

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Jamblang merupakan salah satu tumbuhan tropis yang termasuk dalam suku Myrtaceae. Jamblang memiliki potensi sebagai tanaman obat untuk berbagai penyakit. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa jamblang memiliki berbagai efek farmakologis contohnya sebagai anti-diabetes dan antioksidan. Potensi jamblang sebagai tumbuhan obat disebabkan oleh adanya kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, resin, alkaloid, dan minyak atsiri (Hidayah dkk., 2021; Kumawat dkk., 2018). Namun, potensi tersebut belum dapat dimanfaatkan secara optimal karena produktivitas tanaman jamblang masih rendah.

Fase pembungaan sangat penting bagi tumbuhan berbuah karena merupakan proses penting yang menandai mulainya produksi buah dan menentukan kelangsungan reproduksi (Pereira dkk., 2023). Jamblang hanya dapat berbunga setelah berumur 4 - 5 tahun pada periode tertentu, dan sangat tergantung pada kondisi lingkungan di sekitarnya (Swaminathan dan Kochhar, 2019). Tumbuhan jamblang menghasilkan buah jamblang dalam jumlah sedikit dengan frekuensi berbuah sekali dalam setahun serta memiliki waktu penyimpanan yang singkat (Kishore, 2019; Mulyana dkk., 2019).

Ketersediaan buah jamblang hanya sedikit dalam periode tertentu setelah fase pembungaan, ditambah kecenderungan curah hujan tinggi pada penanaman konvensional (*ex-vitro*) dapat merusak kualitas buah jamblang (Patil dkk., 2012). Oleh karena itu, diperlukan budidaya *in vitro* jamblang

untuk mempercepat proses pembungaan tumbuhan jamblang sehingga dapat meningkatkan produksi buah jamblang. Permasalahan tersebut membutuhkan suatu teknologi untuk mempercepat proses pembungaan pada tanaman jamblang yaitu salah satunya dengan teknologi transformasi genetik.

Transformasi genetik pada tanaman merupakan kegiatan penyisipan gen target pada T-DNA bakteri yang telah direkayasa ke dalam genom tanaman target untuk memperoleh tanaman transgenik dengan sifat unggul. Transformasi genetik dapat menggunakan bakteri *Agrobacterium tumefaciens* sebagai perantara gen asing untuk masuk ke dalam gen tanaman (Dwiyani, dkk., 2016; Liu dkk., 2024). Transformasi genetik pada tanaman dengan perantara *A. tumefaciens* membutuhkan target transformasi berupa kalus embriogenik dengan tingkat regenerasi tinggi yang selanjutnya akan menjadi target inokulasi *A. tumefaciens* (Azizi dkk., 2023; Dwiyani, 2013).

Kalus embriogenik merupakan sekumpulan kalus yang memiliki kemampuan pembelahan sel yang kuat hingga dapat berdiferensiasi menjadi embrio somatik (Azizi dkk., 2023). Kalus embriogenik dapat dibagi menjadi tiga jenis berdasarkan teksturnya yakni kompak, intermediet, dan remah. Kalus intermediet merupakan kalus yang terdiri dari kumpulan sel dengan tekstur sebagian kompak dan remah. Kalus embriogenik dipilih sebagai target transformasi karena laju pembelahan selnya masih tinggi sehingga dapat beregenerasi dan dapat memperoleh tanaman transgenik dalam jumlah besar (Mendonça dkk., 2013; Rasud dan Bustaman, 2020).

Gen *Heading date 3a* (*Hd3a*) adalah suatu gen yang berperan dalam proses pembungaan dan dapat ditemui secara alami pada tanaman padi. Peran gen *Hd3a* dalam mempercepat pembungaan telah dibuktikan pada Penelitian Li dkk. (2011) dengan meningkatnya kecepatan pembungaan pada tanaman transgenik *Saussurea involucrate* bila dibandingkan dengan *wild type*-nya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai transformasi genetik *Hd3a* terhadap kalus embriogenik jambang dengan harapan dapat mempercepat proses pembungaan untuk pembentukan buah jambang.

Keberhasilan transformasi genetik dengan perantara *A. tumefaciens* dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya waktu infeksi dan konsentrasi higromisin. Tahap infeksi merupakan tahapan penting dalam transformasi genetik karena terjadi proses transfer gen yang telah disisipkan pada plasmid bakteri ke dalam genom tanaman target (Dwiyani dkk., 2016; (Liu dkk., 2024). Waktu infeksi yang terlalu singkat menurunkan frekuensi transformasi, sedangkan infeksi yang terlalu lama menyebabkan *overgrowth* *A. tumefaciens* dan menjadi kontaminan (Qianru dkk., 2017).

Waktu infeksi yang tepat perlu diketahui dalam transformasi genetik yang dimediasi *A. tumefaciens* karena durasi infeksi bakteri pada target transformasi dapat berdampak signifikan terhadap keberhasilan transformasi. Waktu infeksi yang tepat dapat menyeimbangkan transfer DNA yang efektif dengan toksisitas minimal terhadap sel tanaman (Li dkk., 2022). Penelitian Mishra dkk. (2014) melakukan transformasi genetik endokitinase dengan optimasi waktu infeksi terhadap tunas apikal *Psidium guajava* L.

menghasilkan frekuensi transformasi tertinggi pada perlakuan waktu infeksi 45 menit dengan kokultivasi selama 72 jam dalam keadaan gelap.

Tahap seleksi merupakan suatu tahapan penting dalam transformasi genetik sebagai tahap awal seleksi kandidat transgenik menggunakan antibiotik tertentu sesuai dengan *selectable marker* yang digunakan. Higromisin digunakan dalam proses seleksi karena gen target yang digunakan mengandung *Hygromycin Phosphotransferase (HPT)* (Dwiyani dkk., 2016; Hansen dan Wright, 1999). Konsentrasi higromisin sangat berpengaruh pada tahap seleksi karena konsentrasi yang terlalu rendah menyebabkan tidak mempunya higromisin dalam menyeleksi kandidat transgenik dan konsentrasi yang terlalu tinggi mematikan kandidat transgenik (Rizania dkk., 2015; Súnico dkk., 2024). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terkait dengan konsentrasi higromisin yang tepat untuk seleksi transforman.

Penelitian Ouyang dan Li (2016) melakukan transformasi genetik *aiiA* (resistensi penyakit) pada tanaman *Eucalyptus camaldulensis* dengan hasil konsentrasi antibiotik higromisin pada seleksi tunas adventif transgenik sebesar 9 ppm dan pemilihan perakaran transgenik sebesar 15 ppm pada tanaman. Penelitian Mursyanti (2017) melakukan transformasi genetik *AtRKD4* pada protokorm tanaman anggrek *Phalaeopsis* “Sogo Vivien” menghasilkan 10 ppm sebagai konsentrasi higromisin terbaik. Penelitian Gea dkk. (2017) telah melakukan transformasi genetik *Hd3a* pada kalus kentang kultivar IPB CP1. Berdasarkan kajian pustaka, menunjukkan bahwa transformasi genetik *Hd3a* pada tanaman jambang belum pernah dilakukan.

Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh waktu infeksi *A. tumefaciens* terhadap kalus embriogenik jambang dan pengaruh konsentrasi higromisin pada tahap seleksi.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Bagaimana morfologi dan anatomi kalus embriogenik jambang sebagai target transformasi?
2. Berapakah waktu infeksi *A. tumefaciens* EHA105 yang paling tepat untuk menghasilkan frekuensi transformasi yang paling tinggi pada kalus embriogenik jambang?
3. Berapakah konsentrasi higromisin yang paling tepat untuk menghasilkan frekuensi transformasi yang paling tinggi pada kalus embriogenik jambang?

## **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui morfologi dan anatomi kalus embriogenik jambang sebagai target transformasi.
2. Mengetahui waktu infeksi *A. tumefaciens* yang paling tepat untuk menghasilkan frekuensi transformasi yang paling tinggi pada kalus embriogenik jambang.
3. Mengetahui konsentrasi higromisin yang paling tepat untuk menghasilkan frekuensi transformasi yang paling tinggi pada kalus embriogenik jambang.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai penyisipan gen *Hd3a* untuk mempercepat pembungaan pada tanaman jambang. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi terkait dengan protokol transformasi genetik tanaman jambang dengan perantara *A. tumefaciens*. Penelitian ini diharapkan juga dapat digunakan sebagai acuan bagi peneliti lain yang tertarik dalam mengembangkan penelitian genetik khususnya pada tanaman jambang.

