UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Perbandingan Efisiensi Transformasi Genetik antara Metode In Vitro dan Floral Dip pada Tembakau (Nicotiana tabacum L.)
Paullina Garda Nita, Widhi Dyah Sawitri, S.Si., M.Agr., Ph.D.; Prof. Dr. Ir. Aziz Purwantoro, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

PERBANDINGAN EFISIENSI TRANSFORMASI GENETIK ANTARA METODE *IN VITRO* DAN *FLORAL DIP* PADA TANAMAN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.)

INTISARI

Tanaman tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) merupakan tanaman yang umumnya digunakan untuk *plant molecular farming* (PMF). Namun rendahnya efisiensi transformasi genetik masih menjadi kendala teknis dalam pengembangan PMF di Indonesia. Metode *in vitro* menggunakan eksplan nodus yang diinfeksi dengan *Agrobacterium tumefaciens* pembawa vektor biner pRI101AN-GFP, dilanjutkan dengan tahap ko-kultivasi, resting, dan seleksi bertahap pada media antibiotik hingga diperoleh tanaman transforman. Sementara itu, metode *floral dip* dilakukan secara *in planta* dengan mencelupkan kuncup bunga ke dalam suspensi bakteri yang telah ditambahkan 5% sukrosa dan 0,1% surfaktan Silwet L-77 selama 30 detik. Benih generasi T_1 yang dihasilkan kemudian diseleksi menggunakan metode spray yang mengandung antibiotik kanamisin. Dilanjutkan uji visual fluoresensi hijau di bawah lampu UV, serta konfirmasi molekuler menggunakan PCR dengan penanda GFP (736 bp) dan *npt*II (800 bp). Hasil pendaran GFP antara metode *in vitro* dan *floral dip* berbeda, *in vitro* menghasilkan pendaran hijau terang berpendar di semua jaringan daun sedangkan *floral dip* menghasilkan pendaran bercak tidak merata di jaringan daun. Hasil deteksi molekuler menunjukkan efisiensi transformasi metode *in vitro* sebesar 100% untuk kedua penanda, sedangkan metode *floral dip* hanya 6,67%. Hasil ini membuktikan bahwa metode *in vitro* lebih efektif dalam menghasilkan transformasi genetik daripada metode *floral dip*. Oleh karenanya, dalam pengembangan transformasi genetik *stable expression* di tembakau direkomendasikan untuk menggunakan metode *in vitro*.

Kata Kunci: *Agrobacterium tumefaciens*; *floral dip*; *in vitro*; pRI101AN-GFP; tembakau; transformasi genetik

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Perbandingan Efisiensi Transformasi Genetik antara Metode In Vitro dan Floral Dip pada Tembakau (Nicotiana tabacum L.)
Paullina Garda Nita, Widhi Dyah Sawitri, S.Si., M.Agr., Ph.D.; Prof. Dr. Ir. Aziz Purwantoro, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

COMPARING IN VITRO AND FLORAL DIP GENETIC TRANSFORMATION EFFICIENCIES IN TOBACCO (*Nicotiana tabacum* L.)

ABSTRACT

Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) is a plant commonly used for *plant molecular farming* (PMF). However, low genetic transformation efficiency remains a technical challenge for PMF development in Indonesia. The *in vitro* method utilized nodal explants infected with *Agrobacterium tumefaciens* carrying the binary vector pRI101AN-GFP, followed by co-cultivation, resting, and stepwise selection on antibiotic-containing media until transformed plants were obtained. Meanwhile, the *floral dip* method was performed *in planta* by immersing flower buds for 30 seconds in a bacterial suspension supplemented with 5% sucrose and 0.1% Silwet L-77 surfactant. The resulting T1 generation seeds were screened using a spray method containing the antibiotic kanamycin. This was followed by visual assessment of green fluorescence under UV light and molecular confirmation via PCR using GFP (736 bp) and *nptII* (800 bp) markers. GFP fluorescence patterns differed between the two methods: the *in vitro* method produced bright green fluorescence across all leaf tissues, whereas the floral dip method resulted in uneven, patchy fluorescence within the leaf tissues. Molecular detection results indicated a transformation efficiency of 100% for both markers using the *in vitro* method, compared to only 6.67% for the *floral dip* method. These results demonstrate that the *in vitro* method is more effective than the *floral dip* method for achieving genetic transformation. Therefore, the *in vitro* method is recommended for developing stable genetic transformation in tobacco.

Keywords: *Agrobacterium tumefaciens; floral dip; in vitro* ; pRI101AN-GFP; tobacco; genetic transformation