



SNB

Seminar Nasional Bioteknologi 2014

PROSIDING SNB 2014

BIOTECHNOLOGICAL APPROACHES TO BLUE ECONOMY IMPLEMENTATION

SURABAYA, 27-28 FEBRUARI 2014



Fakultas Teknobiologi Universitas Surabaya
Jl. Raya Kalirungkut, 60292, Jawa Timur - Indonesia
Email: biotek@ubaya.ac.id; No telepon: 62-31-2981399; Fax: 62-31-2981278

“ SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI 2014”

***Biotechnological Approaches to Blue Economy
Implementation***

**Diselenggarakan oleh:
Program Studi Biologi - Fakultas Teknobiologi
Universitas Surabaya**

**Perpustakaan Lantai 5 Universitas Surabaya
Surabaya-Indonesia**

27 - 28 Febuari 2014

“ SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI 2014”

***Biotechnological Approaches to Blue Economy
Implementation***

PROSIDING

Ketua:

Theresia Desy Askitosari, S.Si., M.Biotech

Editor:

Dr.rer.nat. Maria Goretti M. Purwanto
Dr. Tjandra Pantjajani
Theresia Desy Askitosari, S.Si., M.Biotech
Ruth Chrisnasari, S.TP., M.P.
Nurul Azizah, S.Si.

Diselenggarakan oleh:

**Program Studi Biologi - Fakultas Teknobiologi
Universitas Surabaya**

27 - 28 Febuari 2014

“ SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI 2014”

*Biotechnological Approaches to Blue Economy
Implementation*

PROSIDING

ISBN : 978-602-14714-2-5

Editor : Dr.rer.nat. Maria Goretti M. Purwanto
Dr. Tjandra Pantjajani
Theresia Desy Askitosari, S.Si., M.Biotech
Ruth Chrisnasari, S.TP., M.P.
Nurul Azizah, S.Si.

Diterbitkan oleh : UBAYA Press

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kami haturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat yang telah diberikan sehingga Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi (SNB) Universitas Surabaya (UBAYA) 2014 dapat diselesaikan. SNB UBAYA 2014 merupakan seminar nasional pertama yang diselenggarakan oleh Fakultas Teknobiologi, Universitas Surabaya, sekaligus mengawali rangkaian kegiatan peringatan lustrum pertama Fakultas Teknobiologi, Universitas Surabaya yang jatuh pada tanggal 1 Februari 2015. Tema seminar nasional ini adalah '*Biotchnological Approaches to Blue Economy Implementation*' yang diadakan pada tanggal 27-28 Februari 2014, bertempat di Gedung Perpustakaan lantai V, Universitas Surabaya, serta dihadiri oleh enam pembicara utama yang pakar di bidang Industri dan Bisnis, Kesehatan dan Forensik, serta Pangan dan Pertanian. Peserta yang berpartisipasi dalam presentasi oral maupun poster berasal dari berbagai perguruan tinggi negeri maupun swasta di Indonesia serta instansi pemerintah maupun industri.

Prosiding ini dibuat dengan tujuan memberikan pengetahuan bagi masyarakat luas terkait dengan penelitian di bidang bioteknologi untuk mendukung implementasi *Blue economy* di Indonesia . Prosiding SNB UBAYA 2014 ini berisi makalah dan hasil penelitian dari para pembicara utama maupun peserta presentasi oral. Adanya sesi diskusi pada sesi oral yang dibagi menjadi 4 kelas paralel, yaitu kelas Bioteknologi Kesehatan dan Forensik, Bioteknologi Pangan, Bioteknologi Tanaman, dan Bioteknologi Lingkungan, maupun sesi poster diharapkan dapat menjadi motivasi bagi pemakalah untuk terus berkarya di bidang bioteknologi untuk mendukung implementasi *Blue economy* di Indonesia.

Kami menyadari bahwa Prosiding ini tentu saja tidak luput dari kekurangan, untuk itu segala saran dan kritik kami harapkan demi perbaikan Prosiding pada terbitan tahun yang akan datang. Kami berharap Prosiding ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Hormat saya,

Theresia Desy Askitosari

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iv
Keynote Speaker	
<i>Blue Economy</i> sebagai Pilar Kedaulatan Ekonomi Indonesia Jaya Suprana	3
Aplikasi Teknologi DNA sebagai Metode Identifikasi di Bidang Forensik Agung Sosiawan	4
Solusi Saintifik terhadap Berbagai Permasalahan dalam Industri Bioproses (Lingkungan) yang Menunjang Implementasi <i>Blue Economy</i> Lieke Riadi	5
Aplikasi Bioteknologi Pangan dan Pertanian untuk Menunjang Implementasi <i>Blue Economy</i> Anton Apriyantono	6
<i>Technology Development of Microscope from Cell Biology to Nano Biology</i> Sutiman B. Sumitro	8
Solusi Saintifik terhadap Berbagai Permasalahan dalam Bioteknologi Tanaman yang Menunjang Implementasi <i>Blue Economy</i> Xavier Daniel	9
Bidang Bioteknologi Kesehatan dan Forensik	
Deteksi Transovarial Virus Dengue pada Nyamuk Vektor Demam Berdarah Kasus KLB di Kabupaten Merauke Provinsi Papua : Sebuah Pendekatan Molekular Hana Krismawati ^{*1)} , Hanna Kawulur ¹⁾ , Antonius Oktavian ¹⁾ , Neville Raymon M ²⁾ , Arif ²⁾ , John Master Saragih ³⁾ , Jan Lewier ¹⁾	13
Deteksi Mutasi Fragmen DNA Integrase HIV-1 pada Subyek Odha di Jayapura Hotma Hutapea ¹ , Arie Ardiansyah ²	17
Karakterisasi DNA <i>Escherichia coli</i> C600 Lisogenik Menggunakan Teknik Hibridisasi <i>Dot Blotting</i> dan <i>Southern Blotting</i> Aline Puspita Kusumadjaja	22
Optimasi dan Aplikasi <i>Multiplex Polymerase Chain Reaction</i> untuk Deteksi <i>Salmonella</i> sp., <i>Vibrio cholerae</i> , dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada Air Minum Kemasan sebagai Pengganti Metode Deteksi Konvensional Vicky Chu [*] , Maria Goretti M. Purwanto, Xavier Daniel	32

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigen Penghasil Biosurfaktan dari Sampel Endapan Lilin pada Pipa Transmisi Minyak Mentah Any Juliani ^{1)*} , Andik Yulianto ¹⁾ , Mutia Anneu Sutani ²⁾	188
Isolasi dan Identifikasi Bakteri Resisten Logam Berat Kadmium Johnsen Tanjaya*, Tjandra Pantjajani, Mangihot Tua Goeltom	195
Kloning Gen Pengkode Enzim Endo-1,4-Beta-Glucanase (<i>ysdC</i>) dan Endo-BETA-1,3-1,4 Glucanase (<i>BSUW23_10175</i>) dari <i>Bacillus subtilis</i> dalam Sel <i>Escherichia coli</i> Origami Mariana Wahjudi*, Olivia Maria Angelina, Xavier Daniel, Lisa Gunawan, Yusnita Liasari	201
Kajian Jenis Tempat Perindukan, Kepadatan Larva <i>Aedes</i> sp., dan Perilaku 3M Masyarakat Kecamatan Cilacap Utara Kabupaten Cilacap – Jawa Tengah Imam Apriyana ^{1)*} , Haris B. Widodo ²⁾ , Agatha Sih Piranti ³⁾	210
Ekstraksi Eksotoksin Bakteri Simbion Nematoda Patogen Serangga Hasil Isolasi Sampel Tanah Trawas, Mojokerto Theresia Desy Askitosari	216
Karakteristik Bakterial Agarase Isolat GC 2.1. dari Perairan Sancang Garut Santi R. Anggraeni ^{1)*} , Emma Rochima ²⁾ , M. Untung Kurnia Agung ¹⁾	223
Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme Penghasil Enzim Kitinase Termofil pada Permandian Air Panas Prataan, Tuban Steven Yasaputera, Tjandra Pantjajani, Ruth Chrisnasari*	228
Bidang Bioteknologi Tanaman/Pertanian	
Seleksi Ketahanan 10 Genotipe Gandum (<i>Triticum aestivum</i> L.) dengan Proline sebagai Penanda terhadap Cekaman Suhu Tinggi dan Kekeringan Theresa Dwi Kurnia ^{1)*} , Djoko Murdono ²⁾ , Nugraheni Widyawati ²⁾ , Sony Heru Priyanto ³⁾	237
Ekspresi Gen Doda pada Bunga <i>Celosia</i> di Jawa Timur Mastuti R*, Harijati N, Fatinah AA	242
Optimasi Efisiensi Transformasi Transien dan Regenerasi Transforman Stabil Tembakau Sindoro (<i>Nicotiana tabacum</i>) Jaka Angkasa Saputra, Tjie Kok ¹⁾ , Xavier Daniel ²⁾	249
Populasi dan Aktivitas Mikroba Tanah pada Budidaya Wortel Organik dan Konvensional Sarmah ^{1)*} , Khamdanah ¹⁾ , Edi Husen ²⁾	256

Pengaruh Biodekomposer Bc 1 dan Bc 2 terhadap Percepatan Pengomposan dan Kualitas Kompos Tandan Kosong Kelapa Sawit Khamdanah*, Elsanti, Sarmah, Edi Santosa, Surono	261
Pengaruh Katalis Berbasis CoMo pada Reaksi Hydrocracking Minyak Nyamplung Menjadi Biofuel Adrianto Prihartantyo*, Achmad Roesyadi, Mahfud, Rismawati Rasyid	268
Hydrocracking Minyak Biji Kapuk dengan Katalis Padat NiCoMo/ γ -Al ₂ O ₃ Eni Setya Rini*, Achmad Roesyadi	275
Senyawa Penyusun Ekstrak N-Heksana dari Daun Pisang Batu, Kepok dan Ambon Hasil Distilasi Air Titri Siratantri Mastuti*, Ratna Handayani ¹	283
Perombakan Herbisida <i>2,4-Dichlorophenoxyaceticacid</i> (2,4-D) oleh Isolat Bakteri Tanah Vulkanik Gunung Merapi, Yogyakarta Seftavi Widya Sari	288
UCAPAN TERIMA KASIH	293
HALAMAN SPONSOR	294

Optimasi Efisiensi Transformasi Transien dan Regenerasi Transforman Stabil Tembakau Sindoro (*Nicotiana tabacum*)

Jaka Angkasa Saputra, Tjie Kok¹⁾, Xavier Daniel²⁾

Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Surabaya

Jalan Raya Kalirungkut, Surabaya 60293, Indonesia Telp/fax: 031-2981399/ 031-2981278

^{1),2)}Email: tjie_kok@staff.ubaya.ac.id; dsbiotek.xavier@staff.ubaya.ac.id

ABSTRAK

Agrobacterium tumefaciens telah digunakan secara luas pada penelitian molekuler tanaman dan pemuliaan tanaman sejak tahun 1983 untuk kepentingan rekayasa genetika. Umumnya *A.tumefaciens* diinfeksi pada diskus daun sedangkan menginjeksi *A.tumefaciens* ke jaringan daun dapat dijadikan alternatif, metode ini disebut Agroinfiltrasi. Agroinfiltrasi lebih cepat dan mudah dibandingkan teknis diskus daun karena dapat mengukur ekspresi *transgene* sejak 2-4 hari setelah infiltrasi. Sedangkan metode diskus daun memerlukan waktu 2-4 bulan untuk analisa ekspresi *transgene*. Pada penelitian ini, Agroinfiltrasi daun dilakukan pada Sindoro salah satu jenis tembakau Temanggung. Variabel agroinfiltrasi adalah densitas inokulum *A.tumefaciens* C58C1(pMp90, pEGAD) dan waktu ko-kultivasi setelah infiltrasi. Kuantifikasi *Green Fluorescent Protein* (GFP) ekstrak daun Sindoro dibandingkan kontrol negatif dapat mencapai 123% pada OD₆₀₀=0.06 saat 24 jam setelah infiltrasi. Sebagian agroinfiltrasi daun Sindoro juga diregenerasi pada media Murashige dan Skoog (MS) mengandung BASTA 5 ppm sebagai agen seleksi. Tunas transforman muncul pada hari ke-47 setelah inokulasi di media MS seleksi transforman.

Kata kunci: agroinfiltrasi, *A.tumefaciens*, GFP, tembakau sindoro

Pendahuluan

Agrobacterium tumefaciens telah digunakan secara luas pada penelitian molekuler tanaman dan pemuliaan tanaman sejak tahun 1983 untuk kepentingan rekayasa genetika. Keberhasilan metode ini telah diaplikasikan pada kedelai, kapas, beras, jagung, tebu dan gandum (Ko dan Korban, 2004; Lopez *et al.*, 2004). *A.tumefaciens* umumnya digunakan sebagai alat transformasi terhadap diskus daun dilanjutkan regenerasi transforman dari diskus *in vitro* yang dikenal sebagai teknik transformasi stabil. Alternatif lain untuk mentransformasi tanaman dapat dengan cara menginjeksi *A.tumefaciens* ke organ tanaman secara *in-planta* atau Agroinfiltrasi. Teknik agroinfiltrasi merupakan transformasi transien artinya hanya sebagian jaringan yang tertransformasi, bukan suatu organisme utuh. Agroinfiltrasi memungkinkan pemantauan ekspresi protein, lokalisasi protein dan interaksi antar protein (Sparkes *et al.*, 2006), penentuan fungsi gen (Bendahmane *et al.*, 2000; Van der Hoorn *et al.*, 2000; Johansen dan Carrington, 2001; Shao *et al.*, 2003; Wroblewski *et al.*, 2005), analisis promoter (Hellens *et al.*, 2005), dan studi *inducible genes* (Lee dan Yang, 2006).

Pada penelitian ini, Agroinfiltrasi dilakukan pada daun tembakau Temanggung jenis Sindoro menggunakan *A.tumefaciens* C58C1(pMp90, pEGAD). Daun yang diinfiltrasi akan mengandung sel-sel transforman mengekspresikan GFP. Selanjutnya protein GFP diekstraksi sebagai indikator efisiensi transformasi. Keberhasilan transformasi menggunakan *A.tumefaciens* dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti densitas inokulum bakteri (OD₆₀₀), lama inkubasi, surfaktan, dan kerentanan tanaman host (Cheng *et al.*, 1997; Mondal *et al.*, 2001; Lopez *et al.*, 2004). Pada penelitian ini digunakan variabel densitas inokulum *A.tumefaciens* C58C1(pMp90, pEGAD) dan lama inkubasi. Selain itu, juga dilakukan regenerasi transforman stabil melalui teknik kultur jaringan pada media seleksi *in vitro* mengandung BASTA.

Metodologi

Bahan

Tanaman yang digunakan sebagai objek penelitian adalah Tembakau (*Nicotiana tabacum*) Temanggung jenis Sindoro. Tanaman tembakau ditumbuhkan dari persemaian biji tembakau di *Greenhouse* Fakultas Teknobiologi Universitas Surabaya. Strain *A.tumefaciens*, yang digunakan adalah C58C1(pMp90,pEGAD) dari koleksi Laboratorium Fakultas Teknobiologi Universitas Surabaya. *A.tumefaciens* strain C58C1 telah resisten terhadap rifampisin. pMp90 memberikan resistensi gentamisin serta meningkatkan efektivitas transformasi. Plasmid pEGAD memberikan resisten terhadap kanamisin, serta membawa *coding sequence* GFP dan gen *Bar*.

19. Mondal, T.K., *et al.* Transgenic tea (*Camellia sinensis* [L.] O. Kuntze cv. Kangra Jat) plants obtained by Agrobacterium-mediated transformation of somatic embryos. *Plant Cell Rep*, 2001; 20:712-720.
20. Peckham, G.D., Bugos, R.C., dan Su, W.W. Purification of GFP fusion proteins from transgenic plant cell cultures. *Protein Expression and Purification*, 2006; 49: 183–189.
21. Perl, A., *et al.* Establishment of an Agrobacterium-mediated transformation system for grape (*Vitis vinifera* L.): The role of antioxidants during grape-Agrobacterium interactions. *Natur Biotechnol*, 1996; 14:624-628.
22. Potrykus, I. Gene transfer to cereals: an assessment. *BioTechnology*, 1990; 8: 535-542.
23. Richter, T.E., dan Ronald, P.C. The evolution of disease resistance genes. *Plant Mol. Biol*, 2000; 42:195-204.
24. Sangwan, R.S., *et al.* Characterization of competent cells and early events of Agrobacterium-mediated genetic transformation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 1992; 188: 439-456.
25. Shao, F., *et al.* Cleavage of Arabidopsis PBS1 by Bacterial Type III Effector. *Science*, 2003; 301:1230-1233.
26. Somssich, I.E., dan Hahlbrock, K. Pathogen defense in plants – a paradigm of biological complexity. *Trends in Plant Science*, 1998; 3:86-90.
27. Sparkes, I., *et al.* Rapid, transient expression of fluorescent fusion proteins in tobacco plants and generation of stably transformed plants. *Nature Protocols*, 2006; 1:4. Diakses dari <http://www.nature.com/natureprotocols> tanggal 20 Desember 2013.
28. Van der Hoorn, J.A.L., *et al.* Agroinfiltration is a versatile tool that facilitates comparative analyses of Avr9/cf-9-induced and Avr4/Cf-4-induced necrosis. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2000; 13:439-446.
29. Wroblewski, T., Tomczak, A., dan Michelmore, R. Optimization of Agrobacterium-mediated transient assays of gene expression in lettuce, tomato and *Arabidopsis*. *Plant Biotech J*, 2005; 3:259-273.
30. Wydro, M., Kozubek, E, dan Lehmann, P. Optimization of transient Agrobacterium-mediated gene expression system in leaves of *Nicotiana benthamiana*. *Acta Biochimica Polonica*, 2006; 53: 289–298.
31. Zambryski, P. Basic processes underlying Agrobacterium-mediated DNA transfer to plant cells. *Annu. Rev. Genet*, 1988; 22:1-30.