

SKRIPSI

**TRANSFORMASI GENETIK *Hd3a* (*Heading Date 3a*) PADA KALUS
EMBRIOGENIK JAMBLANG (*Syzygium cumini* L.) DENGAN VARIASI
WAKTU INFEKSI DAN KONSENTRASI HIGROMISIN**



Disusun Oleh:
Jovitta Theachrysilla Wiadji
NPM: 190802032

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
YOGYAKARTA
2025**

**TRANSFORMASI GENETIK *Hd3a* (*Heading Date 3a*) PADA KALUS
EMBRIOGENIK JAMBLANG (*Syzygium cumini* L.) DENGAN VARIASI
WAKTU INFEKSI DAN KONSENTRASI HIGROMISIN**

SKRIPSI

**Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh
derajat Sarjana S-1**



Disusun oleh:
Jovitta Theachrysilla Wiadji
NPM: 190802032

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
YOGYAKARTA
2025**

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan judul:

**TRANSFORMASI GENETIK *Hd3a* (*Heading Date 3a*) PADA KALUS
EMBRIOGENIK JAMBLANG (*Syzygium cumini* L.) DENGAN VARIASI
WAKTU INFEKSI DAN KONSENTRASI HIGROMISIN**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Jovitta Theachrysilla Wiadji

NPM: 190802032

Konsentrasi Studi Teknobiologi-Industri

Program Studi Biologi

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada 16 Juni 2025

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Untuk memperoleh derajat Sarjana S-1

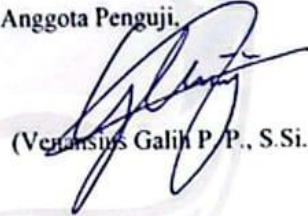
SUSUNAN TIM PENGUJI

Ketua Penguji,



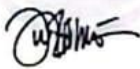
(Dr. Dra. E. Mursyanti, M.Si)

Anggota Penguji,



(Veransius Galih P. P., S.Si., M.Sc.)

Sekretaris Penguji,



(apt. Stefani S. W., S.Farm.,
M.Biotech.)

Yogyakarta 30 Juni 2025

**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI**

Dekan,



(apt. Ines Septi-Arsiningtyas, S.Farm., M.Sc., Ph.D.)

TEKNOBIOLOGI
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan judul:

**TRANSFORMASI GENETIK *Hd3a* (*Heading Date 3a*) PADA KALUS
EMBRIOGENIK JAMBLANG (*Syzygium cumini* L.) DENGAN VARIASI
WAKTU INFEKSI DAN KONSENTRASI HIGROMISIN**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Jovitta Theachrysilla Wiadji

NPM: 190802032

Konsentrasi Studi Teknobio-Industri

Program Studi Biologi

Dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diujikan pada 16 Juni 2025

Menyetujui,

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Pendamping,



(Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti,
M.Si.)



(apt. Stefani Santi Widhiastuti, S.
Farm., M.Biotech.)

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Jovitta Theachrysilla Wiadji
NPM : 190802032
Judul Skripsi : Transformasi Genetik *Hd3a* (*Heading Date 3a*) pada Kalus Embriogenik Jamblang (*Syzygium cumini* L.) dengan Variasi Waktu Infeksi dan Konsentrasi Hgromisin

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan di dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka

Pernyataan ini saya buat dengan sebernarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata terbukti melanggar pernyataan tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dengan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, 24 Juni 2025

Yang menyatakan,



Jovitta Theachrysilla Wiadji
NPM: 190802032

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur atas rahmat, berkat, penyertaan serta kasih karunia Tuhan Yesus Kristus di setiap tahap penelitian hingga penyusunan naskah skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikannya. Skripsi dengan judul “Transformasi Genetik *Hd3a* (*Heading Date 3a*) pada Kalus Embriogenik Jamblang (*Syzygium cumini* L.) dengan Variasi Waktu dan Konsentrasi Higromisin” disusun sebagai bagian tugas akhir yang merupakan salah satu syarat kelulusan dalam menyelesaikan studi S-1 di Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Rangkaian penelitian dan penyusunan skripsi ini dapat berhasil karena adanya dukungan, bimbingan, dan bantuan yang diberikan kepada penulis dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus yang setia menemani, mendukung, memberkati, dan menguatkan penulis dalam masa perkuliahan, penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini sehingga dapat dilanjutkan dengan baik.
2. Kedua orangtua, dan seluruh keluarga yang sudah bekerja keras dan tidak pernah lelah memberikan dukungan secara moril dan material kepada penulis selama dilakukannya penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini sehingga akhirnya dapat diselesaikan dengan baik.
3. Ibu Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M. Si selaku dosen pembimbing utama yang telah membimbing, mendukung, memberikan izin, pengetahuan, pengalaman, masukan, saran, dan pengadaan bahan yang

telah banyak membantu penulis selama dilakukannya penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini.

4. Ibu apt. Stefani Santi Widhiastuti, S. Farm., M. Biotech selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, masukan, dan saran selama dilakukannya penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini.
5. Bapak Venansius Galih Perkasa Putra, S. Si, M. Sc. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan serta pernah mendampingi saya melewati masa-masa sulit dalam penelitian.
6. Petra, Jane, cik Nia, kak Refa, dan Hayu sebagai sahabat dan saudara yang sudah selalu ada untuk menemani dan memberikan dukungan moril terbaik dan material hingga penulis dapat melewati tantangan dengan baik selama dilakukannya penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini.
7. Seluruh Dosen di Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberikan ilmu dan waktunya kepada penulis.
8. Ibu Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si dan Mbak Rifka untuk bantuan dan pemberian bakteri *A. tumefaciens* EHA105 yang digunakan pada penelitian ini.
9. Mba Vita, Bu Wati dan Mas Vincent yang telah membantu dan mendukung penulis selama melakukan penelitian di laboratorium Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

10. Seluruh staf Tata Usaha Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberikan dukungan dan waktu kepada penulis selama perkuliahan dan penelitian.
11. Bapak Sudarmono dan seluruh CS di Kampus 2 Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberikan canda tawa dan dukungan moril kepada penulis.
12. Seluruh teman-teman yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu, yang telah sedikit mendukung penulis dari awal perkuliahan hingga penyusunan naskah skripsi.

Dalam pembuatan, penulis menyadari bahwa naskah skripsi ini masih memiliki kekurangan dan jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap semoga naskah skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Yogyakarta, 20 Juni 2025

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
PENGESAHAN DOSEN PENGUJI	ii
PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Deskripsi Tanaman Jamblang	7
B. Kalus Embriogenik sebagai Target Transformasi	10
C. <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	11
D. Transformasi Genetik melalui Perantara <i>A. tumefaciens</i>	13
E. Waktu Infeksi	15
F. Konsentrasi dan Mekanisme Hgromisin dalam Tahap Seleksi	17

G. Plasmid P2K1 dan Gen <i>Hd3a</i>	19
G. Hipotesis	21
III. METODE	22
A. Tempat dan Waktu Penelitian	22
B. Alat dan Bahan	22
C. Rancangan Percobaan	24
D. Cara Kerja	25
1. Pembuatan larutan stok	25
2. Sterilisasi alat dan ruang penabur	27
3. Pembuatan medium	28
4. Subkultur kalus embriogenik jamblang	30
5. Prekultur target transformasi	31
6. Pembuatan <i>starter A. tumefaciens</i> yang mengandung <i>Hd3a</i> dan <i>HPT</i>	31
7. Deteksi Gen <i>Hd3a</i> dan <i>HPT</i> pada Plasmid p2K1	32
8. Uji kemurnian bakteri <i>A. tumefaciens</i>	33
9. Infeksi kalus embriogenik jamblang	37
10. Ko-kultivasi kalus embriogenik jamblang	38
11. Eliminasi <i>A. tumefaciens</i>	38
12. <i>Recovery</i> dan seleksi kalus transforman jamblang	39
13. Pengamatan hasil transformasi genetik	40
E. Analisis Data	40
IV. HASIL PEMBAHASAN	41
A. Penentuan Target Transformasi Genetik pada Jamblang	42

B. Uji Kemurnian <i>A. tumefaciens</i> EHA 105 sebagai Sel Inang untuk Vektor Pembawa Gen <i>Hd3a</i> dan <i>HPT</i>	46
C. Deteksi Gen <i>Hd3a</i> dan <i>HPT</i> pada Plasmid <i>A. tumefaciens</i> EHA105	51
D. Pola Pertumbuhan <i>A. tumefaciens</i> EHA105 untuk Menentukan Kerapatan Bakteri	52
E. Penentuan Waktu Infeksi <i>A. tumefaciens</i> pada Tahap Infeksi terhadap Target Transformasi	53
F. Penentuan Konsentrasi Higromisin pada Medium Seleksi terhadap Target Transformasi	58
V. SIMPULAN DAN SARAN	65
A. Simpulan	65
B. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	76

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Variasi waktu infeksi <i>A. tumefaciens</i> EHA105	24
2.	Variasi konsentrasi higromisin	25
3.	Hasil uji kemurnian bakteri <i>A. tumefaciens</i> EHA105	45
4.	Pengaruh variasi waktu infeksi terhadap persentase frekuensi transformasi	57
5.	Pengaruh variasi konsentrasi higromisin terhadap persentase frekuensi transformasi	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman jamblang	7
2. Daerah T-DNA pada p2K1- <i>Hd3a</i>	21
3. Skema Tahapan Penelitian	24
4. Kalus embriogenik daun jamblang	42
5. Macam-macam kondisi kalus embriogenik jamblang hasil pre-kultur untuk bahan transformasi genetik pada medium MS-CIM	44
6. Uji pewarnaan Gram <i>A. tumefaciens</i> EHA105	45
7. Uji morfologi koloni bakteri <i>A. tumefaciens</i> EHA105 pada medium LB agar + higromisin 50 ppm + kanamisin 50 ppm	46
8. Uji motilitas <i>A. tumefaciens</i> EHA105 pada medium LB agar tegak + higromisin 50 ppm + kanamisin 50 ppm	47
9. Uji katalase <i>A. tumefaciens</i> EHA105	48
10. Hasil uji fermentasi karbohidrat <i>A. tumefaciens</i> EHA105	48
11. Hasil visualisasi elektroforesis deteksi gen <i>Hd3a</i> dan gen <i>HPT</i> pada PCR colony <i>A. tumefaciens</i> EHA105	50
12. Pola pertumbuhan rata-rata kultur <i>A. tumefaciens</i> EHA105 pada medium LB Cair + higromisin 50 ppm + kanamisin 50 ppm selama 24 jam	51
13. Kalus jamblang hasil infeksi dan ko-kultivasi dengan perlakuan variasi waktu infeksi	52
14. Hasil eliminasi <i>A. tumefaciens</i> pada target transformasi pertama, kedua, dan ketiga pada medium MS cair + meropenem 25 ppm	53
15. Kalus jamblang hasil <i>recovery</i> dengan perlakuan variasi waktu infeksi	54
16. Kalus jamblang hasil seleksi konsentrasi higromisin 10 ppm	56

dengan perlakuan variasi waktu infeksi

- | | | |
|-----|--|----|
| 17. | Kalus jamblang hasil ko-kultivasi untuk perlakuan variasi konsentrasi higromisin | 59 |
| 18. | Kalus jamblang hasil <i>recovery</i> pada medium <i>recovery</i> dengan perlakuan variasi konsentrasi higromisin | 60 |
| 19. | Kalus jamblang hasil seleksi dengan perlakuan variasi konsentrasi higromisin | 61 |

INTISARI

Jamblang (*Syzygium cumini* L.) mulai berbunga dan berbuah setelah berumur 4-5 tahun bergantung pada kondisi lingkungan. Peningkatan permintaan pasar terhadap buah jamblang belum diimbangi oleh laju pembungaan tanaman. Salah satu cara untuk mempercepat pembungaan yakni dengan menyisipkan gen *heading date 3a* (*Hd3a*) melalui *Agrobacterium mediated transformation*. Pada penelitian ini, kalus embriogenik jamblang dipilih sebagai target transformasi karena memiliki potensi regenerasi menjadi tanaman utuh. Efisiensi transformasi sangat dipengaruhi oleh faktor krusial seperti waktu infeksi *A. tumefaciens* dan konsentrasi higromisin sebagai agen seleksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui morfologi dan anatomi kalus embriogenik jamblang sebagai target transformasi, serta mengetahui waktu infeksi *A. tumefaciens* dan konsentrasi higromisin yang paling tepat untuk transformasi genetik pada jamblang. Penelitian ini meliputi beberapa tahap, yaitu penentuan target transformasi genetik pada jamblang, uji kemurnian dan identifikasi *A. tumefaciens* sebagai vektor pembawa gen, penentuan waktu infeksi dengan *A. tumefaciens* EHA105, dan penentuan konsentrasi higromisin pada media seleksi. Variasi waktu infeksi yang digunakan adalah 30, 45, dan 60 menit, sementara variasi konsentrasi higromisin yang digunakan adalah 5, 7,5, 10, 12,5 dan 15 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus embriogenik *S. cumini* sebagai target transformasi memiliki morfologi berwarna putih kekuningan hingga kehijauan, tekstur intermediet dengan anatomi sel kecil, rapat dan inti sel besar. Kalus yang berhasil disisipi gen target menghasilkan warna kuning kehijauan dan dapat bertahan pada medium seleksi. Perlakuan terbaik diperoleh pada waktu infeksi 30 menit dan konsentrasi higromisin 10 ppm, dengan frekuensi transformasi 53,33%.

Kata Kunci: Jamblang (*Syzygium cumini*), Transformasi Genetik, Kalus Embriogenik, *Agrobacterium tumefaciens*, *Hd3a*

ABSTRACT

Syzygium cumini L. (Java plum) typically initiates flowering and fruiting after 4–5 years, depending on environmental conditions. However, the increasing market demand for its fruit has not been supported by an adequate flowering rate. A promising strategy to accelerate flowering involves the insertion of the heading date 3a (Hd3a) gene via *Agrobacterium*-mediated transformation. In the present study, embryogenic callus of *S. cumini* was employed as the target tissue due to its high potential for regeneration into whole plants. Transformation efficiency is critically influenced by parameters such as the infection duration with *Agrobacterium tumefaciens* and the concentration of hygromycin used as a selection agent. This study aimed to characterize the morphology and anatomy of the embryogenic callus of *S. cumini*, and to determine the optimal infection time and hygromycin concentration for effective genetic transformation. The experimental stages included the establishment of transformation targets, verification and purification of *A. tumefaciens* as the gene vector, optimization of infection duration using the EHA105 strain, and determination of appropriate hygromycin concentration for selection media. The results revealed that suitable embryogenic calli exhibited a yellowish white to greenish coloration, intermediate texture, and cellular anatomy characterized by small and dense cells with large nuclei. Calli successfully transformed with the Hd3a gene developed a yellow-green hue and survived on selective medium. The best result was obtained with a 30-minute infection time and 10 ppm hygromycin concentration, yielding a transformation frequency of 53.33%.

Kata Kunci: *Syzygium cumini*, Genetic Transformation, Embryogenic Callus, *Agrobacterium tumefaciens*, Hd3a