



**KARAKTERISASI TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L. Var. BL)
TRANSGENIK OVEREKSPRESI GEN *SoSUT1 EVENT A-D***

SKRIPSI

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

Oleh

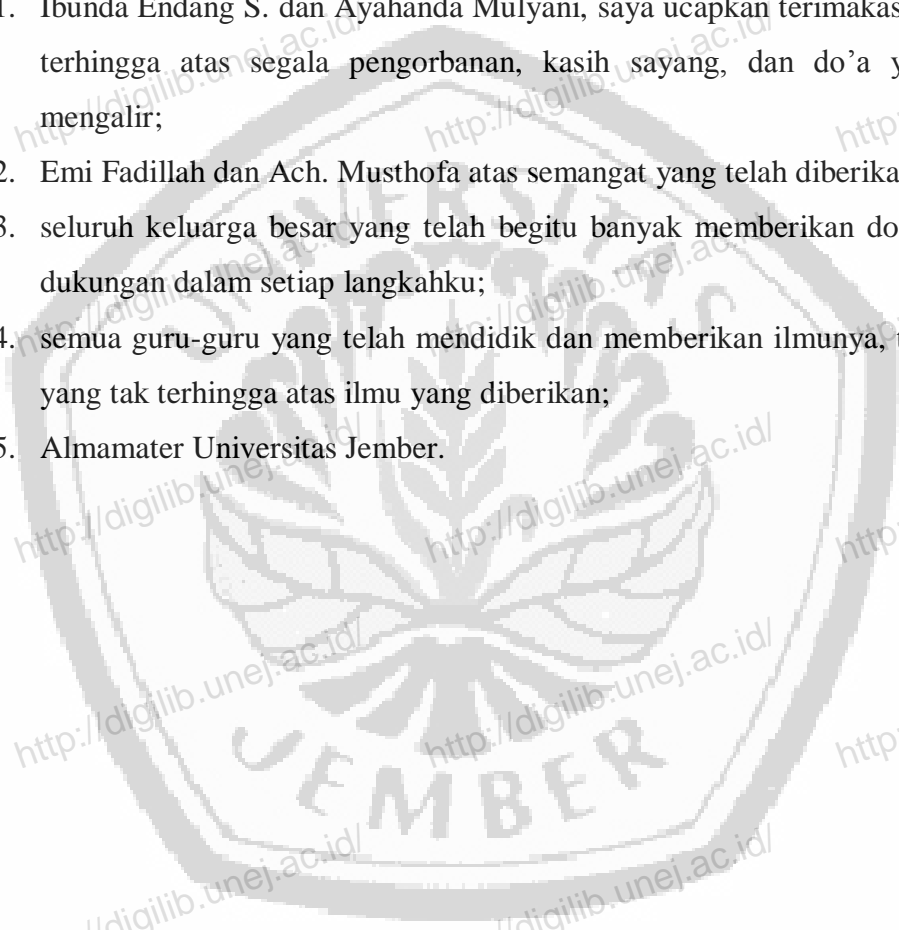
**Hidayah Murtiyaningsih
NIM 081810401023**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2013**

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur alhamdulillah, saya persembahkan skripsi ini kepada:

1. Ibunda Endang S. dan Ayahanda Mulyani, saya ucapkan terimakasih yang tak terhingga atas segala pengorbanan, kasih sayang, dan do'a yang selalu mengalir;
2. Emi Fadillah dan Ach. Musthofa atas semangat yang telah diberikan;
3. seluruh keluarga besar yang telah begitu banyak memberikan dorongan dan dukungan dalam setiap langkahku;
4. semua guru-guru yang telah mendidik dan memberikan ilmunya, terimakasih yang tak terhingga atas ilmu yang diberikan;
5. Almamater Universitas Jember.



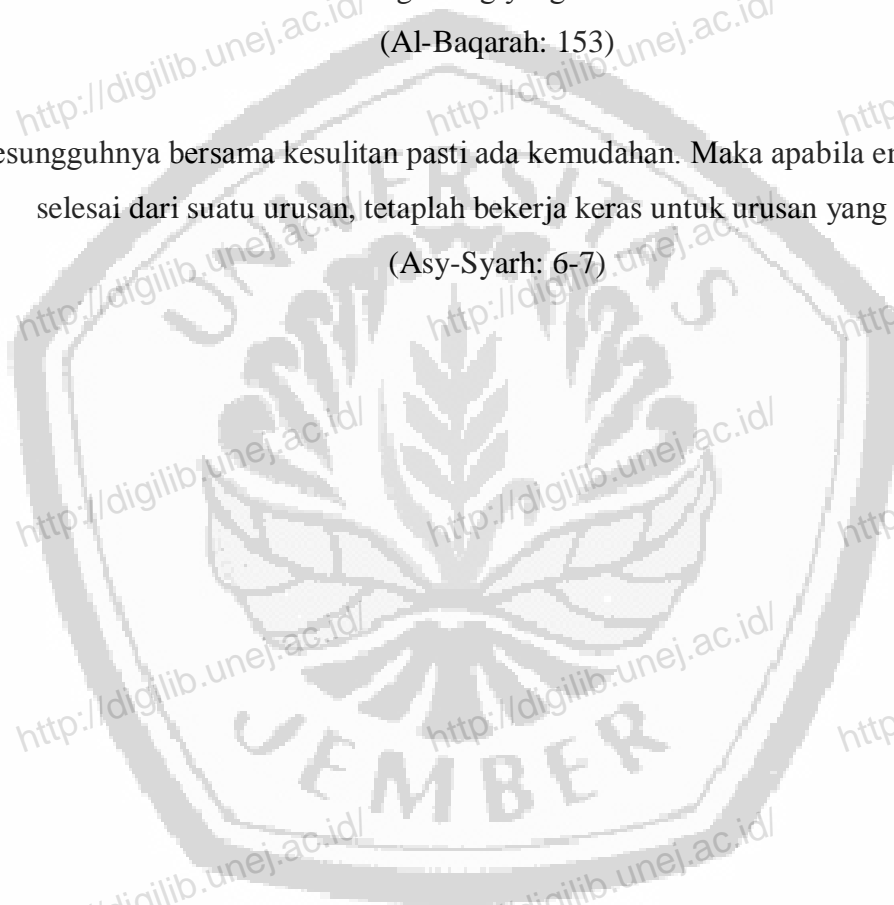
MOTO

“...Jadikanlah sabar dan shalatmu sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar”

(Al-Baqarah: 153)

“Sesungguhnya bersama kesulitan pasti ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai dari suatu urusan, tetaplah bekerja keras untuk urusan yang lain”

(Asy-Syarah: 6-7)



Departemen Agama Republik Indonesia. 2008. Al-Qur'an dan Terjemahan. Jakarta:

CV. Pustaka Al-Kautsar.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hidayah Murtiyaningsih

NIM : 081810401023

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Karakterisasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. Var. BL) Transgenik Overekspresi Gen *SoSUT1 Event A-D*” 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 oleh PT. Perkebunan Nusantara XI dan MP3EI tahun 2012 atas nama Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr., Sc. 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, 20 Maret 2013

Yang Menyatakan,

Hidayah Murtiyaningsih

NIM 081810401023

SKRIPSI

**KARAKTERISASI TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L. Var. BL)
TRANSGENIK OVEREKSPRESI GEN *SoSUT1* EVENT A-D**

Oleh

Hidayah Murtiyaningsih

NIM 081810401023

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Anggota : Esti Utarti S.P., M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Karakterisasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. Var. BL)

Transgenik Overekspresi Gen *SoSUT1 Event A-D*” telah diuji dan disahkan oleh
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi Universitas

Jember pada :

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas MIPA Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc.
NIP 195510221982121001

Esti Utarti, S.P, M.Si.
NIP 1970030319999032001

Anggota

Penguji I,

Penguji II,

Kahar Muzakhar, S.Si, Ph.D.
NIP 196805031994011001

Dra. Dwi Setyati, M.Si.
NIP 196404171991032001

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA., Ph.D
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

Karakterisasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. Var. BL) Transgenik Overekspresi Gen *SoSUT1 Event A-D*; Hidayah Murtiyaningsih; 081810401023; 2013; 29 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Sukrosa merupakan produk utama fotosintesis yang dihasilkan dari proses asimilasi karbon. Sukrosa disintesis di sitosol yang dikatalisis oleh enzim *Sucrose Phosphate Synthase* (SPS). Sukrosa yang dihasilkan ditransport ke organ penyimpanan dan digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Transport sukrosa tersebut difasilitasi oleh protein *Sucrose Transporter* (SUT) yang terletak di membran sel. Besarnya kandungan sukrosa pada organ penyimpanan salah satunya dipengaruhi oleh tingkat transportasinya. Aktivitas transport sukrosa merupakan hal penting untuk memindahkan sukrosa dari organ fotosintesis (*source*) ke organ non fotosintesis (*sink*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter pada tanaman tebu transgenik overekspresi gen *SoSUT1*, yang berhubungan dengan ekspresi gen *SoSUT1* yang terinsersi ke dalam genom tanaman tebu. Karakterisasi yang dilakukan meliputi analisis DNA genom dengan PCR, analisis protein SUT1 dan SPS1 dengan *western blot*, dan analisis kandungan sukrosa.

Konfirmasi keberadaan gen *SoSUT1* pada tebu transgenik dilakukan menggunakan analisis *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan primer *hygromycin phospho transferaseII (hptII)*, dan dilakukan pada 28 event tanaman transgenik hasil perbanyakan secara stek batang. Analisis protein SUT1 dan SPS1 dilakukan dengan metode *western blot* untuk mengetahui ekspresi gen *SUT1* pada tingkat translasi. Pada penelitian ini juga dilakukan analisis sukrosa pada organ daun dan batang tebu, untuk mengetahui pengaruh gen *SoSUT1* yang telah terinsersi

terhadap kandungan sukrosa batang tebu yang merupakan organ penyimpanan pada tanaman tebu.

Hasil analisis PCR dengan primer *hptII* menunjukkan bahwa dari semua tanaman yang dianalisis, terdapat 13 tanaman tebu positif transgenik *SoSUT1* dengan ukuran amplifikasi 470 bp, sedangkan 15 tanaman lainnya menunjukkan hasil negatif. Hasil analisis *western blot* protein *sucrose transporter1* (SUT1) terhadap 13 tanaman transgenik menunjukkan terdapat 9 *event* tanaman yang mengalami peningkatan kandungan protein, ditandai dengan tebalnya pita protein dibandingkan dengan kontrol. Analisis protein *sucrose phosphate synthase1* (SPS1) menunjukkan bahwa tanaman transgenik memiliki kandungan protein yang cenderung sama dengan kontrol. Hasil analisis sukrosa daun menunjukkan bahwa pada semua *event* tanaman transgenik memiliki persentase kandungan sukrosa lebih rendah dibandingkan tebu kontrol. Hasil analisis sukrosa batang pada ruas ke 3 dan ke 8 mengalami peningkatan persentase kandungan sukrosa apabila dibandingkan dengan tanaman kontrol.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. Var. BL) Transgenik Overekspresi Gen *SoSUT1 Event A-D*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

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

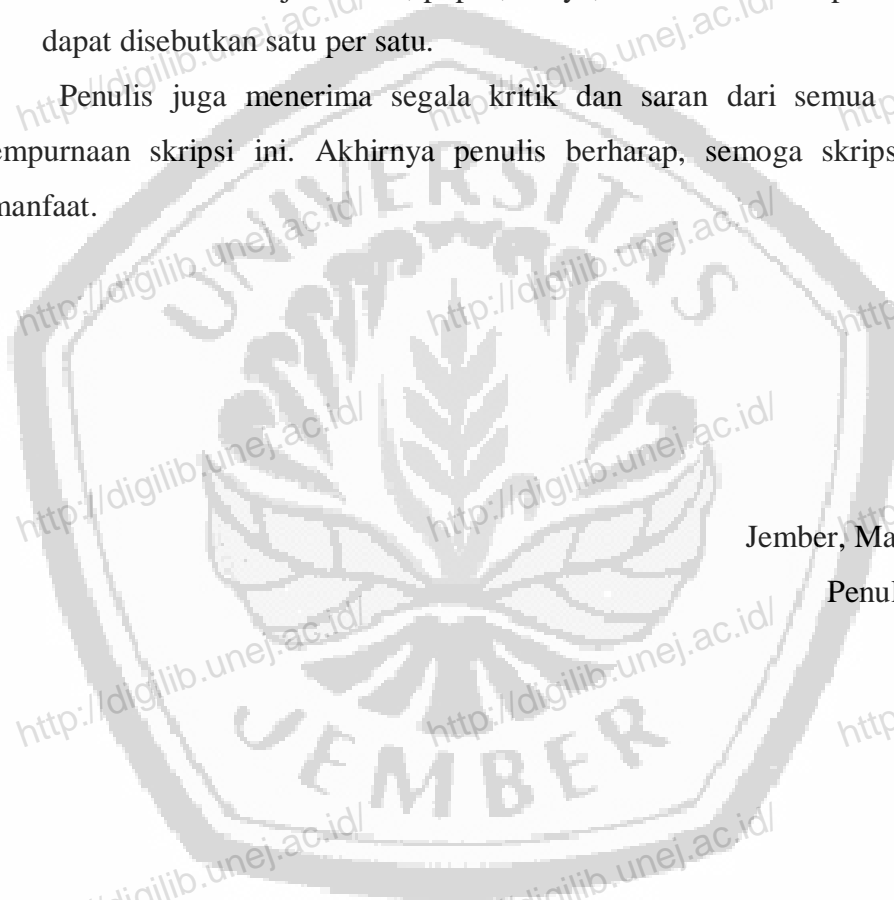
1. Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc selaku dosen pembimbing utama dan Esti Utarti, S.P., M.Si selaku dosen pembimbing anggota yang dengan penuh kesabaran memberikan pengarahan, saran, maupun bimbingan dalam penelitian dan penulisan skripsi ini;
2. Kahar Muzakhar, S.Si, Ph.D selaku dosen penguji I dan Dra. Dwi Setyati, M.Si selaku dosen penguji II yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. Sri Mumpuni W., S.Pd, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing dan memberikan nasehat selama penulis menjadi mahasiswa;
4. seluruh keluarga besarku yang telah begitu banyak memberikan dorongan dan dukungan dalam setiap jalanku;
5. Purnama Okviandari, S.P, M.P. dan rekan-rekan kerja; Edia, Frengky S.P, Rinda, beserta para seniorku Anandang S.P, Aji Baskoro S.P, A. Fudhaili S.Si, Nurul Holifah S.Si, Nina Oktaria S.Si, Aditiya S.Si, serta adik-adik (Anna, Wimbuh, Novita, Dina, Eni, Fadrian, Rizky Obama, Ifan) yang telah memberikan masukan dan semangat selama menjalankan tugas akhir;

6. teman-teman yang banyak memberi motivasi penulis; A. Rasit, Azizah, Luluk, TBV group (Ika Agus, Syubbanul Wathon., Imam Hanafy), Niar, Lutfiya, Mikrobiologi group (Arif, Dewi, Mada) dan semua teman-teman biologi angkatan 2008 Omfalomesenterika yang telah menambah warna hidup selama ini;
7. teman-teman kost jalak satu; pupus, setiya, kiki serta semua pihak yang 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, Maret 2013

Penulis



DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|----------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | ii |
| HALAMAN MOTO | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iv |
| HALAMAN PEMBIMBINGAN | v |
| HALAMAN PENGESAHAN | vi |
| RINGKASAN | vii |
| PRAKATA | ix |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 2 |
| 1.3 Batasan Masalah | 2 |
| 1.4 Tujuan dan Manfaat Penelitian | 3 |
| 1.4.1 Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.4.2 Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1 Asimilasi Karbon dan Sintesis Sukrosa Tanaman Tebu | 4 |
| 2.2 Akumulasi Sukrosa pada Organ Penyimpanan (<i>sink</i>) | 6 |
| 2.3 Tanaman Transgenik Overekspresi Gen <i>SoSUT1</i> | 8 |
| BAB 3. METODE PENELITIAN | 10 |

| | |
|---|-----------|
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian..... | 10 |
| 3.2 Bahan dan Alat..... | 10 |
| 3.3 Metode Penelitian..... | 10 |
| 3.3.1 Pengambilan Sampel Tanaman..... | 10 |
| 3.3.2 Isolasi DNA Genom Tanaman | 11 |
| 3.3.3 Analisis PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>) | 12 |
| 3.3.4 Ekstraksi Protein..... | 13 |
| 3.3.5 Pengukuran Total Protein Terlarut (TPT) | 14 |
| 3.3.6 Analisis SDS-PAGE dan <i>Western Blot</i> | 14 |
| 3.3.7 Ekstraksi dan Analisis Kandungan Sukrosa..... | 15 |
| BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 17 |
| 4.1 Analisis PCR untuk Konfirmasi Keberadaan Overekspresi Gen <i>SoSUT1</i> pada Tanaman Tebu..... | 17 |
| 4.2 Analisis <i>Western Blot</i> Protein <i>Sucrose Transporter1</i> (SUT1)..... | 18 |
| 4.3 Analisis <i>Western Blot</i> Protein <i>Sucrose Phosphate Synthase1</i>..... | 20 |
| 4.4 Analisis Kandungan Sukrosa Daun..... | 21 |
| 4.5 Analisis Kandungan Sukrosa Batang..... | 22 |
| BAB 5. PENUTUP | 25 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 25 |
| 5.2 Saran..... | 25 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 26 |
| LAMPIRAN | 30 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 2.1 Mekanisme asimilasi karbon pada tanaman C4 yang terjadi di dua sel..... | 4 |
| Gambar 2.2 <i>Long distance transport</i> sukrosa dari <i>source</i> ke <i>sink</i> | 7 |
| Gambar 3.3.3 Peta konstruk plasmid pAct yang memiliki gen penanda yaitu gen <i>hptII</i> yang menyandakan ketahanan terhadap antibiotik higromicin..... | 13 |
| Gambar 4.1 Elektroforesis 1% gel agarose DNA hasil PCR dengan pasangan primer <i>hptII</i> -1F/1R dan <i>template</i> sampel DNA genom tanaman tebu transgenik overekspresi gen <i>SoSUT1</i> dan kontrol..... | 18 |
| Gambar 4.2 Hasil analisis <i>western blot</i> protein SUT1 pada tanaman tebu transgenik overekspresi gen <i>SoSUT1</i> dan kontrol dengan konsentrasi 30 µg..... | 19 |
| Gambar 4.3 Hasil analisis <i>western blot</i> protein SPS1 pada tanaman tebu transgenik dan tanaman kontrol dengan konsentrasi 20 µg..... | 20 |
| Gambar 4.4 Hasil analisis kandungan sukrosa pada organ daun..... | 21 |
| Gambar 4.5 Hasil analisis kandungan sukrosa pada batang tebu ruas ke 3 dan ke 8..... | 23 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| A. Kurva standart sukrosa dan BSA | 30 |
| B. Kandungan sukrosa daun dan batang | 31 |
| C. Komposisi buffer | 33 |
| D. <i>Event</i> tanaman transgenik | 34 |
| E. Tanaman yang menunjukkan hasil negatif pada elektroforesis gel agarosa..... | 34 |

