

Rekayasa Gen Kunci Biosintesis Pati SUT1, APL1.1, APS1.1, SS1, AMY3, BAM3, dan AGL pada Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis*) untuk Meningkatkan Oil to Dry Mesocarp

Project Leader : Geliz Luh Titisari, S.Si
(NIM. 2420412004)

Team Project : Andre Priandoko, S.Si
(NIM. 2420411010)



TUJUAN RISET

- Merekayasa jalur metabolisme pati dengan Aktivasi Faktor Transkripsi dan over ekspresi gen SUT1, APL1.1, APS1.1, SS1, AMY3, BAM3, dan AGL, dengan metode **Golden Gate cloning**.
- Konstruksi genetik gen-gen target dan transformasi ke tanaman model *Arabidopsis thaliana wild-type* dengan vector **Agrobacterium tumefaciens (strain LBA 4404)**
- Menganalisis efektivitas tanaman hasil rekayasa genetika

JUSTIFIKASI RISET

Production volume of palm oil in Indonesia from 2014 to 2023
(in million metric tons)

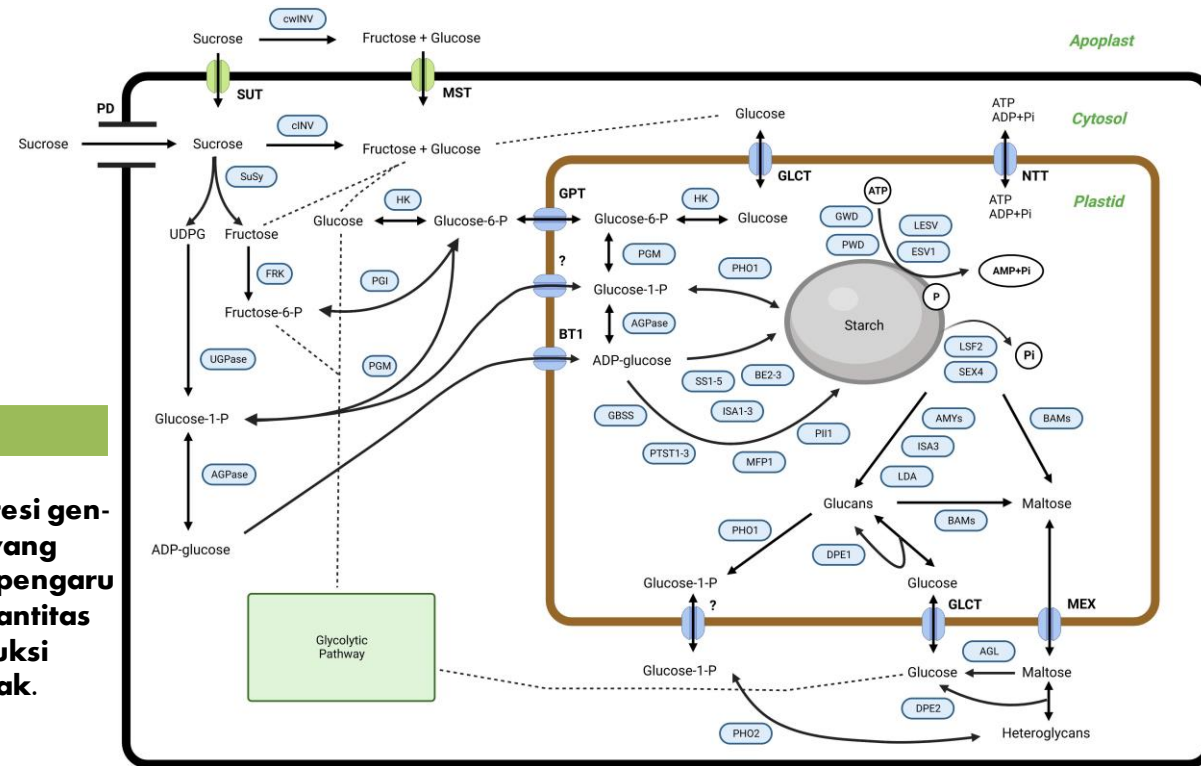


Sumber grafik Crifasia.com

Efisiensi produksi: tantangan akibat keterbatasan genetik dan lingkungan

Studi terbaru menunjukkan bahwa metabolisme pati adalah faktor esensial dalam proses sintesis lemak pada tanaman produsen minyak (*oil fruit-producing species*) (Apriyanto, et al, 2023)

Rekayasa genetika jalur metabolisme pati



Open Innovation BGA Tahun 2025

Gen Metabolisme sukrosa	Gen Metabolisme Pati	Gen Metabolisme Maltosa	Gen jalur glikolisis
Sukrosa Transporter 1 (SUT1): mengontrol fluks sukrosa ke jaringan mesokarp	ADP-glucose pyrophosphorylase (APL1.1 dan APS1.1): mengkatalisis sintesis pati	Alpha-glucosidase (AGL): mengubah maltosa dan maltotriosa menjadi glukosa	Phosphofructokinase (PFK3.1)
	Starch Synthase 1 (SS1): mengontrol ukuran granula pati dan hasil minyak		Fructose-1,6-bisphosphate aldolase (FBA1.1 dan FBA1.2)
	Alpha-amylase 3 (AMY3): degradasi pati menjadi maltosa dan maltotriosa		Triose phosphate isomerase (TPI1.1)
	Beta-amylase 3 (BAM3):memecah pati menjadi maltosa.		Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH1.1)
			Phosphoglycerate kinase (PGK3)
			Phosphoglycerate mutase (PGAM1.1)
			Enolase (ENO2)
			Pyruvate kinase (PK1.1)

Ekspresi gen-gen yang mempengaruhi kuantitas produksi minyak.

BIG PICTURE RISET

Rekayasa Gen Kunci Biosintesis Pati SUT₁, APL_{1.1}, APS_{1.1}, SS₁, AMY₃, BAM₃, dan AGL pada Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis*) untuk Meningkatkan *Oil to Dry Mesocarp*

Tahun	2025	2026	2027
Luaran	• Publikasi utama: Artikel Jurnal Internasional terindeks scopus Q1 • Prototype • Haki & Paten	• Produksi Produk • Implementasi Inovasi	Implementasi skala industri
Biaya	Rp. 300.000.000	Rp. 500.000.000	Rp. 1000.000.000

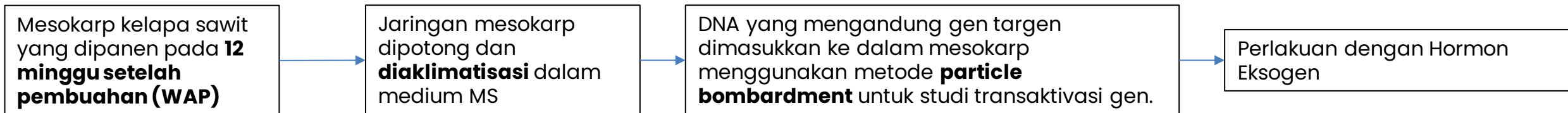
Alat-Instrumen

PCR Thermal Cycler, qRT-PCR System, Spektrofotometer NanoDrop Electrophoresis, Centrifuge, Laminar Flow Cabinet, Incubator Shaker, Growth Chamber, Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), HPLC (High-Performance Liquid Chromatography)

Bahan

Elaeis guineensis (kelapa sawit). *Arabidopsis thaliana* (wild-type), *Agrobacterium tumefaciens* (strain LBA 4404), kanamisin, Murashige and Skoog (MS) medium, Media kultur seleksi untuk *Agrobacterium*, Media seleksi antibiotik untuk *Arabidopsis*, DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), TRIzol Reagent (Invitrogen), Kit sintesis cDNA (qScript cDNA SuperMix, Quanta Bio), GoTaq DNA Polymerase (Promega), SYBR Green Master Mix (Thermo Fisher), primer spesifik (desain), hormon Asam absisat (ABA), Asam indol asetat (IAA), Giberelin (GA_3), Etilen, Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) reagen, High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) reagen, plasmid, promotor, Larutan untuk pewarnaan jaringan dan visualisasi hasil eksperimen.

persiapan jaringan mesokarp kelapa sawit dan *Arabidopsis thaliana*



Persiapan Tanaman Model *Arabidopsis thaliana* untuk Studi Genetik

Arabidopsis thaliana (ecotype Columbia-0, Col-0), ditumbuhkan dalam media spesifik

1. Isolasi dan Amplifikasi Gen target

- Gen *SUT1*, *APL1.1*, *APS1.1*, *SS1*, *AMY3*, *BAM3*, dan *AGL*, diekstraksi dari mesokarp kelapa sawit.

- Open reading frames (ORF) dari gen-gen ini diperbanyak menggunakan **PCR** dengan primer spesifik

2. Konstruksi Plasmid

- Produk PCR dikloning ke dalam pENTR™/D-TOPO vector (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA).
- DNA target kemudian dipindahkan ke vektor tujuan pEarleyGATE103 (pEG103) menggunakan sistem Gateway® LR Clonase™ II enzyme mix.

3. Transformasi ke tanaman mode *Arabidopsis*

- Plasmid hasil konstruksi dimasukkan ke dalam *Agrobacterium tumefaciens* (strain LBA 4404).

- Transformasi genetik *Arabidopsis thaliana* dilakukan menggunakan *metode vacuum infiltration* pada inflorescence (bunga).

4. Seleksi Tanaman Transgenik

- Tanaman *Arabidopsis* hasil transformasi diseleksi menggunakan **media MS** yang mengandung **10 µg/ml glufosinate ammonium**.
- Tanaman yang lolos seleksi dipindahkan ke tanah dan diperbanyak hingga generasi lanjut.

5. Perbanyak dan Konfirmasi Homozygous Lines

6. Particle Bombardment ke Mesokarp Kelapa Sawit

- Jaringan mesokarp 12 WAP terlebih dahulu disterilisasi, dipotong menjadi bagian kecil
- Plasmid yang mengandung berbagai gen target dilapisi pada partikel emas kecil bersama dengan CaCl₂ dan spermidine
- partikel ini ditembakkan ke jaringan mesokarp menggunakan **Biolistic Particle Delivery System** (Bio-Rad) dengan tekanan 1550 psi dan vakum 27 mmHg.
- analisis lebih lanjut dengan **qRT-PCR** untuk mengukur tingkat ekspresi gen target

7. Co-immunoprecipitation (Co-IP) dan Pull-down assay

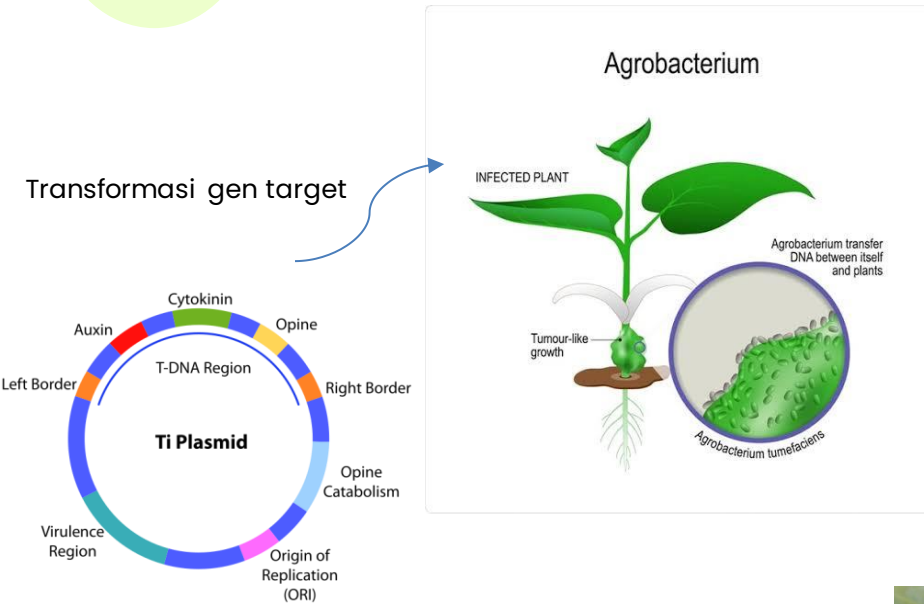
8. Total oil content analysis

Metode yang digunakan untuk menganalisis kandungan minyak dalam biji *Arabidopsis* adalah *gravimetric lipid determination*

GANTT CHART RISET

No	Nama Kegiatan	Bulan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Isolasi dan Amplifikasi Gen target												
2	Konstruksi Plasmid												
3	Transformasi ke tanaman mode Arabidopsis												
4	Seleksi Tanaman Transgenik												
5	Perbanyak dan Konfirmasi Homozygous Lines												
6	Particle Bombardment ke Mesokarp Kelapa Sawit												
7	Co-immunoprecipitation (Co-IP) dan Pull-down assay												
8	Total oil content analysis												





Prototype: Aplikasi *Agrobacterium tumefaciens* pada tanaman model *Arabidopsis thaliana*



Publikasi Utama:
Jurnal Internasional terindeks scopus Q1 (*Frontiers in Plant Science*)



HAKI & Paten: penemuan prototype yang menghasilkan varietas baru yang lebih unggul

RENCANA ANGGARAN RISET

No	Kategori	Keterangan	Item	Jumlah	satuan	Estimasi Biaya (Rp)
1	Honorarium	Insentif	Project leader			10.000.000
			Team Leader			10.000.000
2	Bahan	bahan penelitian	Bibit Kelapa Sawit & Arabidopsis	1	buah	1.000.000
		bahan penelitian	Media Murashige & Skoog (MS) & suplemen	1	botol	10.000.000
		bahan penelitian	Media seleksi antibiotik untuk Arabidopsis	1	botol	2.000.000
		bahan penelitian	Larutan steril & buffer kultur jaringan	1	botol	5.000.000
		bahan penelitian	Bahan pendukung (pot, tanah, pupuk, dll.)			5.000.000
		bahan penelitian	DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen)	1	kit	15.000.000
		bahan penelitian	RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen)	1	kit	20.000.000
		bahan penelitian	Enzim restriksi, ligase, & Clonase™ II	1	pcs	10.000.000
		bahan penelitian	Vektor pENTR™/D-TOPO & pEarleyGATE103	1	pcs	10.000.000
		bahan penelitian	Transformasi Agrobacterium tumefaciens (LBA 4404)	1	kultur	2.000.000
		bahan penelitian	Bahan kimia untuk elektroforesis	1	kit	5.000.000
		bahan penelitian	TRIzol Reagent (Invitrogen)	1	kit	10.000.000
		bahan penelitian	qScript cDNA SuperMix, Quanta Bio	1	pcs	7.000.000
		bahan penelitian	GoTaq DNA Polymerase (promega)	1	pcs	10.000.000
		bahan penelitian	SYBR Green Master Mix	1	pcs	3.000.000
		bahan penelitian	primer spesifik	7	pcs	1000000
		bahan penelitian	Partikel emas untuk bombardemen			10.000.000
		bahan penelitian	Antibodi poliklonal untuk Co-IP	1	pcs	10.000.000
		bahan penelitian	Reagen untuk Co-IP & Pull-down assay	1	kit	2.000.000
		bahan penelitian	hormon Asam absisat (ABA)	1	botol	1.000.000
		bahan penelitian	Asam indol asetat (IAA)	1	botol	1.000.000
		bahan penelitian	Giberelin (GA ₃)	1	botol	1.000.000
		bahan penelitian	Etilen	1	botol	1.000.000
		bahan penelitian	reagen HPLC	1	kit	1000000
		bahan penelitian	reagen GC-MS	1	kit	1000000
		bahan penelitian	Reagen ekstraksi lipid (heksana, isopropanol, dll.)	1	kit	10.000.000
		bahan penelitian	Bahan kimia pemisahan fase (sodium sulfat, dll.)	1	kit	5.000.000

RENCANA ANGGARAN RISET

No	Kategori	Keterangan	Item	jumlah	satuan	Estimasi Biaya (Rp)
3	Pemakaian alat	Instrumen penelitian (sewa)	PCR Thermal Cyclers			10000000
		Instrumen penelitian (sewa)	qRT-PCR System			10000000
		Instrumen penelitian (sewa)	spektrofotometer NanoDrop			5000000
		Instrumen penelitian (sewa)	Electrophoresis			8000000
		Instrumen penelitian (sewa)	Centrifuge			1000000
		Instrumen penelitian (sewa)	Laminar Flow Cabinet			1000000
		Instrumen penelitian (sewa)	Incubator Shaker			1000000
		Instrumen penelitian (sewa)	Growth Chamber			1000000
4	Jasa	jasa	Biolistic Particle Delivery System			22.000.000
		jasa	Pelayanan GC-MS			30.000.000
		jasa	Pelayanan HPLC			20.000.000
		jasa	Timbangan analitik presisi tinggi			1.000.000
5	Perjalanan Dinas					1.000.000
6	Tim Pengamatan					1.000.000
	Total Keseluruhan					300.000.000

DAMPAK RISET (FINANCIAL & NON FINANCIAL)

Aspek	Analisis Cost (Biaya yang Dikeluarkan)	Analisis Benefit (Manfaat yang Diperoleh)
1. Biaya Penelitian (Rp 300 juta)	Dana digunakan untuk eksperimen bioteknologi, transformasi genetik, analisis ekspresi gen, dan pengujian kandungan minyak	Hasil penelitian dapat menghasilkan varietas kelapa sawit dengan produksi minyak lebih tinggi dan ketahanan lebih baik terhadap stres lingkungan
2. Dampak terhadap Produksi Minyak Sawit	Biaya riset awal untuk mengembangkan galur unggul	Peningkatan produktivitas hingga 15–30% lebih tinggi per hektar, mengurangi kebutuhan ekspansi lahan
3. Efisiensi Penggunaan Lahan	Tidak ada biaya tambahan untuk perluasan lahan sawit	Dengan tanaman hasil rekayasa genetika yang lebih produktif, industri dapat menghasilkan lebih banyak minyak tanpa membuka hutan baru
4. Keberlanjutan dan Lingkungan	Biaya uji coba dan analisis dampak lingkungan	Mengurangi deforestasi dan emisi karbon, meningkatkan citra industri sawit secara global
5. Potensi Keuntungan Finansial	Investasi penelitian dalam jangka pendek	Jika varietas ini diadopsi secara luas, perusahaan sawit dapat meningkatkan pendapatan hingga miliaran rupiah per tahun melalui efisiensi produksi
6. Posisi Industri dalam Pasar Global	Biaya sertifikasi dan uji coba lebih lanjut	Memperkuat daya saing kelapa sawit Indonesia di pasar global dengan varietas unggul yang lebih berkelanjutan dan diterima di pasar internasional
7. Peluang Hilirisasi dan Inovasi	Biaya pengembangan lebih lanjut dan paten	Potensi pengembangan benih unggul hasil rekayasa genetika yang dapat dijual dan diadopsi oleh petani serta industri sawit lainnya

Return on Investment (ROI)

Dengan investasi Rp **300 juta**, penelitian ini dapat membuka jalan bagi **varietas kelapa sawit dengan produksi minyak lebih tinggi dan dampak lingkungan lebih rendah**. Jika hasil penelitian diterapkan, perusahaan dapat memperoleh keuntungan **berlipat ganda dari peningkatan produktivitas dan efisiensi lahan**, sekaligus meningkatkan keberlanjutan industri sawit di tingkat global.

Biaya awal penelitian: Rp 300 juta

- Prediksi peningkatan produksi minyak: +20%
- Keuntungan dari peningkatan hasil: Rp 5 miliar/tahun
- Break-even point dalam 2 tahun setelah implementasi.



Terimakasih

Open Innovation BGA Tahun 2025

