hygromycin</i>	5
2.2.2 Hasil PCR yang menunjukkan keberadaan plasmid pACT.....	6
2.4.1 Proses transfer T-DNA dari <i>Agrobacterium</i> ke sel tanaman.....	9
4.1.1 Pucuk daun tebu varietas BL.....	17
4.1.2 Eksplan kalus berumur 21 hari.....	17
4.2.1 Ko-kultivasi eksplan kalus selama dalam kondisi gelap	18
4.2.2 Eksplan kalus pada tahapan Eliminasi.....	19
4.3.1 Perkembangan pertumbuhan eksplan kalus tebu pada media seleksi.....	22
4.3.2 Tanaman <i>putative</i> transforman berumur 137 hari setelah sub kultur pada media free hormone.....	23

DAFTAR SINGKATAN

BAP	= <i>6-benzyl amyno purin</i>
BL	= Bulu Lawang
CC	= <i>Companion Cell</i>
2,4-D	= <i>2,4 diclorophenoxyacetic acid</i>
LB	= Left Border
GA	= <i>gibberelin acid</i>
MS	= <i>murashige and skoog</i>
RB	= Right Border
SPS	= <i>Sucrose Phosphat Synthase</i>
SoSUT1	= <i>Saccharum officinarum Sucrose Transproter 1</i>
SUT	= <i>Sucrose Transporter</i>
T-DNA	= Transfer DNA
Var	= varietas
CC	= <i>Companion Cell</i>

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Komposisi Larutan Stok MS Modifikasi.....	30
B. Foto Eksplan <i>Spindle Leaf</i>	31
C. Foto Hasil <i>streak plate</i> dan starter <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	32

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR ISI.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Batasan Masalah	2
1.3 Rumusan Masalah	3
1.4 Tujuan dan Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Sucrose Transporter</i> (SUT).....	4
2.2 Transformasi gen <i>Sucrose Transporter</i> (<i>SoSUT1</i>) ke dalam <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	5
2.3 <i>Agrobacterium tumefaciens</i>.....	6
2.4 Transformasi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ke dalam Tanaman Monokotil.....	7

BAB 3. METODE PENELITIAN	11
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	11
3.2 Alat dan Bahan.....	11
3.3 Prosedur Penelitian	12
3.3.1 Penyediaan Kalus Sebagai Eksplan	12
3.3.2 Persiapan Bakteri <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	12
3.3.3 Transformasi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> dan Ko-kultivasi....	13
3.3.4 Eliminasi <i>Agrobacterium</i> dan Seleksi Tanaman Transforman..	14
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1 Hasil Penyediaan Kalus Sebagai Eksplan	15
4.2 Hasil Transformasi <i>Agrobacterium</i> dan Ko-kultivasi	18
4.3 Hasil Seleksi Tanaman Transforman	20
BAB 5. PENUTUP	25
5.1 Kesimpulan	25
5.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	30