



UNIVERSITAS PERTAHANAN RI

**TRANSFORMASI PROTOPLAS MENGGUNAKAN
pRGE32-sgLCYB DAN ANALISIS EKSPRESI GEN
Lycopene Beta-Cyclase (LCYB) PADA PISANG cv.
CAVENDISH UNTUK Mendukung KETAHANAN
PANGAN NASIONAL**

OKTA DWI ELLISIA SIHOMBING 320210301021

**Skripsi yang Ditulis Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam
Mendapatkan Gelar Sarjana**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM MILITER
PROGRAM STUDI BIOLOGI**

BOGOR 2025

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Okta Dwi Ellisia Sihombing
NIM : 320210301021
Program Studi : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer
Judul Skripsi : Transformasi Protoplas Menggunakan pRGEB32-sgLCYB dan Analisis Ekspresi Gen *Lycopene Beta-Cyclase (LCYB)* pada Pisang cv. Cavendish untuk Mendukung Ketahanan Pangan Nasional

Dosen Pembimbing I,



Dr. Miftahul Huda Fendiyanto, S.Si., M.Si.
Penata III/c NIP.199212022022031002
Tanggal: 9 Agustus 2025

Dosen Pembimbing II,



Dr. rer.nat Bernadetta Rina Hastilestari, S.Si., M.Sc.
Penata III/c NIP.198109212008122001
Tanggal: 7 Agustus 2025

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi,



Sukanto, S.Si., M.Sc.
Letkol Arh NRP. 11970023040672
Tanggal: 9 Agustus 2025

Dekan Fakultas MIPA Militer,



Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si.
Pembina Utama Muda IV/c
Tanggal: 12 Agustus 2025

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Okta Dwi Ellisia Sihombing
 NIM : 320210301021
 Program Studi : Biologi
 Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer
 Judul Skripsi : Transformasi Protoplas Menggunakan pRGEB32-sgLCYB dan Analisis Ekspresi Gen *Lycopene Beta-Cyclase (LCYB)* pada Pisang cv. Cavendish untuk Mendukung Ketahanan Pangan Nasional

No.	Nama/Pangkat/NIP/NIDN	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Dosen Pembimbing I: Dr. Miftahul Huda Fendiyanto, S.Si., M.Si. Penata III/c NIP. 199212022022031002		9/8/25
2.	Dosen Pembimbing II: Dr. rer. nat Bernadetta Rina Hastilestari, S.Si., M.Sc. Penata III/c NIP. 198109212008122001		7/8/25
3.	Dosen Penguji I: Dr. Rizky Dwi Satrio, S.Si., M.Si. Penda Tk.I III/b NIP. 199212062022031001		9/8/25
4.	Dosen Penguji II: Nabila Swarna Puspa Hermana, S.Si., M. Si. Penda Tk.I III/b NIP. 199404272022032003		9/8/25

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan jenjang apapun di suatu Perguruan Tinggi; dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat istilah, frasa, kalimat, paragraf, subbab atau bab dari karya yang pernah ditulis atau diterbitkan; kecuali yang secara tertulis diajukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Referensi.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa terdapat plagiat dalam skripsi ini, saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan/undang-undang yang berlaku.

Bogor, 12 Agustus 2025



Okta Dwi Ellisia Sihombing

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Pertahanan Republik Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Okta Dwi Ellisia Sihombing
NIM : 320210301021
Program Studi : Biologi
Fakultas : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Pertahanan Republik Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Transformasi Protoplas Menggunakan pRGE32-sgLCYB dan Analisis Ekspresi Gen *Lycopene Beta-Cyclase (LCYB)* pada Pisang cv. Cavendish untuk Mendukung Ketahanan Pangan Nasional

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Pertahanan Republik Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Bogor
Pada tanggal : 12 Agustus 2025
Yang menyatakan

Okta Dwi Ellisia Sihombing
NIM. 320210301021

KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulisan skripsi dengan judul: “Transformasi Protoplas Menggunakan pRGEb32-sgLCYB dan Analisis Ekspresi Gen *Lycopene Beta-Cyclase (LCYB)* pada Pisang cv. Cavendish untuk Mendukung Ketahanan Pangan Nasional” dapat diselesaikan.

Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu, peneliti mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Miftahul Huda Fendiyanto, S.Si., M.Si., sebagai Dosen Pembimbing Pertama yang telah meluangkan waktunya untuk mengarahkan, membimbing, memberikan saran dari awal penelitian sampai penelitian selesai.
2. Dr. rer. Nat Bernadetta Rina Hastilestari, S.Si., M.Sc., sebagai Dosen Pembimbing Kedua yang telah meluangkan waktunya untuk mengarahkan dan membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Dr. Rizky Dwi Satrio, S.Si., M.Si., sebagai Dosen Penguji Pertama yang telah meluangkan waktunya untuk menguji kompetensi saya dan memberikan masukan serta saran kepada peneliti dalam pelaksanaan ujian skripsi.
4. Nabila Swarna Puspa Hermana, S.Si., M.Si., sebagai Dosen Penguji Kedua yang telah meluangkan waktunya untuk menguji kompetensi saya dan memberikan masukan serta saran kepada peneliti dalam pelaksanaan ujian skripsi.
5. Kolonel Ckm Nurhadiyanta, S.Si., M.Si., sebagai Ketua Program Studi Biologi Periode 2021-2025 Universitas Pertahanan Republik Indonesia.
6. Letkol Arh Sukanto, S.Si., M.Sc., sebagai Ketua Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia.

7. Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si., sebagai Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia.
8. Dr. Isna Arofatur Nikmah, S.Si., M.Si., sebagai Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan nasihat kepada peneliti selama menjadi Kadet Mahasiswa.
9. Seluruh Dosen Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia yang telah memberikan ilmu selama penulis menempuh program sarjana di Universitas Pertahanan Republik Indonesia.
10. Staf Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia yang telah membantu peneliti dalam perkuliahan khususnya selama praktikum, pengurusan berkas penelitian, dan pengurusan berkas skripsi.
11. Orang tua peneliti yang tercinta Bapak dan Mama beserta kakak dan adik, yang telah memberikan dukungan disaat susah dan senang, serta selalu mendoakan peneliti agar menjadi pribadi yang selalu bersyukur dan selalu berusaha yang terbaik dengan mengandalkan Tuhan Yesus Kristus dalam proses menempuh pendidikan di Universitas Pertahanan Republik Indonesia.
12. Rekan-rekan seperjuangan Program Studi Biologi Angkatan kedua tahun 2021 Universitas Pertahanan Republik Indonesia, yang telah menemani proses melewati perjalanan panjang kurang lebih selama 4 tahun mulai dari pendidikan dasar militer di Akademi Militer sampai proses perkuliahan di Universitas Pertahanan Republik Indonesia.
13. Rekan-rekan seperjuangan Nara Dyaviksatra Angkatan kedua tahun 2021 Universitas Pertahanan Republik Indonesia, yang telah menemani proses melewati perjalanan panjang selama 4 tahun.
14. Kakak asuh, Saudara asuh, dan Adik asuh Program Studi Biologi beserta Resimen Kadet Mahasiswa yang selalu memberikan

dukungan dan motivasi kepada penulis.

15. Kezia Pakpahan, Meida Butarbutar, Evelyn Hutagalung, sebagai ketiga sahabat peneliti yang telah mendengarkan keluh kesah, memberikan motivasi dan menemani proses perjalanan peneliti dari masa Sekolah Menengah Atas sampai menyelesaikan studi di Universitas Pertahanan Republik Indonesia.
16. Yosephine Nisa Pulalo dan Agnes Hutagaol yang telah banyak mendengarkan keluh kesah, membantu dalam setiap proses yang peneliti alami, serta memberikan masukan dan dorongan setiap kali peneliti merasa kehilangan motivasi.
17. Okta Dwi Ellisia Sihombing, yakni penulis sendiri. Terima kasih telah menyelesaikan apa yang telah dimulai. Tidak mudah untuk sampai di tahap ini dengan melewati segala musim kehidupan. Terima kasih telah mampu bertahan dan berjuang hingga menyelesaikan studi dengan sangat baik. Terima kasih untuk tetap kuat dan merayakan dirimu sendiri. Tetaplah menjadi seseorang yang selalu berusaha dan tidak pernah berhenti untuk mencoba segala hal yang membangun dirimu.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas kebaikan-kebaikan seluruh pihak yang ikut serta dalam membantu proses penulisan skripsi ini hingga selesai. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu dengan kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.

Bogor, 12 Agustus 2025



Okta Dwi Ellisia Sihombing

ABSTRAK

TRANSFORMASI PROTOPLAS MENGGUNAKAN pRGEB32- sgLCYB DAN ANALISIS EKSPRESI GEN *Lycopene Beta- Cyclase (LCYB)* PADA PISANG cv. CAVENDISH UNTUK MENDUKUNG KETAHANAN PANGAN NASIONAL

Pisang (*Musa acuminata*) cv. Cavendish adalah salah satu jenis pisang yang paling banyak dibudidayakan dan dikonsumsi di Indonesia. Pisang mengandung beta karoten yang menjadi prekursor vitamin A, yang dikodekan oleh gen *lycopene beta-cyclase (LCYB)*. Gen *LCYB* mengkode enzim likopen beta siklase yang mengontrol jalur pembentukan beta-karoten pada tanaman pisang. Vitamin A berperan penting dalam metabolisme tubuh, memperkuat sistem imun, dan membantu proses pertumbuhan sel. Kandungan vitamin A pada pisang masih rendah yang dapat menimbulkan kekurangan vitamin A, sehingga dapat menyebabkan stunting pada anak-anak sampai masalah kesehatan serius yang dapat dialami dari seluruh golongan usia. Peningkatan kandungan vitamin A dapat dilakukan dengan memodifikasi gen *LCYB* menggunakan ribonukleoprotein (RNP) seperti protoplas. Penelitian ini bertujuan menguji keberhasilan transformasi gen *LCYB* pada protoplas menggunakan vektor pRGEB32-*sgLCYB* dan menganalisis ekspresi gen *LCYB* pada protoplas rekombinan pRGEB32-*sgLCYB*. Penelitian dilakukan dengan transformasi protoplas yang dimediasi *polyethylene glycol* (PEG) 4000, yang dilanjutkan dengan isolasi DNA dan RNA protoplas, sehingga dapat dilakukan analisis ekspresi gen relatif *LCYB* pada protoplas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi gen *LCYB* pada protoplas yang ditransformasikan memiliki ekspresi yang rendah. Kesimpulan dari penelitian ini adalah protoplas dapat ditransformasi dengan menggunakan vektor pRGEB32-*sg LCYB* dan memiliki ekspresi gen *LCYB* yang rendah pada protoplas rekombinan pRGEB32-*sg LCYB*. Penelitian ini dapat dilakukan lebih lanjut untuk mengkonfirmasi pengaruh perubahan fungsi protein ketika terjadi mutasi gen *LCYB* pada protoplas transgenik.

Kata kunci: *Agrobacterium tumefaciens*, beta-karoten, *LCYB*, pisang, protoplas, transformasi, vitamin A

ABSTRACT

PROTOPLAST TRANSFORMATION USING pRGEB32-sgLCYB AND EXPRESSION ANALYSIS OF Lycopene Beta-Cyclase (LCYB) GENE IN BANANA cv. CAVENDISH TO SUPPORT NATIONAL FOOD SECURITY

Banana (Musa acuminata) cv. Cavendish is one of the most widely cultivated and consumed banana species in Indonesia. Bananas contain beta-carotene, which is the precursor of vitamin A, encoded by the lycopene beta-cyclase (LCYB) gene. The LCYB gene encodes the lycopene beta-cyclase enzyme, which controls the beta-carotene formation pathway in banana plants. Vitamin A plays an important role in body metabolism, strengthens the immune system, and aids in cellular growth processes. The vitamin A content in bananas is still low, which can lead to vitamin A deficiency, potentially causing stunting in children and serious health issues across all age groups. Increasing vitamin A content can be achieved by modifying the LCYB gene using ribonucleoproteins (RNPs) such as protoplasts. This study aims to test the success of LCYB gene transformation in protoplasts using the pRGEB32-sgLCYB vector and analyze LCYB gene expression in pRGEB32-sgLCYB recombinant protoplasts. The research was conducted using polyethylene glycol (PEG) 4000-mediated protoplast transformation, followed by the isolation of protoplast DNA and RNA, enabling the analysis of relative LCYB gene expression in protoplasts. The results of this study showed that LCYB gene expression in transformed protoplasts was low. The conclusion of this study is that protoplasts can be transformed using the pRGEB32-sgLCYB vector and have low LCYB gene expression in pRGEB32-sgLCYB recombinant protoplasts. This study can be further conducted to confirm the effect of protein function changes when LCYB gene mutations occur in transgenic protoplasts.

Keywords: *Agrobacterium tumefaciens, banana, beta-carotene, LCYB, protoplasts, transformation, vitamin A*

DAFTAR ISI

UNIVERSITAS PERTAHANAN RI.....	I
LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI.....	II
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	III
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	IV
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	V
KATA PENGANTAR.....	VI
ABSTRAK	IX
ABSTRACT	X
DAFTAR GAMBAR.....	XIII
DAFTAR TABEL.....	XIV
DAFTAR SINGKATAN.....	XV
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Landasan Teori.....	8
2.2 Hasil Penelitian Terdahulu	19
2.3 Kerangka Berpikir	20
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	21
3.1 Metode dan Desain Penelitian.....	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
3.3 Alat dan Bahan	22

3.4	Variabel Penelitian	22
3.5	Populasi dan Sampel	23
3.6	Prosedur Penelitian	23
3.7	Metode Analisis	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		31
4.1	Hasil.....	31
4.2	Pembahasan	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		43
5.1	Kesimpulan.....	43
5.2	Saran	43
DAFTAR PUSTAKA.....		44
LAMPIRAN		54



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pisang (<i>Musa acuminata</i>) cv. Cavendish	8
Gambar 2.2 Jalur biosintesis karotenoid pada tanaman	11
Gambar 2.3 Peta konstruksi plasmid pRGEB32- <i>sgLCYB</i>	15
Gambar 2.4 Kerangka Berpikir.....	20
Gambar 4.1 Hasil isolasi plasmid pRGEB32- <i>sgLCYB</i> rekombinan yang dilihat melalui UV transiluminator.....	31
Gambar 4.2 Visualisasi sisipan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> rekombinan pRGEB32- <i>sgLCYB</i>	32
Gambar4.3 Hasil isolasi protoplas <i>Musa acuminata</i> transgenik pRGEB32- <i>sgLCYB</i> rekombinan.	33
Gambar 4.4 Hasil PCR cDNA dan DNA protoplas <i>Musa acuminata</i> transgenik pRGEB32- <i>sgLCYB</i> rekombinan.....	35
Gambar 4.5 Hasil Ekspresi Gen Relatif <i>Lycopene β-cyclase</i> (LCYB) pada protoplas <i>Musa acuminata</i> menggunakan qRT-PCR..	36
Gambar 4.6 <i>Musa acuminata</i> transgenik yang mengandung pRGEB32 <i>sgLCYB</i>	38

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Penelitian Terdahulu	19
Tabel 3. 1 Jadwal Penelitian.....	21
Tabel 4. 1 Hasil Kuantifikasi RNA dan DNA protoplas <i>Musa acuminata</i> yang telah ditransformasi dengan plasmid rekombinan <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	34



DAFTAR SINGKATAN



LCYB	: <i>Lycopene Beta-Cyclase</i>
LCYE	: <i>Lycopene Epsilon-Cyclase</i>
sgRNA	: <i>single guide Ribo Nucleic Acid</i>
mRNA	: <i>messenger Ribo Nucleic Acid</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RT-PCR	: <i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i>
cDNA	: <i>Complementary DNA</i>
MS	: <i>Murashige and Skoog</i>
CDS	: <i>Coding Sequence</i>
PEG	: <i>Polietilen Glikol</i>
CTAB	: <i>Cetyl Trimethylammonium Bromide</i>
EtOH	: <i>Etil Alkohol</i>
CRISPR	: <i>Clusteres Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i>