



**SELEKSI DAN UJI STABILITAS GENETIK TANAMAN TEBU
PRODUK REKAYASA GENETIKA (PRG) pCL4-SoSPS1
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

**Eni Kusrini
091810401004**

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



**SELEKSI DAN UJI STABILITAS GENETIK TANAMAN TEBU
PRODUK REKAYASA GENETIKA (PRG) pCL4-SoSPS1
SECARA *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

**Eni Kusrini
091810401004**

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

PERSEMBAHAN

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

1. Ibunda Tumi N dan Ayahanda Pairan (Alm) tercinta serta kakak-kakak tercinta Miswanto dan Daryanto sebagai sumber semangat yang senantiasa mengiringi setiap langkah.
2. keluarga besar yang telah begitu banyak memberikan dukungan dalam setiap kegiatan.
3. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat

(Q.S. Al-Mujadalah, 11)*)

Merantaulah maka kau akan dapatkan pengganti dari kerabat dan kawan. Berlelah lelahlah, manisnya hidup terasa setelah lelah berjuang.

(Imam Syafi'i)**)

*)Departemen Agama Republik Indonesia. 2009. Al-Qur'an dan Terjemahan. Jakarta Timur : CV. Pustaka Alkautsar.

***)Ulama Besar pengarang buku Diwan asy-Syafi'i.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Eni Kusriani

NIM : 091810401004

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Seleksi dan Uji Stabilitas Genetik Tanaman Tebu Produk Rekayasa Genetika (PRG) pCL4-SoSPSI secara *In Vitro***” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun dan bukan karya jiplakan. Penelitian ini dibiayai oleh MP3EI 2013 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. 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, 10 Mei 2014

Yang Menyatakan,

Eni Kusriani

NIM 091810401004

SKRIPSI

**SELEKSI DAN UJI STABILITAS GENETIK TANAMAN TEBU PRODUK
REKAYASA GENETIKA (PRG) pCL4-*SoSPS1* SECARA *IN VITRO***

**Oleh
Eni Kusrini
NIM 091810401004**

Pembimbing:

**Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr. Sc
Dosen Pembimbing Anggota : Dra. Dwi Setyati, M.Si**

PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “Seleksi dan Uji Stabilitas Genetik Tanaman Tebu Produk Rekayasa Genetika (PRG) pCL4-*SoSPS1* secara *In Vitro*” telah diuji dan disahkan pada :

Hari, Tanggal :

Tempat : Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji:

Ketua (DPU)

Sekretaris (DPA)

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

Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 196404171991032001

Dosen Penguji 1

Dosen Penguji II

Dr. Ir. Parawita Dewanti , MP
NIP. 196504251990022002

Esti Utarti. SP. M.Si
NIP. 197003031999032001

Mengesahkan
Dekan FMIPA

Prof. Drs. Kusno, DEA., PhD
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

Seleksi dan Uji Stabilitas Tanaman Tebu Produk Rekayasa Genetika (PRG) pCL4-*SoSPSI* Secara *In Vitro*; Eni Kusriani; 091810401004; 2014; 27 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tebu PRG pCL4-*SoSPSI* merupakan tebu unggul baru hasil transformasi genetik overekspresi gen *SoSPSI*. Gen *SoSPSI* merupakan cDNA penyandi enzim SPS yang merupakan enzim kunci dalam biosintesis sukrosa. Overekspresi gen *SoSPSI* pada tebu dapat meningkatkan sintesis enzim SPS sehingga meningkatkan biosintesis sukrosa.

Tebu merupakan tanaman yang berbiji sangat kecil dan perbanyak tanaman tebu secara konvensional membutuhkan waktu yang cukup lama. Tanaman yang dihasilkan dengan cara tersebut kurang homogen serta jumlahnya terbatas. Demikian halnya dengan tebu PRG pCL4-*SoSPSI* yang merupakan tanaman tebu unggul hasil rekayasa genetika tersebut, saat ini keberadaannya masih sangat terbatas.

Oleh karena itu perlu dilakukan perbanyak secara *in vitro* agar diperoleh tanaman PRG pCL4-*SoSPSI* dengan jumlah banyak. Tanaman tersebut selanjutnya juga perlu diseleksi dan diuji kestabilan genetiknya melalui konfirmasi keberadaan gen yang diinsersikan yaitu gen *nptII* dengan menggunakan PCR. Tujuan penelitian ini adalah untuk memastikan keberadaan gen *SoSPSI* pada tebu PRG pCL4-*SoSPSI* melalui seleksi pada media kanamisin dan analisis PCR untuk mendeteksi kestabilan insersi transgen dalam tanaman tebu PRG pCL4-*SoSPSI*. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu perbanyak tebu PRG pCL4-*SoSPSI* secara *in vitro*, seleksi tanaman PRG pCL4-*SoSPSI* pada media yang mengandung antibiotik kanamisin 50 mg/L dan uji kualitatif dengan analisis PCR..

Hasil penelitian seleksi dan uji stabilitas tanaman pCL4-*SoSPSI* didapatkan persentase *plantlet* yang hidup pada seleksi 1 rata-rata 85 % (± 34 *plantlet*), seleksi 2 rata-rata 73 % (± 24 *plantlet*) dan seleksi 3 turun menjadi 30% (± 7 *plantlet*). Dari hasil

PCR sebagian besar *plantlet* pCLA-SoSPSI telah stabil dan transgen yang diinsersikan (gen *nptII*) terintegrasi dan diturunkan pada *plantlet* yang telah diperbanyak secara *in vitro*. Hasil PCR menunjukkan 20 *plantlet* muncul pita band dengan ukuran panjang ± 550 bp yang sesuai dengan panjang gen *nptII* dan 3 *plantlet* masih heterogen karena tidak muncul pita band diduga mengalami *escape*.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Seleksi dan Uji Stabilitas Genetik Tanaman Tebu Produk Rekayasa Genetika (PRG) pCL4-*SoSPSI* secara *In Vitro*”. Penelitian ini dibiayai oleh MP3EI 2013 atas nama Prof. Dr. Bambang Sugiharto M.Agr.Sc. 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
Dra. Dwi Setyati, M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota, Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP selaku Dosen Penguji I dan Esti Utarti, SP., M.Si selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
2. keluarga besar saya yang telah memberikan dorongan dan doa demi terselesaikannya skripsi ini;
3. keluarga besar Sugar Group Purnama Okviandari,SP.MP, Anandang Ganni SP., Ajie Baskoro,SP., Frengky Hermawan, SP., Hidayah Murtiyaningsih, S.Si, Edia Fitri Dwinanti, S.Si dan Rinda Media Ningtyas, S.Si, Aping, Al, Frag, Nana, Warda, Narita, Putri, Umi, Ahmil, Derta, Kunti, Loly, Halimah, Nurul, Septi serta keluarga besar CDAST terimakasih atas bantuannya selama ini;
4. para sahabat Novita Berliana, Anna Sofyana, Dina Dwijayanti, Wimbuh Tri Widodo, Risky Mulana, Fadrian Ramadhan, dan Ifan Yulianto terimakasih

telah menjadi partner, keluarga dan sahabat selama ini dan Angga Peristiwa terimakasih atas supportnya;

5. keluarga besar kost Kalimantan 4 no 58, Belitung 2 no 9 serta Halmahera 4A no 1, terimakasih atas huniannya dan persaudarannya di tempat rantau;
6. seluruh keluarga biologi angkatan 2009 yang telah menambah warna hidup selama ini Arif Mohammad, S.Si ; Bahtiar Haris, S.Si, Ramadhan Taufika, S.Si; Rizki Auliya S.Si; Rofiatul Laila, S.Si; Indrianita Wardani, S.Si; Rahel Desi, S.Si; Ririn Rahmawati, S.Si; Alvien nuraini, S.Si; Devia Istiqoma, S.Si; Resti Anisa, S.Si; Huda, Salam, Guntur, Alfian, Eka, Bety, Adinta, Infitri, Vivin, Dina D.A, Kilas, Indah, Gusti, Alfa;
7. 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, Mei 2014

Penulis

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Jalur biosintesis sukrosa pada tanaman yang dikatalisis oleh enzim SPS	4
2.2 Peta konstruk plasmid pCL4- <i>SoSPSI</i>	8
3.1 Sumber <i>eksplant</i> tebu PRG pCL4- <i>SoSPSI</i>	11
3.2 <i>Eksplant</i> yang telah beregenerasi menjadi <i>plantlet</i>	12
4.1 Kultur tebu pada umur yang berbeda <i>eksplant</i> dari tunas apikal.....	15
4.2 Kultur tebu pada umur yang berbeda <i>eksplant</i> dari tunas lateral	15
4.3 <i>Plantlet</i> yang akan diseleksi pada media antibiotik	16
4.4 Respon <i>Plantlet</i> WT pada media seleksi antibiotik kanamisin 50 mg/L.....	18
4.5 Respon <i>Plantlet</i> PRG pCL4- <i>SoSPSI event</i> 1.1C pada media seleksi antibiotik kanamisin 50 mg/L.....	19
4.6 Hasil analisis PCR 20 <i>event</i> Tebu PRG pCL4- <i>SoSPSI</i> dengan elektroforesis 1 % gel agarosa dengan menggunakan pasangan primer <i>nptII</i> -F/R dan template DNA genomik tebu PRG	23
4.7 Hasil analisis PCR 20 <i>event</i> Tebu PRG pCL4- <i>SoSPSI</i> dengan elektroforesis 1 % gel agarosa dengan menggunakan pasangan primer <i>nptII</i> -F/R dan template DNA genomik tebu PRG	23

DAFTAR SINGKATAN

BA	: <i>Benzyl adenin</i>
bp	: basepair
cDNA	: <i>Complementary deoxyribose nucleic acid</i>
DNA	: <i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
F-6-P	: fructose-6-phosphate
G-6-P	: Glucose 6 Phosphate
GA3	: <i>Gibberellic Acid</i>
LAF	: <i>Laminar Air Flow</i>
LB	: <i>Left Border</i>
MS	: <i>Murashige Skoog</i>
nos	: <i>Nopaline synthase gene</i>
<i>nptII</i>	: <i>neomycin phosphotransferaseII</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RB	: Right Border
RUBQ2	: <i>Rice polyubiquitin gene</i>
S-6-P	: <i>Sucrose-6-phosphate</i>
SPP	: <i>Sucrose phosphate phosphatase</i>
SPS	: <i>Sucrose phosphate synthase</i>
T-DNA	: Transfer DNA
Ubi-1	: <i>Maize Ubiquitin</i>
UDPG	: <i>uridine diphosphate glucose</i>

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Stok dan Komposisi media MS	30
B. Komposisi modifikasi media MS untuk perbanyak tunas apikal dan lateral.....	31
C. Gambar hasil PCR Tanaman Tebu penelitian sebelumnya oleh Baskoro dan Sugiharto.....	32

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR ISI	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan dan Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tebu Produk Rekayasa Genetika (PRG) pCL4-SoSPS1	4
2.2 Perbanyak Tebu Secara <i>In Vitro</i> (Mikropropagasi) dan Faktor- faktor yang Berpengaruh pada Perbanyak Tebu secara <i>In Vitro</i>	5
2.3 Seleksi dan Uji Stabilitas Genetik Tanaman Tebu Produk Rekayasa Genetika (PRG) pCL4-SoSPS1	7
BAB 3. METODE PENELITIAN	10

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Metode Percobaan	10
3.3.1 Pembuatan Media Pertumbuhan dan Media Seleksi.....	10
3.3.2 Perbanyak Tebu PRG pCL4- <i>SoSPSI</i> secara <i>In Vitro</i>	11
3.3.3 Seleksi Tanaman PRG pCL4- <i>SoSPSI</i> pada media yang mengandung antibiotik kanamisin 50 mg/L.....	12
3.3.4 Isolasi DNA Genom daun tebu PRG pCL4- <i>SoSPSI</i> dan Analisis PCR.....	12
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Perbanyak tanaman tebu pCL4-<i>SoSPSI</i> Produk Rekayasa Genetika (PRG) secara <i>in vitro</i> (mikropropagasi)	14
4.2 Seleksi <i>Plantlet</i> Tebu PRG pCL4-<i>SoSPSI</i> pada media yang mengandung Kanamisin 50 mg/L	16
4.3 Konfirmasi <i>Plantlet</i> tebu PRG pCL4-<i>SoSPSI</i> yang lolos seleksi dengan analisis <i>Polimerase Chain Reaction</i> (PCR).....	22
BAB 5. PENUTUP.....	25
5.1 Kesimpulan	25
5.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	30