



**TRANSFORMASI GEN *SoSUT1* MENGGUNAKAN VEKTOR
Agrobacterium tumefaciens PADA TANAMAN TOMAT
PRODUK REKAYASA GENETIKA (PRG) *Event 4.1***

SKRIPSI

Oleh

**Dina Dwijayanti
NIM 091810401018**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2014**



**TRANSFORMASI GEN *SoSUT1* MENGGUNAKAN VEKTOR
Agrobacterium tumefaciens PADA TANAMAN TOMAT
PRODUK REKAYASA GENETIKA (PRG) *Event 4.1***

SKRIPSI

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

Oleh

Dina Dwijayanti
NIM 091810401018

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2014

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. ibunda tercinta Nanik Haryati dan ayahanda tercinta Adi Suwanto, terima kasih yang tak terhingga atas kasih sayang, pengorbanan dan doa yang tiada henti;
2. kakak tersayang Andy Wijaya dan adik tercinta Yuntari Daniyati atas motivasi, semangat dan pembelajaran hidup;
3. guru sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

Kamu yang sekarang adalah doamu dan doa orang di sekitarmu di masa lalu dan kamu yang akan datang adalah doamu dan mereka saat ini

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dina Dwijayanti

NIM : 091810401018

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Transformasi Gen *SoSUTI* Menggunakan Vektor *Agrobacterium tumefaciens* Pada Tanaman Tomat Produk Rekayasa Genetika (PRG) *Event 4.1*” 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, Mei 2014

Yang Menyatakan,

Dina Dwijayanti
NIM 091810401018

SKRIPSI

**TRANSFORMASI GEN *SoSUT1* MENGGUNAKAN VEKTOR
Agrobacterium tumefaciens PADA TANAMAN TOMAT
PRODUK REKAYASA GENETIKA (PRG) *Event 4.1***

Oleh

**Dina Dwijayanti
091810401018**

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Parawita Dewanti, M.P.

PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “Transformasi Gen *SoSUTI* Menggunakan Vektor *Agrobacterium tumefaciens* Pada Tanaman Tomat Produk Rekayasa Genetika (PRG) *Event 4.1*” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua

Sekretaris

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

Dr. Ir. Parawita Dewanti, M.P
NIP 196504251990022002

Anggota

Penguji I

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 Gen *SoSUTI* Menggunakan Vektor *Agrobacterium tumefaciens* Pada Tanaman Tomat Produk Rekayasa Genetika (PRG) Event 4.1: Dina Dwijayanti, 091810401018; 2014, 27 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tomat *event* 4.1 merupakan tomat produk rekayasa genetika overekspresi *SoSPS1*. *SoSPS1* adalah gen penyandi *Sucrose Phosphate Synthase* yang telah berhasil diisolasi dari tanaman tebu (Sugiharto, 1997). Pentingnya peranan sukrosa dalam tanaman yaitu digunakan sebagai sumber karbon dalam metabolisme serta sebagai sumber energi untuk pertumbuhan tanaman sehingga sukrosa perlu ditranslokasikan. Sukrosa yang dihasilkan di daun (*source*) akan ditranslokasikan menuju jaringan penyimpanan (*sink*) oleh protein *Sucrose Transporter* (SUT). Pada penelitian sebelumnya, telah diperoleh tanaman tomat *event* 4.1 overekspresi *SoSPS1* yang meningkatkan aktivitas enzim SPS untuk sintesis sukrosa di dalam tanaman tomat.

Proses transformasi gen *SoSUTI* menggunakan vektor *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101 *pAct-SoSUTI* terdiri dari beberapa tahapan yaitu konfirmasi keberadaan *pAct-SoSUTI* pada *Agrobacterium tumefaciens*, persiapan eksplan, infeksi, kokultivasi, eliminasi dan seleksi tanaman putatif transforman.

Agrobacterium tumefaciens yang digunakan dalam transformasi perlu dikonfirmasi untuk membuktikan bahwa bakteri tersebut telah tersisipi oleh *pAct-SoSUTI* sehingga dapat digunakan sebagai vektor dalam proses transformasi. Konfirmasi dilakukan dengan isolasi DNA plasmid kemudian dilanjutkan dengan analisis PCR menggunakan primer 1F/1R *hptII* untuk mendeteksi keberadaan gen *hptII* pada *pAct-SoSUTI*.

DNA hasil amplifikasi PCR kemudian dielektroforesis dan dibandingkan dengan marker 1 kb Ladder, diperoleh pita berukuran ± 470 bp, sesuai dengan panjang DNA *hptII*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konstruk plasmid *pAct-*

SoSUTI telah berhasil terinsersi ke dalam sel bakteri *Agrobacterium tumefaciens* dan dapat dijadikan vektor dalam transformasi menggunakan eksplan tunas tomat yang berumur 14 hari.

Persentase planlet yang mampu bertahan hingga media seleksi 5 yaitu transformasi ke-1 0%, transformasi ke-2 0%, transformasi ke-3 6 %. Dari proses transformasi diperoleh tanaman putatif transforman sebanyak 6 tanaman putatif transforman.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Transformasi Gen *SoSUTI* Menggunakan Vektor *Agrobacterium tumefaciens* Pada Tanaman Tomat Produk Rekayasa Genetika (PRG) *Event 4.1*”. 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 MP3EI dan Dikti tahun 2013 atas nama Prof. Bambang Sugiharto.

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, Dr. Ir. Parawita Dewanti, M.P. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, perhatian dan bimbingan dalam penulisan skripsi ini;
2. Dra. Dwi Setyati M.Si. dan Esti Utarti S.P., M.Si. selaku dosen penguji atas masukan dan saran guna kesempurnaan penulisan skripsi ini;
3. Kahar Muzakhar Ph.D selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran dan bimbingan selama penulis menjadi mahasiswa di Universitas Jember;
4. kedua orang tua Nanik Haryati dan Adi Suwanto yang selalu memberikan doa, kasih sayang, pengorbanan sepanjang hidup. Kedua saudara Andy Wijaya dan Yuntari Daniyati yang memberi motivasi untuk menjadi lebih baik;
5. Purnama Okviandari, S.P., M.P. yang telah memberikan masukan dan semangat selama melaksanakan tugas akhir;
6. kawan seperjuangan Lab Biologi Molekuler (Eni K., Novita B., Wimboh T.W., Ana S., Fadrian R., Riski obama, Ifan Y.), kakak senior (Edia F. S.Si., Frengky H. S.P., Rinda M. S.Si., Hidayah M. S.Si. , Anandang G. S.P , Aji B. S.P.) terima

kasih atas seluruh kebersamaan, suka duka dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini;

7. keluarga besar sugar group (Derta, Kunti, Aping, Narita, Nana, Mban, Warda, Loli, Halimah, Ahmil, Al, Putri, Qoyim), basi grup (Septi, Uus, dll), bakteri grup, melinjo grup dan CDAST Universitas Jember;
8. seluruh sahabat seperjuangan Biologi 2009 (Diyah, Huda, Alfa, Devia, Ririn, Alvien, Gusti, Rofi', Arif, Salam, Dina, Indri, Riris, Rahel, Resti, Haris, Eka, Vivin, Ramadhan, Guntur, Indah, Kilas, terima kasih atas suka duka selama kuliah;
9. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dan memberi semangat selama di Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan karya ilmiah tertulis ini masih terdapat banyak kekurangan, untuk itu 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 perkembangan ilmu biologi.

Jember, Mei 2014

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 TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR ISTILAH	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Biosintesis Sukrosa Pada Tanaman Tomat	4
2.2 Translokasi Sukrosa Pada Tanaman Tomat	5
2.3 Transformasi gen <i>SoSUT1</i> Menggunakan Vektor <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	7

BAB III. METODE PENELITIAN	10
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10
3.2 Bahan dan Alat	10
3.3 Metode Penelitian	10
3.3.1 Persiapan Eksplan	11
3.3.2 Konfirmasi Keberadaan Gen <i>pAct-SoSUT1</i> pada <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	12
3.3.3 Tahapan Transformasi	14
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Konfirmasi Keberadaan Gen <i>pAct-SoSUT1</i> pada <i>Agrobacterium tumefaciens</i>.....	16
4.2 Transformasi Gen <i>SoSUT1</i> Pada Tanaman Tomat Overekspresi <i>SoSPSI</i>	17
BAB V. PENUTUP	24
5.1 Kesimpulan	24
5.2 Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	28

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Persentase jumlah planlet yang lolos tahapan seleksi.....	21

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Translokasi sukrosa dari daun (source) menuju jaringan penyimpanan (sink) yang difasilitasi oleh protein transporter	6
2.2 Proses infeksi alami <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	9
3.1 Prosedur penelitian	11
3.2 Konstruksi plasmid <i>pAct-SoSUTI</i>	12
4.1 Elektroforesis DNA plasmid <i>pAct-SoSUTI</i> <i>Agrobacterium tumefaciens</i> GV 3101 hasil PCR menggunakan primer 1F/1R	17
4.2 Persiapan eksplan yang digunakan untuk transformasi.....	17
4.3 Tahap transformasi.....	19
4.4 Pertumbuhan eksplan pada media seleksi	20
4.5 <i>Overgrowth</i> <i>Agrobacterium tumefaciens</i> di sekitar eksplan yang ditanam pada media seleksi	22
4.6 Eksplan mulai tumbuh dan beregenerasi pada media MS ₀	23

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Media <i>Murashige and Skoog</i> (MS).....	28
2. Media <i>Yeast Extract Pepton</i> (YEP)	28

DAFTAR ISTILAH

cDNA	: <i>Complementary Deoxyribonucleic acid</i>
Chv	: <i>Chromosomal virulence</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
F6P	: <i>Fructose-6-Phosphat</i>
hptII	: <i>Hygromycin phosphotransferase II gene</i>
LB	: <i>Left Border</i>
MS	: <i>Murashige and Skoog</i>
nptII	: <i>Neomycin phosphotransferase II gene</i>
OD	: <i>Optical Dencity</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PEG	: <i>Poly Ethilen Glicol</i>
PGA	: <i>Phospho Glyseric Acid</i>
PNOS	: <i>Promoter Nopaline Syntase</i>
RB	: <i>Right Border</i>
SPP	: <i>Sucrose Phosphat Syntase</i>
Suc6P	: <i>Sucrose-6-Phosphat</i>
TDNA	: <i>Transfer Deoxyribonucleic acid</i>
Ti plasmid	: <i>Tumor inducing plasmid</i>
UDPG	: <i>Uridine diphosphoglucose</i>
YEP	: <i>Yeast Extract Pepton</i>