

**OVER EKSPRESI GEN *APETALA 1* DARI KAKAO
(*Theobroma cacao* L.) PADA TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.)
SECARA *in vitro***

SKRIPSI SARJANA BIOLOGI

OLEH

**RESWITA
B.P.02133013**



JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG, 2006

ABSTRAK

Penelitian dengan judul **Over Ekspresi gen *APETALA1* dari kakao (*Theobroma cacao* L.) pada tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) secara *in vitro*** telah dilaksanakan di laboratorium Biologi Molekuler dan Rekayasa Genetik Balai Penelitian Perkebunan Indonesia Bogor, dari bulan April sampai September 2006. Penelitian bertujuan untuk mengetahui fungsi gen *APETALA 1* yang berasal dari kakao (*TcAPI*) pada tanaman tembakau serta efisiensi transformasi gen *TcAPI* menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif dengan pengamatan terhadap beberapa tahap kerja yaitu: proses transformasi menggunakan *A. tumefaciens* dengan promotor 35S CaMV, uji ekspresi dengan RT-PCR, dan uji kestabilan transforman. Hasil penelitian menunjukkan keberhasilan transformasi gen *TcAPI* ke dalam tanaman tembakau. Sel tanaman transgenik diseleksi dan diregenerasikan pada media MS padat yang mengandung 3 % sukrosa, 0,5 mg/L BAP, dan 25 ppm kanamisin. Pada media ini tunas transgenik tembakau terbentuk pada minggu pertama penanaman. Setelah lebih dari 3,5 bulan dihasilkan 209 planlet transgenik dan 17,7 % planlet berbunga *in vitro*. Hasil pengujian ekspresi dengan RT-PCR menunjukkan planlet transgenik mempunyai pola pita yang sama dengan marker *API* yaitu pada 349 bp. Sedangkan untuk uji kestabilan transforman diperoleh bahwa tembakau transgenik dapat tumbuh dengan baik pada media tanpa dan dengan kanamisin, dan 8,6 % planlet duplikat berbunga *in vitro*. Dapat disimpulkan bahwa ekspresi yang berlebihan dari fungsi gen *TcAPI* dapat mempercepat pembungaan serta sistem transformasi menggunakan *A. tumefaciens* sangat efisien terlihat dari banyaknya jumlah tunas yang dihasilkan.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan komoditi yang sangat penting bagi Asia tenggara, Afrika Barat, dan Amerika Selatan. Lebih dari 80 % produksi kakao dunia hilang akibat fungi, virus atau hama penyakit. Indonesia sebagai penghasil kakao kedua terbesar di dunia, juga mengalami masalah utama seperti negara Asia Tenggara lainnya yaitu serangan penggerek buah kakao (PBK) *Conophomorpha cramerella*. Larva dari PBK ini menggerek dinding buah serta menghambat perkembangan biji kakao, dan menyebabkan tanaman kakao kehilangan produksi hingga 80 % (Lim, 1992; Wardoyo, 1992).

Pemecahan umum dari masalah perkembangan regeneratif, dan pembungaan yang tidak konsisten telah dilakukan melalui pendekatan konvensional seperti waktu panen yang berkaitan dengan penggunaan pupuk. Pendekatan ini belum memberikan hasil yang dipercaya, sehingga kondisi sekitar yang tidak bisa diprediksi mendukung hasil yang tidak konsisten secara signifikan. Pendekatan lain untuk mengatasi masalah tersebut adalah perakitan varietas unggul yang berdayahasil tinggi dan tahan penyakit. Salah satu cara perakitan itu adalah dengan memanfaatkan teknik kultur jaringan. Sedangkan teknik pemuliaan konvensional masih menghadapi kendala karena sempitnya keragaman genetik tetua donor dan lamanya siklus seleksi (Chaidamsari *et al*, 1999; Sano dan Kusano, 2002).

Berkembangnya teknologi transformasi dan rekayasa genetik memberikan wahana baru bagi para pemulia tanaman untuk memperoleh gen baru. Teknologi ini dapat digunakan sebagai mitra dan pelengkap teknik pemuliaan tanaman konvensional yang telah digunakan. Suatu gen yang tidak terdapat dalam suatu spesies tanaman tertentu

dimungkinkan untuk dapat diperoleh dari organisme lain seperti bakteri, virus, binatang dan tanaman lain, karena rekayasa genetik tidak dibatasi oleh kompatibilitas seksual. Sehingga memungkinkan untuk memberikan perbaikan dari karakter-karakter penting pada tanaman (Herman, 1996).

Produktifitas tanaman kakao akhir-akhir ini sering terganggu oleh berbagai masalah. Salah satunya adalah masalah layu pentil. Masalah layu pentil erat hubungannya dengan gen-gen pembungaan. Sehubungan dengan hal tersebut maka dipelajari gen-gen yang berkaitan dengan pembungaan. Adapun gen-gen pembungaan yang telah diisolasi dari tanaman kakao adalah *AGAMOUS*, *LEAFY*, dan *APETALA 1*. Pada tanaman lain seperti *Arabidopsis*, gen pengendali pembungaan seperti *LEAFY (LFY)*, *APETALA 1 (API)*, *AGAMOUS (AG)*, *CAULIFLOWER (CAL)*, dan *FRUITFULL (FULL)* mengontrol transisi pembungaan (Dean & Simpson, 2002). *APETALA 1* merupakan gen yang berpengaruh baik pada inisiasi pembungaan, juga pada determinasi identitas dari organ pembungaan bagian luar seperti sepal dan petal. Sedangkan *AGAMOUS* merupakan gen yang berpengaruh pada pembentukan organ pembungaan bagian dalam yaitu stamen dan ovari. Over ekspresi dari *APETALA 1* akan menurunkan fungsi dari *AGAMOUS*, namun akan mengaktifkan gen *LEAFY* yang memiliki posisi sentral dan merupakan gen kunci yang diperlukan untuk pembentukan bunga normal. Induksi *LEAFY* dapat mempercepat proses pembungaan (Soowal, 1996).

Pada penelitian sebelumnya telah berhasil diisolasi dan diklon gen pembungaan *APETALA 1* dari tanaman kakao (*TcAPI*) (Chaidamsari, 2005). Untuk mengkarakterisasi gen *APETALA 1* dari tanaman kakao maka gen *TcAPI* diuji ketanaman model dalam hal ini tembakau. Tanaman tembakau dijadikan sebagai tanaman model karena beberapa alasan yaitu daur hidupnya relatif singkat, kultur jaringannya telah diketahui, dan telah banyak dipakai untuk penelitian tingkat molekuler.

V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil beberapa kesimpulan diantaranya:

1. Gen pembungaan *API* yang berasal dari tanaman kakao (*TcAPI*) mempunyai fungsi yang sama dengan gen pembungaan *API* yang berasal dari tanaman lain.
2. Transformasi gen *TcAPI* dengan bantuan *A. tumefaciens* sangat efisien, hal ini dapat dilihat dari banyaknya jumlah planlet yang dihasilkan setelah 3,5 bulan.
3. Over ekspresi gen *TcAPI* dengan promotor 35S CaMV dapat menginduksi gen sentral *LEAFY* sehingga dapat mempercepat proses pembungaan tanaman.
4. Transformasi eksplan daun tembakau dengan konstruk 35S-*TcAPI* melalui *Agrobacterium tumefaciens*, memberikan tingkat ekspresi *TcAPI* dan perubahan morfologi yang bervariasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Armitage, P., Walden, R and Draper, J. 1987. *Plant Genetic Transformation and Gen Expression*. University of Leicester
- Brian. 2003. *Developmental Biology*. [http://www.mun.ca/biology/dcsmid/BIOL3530/W2003/DB Ch07/DBNPlant.html](http://www.mun.ca/biology/dcsmid/BIOL3530/W2003/DB%20Ch07/DBNPlant.html). 20 Maret 2006.
- Chaidamsari, T., Samanhudi, H. Sugiarti, D. Santoso, G.C. Angenent & R.A. de Maagd. 2006. Isolation and characterization of an AGAMOUS homologue from cocoa. *Plant science*. 170:968-975.
- Chaidamsari, T. 2005. *Biotechnology for cacao pod borer resistance in Cacao*. *Plant Research International*. The Netherlands (online)
- Chaidamsari, T, Suanto, A., Winata, L., dan Santoso, D. 1999. Transformasi dan ekspresi gen GUS pada beberapa Jaringan Tanaman Kakao. *Jurnal Bioteknologi Perkebunan*. 4 (1) : 8-35.
- Chang, N.L., Xiou QL., d Gelvin S.B. 1993. Multiple copies of VirG enhance the transient transformation of celery, carrot, and rice tissue by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant. Mol. Bio.* 20: 1071-1087.
- Cugito, F. I. 2002. *Regenerasi tanaman tembakau transgenic tahan cekaman kekeringan*. Skripsi. Universitas Pakuan. Bogor
- Dean, C., & G.G. Simpson. 2002. Recent advances in flowering time control research in *Arabidopsis*. *Science*. 296: 285-289.
- Engstrom, P., P. Zambryski, M.V. Montagu, and S. Stachel. 1987. *Characterization of the Agrobacterium tumefaciens virulence protein induced by plant factor acetosyringone*. *J. Mol. Biol.* 197: 635-645