



**TRANSFORMASI GEN *SoSPS1* MENGGUNAKAN
PROMOTER *RUBQ2* PADA TANAMAN TEBU
VARIETAS NXI 1-3**

SKRIPSI

Oleh

**Novita Berliana Gunawan
NIM 091810401003**

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



**TRANSFORMASI GEN *SoSPS1* MENGGUNAKAN
PROMOTER *RUBQ2* PADA TANAMAN TEBU
VARIETAS NXI 1-3**

SKRIPSI

Diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan untuk
menyelesaikan Progam Sarjana pada Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember

Oleh

**Novita Berliana Gunawan
NIM 091810401003**

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

PERSEMBAHAN

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

1. Ayahanda Herry Gunawan dan Ibunda Andri Fadjarini tercinta, kuhaturkan terimakasih yang tak terhingga atas segala doa, kasih sayang, semangat yang tak pernah putus dan selalu memberikan yang terbaik;
2. semua guru dan dosen yang telah mendidik dan memberikan ilmunya, terimakasih yang tak terhingga atas ilmu yang diberikan;
3. Almamater Universitas Jember.

MOTO

“La yukallifullahu nafsan illa wus’aha...”
“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya...”
(Surat *Al-Baqarah* ayat 286)^{*)}

“To accomplish great things, we must not only act, but also dream,
not only plan but also believe”

“Success does not consist in never making mistakes but in never making the same
one in a second time”

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2008. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Bandung: Fajar Utama Madani

^{***)} Anatole France (1844-1924) . Novelis, penerima Nobel *Prize in Literature* pada tahun 1921

^{****)} George Bernard Shaw (1856-1950). Novelis, penerima Nobel *Prize in Literature* pada tahun 1925

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Novita Berliana Gunawan

NIM : 091810401003

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Transformasi Gen *SoSPS1* Menggunakan Promoter *RUBQ2* Pada Tanaman Tebu Varietas NXI 1-3”** 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 tahun 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.

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, Juni 2014

Yang menyatakan,

Novita Berliana Gunawan

NIM 091810401003

SKRIPSI

**TRANSFORMASI GEN *SoSPS1* MENGGUNAKAN
PROMOTER *RUBQ2* PADA TANAMAN TEBU
VARIETAS NXI 1-3**

Oleh

**Novita Berliana Gunawan
091810401003**

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Anggota : Dra. Dwi Setyati, M.Si

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Transformasi Gen *SoSPS1* Menggunakan Promoter *RUBQ2* Pada Tanaman Tebu Varietas NXI 1-3” telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji,

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP 196404171991032001

Anggota,

Penguji I,

Penguji II,

Esti Utarti, SP, M.Si
NIP 197003031999032001

Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP.
NIP 196504251990022002

Mengesahkan

Dekan,

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

RINGKASAN

Transformasi Gen *SoSPS1* Menggunakan Promoter *RUBQ2* Pada Tanaman Tebu varietas NXI 1-3; Novita Berliana Gunawan, 091810401003; 2014: 34 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Transformasi genetik diketahui dapat meningkatkan ekspresi (overekspresi) dari gen-gen yang telah berhasil diinsersikan ke dalam genom tanaman. Salah satu gen yang telah berhasil diinsersikan ke dalam genom tanaman adalah gen *SoSPS1*. Gen *SoSPS1* adalah gen penyandi enzim *Sucrose Phosphate Synthase (SPS)* yang menjadi enzim utama dalam mengkatalisis reaksi biosintesis sukrosa. Penelitian mengenai adanya overekspresi gen *SoSPS1* pada tanaman PRG telah dilaporkan dapat meningkatkan biosintesis sukrosa dan kandungan sukrosa pada tanaman tembakau dengan cara menambahkan *copy* gen *SoSPS1* melalui transformasi diharapkan dapat meningkatkan jumlah protein dan aktivitas enzim *SPS* pada tanaman PRG.

Untuk mengatur ekspresi gen, diperlukan promoter agar dapat menghasilkan protein penting pada tanaman PRG dan meningkatkan keberhasilan transformasi. *RUBQ2* merupakan promoter yang telah dilaporkan dapat menghasilkan ekspresi gen *gus* yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan menggunakan promoter *CaMV35S*.

Pada penelitian ini, dilakukan transformasi gen *SoSPS1* menggunakan promoter *RUBQ2* pada tanaman tebu varietas NXI 1-3. Hasil evaluasi lapang, menyatakan bahwa tebu varietas NXI 1-3 memiliki kelebihan yaitu tergolong dalam kategori kemasakan awal yang mencapai masak optimal 8-10 bulan. Terbatasnya kategori varietas masak awal yang tersedia di masyarakat petani dan pekebun tebu menyebabkan varietas NXI 1-3 menjadi varietas harapan untuk meningkatkan produktivitas gula di Indonesia.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan tanaman tebu PRG overekspresi gen *SoSPS1* menggunakan promoter *RUBQ2*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat

memberi peluang baru dalam pengembangan tanaman tebu PRG yang memiliki sifat unggul.

Metode penelitian transformasi tebu menggunakan vektor *A. tumefaciens* dengan plasmid pCL4-*SoSPS1* meliputi: perbanyakan tanaman tebu *in-vitro*, konfirmasi konstruk plasmid pCL4-*SoSPS1* dengan primer *SPS-F* dan *SPS-R*, transformasi gen *SoSPS1* dan analisis PCR tanaman *putative* PRG dengan primer *nptII-F* dan *nptII-R*.

Hasil penelitian diperoleh 21 tanaman PRG overekspresi gen *SoSPS1* yang terdiri dari 8 tanaman PRG didapat dari transformasi 1, transformasi 2 sebanyak 7 tanaman, dan transformasi 3 sebanyak 6 tanaman.

PRAKATA

Puji syukur atas limpahan rahmat, karunia, dan hidayah yang diberikan oleh Allah SWT kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Transformasi Gen *SoSPS1* Menggunakan Promoter *RUBQ2* Pada Tanaman Tebu varietas NXI 1-3”. Penelitian ini dibiayai oleh MP3EI tahun 2013 atas nama Prof. Dr. Bambang Sugiharto, M.Agr., Sc. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan Program Sarjana pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Bambang Sugiharto selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Dra. Dwi Setyati, M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, memberikan pengarahan, dan bimbingan kepada penulis selama pelaksanaan penelitian;
2. Esti Utarti, SP, M.Si selaku Dosen penguji 1 dan Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP selaku Dosen Penguji 2 atas saran dan masukan guna kesempurnaan penulisan skripsi ini;
3. Proyek MP3E1 tahun 2013 atas nama Prof. Dr Bambang Sugiharto yang telah membiayai pelaksanaan tugas akhir hingga terselesaikannya skripsi ini;
4. Drs. Rudju Winarsa, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
5. keluarga besar yang telah memberikan semangat dalam setiap kegiatan;
6. Purnama Oktaviandari, SP, MP atas dorongan dan motivasi dalam menyelesaikan penelitian ini;

7. kakak senior Adji Baskoro Dwi Nugroho, SP atas seluruh waktu, perhatian, dukungan dan doa dalam menyelesaikan penelitian ini;
8. sahabat sekaligus rekan-rekan kerja SUGAR GROUP 2009: Eni Kusrini, Dina Dwijayanti, Wimbuh Tri Widodo, Anna Sofyana, Fadrian Ramadhan, Obama, Ifan Yulianto, Edia Fitri, S.Si, Rinda Media, S.Si, Hidayah M, S.Si, Frengky SP;
9. adik adik: Aping, Al, Fragaria, Nana, Umami Qoyyim, Mufith, Putri, Ahmil, Derta, Narita, Warda, Kunti;
10. sahabat BIOLOGYST 09 Fakultas MIPA: Alvin N. S.Si, Arif M. S.Si, Rofiatul S.Si, indah, eka, guntur, Rizky A. S.Si, Ririn R. S.Si, Ramadhan S.Si, Indrianita W. S.Si, Resti A. S.Si, Bahtiar H. S.Si, Rahel D. S.Si, alfa, gusti, salam, vivin, dina da, Devia I. S.Si, kilas, huda yang telah memberi keceriaan selama kuliah;
11. CDAST Group, Phage Team (Galih, Norita, Farid), Melinjo Group (Ahmad, Amin, Ludvi, Anang), BaSi Group (Septi, Diah, Maya, Uus, Sholifa) atas kebersamaan, dan kekompakan selama melakukan penelitian;
12. 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 khususnya bagi pengembangan ilmu biologi.

Jember, Mei 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	I
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L.) <i>in-vitro</i>	4
2.2 Peranan Gen <i>SoSPS1</i> dalam Biosintesis Sukrosa	4
2.3 Transformasi Menggunakan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> dengan Plasmid pCL4- <i>SoSPS1</i> dan Mekanisme Infeksinya ke dalam Sel Tanaman	6
BAB 3. METODE PENELITIAN	10

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Prosedur Penelitian	10
3.3.1 Perbanyak Tanaman Tebu <i>in-vitro</i>	12
3.3.2 Konfirmasi konstruk plasmid pCL4- <i>SoSPS1</i>	12
a. Isolasi DNA Plasmid	12
b. Analisis PCR Menggunakan Primer <i>SPS-F</i> dan <i>SPS-R</i>	13
3.3.3 Transformasi Gen <i>SoSPS1</i>	14
a. Persiapan <i>A. tumefaciens</i>	14
b. Persiapan <i>Eksplant</i> Pangkal Tunas Tebu <i>in-</i> <i>vitro</i> dan Infeksi	14
c. Ko-kultivasi	14
d. Eliminasi	15
e. Seleksi Tanaman <i>Putative PRG</i>	15
f. Aklimatisasi Tanaman <i>Putative PRG</i>	16
3.3.4 Analisis Molekuler Tanaman <i>Putative PRG</i>	16
a. Isolasi DNA Genom Tanaman <i>Putative PRG</i> ...	16
b. Analisis PCR Menggunakan Primer <i>nptII-F</i> dan <i>nptII-R</i>	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1 <i>Eksplant</i> Pangkal Tunas Tebu <i>in-vitro</i>	19
4.2 Konfirmasi Plasmid pCL4-<i>SoSPS1</i> pada <i>A.</i> <i>tumefaciens</i>	20
4.3 Transformasi Gen <i>SoSPS1</i> Pada Tanaman Tebu	20
4.4 Aklimatisasi Tanaman <i>Putative PRG</i>	25
4.5 Analisis PCR Tanaman <i>Putative PRG</i> pCL4-<i>SoSPS1</i> ..	26
BAB 5. PENUTUP	28

5.1 Kesimpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	35

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Biosintesis sukrosa pada daun.....	5
2.2 Struktur skematis plasmid Ti.....	7
2.3 Tahap infeksi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ke dalam sel tanaman.....	8
2.4 Peta Konstruksi Plasmid pCL4- <i>SoSPS1</i>	9
3.1 Alur penelitian transformasi gen <i>SoSPS1</i> pada tebu menggunakan <i>A. tumefaciens</i>	11
4.1 <i>Eksplant</i> pangkal tunas tebu <i>in-vitro</i>	19
4.2 Pemisahan fragmen DNA <i>SoSPS1</i> hasil analisis PCR menggunakan primer <i>SPS</i> dalam elektroforesis gel agarose 1%.....	20
4.3 <i>Eksplant</i> yang mengalami penghambatan pertumbuhan.....	21
4.4 Perkembangan <i>eksplant</i> tebu setelah proses transformasi.....	23
4.5 <i>Plantlet</i> tebu yang mengalami albino.....	24
4.6 Aklimatisasi tanaman <i>putative</i> PRG.....	25
4.7 Hasil analisis PCR tanaman <i>putative</i> PRG menggunakan primer <i>nptII-F</i> dan <i>nptII-R</i> dalam gel agarose 1%.....	27

DAFTAR SINGKATAN

bp	=	Basepair
CaMV	=	<i>Cauliflower mosaic virus</i>
cDNA	=	<i>Complementary deoxyribose nucleic acid</i>
chv	=	<i>Chromosomal Virulance</i>
DNA	=	<i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
EDTA	=	<i>Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid</i>
GUS	=	β – <i>Glucoronidase</i>
LAF	=	<i>Laminar Air Flow</i>
LB	=	<i>Left Border</i>
MS	=	Murashige Skoog
NaaC	=	Natrium asetat
nos	=	<i>Nopaline synthase gene</i>
<i>nptII</i>	=	<i>neomycin phosphotransferaseII</i>
<i>nptII-F</i>	=	<i>neomycin phosphotransferaseII-forward</i>
<i>nptII-R</i>	=	<i>neomycin phosphotransferaseII-reverse</i>
OD	=	<i>Optical Density</i>
PCI	=	<i>Phenol Chloroform Isoamylalcohol</i>
PCR	=	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PRG	=	<i>Produk Rekayasa Genetika</i>
RB	=	<i>Right Border</i>
rpm	=	<i>Rotation per Minute</i>
RUBQ2	=	<i>Rice polyubiquitin gene</i>
S-6-P	=	<i>Sucrose-6-phosphate</i>
SDS	=	<i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
SPS	=	<i>Sucrose phosphate synthase</i>

SPS-F	=	<i>Sucrose phosphate synthase-forward</i>
SPS-R	=	<i>Sucrose phosphate synthase-reverse</i>
T-DNA	=	<i>Transfer DNA</i>
TE	=	<i>tris-EDTA</i>
Ti-plasmid	=	<i>Tumor inducing plasmid</i>
Ubi-1	=	<i>Maize Ubiquitin</i>
UDPG	=	<i>uridine diphosphate glucose</i>
UV	=	<i>Ultra Violet</i>
vir	=	<i>virulence</i>
YEP	=	<i>Yeast extract Pepton</i>

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A Komposisi Media <i>Murashige and Skoog</i> (MS ₀).....	35
B Komposisi Media <i>Yeast Extract Pepton</i> (YEP).....	36
C Komposisi Larutan <i>Hoagland</i>	37