

**SKRINING BEBERAPA VARIETAS TEBU KOMERSIAL GMP
(*Saccharum officinarum* L.) TOLERAN TERHADAP KEKERINGAN
DENGAN GEN P5CS**

Skripsi

Oleh

MAULIDYA ANANDA Z.R



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

SKRINING BEBERAPA VARIETAS TEBU KOMERSIAL GMP (*Saccharum officinarum* L.) TOLERAN TERHADAP KEKERINGAN DENGAN GEN P5CS

Oleh

MAULIDYA ANANDA Z.R

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan salah satu komoditas penting hasil pertanian karena menyumbang 65% dari produksi gula dunia. Budidaya tanaman tebu memerlukan pasokan air yang tepat sesuai dengan umur tanaman dan dukungan teknologi yang tepat agar produktivitasnya optimal. Pemilihan varietas tebu unggul yang toleran kekeringan dapat dilakukan dengan cara mendeteksi keberadaan gen yang berperan dalam mengatasi cekaman kekeringan pada tanaman yaitu gen *Pyrroline-5-carboxylate synthetase* (P5CS) yang dapat mengkode pembentukan prolin pada tanaman tebu. Prolin merupakan salah satu asam amino yang dihasilkan oleh tanaman saat mengalami stress abiotik, yaitu cekaman kekeringan. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan gen P5CS serta mengetahui karakteristik molekuler gen P5CS pada beberapa varietas tebu komersial di PT Gunung Madu Plantations yang berpotensi tahan terhadap cekaman kekeringan.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium PCR, PT Gunung Madu Plantations pada bulan Mei-November 2022. Varietas tebu yang digunakan yaitu GMP 3, GMP 5, RGM 06-654, PS 864, RGM 1834, PSJT 941, RGM 08-1026, GP 11, RGM 07-099, dan RGM 02-108. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji kuantitatif dengan spektrofotometri, uji kualitatif dengan elektroforesis, dan amplifikasi DNA dengan metode PCR. Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara deskriptif. Analisis data molekuler dilakukan berdasarkan hasil skoring pita DNA yang muncul pada *plate* serta dihitung nilai *Polimorphism Information Content* (PIC). Hasil Penelitian menunjukkan terdapat 9 varietas tebu yang mengekspresikan gen P5CS berukuran ± 167 bp, yaitu GMP 3, GMP 5, RGM 06-654, PS 864, PSJT 941, RGM 1834, GP 11, RGM 07-099, dan RGM 02-108. Hasil perhitungan nilai PIC menunjukkan bahwa primer P5CS yang digunakan cukup informatif sebagai penanda molekuler dikarenakan memiliki nilai $PIC > 0.25$.

Kata kunci : Tebu (*Saccharum officinarum* L.), PCR, toleran kekeringan, PT Gunung Madu Plantations, dan gen P5CS.

**SKRINING BEBERAPA VARIETAS TEBU KOMERSIAL GMP
(*Saccharum officinarum* L.) TOLERAN TERHADAP KEKERINGAN
DENGAN GEN P5CS**

Oleh

Maulidya Ananda Z.R

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

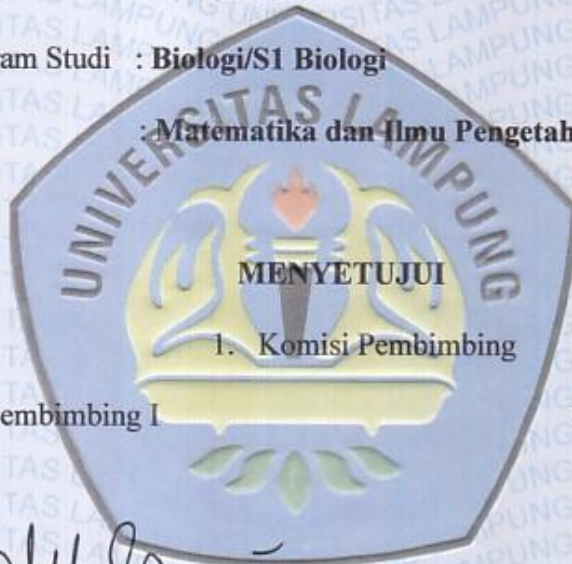
Judul Skripsi : **SKRINING BEBERAPA VARIETAS TEBU
KOMERSIAL GMP (*Saccharum officinarum* L.)
TOLERAN TERHADAP KEKERINGAN DENGAN
GEN P5CS**

Nama Mahasiswa : **Maulidya Ananda Z.R**

NPM : **1917021026**

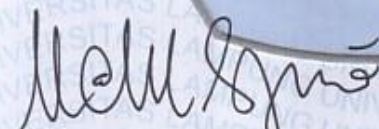
Jurusan/Program Studi : **Biologi/S1 Biologi**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc.

NIP. 198109092014041001



Endah Susiyanti, S.P., M.P.

NIP. 4752

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

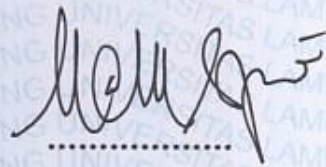

Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.

NIP. 19830131200812001

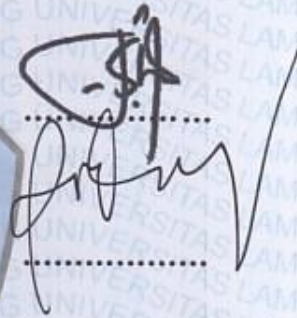
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

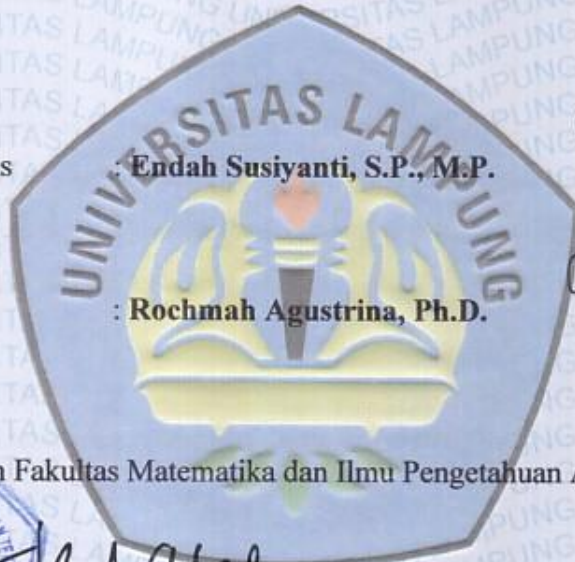
Ketua : **Dr. Mahfut, M.Sc.**



Sekretaris : **Endah Susiyanti, S.P., M.P.**



Anggota : **Rochmah Agustrina, Ph.D.**

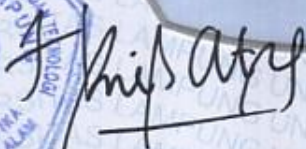


2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **11 Desember 2023**

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Maulidya Ananda Z.R

NPM : 1917021026

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 13 Desember 2023

Yang menyatakan,



Maulidya Ananda Z.R

NPM. 1917021026

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di kota Bandar Lampung pada tanggal 09 Juni 2001. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara pasangan Bapak M. Zarkoni, S.H., dan Ibu Rohana, S.Pd. Penulis menempuh pendidikan pertamanya di Raudhatul Athfal (RA) Darul Ulum Sanggi pada tahun 2006 dan melanjutkan pendidikan dasar di SDN 1 Srikunoro pada tahun 2007-2013. Selanjutnya, penulis melanjutkan jenjang pendidikan di SMPN 1 Semaka pada tahun 2013-2016. Kemudian penulis melanjutkan Pendidikan sekolah menengah atas di SMAS YP UNILA Bandar Lampung pada tahun 2016-2019. Setelah itu penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) angkatan 2019.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi anggota Korps Muda BEM (KMB) Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) Unila periode 2019-2020. Selain itu, penulis juga aktif mengikuti organisasi seperti Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) sebagai Anggota Bidang Kaderisasi dan Kepemimpinan periode 2020-2021.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Penguji Kesehatan Ikan dan Lingkungan, Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung (BBPBL) pada bulan Februari – Maret 2022 dengan judul “Identifikasi Bakteri Patogen Pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) di BBPBL Lampung” dan melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Kuripan,

Kecamatan Kotaagung Pusat, Kabupaten Tanggamus, pada bulan Juni – Agustus 2023. Setelah itu penulis melaksanakan penelitian pada bulan Mei-November 2022 di Laboratorium PCR, Departemen Research and Development, PT. Gunung Madu Plantations (GMP) di KM 90 Terbanggi Besar, Gunung Batin Udik, Terusan Nunyai, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung.

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur kehadiran Allah SWT yang maha kuasa, saya persembahkan karya kecil ini dengan kesungguhan hati sebagai tanda cinta kepada:

Dua orang yang paling berharga bagi hidup saya, Bapak M. Zarkoni, S.H., dan Ibu Rohana, S.Pd. yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, motivasi, serta melindungi saya dengan do'a yang ibu dan bapak panjatkan setiap saat hingga langkah saya selalu di ringankan dan dimudahkan hingga saat ini;

Adik-adikku tersayang, Mutiara Ananda Z.R dan Wahyu Ananda Z.R serta seluruh keluarga besar yang senantiasa memberikan dukungan selama saya menempuh pendidikan hingga sampai di tahap ini;

Dosen-dosen yang telah menjadi orang tua kedua di kampus yang tak jemu mengajarkan saya ilmu serta bimbingan dengan tulus dan ikhlas hingga saya berhasil mendapatkan gelar sarjana;

Sahabat dan teman-teman yang telah berjuang bersama dari awal sampai saat ini dan seterusnya serta selalu mendukung saya dalam setiap perjalanan hidup saya;

Almamater tercinta yang menjadi kebanggaan saya dimanapun saya berada,
Universitas Lampung

MOTTO

“Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan”

(QS. Ar-Rahman: 13)

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah nasib suatu kaum sehingga mereka mengubah keadaan yang ada pada diri mereka”

(QS. Al-Ra’d: 11)

“Janganlah kamu berduka cita, sesungguhnya Allah selalu bersama kita”

(QS. At-Taubah: 40)

Bukankah sudah jelas bahwa ridho Allah terletak pada ridho orang tua? Lantas mengapa engkau masih meragukannya?

(Penulis)

“Janganlah kamu bersikap lemah, dan janganlah kamu bersedih hati, padahal kamu adalah orang-orang yang paling tinggi derajatnya, jika kamu orang-orang yang beriman”

(Q.S. Ali-Imran: 139)

SANWACANA

Puji syukur senantiasa penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpah rahmat dan hidayah-Nya sehingga kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “**Skrining Beberapa Varietas Tebu Komersial GMP (*Saccharum officinarum* L.) Toleran Terhadap Kekeringan dengan Gen P5CS**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa selama proses penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Proses penyusunan skripsi ini tentu tidak luput dari pengarahan, kritik, saran, dukungan, serta bimbingan dari berbagai pihak sehingga dapat terselesaikan pada waktu yang tepat. Dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
2. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
3. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
4. Bapak Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc., selaku Pembimbing Utama atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, arahan, serta masukan kepada penulis dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini;
5. Ibu Endah Susiyanti, S.P. selaku Pembimbing Kedua atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, arahan, serta masukan kepada penulis dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini;

6. Ibu Rochmah Agustina, Ph.D., selaku Pembahas yang telah memberikan motivasi, masukan, kritik, dan saran kepada penulis dalam proses penyusunan skripsi ini;
7. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku Pembimbing Akademik yang senantiasa memberikan saran dan bimbingan selama penulis mengemban pendidikan di bangku perkuliahan;
8. Seluruh Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat di bangku perkuliahan dan mengantarkan saya mencapai gelar sarjana;
9. PT. Gunung Madu Plantations yang telah memberikan kesempatan penelitian kepada penulis;
10. Kedua orang tua penulis, Bapak M. Zarkoni, S.H., dan Ibu Rohana, S.Pd., serta adik-adik tersayang, Mutiara dan Wahyu yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, motivasi, serta do'a yang tulus, ikhlas, dan tak pernah putus di setiap sujud sehingga menemani perjalanan hidup penulis hingga saat ini;
11. Sahabat terbaik penulis, Fransika Abella, Diana Anggun Annisa, Gusti Anike, Octari Permata Ully, dan Monica Cindy Intan Efendy yang memberikan dukungan dan berbagi keceriaan kepada penulis;
12. Teman-teman Biologi Angkatan 2019 yang namanya tidak bisa disebutkan satu per satu, terima kasih untuk rasa kekeluargaan yang terjalin selama ini.

Bandar Lampung, 13 Desember 2023

Penulis

Maulidya Ananda Z.R

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
SAMPUL DALAM	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
LEMBAR PENGESAHAN	v
SURAT PERNYATAAN	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Kerangka Pemikiran	4
1.4 Hipotesis Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L.)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Distribusi dan Habitat	7
2.2 Respon Morfologi dan Fisiologi Tanaman terhadap Cekaman Kekeringan.....	7
2.3 Identifikasi Gen P5CS	10

2.3.1	Gen P5CS	10
2.3.2	Isolasi DNA.....	10
2.3.3	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	11
2.3.4	Elektroforesis	12
III.	METODE PENELITIAN.....	14
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian.....	14
3.2	Alat dan Bahan Penelitian.....	14
3.3	Bagan Alir Penelitian.....	15
3.4	Prosedur Penelitian	16
3.4.1	Ekstraksi DNA	16
3.4.2	Uji Kualitas dan Kuantitas DNA.....	17
3.4.3	Amplifikasi DNA dengan PCR.....	18
3.4.4	Visualisasi PCR dengan Elektroforesis.....	19
3.4.5	Analisis Data	19
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
4.1	Hasil Penelitian	21
4.1.1	Uji Kualitatif Hasil Ekstraksi DNA	21
4.1.2	Uji Kuantitatif Hasil Ekstraksi DNA	22
4.1.3	Amplifikasi DNA dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	24
4.1.4	Analisis Data Karakter Molekuler	24
4.2	Hasil Penelitian.....	25
4.2.1	Uji Kualitatif Hasil Ekstraksi DNA	25
4.2.2	Uji Kuantitatif Hasil Ekstraksi DNA	27
4.2.3	Amplifikasi DNA dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	29
4.2.4	Analisis Data Karakter Molekuler	31
V.	KESIMPULAN	33
5.1	Kesimpulan	33
5.2	Saran	33
	DAFTAR PUSTAKA	34
	LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sekuen primer spesifik untuk PCR	18
2. Komposisi DNA untuk PCR	18
3. Optimasi suhu dan waktu untuk reaksi PCR.....	18
4. Nilai <i>Polimorphism Information Content</i> (PIC)	25
5. Nilai absorbansi 10 varietas tebu hasil uji kuantitatif kemurnian hasil ekstraksi DNA.....	40
6. Hasil skoring perhitungan nilai PIC.....	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumpun <i>Saccharum officinarum</i> L.	6
2. Bagan alir penelitian	15
3. Hasil visualisasi elektroforesis DNA 10 varietas tebu	21
4. Nilai kemurnian DNA 10 varietas tebu	22
5. Konsentrasi DNA 10 varietas tebu	23
6. Visualisasi hasil amplifikasi gen P5CS	24
7. Preparasi sampel	42
8. Ekstraksi DNA sampel	42
9. Uji kemurnian DNA	42
10. Mesin PCR	43
11. Elektroforesis	43
12. Visualisasi dengan <i>Gel Doc UV</i>	43

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman yang dimanfaatkan sebagai sumber utama dalam industri gula. Tanaman jenis rumput-rumputan (Gramineae) ini hanya dapat tumbuh di daerah beriklim tropis. Tebu memiliki nilai ekonomis yang tinggi, hal ini dikarenakan tebu mengandung gula yang tinggi pada batangnya. Selain itu, tebu juga digunakan sebagai bahan pembuat kertas, pakan ternak, dan lainnya (Sukmadjaja, 2011). Produksi gula yang tinggi memerlukan pasokan air yang tepat sesuai dengan umur tanaman dan dukungan teknologi dalam proses budidaya. Kelebihan maupun kekurangan air menyebabkan pertumbuhan tanaman tebu tidak optimal sehingga menyebabkan terjadinya penurunan produktivitas (Winarsih dkk., 2015).

Pusat Data Sistem Informasi Pertanian (2016), menyebutkan bahwa jumlah produksi gula nasional saat ini mengalami penurunan. Hal itu disebabkan oleh beberapa hal, seperti pengurangan jumlah areal tebu, penyakit yang menyerang tebu, dan ketidak tahanan tebu terhadap cekaman kekeringan. Penanaman tebu di lahan kering memerlukan perhatian yang lebih seksama karena memiliki masalah yang lebih kompleks dibandingkan pada lahan sawah. Kondisi kritis yang sering dijumpai pada lahan kering adalah kurangnya unsur hara, jumlah air terbatas, rawan erosi, gulma, dan hama (Susilowati, 2008).

Lampung termasuk salah satu provinsi pemasok gula pasir nasional dengan jumlah rata-rata produksi sebesar 759.935 ton atau menyumbang 29,09% dari produksi gula pasir nasional (Pusat Data Sistem Informasi Pertanian, 2016). Salah satu perusahaan pemasok gula nasional yang berada di Provinsi Lampung adalah PT Gunung Madu Plantations (GMP). PT GMP merupakan perusahaan gula sekaligus perkebunan tebu yang melakukan penanaman tebu pada lahan kering. Hasil panen di lahan kering relatif rendah akibat stres kekeringan yang dapat terjadi pada setiap tahap perkembangan tanaman, khususnya tahap pembungaan sampai terbentuknya biji (Mitra 2001).

Tanaman mampu merespon kondisi yang tidak menguntungkan untuk tetap bertahan dari stress kekeringan (Palva *et al.*, 1996). Adaptasi terhadap stres kekeringan dapat terjadi secara biokimia, fisiologi dan morfologi (Molnar *et al.*, 2004.). Menurut Cue dan Hanson (1990), perkembangan adaptasi struktur atau fisiologi terhadap stres kekeringan selalu melibatkan mekanisme kompleks yang berhubungan dengan sejumlah gen. Beberapa gen mengkode polipeptida yang diduga berperan sebagai pelindung sel yang tercekam, antara lain sebagai pengisolasi ion, stabilisasi membra, serta sebagai molekul pendamping (Bray 1997; Palva *et al.*, 1996). Salah satu gen yang berperan dalam mengatasi kekeringan pada tanaman yaitu gen *Pyrroline-5-carboxylate synthetase* (P5CS) yang dapat mengkode pembentukan prolin. Prolin merupakan salah satu asam amino yang dihasilkan oleh tanaman saat mengalami stress abiotik, salah satunya adalah cekaman kekeringan. Tanaman yang mengalami cekaman kekeringan akan berusaha melakukan adaptasi fisiologi dengan menghasilkan prolin. Semakin tinggi kandungan prolin pada tanaman, maka semakin tahan tanaman tersebut terhadap cekaman kekeringan (Larasani, 2022). Transformasi gen P5CS yang merupakan penyandi enzim dalam biosintesis prolina ke tanaman tembakau di bawah kendali promoter konsitutif CaMV 35S, secara nyata terbukti meningkatkan

produksi prolin dan meningkatkan pula toleransi tanaman transgenik terhadap stres kekeringan (Kavi- Kishor *et al.*, 1995).

Tanaman yang mempunyai gen P5CS menunjukkan kemampuan tahan terhadap cekaman kekeringan, namun tidak semua varietas tebu yang ada di PT GMP diketahui mempunyai gen P5CS. Pada penelitian Prabowo dkk. (2019), diperoleh kultivar tebu yang terdeteksi memiliki gen P5CS ditandai dengan munculnya pita DNA berukuran ± 167 bp pada hasil elektroforesis. Berdasarkan hasil tersebut, 24 varietas tebu yang diteliti dapat dikategorikan sebagai varietas unggul yang berpotensi tahan terhadap cekaman kekeringan karena adanya gen P5CS.

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, perlu dilakukan penelitian tentang “**Skrining Beberapa Varietas Komersial Tebu GMP (*Saccharum officinarum* L.) Toleran Terhadap Kekeringan dengan Gen P5CS**” yang diharapkan dapat membantu mendapatkan varietas tebu unggul yang tahan terhadap cekaman kekeringan secara molekuler. sekuensing DNA untuk mengetahui urutan basa nukleotida,

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mendeteksi keberadaan gen P5CS pada beberapa varietas tebu komersial (*Saccharum officinarum* L.) di PT Gunung Madu Plantations yang berpotensi tahan terhadap cekaman kekeringan secara molekuler.
2. Mengetahui karakteristik molekuler gen P5CS pada beberapa varietas tebu komersial (*Saccharum officinarum* L.) di PT Gunung Madu Plantations yang berpotensi tahan terhadap cekaman kekeringan.
3. Menganalisis nilai *Polimorphism Information Content* (PIC) pada primer P5CS yang digunakan.

1.3 Kerangka Pemikiran

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) termasuk tanaman penghasil gula. Peningkatan permintaan gula setiap tahunnya selalu melonjak, namun beberapa tahun terakhir terjadi penurunan produksi gula akibat perubahan iklim sehingga menyebabkan produktivitas tanaman tebu tidak optimal. Salah satu pemasok gula nasional, PT Gunung Madu Plantations (GMP) mengalami penurunan produktivitas tebu yang disebabkan oleh beberapa hal, misalnya kualitas bibit unggul dan kondisi alam sekitar. Kekurangan pasokan air pada tanaman tebu ketika musim kemarau membuat produktivitas tebu menurun. Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan menggunakan varietas unggul bibit tebu yang dapat dilakukan dengan pemuliaan tanaman sehingga diperoleh varietas yang tahan terhadap kekeringan. Bibit unggul yang toleran terhadap kekeringan menghasilkan respon baik secara morfologi maupun fisiologi, salah satunya karena keberadaan gen *Pyrroline-5-carboxylate synthetase* (P5CS) yang mengkode pembentukan prolin. Prolin berperan dalam mengatasi kekeringan pada tanaman. Namun, varietas tebu komersial di PT Gunung Madu Plantations belum diidentifikasi keberadaan gen P5CS nya. Penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi gen P5CS pada varietas tebu komersial di PT Gunung Madu Plantations.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Terdapat gen P5CS pada beberapa varietas tebu komersial (*Saccharum officinarum* L.) di PT Gunung Madu Plantations yang menunjukkan pita spesifik berukuran ± 167 bp.
2. Diperoleh varietas tebu komersial (*Saccharum officinarum*) di PT Gunung Madu Plantations yang menunjukkan variasi ketahanan terhadap cekaman kekeringan yang berbeda secara molekuler.
3. Analisis perhitungan nilai PIC pada primer yang digunakan tergolong informatif sebagai penanda molekuler.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tebu (*Saccharum officinarum* L.)

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman perdu perkebunan semusim yang memiliki kandungan gula pada bagian batang. Menurut Tarigan dan Sinulingga (2006) varietas tebu yang umum dibudidayakan merupakan hasil pemuliaan tebu liar atau galgah (*Saccharum spontaneum* L.) dan tebu tanam (*Saccharum officinarum* L.) dan berbagai jenis tebu.

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi tebu dalam sistematika tumbuhan menurut Cronquist (1988) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Sub kelas	: Commelinidae
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae
Genus	: <i>Saccharum</i>
Species	: <i>Saccharum officinarum</i> L.



Gambar 1. Rumpun *Saccharum officinarum* L.
(Dokumentasi pribadi, 2022)

Tebu memiliki morfologi yang tidak jauh berbeda dengan tumbuhan yang berasal dari famili rumput-rumputan. Tanaman ini memiliki ketinggian sekitar 2-5 m (Steenis, 2005).

Tebu memiliki akar serabut yang panjangnya mencapai 1 m. Sekitar 50% berat akarnya berada 20 cm dari tanah. Akar tebu mampu menembus tanah dengan potensial air kurang lebih -15 sampai -20 bar, dengan syarat massa akar utama memiliki air yang cukup. Pertumbuhan tanaman dipengaruhi oleh kelembaban, suhu, serta volume tanah yang tersedia. Pertumbuhan akar akan mengalami perlambatan ketika suhu tanah di bawah 18°C dan akan meningkat secara progresif pada suhu optimum 35°C (James, 2004).

Bentuk ruas batang dan warna batang tebu yang bervariasi merupakan salah satu ciri dalam pengenalan varietas tebu. Warna dan kekerasan batang ditentukan oleh varietas dan diameter batang yang berkisar antara 2,5-5 cm (Sukmadjaja, 2011).

Daun tebu adalah daun tidak lengkap, karena terdiri dari helai daun dan pelepah daun saja. Tangkai daun berpangkal pada buku. Panjang helaian daun antara 1-2 meter dan tebalnya 4-7 cm. Ujung daun meruncing dan tepinya bergigi tajam (Sastrowijono, 1987).

2.1.2 Distribusi dan Habitat

Purnama (2006) menyatakan tebu dapat ditanam di dataran rendah maupun dataran tinggi yang ketinggiannya tidak lebih dari 1400 meter di atas permukaan laut. Tanaman tebu membutuhkan curah hujan yang tinggi pada fase pertumbuhan vegetatif. Curah hujan yang tinggi setelah fase vegetatif akan menurunkan rendemen gula.

Tebu tumbuh pada berbagai jenis tanah seperti tanah alluvial, grumosol, latosol dan regusol dengan ketinggian antara 0-1400 mdpl yang memiliki pH 6-7,5, tetapi masih toleran terhadap pH $4,5 \leq x \leq 8,5$. Tebu dapat hidup pada lahan marginal yang mempunyai curah hujan antara 1000-1.300 mm per tahun dengan sekurang-kurangnya 3 bulan kering dengan suhu ideal 24°C - 34°C. Tebu tumbuh pada kondisi tanah yang tidak terlalu kering dan tidak terlalu basah serta tumbuh subur pada daerah tropis.

2.2 Respon Morfologi Dan Fisiologi Tanaman Terhadap Cekaman Kekeringan

Pertumbuhan tanaman tebu merupakan hasil interaksi faktor genetik tanaman dengan kondisi lingkungannya. Kondisi lingkungan abiotik berupa ketersediaan air yang terbatas atau kekeringan menimbulkan respon tanaman sesuai dengan faktor genotipe yang berinteraksi dengan tingkat dan waktu kekeringan. Kebutuhan air tanaman tebu berbeda-beda tergantung pada fase pertumbuhan. Kebutuhan air pada tanaman tebu paling sedikit pada fase pemasakan. Pada fase lainnya, terutama perpanjangan, kebutuhan air besar. Tanaman tebu menyerap air 75-85% dari lapisan atas tanah 0-66 cm, dan 10-15% pada lapisan 66- 100 cm. Kondisi kekeringan menyebabkan penurunan panjang batang, berat

batang, berat tajuk, panjang buku, panjang daun, dan indeks luas daun (Shomeili dan Bahrani, 2013).

Kekeringan sangat berpengaruh pada produksi tebu dan rendemen gula, sehingga perkiraan akan adanya kekeringan perlu diantisipasi dan disiapkan teknologinya. Kekeringan menyebabkan perubahan aktivitas penting dimulai dari penutupan stomata untuk menekan transpirasi, penurunan input karbondioksida, serta berbagai aktivitas lanjutan dalam fotosintesis. Kandungan Senyawa osmoprotektan meningkat pada kondisi kekeringan terutama genotipe toleran kekeringan. Pengetahuan tentang senyawa osmoprotektan dan gen penyandinya dapat dimanfaatkan dalam perakitan varietas unggul toleran kekeringan.

Respon tanaman tebu terhadap kekeringan ditunjukkan dengan gejala daun menggulung untuk mengurangi transpirasi dan serapan sinar matahari dengan menurunkan luas pemanjangan akar, dan penurunan kadar klorofil (Rinanto, 2010). Perlakuan defisit irigasi 50% menurunkan fraksi heksosa, hasil biomas, hasil etanol, efisiensi penggunaan air, dan radiasi, perubahan kandungan lignin dan selulosa (Olivier *et al.*, 2013).

Cekaman mengakibatkan perubahan-perubahan pada morfologi, fisiologi, dan biokimia, yang akhirnya akan berpengaruh buruk pada pertumbuhan tanaman serta produktivitasnya. Kekeringan, salinitas, temperatur ekstrim, dan cekaman oksidatif seringkali saling berhubungan dan menginduksi kerusakan yang sama pada sel (Levitt, 1980). Pengukuran karakter fisiologi seperti kandungan klorofil, merupakan salah satu pendekatan untuk mempelajari pengaruh kekurangan air terhadap pertumbuhan dan hasil produksi, karena parameter ini berkaitan erat dengan laju fotosintesis (Li *et al.*, 2006).

Adaptasi tanaman terhadap cekaman kekeringan melibatkan perubahan ekspresi gen-gen yang merespon terhadap kekeringan. Cekaman kekeringan menyebabkan terprogramnya ekspresi gen-gen (Romo *et al.*, 2001), misalnya menurunnya level mRNA yang berhubungan dengan proses fotosintesis (Bartels dan Nelson., 2004). Gen-gen tertentu akan diinduksi jika tanaman mengalami cekaman kekeringan. Produk dari gen-gen tersebut terlibat dalam system pertahanan seluler terhadap kerusakan akibat cekaman.

Salah satu gen yang berperan dalam mengatasi kekeringan pada tanaman yaitu gen P5CS yang mengkode pembentukan prolin. Mekanisme kerja prolin berawal dari adanya cekaman kekeringan yang mengakibatkan tanaman membentuk suatu adaptasi fisiologis agar tanaman tersebut tetap bisa bertahan dalam kondisi kekeringan. Bentuk adaptasi fisiologis tanaman tersebut dengan penyesuaian tekanan osmotik melalui peningkatan prolin (Hamim *et al.*, 1996) Akumulasi prolin merupakan akibat dari meningkatnya asam amino bebas ketika tanaman berada pada lingkungan tercekam (stress), seperti kekeringan, salinitas tinggi dan temperatur yang terlalu rendah atau terlalu tinggi. Prolin dihasilkan segera setelah tanaman mengalami cekaman kekeringan dan akan berfungsi melindungi membran plasma serta protein sel. Prolin yang terakumulasi merupakan sebab dari aktivasi biosintesa prolin dan inaktivasi degradasi prolin (Liang, 2013). Menurut Badami & Amzeri (2011) menunjukkan adanya hubungan antara akumulasi prolin dengan tingkat toleransi terhadap cekaman kekeringan. Cekaman kekeringan yang terjadi pada tanaman dapat menyebabkan kandungan prolin meningkat.

2.3 Identifikasi Gen P5CS

2.3.1. Gen P5CS

Gen *Pyrroline-5-carboxylate synthetase* (P5CS) merupakan salah satu gen yang berperan dalam ketahanan tanaman terhadap kekeringan. Perkembangan adaptasi struktur atau fisiologi terhadap cekaman kekeringan selalu melibatkan mekanisme kompleks yang dimunculkan oleh sejumlah gen (Cue dan Hanson, 1990). Beberapa gen mengkode polipeptida dengan peran yang diduga sebagai pelindung sel yang sedang tercekam, antara lain sebagai pengisolasi ion, stabilisasi, dan sebagai molekul pendamping (Bray, 1997).

Salah satu gen yang berperan dalam mengatasi kekeringan pada tanaman yaitu gen P5CS yang mengkode pembentukan prolin. Prolin merupakan salah satu senyawa osmoprotektan yang dapat melindungi tanaman dari cekaman kekeringan. Transformasi gen P5CS yang merupakan penyandi enzim dalam biosintesis prolin ke tanaman tembakau di bawah kendali promotor konsitutif CaMV 35S, secara nyata terbukti meningkatkan produksi prolina dan meningkatkan pula toleransi tanaman transgenik tersebut terhadap *stress* kekeringan (Kavi- Kishor *et al.*, 1995).

2.3.2. Isolasi DNA

Isolasi DNA merupakan langkah awal dalam mempelajari DNA. Salah satu prinsip isolasi DNA yaitu dengan sentrifugasi. Sentrifugasi merupakan teknik untuk memisahkan campuran berdasarkan berat molekul komponennya. Molekul yang mempunyai berat molekul besar akan berada di bagian bawah tabung dan molekul ringan akan berada pada bagian atas tabung . Hasil sentrifugasi akan membedakan dua macam fraksi, yaitu

supernatan pada bagian atas dan pelet pada bagian bawah (Rachmat, 2012).

2.3.3. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu metode biomolekuler amplifikasi DNA secara *in vitro*. Pada proses PCR diperlukan beberapa komponen utama, yaitu DNA cetakan, oligonukleotida primer, *deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP)*, enzim DNA Polimerase, dan senyawa *buffer* sebagai komponen pendukung. PCR merupakan teknik yang sangat canggih dan membutuhkan biaya yang cukup tinggi. Berdasarkan tingkat spesifitas, efisiensi, dan keakuratannya, tidak diragukan bahwa keunggulan PCR sangat besar dibanding metode diagnostik konvensional lainnya (Yusuf, 2010). Setiap urutan basa nukleotida yang diamplifikasi akan berlipat jumlahnya. Pada setiap satu siklus PCR diperoleh DNA target yang jumlahnya dua kali lipat.

Kunci utama dalam metode PCR adalah menemukan bagaimana amplifikasi hanya terjadi pada urutan DNA target dan meminimalkan amplifikasi urutan DNA non-target. Metode PCR dapat dilakukan dengan menggunakan komposisi dalam jumlah yang sangat sedikit. DNA cetakan yang digunakan juga tidak perlu dimurnikan terlebih dahulu sehingga metode PCR dapat digunakan untuk melipat gandakan suatu sekuens DNA dalam genom bakteri atau tumbuhan.

PCR adalah reaksi polimerase berantai, yaitu reaksi yang melibatkan enzim polimerase yang dilakukan secara berulang-ulang. Pengulangan yang berlangsung adalah proses pemisahan untai ganda DNA menjadi untai tunggal, hibridisasi primer untuk mengawali replikasi DNA dilanjutkan dengan proses penambahan

basa pada cetakan DNA yang dikatalis oleh enzim polymerase. Untuk melakukan kegiatan ini dibutuhkan tabung PCR yang bersifat responsif dengan perubahan suhu dan mesin *thermal cycler*, yaitu mesin yang mampu menaikkan dan menurunkan suhu dengan cepat, dan bahan-bahan untuk membuat reaksi PCR.

Penerapan PCR banyak dilakukan di bidang biokimia dan biologi molekular karena relatif murah dan hanya memerlukan jumlah sampel yang kecil. Kesederhanaan dan tingginya tingkat kesuksesan amplifikasi sekuens DNA yang diperoleh menyebabkan teknik ini semakin luas penggunaannya. Proses PCR terdiri dari tiga tahapan, yaitu denaturasi DNA *template*, penempelan (*annealing*) primer, dan polimerisasi (*extension*) rantai DNA. Denaturasi merupakan proses pemisahan utas ganda DNA menjadi dua utas tunggal DNA yang menjadi cetakan (*template*) sebagai tempat penempelan primer dan tempat kerja DNA polimerase, dengan pemanasan singkat pada suhu 90-95°C selama beberapa menit (Hasibuan, 2015).

2.3.4. Elektroforesis

Elektroforesis merupakan proses migrasi molekul bermuatan dalam medium yang dialiri arus listrik (Holme dan Hazel, 1998). Westermeier (2005) menjelaskan bahwa prinsip dasar elektroforesis adalah molekul dan partikel bermuatan akan bergerak ke arah elektroda yang memiliki muatan berlawanan di bawah pengaruh medan listrik. Laju migrasi molekul bermuatan tersebut menuju elektroda yang bermuatan negatif disebut elektromobilitas.

Elektroforesis DNA umumnya menggunakan metode elektroforesis gel agarosa (Karp, 2008). Metode elektroforesis tersebut pada prinsipnya melibatkan fase stasioner yang berupa gel agarosa dan

fase gerak berupa buffer *Tris-acetate* EDTA (TAE) atau *Tris-borat* EDTA (TBE) (Switzer *et al.*, 1999). Tris/Borat adalah *buffer* yang umum digunakan sebagai *buffer* elektroforesis karena memiliki kapasitas *buffering* yang tinggi pada titik isoelektriknya (Ausubel, 2003). Borat bertindak sebagai *conducting* ion sehingga dapat mempertahankan kesetimbangan ion H^+ dan OH^- yang dihasilkan oleh elektroda, hal ini berhubungan dengan fungsi *buffer* dalam menjaga kesetimbangan pH saat migrasi fragmen DNA berlangsung, perubahan pH dapat mendenaturasi struktur DNA sehingga mengubah elektromobilitas DNA (Martin, 1996).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-November 2022 di Laboratorium PCR, Departemen *Research and Development*, PT Gunung Madu Plantations (GMP) di KM 90 Terbanggi Besar, Gunung Batin Udik, Terusan Nunyai, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

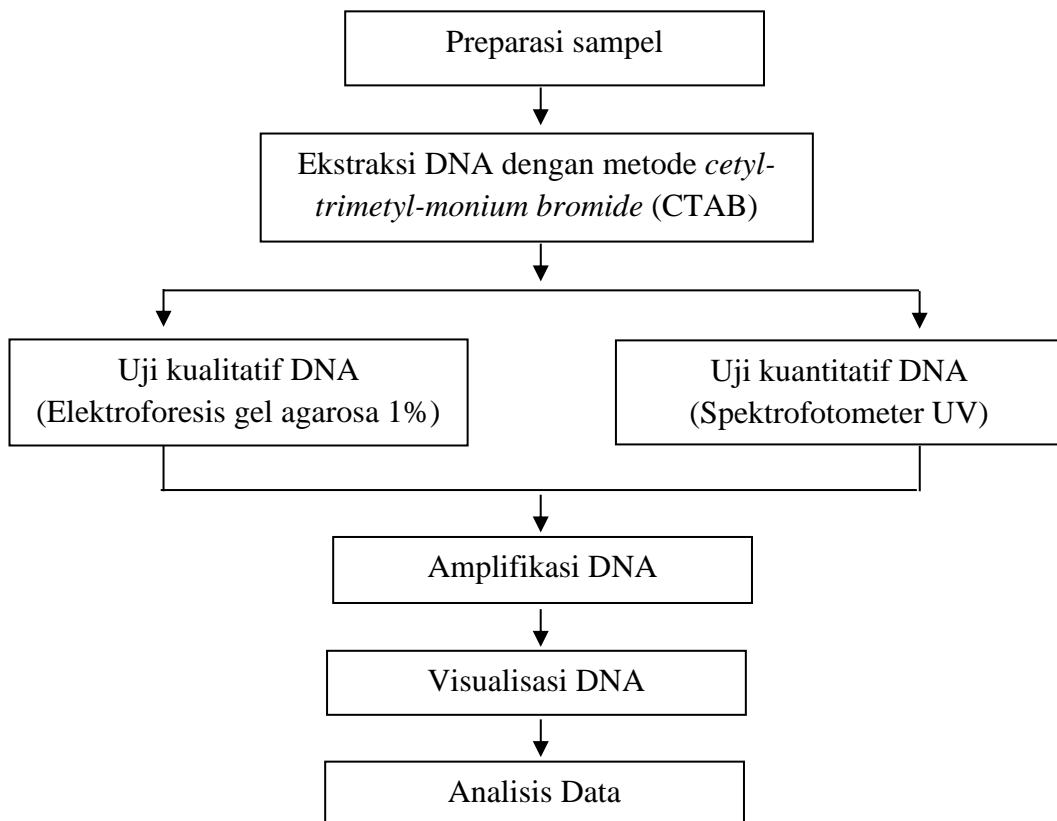
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mesin PCR (*Bio-Rad T100TM Thermal Cycler*), *gel doc UV*, *fumehood*, alat elektroforesis (elektroforator, cetakan agar elektroforesis, kotak kecil agar elektroforesis, dan sumuran gel agarosa), mesin *centrifuge*, *tissuelyser (Scientz-48-Throughput Tissue Grinder)*, *vortex mixer*, *waterbath*, neraca analitik, mikropipet 0,5 µl–10 µl, mikropipet 10 µl–100 µl, mikropipet 100 µl–1000 µl, gelas ukur, erlenmeyer 250 ml (*Pyrex*), *tube* (1,5 ml dan 0,2 ml), *refrigerator*, *autoclave*, *oven*, *microwave*, *ice box*, gunting, alat tulis, amplop coklat, kantung plastik, kain hitam, dan kamera.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel daun tanaman tebu dari 10 varietas koleksi PT GMP yaitu GMP 3, GMP 5, RGM 06-654, PS 864, RGM 1834, PSJT 941, RGM 1834, PSJT 941, RGM 08-1026, GP 11, RGM 07-099, dan RGM 02-108. Primer P5CS-F

dan P5CS-R, 2 β -mercaptoethanol liquid, nitrogen cair (N₂), CTAB buffer, TE buffer, aquades, pipet tip (blue tip, yellow tip, white tip), redmix, DNA loading dye, DNA marker, serbuk agarosa, 27 Tris-Borate EDTA (TBE), gel red staining, master mix, agarosa, kertas label, parafilm, aluminium foil, gloves, dan kertas tisu, chloroform dan isoamyl alcohol, isopropanol, sodium acetate, dan etanol 70%.

3.3 Bagan Alir Penelitian

Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir sebagai berikut :



Gambar 3. Bagan alir penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Ekstraksi DNA

Panduan yang digunakan untuk ekstraksi DNA adalah prosedur ekstraksi berbasis *cetyl-trimetyl-monium bromide* (CTAB) menurut Doyle *and* Doyle, 1987. Ekstraksi DNA dilakukan secara manual. Sampel daun tebu berumur 4-6 bulan ditimbang dengan berat 0,08 gr dan dibungkus dengan *aluminium foil* lalu disimpan pada suhu -20°C. Daun dimasukkan dalam *tube* steril 2 mL lalu ditambah gotri steril dan *liquid* nitrogen cair (N₂). Sampel daun dihaluskan dengan *tissuelyser* selama 3x 60 detik.

Setelah halus, sampel daun ditambah dengan *buffer* ekstraksi CTAB yang sebelumnya dipanaskan di dalam *waterbath* 65°C selama 15 menit, lalu sebanyak 800 µl/sampel ditambah dengan 10 µl 2β-*mercaptoethanol*. Sampel diinkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 65°C selama 30 menit, setiap 10 menit dikocok perlahan-lahan, setelah itu didinginkan pada suhu kamar.

Setelah dingin, sampel kemudian diberi 500 µl larutan kloroform *isoamil alcohol* (IAA) dengan perbandingan 24:1 dan dikocok. Campuran disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 11.000 rpm, fase atas sampel kemudian diambil. Tahap ini diulangi selama 2x. Selanjutnya ke dalam sampel ditambahkan 200 µl natrium asetat 5 M, dan 500 µl isopropanol dingin kemudian disimpan dalam *freezer* 30 menit pada suhu -20°C, kemudian disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 11.000 rpm. Pada tahap ini akan terbentuk *pellet* DNA. Kemudian fase cairan sampel dibuang, *pellet* DNA dicuci dengan 300 µl etanol 100%, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 11.000 rpm selama 5 menit.

Sentrifugasi *pellet* untuk mencuci DNA diulangi lagi sebanyak 2x dengan etanol 70%, dan disentrifugasi pada kecepatan 11.000 selama 5 menit. *Pellet* yang telah dicuci dikeringkan dengan membalik tabung di atas tissue dengan hati-hati selama 24 jam. Setelah cukup kering, DNA dilarutkan dalam 50 µl larutan TE *buffer*. Selanjutnya disimpan di dalam *freezer* pada suhu -20°C sampai DNA digunakan.

3.4.2 Uji Kualitas dan Kuantitas DNA

Uji kualitas DNA dilakukan dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1%. Sebanyak 1 gr agarosa dilarutkan dalam 100 ml *buffer* TBE (*Tris-Borate* EDTA) 1x, kemudian dipanaskan dalam *microwave* selama 2 menit sampai terlarut sempurna. Setelah itu ditambahkan 1 µl *gel red staining* dan dihomogenkan. Larutan agarosa dibiarkan hingga hangat lalu dituang ke dalam cetakan yang sudah dipasang sisir sebelumnya untuk membuat sumuran. Larutan agarosa didiamkan hingga memadat kurang lebih selama 40 menit. Setelah memadat, gel agarosa dimasukkan ke dalam tangki (*electrophoresis box*). Sumuran yang terbentuk pada gel agarosa diisi dengan sampel DNA hasil amplifikasi sebanyak 1 µl dan *loading dye* sebanyak 1 µl. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 70 V selama 40 menit kemudian divisualisasikan menggunakan *Gel Doc UV*.

Uji kuantitas DNA dilakukan dengan menghitung kemurnian DNA menggunakan spektrofotometer. Tingkat kemurnian DNA diukur dengan menghitung nilai absorbansi 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 nm. Nilai kemurnian DNA berkisar antara 1,8-2,0. Jika kemurnian DNA kurang dari 1,8 menunjukkan sampel DNA terkontaminasi oleh protein dan UV sedangkan jika kemurnian

DNA lebih dari 2,0 menunjukkan sampel DNA terkontaminasi oleh kloroform dan fenol (Sambrook dan Russel, 1989).

3.4.3 Amplifikasi DNA dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Hasil ekstraksi DNA dideteksi secara molekuler menggunakan metode PCR dengan pasangan primer P5CS untuk analisis ekspresi gen yang telah didesain. Pasangan sekuen primer yang digunakan untuk amplifikasi, komposisi PCR, dan optimasi suhu serta waktu menggunakan mesin PCR menurut Aristya dkk. (2020) dapat dilihat pada **Tabel 1**, **Tabel 2**, dan **Tabel 3**.

Tabel 1. Sekuen primer spesifik yang digunakan dalam reaksi PCR

Primer	Sekuen Primer (5'-3')	Ukuran Pita
P5CS-F	ACAGATGATAAAGTAGCAGAGAC	± 167 bp
P5CS- R	AGACCTTCAACACCCACAG	± 167 bp

Tabel 2. Komposisi reaktan PCR untuk 1x reaksi amplifikasi DNA

Campuran	Volume	Konsentrasi
DNA <i>template</i>	2 µL	25 ng/µL
<i>Redmix</i>	12.5 µL	-
Primer <i>Forward</i> P5CS	1 µL	25 µM
Primer <i>Reverse</i> P5CS	1 µL	25 µM
Aquades steril	8.5 µL	-

Tabel 3. Optimasi suhu dan waktu untuk reaksi PCR

Tahapan reaksi	Optimasi suhu	Waktu	Siklus
Predenaturasi	94°C	1 menit	1x
Denaturasi	94°C	45 detik	
<i>Annealing</i>	62°C	1 menit	40x
<i>Extension</i>	72°C	1 menit 15 detik	
<i>sca Extension</i>	72°C	1 menit 15 detik	1x

3.4.4 Visualisasi Hasil PCR dengan Elektroforesis

Fragmen DNA hasil amplifikasi diuji kualitasnya dengan elektroforesis gel agarosa. Agarosa yang digunakan sebesar 2%. Sebanyak 2 gr agarosa dilarutkan dalam 200 ml buffer TBE 1x kemudian dipanaskan dalam microwave selama 2 menit sampai terlarut sempurna. Setelah itu ditambahkan 1 μ l *gel red staining* dan dihomogenkan. Larutan agarosa dibiarkan hingga hangat lalu dituang ke dalam cetakan yang sudah dipasangkan sisir untuk membuat sumuran dan didiamkan hingga memadat kurang lebih selama 40 menit. Setelah memadat, gel agarosa dimasukkan ke dalam tangki (*electrophoresis box*). Sumuran pada gel agarosa diisi dengan campuran DNA sampel produk amplifikasi sebanyak 5 μ l dan *loading dye* sebanyak 1 μ l. Elektroforesis dilakukan menggunakan tegangan 100 V selama 90 menit kemudian divisualisasikan menggunakan *Gel Doc UV*.

3.4.5 Analisis Data

Data hasil PCR dianalisis secara deskriptif. Analisis data molekuler dilakukan berdasarkan hasil skoring pita DNA yang muncul pada *plate* serta dihitung nilai *Polimorphism Information Content* (PIC) dengan rumus menurut menurut Roldan-Ruiz (2000):

$$PIC_i = 2F_i (1-F_i)$$

Keterangan :

F_i : Frekuensi band

$1-F_i$: Frekuensi non-band

Pita DNA diberi skor berdasarkan penampilan pita DNA ditransformasikan ke dalam kode data biner dengan cara: jika ada pita diberi skor satu (1) dan tidak ada pita diberi skoring nol (0). Pita yang tidak sempurna dan tidak ada jelas diberi skor 9 (missing data). Jika ada galur yang menghasilkan banyak pita, maka pita yang paling jelas diberi skor 1 sedangkan yang lainnya diberi skor 9 (Savitri, dkk. 2015).

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Diperoleh 9 varietas tebu komersial (*Saccharum officinarum* L.) di PT Gunung Madu Plantations yang mengekspresikan gen P5CS berukuran ± 167 bp, yaitu GMP 3, GMP 5, RGM 06-654, PS 864, PSJT 941, RGM 1834, GP 11, RGM 07-099, dan RGM 02-108.
2. Varietas RGM 06-654, PSJT 941, PS 864, dan RGM 01-1834 menunjukkan visualisasi pita gen P5CS yang lebih terang dibanding yang lain, sehingga berpotensi sebagai varietas yang lebih tahan terhadap cekaman kekeringan.
3. Hasil perhitungan nilai PIC menunjukkan bahwa primer P5CS yang digunakan cukup informatif sebagai penanda molekuler dikarenakan memiliki nilai PIC > 0.25 .

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melihat sifat ketahanan yang tepat terhadap lingkungan yang tepat pada 9 varietas tebu yang diteliti pada tingkat genomik melalui sekuensing DNA untuk mengetahui urutan basa nukleotida, serta pada tingkat transkriptomik melalui transkripsi asam amino spesifik yang terbentuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Anam, K. 2010. *Isolasi DNA Genom*. Bioteknologi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aristya, G.R., Kurniawan, F.Y., Prabowo, H., dan Kasiamdari, R.S. 2020. Screening of environmental stress tolerant superior sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Earth and Environmental Science*. 458: 2-3.
- Ausubel, F. M. 2003. *Current Protocols in Molecular Biology*. United States of America : John Wiley and sons. P. 75-77, 82-83.
- Badami K, A., dan Azmeri. 2011. Identifikasi varian somaklonal toleran kekeringan pada populasi jagung hasil seleksi in vitro dengan PEG. *Agrovior*. 1: 30-34.
- Bartels, D., and Nelson, D. 2004. Approaches to improve stress tolerance using molecular genetics. *Plant and Cell Environment*. 17: 1659-1667.
- Begcy K, Mariano E.D., Gentile A., Lembke C.G, Zingaretti S.M., and Souza G.M. 2012. A Novel Stress-Induced Sugarcane Gene Confers Tolerance to Drought, Salt and Oxidative Stress in Transgenic Tobacco Plants. *PLoS ONE*. 108: 87-139.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., and Davis, R.W. 1980. Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphism. *Journal Human Genetic*. 32: 314-331.
- Bray E.A. 1997. Plant responses to water deficit. *Trend in Plant Science*. 1(2): 48-54
- Clark, D.P. 2010. *Molecular Biology: Academic Cell Update*. Elsevier Academic Press. Sandiego, USA.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York
- Cue, K.F., and Hanson, A.D. 1990. Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Trends in Biotechnology*. 8: 358-362.

- De Vicente, M.C., and Fulton, T. 2003. *Using molecular marker technology in studies on plant genetic diversity*. Institute for Genetik Diversity. New York. USA.
- Doyle, J.J., and Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 19(1): 11-15.
- Fatchiyah, 2011. *Pelatihan analisis fingerprinting DNA tanaman dengan metode RAPD*. Modul. Laboratorium sentral ilmu hayati Universitas Brawijaya. Malang
- Fatchiyah, Widyarti, S., Arumningtyas, E.L., dan Permana, S. 2012. *Buku Praktikum Teknik Analisis Biologi Molekuler*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Hamim, S.D., dan Jusuf, M. 1996. Beberapa karakteristik morfologi dan fisiologi kedelai toleran dan peka terhadap cekaman kekeringan. *Hayati*. 2: 37-41.
- Hasibuan, E. 2015. *Peranan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) Terhadap Perkembangan Ilmu Pengetahuan*. Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara.
- Hapsari, R. 2012. Uji Kuantitatif dan uji Kualitatif DNA Pule Pandak (*Rauwolfia serpentine* L.). *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Holme, D.J.P., and Hazel. 1998. *Analytical Biochemistry 3rd ed*. Addison Wesle Longman. London.
- Indrawanto, 2010. *Budidaya Tanaman Unggul di Indonesia*. Jakarta.
- Irmawati. 2003. Perubahan Keragaman Genetika Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) Generasi Pertama pada Stok Hatchery. Tesis. Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- James, G. 2004. *Sugarcane*. Blackwell Publishing Company. Oxford OX4 2Dq, UK. 216 hlm.
- Karp, G. 2008. *Cell and Molecular Biology: Concepts and Equipments, 5th edition*. London. United Kingdom.
- Kavi-Kishor P.B., Hong Z., Miao G.H., Hu C.A., and Verma D.P.S. 1995. Overexpression of delta- pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiol*. 108: 1387-1394.
- Larasani, I. 2022. Prolin sebagai indikator ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan. *Skripsi*. Universitas Negeri Padang. Padang.

- Levitt, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses: Water, radiation, salt, and other stresses*. Academic Press. New York.
- Li, R., Guo, P., Baum, M., Grando, S., and Ceccarelli, S. 2006. Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. *Agricultural Science in China*. 5: 751-757.
- Liang, X. 2013. Proline mechanism of stress survival. *Discoveries*. 19(9).
- Martin, R. 1996. *Gel electrophoresis*. Nucleic acids. London.
- Mitra, J. 2001. Genetics and genetic improvement of drought resistance in crop plants. *Current Science*. 80: 758-763.
- Molnar, I., Gaspar, L., Sarvari, E., Dulai, S., Hoffmann, B., Molnar-Lang, M., Galiba, G. 2004. Physiological and morphological responses to water stress in *Aegilops biuncialis* and *Triticum aestivum* genotypes with differing tolerance to drought. *Funct Plant Biology*. 31: 1149-1159.
- Olivier, F.C., Singel, A., and Eksteen, A.B. 2013, Resource use efficiency and drought sensitivity of sugarcane for bioenergy production compared to other crops: preliminary findings. *Proc. S. Afr. Sug. Technol. Ass.* 86: 160-164.
- Palva, E.T., Holmstrom, K., Mantyla, E., Welin, B., Mandal, A., Tunela, O.E., dan Londesborough, J. 1996. *Enhanced desiccation survival by engineering osmolyte biosynthesis in plants*. In Grillo, S. dan O.A. Leone (eds). *Physiol Stress in Plants*. London.
- Prabowo, H., Kurniawan, F.Y., Aristya, G.R., Musthofa, A., dan Kasiamdari, R.S. 2019. Identification of SCDR and P5CS Genes in Cultivar of Environmental Stress Tolerant Superior Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Thai Journal of Agricultural Science*. 52: 93-94.
- Purnama. 2006. Kajian peningkatan kinerja industri gula tebu melalui introduksi peningkatan produksi benih. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2016. *Outlook Tebu : Komoditas Pertanian Subsektor Perkebunan*. Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Rachmat. 2012. Isolasi DNA Buah. Jakarta. <http://rachmatyusuf.web.id>. Diakses pada tanggal 10 Oktober 2023.
- Rinanto, Y. 2010. Kandungan sukrosa dan prolin tebu (*Saccharum officinarum* L.) selama cekaman kekeringan. *Jurnal Biomedika*. 8(3): 9.

- Roldan-Ruiz, I., Dendauw, J., Van, B.E., and Depicker, A. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Journal Molecular Breeding*. 6: 125-134.
- Romo, S.E., Labrador, B., dan Dopico. 2001. Water stress-regulated gene expression in *Cicer arietinum* seedlings and plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 39: 1017-1026.
- Sambrook J., dan Russel. D.W. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Cold-Spring Harbor Laboratory*. New York.
- Savitri, Evika Sandi., Minarno, Eko Budi., Resmirasi, R.S. 2015. *Karakter Molekuler Kedelai (Glycine max) Toleran Kekeringan Hasil Induksi Mutasi Dengan Mutagen Emis (Ethyl Methane Sulfonate)*. UIN Malang. Malang.
- Sari, H. Erlita. 2022. *Uji Dosis PEG Untuk Skrining Ketahanan Kekeringan Pada Planlet Tanaman Tebu (Saccharum officinarum L.) Secara In Vitro*. Universitas Lampung. Lampung
- Sastrowijono, S. 1987. *Identifikasi Varietas Tebu. Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia*. Pasuruan.
- Savitri, E.S., Minarno, dan Resmisari. 2015. Karakter Molekuler Kedelai (*Glycine max*) Toleran Kekeringan Hasil Induksi Mutasi Dengan Mutagen EMS (*Ethyl Methane Sulfonate*). *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 19(2): 60-64.
- Sholihah, S.M. 2014. Hubungan Kekerabatan Beberapa Kultivar Pisang (*Musa* sp.) untuk Sifat Ketahanan terhadap Penyakit Berdasarkan Resistance Gene Analog RGA. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Shomeili, M and Bahrani. 2013. Effect of irrigation and nitrogen on sugarcane yield, water use efficiency, soil moisture depletion and nitrogen uptake in Iran. *Sugar Cane Technol*. 28: 1-10.
- Sinaga, R. 2007. Analisis Model Ketahanan Rumput Gajah dan Rumput Raja Akibat Cekaman Kekeringan Berdasarkan Respons Anatomi Akar Dan Daun. *Jurnal Biologi Sumatera*. 2(1): 1907-5537.
- Sukmadjaja, D. 2011. Kultur Apeks Untuk Penyediaan Bibit Unggul Tebu. *Jurnal Agro Biogen*. 2(10): 45-52.
- Steenis, V. 2005. *Flora*. PT. Pradya Paramita. Jakarta.

- Subantoro, R. 2014. *Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Respon Fisiologis Perkecambahan Benih Kacang Tanah (Arachis hypogaea L)*. Fakultas Pertanian Universitas Wahid Hasyim. Semarang.
- Susilowati, R. 2008. *Setetes Air Sejuta Kehidupan*. UIN Press. Malang.
- Switzer, R.L., Liam F., and Garrity. 1999. *Experimental Biochemistry. Theory and Exercises in Fundamental Methods, third edition*. Wilmington. New York.
- Tarigan, B.Y. dan J.N. Sinulingga. 2006. *Laporan Kerja Praktek Lapangan di Pabrik Gula Sei Semayang PTPN II Sumatera Utara*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Westermeier., and Reiner. 2005. *Electrophoresis in Practice*. Willey-VCH. Germany.
- Winarsih, S., Ana, S.R.D., Sudiarso, dan Husni, T.S. 2015. Pengaruh Lama Penyimpanan dan Perlakuan Pemacu Perkecambahan Terhadap Pertumbuhan Vegetatif Bibit Tebu (*Saccharum officinarum L.*) G2 Asal Kultur Jaringan. *Jurnal Agroteknologi Biogenesis*. 18(1): 1-17.
- Yusniawati, S., Aswidinnor, H., Hendrastuti, dan Santoso, D. 2008. Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Pertumbuhan, Hasil, dan Kandungan Prolin Daun Cabai. *Jurnal Agrista*, 12(1): 19-27.
- Yusuf, Z.K. 2010. *Polymerase Chain Reaction*. *Journal of Saintek*. 5(6): 1-6.