

## **ANALISIS INTEGRASI GEN *AtRKD4* PADA KANDIDAT TANAMAN TRANSGENIK KOPI ARABIKA (*Coffea arabica* L.)**

Ahmad Alfian Nafis

20/458257/BI/10490

Dosen Pembimbing : Prof. Dr. Endang Semiarti, M.S., M.Sc.

### **INTISARI**

Kopi arabika (*Coffea arabica* L.) adalah salah satu komoditas yang paling banyak diminati oleh masyarakat di seluruh dunia. Perbanyakan tanaman kopi arabika dengan kultur jaringan diperlukan untuk menanggapi peluang tersebut. Penyisipan Gen *AtRKD4* dapat menjadi alternatif untuk perbanyakan tanaman dalam kultur jaringan. Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengkonfirmasi keberadaan gen *AtRKD4* yang telah disisipkan pada genom tanaman kopi arabika. T-DNA yang membawa konstruksi *35S::GAL4::AtRKD4::GR* ditransfer pada kalus embriogenik kopi arabika dengan teknik perendaman dalam *A. tumefaciens* strain EHA105 selama 60 menit. Analisis kandidat transforman dilakukan dengan penghitungan jumlah kalus yang positif pada medium seleksi dibagi jumlah kalus yang ditransformasi sehingga menunjukkan frekuensi transformasi dan melakukan konfirmasi terhadap keberadaan gen *AtRKD4* dan *HPT* pada hasil PCR genom kandidat transforman kopi arabika. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 44 dari 266 kalus yang ditransformasi dapat tumbuh pada medium seleksi MS0 berisi 10 ppm higromisin dengan frekuensi transformasi sebesar 16,54%. Hal ini dibuktikan dengan hasil amplifikasi DNA genom berukuran 188 bp menggunakan primer spesifik *AtRKD4* dan 545 bp menggunakan primer spesifik *HPT*. Hasil yang didapatkan mendukung morfologi kalus embriogenik kopi arabika sebagai target transformasi yaitu berwarna kuning dan tekstur *friable*, serta anatominya menunjukkan agregat sel-sel kecil, isodiametris, nukleus menonjol, memiliki amiloplas, dan padat densitas sitoplasma.

**KATA KUNCI:** *Coffea arabica* L., kultur jaringan, kalus embriogenik, *AtRKD4*, *Agrobacterium tumefaciens*

# INTEGRATION ANALYSIS OF THE *AtRKD4* GENE IN CANDIDATE TRANSGENIC ARABICA COFFEE PLANTS (*Coffea arabica* L.)

Ahmad Alfian Nafis

20/458257/BI/10490

Supervisor: Prof. Dr. Endang Semiarti, M.S., M.Sc.

## ABSTRACT

Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) is one of the most popular commodity in the world. Mass propagation of arabica coffee through tissue culture technique needed to achieve this opportunity. *AtRKD4* gene insertion can be an alternative method for plants propagation through tissue culture. The purpose of research that has been conducted is to confirm *AtRKD4* gene inserted in arabica coffee plant genome. T-DNA carrying construct *35S::GAL4::AtRKD4::GR* was transferred into embryogenic callus with immersion technique in strain EHA105 of *A. tumefaciens* for 60 minutes. The transformant candidates were first analyzed by calculation of positive callus in selective medium divided by the amount of callus transformed, therefore the frequency of transformation is established, and then the confirmation of *AtRKD4* and *HPT* gene in the transformant candidate's genome PCR amplification carried out. The result shows that 44 out of 266 callus transformed had survived in the MS0 containing 10 ppm hygromycin selective medium with frequency of 16.54%. This finding has been proven by the DNA genome amplification result with 188 bp in length using *AtRKD4* specific primer size and 545 bp length using *HPT* specific primer size. This result supported the embryogenic callus morphology of arabica coffee as transformation target that are yellow in coloration and friable in texture, and the anatomy showing to be small cells aggregate, isodiametric, prominent nucleus, presence of amyloplast, and highly dense cytoplasm.

**KEYWORDS:** *Coffea arabica* L., plant tissue culture, embryogenic callus, *AtRKD4*, *Agrobacterium tumefaciens*