

**OPTIMASI SELEKSI *HYGROMYCIN* BERTINGKAT PADA
REGENERASI SORGUM HITAM PUTATIF TRANSFORMAN sgRNA**

Sorghum bicolor

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat
Guna mencapai derajat Sarjana Pertanian



Oleh:

Wilda Mutiara Sari

NIM. 2210311028

Kepada

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH JEMBER

JULI, 2026

LEMBAR PENGESAHAN

OPTIMASI SELEKSI *HYGROMYCIN* BERTINGKAT PADA REGENERASI SORGUM HITAM PUTATIF TRANSFORMAN sgRNA *Sorghum bicolor*

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

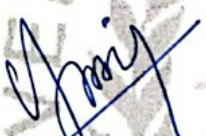
Wilda Mutiara Sari
NIM. 2210311028

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 29 Juli 2026
dan dinyatakan telah memenuhi syarat.

Susunan Tim Penguji

Ketua,

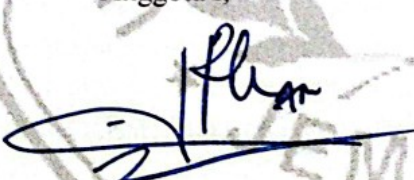
Sekretaris,


Dr. Ir. Muhammad Hazmi, D.E.S.S
NIP. 196311151990031001


Ir. Wiwit Widiarti, M.P
NIP. 196407031991032003

Anggota I,

Anggota II,


Ir. Oktarina, M.P.
NIP. 196509011990032001


Hidayah Murtiyandingsih, S.Si., M.Si.
NPK. 1990090111803864

Jember, 29 Juli 2026

Universitas Muhammadiyah Jember
Fakultas Pertanian
Dekan


Saptya Prawitasari, S.P., M.P.
NIP. 197305242005012006

KATAPENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT. atas segala rahmat dan karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **OPTIMASI SELEKSI *HYGROMYCIN* BERTINGKAT PADA REGENERASI SORGUM HITAM PUTATIF TRANSFORMAN *sgRNA Sorghum bicolor*.**

Penulis menyusun skripsi ini dengan tujuan memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada program studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Jember. Dalam proses penyusunan skripsi ini, penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis, atas doa, kasih sayang, dan pengorbanan yang tiada henti, serta mas dan adik selaku saudara penulis, atas kehadiran dan dukungan yang selalu menguatkan.
2. Saptya Prawitasari, S.P., M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian dan Hidayah Murtiyaningsih, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Agroteknologi sekaligus dosen pembimbing anggota, serta Dr. Ir. Muhammad Hazmi, D.E.S.S. selaku dosen pembimbing utama, atas fasilitas, ilmu, bimbingan, dan arahan yang diberikan dengan penuh kesabaran selama proses studi dan penyusunan skripsi.
3. Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D., atas fasilitas, bahan penelitian, dan pendampingan teknis yang diberikan, serta Ines, Fida, Dan Dinda beserta rekan-rekan Laboratorium NP atas bantuan dan semangat selama penelitian.
4. Mba Sabrina yang telah menjadi rumah kedua bagi penulis dengan segala kehangatan dan dukungannya, serta Aqilla, Aura, Safira, Wuri, Warda, dan Nia, atas persahabatan dan semangat yang saling menguatkan sejak awal perkuliahan hingga penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi yang disajikan masih memiliki kekurangan, oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan untuk perbaikan di masa mendatang.

Jember, 29 Juli 2026

Penulis


Wilel Mutiara Sari
NIM. 2210311028

DAFTAR ISI

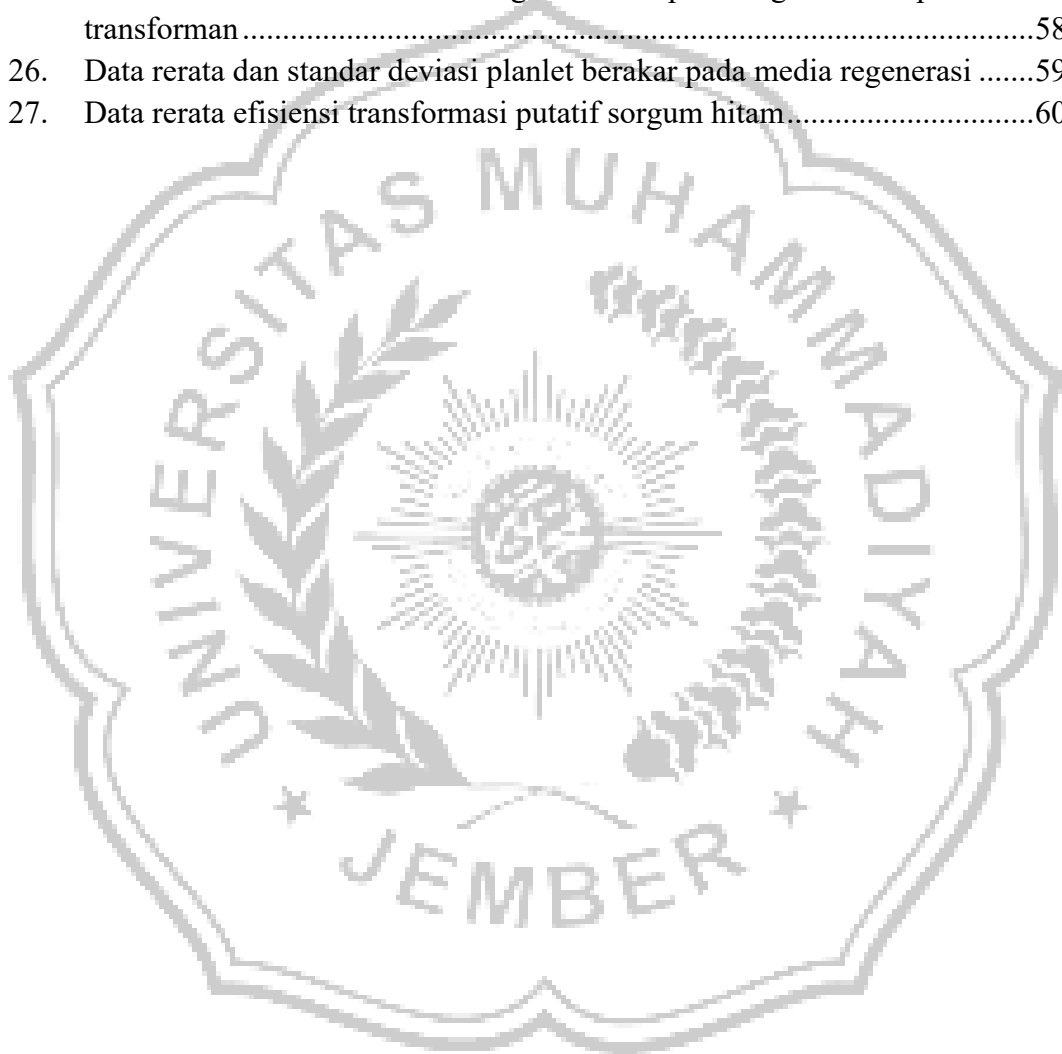
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATAPENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	xi
RIWAYAT HIDUP PENELITI.....	xii
RINGKASAN	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Keaslian Penelitian.....	6
1.5 Luaran Penelitian	6
1.6 Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Klasifikasi Tanaman Sorgum.....	7
2.2. Morfologi Tanaman Sorgum.....	7
2.3. Sorgum Hitam.....	9
2.4. Kultur Jaringan.....	10
2.5. Transformasi Genetik <i>Agrobacterium</i>	12
2.6. Gen <i>Non-dormant Axillary Bud 1 (NAB1)</i>	14
2.7. Agen Seleksi <i>Hygromycin</i>	15
2.8. Regenerasi Kalus Sorgum.....	16
2.9. Hipotesis	18
III. METODE PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	19
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	19
3.3 Rancangan Percobaan	19
3.3.1 Kelompok Pengamatan	20
3.3.2 Konsentrasi Seleksi <i>Hygromycin</i>	20
3.3.3 Jumlah Ulangan.....	20
3.3.4 Model Matematis	20
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	21
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Ruang.....	21
3.4.2 Pembuatan Media <i>Murashige dan Skoog (MS)</i>	21
3.4.3 Persiapan Eksplan	22

3.4.4	Kultur <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	22
3.4.5	Konfirmasi Molekuler Konstruksi sgRNA pada Plasmid.....	23
3.4.6	Infeksi dan Kokultivasi	24
3.4.7	Penyegaran (<i>Refresh</i>)	24
3.4.8	Seleksi <i>Hygromycin</i> Bertingkat.....	25
3.4.9	Regenerasi dan Perakaran Planlet	25
3.5	Variabel Pengamatan	26
3.5.1	Persentase Tumbuhnya Kalus Pada Media Kokultivasi.....	26
3.5.2	<i>Survival Rate</i> (Persentase Eksplan Hidup) (%).....	26
3.5.3	Jumlah Tunas	26
3.5.4	Jumlah Daun	27
3.5.5	Persentase Regenerasi Eksplan (%)	27
3.5.6	Persentase Planlet Berakar (%)	27
3.5.7	Efisiensi Transformasi Putatif.....	27
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1	Konfirmasi Molekuler Konstruksi sgRNA pada Plasmid.....	30
4.2	Hasil Kultur <i>in vitro</i> Inisiasi Gen <i>NAB1</i> pada Sorgum Hitam	32
4.2.1	Persentase Kalus Hidup pada Media Ko-kultivasi	33
4.2.1	<i>Survival Rate</i> pada Setiap Konsentrasi Seleksi <i>Hygromycin</i>	34
4.2.3	Jumlah Tunas pada Berbagai Konsentrasi Seleksi <i>Hygromycin</i>	37
4.2.4	Jumlah Daun pada Berbagai Konsentrasi Seleksi <i>Hygromycin</i>	38
4.2.5	Persentase Regenerasi Eksplan Sorgum Putatif Transforman	39
4.2.6	Persentase Planlet Berakar pada Media Regenerasi.....	40
4.2.7	Efisiensi Transformasi Putatif Transforman	41
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1	Kesimpulan	43
5.2	Saran	43
	DAFTAR PUSTAKA	45
	LAMPIRAN.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Sidik Ragam pada Berbagai Parameter Pengamatan Transformasi Genetik Sorgum Hitam Putatif Transforman Konstruksi sgRNA Target Gen NAB1	33
2. Rerata Jumlah Tunas pada Berbagai Konsentrasi Seleksi <i>Hygromycin</i> (10, 15, dan 20 ppm) pada Tiga Konstruksi sgRNA Target Gen <i>NAB1</i>	37
3. <i>Layout</i> Penelitian dengan Pengulangan 5 Kali	51
4. Data persentase kalus hidup pada media ko-kultivasi (%).	52
5. ANOVA persentase kalus hidup pada media ko-kultivasi (%).	52
6. Data rerata dan standar deviasi survival rate (persentase eksplan hidup) pada setiap konsentrasi seleksi <i>Hygromycin</i>	53
7. Data jumlah tunas per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 10 ppm (7 hari).....	54
8. ANOVA jumlah tunas per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 10 ppm	54
9. Data pembandingan kontrol negatif (K-) jumlah tunas per eksplan pada <i>Hygromycin</i> 10 ppm (7 hari).....	54
10. Data jumlah tunas per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 15 ppm (7 hari).....	54
11. ANOVA jumlah tunas per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 15 ppm	54
12. Data pembandingan kontrol negatif (K-) jumlah tunas per eksplan pada <i>Hygromycin</i> 15 ppm (7 hari).....	55
13. Data jumlah tunas per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 20 ppm (7 hari).....	55
14. ANOVA jumlah tunas per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 20 ppm	55
15. Data pembandingan kontrol negatif (K-) jumlah tunas per eksplan pada <i>Hygromycin</i> 20 ppm (7 hari).	55
16. Data jumlah daun per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 10 ppm (7 hari).....	56
17. ANOVA jumlah daun per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 10 ppm	56
18. Data pembandingan kontrol negatif (K-) jumlah daun per eksplan pada <i>Hygromycin</i> 10 ppm (7 hari) (helai)	56
19. Data jumlah daun per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 15 ppm (7 hari).....	56
20. ANOVA jumlah daun per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 15 ppm	57

21.	Data pembandingan kontrol negatif (K-) jumlah daun per eksplan pada <i>Hygromycin</i> 15 ppm (7 hari) (helai)	57
22.	Data jumlah daun per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 20 ppm (7 hari).....	57
23.	ANOVA jumlah daun per eksplan pada media seleksi <i>Hygromycin</i> 20 ppm	57
24.	Data pembandingan kontrol negatif (K-) jumlah daun per eksplan pada <i>Hygromycin</i> 20 ppm (7 hari) (helai)	57
25.	Data rerata dan standar deviasi regenerasi eksplan sorgum hitam putatif transforman	58
26.	Data rerata dan standar deviasi planlet berakar pada media regenerasi	59
27.	Data rerata efisiensi transformasi putatif sorgum hitam.....	60



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Benih Sorgum Lokal Hitam.....	10
2. Struktur sel <i>Agrobacterium tumefaciens</i> dan peta Ti-plasmid	12
3. Mekanisme transfer T-DNA dari <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ke dalam genom tanaman.....	13
4. Struktur sistem vektor <i>ternary</i> pada <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	14
5. Konstruksi plasmid pRGEB32	23
6. Diagram Alir Penelitian.....	28
7. Alur Seleksi Kontrol Negatif dan <i>Hygromycin</i> Bertingkat.....	29
8. Visualisasi Hasil Elektroforesis Produk PCR Konfirmasi Konstruksi sgRNA (± 450 bp)	30
9. Persentase Hidup Eksplan Sorgum Hitam Pascako-kultivasi pada Tiga Konstruksi sgRNA Target Gen <i>NAB1</i>	34
10. <i>Survival Rate</i> Eksplan Sorgum Hitam pada Seleksi <i>Hygromycin</i> Bertingkat	35
11. Respon Visual Eksplan Kontrol Negatif (Non-Transforman) pada Seleksi <i>Hygromycin</i>	36
12. Tahapan Seleksi <i>Hygromycin</i> Bertingkat dan Regenerasi Eksplan Putatif Transforman Konstruksi sg1.1.....	36
13. Tahapan Seleksi <i>Hygromycin</i> Bertingkat dan Regenerasi Eksplan Putatif Transforman Konstruksi sg2.3.....	36
14. Tahapan Seleksi <i>Hygromycin</i> Bertingkat dan Regenerasi Eksplan Putatif Transforman Konstruksi sg3.1.....	36
15. Rerata Jumlah Daun Sorgum Hitam Pascaseleksi <i>Hygromycin</i> Bertingkat	38
16. Persentase Regenerasi Eksplan Sorgum Hitam pada Tiga Konstruksi sgRNA Target Gen <i>NAB1</i>	39
17. Persentase Planlet Berakar Sorgum Hitam pada Tiga Konstruksi sgRNA Target Gen <i>NAB1</i>	40
18. Efisiensi Transformasi Putatif Transforman Sorgum Hitam pada Tiga Konstruksi sgRNA Target Gen <i>NAB1</i>	41

19.	Proses Sterilisasi Alat dan Bahan	61
20.	Proses Pembuatan Media.....	62
21.	Proses Inisiasi Benih.....	63
22.	Proses Transformasi Genetik.....	64



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Layout Penelitian	51
2. Data dan Hasil Persentase Kalus Hidup pada Media Ko-kultivasi.....	52
3. Data dan Hasil Survival Rate (Persentase Eksplan Hidup) pada Setiap Taraf Seleksi <i>Hygromycin</i>	53
4. Data dan Hasil Jumlah Tunas pada Berbagai Taraf Seleksi <i>Hygromycin</i>	54
5. Data dan Hasil Jumlah Daun pada Berbagai Taraf Seleksi <i>Hygromycin</i>	56
6. Data dan Hasil Persentase Regenerasi Eksplan Sorgum Hitam Putatif Transforman.....	58
7. Data dan Hasil Persentase Planlet Berakar pada Media Regenerasi	59
8. Data dan Hasil Efisiensi Transformasi Putatif.....	60
9. Dokumentasi Penelitian	61



FAKULTAS PERTANIAN
PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI - TERAKREDITASI UNGGUL
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH JEMBER



Jl. karimata No. 49 Jember 68121 Jawa Timur Indonesia Kotak Pos 104
Website: <http://www.unmuhjember.ac.id> E-mail: kantorpusat@unmuhjember.ac.id

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Wilda Mutiara Sari

NIM : 2210311028

Program Studi : Agroteknologi

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang berjudul
**OPTIMASI SELEKSI *HYGROMYCIN* BERTINGKAT PADA
REGENERASI SORGUM HITAM PUTATIF TRANSFORMAN *sgRNA Sorghum bicolor*** adalah karya tulis asli penulis yang bebas unsur plagiarisme.
Pernyataan ini penulis buat dengan sebenar-benarnya, dan apabila terdapat
pelanggaran di dalamnya, maka penulis bersedia menerima sanksi hukuman
sebagai akibatnya.

Jember, 29 Juli 2026

Mahasiswa,



Wilda Mutiara Sari
NIM. 2210311028



**FAKULTAS PERTANIAN
PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI - TERAKREDITASI UNGGUL
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH JEMBER**



Jl. karimata No. 49 Jember 68121 Jawa Timur Indonesia Kotak Pos 104
Website: <http://www.unmuhjember.ac.id> E-mail: kantorpusat@unmuhjember.ac.id

RIWAYAT HIDUP PENELITI

Data pribadi

Nama : Wilda Mutiara Sari
Tempat, Tanggal Lahir : Jember, 12 Oktober 2003
Jenis Kelamin : Perempuan
NIM : 2210311028
Program Studi : Agroteknologi
Alamat Asli : Jl. Semeru I Blok D No. 2 Lingk. Krajan Timur
E-mail : wildamutiarasari@gmail.com
Agama : Islam



Riwayat Pendidikan

SDN 1 Summersari : Berijazah 2016
SMPN 1 3 Jember : Berijazah 2019
SMAN 1 Jember : Berijazah 2022

Jember, 29 Juli 2026

Penulis,

Wilda Mutiara Sari
NIM. 2210311028