

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Tanaman jamblang (*Syzygium cumini*) merupakan tanaman dari famili *Myrtaceace* yang berasal dari Subkontigen India, Semenanjung Melayu dan Indonesia (Asif dkk., 2013). Jamblang atau juga dikenal dengan *java plum* memiliki daun tunggal berbentuk bulat telur atau memanjang, dengan bagian pangkal berbentuk taji, bagian tepi daun rata, pertulangan daun menyirip serta permukaan daun yang mengkilap berwarna hijau. Bagian daun dari tanaman jamblang banyak dimanfaatkan dalam penanganan medis tradisional (Silalahi, 2018).

Daun jamblang memiliki kandungan flavonoid yang tinggi, terutama flavonoid turunan kuersetin dan mirsetin. Selain itu bagian daun dari jamblang mengandung fenol sederhana seperti asam ferulat dan asam galat. Minyak atsiri yang dihasilkan dari daun jamblang mengandung terpen, pinoarvon serta tanin yang terhidrolisis. Daun jamblang memiliki kandungan kuersetin yang dapat berfungsi sebagai anti hiperglikemik dan juga dapat digunakan dalam pengobatan karena memiliki sifat anti inflamatori dan antioksidan (Malik dkk., 2017)

Perbanyakan tanaman jamblang secara konvensional dapat dilakukan melalui biji, namun penyediaan bibit tanaman jamblang melalui biji memiliki beberapa kekurangan. Perbanyakan tanaman jamblang melalui biji terhambat karena waktu germinasi dari biji tanaman jamblang yang cukup lama yaitu sekitar 3-4 minggu setelah disemai. Selain itu, dapat terjadi kontaminasi berupa

jamur yang terjadi pada masa semai dari biji jambalang sehingga dapat menghambat pertumbuhan kecambah (Mudiana, 2006).

Tanaman memiliki keterbatasan dalam produksi batang, akar, dan daun terutama dalam waktu yang singkat, sehingga sumber daya alam yang dihasilkan tidak didapat secara maksimal. Keterbatasan tersebut dapat diatasi dengan meningkatkan sifat unggul tanaman, contohnya secara konvensional dapat dilakukan dengan persilangan tanaman. Persilangan tanaman umumnya memerlukan waktu yang lama oleh karena adanya siklus kehidupan tanaman yang lama sehingga digunakan alternatif lain yaitu dengan memodifikasi tanaman secara genetika.

Rekayasa secara genetika merupakan salah satu metode alternatif yang dapat digunakan dalam meningkatkan sifat unggul tanaman dibandingkan dengan penyiilangan tanaman secara konvensional. Improvisasi genetik tanaman terutama secara konvensional dalam meningkatkan keunggulan sifat tanaman yang memiliki waktu yang lama serta ketidakpastian terhadap sifat genetik yang dihasilkan. Transformasi genetik dengan perantara *Agrobacterium tumefaciens* dapat menjadi salah satu solusi alternatif dalam rekayasa genetik tanaman. Transformasi genetik dapat menggabungkan sifat-sifat spesifik baru menjadi genotip yang diinginkan (Aggarwal *dkk.*, 2011). Rekayasa genetik pada tanaman dapat menghasilkan tanaman dengan karakter baru sesuai dengan yang diharapkan serta meningkatkan potensi dari genetik tanaman (Darmawan, 2017). Dalam melakukan budidaya tanaman diperlukan bibit unggul yang memiliki sifat-sifat penting seperti kemampuan pertumbuhan yang cepat, ketahanan

terhadap penyakit, kandungan metabolit sekunder yang tinggi, serta toleran terhadap cekaman. Penyediaan bibit dengan karakteristik seperti waktu imbibisi yang singkat, pertumbuhan yang lambat, dan produksi metabolit sekunder tidak bisa didapatkan melalui teknik konvensional. Rekayasa genetik menjadi solusi dalam mendapatkan bibit tanaman dengan keunggulan yang diharapkan (Handayani, 2013).

Transformasi genetik merupakan metode rekayasa genetik yang dilakukan dengan penyisipan sekuens gen tertentu sehingga dapat dihasilkan sifat tertentu yang diinginkan. Transformasi genetik dapat dilakukan melalui berbagai cara, salah satunya dengan perantara *Agrobacterium tumefaciens* (Mulyaningsih dkk., 2017). *A. tumefaciens* umum digunakan dalam transfer gen karena memiliki beberapa keuntungan antara lain, biaya murah, mudah untuk dilakukan serta memiliki kemampuan secara alami dalam mentransfer gen asing genom tanaman (Mursyanti, 2017). Target transformasi yang dapat digunakan dalam transformasi genetik dengan perantara *A. tumefaciens* adalah sel atau jaringan tanaman (Budaya dkk., 2022). Target transformasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kalus embrionik daun jambang.

AtRKD4 merupakan gen yang mengekspresikan faktor awal pertumbuhan tumbuhan, promotor dari perkembangan zigot, menginduksi proliferasi sel tanaman, dan menginduksi embriogenesis somatik (Perdana dkk., 2021). Transformasi genetik menggunakan perantara *A. tumefaciens* dapat dipengaruhi beberapa faktor antara lain, densitas optik (OD) dari kultur *A. tumefaciens* dan konsentrasi dari senyawa asetosiringon untuk invasi bakteri ke

sel tanaman (Niazian dkk., 2017). Densitas optik (OD_{600}) menunjukkan kerapatan kultur sel bakteri melalui absorbansi menggunakan spektrofotometri (Seniati dkk., 2019). Nilai OD_{600} mempengaruhi banyaknya bakteri yang dapat melakukan infeksi pada proses transformasi sehingga diperlukan optimasi terhadap nilai OD_{600} untuk mendapatkan transformasi genetik yang optimal (Jyothishwaran dkk., 2007).

Asetosiringon merupakan senyawa fenolik yang berperan dalam menginduksi gen virulensi yang dibawa oleh Ti-plasmid (Glick dkk., 2010). Senyawa asetosiringon berfungsi untuk menginduksi terjadinya invasi bakteri *Agrobacterium* ke sel tanaman, oleh karena itu, konsentrasi asetosiringon dapat mempengaruhi terjadinya transformasi genetik (Budaya dkk., 2022). Konsentrasi asetosiringon yang efektif dapat berbeda, bergantung pada tanaman yang digunakan (Sisharmini dkk., 2019), oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh konsentrasi asetosiringon yang digunakan dalam transformasi genetik kalus embrionik daun jamblang.

A. tumefaciens yang digunakan dalam transformasi genetik membawa gen tertentu yang ditransformasi ke dalam tanaman. Gen yang dibawa oleh *A. tumefaciens* dalam penelitian ini dalam *AtRKD4*. *AtRKD4* berfungsi dalam menginduksi terbentuknya embrio somatik (Zulwanis dkk., 2020).

Gen *AtRKD4* merupakan gen yang mengkode RWP-RK motif-yang mengandung 4 gen domain faktor transkripsi putatif gen 4 (*RKD4*). *RKD4* sangat berpotensi dalam menginduksi embrio somatik karena memiliki gen spesifik dalam pembentukan embrio yang lebih awal (Puspitasari dkk., 2020). Penyisipan

AtRKD4 pada kalus embrionik daun jamblang dapat dilakukan untuk mendapatkan calon bibit yang kemudian dapat digunakan dalam *syntetic seed*.

Penelitian mengenai kalus daun jamblang yang pernah dilakukan selama ini hanya membahas mengenai mikropropagasi eksplan daun jamblang dan optimasi hormon dalam pembentukan kalus eksplan daun jamblang. Penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan oleh Jejurker dkk. (2016), yaitu melakukan mikropropagasi kalus dari eksplan daun jamblang. Berdasarkan penelitian tersebut dapat diketahui bahwa mikropropagasi tanaman jamblang memerlukan medium basal dengan penambahan kombinasi hormon auksin dan sitokinin. de França Bettencourt dkk. (2020), telah meneliti transformasi genetik dengan perantara *A. tumefaciens* pada tanaman dengan genus *Myrtaceae*, pada spesies *Eucalyptus urophylla*. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa transformasi genetik *BRS07-01* menggunakan *A. tumefaciens* dapat berhasil dengan menggunakan konsentrasi asetosiringon 50 mg/L.

Pengaruh variasi OD₆₀₀ pada transformasi genetik *AtRKD4* dengan perantara *Agrobacterium* telah diteliti sebelumnya oleh Li dkk. (2022), yang dilakukan pada kalus embrionik *Liriodendron hybrid*. Penelitian tersebut menunjukkan adanya penggunaan variasi nilai OD₆₀₀ 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0 yang menunjukkan nilai optimum pada nilai OD₆₀₀ 0,6. Jha dkk. (2011) telah meneliti mengenai pengaruh variasi konsentrasi asetosiringon pada transformasi genetik dengan perantara *A. tumefaciens* pada pucuk tanaman *Pennostum glaucum*, dengan variasi konsentrasi asetosiringon antara lain, 0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm yang menunjukan adanya peningkatan formasi pucuk pada

variasi konsentrasi 20 ppm hingga 80 ppm. Belum terdapat penelitian yang membahas mengenai pengaruh densitas optik kultur *A. tumefaciens* dan variasi konsentrasi asetosiringon terhadap transformasi *AtRKD4* pada kalus embrionik jambang secara spesifik. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan mengamati struktur morfologi kalus embrionik daun jambang sebelum ataupun sesudah transformasi *AtRKD4*. Selanjutnya dilakukan transformasi *AtRKD4* dengan perantara *A. tumefaciens* pada kalus embrionik daun jambang dengan variasi densitas optik kultur *A. tumefaciens* (OD₆₀₀) sebesar 0,6; 0,8 dan 1,0 serta variasi konsentrasi asetosiringon sebesar 25 mg/L, 50 mg/L dan 75 mg/L.

B. Perumusan Masalah

1. Bagaimana morfologi dan struktur anatomi kalus embrionik daun jambang sebagai target transformasi *AtRrKD4*?
2. Berapa densitas optik kultur *A. tumefaciens* yang menghasilkan frekuensi transformasi *AtRKD4* pada kalus embrionik daun jambang tertinggi?
3. Berapa konsentrasi asetosiringon yang menghasilkan frekuensi transformasi *AtRKD4* pada kalus embrionik daun jambang tertinggi?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui morfologi dan struktur anatomi kalus embrionik daun jambang sebagai target transformasi *AtRKD4*.
2. Mengetahui densitas optik kultur *A. tumefaciens* yang menghasilkan frekuensi transformasi *AtRKD4* pada kalus embrionik daun jambang tertinggi.
3. Mengetahui konsentrasi asetosiringon yang menghasilkan frekuensi transformasi *AtRKD4* pada kalus embrionik daun jambang tertinggi.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk menambah data bagi mahasiswa dan peneliti mengenai morfologi dan struktur anatomi kalus embrionik daun jambang setelah transformasi genetik *AtRKD4*, pengaruh konsentrasi asetosiringon terhadap transformasi genetik *AtRKD4* pada kalus embrionik daun jambang serta pengaruh densitas optik kultur *A. tumefaciens* terhadap transformasi genetik *AtRKD4* pada kalus embrionik daun jambang. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan dalam transformasi genetik kalus jambang dengan perlakuan terbaik dan dapat digunakan dalam penelitian yang lebih lanjut.