

INTRODUKSI GEN FUSI *Cry1Ab-1Ac* KE DALAM GENOM TANAMAN KEDELAI

NANDA ADYA SASMITA



**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



- 

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Introduksi Gen Fusi *Cry1Ab-lAc* ke dalam Genom Tanaman Kedelai” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2025

Nanda Adya Sasmita
A2503222054

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- 

RINGKASAN

NANDA ADYA SASMITA. Introduksi Gen Fusi *CryIAb-IAc* ke dalam Genom Tanaman Kedelai. Dibimbing oleh BAMBANG SAPTA PURWOKO, EDY LISTANTO, dan SINTHO WAHYUNING ARDIE.

Kedelai (*Glycine max* L. Merr.) merupakan sumber utama protein dan minyak nabati penting secara global. Produksi kedelai di Indonesia terus menurun, sehingga kebutuhan dalam negeri masih bergantung pada impor. Salah satu faktor penyebab rendahnya produktivitas adalah serangan hama lepidoptera, *Etiella zinckenella*, yang menyebabkan kerusakan signifikan pada hasil panen. Upaya peningkatan ketahanan terhadap hama dapat dilakukan melalui strategi transformasi genetik dengan menyisipkan gen *CryIAb-IAc*.

Transformasi genetik pada kedelai umumnya dilakukan secara *in vitro* melalui kultur jaringan aseptik dan seleksi menggunakan antibiotik, namun pendekatan ini memiliki risiko stres fisiologis dan regenerasi rendah akibat tekanan seleksi. Transformasi dengan modifikasi berbasis meristem plumula dapat digunakan sebagai alternatif, di mana infeksi *Agrobacterium tumefaciens* dilakukan secara aseptik, namun regenerasi selanjutnya berlangsung di luar kultur jaringan tanpa seleksi antibiotik, sehingga dapat meningkatkan viabilitas eksplan.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapat tanaman transforman dengan mengoptimasi media induksi tunas dan mengembangkan protokol transformasi genetik kedelai varietas ‘Grobogan’ dan ‘Wilis’ menggunakan eksplan plumula dan gen *CryIAb-IAc* yang dibawa oleh *A. tumefaciens* strain LBA4404. Percobaan awal dilakukan untuk mengoptimalkan media induksi tunas dengan lima taraf konsentrasi BAP (0, 0,25, 0,5, 0,75, dan 1 mg L⁻¹). Konsentrasi 1 mg L⁻¹ BAP memberikan hasil terbaik, dengan 85% eksplan membentuk tunas dengan rata-rata 3,6 tunas per eksplan.

Percobaan kedua yaitu transformasi dilakukan dengan dua faktor: durasi infeksi (15 dan 30 menit) dan konsentrasi acetosyringone (100, dan 200 µM). Transformasi secara *in vitro* tidak menghasilkan eksplan positif PCR karena seluruh eksplan mengalami kematian setelah 28 hari seleksi menggunakan higromisin. Sebaliknya, transformasi dengan modifikasi menunjukkan persentase pemanjangan tunas hingga 67,5% dan efisiensi transformasi mencapai 17,5% pada perlakuan infeksi 30 menit dan 200 µM acetosyringone. Sebanyak 10–13 planlet putatif transgenik (generasi T0) terdeteksi positif melalui analisis PCR terhadap gen *CryIAb-IAc*. Hasil pengamatan fenotipik menunjukkan bahwa tanaman transforman tidak menunjukkan perbedaan morfologis mencolok dibandingkan kontrol, baik pada fase vegetatif maupun generatif. Biji T1 yang berhasil diperoleh berjumlah satu dari ‘Grobogan’ dan 36 dari ‘Wilis’.

Kata kunci: perbaikan genetik kedelai, regenerasi tanaman, transfer gen



SUMMARY

NANDA ADYA SASMITA. Introduction of *CryIAb-IAc* Fusion Gene into the Soybean Genome. Supervised by BAMBANG SAPTA PURWOKO, EDY LISTANTO, and SINTHO WAHYUNING ARDIE.

Soybean (*Glycine max* L. Merr.) is an important source of protein and vegetable oil. In Indonesia, soybean production has continued to decline, resulting in a high dependency on imports to meet domestic demand. One of the main constraints in increasing productivity is the attack of lepidopteran insects (*Etiella zinckenella*), which causes significant damage to crop yields. Enhancing resistance to these pests can be achieved through genetic transformation by introducing the *CryIAb-IAc* gene.

Genetic transformation in soybean is typically carried out *in vitro* using aseptic tissue culture and antibiotic-based selection. However, this method often leads to physiological stress and low regeneration rates due to selective pressure. As an alternative, a modified transformation using plumular meristem explants allows *Agrobacterium tumefaciens* infection under aseptic conditions, followed by regeneration outside of tissue culture systems without antibiotic selection, thereby improving explant viability.

This study aimed to obtain transgenic plants by optimizing shoot induction media and developing a transformation protocol for the soybean varieties 'Grobogan' and 'Wilis' using plumular meristem explants and the *CryIAb-IAc* gene carried by *A. tumefaciens* strain LBA4404. The first experiment was conducted to optimize shoot induction media using five concentrations of BAP (0, 0.25, 0.5, 0.75, and 1 mg L⁻¹). The concentration of 1 mg L⁻¹ BAP gave the best results, with 85% of explants forming shoots and an average of 3.6 shoots per explant.

The second experiment, transformation was performed using two factors: infection duration (15 and 30 minutes) and acetosyringone concentration (100 and 200 µM). The *in vitro* transformation approach failed to produce PCR-positive explants, as all explants died after 28 days of hygromycin selection. In contrast, the modified transformation showed a shoot elongation rate of up to 67.5% and a transformation efficiency of 17.5% under 30-minute infection and 200 µM acetosyringone treatment. A total of 10–13 putative transgenic plantlets (T0 generation) were PCR-positive for the *CryIAb-IAc* gene. Phenotypic observations showed no noticeable morphological differences between the transformed plants and controls in both vegetative and generative stages. The T1 seeds were successfully obtained one from 'Grobogan' and 36 from 'Wilis'.

Keywords: gene delivery, plant regeneration, soybean genetic improvement



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

INTRODUKSI GEN FUSI *Cry1Ab-1Ac* KE DALAM GENOM TANAMAN KEDELAI

NANDA ADYA SASMITA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman

**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Prof. Dr. Ir. Darda Efendi, M.Si
2. Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si

Judul Tesis : Introduksi Gen Fusi *CryIAb-IAc* ke dalam Genom Tanaman Kedelai
Nama : Nanda Adya Sasmita
NIM : A2503222054

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Bambang Sapta Purwoko, M.Sc

Pembimbing 2:
Dr. Drs. Edy Listanto, M.P

Pembimbing 3:
Dr. Sintho Wahyuning Ardie, S.P., M.Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi Magister PBT:
Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si
NIP. 19700404 199702 2 001

Dekan Fakultas Pertanian:
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr
NIP. 19690212 199203 1003

Tanggal Ujian:
12 Juni 2025

Tanggal Lulus: 06 AUG 2025

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber ;
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- 

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanaahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga tesis ini berhasil diselesaikan. Tema penelitian yang dipilih adalah Rekayasa Genetik Tanaman dengan judul “Introduksi Gen Fusi *CryIAb-IAc* ke dalam Genom Tanaman Kedelai”. Penelitian dilaksanakan sejak bulan November 2023 sampai bulan April 2025 di Laboratorium Greenhouse Riset, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Kawasan Sains dan Teknologi Ir. Soekarno, Cibinong, Bogor, Jawa Barat.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Prof. Dr. Ir. Bambang Sapta Purwoko, M.Sc, Dr. Drs. Edy Listanto, M.P, dan Dr. Sintho Wahyuning Ardie, S.P., M.Si yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Prof. Dr. Ir. Didy Sopandie, M.Agr selaku moderator kolokium, Prof. Dr. Ir. Dadang, M.Sc selaku moderator seminar hasil, serta Prof. Dr. Ir. Darda Efendi, M.Si dan Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si selaku penguji luar komisi pembimbing. Penulis sampaikan terima kasih kepada LPDP yang telah memberikan beasiswa pendidikan, Dr. Ratih Asmana Ningrum selaku Kepala Pusat Riset Rekayasa Genetika, Badan Riset dan Inovasi Nasional yang telah memberi izin penelitian, Dr. Sri Koerniati yang telah menyediakan plasmid dalam penelitian ini, Ir. Eny Ida Riyanti, M.Si, Ph.D yang telah memberikan izin menggunakan bahan kimia dalam penelitian ini, serta staf Laboratorium GH Riset BRIN yang telah membantu selama pengumpulan data. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada bapak, mama, adik Ica, adik Syamba, serta seluruh keluarga, rekan seangkatan PBT Genap 2022 dan rekan lab yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya. Terima kasih kepada Isfina yang bersedia berdiskusi atas segala kebingungan dan saling menguatkan untuk tidak menyerah selama penelitian hingga akhir penulisan tesis ini.

Semoga tesis ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2025

Nanda Adya Sasmita



- 

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Ruang Lingkup	2
1.6 Hipotesis	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kedelai	4
2.2 Transformasi Genetik Kedelai	4
III METODE	10
3.1 Optimasi Regenerasi Tanaman Kedelai secara <i>In Vitro</i>	10
3.2 Transformasi Genetik Tanaman Kedelai	13
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1 Optimasi Regenerasi Tanaman Kedelai secara <i>In Vitro</i>	18
4.2 Transformasi Genetik Tanaman Kedelai	21
V SIMPULAN DAN SARAN	28
5.1 Simpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	36
RIWAYAT HIDUP	38

DAFTAR TABEL

3.1	Komposisi media optimasi regenerasi <i>in vitro</i> kedelai	12
3.2	Komposisi media yang digunakan pada percobaan transformasi genetik tanaman kedelai	16
4.1	Analisis sidik ragam percobaan optimasi regenerasi tanaman kedelai secara <i>in vitro</i>	19
4.2	Pengaruh konsentrasi BAP terhadap regenerasi eksplan plumula kedelai	20
4.3	Analisis sidik ragam percobaan transformasi genetik tanaman kedelai	22
4.4	Tingkat kelangsungan hidup eksplan pada media seleksi antibiotik setelah transformasi secara <i>in vitro</i>	23
4.5	Persentase tunas yang memanjang dan efisiensi transformasi dengan modifikasi pada tanaman kedelai	24

DAFTAR GAMBAR

1.1	Diagram alir penelitian introduksi gen fusi <i>CryIAb-IAc</i> ke dalam genom tanaman kedelai	3
2.1	Pendekatan transformasi yang menargetkan meristem pucuk apikal	8
3.1	Alur percobaan optimasi regenerasi tanaman kedelai secara <i>in vitro</i>	11
3.2	Representasi jenis eksplan	11
3.3	Alur percobaan transformasi genetik tanaman kedelai	14
3.4	Peta plasmid pCambia5300 dan wilayah T-DNA yang menyisip pada <i>A. tumefaciens</i> strain LBA4404	15
4.1	Studi pendahuluan induksi tunas menggunakan jenis eksplan dan konsentrasi BAP berbeda	18
4.2	Multiplikasi tunas kedelai ‘Grobogan’ dan ‘Wilis’ pada konsentrasi BAP berbeda	20
4.3	Regenerasi tunas kedelai ‘Grobogan’ dan ‘Wilis’	21
4.4	Kondisi eksplan setelah diinfeksi pada kepadatan sel bakteri (OD ₆₀₀) berbeda	21
4.5	Respon eksplan pada media seleksi	24
4.6	Representasi gel elektroforesis dari fragmen gen <i>CryIAb-IAc</i> berukuran 354 pb pada tanaman T0 kedelai hasil transformasi dengan modifikasi	25
4.7	Tanaman T0 positif PCR berumur 4 minggu setelah aklimatisasi	26
4.8	Visualisasi polong dan biji hasil transformasi dengan modifikasi	26

DAFTAR LAMPIRAN

Perbanyakan Plasmid pCambia5300	35
Perbanyakan <i>A. tumefaciens</i> strain LBA4404	36