



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Metode Transformasi Gen pada Tanaman Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) 'Awanis Agrihorti'
melalui *Agrobacterium tumefaciens*
JENNIFER GOEN, Dr. Ir. Aziz Purwantoro, M.Sc. ; Widhi Dyah Sawitri, S.Si., M.Agr., Ph.D.
Universitas Gadjah Mada, 2022 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

INTISARI

Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) merupakan salah satu tanaman hias yang terpenting di dunia yang memiliki beraneka ragam bentuk, jenis, dan warna bunga. Tanaman ini berpotensi dikembangkan untuk menghasilkan produk biofarmasi karena mengandung metabolit sekunder antara lain *caffeoylequinic acids*, flavonoid, dan karotenoid. Transformasi gen target melalui *Agrobacterium tumefaciens* sudah banyak dilaporkan pada berbagai varietas krisan. Namun, efisiensi transformasi setiap varietas berbeda-beda dipengaruhi oleh kemampuan regenerasi secara *in vitro* dan efisiensi infeksi *Agrobacterium* terhadap eksplan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai optimasi metode transformasi gen pada krisan varietas Awanis Agrihorti. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode transformasi genetik secara *in vitro* melalui induksi tunas. Tahap persiapan yang harus dilakukan adalah perbanyakan bahan tanam untuk transformasi genetik. Komposisi media perbanyakan yang digunakan antara lain $\frac{1}{2}$ MS + $\frac{1}{2}$ BAP, MS + $\frac{1}{2}$ BAP, $\frac{1}{2}$ MS + 3 BAP, dan MS + 3 BAP. Pada penelitian ini digunakan *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101 dengan vektor plasmid biner pRI101AN yang telah membawa gen *neomycin phosphotransferase* (NPT II) dan gen *green fluorescent protein* (GFP). Selain itu optimasi metode transformasi genetik dimulai saat kepadatan bakteri atau *Optical Density* (OD_{600}) = 0.5 dengan perlakuan eksplan berupa internodus dan tunas apikal. Perendaman eksplan dalam suspensi *Agrobacterium tumefaciens* dilakukan selama 10 dan 15 menit. Eksplan dikultur pada media kokultivasi selama 2 hari, lalu eksplan dipindahkan ke media resting dan seleksi. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh efisiensi transformasi sebesar 8% untuk perlakuan eksplan tunas apikal dengan waktu infeksi selama 10 menit. Oleh karenanya, direkomendasikan penggunaan eksplan dengan ukuran berkisar antara 1-1.5 cm dan sumber eksplan dari media MS. Analisis molekuler dengan penanda SRAP menunjukkan terjadinya variasi somaklonal pada tanaman wild type, serta insersi dan delesi pada tanaman transforman.

Kata kunci : *Agrobacterium tumefaciens*, efisiensi transformasi, *in vitro*, krisan, SRAP



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Metode Transformasi Gen pada Tanaman Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) 'Awanis Agrihorti'
melalui *Agrobacterium tumefaciens*
JENNIFER GOEN, Dr. Ir. Aziz Purwantoro, M.Sc. ; Widhi Dyah Sawitri, S.Si., M.Agr., Ph.D.
Universitas Gadjah Mada, 2022 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

ABSTRACT

Chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) is one of the most important floriculture plants in the world, which has a variety of shapes, types, and colors of flowers. This plant contains secondary metabolites such as *caffeoylequinic acids*, flavonoids, and carotenoids. Because of that, the *chrysanthemum* is the potential for biopharmaceutical. Transformation genes of interest through *Agrobacterium tumefaciens* have often been reported in a variety of *chrysanthemums*. However, the efficiency transformation of each variety is differently influenced by in vitro regeneration capability and efficiency of *Agrobacterium* infections in explants. Therefore, this research conducted optimization of the genetic transformation method in the *chrysanthemum* variety Awanis Agrihorti. This research objective is to obtain in vitro genetic transformation method through shoot induction. The first step is explant multiplication for genetic transformation. Multiplication medium composition used included $\frac{1}{2}$ MS + $\frac{1}{2}$ BAP, MS + $\frac{1}{2}$ BAP, $\frac{1}{2}$ MS + 3 BAP, and MS + 3 BAP. *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101 with binary vector plasmid pRI101AN carrying *neomycin phosphotransferase* gene (NPT II) and *green fluorescent protein* gene (GFP) has been used in this research. Besides that, the optimization transformation method using bacterial density (OD₆₀₀) = 0.5 with internodes and shoot apical explant. The period of explant infection on *Agrobacterium* for 10 minutes and 15 minutes. The explant was cultured on a co-cultivation medium for 2 days, after that, the explant moved on to resting and selection medium. The results showed that the transformation efficiency was 8% for apical shoot explant treatment with an infection time of 10 minutes. Therefore, it is recommended to use explants with sizes ranging from 1-1.5 cm and explant sources from MS medium. Molecular analysis with SRAP markers showed the occurrence of somaclonal variations in wild-type plants, as well as insertions and deletions in transformant plants.

Key words : *Agrobacterium tumefaciens*, *chrysanthemum*, *in vitro*, transformation efficiency, SRAP