

Upaya Peningkatkan Ekspresi Transien Gen dan Efisiensi Transformasi Berbasis Agroinfiltrasi Pada *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume

Intisari

Transformasi genetik merupakan salah satu pendekatan alternatif yang digunakan untuk meningkatkan kualitas dan produktivitas Anggrek sebagai tanaman hias. Salah satu metode transformasi genetik yang pernah dilakukan pada Anggrek spesies *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume adalah metode transformasi genetik yang dimediasi oleh *Agrobacterium* dengan perendaman. Namun, dari percobaan tersebut tingkat efisiensi transformasi masih relatif rendah, selain itu teknik yang dilakukan rumit, membutuhkan waktu yang lama dan harus dilakukan dalam kondisi yang aseptis. Saat ini belum ada yang melaporkan mengenai metode agroinfiltrasi pada *P. amabilis*. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan agroinfiltrasi pada *P. amabilis* guna mendapatkan kondisi yang optimum seperti letak injeksi, konsentrasi asetosiringon, densitas bakteri (OD_{600}), dan volume injeksi untuk meningkatkan efisiensi transformasi genetik. Penelitian ini diawali dengan pemeliharaan *P. amabilis* pada *greenhouse* serta persiapan alat dan bahan yang digunakan untuk agroinfiltrasi. Selanjutnya dilakukan uji kemurnian, deteksi gen *HPT* serta analisis GFP pada *A. tumefaciens* pembawa p2K1-GFP. Koloni yang berhasil terdeteksi adanya gen *HPT* digunakan untuk agroinfiltrasi. Setelah itu, pengamatan ekspresi GFP pada *P. amabilis* kandidat transforman dilakukan pada jam ke-0, 4, 24, 48, dan 72 jam pasca infiltrasi. Konfirmasi integrasi T-DNA pada genom tanaman dilakukan dengan metode PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa letak injeksi memiliki pengaruh yang beda nyata terhadap efisiensi transformasi. Letak injeksi yang paling optimum adalah pada daun dengan posisi abaksial. Variasi perlakuan konsentrasi asetosiringon, densitas bakteri (OD_{600}) dan volume injeksi suspensi *Agrobacterium* tidak berbeda nyata terhadap efisiensi transformasi, sehingga kombinasi perlakuan terendah yakni OD_{600} 0,5, volume suspensi 100 μ l, dan tanpa adanya penambahan asetosiringon dapat digunakan untuk agroinfiltrasi pada *P. amabilis*.

Kata kunci: Agroinfiltrasi, *Green Fluorescent protein*, *Phalaenopsis amabilis*, *Agrobacterium tumefaciens*.

Improvements to Gene Transient Expression and Transformation Efficiency of Agroinfiltration-based Transformation in *Phalaenopsis amabilis* (L.)

Blume

Abstract

One alternative method used to increase the quality and productivity of orchids as ornamental plants are genetic modification. *Agrobacterium* -mediated genetic transformation by immersion is one of the techniques used on the *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume species of orchid. However, based on the experiment, the level of transformation efficiency is still quite low. In addition, the approach is relative difficult, because it requires aseptic handling. Nobody has yet reported using the agroinfiltration technique on *P. amabilis*. To achieve better circumstances for the injection site, acetosyringone concentration, bacterial density (OD₆₀₀), and injection volume to maximize the effectiveness of genetic transformation were used in this study for the method of agroinfiltration on *P. amabilis*. This research starts with preserving *P. amabilis* in the greenhouse and getting the equipment and supplies ready for agroinfiltration. The *A. tumefaciens* p2K1-GFP carrier was further subjected to purity testing, *HPT* gene detection, and GFP analyses. Agroinfiltration was carried out using colonies that effectively identified the *HPT* gene. Following that, GFP expression was observed in *P. amabilis* transformant candidates at 0, 4, 24, 48, and 72 hours after infiltration. The PCR approach was used to verify the integration of T-DNA into the plant genome. The results demonstrated that the injection site had a noticeably distinct impact on transformation effectiveness. The leaf, in the abaxial position, is the best area to inject. The transformation efficiency was not significantly different between the treatment variations of acetosyringone concentration, bacterial density (OD₆₀₀), and injection volume of *Agrobacterium* suspension, so the lowest treatment combination of OD₆₀₀ 0.5, 100 µl suspension volume, and no addition of acetosyringone can be used for agroinfiltration in *P. amabilis*.

Keywords: Agroinfiltration, *Green Fluorescent protein*, *Phalaenopsis amabilis*, *Agrobacterium tumefaciens*.