

TRANSFORMASI GENETIK BERBASIS AGROINFILTRASI UNTUK
EKSPRESI TRANSIEN *GREEN FLUORESCENT PROTEIN* PADA
ANGGREK LANGKA ENDEMIK SUMATRA
Paphiopedilum primulinum M. W. Wood & P. Taylor

Ahmad Yudis Mahardhika
22/508319/PBI/01880

ABSTRAK

Paphiopedilum primulinum M. W. Wood & P. Taylor merupakan anggrek langka endemik Sumatra, Indonesia, yang berstatus kritis. Pendekatan bioteknologi modern diperlukan untuk meningkatkan efektivitas dan efisiensi perbanyak klon *P. primulinum* dalam upaya konservasi, salah satunya melalui transformasi genetik. Agroinfiltrasi menjadi metode yang efisien untuk transfer gen dan dapat memunculkan ekspresi transien gen secara cepat pada transforman. Meskipun metode tersebut banyak diterapkan pada kondisi *in vitro* maupun *ex vitro*, penerapannya pada anggrek *P. primulinum* belum dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu deteksi T-DNA pada transforman; mengetahui efisiensi transformasi genetik; dan membuktikan bahwa metode agroinfiltrasi menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 yang membawa plasmid pRI 101-AN dengan konstruksi T-DNA P35S::*GFP*::Tnos – Pnos::*NPTII*::Tnos merupakan metode yang mudah dan efisien untuk deteksi cepat keberhasilan transfer T-DNA pada *P. primulinum*. Penelitian dilakukan melalui pengujian kemurnian *A. tumefaciens*; injeksi suspensi bakteri melalui nodus dengan variasi densitas (OD₆₀₀ 0,5 dan 0,8), *Acetosyringone* (AS) (0 dan 200 µM), dan volume suspensi (50 dan 100 µl); pengamatan ekspresi transien gen reporter *GFP* pada daun; serta deteksi kandidat transforman secara molekuler. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi transien gen *GFP* dapat terdeteksi sejak hari ke-1 setelah injeksi, dengan efisiensi transformasi sebesar 100% di seluruh perlakuan. Kombinasi perlakuan volume suspensi 100 µl tanpa AS di semua densitas bakteri menghasilkan intensitas pendaran tertinggi 1,269 (a.u.) pada OD₆₀₀ 0,5 dan 1,229 (a.u.) pada OD₆₀₀ 0,8. Deteksi cepat keberhasilan transformasi genetik dapat dilakukan dengan mudah dan efisien, sehingga berpotensi menjadi platform yang menjanjikan bagi studi fungsi gen dan pengembangan bioteknologi berorientasi konservasi pada berbagai jenis anggrek langka.

Kata kunci: *Agrobacterium tumefaciens*, Agroinfiltrasi, *GFP*, *Paphiopedilum primulinum*, Transformasi

AGROINFILTRATION-MEDIATED GENETIC TRANSFORMATION FOR
TRANSIENT EXPRESSION OF *GREEN FLUORESCENT PROTEIN*
IN THE RARE SUMATRAN ORCHID
Paphiopedilum primulinum M. W. Wood & P. Taylor

Ahmad Yudis Mahardhika
22/508319/PBI/01880

ABSTRACT

Paphiopedilum primulinum M. W. Wood & P. Taylor is a Critically Endangered (CR) endemic orchid of Sumatra, Indonesia. Modern biotechnological approaches, including genetic transformation, are necessary to enhance the effectiveness and efficiency of clonal propagation for *P. primulinum* conservation. Agroinfiltration is an efficient method for gene transfer and enables rapid transient gene expression. Although it has been widely applied under *in vitro* and *ex vitro*, its application in *P. primulinum* has not been reported.

The objectives of this research were to determine the time required for T-DNA detection in transformant; determine the transformation efficiency; and demonstrate that agroinfiltration using *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 carrying the pRI 101-AN plasmid with the T-DNA construct P35S::*GFP*::Tnos–Pnos::*NPTII*::Tnos is a reliable and efficient method for rapid detection of successful T-DNA transfer in *P. primulinum*. The research examined testing the purity of *A. tumefaciens*; nodal injection of bacterial suspension under various bacterial density (OD₆₀₀ 0.5 and 0.8), *Acetosyringone* (AS) (0 and 200 μM), and suspension volume (50 and 100 μl); followed by observation of transient *GFP* reporter gene expression in leaf tissues and molecular detection of transformant candidates. Transient *GFP* gene expression was clearly observed from day 1 post-injection, with 100% transformation efficiency across all treatments. The combination of a 100 μl suspension volume without AS at all bacterial densities resulted in the highest fluorescence intensities, reaching 1.269 (a.u.) at OD₆₀₀ 0.5 and 1.229 (a.u.) at OD₆₀₀ 0.8. These results demonstrate a rapid and efficient approach for functional gene analysis and conservation-oriented biotechnology in rare orchids.

Keywords: *Agrobacterium tumefaciens*, Agroinfiltration, *GFP*, *Paphiopedilum primulinum*, Transformation