

INTISARI

Tanaman kosmos (*Cosmos sulphureus* Cav.) merupakan tanaman hias yang memiliki dua variasi warna bunga yakni kuning dan oranye. Dalam pemuliaan tanaman, variasi warna bunga dapat ditingkatkan dengan melakukan teknik transformasi genetik yang dimediasi oleh *Agrobacterium tumefaciens*. Namun, belum banyak referensi mengenai metode transformasi genetik khususnya pada *C. sulphureus*. Oleh karena itu, penelitian optimasi metode transformasi genetik penting dilakukan untuk proses rekayasa genetik. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa dengan melakukan transformasi gen *SoSPS1* pada tanaman, dapat meningkatkan akumulasi sukrosa. Transformasi gen *SoSPS1* pada tanaman kosmos dapat dijadikan sebagai studi awal proses pemuliaan tanaman kosmos. Melalui overekspresi gen *SoSPS1* diharapkan terjadi peningkatan biosintesis sukrosa sehingga meningkatkan kandungan sukrosa ke jaringan lain seperti daun dan bunga kosmos. Penelitian ini memiliki tujuan untuk memperoleh metode perbanyakan tanaman secara *in vitro* sebagai persiapan proses transformasi genetik dan memperoleh metode transformasi gen *SoSPS1* dengan *A. tumefaciens*. Beberapa tahapan yang dilakukan yaitu sterilisasi benih, multiplikasi eksplan, pemilihan eksplan untuk transformasi, optimasi waktu infeksi eksplan, optimasi kepadatan bakteri (OD) dan penggunaan asetosiringon (Acs), seleksi eksplan putatif transforman, aklimatisasi dan analisis molekuler dengan PCR. Dalam satu set eksperimen transformasi genetik, 100 eksplan tunas apikal diinfeksi pada suspensi bakteri dengan variasi OD₆₀₀ = 0,5 dan 0,75. Eksplan dipindahkan ke media ko-kultivasi dengan perlakuan penambahan dan tanpa penambahan asetosiringon, tiga hari kemudian eksplan dipindahkan ke media *resting* dan seleksi. Aklimatisasi dan pengambilan sampel daun dilakukan untuk konfirmasi tanaman putatif transforman melalui analisis PCR. Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, tunas apikal berpotensi sebagai eksplan yang digunakan untuk proses transformasi genetik. Perbanyakan eksplan yang optimal ditanam pada media dengan komposisi ½ MS + ½ BAP serta MS + 3 BAP. Metode transformasi yang diperoleh adalah penggunaan jenis eksplan tunas apikal yang direndam pada suspensi bakteri OD₆₀₀ : 0,5 selama 20 menit dengan volume 20 ml. Kemudian eksplan ditanam pada media ko-kultivasi dengan komposisi MS tanpa penambahan asetosiringon selama 3 hari, selanjutnya eksplan ditanam pada media *resting* dengan komposisi MS + 500 ppm Cefotaxime selama 7 hari. Setelah itu, eksplan ditanam pada media seleksi sekaligus induksi tunas dengan komposisi ½ MS + ½ ppm BAP + 50 ppm Kanamisin + 500 ppm Cefotaxime. Efisiensi transformasi yang diperoleh berdasarkan metode tersebut adalah 19,33% dan efisiensi transformasi secara keseluruhan adalah 16,67%. Metode hasil optimasi tersebut harapannya dapat digunakan sebagai acuan dalam penelitian transformasi genetik pada tanaman kosmos dengan gen-gen lain yang diinginkan.

Kata kunci : *Agrobacterium tumefaciens*, *in vitro*, kosmos, optimasi metode, transformasi genetik

ABSTRACT

Cosmos plant (Cosmos sulphureus Cav.) is a floricultural plant with two different colors of flower (yellow and orange). In plant breeding, flower color variation can be modified using genetic engineering method with Agrobacterium-mediated transformation technique. However, the reports on genetic transformation method in C. sulphureus are limited. Several studies reported that SoSPS1 gene transformation could increase the amount of sucrose in plants. The SoSPS1 gene transformation in cosmos plants can be used as an initial study of the cosmos plant breeding process. Through the overexpression of SoSPS1 gene, hopefully will rise the sucrose biosynthesis, and followed by the increase of sucrose content to the other tissues such as leaves and cosmos flowers. There are two purposes of this study; (1) preparation for genetic transformation process through in vitro plant propagation and (2) optimization the SoSPS1 gene transformation. Several steps have been carried out to establish genetic transformation method in C. sulphureus, i. e. seed sterilization, explant multiplication, selection of explants for transformation, optimization of explant infection time, optimization of bacterial density (OD) and the use of acetosyringone (Acs), selection of transformant putative explants, acclimatization and molecular analysis by PCR. In one set of genetic transformation experiments, 100 apical shoot explants were infected by A. tumefaciens with OD variations in 600nm wave ; 0,5 and 0,75. The explants were transferred into co-cultivation media with addition and without the addition of acetosyringone, three days later the explants were transferred into resting and selection media. Acclimatization and leaf sampling were carried out to confirm the putative transformant plants through PCR analysis. Based on this results, the apical shoot is a potential explants for the genetic transformation process. The established propagation was performed in the medium of 1/2 MS + 1/2 BAP and MS + 3 BAP. The established transformation method was performed by the immersed of apical bud explants in 20 ml bacterial suspension OD₆₀₀ : 0.5 for 20 minutes. Explants were transferred into co-cultivation medium of MS without the addition of acetosyringone for 3 days, and then explants were transferred into resting medium of MS + 500 ppm Cefotaxime for 7 days. After that, explants were transferred into selection medium of MS + ppm BAP + 50 ppm Kanamycin + 500 ppm Cefotaxime. The transformation efficiency obtained based on this method was 19,33% and the total transformation efficiency is 16,67%. Hopefully, the optimization method can be used in research on genetic transformation of cosmos plants with other desired genes.

Key words : Agrobacterium tumefaciens, in vitro, cosmos, method optimization, genetic transformation