



**TRANSFORMASI GEN *SoSUT1* PADA TANAMAN TEBU  
(*Saccharum officinarum* L var. BL) MENGGUNAKAN  
*Agrobacterium tumefaciens* STRAIN GV 3101 DAN  
EKSPLAN PANGKAL TUNAS TEBU *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh :

**Edia Fitri Dwinianti  
NIM 081810401016**

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



**TRANSFORMASI GEN *SoSUTI* PADA TANAMAN TEBU  
(*Saccharum officinarum* L var. BL) MENGGUNAKAN  
*Agrobacterium tumefaciens* STRAIN GV 3101 DAN  
EKSPLAN PANGKAL TUNAS TEBU *IN VITRO***

**SKRIPSI**

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

Oleh :

**Edia Fitri Dwinianti**  
**NIM 081810401016**

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

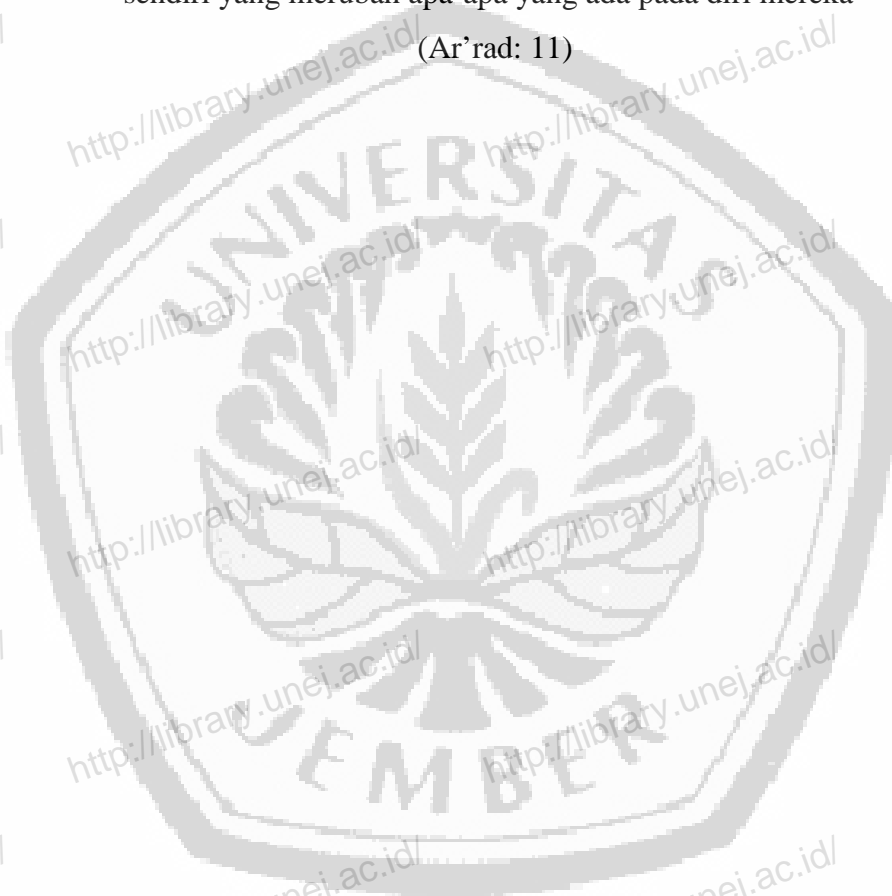
## PERSEMBAHAN

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

1. Ibunda Sudarti dan Ayahanda Sunali, terima kasih yang tidak terhingga atas kasih sayang, pengorbanan, dan doa yang tiada henti;
2. Kakak tersayang Moch. Choiri, S.E dan Anda Suharyati atas motivasi dan dukungan semangat yang mengiringi setiap langkahku;
3. keluarga besar yang telah begitu banyak memberikan dukungan dalam menuntut ilmu;
4. para guru sejak Taman Kanak-Kanak sampai Perguruan Tinggi yang telah mendidik, membimbing dengan penuh ikhlas dan sabar, terima kasih atas ilmu yang telah diberikan;
5. Almamater Universitas Jember.

## MOTTO

“Sesungguhnya Allah tidak akan merubah keadaan suatu kaum kecuali kaum itu sendiri yang merubah apa-apa yang ada pada diri mereka”  
(Ar’rad: 11)



---

Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. Al-Qur'an dan Terjemahan. Bandung:  
CV. Aljumanatul 'Ali-art

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama: Edia Fitri Dwinianti

NIM : 081810401016

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: “Transformasi Gen *SoSUT1* Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. var. BL) Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* Strain GV 3101 dan Eksplan Pangkal Tunas Tebu *In Vitro*” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Penelitian ini dibiayai oleh MP3EI tahun 2012 dan PT. Perkebunan Nusantara XI 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 dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 24 Mei 2013

Yang menyatakan

Edia Fitri Dwinianti  
NIM 081810401016

**SKRIPSI**

**TRANSFORMASI GEN *SoSUTI* PADA TANAMAN TEBU  
(*Saccharum officinarum* L var. BL) MENGGUNAKAN  
*Agrobacterium tumefaciens* STRAIN GV 3101 DAN  
EKSPLAN PANGKAL TUNAS TEBU *IN VITRO***



**Oleh**

**Edia Fitri Dwinianti**

**NIM 081810401016**

**Pembimbing**

**Dosen Pembimbing Utama**

**: Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc**

**Dosen Pembimbing Anggota**

**: Esti Utarti, S.P, M.Si**

## PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Transformasi Gen *SoSUT1* Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. var. BL) Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* Strain GV 3101 dan Eksplan Pangkal Tunas Tebu *In Vitro*” 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,

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Prof. Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc  
NIP 19551022198212001

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

Anggota

Penguji I,

Penguji II,

Dra. Dwi Setyati, M.Si  
NIP 196404171991032001

Kahar Muzhakar S.Si, Ph.D  
NIP 196805031994011001

Mengesahkan  
Dekan,

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

## RINGKASAN

**Transformasi Gen *SoSUT1* Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L. var. BL) Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* Strain GV 3101 dan Eksplan Pangkal Tunas Tebu *In Vitro* :** Edia Fitri Dwinianti, 081810401016; 2013, 30 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Sukrosa merupakan produk akhir asimilasi karbon selama proses fotosintesis yang terjadi pada organ daun. Sukrosa sebagai produk akhir asimilasi karbon ditranslokasikan dari daun (*source*) ke organ penyimpanan (*sink*) untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Proses translokasi sukrosa pada tanaman dari *source* ke *sink* difasilitasi oleh protein *sucrose transporter* (SUT). Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa overekspresi gen SUT dapat meningkatkan transportasi sukrosa pada tanaman. Penghambatan ekspresi gen SUT1 pada tanaman dengan RNA *antisense* dapat menghambat proses translokasi sukrosa. Hal tersebut mengindikasikan bahwa SUT1 berperan penting dalam proses transportasi sukrosa. Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman yang mengakumulasi sukrosa pada organ batang. Proses akumulasi sukrosa dari organ daun menuju organ batang tanaman tebu membutuhkan peran protein *sucrose transporter*. Telah dilakukan kloning cDNA SUT pada tanaman tebu yaitu *SoSUT1*. Gen *SoSUT1* sebagai *gene of interest* ditransformasikan pada tanaman tebu menggunakan vektor *A. tumefaciens* dengan eksplan transformasi berupa pangkal tunas tebu *in vitro* untuk meningkatkan efektifitas transformasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan tanaman tebu transforman melalui proses transformasi menggunakan vektor *A. tumefaciens* yang membawa gen *SoSUT1*. Metode penelitian meliputi persiapan eksplan, pengkulturan *A. tumefaciens*, isolasi DNA plasmid untuk mengkonfirmasi keberadaan konstruk *pAct-SoSUT1*,



transformasi menggunakan vektor *A. tumefaciens* meliputi tahap infeksi, kokultivasi, eliminasi, seleksi dan aklimatisasi. Tanaman putatif transforman yang telah berhasil diaklimatisasi, dilakukan isolasi DNA genom untuk kemudian dianalisis PCR.

Hasil analisis PCR dengan primer *hpt II* menunjukkan bahwa dari 24 tanaman tebu putatif transforman yang berhasil diaklimatisasi, didapatkan 15 tanaman tebu transforman yang positif mengandung gen ketahanan antibiotik hygromycin, sehingga dapat dikatakan juga mengandung gen target *SoSUT1*. Efektifitas rata-rata transformasi gen *SoSUT1* menggunakan eksplan pangkal tunas tebu *in vitro* sebesar 6,8% dengan persentase efektifitas transformasi pada transformasi pertama, kedua dan ketiga berturut-turut sebesar 10,34 % ; 4,6% dan 5,45%. Kode T1.1, T1.2, T1.3, T1.4, T1.6, T1.7, T1.8, T1.9, T1.10 dari transformasi pertama, kode T2.1, T2.2, T2.4 dari transformasi kedua dan kode T3.2, T3.5, T3.6 dari transformasi ketiga. Dari 24 tanaman putatif transforman yang dianalisis, terdapat 9 tanaman yang dinyatakan sebagai tebu non transforman dengan tidak terdeteksi adanya pita DNA *hptII*. Hal ini disebabkan karena adanya perlindungan sel non transforman (*escape*) oleh sel transforman sehingga sel tanaman tersebut bersifat *chimera* (belum homogen).

## PRAKATA

Puji-syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Transformasi Gen *SoSUT1* Pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L var. BL) Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* Strain GV 3101 dan Eksplan Pangkal Tunas Tebu *In Vitro*”. 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 dan bimbingan dalam penulisan skripsi ini;
2. Dra. Dwi Setyati, M.Si dan Kahar Muzhakar S.Si, Ph.D selaku dosen penguji atas masukan dan saran guna kesempurnaan penulisan skripsi ini;
3. Drs. Moh. Imron Rosyidi, M.Sc selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. seluruh keluarga besarku yang telah begitu banyak memberikan, kasih sayang, doa, dukungan dan motivasi untuk lebih bersemangat dalam menggapai cita-cita.
5. Purnama Oktaviandari, S.P., M.P atas pengarahan dan bimbingan dalam menyelesaikan penelitian ini;
6. rekan-rekan kerja di Lab. Biologi Molekuler: Rinda, Hidayah S.Si, Frengky S.P, kakak senior Anandang, S.P; Adji, S.P; Ahmad Fudhaili, S.Si; Nina, S.Si; Triliani, S.Si; Mutik, S.Si; Aditya, S.Si; Anzi, S.Si; Nurul, S.Si; dan adek lab (Dina, Anna,

Eni, Wimbuh, Novita, Obam, Fadrian) atas seluruh perhatian, dukungan dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini;

7. keluarga besar biologi 2008 “Omfalomesenterika” Fakultas MIPA yang telah memberi warna hidup selama kuliah;
8. para sahabat seperjuangan TBV Group (Ika Agus, Imam Hanafy, Syubbanul) Bacterial Group (Dewi, Arif, Azizah, Niar, Lutfya) dan Luluk, Rasit, Wisnu, Ria, Adifa, Lia atas kebersamaan, kekompakan dan keceriaan selama mengikuti kuliah;
9. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dan memberi dukungan selama berjuang dikampus.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan karya ilmiah tertulis ini masih banyak kekurangan, 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 pengembangan ilmu biologi.

Jember, Mei 2013

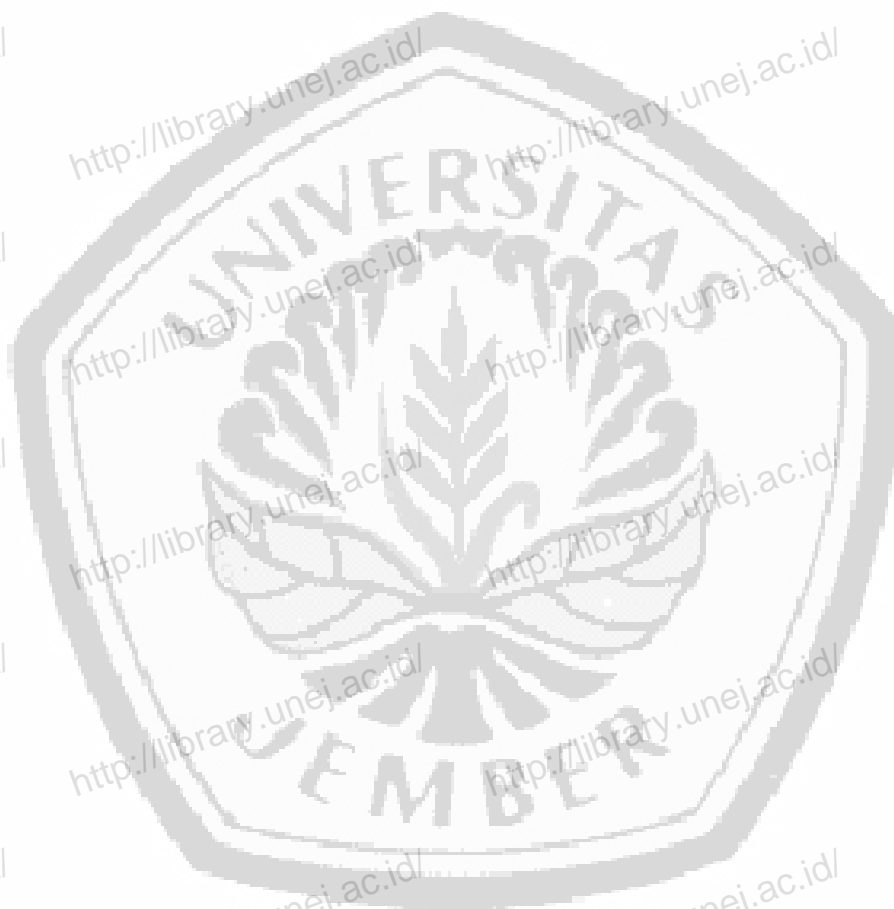
Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<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 PEMBIMBING</b> .....	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>xvii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3 Tujuan</b> .....	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat</b> .....	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.1 Tanaman Tebu (<i>Saccharum officinarum</i>. L) dan Biosintesis     Sukrosa</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2 Sucrose Transporter (SUT) Pada Tanaman</b> .....	<b>5</b>

2.3	<b>Transformasi Genetik Menggunakan Vektor <i>Agrobacterium tumefaciens</i></b> .....	6
2.4	<b>Eksplan Pangkal Tunas Tebu <i>In Vitro</i></b> .....	9
<b>BAB 3. METODOLOGI</b> .....		11
3.1	<b>Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	11
3.2	<b>Alat dan Bahan</b> .....	11
3.3	<b>Metode Penelitian</b> .....	11
3.3.1	Persiapan Eksplan .....	11
3.3.2	Pengkulturan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	12
3.3.3	Isolasi DNA Plasmid .....	12
3.3.4	Infeksi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> Pada Eksplan Tanaman Tebu .....	13
3.3.5	Kokultivasi .....	13
3.3.6	Eliminasi .....	13
3.3.7	Seleksi Eksplan Putatif Transforman .....	14
3.3.8	Efektifitas Transformasi .....	14
3.3.9	Aklimatisasi Tanaman Putatif Transforman .....	14
3.3.10	Isolasi DNA Genom Tanaman Transforman .....	14
3.4.11	Analisis Polimerase Chain Reaction (PCR) .....	15
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....		17
4.1	<b>Konfirmasi Keberadaan Plasmid <i>Actin</i> Dalam <i>Agrobacterium tumefaciens</i></b> .....	17
4.2	<b>Transformasi Gen <i>SoSUT1</i> Pada Tanaman Tebu</b> .....	18
4.3	<b>Aklimatisasi Planlet Tebu <i>In Vitro</i></b> .....	22
4.4	<b>Analisis PCR Tanaman Tebu Putatif Transforman Gen <i>SoSUT1</i></b> .....	23
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....		26
5.1	<b>Kesimpulan</b> .....	26

<b>5.2 Saran</b> .....	<b>26</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>27</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>31</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Efektifitas transformasi dalam bentuk persentase jumlah planlet yang mampu tumbuh pada tiap tahapan seleksi.....

Halaman

22



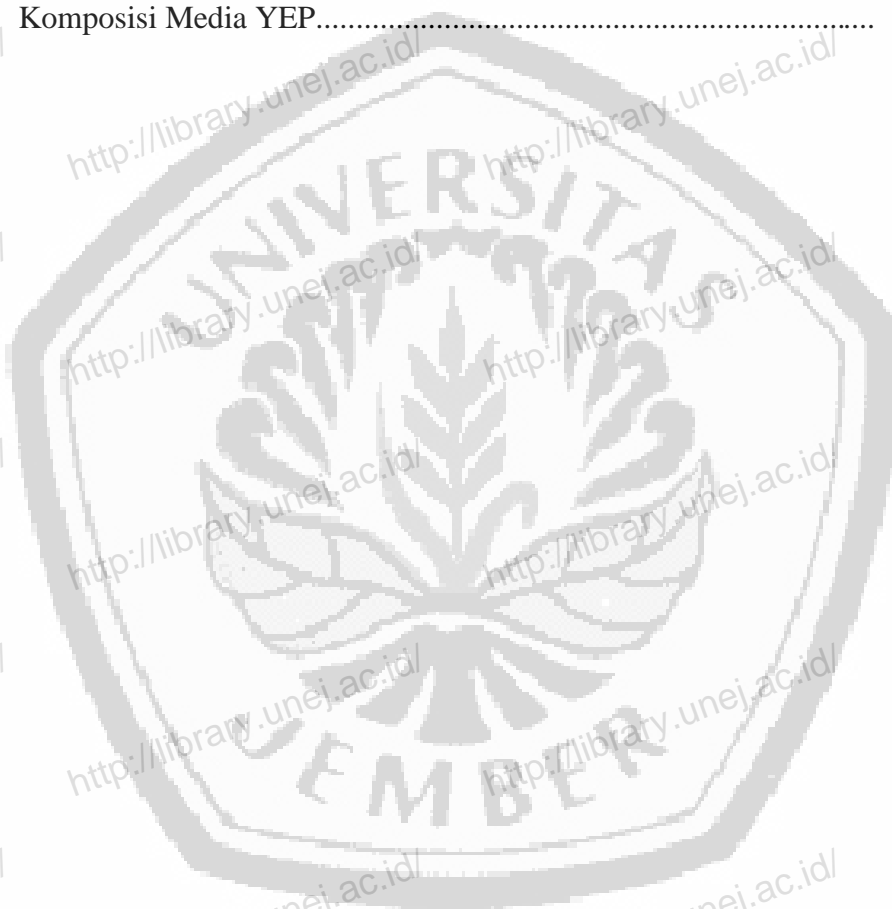
## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Ti plasmid bakteri <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	7
Gambar 2.2 Mekanisme transformasi genetik ke dalam sel tanaman oleh vektor <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	9
Gambar 3.1 Konstruk plasmid <i>pAct-SoSUT1</i> .....	12
Gambar 4.1 Hasil elektroforesis DNA plasmid <i>A. tumefaciens</i> GV 3101 <i>pAct-SoSUT1</i> menggunakan primer 1F/1R <i>hptII</i> .....	17
Gambar 4.2 Perbanyakan planlet tebu <i>in vitro</i> pada media MS <sub>0</sub> dan pangkal tunas tebu <i>in vitro</i> sebagai eksplan transformasi .....	19
Gambar 4.3 Pertumbuhan eksplan pada media kokultivasi dan media eliminasi .....	20
Gambar 4.4 Pertumbuhan eksplan pada media seleksi yang mengandung antibiotik <i>hygromycin</i> .....	21
Gambar 4.5 Aklimatisasi tanaman putatif transforman .....	23
Gambar 4.6 Elektroforesis gel agarose DNA hasil PCR menggunakan primer 1F/1R <i>hpt II</i> dengan template sampel DNA genom putatif transforman <i>SoSUT1</i> .....	24



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Komposisi Larutan Stock MS ( <i>Murashige and Skoog</i> ) dan <i>Hoagland</i> .....	31
B. Komposisi Media YEP.....	33



## DAFTAR SINGKATAN

bp	: basepair
cDNA	: <i>Complementary deoxyribose nucleic acid</i>
DNA	: <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
PCI	: <i>Phenol Chloroform Isoamylalcohol</i>
<i>pAct-SoSUT1</i>	: <i>pActin Saccharum officinarum Sucrose Transporter 1</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
TE	: <i>tris-EDTA</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>
vir	: <i>virulence</i>

