



**TRANSFORMASI GEN *SoSUTI* MENGGUNAKAN
Agrobacterium tumefaciens DAN EKSPLAN TUNAS LATERAL
PADA TANAMAN TEBU
(*Saccharum spp. hybrid*)**

SKRIPSI

Diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan
untuk menyelesaikan Progam Sarjana pada
Program Studi Agronomi Jurusan Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh:

**Anandang Ganni Wiyono
061510101069**

**JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2012**

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anandang Ganni Wiyono

NIM : 061510101069

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Transformasi Gen *SoSUT1* Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* dan Eksplan Tunas Lateral Pada Tanaman Tebu (*Saccharum spp. hybrid*)”** 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, 05 Juni 2012

Yang menyatakan,

Anandang Ganni Wiyono

NIM. 061510101069

SKRIPSI

**TRANSFORMASI GEN *SoSUTI* MENGGUNAKAN
Agrobacterium tumefaciens DAN EKSPLAN TUNAS LATERAL
PADA TANAMAN TEBU
(*Saccharum spp. hybrid*)**

Oleh:

**Anandang Ganni Wiyono
061510101069**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.

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

PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “Transformasi Gen *SoSUT1* Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* dan Eksplan Tunas Lateral Pada Tanaman Tebu (*Saccharum spp. hybrid*)” telah diuji dan disahkan pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 05 Juni 2012

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji

Penguji I,

Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.
NIP. 19650426 199403 1 001

Penguji II,

Penguji III,

Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr. Sc
NIP. 19551022 198212 1 001

Tri Handoyo, SP., Ph.D.
NIP.19711202 199802 1 001

Mengesahkan
Dekan,

Dr.Ir. Bambang Hermiyanto, MP.
NIP. 19611110 198802 1 001

SUMMARY

Transformasi Gen *SoSUT1* Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* dan Eksplan Tunas Lateral Pada Tanaman Tebu (*Saccharum spp. hybrid*)
Anandang Ganni W. 061510101069. 2012. Department of Agronomy, Agriculture Faculty, University of Jember.

Sucrose is the primary product of photosynthesis processed in leaves which is translocated to the entire of plant tissues (from source to sink). The translocation process is facilitated by a carrier protein which is called Sucrose Transporter (SUT). SUT is defined as a membrane protein which its existence in a plant is divided into three big subfamilies, they are: SUT1, SUT2, and SUT4. SUT1 has a higher affinity than SUT4, whereas the affinity of SUT2 is hardly to be detected.

The transformation of *SoSUT1* gen is applied on sugar cane explants since sugar cane plant becomes a major industrial plant which is very productive. Generally, the transformation process uses *Agrobacterium tumefaciens* vector, a soil infect bacteria that is able to transfer the T-DNA plasmid into plant genome that causes crown gall disease. The capability of T-DNA to insert into plant genome is the reason why some researchers do engineer to insert gen of interest (*SoSUT1*) into T-DNA sequence by removing encoded gen crown gall disease. In this study, the (*SoSUT1*) gen is constructed in pAct plasmid of *A. tumefaciens* strain GV 3101 bacteria. The (*SoSUT1*) gen which is inserted into sugar cane genome is expected to be able to increase the accumulation of sucrose which is higher in stalk (sink).

This study was conducted in the BIOSAIN laboratory, State Polytechnics of Jember and the Basic Biology Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Jember University from August 2010 until January 2012. The materials used in this study are: axillary buds of sugar cane plant (*Saccharum spp. hybrid.*) cv BL, *A. tumefaciens* GV 3101, *SoSUT1* gen in plasmid, YEP (Yeast-extract peptone) media, MS (Murashige Skoog) media, Primer F/R *hptII*, and PCR Master Mix (Roche). The stages of experiment conducted in this study are: 1). The confirmation of pAct: *SoSUT1* binary plasmid in *A. tumefaciens* uses PCR method by using Primer F/R *hptII*, 2). The multiplication of axillary bud explants of sugar cane, 3). The transformation of *SoSUT1* gen on sugar cane explants in vitro, 4). The construct confirmation of *SoSUT1* gen in sugar cane plant genome by using Primer F/R *hptII*.

The result of this study shows that 1). The pAct: *SoSUT1* binary plasmid was integrated into *A. tumefaciens*. The result of the analysis by using PCR method with two pairs of primers shows DNA band 470 bp in length, 2). The *SoSUT1* gen transformation on sugar cane explants produces percentage of transformer putative plant by 7%, 3). The construct of *SoSUT1* gen was integrated into sugar cane plant genome. The result of the analysis by using PCR method with two pairs of primer shows DNA band 470 bp in length..

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Transformasi Gen *SoSUTI* Menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* dan Eksplan Tunas Lateral Pada Tanaman Tebu (*Saccharum spp. hybrid*)”. Penelitian ini dibiayai oleh “PT. Perkebunan XI (Persero) Surabaya untuk Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr, Sc tahun 2011-2012”.

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

1. Ayahanda Agus Wiyono, Ibunda Andriyani, Adikku Aina Sukma Wiyani serta Nenekku Bushina tercinta, yang selalu memberikan doa, kasih sayang, semangat, dan motivasi sepanjang perjalanan hidupku sampai sekarang.
2. Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc., Tri Handoyo, SP. Ph.D., dan Netty Ermawati, Ph.D., selaku dosen pembimbing yang dengan penuh kesabaran memberikan pengarahan, saran, dan bimbingan dalam penelitian maupun penulisan skripsi ini.
3. Laboratorium Terpadu BIOSAIN Politeknik Negeri Jember dan Laboratorium Biologi Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember sebagai tempat penelitian.
4. 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.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PEMBIMBINGAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
RINGKASAN	vi
SUMMARY	vii
PRAKATA	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan dan Manfaat	4
1.3.1. Tujuan	4
1.3.2. Manfaat	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tebu (<i>Saccharum spp. hybrid</i>) varietas BL	5
2.2 Sucrose Transporter (SUT)	6
2.3 Transformasi dengan <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	8
2.4 Hipotesis	11
BAB III. METODE PENELITIAN	12
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	12
3.2 Bahan dan Alat	12
3.3 Prosedur Penelitian	12
3.4 Pelaksanaan	12
3.4.1 Penyediaan Tunas Lateral Sebagai Eksplan	12
3.4.2 Persiapan Bakteri <i>Agrobacterium tumefaciens</i> dan Pembuatan Starter	13
3.4.3 Transformasi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> dan Ko-kultivasi	14

3.4.4	Eliminasi	14
3.4.5	Pengamatan Terhadap Tanaman Transforman	14
3.4.6	Aklimatisasi	15
3.4.7	Isolasi DNA Genom Tanaman Transforman	15
3.4.8	Desain Primer dan Analisis PCR	16
BAB IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1	Konfirmasi Keberadaan Plasmid pAct dalam <i>Agrobacterium tumefaciens</i> Transforman	18
4.2	Transformasi Tunas Lateral Tebu dengan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> yang membawa gen <i>pAct-SoSUT1</i>	20
4.3	Aklimatisasi Planlet Putatif Transforman	26
4.4	Analisis PCR Tebu Putatif Transforman <i>Overekspresi</i> Gen <i>SoSUT1</i>	27
BAB V.	KESIMPULAN DAN SARAN	30
5.1	Kesimpulan	30
5.2	Saran	30
	DAFTAR PUSTAKA	31
	LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1. Hasil Transformasi ke-1	23
4.2. Hasil Transformasi ke-2	24
4.3 Hasil Transformasi ke-3	25

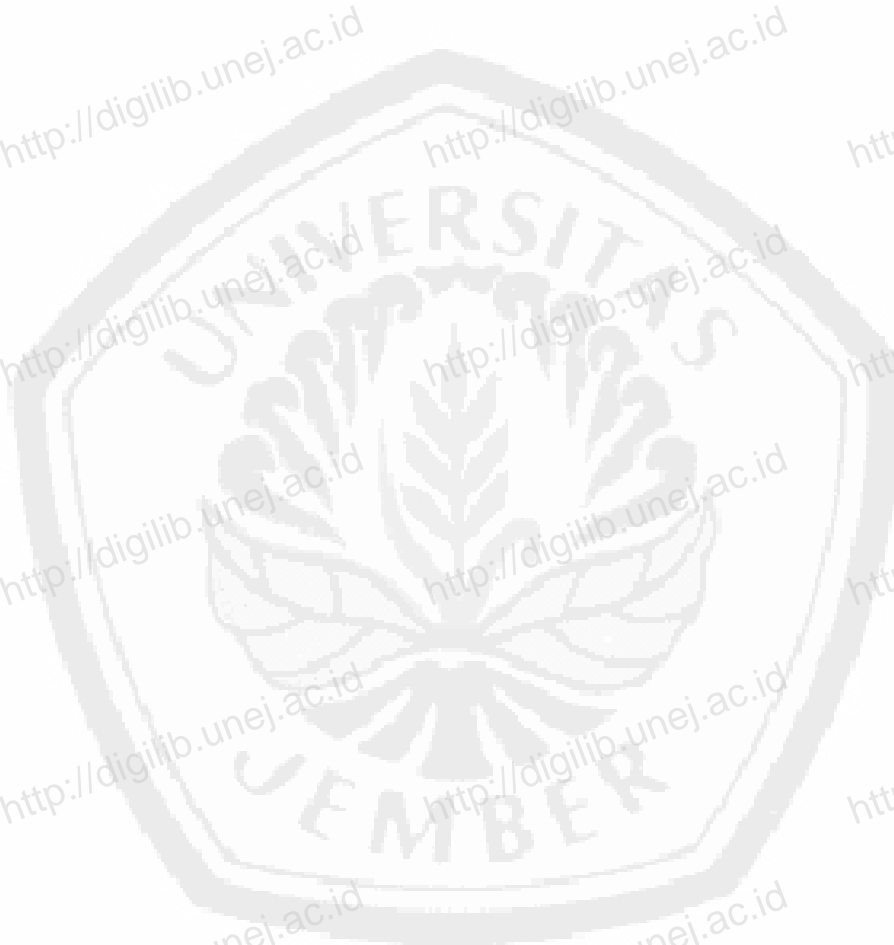


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Transformasi T-DNA dari sel <i>A. tumefaciens</i> ke sel tanaman.....	11
2. Peta konstruk plasmid pAct yang mengandung cDNA <i>SoSUT1</i> pada strain bakteri GV 3101 dan plasmid pAct	13
4.1. Hasil elektroforesis PCR produk DNA plasmid GV 3101 -pAct <i>SoSUT1</i> menggunakan (a) primer 2F/2R SUT dan (b) primer F/R <i>nptII</i>	19
4.2 Hasil elektroforesis PCR produk DNA plasmid pAct <i>SoSUT1</i> menggunakan (a) primer 2F/2R SUT dan (b) primer F/R <i>hptII</i>	19
4.3 Hasil elektroforesis PCR produk DNA plasmid GV 3101-pAct <i>SoSUT1</i> menggunakan primer F/R <i>hptII</i>	20
4.4 Hasil perbanyakan eksplan tunas lateral tebu.....	21
4.5 Perbedaan tahap perkembangan eksplan pada media seleksi antara yang ditransformasi dan tidak ditransformasi	22
4.6 Planlet hasil seleksi	23
4.7 Pengaruh <i>overgrowth</i> bagi eksplan.....	24
4.8 Aklimatisasi.....	26
4.9 Hasil PCR meggunakan Primer (F/R) <i>hptII</i> pada tanaman putative transforman setelah diaklimatisasi.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Komposisi Media Stock	36
Lampiran 2 Komposisi Media Transformasi	37



DAFTAR SINGKATAN

bp	: <i>basepair</i>
cDNA	: <i>Complementary deoxyribose nucleic acid</i>
DNA	: <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
<i>goi</i>	: <i>gene of interest</i>
<i>hptII</i>	: <i>hygromycin phosphotransferaseII</i>
LB	: <i>Left Border</i>
MS	: <i>Murashige Skoog</i>
<i>pAct</i>	: <i>Plasmid actin</i>
PCI	: <i>Phenol Chloroform Isoamylalcohol</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RB	: <i>Right Border</i>
SPP	: <i>Sucrose phosphate phosphatase</i>
<i>SoSUTI</i>	: <i>Saccharum officinarum Sucrose transporter 1</i>
SUCs	: <i>sucrose carriers</i>
<i>SuSy</i>	: <i>sucrose synthase</i>
SUT	: <i>Sucrose transporter</i>
T-DNA	: <i>Transfer DNA</i>
TE	: <i>tris-EDTA</i>
Ti-plasmid	: <i>Tumor inducing plasmid</i>
vir	: <i>virulence</i>
YEP	: <i>Yeast extract Pepton</i>