

Transformasi Genetik Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Varietas IPB CP2 dengan Gen *OsGERLP*

Genetic Transformation of Potato (*Solanum tuberosum* L.) IPB CP2 Variety with *OsGERLP* Gene

EKA NURHASANAH¹, ARIS TJAHJOLEKSONO^{2,3}, M. MIFTAHUDIN^{2,3*}

¹Program Studi Biologi Tumbuhan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

²Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

³Pusat Bioteknologi, Lembaga Riset Internasional untuk Teknologi Maju, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 6 Agustus 2025/Diterima dalam Bentuk Revisi 18 Agustus 2025/Disetujui 1 September 2025

High dissolved aluminum (Al) content in acidic soil can inhibit root elongation, especially in plants sensitive to Al. The *OsGERLP* gene is known to be an Al tolerance gene in rice, but the role of this gene in other plants is not yet known. Introduction of the *OsGERLP* gene through *Agrobacterium tumefaciens* mediation has been conducted and resulted in putative transgenic plants with transformation and regeneration efficiency of 72.62% and 17.24% respectively using leaf explants and 71.3% and 87.65% using internode explants. Transgene integration analysis in transgenic plants has been performed showing that all transgenic clones contain the *OsGERLP* gene under the control of the 35SCaMV promoter, indicated by the formation of 1500 bp amplicons. Transgenic plant clones have been tested for Al stress using liquid MS medium with different media and pH combinations. In vitro testing showed that transgenic plant clones have higher tolerance compared to non-transgenic plants. Morphological analysis on Al stressed media showed that transgenic plant clones performed better in all parameters including plant height, total root length, number of roots, shoot and root fresh weight, shoot and root dry weight.

Key words: genetic transformation, *OsGERLP* gene, Al stress, potato IPB CP2 variety, *Agrobacterium tumefaciens*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki lahan masam seluas 76,64% dari luas total lahan 191,093,132 ha yang mendominasi ekosistem di Indonesia meliputi ekosistem rawa, basah non rawa, dan kering (Ritung *et al.* 2014). Ketersediaan lahan masam lebih luas dibandingkan lahan subur lainnya, sehingga perlu adanya pengembangan potensi lahan masam agar bisa dimanfaatkan menjadi lahan pertanian yang berkelanjutan. Tanah masam dengan pH dibawah 5 memiliki kandungan aluminium (Al) terlarut yang tinggi dan memicu fitotoksik bagi tanaman dengan menghambat pertumbuhan dan fungsi akar sehingga menurunkan produktivitas tanaman (Kochian *et al.* 2015). Akumulasi Al pada tanaman dapat menghambat pemanjangan akar dengan menekan pembelahan sel dan menghancurkan struktur sel,

penurunan penyerapan unsur hara dan air, induksi stress oksidatif (ROS), dan akumulasi aluminium pada dinding sel (He *et al.* 2019). Akumulasi Al pada 1 mm zona ujung akar menyebabkan penghambatan pertumbuhan akar (Miftahudin *et al.* 2021).

Penelitian sebelumnya telah menemukan *Oryza sativa* Gene Encoding Ribosomal like L32 Protein (*OsGERLP*) yang berasal dari padi lokal Hawara Bunar sebagai pengatur gen toleransi Al dan berpotensi untuk pengembangan tanaman toleran Al. Gen ini telah diuji pada tanaman padi dan tembakau yang menunjukkan hasil bahwa tanaman transgenik dari kedua tanaman tersebut yang mengekspresikan gen *OsGERLP* secara berlebih menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dan toleran terhadap tanah masam dan cekaman Al (Miftahudin *et al.* 2021). Akan tetapi sejauh ini belum diketahui apakah gen tersebut dapat berperan dalam toleransi Al di tanaman lainnya, termasuk tanaman kentang.

Tanaman kentang merupakan salah satu komoditas pangan sumber karbohidrat utama dunia

*Penulis Korespondensi:
E-mail: miftahudin@apps.ipb.ac.id

setelah padi, gandum dan jagung. Produktivitas umbi kentang sangat dipengaruhi langsung oleh sifat tanah, termasuk keasaman tanah. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mendapatkan tanaman kentang toleran terhadap cekaman Al adalah dengan melakukan rekayasa genetik gen *OsGERLP*. Rekayasa genetik menjadi pendekatan alternatif untuk memperbaiki karakter tanaman dengan mengintroduksi gen ke dalam sel tanaman melalui mediasi bakteri *Agrobacterium tumefaciens* yang telah membawa gen yang diinginkan. Transformasi genetik yang dimediasi *A. tumefaciens* telah banyak berhasil dilakukan pada banyak tanaman penting, namun belum ada laporan mengenai transformasi genetik pada tanaman kentang menggunakan gen *OsGERLP* yang dimediasi oleh *Agrobacterium tumefaciens*. Pengkajian lebih lanjut diperlukan untuk mengidentifikasi keberhasilan introduksi gen dan mendapatkan tanaman dengan sifat toleran tanah masam dan cekaman Al. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan rekayasa genetik tanaman kentang varietas IPB CP2 yang diintroduksi gen *OsGERLP* melalui bantuan bakteri *A. tumefaciens*. Kentang varietas IPB CP2 adalah salah satu varietas kentang industri (french fries) yang dikembangkan oleh Pusat Bioteknologi IPB. Diharapkan tanaman transgenik yang dihasilkan akan dapat digunakan dalam pengembangan varietas baru tanaman kentang yang bisa beradaptasi terhadap lahan-lahan marginal seperti tanah masam berkadar Al tinggi.

BAHAN DAN METODE

Lokasi Penelitian dan Bahan Tanaman.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2023-Maret 2025. Peremajaan kultur bakteri dan analisis integritas DNA dan integrasi gen dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Genetika Tumbuhan, Departemen Biologi, dan multiplikasi tanaman serta transformasi genetik tanaman kentang dilakukan di Laboratorium Rekayasa Sel dan Jaringan Tanaman, Pusat Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. Bahan tanaman yang digunakan adalah planlet tanaman kentang IPB CP2 yang telah tersedia dalam botol kultur di laboratorium.

Multiplikasi Tanaman Kentang secara *In Vitro* dan Peremajaan Bakteri. Multiplikasi tanaman kentang dilakukan dengan penyetekan buku tunggal, kemudian ditumbuhkan pada media MS (Murashige dan Skoog 1962) selama 4 minggu, selanjutnya dilakukan subkultur secara berkala. Persiapan bakteri *A. tumefaciens* yang membawa plasmid pH35YG-*OsGERLP* diremajakan pada media Luria Bertani (LB) dengan antibiotik higromisin 50 mg/L, kanamisin 50 mg/L, dan streptomisin 100 mg/L pada suhu ruang

selama 24 jam pada kondisi gelap. Suspensi *A. tumefaciens* disentrifugasi dengan kecepatan 10,000 rpm selama 10 menit. Endapan bakteri yang diperoleh diresuspensi dengan media infeksi (co-cultivation) hingga OD₆₀₀ mencapai 0,4-0,6.

Transformasi Genetik dengan Mediasi Bakteri *Agrobacterium tumefaciens*. Daun dan ruas batang tanpa mata tunas berukuran 0,5-1 cm ditumbuhkan pada media pre culture (MS + zeatin 0,8 mg/L + 2,4-D 2 mg/L) selama dua hari. Kemudian eksplan direndam dalam media infeksi (co-cultivation) dengan komposisi sama dengan media pre culture dengan penambahan asetosiringon 40 mg/L yang mengandung suspensi bakteri *A. tumefaciens* yang membawa gen *OsGERLP*, dan di-shaker selama 15-20 menit, selanjutnya dikeringanginkan pada kertas saring steril. Eksplan kemudian ditanam pada media co-cultivation padat yang mengandung asetosiringon 20 mg/L selama 2-3 hari dalam ruang gelap. Eksplan dicuci dengan akuades steril dan larutan antibiotik cefotaxime 100 mg/L sebanyak tiga kali kemudian ditanam pada media induksi kalus selama 10-14 hari pada kondisi gelap suhu $\pm 24^{\circ}\text{C}$. Kalus yang tumbuh dipindahkan pada media seleksi yang mengandung higromisin 10 mg/L. Kalus disubkultur setiap dua minggu pada media seleksi hingga membentuk tunas dan selanjutnya ditumbuhkan pada media pembesaran MS dengan higromisin 10 mg/L. Efisiensi transformasi dan efisiensi regenerasi tanaman dihitung dengan persamaan Sahoo *et al.* (2011) sebagai berikut:

$$\text{Efisiensi transformasi} = \frac{\text{Jumlah kalus resisten higromisin}}{\text{Jumlah total kalus yang terbentuk}} \times 100$$

$$\text{Efisiensi regenerasi} = \frac{\text{Jumlah kalus beregenerasi}}{\text{Jumlah kalus resisten higromisin}} \times 100$$

Analisis Integritas DNA dan Integrasi Gen *OsGERLP*. Analisis integritas DNA dan integrasi gen *OsGERLP* pada genom tanaman putatif transgenik dilakukan melalui tahapan isolasi DNA dan amplifikasi DNA dengan teknik PCR. Isolasi DNA tanaman mengikuti metode Suharsono (2002) yang dimodifikasi dengan menggunakan buffer CTAB yang mengandung PVP 2%. DNA hasil isolasi dilarutkan dengan 15-20 μL nuclease free water (NFW) kemudian ditambahkan RNA 1 mg/ml sebanyak 0,1x volume dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10-15 menit serta dilanjutkan pengukuran DNA secara kuantitatif menggunakan MaestroNano Spectrophotometer (MaestroGen MN-913A, Taiwan) pada panjang gelombang 260

nm dan 280 nm. Kualitas DNA diamati dengan gel elektroforesis agarosa 1% dalam penyangga 1x TAE pada 100 volt selama 28 menit.

Amplifikasi DNA dengan teknik PCR dilakukan terhadap DNA dari tanaman putatif transgenik dan tanaman non-transgenik. Analisis integrasi DNA menggunakan primer aktin sebagai kontrol internal PCR Act-F (forward: 5'-ACA TCG TCC TTA GTG GTG GA-3') dan Act-R (reverse: 5'-GTG GAC AAT GGAAGG ACC AG-3'), sedangkan analisis integrasi gen *OsGERLP* dalam genom tanaman transgenik menggunakan primer spesifik dari promotor 35S dan bagian dari transgen *OsGERLP*, yaitu primer 35S-F (forward: 5'-AAA CCT CCT CGG ATT CCA TT-3') dan *OsGERLP_ORF-R* (reverse: 5'-TTA TGA GCT TGA GTC CCG GGT TCC CT-3'). Reaksi PCR terdiri dari 1 µL DNA (100 ng/µL), 6,25 µL Master mix (2x), 0,5 µL masing-masing primer (10 µM) dan NFW sehingga mencapai volume final 12,5 µL. PCR dilakukan dengan tahapan pra-denaturasi (suhu 95°C selama 5 menit), diikuti 35 siklus denaturasi (suhu 95°C selama 30 detik), annealing (suhu 57°C selama 30 detik), extension (suhu 72°C selama 1 menit 30 detik), kemudian diakhiri dengan tahap post extension (suhu 72°C selama 10 menit). Hasil PCR kemudian di elektroforesis pada gel agarose 1,5% dalam penyangga TAE 1x pada voltase 70 volt selama 60 menit, selanjutnya hasil elektroforesis divisualisasi dengan UV transilluminator.

Pengujian Toleransi Tanaman Transgenik terhadap Cekaman Aluminium. Pengujian toleransi tanaman kentang terhadap cekaman Al dilakukan secara in vitro menggunakan percobaan dua faktor perlakuan dengan 3 ulangan. Percobaan faktorial menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor pertama adalah tanaman kentang yang terdiri dari 5 genotipe, yaitu satu klon tanaman non-transgenik IPB CP2 dan empat klon tanaman putatif transgenik. Faktor kedua adalah tiga jenis media tumbuh, yaitu media MS pH 4, media MS pH 4 + Al 1,5 mM, dan media MS pH 5,8. Uji toleransi cekaman Al dilakukan dengan menanam eksplan berupa stek batang berukuran 1-2 cm dengan satu mata tunas ditanam pada botol jar berisi media MS cair dengan volume 20 ml. Perlakuan cekaman Al dilakukan dengan pemberian Al^{3+} dalam bentuk $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ setelah autoklaf. Pengamatan dilakukan pada 4 minggu setelah tanam (MST) dengan mempertahankan pH setiap minggu melalui penambahan HCl atau KOH 100 mM sesuai pH perlakuan. Pengamatan morfologi meliputi tinggi tanaman, panjang akar total, jumlah akar, berat segar tajuk, berat kering tajuk, berat segar akar dan berat kering akar. Parameter morfologi diukur menggunakan software Fiji-ImageJ dengan

plugin SmartRoot untuk mengukur panjang akar total.

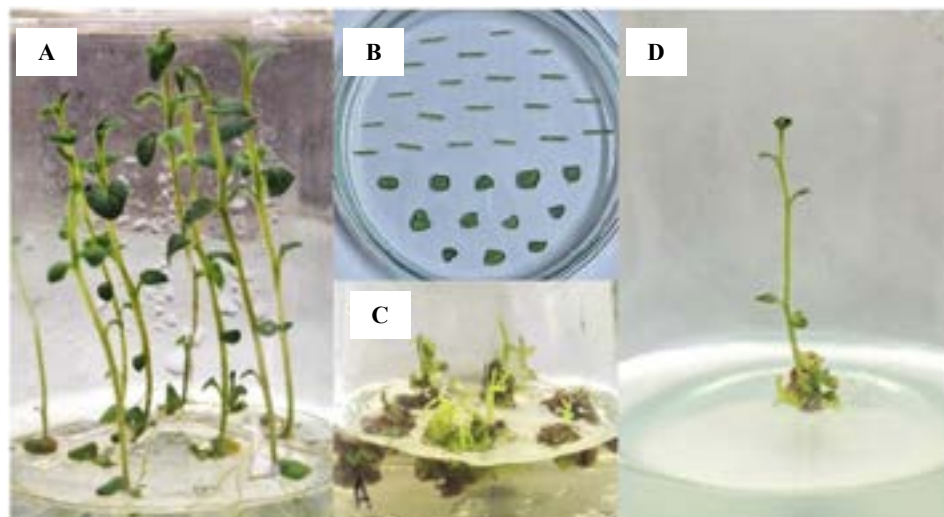
Analisis Data. Data morfologi pengujian toleransi dianalisis dengan Two-way ANOVA menggunakan software IBM SPSS Statistics versi 30. Jika terdapat beda nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada $\alpha = 0,05$.

HASIL

Introduksi Gen *OsGERLP* ke Tanaman Kentang Varietas IPB CP2. Gen *OsGERLP* di bawah promotor kuat telah berhasil diintroduksi ke dalam genom tanaman kentang varietas IPB CP2 melalui perantara *A. tumefaciens*. Eksplan yang digunakan merupakan daun dan internode (ruas batang) tanpa mata tunas buku 2-5 dari planlet kentang umur 4 minggu (Gambar 1a). Daun dipotong pada bagian ujung dan pangkal daun, sedangkan internode dipotong sepanjang $\pm 0,5-1$ cm (Gambar 1b). Kalus mulai terbentuk pada umur 1 minggu setelah inokulasi. Kalus yang terbentuk berwarna hijau dengan struktur kompak. Selanjutnya kalus mulai beregenerasi membentuk tunas pada umur 3-4 minggu setelah inokulasi (Gambar 1c). Tunas yang sudah membentuk organ daun lengkap dipotong dan dipindah pada media pembesaran (Gambar 1d).

Transformasi genetik tanaman kentang varietas IPB CP2 dimediasi *Agrobacterium tumefaciens* menggunakan eksplan internode tanpa mata tunas untuk menghindari tunas palsu yang terbentuk. Ruas batang (internode) tanaman kentang juga diketahui memiliki pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan eksplan yang berasal dari daun. Hal ini ditunjukkan dari hasil transformasi genetik pada tanaman kentang IPB CP2 eksplan daun dengan efisiensi transformasi dan efisiensi regenerasi berturut-turut sebesar 72,62 dan 17,24%, sedangkan efisiensi transformasi dan efisiensi regenerasi eksplan internode berturut-turut sebesar 71,3 dan 87,65% (Tabel 1).

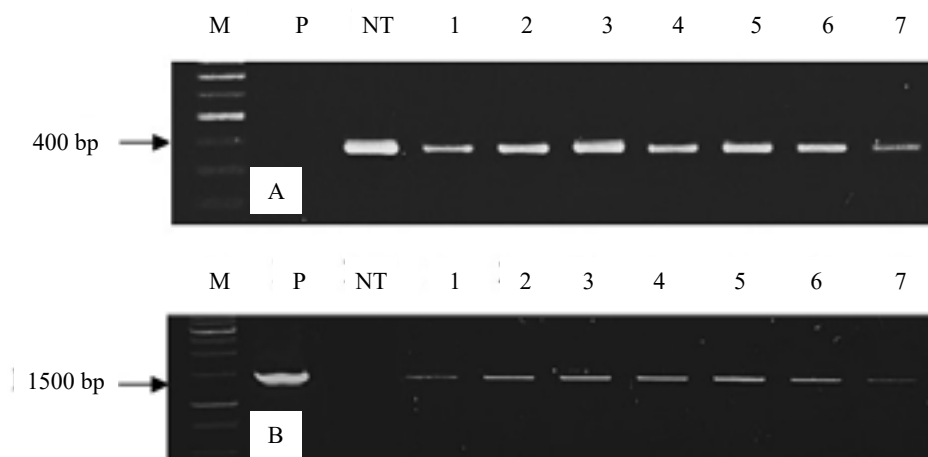
Analisis Integritas DNA dan Integrasi Gen *OsGERLP* pada Tanaman Transgenik. DNA total dari 7 klon tanaman putatif yang telah berhasil diisolasi, kemudian dianalisis integritas DNA dengan melakukan amplifikasi gen aktin (housekeeping gene). Amplifikasi dengan gen aktin menggunakan primer Act-F dan Act-R menghasilkan amplikon berkisar 400 bp (Gambar 2a). Amplifikasi template DNA plasmid sebagai kontrol negatif tidak menghasilkan amplikon, sedangkan template DNA tanaman IPB CP2 non-transgenik digunakan sebagai kontrol positif menghasilkan amplikon dengan ukuran sama dengan tanaman putatif. Integrasi gen *OsGERLP* di bawah promotor kuat pada genom tanaman transgenik putatif dianalisis dengan primer 35S-F dan *OsGERLP_R*.



Gambar 1. Tahapan transformasi tanaman kentang CP2 yang dimediasi *Agrobacterium tumefaciens*. Tanaman kentang CP2 (A), eksplan daun dan internode (B), kalus beregenerasi (C), tanaman putatif pada media pembesaran (D)

Tabel 1. Efisiensi transformasi dan efisiensi regenerasi transformasi gen OsGERLP pada tanaman kentang IPB CP2

Jenis eksplan	Percobaan	Σ explant	Σ kalus resisten	Σ kalus beregenerasi	Efisien transformasi (%)	Efisiensi regenerasi (%)
Daun	1	34	30	3	88.24	10.00
	2	45	25	3	55.56	12.00
	3	30	22	3	73.33	13.64
	4	45	33	11	73.33	33.33
	Jumlah	154	110	20	-	-
	Rata-rata	38,5	27,5	5	72.62	17.24
Internode	1	115	77	72	61.57	93.51
	2	124	98	64	79.03	65.31
	3	90	60	60	66.67	100.00
	4	95	73	67	76.84	91.78
	Jumlah	424	308	263	-	-
	Rata-rata	106	77	65.75	71.3	87.65



Gambar 2. PCR genom tanaman transgenik putatif dengan primer spesifik primer aktin (A) dan primer spesifik 35S-F dan GERLP-R (B). M= marker penanda 100bp (A) dan 1kb (B), P= plasmid, NT= tanaman CP2 non-transgenik, 1-7 tanaman CP2 transgenik

PCR terhadap DNA dari tanaman putatif transgenik menghasilkan ampikon berukuran berkisar 1500 bp, ampikon yang sama dihasilkan dari PCR yang menggunakan DNA plasmid sebagai kontrol positif. Sementara itu, tanaman non-transgenik sebagai kontrol negatif tidak menghasilkan ampikon (Gambar 2b). Hal ini menunjukkan bahwa gen *OsGERLP* terintegrasi di dalam genom tanaman kentang varietas IPB CP2 transgenik.

Toleransi Tanaman Kentang IPB CP2 Transgenik. Hasil pengujian toleransi klon tanaman transgenik dengan berbagai pH media, serta interaksinya diamati pada karakter morfologi (Gambar 3), yang menunjukkan variasi respon antarklon pada media pH 5,8 dan pH 4 (Gambar 3a dan 3b), serta perbedaan signifikan pada klon tanaman transgenik dibandingkan klon non-transgenik pada media pH 4 + 1,5 mM Al (Gambar 3c).

Pengamatan karakter tinggi tanaman pada media pH 5,8 dan pH 4 tidak berbeda nyata baik pada klon non-transgenik maupun transgenik, namun berbeda nyata dengan tinggi tanaman pada media pH 4 + Al 1,5 mM (Gambar 4). Karakter panjang akar sangat dipengaruhi oleh cekaman Al. Pada tanaman non-transgenik, panjang akar sangat tertekan jika dibanding panjang akar pada semua tanaman transgenik, meskipun jumlah akar tanaman non-transgenik menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata antar perlakuan pH dan cekaman (Gambar 4).

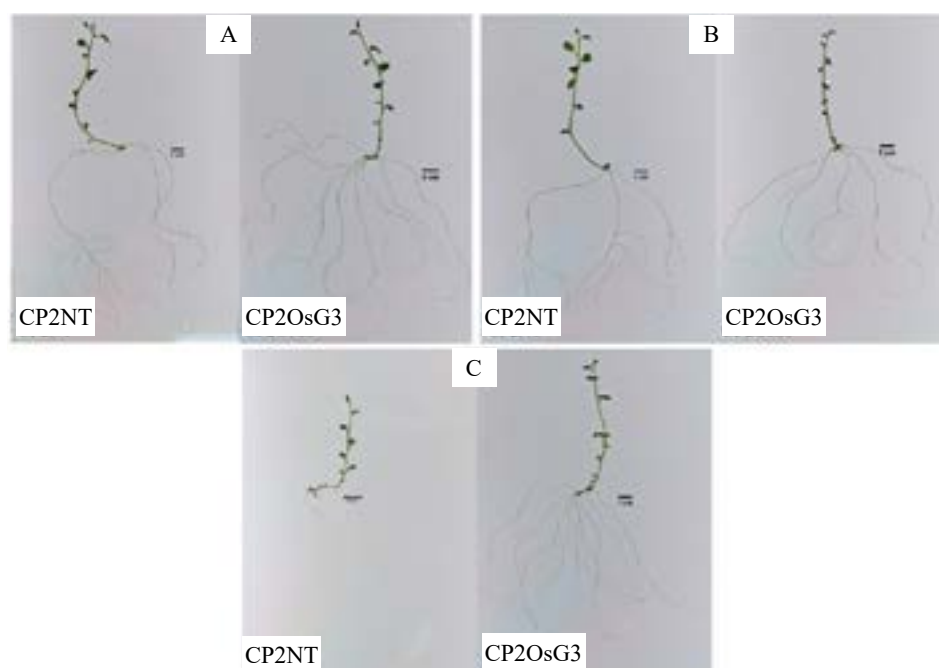
Hasil pengamatan terhadap bobot biomassa menunjukkan baik bobot basah dan bobot kering tajuk dan akar semua klon transgenik pada media cekaman 1,5 mM Al, memiliki nilai lebih tinggi dibanding

tanaman non-transgenik, meskipun bobot bioamassa beberapa klon transgenik tidak berbeda dengan bobot biomassa tanaman non-transgenik pada media pH 5,8 dan pH 4 (Gambar 5).

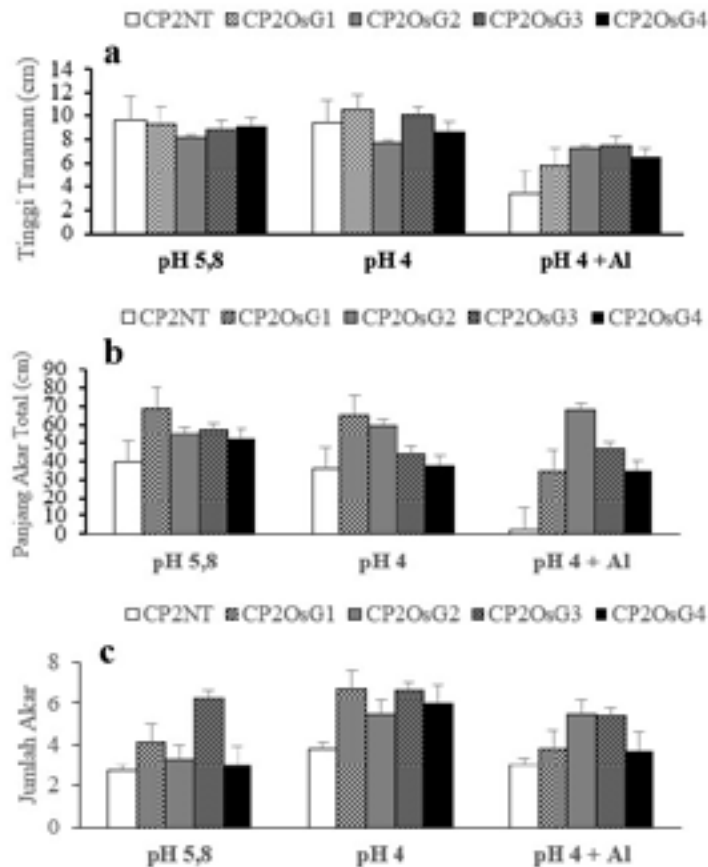
Secara umum semua klon tanaman transgenik yang ditanam pada media dengan pH 4 + Al 1,5 mM memiliki respon yang lebih baik dibandingkan klon tanaman non-transgenik pada media yang sama (Gambar 4 dan 5).

PEMBAHASAN

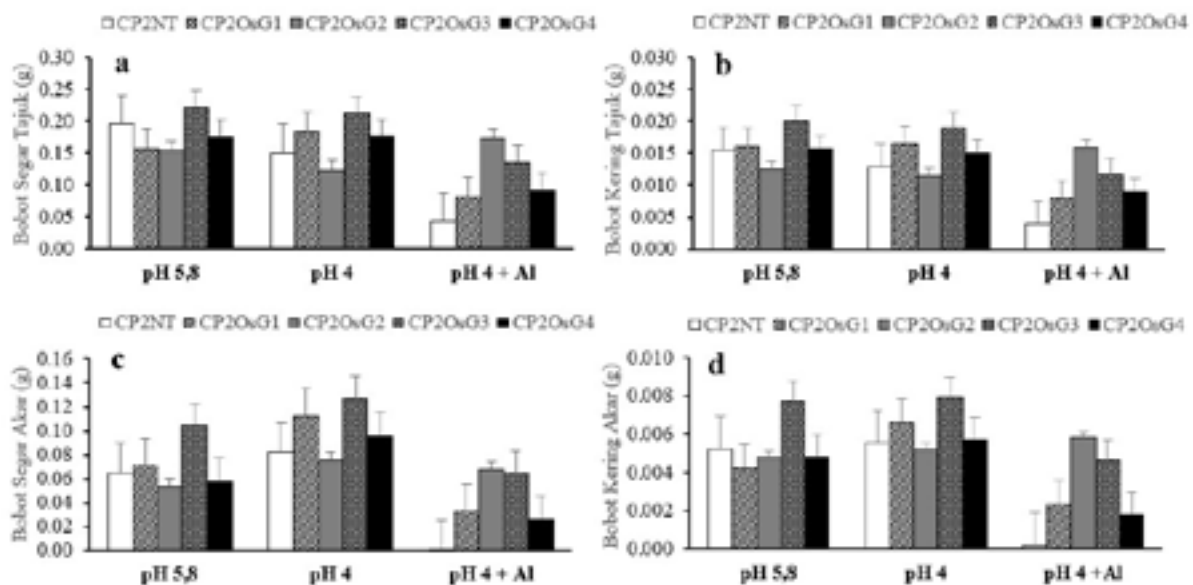
Percobaan transformasi tanaman kentang varietas IPB CP2 dengan gen *OsGERLP* telah berhasil dilakukan baik menggunakan eksplan internode maupun daun. Eksplan internode yang telah ditransformasi ditanam pada media induksi kalus dan media regenerasi yang sama komposisinya. Pada umur 10-12 hari, kalus sudah mulai muncul calon tunas, hal ini diduga akibat penambahan hormon tumbuh terutama zeatin yang membantu pembentukan tunas secara langsung. Selanjutnya eksplan segera dipindah pada media seleksi dengan penambahan antibiotik higromisin untuk menyeleksi tanaman transforman yang tidak membawa transgen. Gen *hpt* yang mengendalikan resistensi terhadap antibiotik higromisin dilekatakan dekat dengan gen *OsGERLP* pada fragmen DNA yang diintegrasikan ke genom tanaman. Jika genom tanaman berhasil disisipi oleh fragmen DNA tersebut, maka tanaman atau kalus akan menunjukkan resistensi terhadap higromisin. Antibiotik higromisin pada media dapat memperlambat pertumbuhan tanaman sehingga konsentrasi yang dimasukkan dalam media



Gambar 3. Uji toleransi tanaman kentang IPB CP2 transgenik pada media pH 5,8 (A), media pH 4 (B), media pH 4 + Al 1,5 mM (C)



Gambar 4. Pengujian toleransi tanaman transgenik pada media pH 5,8, pH 4 dan pH 4 + 1,5 mM Al pada karkater tinggi tanaman (a), panjang akar total (b), dan jumlah akar (c). Bar menunjukkan standar error



Gambar 5. Grafik hasil pengujian toleransi tanaman transgenik pada media pH 5,8, pH 4 dan pH 4 + 1,5 mM Al pada karakter bobot segar tajuk (a), bobot kering tajuk (b), bobot segar akar (c), dan bobot kering akar (d). Bar menunjukkan standar error

perlu diperhatikan. Pada penelitian ini dilakukan uji pendahuluan untuk menguji tanaman non-transgenik terhadap ketahanannya pada antibiotik higromisin (data tidak ditampilkan), hasilnya tanaman non-transgenik mulai terhambat pertumbuhannya seiring peningkatan konsentrasi higromisin. Pada konsentrasi higromisin 10 ppm dan 15 ppm, penambahan pertumbuhan tanaman non-transgenik berturut-turut adalah 10% dan 0%, sehingga dalam penelitian ini digunakan konsentrasi 10 ppm dan ditingkatkan hingga 15 ppm higromisin. Hal ini sesuai dengan penelitian Pasmawati *et al.* (2021) konsentrasi 10 ppm higromisin dalam seleksi kalus transgenik dapat meningkatkan efisiensi regenerasi tanaman transforman. Ketahanan tanaman terhadap antibiotik higromisin memiliki respon yang berbeda. Meng *et al.* (2007) melaporkan bahwa higromisin dengan konsentrasi 7.5 ppm dan 20 ppm dapat menghambat inisiasi kalus tanaman kapas. Antibiotik higromisin 30 ppm digunakan untuk menyeleksi kalus transforman padi varietas Fatmawati (Sisharmini *et al.* 2019). Kalus dengan tunas yang telah tumbuh menjadi tanaman lengkap selanjutnya dipotong dan dipindah ke media pembesaran yaitu MS0 dan selanjutnya disubkultur pada media MS yang mengandung antibiotik higromin 10 ppm hingga dilakukan analisis integrasi tanaman.

Perbedaan efisiensi transformasi tanaman kentang menggunakan eksplan daun dan eksplan internode menunjukkan nilai yang tidak signifikan, namun efisiensi regenerasi tanaman kentang dari eksplan internode lebih tinggi dibandingkan dengan eksplan yang berasal dari daun. Hal ini kemungkinan berkaitan dengan tingkat kematangan jaringan internode yang optimal dan kepadatan jaringan vaskular yang lebih tinggi, dimana pola serupa juga terlihat pada pembentukan kalus yang menunjukkan eksplan internode memiliki respons induksi yang lebih aktif dibandingkan eksplan daun dan petiole (Dhital *et al.* 2012). Penelitian lain menyebutkan regenerasi tunas secara langsung pada eksplan internode lebih tinggi karena memiliki sifat lebih meristematik dibandingkan eksplan daun (Abeuova *et al.* 2020). Perlakuan sayatan longitudinal pada internode mempermudah penetrasi *Agrobacterium* ke dalam zona berkas pembuluh, sehingga terbentuk tunas transgenik dalam jumlah yang besar (Shin *et al.* 2011). Penelitian lain menyebutkan efisiensi regenerasi tanaman kentang kultivar Desiree dari eksplan internode lebih tinggi dibandingkan dari eksplan daun dan petiole (MS + TDZ (1 mg/L) + BAP (1 mg/L) (Kamrani *et al.* 2015). Hal yang sama juga disebutkan pada tanaman kentang kultivar Superior yang menggunakan eksplan internode memberikan respons regenerasi tunas yang lebih baik, baik dari segi frekuensi maupun jumlah tunas yang dihasilkan per eksplan, jika dibandingkan dengan eksplan daun

dan petiole (Dhital *et al.* 2012). Pada lima kultivar tanaman kentang menunjukkan efisiensi transformasi dan regenerasi lebih baik pada eksplan internode dibandingkan eksplan daun pada media seleksi regenerasi dengan kombinasi hormon BA 2 mg/L + NAA 0,2 mg/L + trans-zeatin 2 mg/L + GA3 0,1 mg/L (Bakhsh 2020). Selain sumber eksplan, efisiensi regenerasi juga dipengaruhi oleh jenis eksplan, luka pada eksplan, genotipe dan spesies tanaman yang digunakan, antibiotik, hormon pertumbuhan, cahaya, suhu, strain *Agrobacterium*, kerapatan sel bakteri yang digunakan (Niu *et al.* 2000). Rai *et al.* (2012) melaporkan efisiensi transformasi dipengaruhi oleh umur kotiledon, waktu dan media pre-culture dan kokultivasi, pH media, dan media pencucian. Selain itu konsentrasi asetosiringon, dan waktu infeksi berperan penting dalam meningkatkan efisiensi transformasi (Shin *et al.* 2011). Han *et al.* (2015) menambahkan bahwa terdapat pengaruh periode subkultur tanaman kentang kultivar Jowon dan Atlantik yang digunakan sebagai eksplan transformasi tanaman, dimana periode subkultur 1-2 kali (umur 1-2 bulan) menghasilkan tanaman putatif yang lebih besar dibandingkan tanaman yang sudah disubkultur lebih 6 kali (umur 6 bulan).

Toksistasitas Al pada tanaman terutama terjadi pada organ akar, terutama pada pertumbuhan akar dan efek morfologi akar yang terganggu (Awasthi *et al.* 2017; Zhang *et al.* 2019). Cekaman Al pada tanaman non-transgenik berpengaruh negatif pada semua peubah yang diamati dan berbanding terbalik pada klon transgenik yang meningkat pada semua peubah pengamatan. Awasthi *et al.* (2017) melaporkan toksistasitas Al pada genotipe padi sensitif akan menurunkan berat basah akar, berat kering dan kadar air relatif. Sebaliknya, Prameswari *et al.* (2023) menyebutkan tanaman yang memiliki ketahanan terhadap toksistasitas Al mampu meminimalkan efek negatif dari keracunan Al. Tanaman non-transgenik tidak memiliki kemampuan beradaptasi terhadap toksistasitas 1,5 mM Al, sedangkan penurunan pH tidak berpengaruh signifikan pada parameter morfologi tanaman non-transgenik. Tanaman transgenik kentang kultivar IPB CP1 yang mengekspresikan MmCuZn-SOD memperlihatkan karakteristik morfologi yang lebih baik dalam hal tinggi tanaman, jumlah daun, diameter batang, dan biomassa total dibandingkan tanaman non-transgenik (Musawira *et al.* 2025). Peningkatan biomassa dan jumlah akar lateral tanaman *C. xalapensis* yang terpapar aluminium (Al), berkorelasi positif dengan peningkatan aktivitas enzim glutathione reduktase dan superoksida dismutase, seiring dengan terdeteksinya kadar Reactive Oxygen Species (ROS) yang rendah (González-Santana *et al.* 2012). Perlakuan aluminium pada bibit tanaman *Symplocos paniculata* menunjukkan pertumbuhan

cabang, daun dan pertumbuhan akar baru, sehingga biomassa meningkat secara signifikan (Schmitt *et al.* 2016). Toksisitas Al pada tanaman *Camellia oleifera* Abel menyebabkan penurunan panjang akar, diameter, volume, dan biomassa total tanaman melalui penghambatan proses biosintesis protein serta pengurangan kadar karbohidrat (Ur Rahman *et al.* 2024). Pada kombinasi media pH 4 + Al 1,5 mM klon CP2OsG2 dan CP2OsG3 memiliki respon yang paling baik di antara klon lainnya. Namun, respon pada media pH 4 dan pH 5,8 klon CP2OsG2 justru memiliki nilai yang paling rendah dibandingkan klon lainnya. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan ekspresi gen *OsGERLP* antar klon. Ekspresi gen *OsGERLP* yang bervariasi antar klon tanaman transgenik kemungkinan dipengaruhi oleh posisi integrasi gen yang tidak sama. Hal ini terkait dengan mekanisme insersi T-DNA yang dilakukan secara random oleh bakteri *A. tumefaciens* ke dalam genom tanaman inang. Keberadaan faktor transkripsi pada gen-gen yang mengalami perbedaan ekspresi ditunjukkan oleh akumulasi situs pengikatan faktor transkripsi khusus di area promotor gen-gen yang menunjukkan pola ekspresi berbeda pada galur transgenik (Ko *et al.* 2018). Penelitian lain mengemukakan bahwa tanaman jagung hasil transformasi dengan perantara *A. tumefaciens* menghasilkan salinan transgen dalam jumlah yang lebih sedikit, akan tetapi menghasilkan ekspresi gen yang lebih tinggi dan lebih konsisten dibanding hasil metode penembakan partikel (Shou *et al.* 2004).

Tanaman kentang varietas IPB CP2 telah berhasil diintroduksi gen *OsGERLP* yang dimediasi oleh bakteri *Agrobacterium tumefaciens*. Klon tanaman transgenik telah dilakukan pengujian toleransinya terhadap cekaman aluminium, yang menunjukkan bahwa semua klon transgenik yang diuji memiliki respon yang lebih baik dibandingkan tanaman non-transgenik pada semua parameter. Tanaman transgenik klon CP2OsG2 dan CP2OsG3 memiliki respon yang lebih baik pada cekaman Al dibandingkan klon lainnya pada semua parameter uji. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengujian tanaman transgenik secara *in vivo* dengan parameter morfologi di tanah masam yang mengandung Al tinggi untuk mengukur tingkat kestabilan transgen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian dibiayai oleh Program Penelitian Skema Penelitian Tesis Magister sesuai dengan kontrak pelaksanaan program penelitian tahun 2024 Nomor: 027/E5/PG.02.00.PL/2024 oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan,

Riset dan Teknologi atas nama Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si.

DAFTAR PUSTAKA

- Abeuova LS, Kali BR, Rakhimzhanova AO, Bekkuzhina SS, Manabayeva SA. 2020. High frequency direct shoot regeneration from kazakh commercial potato cultivars. *PeerJ* 2020:1–12. doi:10.7717/peerj.9447
- Awasthi JP, Saha B, Regon P, Sahoo S, Chowra U, Pradhan A, Roy A, Panda SK. 2017. Morpho-physiological analysis of tolerance to aluminum toxicity in rice varieties of North East India. *PLoS One* 12:1–23. doi:10.1371/journal.pone.0176357
- Bakhsh A. 2020. Development of efficient, reproducible and stable agrobacterium-mediated genetic transformation of five potato cultivars. *Food Technol Biotechnol* 58:57–63. doi:10.17113/ftb.58.01.20.6187
- Dhital SP, Lim HT, Manandhar HK. 2012. Direct and Efficient Plant Regeneration from Different Explants Sources of Potato Cultivars as Influenced by Plant Growth Regulators. *Nepal J Sci Technol* 12:1–6. doi:10.3126/njst.v12i0.6471
- González-Santana IH, Márquez-Guzmán J, Cram-Heydrich S, Cruz-Ortega R. 2012. *Conostegia xalapensis* (Melastomataceae): An aluminum accumulator plant. *Physiol Plant* 144:134–145. doi:10.1111/j.1399-3054.2011.01527.x
- Han EH, Goo YM, Lee MK, Lee SW. 2015. An efficient transformation method for a potato (*Solanum tuberosum* L. var. Atlantic). *J Plant Biotechnol* 42:77–82. doi:10.5010/JPB.2015.42.2.77
- He H, Li Y, He LF. 2019. Aluminum toxicity and tolerance in Solanaceae plants. *South African J Bot* 123:23–29. doi:10.1016/j.sajb.2019.02.008
- Kamrani M, Ebadi A, Shiri M. 2015. Effect of explant, genotype and plant growth regulators on regeneration and Agrobacterium-mediated transformation of potato. *J Agron* 14:227–233. doi:10.3923/ja.2015.227.233
- Ko DK, Nadakuduti SS, Douches DS, Buell CR. 2018. Transcriptome profiling of transgenic potato plants provides insights into variability caused by plant transformation. *PLoS One* 13:1–16. doi:10.1371/journal.pone.0206055
- Kochian LV, Piñeros MA, Liu J, Magalhaes JV. 2015. Plant adaptation to acid soils: The molecular basis for crop aluminum resistance. *Annu Rev Plant Biol* 66:571–598. doi:10.1146/annurev-arplant-043014-114822
- Meng ZH, Liang AH, Yang WC. 2007. Effects of hygromycin on cotton cultures and its application in Agrobacterium-mediated cotton transformation. *Vitr Cell Dev Biol - Plant* 43:111–118. doi:10.1007/s11627-007-9031-z
- Miftahudin M, Roslim DI, Fendiyanto MH, Satrio RD, Zulkifli A, Umayyah EI, Chikmawati T, Sulistyarningsih YC, Suharsono S, Hartana A, *et al.* 2021. *OsGERLP*: A novel aluminum tolerance rice gene isolated from a local cultivar in Indonesia. *Plant Physiol Biochem* 162:86–99. doi:10.1016/j.plaphy.2021.02.019
- Murashige T, Skoog F. 1962. Murashige1962Revised.Pdf. *Physiol Plant* 15:474–497.
- Musawira, Tjahjoleksono A, Hamim, Miftahudin M. 2025. Drought Tolerance in Transgenic Potato Cultivar IPB CP1 Expressing MmCuZn-SOD Gene. *HAYATI J Biosci* 32:1377–1386. doi:10.4308/hjb.32.5.1377-1386
- Niu X, Li X, Veronese P, Bressan RA, Weller SC, Hasegawa PM. 2000. Factors affecting *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of peppermint. *Plant Cell Rep* 19:304–310. doi:10.1007/s002990050017
- Pasmawati, Tjahjoleksono A, Suharsono. 2021. Obtaining of transgenic potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar IPB CP3 containing LYZ-C gene resistant to bacterial wilt disease. *Indones J Biotechnol* 26:48–53. doi:10.22146/IJBIOTECH.61682
- Prameswari W, Br Silitonga E, Setyowati N. 2023. Soybean (*Glycine max* L.) Response to Aluminum Stress in The Vegetative Phase. *BIO Web Conf* 69:1–10. doi:10.1051/bioconf/20236901014

- Rai GK, Rai NP, Kumar S, Yadav A, Rathaur S, Singh M. 2012. Effects of explant age, germination medium, pre-culture parameters, inoculation medium, pH, washing medium, and selection regime on *Agrobacterium*-mediated transformation of tomato. *Vitr Cell Dev Biol - Plant* 48:565–578. doi:10.1007/s11627-012-9442-3
- Ritung S, Suryani E, Subardja D, Sukarman, Nugroho K, Suparto, Hikmatullah, Mulyani A, Tafakresnanto C, Sulaeman Y, Subandiono RE, Wahyunto, Ponidi, Prasodjo N, Suryana U, Hidayat H, Priyono A, Supriatna W. 2015. Sumber Daya Lahan Pertanian Indonesia: Luas, Penyebaran, dan Potensi Ketersediaan. Jakarta: IAARD Press 98 hal.
- Sahoo KK, Tripathi AK, Pareek A, Sopory SK, Singl-Pareek SL. 2011. An improved protocol for efficient transformation and regeneration of diverse indica rice cultivars. *Plant Methods* 7:1-11. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-7-49>
- Schmitt M, Watanabe T, Jansen S. 2016. The effects of aluminium on plant growth in a temperate and deciduous aluminium accumulating species. *AoB Plants*. 8. doi:10.1093/aobpla/plw065
- Shin DY, Seong ES, Na JK, Yoo JH, Kang WH, Ghimire BK, Lim JD, Yu CY. 2011. Conditions for regeneration and transformation of *Solanum tuberosum* cultivars using the cotton glutathione S-transferase (Gh-5) gene. *African J Biotechnol* 10:15135–15141. doi:10.5897/AJB11.1895
- Shou H, Bordallo P, Fan JB, Yeakley JM, Bibikova M, Sheen J, Wang K. 2004. Expression of an active tobacco mitogen-activated protein kinase kinase enhances freezing tolerance in transgenic maize. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:3298–3303. doi:10.1073/pnas.0308095100
- Sisharmini A, Purwoko BS, Khumaida N, Trijatmiko DKR. 2019. Optimasi Konsentrasi Asetosiringon dan Hgromisin dalam Transformasi Genetik Padi Fatmawati dengan Perantaraan *Agrobacterium tumefaciens*. *J Agron Indones (Indonesian J Agron* 46:223–230. doi:10.24831/jai.v46i3.19445
- Suharsono. 2002. Konstruksi pustaka genom kedelai kultivar Slamet. *Hayati* 9:67–70.
- Ur Rahman S, Han JC, Ahmad M, Ashraf MN, Khaliq MA, Yousaf M, Wang Y, Yasin G, Nawaz MF, Khan KA, *et al.* 2024. Aluminum phytotoxicity in acidic environments: A comprehensive review of plant tolerance and adaptation strategies. *Ecotoxicol Environ Saf* 269: 115791. doi:10.1016/j.ecoenv.2023.115791
- Zhang F, Yan X, Han X, Tang R, Chu M, Yang Y, Yang YH, Zhao F, Fu A, Luan S, *et al.* 2019. A defective vacuolar proton pump enhances aluminum tolerance by reducing vacuole sequestration of organic acids. *Plant Physiol* 181:743–761. doi:10.1104/pp.19.00626