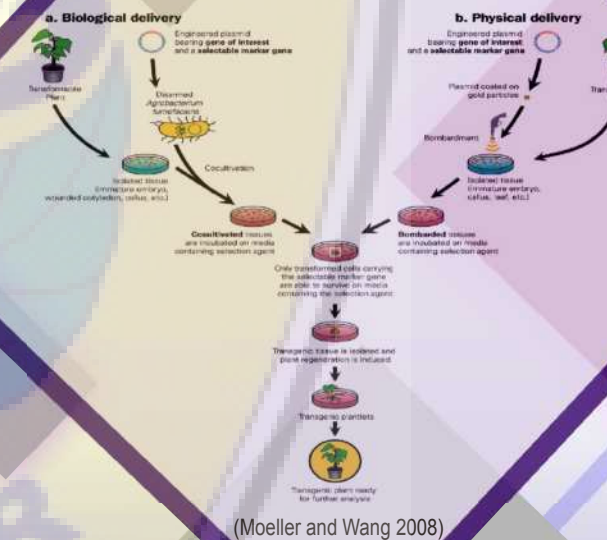


Monograf

# REKOMBINASI DNA TRANSFORMASI GEN METODE AGROBACTERIUM DAN BOMBARDMENT



Anggota APPTI No. 036/KTA/APPT/2015

Anggota IKAPI No. 127/JTI/2011

Jember University Press  
Jl. Kalimantan 37 Jember 68121  
Telp. 0331-330224, psw. 0319  
E-mail: [upt-penerbitan@unej.ac.id](mailto:upt-penerbitan@unej.ac.id)

ISBN 978-623-7226-96-3



Membangun Generasi  
Menuju Insan Berprestasi

Penulis  
Sholeh Avivi  
Fariza Oktaviani  
Syafira Fatihatul Husna

Monograf

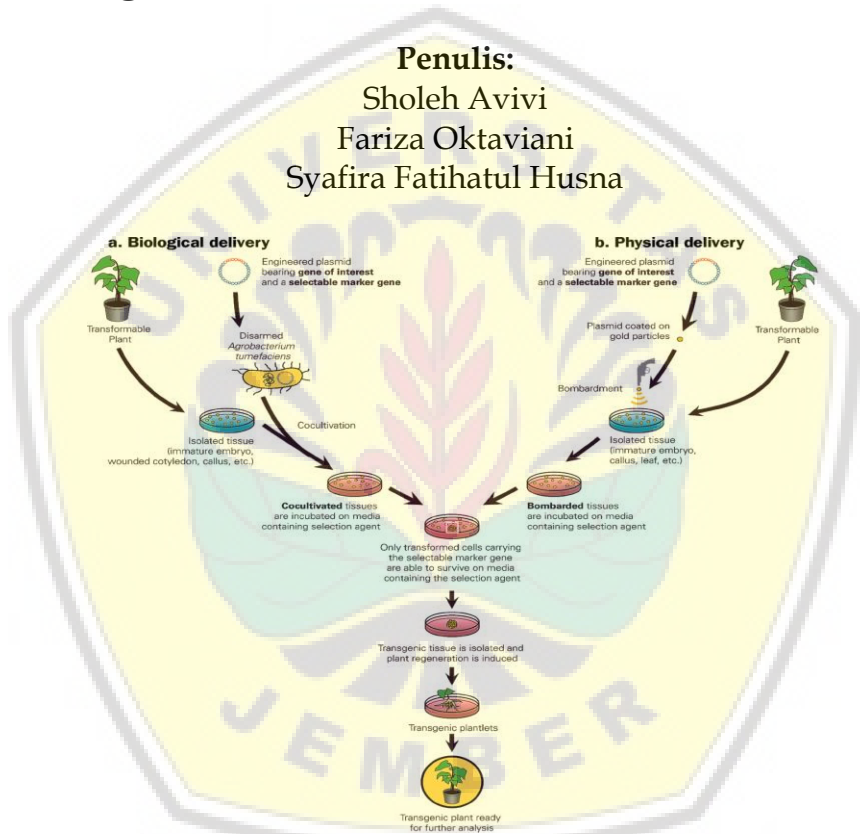
# Rekombinasi DNA Transformasi Gen Metode Agrobacterium dan Bombardment

Penulis:

Sholeh Avivi

Fariza Oktaviani

Syafira Fatihatul Husna



(Moeller and Wang 2008)

UPT PENERBITAN DAN PERCETAKAN  
UNIVERSITAS JEMBER

2020

## **Rekombinasi DNA Transformasi Gen Metode Agrobacterium dan Bombardment**

### **Penulis:**

Sholeh Avivi  
Fariza Oktaviani  
Syafira Fatihatul Husna

**Desain Sampul dan Tata Letak**  
Risky Fahriza, M. Arifin, M. Hosim

**ISBN:** 978-623-7226-96-3

**Penerbit:**  
UPT Percetakan & Penerbitan Universitas Jember

**Redaksi:**  
Jl. Kalimantan 37  
Jember 68121  
Telp. 0331-330224, Voip. 00319  
*e-mail:* [upt-penerbitan@unej.ac.id](mailto:upt-penerbitan@unej.ac.id)

**Distributor Tunggal:**  
UNEJ Press  
Jl. Kalimantan 37  
Jember 68121  
Telp. 0331-330224, Voip. 0319  
*e-mail:* [upt-penerbitan@unej.ac.id](mailto:upt-penerbitan@unej.ac.id)

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang. Dilarang memperbanyak tanpa ijin tertulis dari penerbit, sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun, baik cetak, *photoprint*, maupun *microfilm*.

## PRAKATA

Alhamdulillah penulis beserta tim mengucapkan syukur dan segala puji kepada Allah SWT. Atas limpahan pertolongan, rahmat dan kesehatan dari Allah Penulis dapat menyelesaikan Buku Monograf “Rekombinasi DNA Transformasi Gen Metode Agrobacterium dan Bombardment”.

Tujuan dari penyusunan buku ini adalah menyediakan buku referensi bioteknologi berbahasa Indonesia terutama untuk mahasiswa yang berminat terhadap rekayasa genetika. Ruang lingkup buku ini berisi tentang: Seleksi Galur Murni, Hibridisasi, Mutasi, Poliploidi, Transformasi Genetik, Aplikasi Rekayasa Genetik Tanaman, Transformasi dengan Particle Bombardment, Transformasi dengan Bantuan Agrobacterium, Karakter Agrobacterium, Kekurangan dan Kelebihan Transformasi Genetik dengan Bantuan Agrobacterium dan Particle Bombardment.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Wahyu Indra Duwi Fanata SP., M.Sc., Ph.D., atas kata pengantar dan saran-saran untuk memperbaiki kekurangan Buku Referensi ini hingga siap cetak dan sampai ke tangan pembaca.
2. Semua pihak yang terlibat dalam bedah buku dan dalam penyelesaian buku ini.

Akhir kata, semoga buku ini dapat membantu mencerahkan dan bermanfaat bagi Penulis khususnya serta pembaca pada umumnya.

## KATA PENGANTAR

Buku Monograf “Rekombinasi DNA Transformasi Gen Metode Agrobacterium dan Bombardment”, ini melengkapi kekurangan literasi yang berkaitan dengan Bioteknologi berbahasa Indonesia.

Saya menyambut baik hadirnya buku ini. Transformasi gen dengan bantuan Agrobacterium dan Partikel Bombardment merupakan metode transformasi genetik yang banyak digunakan para peneliti untuk mendapatkan tanaman transgenik. Terutama metode transformasi dengan bantuan Agrobacterium, telah sering digunakan di Universitas Jember tetapi buku yang membahas tentang bagaimana Agrobacterium mampu melakukan transformasi T-DNA yang menjadi target peneliti belum banyak dibahas. Peran gen vir dalam membantu proses transformasi T-DNA ke dalam genom tanaman cukup detail dibahas di dalam buku ini.

**Wahyu Indra Duwi Fanata SP., M.Sc., Ph.D.,**

## Daftar Isi

<b>PRAKATA</b> .....	<b>iii</b>
<b>Daftar Isi</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>ix</b>
<b>REKOMBINASI DNA PADA TANAMAN</b> .....	<b>10</b>
1. Pendahuluan.....	10
2. Seleksi Galur Murni.....	11
3. Hibridisasi.....	17
4. Mutasi.....	22
5. Poliploidi.....	23
6. Transformasi DNA.....	26
7. Aplikasi Rekayasa Genetik Pada Tanaman.....	32
8. Transformasi Genetik dengan Bantuan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> dan Partikel Bombardment.....	32
9. Transformasi dengan <i>Particle Bombardment</i> .....	34
10. Transformasi dengan Bantuan <i>Agrobacterium</i> .....	38
11. Karakter <i>Agrobacterium</i> .....	39
12. Kekurangan dan Kelebihan Transformasi Genetik dengan Bantuan <i>Agrobacterium</i> dan <i>Particle Bombardment</i> .....	50
13. Kesimpulan.....	52
<b>DAFTAR ISTILAH/GLOSARIUM</b> .....	<b>59</b>
<b>INDEKS (HALAMAN)</b> .....	<b>62</b>

## DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1. Bagan seleksi galur murni tanaman hasil selfing ..... 13
- Gambar 2. Teknologi haploid ganda (Double Haploid/DH). A. Perbandingan antara teknologi haploid ganda (DH) dengan metode konvensional pemuliaan silang sendiri (selfing). (B). Diagram alur dari 3 metode umum untuk memperoleh tanaman dengan pemuliaan Double Haplo: kultur anther, kultur microspore, dan eliminasi kromosom. CD, kromosom di gandakan dengan zat kimia; (C) kultur anther pada gandum. a. anther dari bunga, b. kultur anther pada media, c. pembentukan kalus, d. inisiasi diferensiasi, e. pembentukan tunas dan akar..... 16
- Gambar 3. Hibridisasi microspora dan macrospora ..... 18
- Gambar 4. Penyerbukan dengan alat bantu kuas dan spuit pada Salak..... 21
- Gambar 5. Hasil Mutasi Tanaman Kacang Merah..... 23
- Gambar 6. Observasi sitologi pada sel induk pollen  $2n$  (pollen mother cells/PMCs) yang telah diberi perlakuan colchicine (tanda panah) dan pollen yang secara alami sudah  $2n$  pada tanaman *Populus canescens*. (A) Leptotene. (B) Pachytene. (C) Diplotene. (D) Diakinesi (E) Metaphase I. (F) pollen  $2n$  (tanda panah) yang dihasilkan dari perlakuan Colchicine yang diberikan pada fase pachytene. (G) pollen  $2n$  natural tanaman control (tanda panah). Skala bar =  $10.0 \mu\text{m}$  (A-E) dan  $20.0 \mu\text{m}$  (F,G)..... 24
- Gambar 7. Analisis Flow cytometric Dan perhitungan jumlah kromosom somatic dari pollen setelah diberi perlakuan colchicine (skala bar =  $20 \mu\text{m}$ ). (A) Analisis Flow cytometric dari campuran sel tanaman diploid dan triploid. (B) Jumlah kromosom tanaman diploid ( $2n = 2x = 38$ ); (C) jumlah kromosom tanaman triploid ( $2n = 3x = 57$ )..... 25

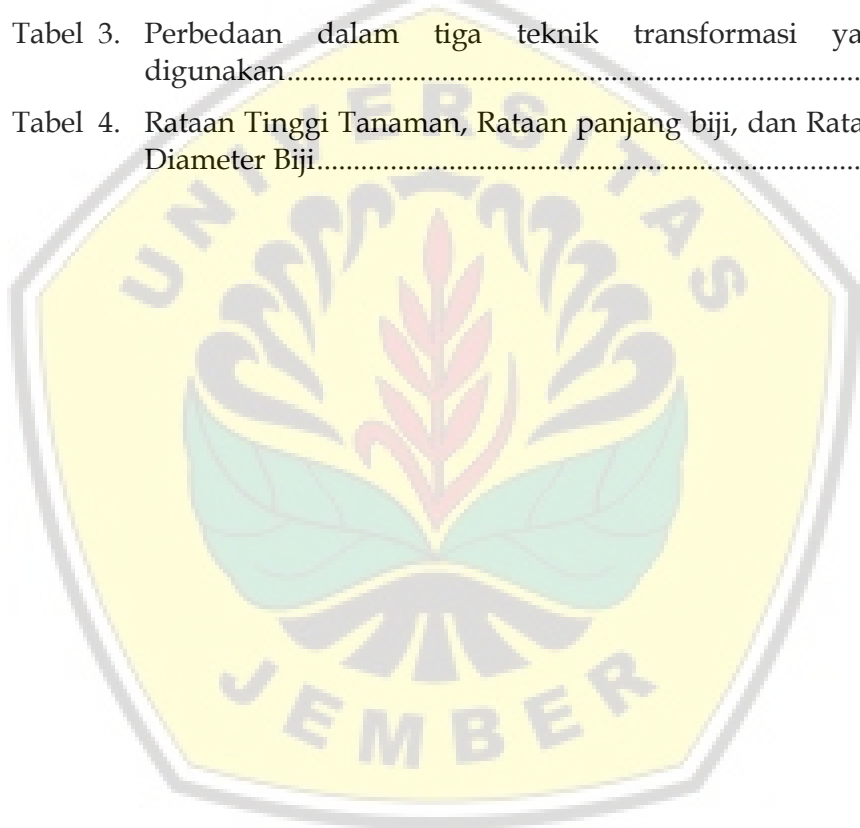
Gambar 8. Peta konstruk plasmid pKYS-SoSPS1 yang mengandung gen SoSPS1 dan gen NPTII yang merupakan gen ketahanan terhadap antibiotik kanamisin .....	30
Gambar 9. (a) Penghasilan kalus pada medium regenerasi yang mengandung antibiotik 250 mg/L cefotaksim.....	31
Gambar 10. Konstruksi plasmid yang digunakan untuk partikel bombardmen (kiri atas) dan beberapa contoh lokasi sebaran GFP dan protein DsRed setelah di lakukan pertikle bombardment pada tabakau, Arabidopsis, atau sel epidermal daun (Kanan dan Bawah kotak panel pl plasmid). Panel kiri atas menunjukkan diagram plasmid pada E. coli dengan beberapa variasi rekombinasi gen yang di insersikan di antara sekuen promotor dan terminator tanaman. Bagian atas dan bawah panel menunjukkan sel epidermis yang mengekspresikan GFP yang difusikan dengan N-terminal 30, 100 asam amino, protein resisten terhadap penyakit, 70 asam amino ujung C dari RIN4 (protein target dari effector Pseudomonas syringae Arabidopsis dan di pandu RPS2 and RPM1 protein resistance proteins). Fusi protein GFP ini menunjukkan ekspresi GFP pada lokasi subseluler yang berbeda seperti pada plasma membrane (PM), Golgi apparatus, tonoplast, and endoplasmic reticulum (ER) pada sel epidermis daun tanaman yang berbeda. STtmd:DsRed di ekspresikan bersama dengan L6-100N:GFP untuk di ekspresikan di Golgi apparatus. STtmd merupakan, transmembrane domain dan sekuen signal anchor dari rat 2,6-sialyl transferase. GFP sendiri di lokalisasi di sitosol dan nucleus.....	33
Gambar 11. Skema Pengeboman Partikel .....	35
Gambar 12. Langkah kerja pengeboman partikel pada tanaman ...	37
Gambar 13. Agrobacterium tumefaciens sebagai vektor transformasi genetik.....	40
Gambar 14. Asetosiringone.....	41



- Gambar 15. Transformasi dengan *A. tumefaciens* dan penembakan partikel pada tanaman ..... 43
- Gambar 16. Penggunaan *Agrobacterium tumefaciens* sebagai vektor transformasi genetik..... 46
- Gambar 17. Tahapan proses transformasi gen dengan bantuan *Agrobacterium* pada tanaman. (1) *Agrobacterium* mendekati sel tanaman (2) Sinyal metabolit yang di ekskresikan tanaman mengaktifkan genes virulens dari *Agrobacterium* membuat *agrobacterium* mendekati dan menginfeksi sel tanaman (3) T-DNA di transportasikan dengan bantuan protein virulen dari *Agrobacterium* ke sel tanaman (4) Inti mengimpor T-DNA dan protein efektor ke sel tanaman (5) T-DNA terintegrasi dan terekspresi di dalam genom sel tanaman ke sel tanaman..... 47
- Gambar 18. Regenerai tunas dari hipokotil tanaman cv. "Madaras" di inokulasi dengan 2 metode yang berbeda (a) metode inokulasi pertama (b) Metode inokulasi kedua pada media seleksi 4 minggu setelah inisiasi. Metode kedua menampakkan keberhasilan lebih baik. .... 48
- Gambar 19. Ekspresi GUS pada galur tertransformasi. A. ekspresi GUS pada kalus kompak, 10  $\mu\text{M}$   $\text{AgNO}_3$  di tambahkan pada kokultifasi media. B. Planlet transgenic hasil regenerasi menunjukkan ekspresi GUS yang kuat. C. 12 galur transgenic independen menunjukkan ekspresi GUS. D. Planlet transgenic di media perakaran dengan media WPM ditambah 135 mg L<sup>-1</sup> kanamycin. Planlet menunjukkan perakaran yang kuat dengan banyak akar rambut pada media seleksi..... 49

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Presentase Karakter Kualitatif 3 Populasi F2 Tanaman Cabai Besar.....	15
Tabel 2. Ringkasan keuntungan dan kerugian metode transformasi DNA pada tanaman.....	27
Tabel 3. Perbedaan dalam tiga teknik transformasi yang digunakan.....	29
Tabel 4. Rataan Tinggi Tanaman, Rataan panjang biji, dan Rataan Diameter Biji.....	32



## REKOMBINASI DNA PADA TANAMAN

### 1. Pendahuluan

Perubahan iklim merupakan faktor utama yang terjadi di Indonesia. Adanya perubahan iklim memberikan dampak buruk bagi pertanian khususnya tanaman, yaitu timbulnya beragam hama dan penyakit, gulma yang tidak terkendali, hingga nematode parasit tanaman, sehingga perlu dilakukannya aplikasi rekayasa/rekombinasi DNA. Rekayasa genetika dengan teknologi rekombinasi DNA merupakan proses dimana gen organisme di kombinasikan ulang dimodifikasi sedemikian rupa untuk meningkatkan karakteristiknya digunakan untuk menghasilkan tanaman yang memiliki tingkat ketahanan atau nilai gizi lebih. Rekayasa genetika adalah ilmu mengkombinasikan kembali susunan DNA (rekombinasi DNA) menjadi susunan DNA yang baru dengan cara merubah susunan DNA (menghilangkan dan atau menambahkan DNA) untuk menambahkan karakter yang baru pada tanaman yang sebelumnya tidak ada di dalam tanaman. Kehadiran teknologi rekombinasi DNA ini membantu para pemulia menambahkan sifat baru ke dalam genom tanaman yang sebelumnya tidak dapat dilakukan di sebabkan adanya inkompatibilitas seksual. Teknik rekombinasi DNA memungkinkan peneliti memanipulasi gen asing organisme lain ke dalam genom tanaman sekalipun secara seksual inkompatibel. Gen yang disisipkan dapat berasal dari bakteri, fungi, hewan, bahkan dari manusia (Herman 2016).

Teknologi rekayasa genetik (teknologi rekombinasi DNA) digunakan untuk memperbaiki sifat tanaman melalui modifikasi genetika untuk tujuan mendapatkan tanaman yang mempunyai sifat baru dan unggul. Teknologi rekombinasi DNA mengembangkan dan memanfaatkan teknik isolasi dan mentransfer gen yang mengekspresikan sifat yang diinginkan ke tanaman transgenik. Adanya teknologi rekombinasi DNA dapat menghasilkan tanaman atau organisme transgenik yang mempunyai sifat baru seperti ketahanan terhadap serangan hama dan penyakit serta ketahanan terhadap stress abiotik maupun biotik (Susilo 2019). Maka untuk meningkatkan produktivitas

## DAFTAR PUSTAKA

- Agostini, S., JM. Desjobert, and G. Pergent. 1998. "Distribution of Phenolic Compounds in the Seagrass *Posidonia Oceanica*." *Phytochemistry* 48 (4): 611-17.
- Anand, Ajith, Zarir Vaghchhipawala, Choong Min Ryu, Li Kang, Keri Wang, Olga Del-Pozo, Gregory B. Martin, and Kirankumar S. Mysore. 2007. "Identification and Characterization of Plant Genes Involved in Agrobacterium-Mediated Plant Transformation by Virus-Induced Silencing." *Molecular Plant-Microbe Interactions* 20 (1): 41-52. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-0041>.
- Ariefa, AR., Respatijarti, SL Purnamaningsih. 2018. "Pendugaan Nilai Heritabilitas Tujuh Genotipe Cabai Rawit (*Capsicum Frutescens* L.) Generasi Ke 2 Hasil Seleksi Galur Murni." *Jurnal Produksi Tanaman* 6 (9): 2038-44.
- Dewanto, HA., and S. Suhandono. 2016. "Transformasi Menggunakan *Agrobacterium Tumefaciens* Pada Tunas Daun *Kalanchoe Mortagei* Dan *Kalanchoe Daigremontiana* 1 Dan 2." *Chimica et Natura Acta* 4 (2): 97. <https://doi.org/10.24198/cna.v4.n2.10679>.
- Dwiyani, R., H. Yuswanti, IS. Mercuriani, and E. Semiarti. 2017. "Transformasi Gen Pembungaan Melalui *Agrobacterium Tumefaciens* Secara In-Vitro Pada Tanaman Anggrek *Vanda Tricolor*." *Agrotrop: Journal on Agriculture Science* 6 (1): 83-89.
- Fadilla, Zulva Nur, and Dan Respatijarti. 2018. "Induksi Poliploidi Pada Bawang Putih (*Allium Sativum* L.) Dengan Pemberian Kolkisin Polyploid." *Jurnal Produksi Tanaman* 6 (5): 783-90.
- Florencio, Camille Silva, Fabiana Alves Silva Brandão, Marcus de Mello Teixeira, Anamélia Lorenzetti Bocca, Maria Sueli S. Felipe, Vânia Aparecida Vicente, and Larissa Fernandes. 2018. "Genetic Manipulation of *Fonsecaea Pedrosoi* Using Particles Bombardment and *Agrobacterium* Mediated Transformation." *Microbiological Research* 207 (January): 269-79. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.001>.

- Gelvin, Stanton B. 2000. "Agrobacterium and Plant Genes Involved in T-DNA Transfer and Integration." *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 51: 223-56. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.51.1.223>.
- Gohlke, Jochen, and Rosalia Deeken. 2014. "Plant Responses to Agrobacterium Tumefaciens and Crown Gall Development." *Frontiers in Plant Science* 5 (APR): 1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00155>.
- Hayta, Sadiye, Mark A. Smedley, Jinhong Li, Wendy A. Harwood, and Philip M. Gilmartin. 2018. "Agrobacterium-Mediated Transformation Systems of Primula Vulgaris." *Plant Methods* 14 (1): 1-13. <https://doi.org/10.1186/s13007-018-0360-1>.
- Herman, M. 2016. "Aplikasi Teknik Rekayasa Genetik Dalam Perbaikan Sumber Daya Genetik Tanaman Untuk Ketahanan Cekaman Biotik." *Buletin Plasma Nutfah* 16 (1): 72. <https://doi.org/10.21082/blpn.v16n1.2010.p72-84>.
- Hwang, Hau-Hsuan, Manda Yu, and Erh-Min Lai. 2017. "Agrobacterium -Mediated Plant Transformation: Biology and Applications." *The Arabidopsis Book* 15 (15): e0186. <https://doi.org/10.1199/tab.0186>.
- Janssen, Bart-Jan, and Richard C Gardner. 1989. "Cocultivation with Agrobacterium." *Young*, 61-72.
- Kartikasari, Dasa Novi, Sri Lestari Purnamaningsih, and Lita Soetopo. 2016. "Penampilan Galur Generasi Pertama Hasil Seleksi Dari Cabai Rawit (Capsicum Frutescens L.) Varietas Lokal The Performances from First Generation Lines of Selected Chilli Pepper (Capsicum Frutescens L.) Local Variety." *Jurnal Produksi Tanaman* 4 (4): 320-24.
- Krenek, Pavel, Olga Samajova, Ivan Luptovciak, Anna Duskocilova, George Komis, and Jozef Samaj. 2015. "Transient Plant Transformation Mediated by Agrobacterium Tumefaciens: Principles, Methods and Applications." *Biotechnology Advances* 33 (6): 1024-42. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.03.012>.
- Lacroix, Benoît, and Vitaly Citovsky. 2013. "The Roles of Bacterial and Host Plant Factors in Agrobacterium-Mediated Genetic Transformation." *International Journal of Developmental Biology* 57 (6-8): 467-81. <https://doi.org/10.1387/ijdb.130199bl>.

- Martin-Ortigosa, Susana, David J. Peterson, Justin S. Valenstein, Victor S.Y. Lin, Brian G. Trewyn, L. Alexander Lyznik, and Kan Wang. 2014. "Mesoporous Silica Nanoparticle-Mediated Intracellular Cre Protein Delivery for Maize Genome Editing via LoxP Site Excision." *Plant Physiology* 164 (2): 537-47. <https://doi.org/10.1104/pp.113.233650>.
- Marwiyah, Siti, Heny Purnamawati, and Pinni Iyunika Sembiring. 2017. "Induksi Mutasi Fisik Dengan Iradiasi Sinar Gamma Pada Kacang Merah." *Comm. Horticulturae Journal* 1 (1): 49. <https://doi.org/10.29244/chj.1.1.49-55>.
- Matveeva, Tatiana V., and Léon Otten. 2019. "Widespread Occurrence of Natural Genetic Transformation of Plants by *Agrobacterium*." *Plant Molecular Biology* 101 (4-5): 415-37. <https://doi.org/10.1007/s11103-019-00913-y>.
- Mertawan, I Gusti Agung Indra, Rindang Dwiyanti, and Hestin Yuswanti. 2018. "Transformasi Gen SoSPS1 Melalui *Agrobacterium Tumefaciens* Pada Tanaman Anggur Bali (*Vitis Vinifera* L. Var. Alphonso Lavalle) Secara In Planta." *Agrotrop* 8 (1): 93-102.
- Moeller, Lorena, and Kan Wang. 2008. "Engineering with Precision: Tools for the New Generation of Transgenic Crops." *BioScience* 58 (5): 391-401. <https://doi.org/10.1641/b580506>.
- Mookkan, Murugantham. 2018. "Particle Bombardment-Mediated Gene Transfer and GFP Transient Expression in *Seteria Viridis*." *Plant Signaling and Behavior* 13 (4): 1-4. <https://doi.org/10.1080/15592324.2018.1441657>.
- Mulyaningsih, E., H Aswidinnoor, D Sopandie, P. Ouwerkerk, S Nugroho, and I. Loedin. 2010. "Perbandingan Tiga Metode Transformasi *Agrobacterium* Untuk Pencarian Gen-Gen Terkait Toleransi Kekeringan Menggunakan Transposon Ac/Ds Pada Padi CV. Batutegi." *Indonesian Journal of Biology* 6 (3): 367-81.
- Nakano, Yoshihiro. 2017. "Effect of Acetosyringone on *Agrobacterium*-Mediated Transformation of *Eustoma Grandiflorum* Leaf Disks." *Japan Agricultural Research Quarterly* 51 (4): 351-55. <https://doi.org/10.6090/jarq.51.351>.
- Nester, Eugene W. 2015. "*Agrobacterium*: Nature's Genetic

Engineer." *Frontiers in Plant Science* 5 (JAN): 1-16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00730>.

- Osaki, Yasuhide, and Yutaka Kodama. 2017. "Particle Bombardment and Subcellular Protein Localization Analysis in the Aquatic Plant *Egeria Densa*." *PeerJ* 2017 (9). <https://doi.org/10.7717/peerj.3779>.
- Pitzschke, Andrea. 2013. "Agrobacterium Infection and Plant Defense-Transformation Success Hangs by a Thread." *Frontiers in Plant Science* 4 (DEC): 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00519>.
- Roostika, Ika. 2016. "Perkembangan Aplikasi Teknik Kriopreservasi Untuk Konservasi Dan Mendukung Program Pemuliaan Tanaman." *Jurnal AgroBiogen* 9 (1): 39. <https://doi.org/10.21082/jbio.v9n1.2013.p39-48>.
- Sheng, Jinsong, and Vitaly Citovsky. 1996. "Agrobacterium-Plant Cell DNA Transport: Have Virulence Proteins, Will Travel." *Plant Cell* 8 (10): 1699-1710. <https://doi.org/10.1105/tpc.8.10.1699>.
- Simmons, Christopher W., Jean S. Vandergheynst, and Shrinivasa K. Upadhyaya. 2009. "A Model of Agrobacterium Tumefaciens Vacuum Infiltration into Harvested Leaf Tissue and Subsequent in Planta Transgene Transient Expression." *Biotechnology and Bioengineering* 102 (3): 965-70. <https://doi.org/10.1002/bit.22118>.
- Sri Rejeki Utami, Darmawan saptadi. 2018. "Seleksi Galur Pada 3 Populasi Cabai Merah ( *Capsicum Annuum* L .) Generasi F 2 Pada Lingkungan Rendah Input Selection Of Line In Threef 2 Populations of Chili ( *Capsicum Annuum* L .) in Low Input Environment" 6 (9): 2398-2405.
- Subramoni, Sujatha, Naeem Nathoo, Eugene Klimov, and Ze Chun Yuan. 2014. "Agrobacterium Tumefaciens Responses to Plant-Derived Signaling Molecules." *Frontiers in Plant Science* 5 (JUL): 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00322>.
- Suharjanto, YA. Nugroho dan T. 2019. "Agrika: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian , Volume 13, Nomor 2, November 2019." *Agrika: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian* 13(2):136- (November).

- Suka, Roslan, Chew, Goh, Zainal, Isa. 2018. "Transformasi Gen Proteolisis 6 (PRT6) Berperantarakan Agrobacterium Tumefaciens Ke Dalam Kotiledon Tomato Kultivar Micro Tom." *Sains Malaysiana* 47 (7): 1465–71.
- Sukamto, NFN, Tri Joko Santoso, Atmitri Siharmini, Aniversari Apriana, NFN Amalia, and Nursalam Sirait. 2017. "Transformasi Gen Pada Nilam Untuk Ketahanan Terhadap Penyakit Utama Menggunakan Agrobacterium Tumefaciens." *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat* 28 (1): 37. <https://doi.org/10.21082/bullitro.v28n1.2017.37-46>.
- Susilo, Hadi. 2019. "Analisis Potensi Budidaya Tanaman Transgenik di Indonesia" 2 (1): 65–74.
- Takemoto, D., and DA. Jones. 2014. "Particle Bombardment-Mediated Transient Expression to Identify Localization Signals in Plant Disease Resistance Proteins and Target Sites for the Proteolytic Activity of Pathogen Effectors." *Methods in Molecular Biology: Plant-Pathogen Interactions: Methods and Protocols* 1127 (Dm): 91–101. <https://doi.org/10.1007/978-1-62703-986-4>.
- Vu, Tao Xuan, Tho Tien Ngo, Linh Thi Dam Mai, Tri Thuc Bui, Diep Hong Le, Ha Thi Viet Bui, Huy Quang Nguyen, Binh Xuan Ngo, and Van Tuan Tran. 2018. "A Highly Efficient Agrobacterium Tumefaciens-Mediated Transformation System for the Postharvest Pathogen Penicillium Digitatum Using DsRed and GFP to Visualize Citrus Host Colonization." *Journal of Microbiological Methods* 144 (November 2017): 134–44. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.11.019>.
- Wahyono, Teguh, Shintia Nugrahini, Wahyu Hardani, Dedi Ansori, and Tri Handayani. 2018. "Profil Kecernaan In Vitro Tanaman Sorgum Hasil Pemuliaan Dengan Mutasi Radiasi."
- Wu, Hung Yi, Kun Hsiang Liu, Yi Chieh Wang, Jing Fen Wu, Wan Ling Chiu, Chao Ying Chen, Shu Hsing Wu, Jen Sheen, and Erh Min Lai. 2014. "AGROBEST: An Efficient Agrobacterium-Mediated Transient Expression Method for Versatile Gene Function Analyses in Arabidopsis Seedlings." *Plant Methods* 10 (1): 1–16. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-10-19>.
- Yan, Guijun, Hui Liu, Haibo Wang, Zhanyuan Lu, Yanxia Wang, Daniel Mullan, John Hamblin, and Chunji Liu. 2017.



“Accelerated Generation of Selfed Pure Line Plants for Gene Identification and Crop Breeding.” *Frontiers in Plant Science* 8 (October). <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01786>.

Yildiz, Mustafa, Murat Aycan, and Sunjung Park. 2016. “New Approaches to *Agrobacterium Tumefaciens*-Mediated Gene Transfer to Plants.” *Genetic Engineering - An Insight into the Strategies and Applications*. <https://doi.org/10.5772/66465>.

Yunandra, M. Syukur, and A. Maharijaya. 2017. “Seleksi Dan Kemajuan Seleksi Karakter Komponen Hasil Pada Persilangan Cabai Keriting Dan Cabai Besar.” *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)* 45 (2): 169. <https://doi.org/10.24831/jai.v45i2.12312>.

Zhang, Zhifen, and John J. Finer. 2016. “Low *Agrobacterium Tumefaciens* Inoculum Levels and a Long Co-Culture Period Lead to Reduced Plant Defense Responses and Increase Transgenic Shoot Production of Sunflower (*Helianthus Annuus* L.)” *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 52 (4): 354–66. <https://doi.org/10.1007/s11627-016-9774-5>.

Zhou, Qing, Jian Wu, Yaru Sang, Zhengyang Zhao, Pingdong Zhang, and Meiqin Liu. 2020. “Effects of Colchicine on *Populus Canescens* Ectexine Structure and 2n Pollen Production.” *Frontiers in Plant Science* 11 (March): 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00295>.

## DAFTAR ISTILAH/GLOSARIUM

Alel	: Gen yang letaknya di lokus yang bersesuaian pada kromosom homolog.
Bakteri	: Kelompok dari organisme yang tidak mempunyai membran inti sel serta memiliki ukuran yang kecil.
DNA	: Asam amino yang dapat menyimpan seluruh informasi biologis dari setiap makhluk hidup.
DNase	: jenis enzim yang dapat mendegradasi DNA.
Eksplan	: Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan induksi atau inokulasi sebagai tahapan awal dari kultur jaringan, ekplan yang ditanam harus sudah melalui proses sterilisasi ke dalam media kultur jaringan.
Ekspresi genetik	: Informasi genetik yang dimunculkan.
Enzim Restriksi	: enzim yang memotong DNA pada daerah dan urutan nukleotida tertentu.
Epigenetik	: Ilmu yang digunakan untuk mempelajari adanya perubahan karakter individu seperti modifikasi-modifikasi dari molekul asam nukleat, protein histon yang membungkus DNA
Exon	: daerah dalam DNA yang mengandung kodon dan menyandikan asam amino (coding region)
Fenotip	: Karakteristik secara structural, biokimiawi, fisiologis, serta perilaku yang dapat diamati dari organisme kemudian diatur oleh genotip dan
Gen	: Urutan DNA yang berada dalam suatu protein, polipeptida, ataupun seuntai RNA yang memiliki fungsi tertentu terhadap
Genetika	: Cabang biologi yang berhubungan dengan pewarisan dan ekspresi sifat-sifat yang menurun serta karakterisasi sifatnya.

- Genom : Semua informasi gen dari suatu organisme atau sel.
- Genotip : Pewarisan individu dari satu maupun beberapa sifat ataupun sifat menurun yang tidak nampak dari luar
- Higromisin : Agen seleksi yang mempunyai fungsi untuk membedakan tanaman transgenik maupun non transgenik
- Histokimiawi : Cabang histologi mengenai susunan dan perubahan kimia yang terjadi dalam jaringan manusia, tanaman dan hewan
- Intron : daerah dalam DNA yang tidak mengandung kodon dan menyandikan asam amino (noncoding region)
- Kalus : Kumpulan sel yang tidak berbentuk ataupun belum terdiferensiasi yang terbentuk dari sel-sel membelah secara terus-menerus
- Konjugasi : peristiwa berpindahnya DNA dari Replikasi DNA di sel donor ke dalam sel resipien melalui kontak fisik diantara kedua sel.
- Marker DNA : Penanda DNA
- mRNA : Messenger Ribonucleic acid. Yang membawa informasi messenger daripada RNA.
- Multicloning site : suatu wilayah sekuen DNA yang memiliki urutan basa situs pengenalan enzim restriksi.
- Mutagen : Agen fisik atau kimia yang mengubah bahan genetic, biasanya DNA, dari suatu organisme dan meningkatkan frekuensi mutasi di atas tingkat latar belakang alami
- Nukleotida : suatu senyawa yang terdiri dari nukleosida yang terkait dengan gugus fosfat. Nukleotida membentuk unit struktural dasar asam nukleat seperti DNA.
- Pewarisan genetik : Informasi genetik yang diwariskan/diturunkan dari satu organisme ke organisme yang lain dalam.



Planlet	: Tanaman hasil perbanyakan dari kultur jaringan
Plasmid	: Uuntaian DNA yang membawa gen-gen berbentuk lingkaran/sirkular, bersifat ekstra kromosom.
Promotor	: daerah DNA atau RNA yang dapat dikenali oleh enzim RNA polimerase dalam usaha memulai proses transkripsi.
Replication origin	: Urutan tertentu dalam genom di mana replikasi dimulai.
Replikasi DNA	: Proses penggandaan DNA.
RNase	: jenis enzim yang dapat mendegradasi RNA
RT-PCR	: teknik PCR yang khusus untuk menamplifikasi RNA menggunakan enzim reverse transcription sebagai katalisatornya
Sticky end	: Ujung kohesif, hasil pemotongan DNA ujung lancip.
T-DNA	: transfer DNA adalah bagian DNA yang terletak antararight border dan left border pada plasmid (biner). DNA tersebut yang akan ditransfer oleh Agrobacterium ke dalam genom tanaman.
Transkripsi	: proses penterjemahan DNA menjadi RNA
Translasi	: proses penterjemahan RNA menjadi protein
Tunas	: Tanaman muda yang baru tumbuh yang awalnya berbentuk kuncup atau kecambah
Vektor inang	: Suatu organisme yang bukan merupakan penyebab penyakit namun dapat menyebarkannya dengan membawa patogen dari satu inang ke inang lain

## INDEKS (HALAMAN)

<b>A</b>	<b>K</b>
Alel, 60	Kalus, 61, 66
<b>B</b>	Konjugasi, 61
bakteri, 11, 29, 31, 35, 39, 40, 41, 42, 43, 47, 49, 51	kromosom, 17, 24, 25, 26, 40, 60, 62
<b>D</b>	<b>M</b>
<b>DNA</b> , 11, 12, 18, 19, 23, 27, 28, 29, 35, 37, 38, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 53, 54, 57, 60, 61, 62	mRNA, 61
DNase, 60	Marker DNA, 61
<b>E</b>	Multicloning site, 61
Eksplan, 60	Mutagen, 23, 61
Ekspresi genetik, 60	<b>N</b>
Enzim Restriksi, 60	Nukleotida, 61
Epigenetik, 60	<b>P</b>
Exon, 60	Pewarisan genetik, 61
<b>F</b>	Planlet, 50, 61
Fenotip, 60	Plasmid, 29, 44, 62
<b>G</b>	Promotor, 37, 62
gen, 11, 16, 23, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 39, 40, 41, 43, 45, 46, 48, 49, 51, 53, 60, 62	<b>R</b>
Genetika, 60, 65	Replication origin, 62
Genom, 60, 65	Replikasi DNA, 61
Genotip, 61	RNase, 62
<b>H</b>	RT-PCR, 62
Higromisin, 61	<b>S</b>
Histokimiawi, 61	Sticky end, 62
<b>I</b>	<b>T</b>
Intron, 61	T-DNA, 40, 43, 45, 46, 47, 48, 51
	Transkripsi, 62
	Translasi, 62
	Tunas, 54, 62
	<b>V</b>
	Vektor inang, 62

## BIOGRAFI PENULIS 1



Dr. Ir. Sholeh Avivi, MSi. merupakan putra pertama pengasuh Pondok Pesantren Putri El-Aniesah Kaliwates Jember dari pasangan KH. A. Fauzan Shofwan dan Ibu Nyai Hj. Lilik Maslihah. Lahir di Lamongan pada tanggal 21 Juli 1969. Pendidikan Madrasah di MIN PGAN 6Th Jember (1982), SMP A. Wahid Hasyim Tebuireng Jombang (1985) dan SMAN 1 Jember (1988). Pendidikan S1 (1993), S2 (1995) dan S3 (2000), di selesaikan dari Institut Pertanian Bogor. Menikah dengan Nurul Muanasah SAg., dan di karuniai 4 orang anak. Bidang riset yang di tekuni adalah Pemuliaan Tanaman dengan memanfaatkan Bioteknologi Rekayasa Genetika. Minat meneliti bidang Rekayasa Genetika lebih intens di lakukan saat bergabung di Center for Development of Advances Sciences and Technology (CDAST) UNEJ, meneliti tebu toleran genangan (Grant Kemenristek DIKTI 2014-2016) dan singkong toleran cekaman air (Grant Kemenristek DIKTI 2016-2018). "Training on The Development and Implementation of Genome Editing in Plant" di selesaikan penulis pada tahun 2018 di Gyeongsang National University (GNU), Korea Selatan. Mulai tahun 2019 dengan memanfaatkan teknologi Genom Editing penulis meneliti tomat tinggi sucrose (Grant Penguatan Program IDB, 2019) bekerjasama dengan Prof. Jae-Yean Kim, GNU. Saat ini penulis di percaya memegang amanah menjadi Sekretaris Lembaga Pengembangan Pembelajaran dan Penjaminan Mutu (LP3M) UNEJ sejak tahun 2017. Buku "Bioteknologi-Rekayasa Genetika Tanaman" serta buku "Pemuliaan Tanaman: Aplikasi dan Prospek" diselesaikan bersama Prof. Dr. Ir. Sri Hartatik, MP. pada tahun 2019.

## BIOGRAFI PENULIS 2



Fariza Oktaviani, mahasiswa Magister Bioteknologi Universitas Jember Tahun 2019/2020, pasangan dari H. Ir. Hendrianto, M.M. dan Hj. Rika Surtika, S.E. Lahir di Jember, 10 Oktober 1996. Pendidikan terakhir S1 Sarjana Pertanian Universitas Jember Tahun 2019/2020. Pendidikan SLTP Al-Furqan Tahun 2007. SMPN 2 Jember (2011), dan SMAN 2 Jember (2014).

Bidang Riset yang ditekuni adalah tentang analisa reaksi oksigen spesies dan aktivitas antioksidan dengan asam salisilat pada tanaman padi di bawah kondisi stres kekeringan. Perlakuan ini dilakukan untuk mengetahui peran asam salisilat dalam tanaman padi dan efek pada oksigen reaktif beracun selama stress kekeringan. Latar belakang penelitian selama sarjana S1 adalah Analisa Potensi Hasil dan kualitas Biji Galur Padi Introduksi PAC Nagdong/ IR36 Pada Kondisi Cekaman Salin. Penelitian lain yang telah dilakukan adalah Kapasitas Nutrisi dan antioksidan pada Beberapa Padi Pigmented di Indonesia.

## BIOGRAFI PENULIS 3



Syafira Fatihatul Husna, mahasiswa Magister Bioteknologi Universitas Jember Tahun 2019/2020, pasangan Mustajab dan Sri Suparmi di Ngawi, Jawa Timur, 14 April 1997. Pendidikan terakhir S1 Sarjana Pertanian (Prodi Agroteknologi) di Universitas Jember, Indonesia, tahun 2015/2019. Bidang Riset yang ditekuni adalah Analisa Ekspresi Gen-Gen terkait Somatik Embriogenesis, Respon Sitokinin, dan Biosintesis Etilen pada Kalus Padi Sub Species Indica, Javanica, dan Japonica. Latar belakang penelitian S1 adalah Analisa Genotipa Penentu Sifat Aromatik pada Padi Lokal Varietas Merah Wangi, Pendok, Genjah Arum, dan Mentik Wangi Susu.