



## TRANSFORMASI GEN ILP (INCREASING LEVEL OF POLYPLOIDY) PADA TOMAT 'MICRO-TOM'

Anung Wahyudi<sup>1</sup>, Aziz Purwantoro<sup>2</sup>, Endang Sulistyaningsih<sup>2</sup>, Ryosuke Hara<sup>3</sup> dan Reiko Motohashi<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Program D4 Teknologi Perbenihan, Jur. Budidaya Tanaman Pangan, Politeknik Negeri Lampung,

<sup>2</sup>Departemen Agronomi dan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada,

<sup>3</sup>Laboratorium Pemuliaan Molekuler, Universitas Shizuoka, Jepang  
.Soekarno-Hatta No.10, Rajabasa, Bandar Lampung, Indonesia  
.e-mail : anung@polinela.ac.id / anung\_wahyudi2000@yahoo.com

### ABSTRACT

Transgenic plant can be created with the technique of gene transformation using *Agrobacterium tumefaciens* mediators. The aim of this research was to determine efficiency of gene transformation method using the ILP1, ILP2 and ILP5 genes using the 35S promoter of CaMV (cauliflower mosaic virus) and 2A11 promoter. *Agrobacterium tumefaciens* strain GV3101 and RK 2013 were used in this study. 35S promoter (over-express) and 2A11 (specific promoter for fruit) were used. Due to their ability to increase the ploidy of plants, genes ILP1, ILP2 and ILP5 (Increasing levels of Poliploidy) were chosen. Transformation protocol using in vitro culture includes seed sterilization and germination, callus induction, shoot induction, root induction, induction of the final root induction and plantlet acclimatization. Detection of transformants was conducted using PCR analysis (polymerase chain reaction) and electrophoresis gel. The results showed that 'Micro-Tom' callus can be inserted with the gene. Percentage of successful transformation using the 35S promoter was 18.42% (35S::ILP1), 21.43% (35S::ILP2) and 10.26% (35S::ILP5). Percentage of successful transformation using 2A11 promoter was 19.07% (2A11::ILP1), 15.56% (2A11::ILP2), and 12.50% (2A11::ILP5). The efficiency of gene transformation ILP1, ILP2, and ILP5 using 35S promoter and promoter 2A11 was 10.26% to 21.43%.

Keywords: *agrobacterium tumefaciens*, micro-tom, transformation of ILP gene

### PENDAHULUAN

Tomat (*Solanum lycopersicum* L.) memegang peranan yang penting dalam pemenuhan gizi masyarakat. Buah tomat banyak mengandung zat-zat yang berguna bagi tubuh manusia. Likopena (*lycopene*) berperan sebagai antioksidan. Kandungan gizi lainnya adalah vitamin C, A, K dan mineral. Banyak usaha dilakukan manusia untuk menghasilkan jenis tomat dengan perubahan sifat yang diinginkan. Salah satu jenis tersebut adalah tomat 'MicroTom'. 'Micro-Tom' adalah kultivar tomat kurcaci/mini

hasil persilangan dari kultivar “Florida Basket” dengan “Ohio 4013-3” yang awalnya dibiakkan untuk berkebun di halaman rumah (Scott dan Harbaugh, 1989).

Dewasa ini penelitian tentang rekayasa genetik sudah mulai dikembangkan sehingga di pasaran sudah banyak beredar produk rekayasa genetik tanaman yang biasa disebut dengan tanaman transgenik (Anonim, 2011). Tanaman transgenik adalah tanaman yang telah disisipi atau memiliki gen asing dari spesies tanaman yang berbeda atau makhluk hidup lainnya. Penggabungan gen asing ini bertujuan untuk mendapatkan tanaman dengan sifat-sifat yang diinginkan, misalnya pembuatan tanaman yang tahan suhu tinggi, suhu rendah, kekeringan, resisten terhadap organisme pengganggu tanaman, serta kuantitas dan kualitas produk yang lebih tinggi daripada tanaman alami. Sebagian besar rekayasa atau modifikasi sifat tanaman dilakukan untuk mengatasi kebutuhan pangan penduduk dunia yang semakin meningkat dan juga permasalahan kekurangan gizi manusia sehingga pembuatan tanaman transgenik juga menjadi bagian dari pemuliaan tanaman. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat keberhasilan atau efisiensi metode transformasi. Penelitian ini juga bertujuan untuk membuat tomat transgenik menggunakan gen *ILP1*, *ILP2* dan *ILP5* dengan menggunakan promotor 35S dari *CaMV* (*cauliflower mosaic virus*) dan 2A11.

Studi tentang perakitan tanaman tomat transgenik memperlihatkan bahwa efisiensi transformasi hanya 6% sampai 37% (Hamzah dan Chupeau, 1993; Van Roekel *et al.*, 1993; Frary dan Earle, 1996; Ling *et al.*, 1998; Vidya *et al.*, 2000; Hu dan Phillips, 2001; Park *et al.*, 2003). ‘Micro-Tom’ memiliki beberapa fitur unik, seperti ukuran yang kecil, mampu untuk tumbuh dengan kepadatan tinggi (135.7 tanaman per m<sup>2</sup>), tumbuh baik di bawah lampu neon, siklus hidup yang pendek, dan dapat dipanen dalam waktu 70-90 hari setelah tanam. Oleh karena itu ‘Micro-Tom’ digunakan sebagai model kultivar dalam penelitian tentang rekayasa genetik ini (Sun *et al.*, 2006). Transformasi gen *GUS* dengan menggunakan mediator *Agrobacterium tumefaciens* strain C58C1Rif<sup>®</sup> telah berhasil dilakukan oleh Sun *et al* (2006) terhadap tomat ‘MicroTom’, sehingga dalam penelitian ini, penulis ingin melakukan transformasi gen *ILP* dengan menggunakan protokol transformasi sebagaimana yang telah dilakukan oleh Sun *et al* (2006). Gen *ILP* (*Increasing level of Poliploidy*) dipilih sebagai gen yang ditransformasikan terhadap tanaman ‘Micro-Tom’ dengan mediator *Agrobacterium*

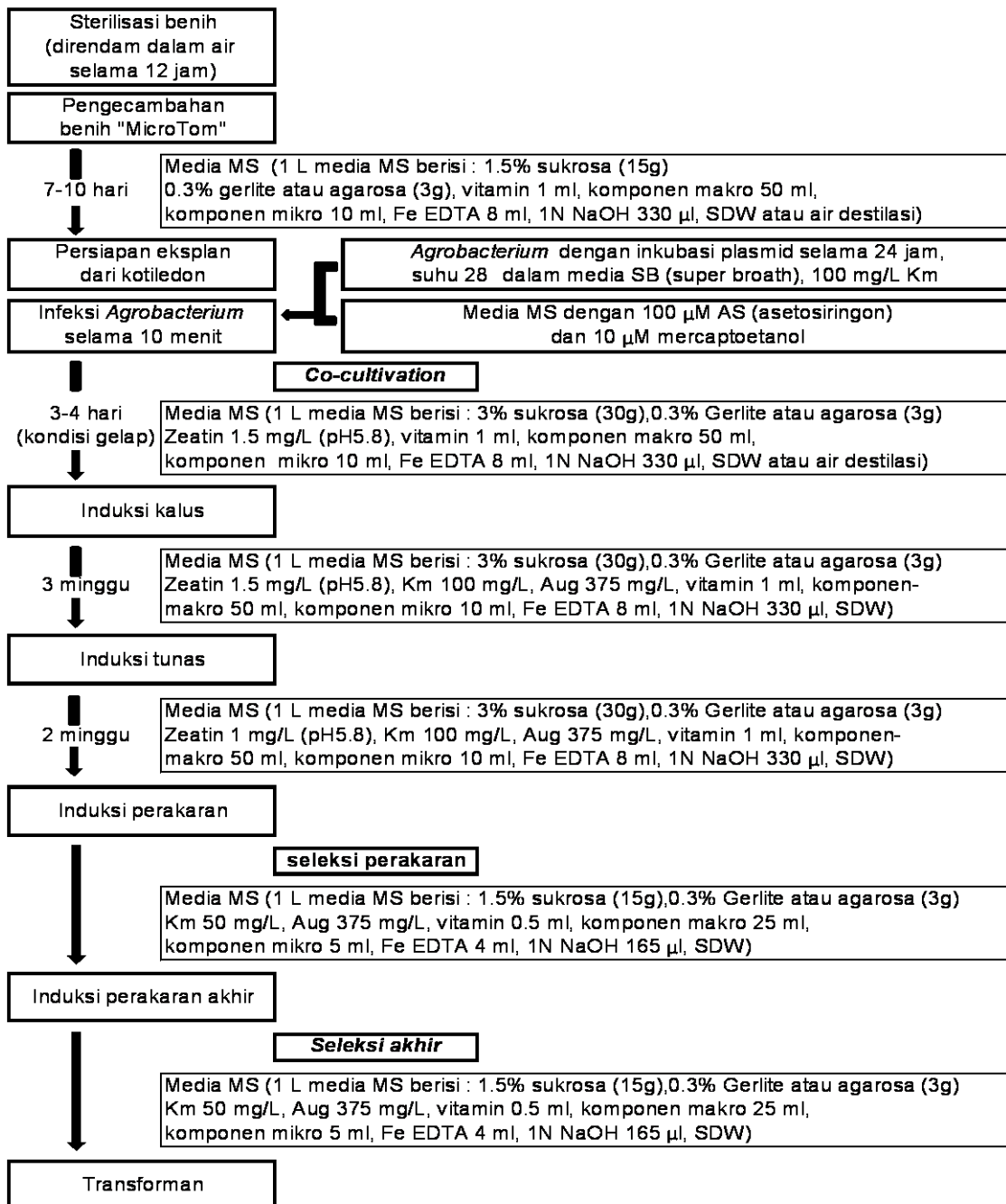
*tumifaciens* karena gen tersebut dapat meningkatkan ploidi dari tanaman. Berbagai gen *ILP* telah berhasil diisolasi, yaitu *ILP 1*, *ILP2* dan *ILP 5* (DalCorso *et al.*, 2007).

## METODE

Penelitian ini dilakukan sejak Oktober 2010 sampai dengan April 2011. Tempat penelitian adalah Laboratorium Pemuliaan Molekuler, Fakultas Pertanian, Universitas Shizuoka, Jepang. Dalam penelitian ini digunakan tomat kultivar ‘Micro-Tom’ (*Solanum lycopersicum* ‘MicroTom’). *Agrobacterium* yang digunakan adalah *Agrobacterium* strain GV 3101 dan RK 2013 yang membawa konstruksi pBIDAVL-GWR1-p35S::*ILP1*, pBIDAVL-GWR1-p35S::*ILP2*, pBIDAVLGWR1-p35S::*ILP5*, dan konstruksi pBI101-p2A11::*ILP1*, pBI101-p2A11::*ILP2*, pBI101-p2A11::*ILP5* yang diperoleh dari Dr. Tsumoru Yoshi (Riken research-Japan). *Agrobacterium* strain GV 3101 mengandung gen ketahanan terhadap rifampisin, sedangkan *Agrobacterium* strain RK 2013 mengandung gen ketahanan terhadap kanamisin. Promoter yang digunakan dalam penelitian ini adalah CaMV35S (*overexpressed promoter*) dan 2A11 (*specific promoter*). Terminator yang digunakan adalah terminator Nos (sintesis nopalin).

Bahan kimia yang digunakan adalah bahan-bahan kimia untuk medium MS (perkecambahan benih), medium MS untuk kultur *Agrobacterium* (kokultivasi), medium MS untuk induksi kalus, medium MS untuk induksi tajuk, medium MS untuk induksi akar, medium MS untuk induksi akar akhir, bahan kimia untuk medium tumbuh bakteri *Agrobacterium* yaitu medium SB (*super broth*), bahan kimia untuk reaksi PCR, bahan kimia untuk ekstraksi genom ‘MicroTom’, bahan kimia untuk elektroforesis gel sesuai, bahan kimia untuk sterilisasi benih ‘MicroTom’, bahan kimia untuk penyiraman tanaman transforman kandidat transgenik, antibiotika (kanamisin dan augmentin) untuk seleksi kandidat transforman.

Tahap-tahap dalam pembuatan tanaman tomat transgenik adalah sebagai berikut. Gambar 1 memaparkan tahap-tahap secara diagramat. Deteksi tanaman transgenik menggunakan analisis PCR (*polimerase chain reaction*) dan elektroforesis gel. Parameter pengamatan terdiri dari pengamatan persentase keberhasilan transformasi gen *ILP*, konfirmasi tanaman tomat ‘Micro-Tom’ kandidat transforman dengan PCR, dan pengamatan morfologi pada ‘Micro-Tom’ kandidat transgenik dan nontransgenik (tipe liar).



Gambar 1. Prosedur pembuatan tanaman transgenik dan transformasi *Agrobacterium* pada tomat yang telah dimodifikasi (Sumber : Sun *et al.*, 2006).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Persentase Keberhasilan Transformasi

Kalus 'Micro-Tom' yang ditransformasi sebanyak 200 *clump* kalus untuk masing-masing gen *ILP1*, *ILP2* dan *ILP5*. Dari 200 *clump* kalus tersebut, 100 *clump* kalus untuk masing-masing gen *ILP* menggunakan promotor 35S dan 100 *clump* kalus untuk masing-masing gen *ILP* menggunakan promotor 2A11. Data dalam Tabel 1 menunjukkan bahwa pada transformasi gen *ILP2* dengan promotor 35S memiliki tingkat keberhasilan tertinggi (21.43%), dari 100 *clump* kalus yang ditransformasi terdapat 70 *clump* kalus resisten terhadap kanamisin. Jumlah ini menunjukkan bahwa 70% kalus dapat bertahan hidup dalam media yang mengandung kanamisin. Dari 70 *clump* kalus, hanya 20 *clump* kalus yang dapat beregenerasi menjadi tunas (efisiensi regenerasi = 28.57%). Dari 20 tunas tersebut diregenerasikan menjadi 42 tunas berakar (*plantlet*). Beberapa tunas pada awalnya dapat tumbuh baik, tetapi setelah disubkulturkan beberapa kali ada yang bertahan hidup dan ada yang mati. Dari 42 tunas tersebut yang dapat tumbuh berkembang menjadi planlet sebanyak sembilan *plantlet*. Plantlet tersebut kemudian diaklimatisasi atau ditanam di dalam pot plastik (media berupa tanah yang telah disterilisasi).

Data dalam Tabel 1 juga menunjukkan bahwa persentase transformasi gen *ILP1* menggunakan promotor 2A11 memiliki persentase keberhasilan tertinggi dibandingkan perlakuan yang lain dengan promotor yang sama (2A11) yaitu sebesar 19.07%. Persentase transformasi gen *ILP5* menggunakan promotor 35S dan 2A11 memiliki persentase keberhasilan terendah (10.26% dan 12.50%).

Tabel 1. Persentase keberhasilan transformasi gen *ILP*

| Gen         | Pro-moter | Jumlah eksplan | Jumlah kalus | Jumlah tunas | Jumlah tunas dengan perakaran | Jumlah tunas (seleksi perakaran) | Persentase trans-formasi (%) |
|-------------|-----------|----------------|--------------|--------------|-------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| <i>ILP1</i> | 35S       | 100            | 80           | 57           | 190                           | 35                               | 18,42                        |
|             | 2A11      | 100            | 90           | 68           | 215                           | 41                               | 19,07                        |
| <i>ILP2</i> | 35S       | 100            | 70           | 20           | 42                            | 9                                | 21,43                        |
|             | 2A11      | 100            | 80           | 24           | 90                            | 14                               | 15,56                        |
| <i>ILP5</i> | 35S       | 100            | 40           | 16           | 78                            | 8                                | 10,26                        |
|             | 2A11      | 100            | 20           | 15           | 24                            | 3                                | 12,50                        |

### Konfirmasi Tanaman Tomat ‘Micro-Tom’ Kandidat Transforman Dengan PCR

Hasil konfirmasi amplifikasi PCR pada gen *ILP2* menggunakan promotor 2A11 terdapat 13 lini transforman memiliki pita 500 bp, sedangkan NC1 dan NC2 (*Negative Control* : ‘Micro-Tom’ tipe liar atau non-transgenik) tidak menunjukkan adanya pita. Hasil konfirmasi amplifikasi PCR pada gen *ILP2* menggunakan promotor 35S terdapat enam lini transforman memiliki pita 500 bp. Hasil PCR pada gen *ILP5* menggunakan promotor 2A11 tidak ada pita pada amplifikasi PCR, dan hasil PCR menggunakan promotor 35S terdapat dua lini transforman yang memiliki pita 250 bp. Hal ini menunjukkan bahwa gen *ILP2* dan *ILP5* yang disisipkan telah berhasil masuk ke dalam genom ‘Micro-Tom’ yang telah ditransformasi (Tabel 2).

Tabel 2. Konfirmasi amplifikasi PCR transformasi gen *ILP*

| Promoter dan Gen  | Planlet seleksi akhir | Jumlah transgenik | % transgenik |
|-------------------|-----------------------|-------------------|--------------|
| <i>2A11::ILP1</i> | 41                    | 0                 | 0,00         |
| <i>2A11::ILP2</i> | 14                    | 13                | 92,86        |
| <i>2A11::ILP5</i> | 3                     | 0                 | 0,00         |
| <i>35S::ILP1</i>  | 35                    | 0                 | 0,00         |
| <i>35S::ILP2</i>  | 9                     | 6                 | 66,67        |
| <i>35S::ILP5</i>  | 8                     | 2                 | 25,00        |

### Pengamatan Ukuran Buah Pada ‘Micro-Tom’ Kandidat Transgenik Dan Non-Transgenik (Tipe Liar)

Tabel 3. Pengamatan morfologi buah ‘Micro-Tom’ 2A11:: *ILP2* \* : ukuran lebih besar dibandingkan non-transgenik vert : vertikal, horz : horizontal

|                        | Maks (mm) |       | Rerata (mm)   |               | Standar deviasi |      | Jumlah buah |
|------------------------|-----------|-------|---------------|---------------|-----------------|------|-------------|
|                        | vert      | horz  | vert          | horz          | vert            | horz |             |
| Non-transgenik         | 20,64     | 22,27 | 16,24         | 15,65         | 1,66            | 2,16 | 40          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -2  | 18,71     | 16,78 | 15,66         | 14,87         | 1,30            | 0,95 | 13          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -3  | 18,89     | 19,25 | <b>16,36*</b> | <b>16,36*</b> | 1,38            | 1,39 | 28          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -4  | 21,74     | 19,10 | 16,94*        | 15,63         | 1,91            | 1,98 | 24          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -5  | 18,08     | 18,22 | 15,49         | 15,55         | 1,42            | 1,55 | 27          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -6  | 17,53     | 18,51 | 14,24         | 14,50         | 1,62            | 1,57 | 28          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -7  | 18,01     | 17,48 | 16,04         | 15,51         | 0,96            | 1,12 | 25          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -8  | 20,25     | 18,59 | <b>16,53*</b> | <b>16,24*</b> | 1,41            | 1,50 | 23          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -9  | 19,39     | 17,65 | <b>17,10*</b> | <b>16,17*</b> | 1,39            | 1,29 | 16          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -10 | 18,87     | 19,71 | 15,15         | 15,35         | 1,85            | 1,92 | 18          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -11 | 20,06     | 17,04 | 15,75         | 14,67         | 1,65            | 1,21 | 26          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -12 | 19,17     | 18,83 | 15,76         | 13,95         | 1,65            | 2,23 | 23          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -13 | 19,31     | 16,16 | 15,94         | 13,63         | 1,05            | 1,27 | 21          |
| 2A11:: <i>ILP2</i> -14 | 15,62     | 15,91 | 14,00         | 13,85         | 0,78            | 0,90 | 17          |

Pada hasil pengamatan morfologi buah ‘Micro-Tom’ non-transgenik (Tabel 3) menunjukkan bahwa dari hasil pengamatan 40 buah, memiliki rerata ukuran vertikal 16.24 mm dan rerata ukuran horizontal 15.65 mm. Ukuran maksimum pada buah non-transgenik secara vertikal adalah 20.64 mm dan secara horizontal 22.27 mm. Jika dibandingkan dengan ‘Micro-Tom’ hasil transformasi gen *ILP2* menggunakan promotor 2A11 menunjukkan bahwa terdapat empat lini ‘Micro-Tom’ transgenik yang memiliki rerata ukuran vertikal atau horizontal yang lebih tinggi yaitu 2A11::*ILP2*-3, 2A11::*ILP2*-4, 2A11::*ILP2*-8, dan 2A11::*ILP2*-9.

Hasil pengamatan ‘Micro-Tom’ transgenik hasil transformasi gen *ILP2* menggunakan promotor 35S Jika dibandingkan dengan ‘Micro-Tom’ non-transgenik menunjukkan bahwa terdapat empat lini ‘Micro-Tom’ transgenik yang memiliki rerata ukuran vertikal atau horizontal yang lebih tinggi yaitu 35S::*ILP2*-1, 35S::*ILP2*-4, 35S::*ILP2*-5, dan 35S::*ILP2*-9 (Tabel 4).

Tabel 4. Pengamatan morfologi buah ‘Micro-Tom’ 35S:: *ILP2* \* : ukuran lebih besar dibandingkan non-transgenik vert : vertikal, horz : horizontal

|                     | Maks (mm) |        | Rerata (mm)   |               | Standar deviasi |      | Jumlah buah |
|---------------------|-----------|--------|---------------|---------------|-----------------|------|-------------|
|                     | vert      | horz   | vert          | horz          | vert            | horz |             |
| Non-transgenik      | 20,64     | 22,27  | 16,24         | 15,65         | 1,66            | 2,16 | 40          |
| 35S:: <i>ILP2-1</i> | 19,26     | 19,98  | <b>16,42*</b> | <b>15,69*</b> | 1,37            | 1,73 | 51          |
| 35S:: <i>ILP2-2</i> | 18,39     | 20,59  | 14,94         | 15,13         | 1,72            | 2,13 | 28          |
| 35S:: <i>ILP2-4</i> | 19,68     | 119,11 | <b>16,34*</b> | 15,61         | 2,09            | 1,84 | 31          |
| 35S:: <i>ILP2-5</i> | 20,09     | 18,62  | <b>16,46*</b> | 15,36         | 1,93            | 1,37 | 30          |
| 35S:: <i>ILP2-8</i> | 18,14     | 16,37  | 15,41         | 14,11         | 1,59            | 1,62 | 14          |
| 35S:: <i>ILP2-9</i> | 17,51     | 16,86  | 16,10         | <b>15,81*</b> | 1,17            | 0,79 | 14          |

Hasil pengamatan ‘Micro-Tom’ transgenik hasil transformasi gen *ILP5* menggunakan promotor 35S Jika dibandingkan dengan ‘Micro-Tom’ non-transgenik menunjukkan bahwa terdapat dua lini ‘Micro-Tom’ transgenik yang memiliki rerata ukuran vertikal atau horizontal yang lebih tinggi yaitu 35S::*ILP5-3* dan 35S::*ILP5-6* (Tabel 5).

Tabel 5. Pengamatan morfologi buah ‘Micro-Tom’ 35S:: *ILP5* \* : ukuran lebih besar dibandingkan non-transgenik vert : vertikal, horz : horizontal.

|                     | Maks (mm) |       | Rerata (mm)   |               | Standar deviasi |      | Jumlah buah |
|---------------------|-----------|-------|---------------|---------------|-----------------|------|-------------|
|                     | vert      | horz  | vert          | horz          | vert            | horz |             |
| Non-transgenik      | 20,64     | 22,27 | 16,24         | 15,65         | 1,66            | 2,16 | 40          |
| 35S:: <i>ILP5-3</i> | 20,14     | 21,48 | <b>17,71*</b> | <b>16,04*</b> | 1,58            | 2,28 | 29          |
| 35S:: <i>ILP5-6</i> | 24,22     | 19,04 | <b>17,06*</b> | 15,08         | 2,10            | 2,11 | 30          |

Kalus atau tunas yang berhasil ditransformasi mampu bertahan dalam media seleksi kanamisin 100 mg l<sup>-1</sup> untuk tahap induksi kalus/induksi tunas dan media seleksi kanamisin 50 mg l<sup>-1</sup> untuk induksi akar (*root*) Ketahanan tersebut diperoleh karena pada gen *ILP* yang disisipkan mengandung gen *NPT II* (*neomycin phosphotransferase*) yang merupakan kelompok antibiotika aminoglikosida, yaitu kanamisin. Bila kalus ‘Micro-Tom’ yang telah ditransformasi memiliki gen ini, maka gen tersebut akan menyebabkan terjadinya transfer gugus fosfat dari ATP ke molekul antibiotika yang mengakibatkan detoksifikasi antibiotika sehingga kalus atau tunas mampu tumbuh dan beregenerasi dalam media seleksi kanamisin. Friedberg (1998) menyatakan bahwa tanaman hasil transformasi (transforman) yang tetap hidup pada media antibiotika tertentu sebagai



media seleksi selanjutnya dianggap sebagai tanaman yang diduga positif (kandidat transgenik).

Di dalam media kultur *in vitro* terkandung unsur-unsur hara makro dan mikro, vitamin, serta zat pengatur tumbuh (ZPT) atau fitohormon. Fitohormon merupakan senyawa organik bukan hara yang berfungsi untuk mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Peranan fitohormon berkaitan dalam proses organogenesis. Organogenesis adalah proses perkembangan dimana sel atau sekelompok sel dapat diinduksi untuk berdiferensiasi menjadi tunas (*shoot*) atau akar (*root*). Sitokinin yang digunakan dalam penelitian ini adalah zeatin yang mempengaruhi pembelahan sel, mendorong pertumbuhan secara umum dan pembentukan tunas.

Penelitian ini menggunakan dua jenis promoter yaitu promoter 35S dan promoter 2A11. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa penggunaan promoter 35S memiliki persentase keberhasilan transformasi 18.42% (*35S::ILP1*), 21.43% (*35S::ILP2*) dan 10.26% (*35S::ILP5*). Hasil konfirmasi amplifikasi PCR pada Gambar 4.8 menunjukkan bahwa enam lini tanaman transgenik pada konstruksi dengan *ILP2* (pita 500 bp) dan dua lini tanaman transgenik pada konstruksi dengan *ILP5* (pita 250 bp). Data pengamatan ukuran buah (Tabel 4.4) juga menunjukkan bahwa penggunaan promoter 35S pada *ILP2* terdapat tiga tanaman dari enam tanaman transgenik (50%) yang memiliki rerata buah lebih besar (vertikal dan horizontal) dibandingkan dengan tanaman non-transgenik. Pada konstruksi dengan *ILP5* (Tabel 4.5) terdapat dua tanaman dari dua lini tanaman transgenik (100%) memiliki rerata ukuran buah lebih besar (vertikal dan horizontal) dibandingkan dengan tanaman non-transgenik. Meskipun persentase ukuran buah ‘Micro-Tom’ transgenik yang lebih besar dari non-transgenik cukup besar (50% dan 100%), namun nilai keduanya tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa promoter 35S bersifat konstitutif (selalu diekspresikan) pada transformasi gen *ILP2* dan *ILP5* pada tomat ‘MicroTom’. Gen *ILP2* dan *ILP5* dengan promoter 35S lebih banyak terekspresi pada daun ‘Micro-Tom’ karena lokasi dari gen *ILP2* dan *ILP5* berada di dalam kloroplas sehingga untuk tujuan perbesaran buah dianggap masih kurang maksimal.

Penggunaan promoter 2A11 menghasilkan persentase keberhasilan transformasi 19.07% (*35S::ILP1*), 15.56% (*35S::ILP2*), dan 12,50% (*35S::ILP5*). Hasil konfirmasi amplifikasi PCR pada Gambar 4.2 menunjukkan 13 lini tanaman transgenik pada

konstruksi dengan *ILP2* (pita 500 bp) dan tidak memiliki lini transgenik pada konstruksi dengan *ILP1* dan *ILP5*. Pada hasil pengamatan ukuran buah pada Tabel 4.3 (*2A11::ILP2*), hanya terdapat empat lini transgenik dari 13 lini transgenik yang memiliki rerata ukuran buah lebih besar dibandingkan dengan ukuran buah non-transgenik (30.77%). Meskipun promotor 2A11 sebagai promotor spesifik pada buah namun dari hasil penelitian ini belum menunjukkan peningkatan ukuran buah tomat ‘Micro-Tom’ yang nyata. Hal ini diduga karena lokasi gen *ILP2* yang berada pada kloroplas banyak terekspresi di dalam daun daripada di dalam buah sehingga peranan dari promotor 2A11 masih kurang maksimal dalam transformasi gen *ILP2* dalam upaya memperbesar ukuran buah tomat ‘Micro-Tom’ serta gen *ILP2* kurang sesuai untuk tujuan memperbesar ukuran buah tomat ‘MicroTom’.

## KESIMPULAN

Kalus ‘Micro-Tom’ dapat ditransformasi dengan gen *ILP* melalui *Agrobacterium tumefaciens* GV 3101 dan RK 2013. Persentase keberhasilan transformasi menggunakan promotor 35S sebesar 18.42% (*35S::ILP1*), 21.43% (*35S::ILP2*) dan 10.26% (*35S::ILP5*). Persentase keberhasilan transformasi menggunakan promotor 2A11 sebesar 19.07% (*35S::ILP1*), 15.56% (*35S::ILP2*), dan 12.50% (*35S::ILP5*). Dari data persentase keberhasilan transformasi tersebut maka dapat ditarik kesimpulan bahwa efisiensi transformasi gen *ILP1*, *ILP2*, dan *ILP5* menggunakan promotor 35S dan promotor 2A11 dengan menggunakan mediator *Agrobacterium tumefaciens* terendah adalah 10.26% dan tertinggi 21.43%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2011. Tanaman transgenik. Bioteknologi pertanian. [http://id.wikipedia.org/wiki/Tanaman\\_transgenik](http://id.wikipedia.org/wiki/Tanaman_transgenik). Diakses 7 Mei 2011.
- DalCorso, G., Pesaresi, P., Masiero, S., Aseeva, E., Schunemann, D., Finazzi, G., Joliot, P., Barbato, R., Leister, D. 2007. A complex containing PGRL1 and PGR5 is involved in the switch between linear and cyclic electron flow in *Arabidopsis*. *Cell* 132 (2) : 273-285.
- Frery, A. and Earle, E.D. 1996. An examination of factors affecting the efficiency of *Agrobacterium*-mediated transformation of tomato. *Plant Cell Rep.* 16: 235–240.



- Friedberg, J. 1998. Plant transformation. <http://www.uoguelph.ca/~jdbberg/plantran>.
- Hamzah, S. and Chupeau, Y. 1993. Re-evaluation of conditions for plant regeneration and *Agrobacterium*-mediated transformation from tomato (*Lycopersicon esculentum*). J. Exp. Bot. 44: 1837–1845.
- Hu, W. and Phillips, G.C. 2001. A combination of overgrowth-control and antibiotics improves *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation efficiency for cultivated tomato (*L. esculentum*). In Vitro Cell & Biol. 37: 12–18.
- Ling, H.Q., Kriseleit, D. and Gaal, M.G. 1998. Effect of ticarcillin/potassium clavulanate on callus growth and shoot regeneration in *Agrobacterium* mediated transformation of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). Plant Cell Rep. 17: 843–837.
- Park, S.H., Morris, J.L., Park, J.E., Hirschi, K.D. and Smith, R.H. 2003. Efficient and genotype - independent *Agrobacterium* - mediated tomato Transformation. J. Plant Physiol. 160: 1253–1257.
- Scott, J.W. and Harbaugh, B.K. 1989. “MicroTom”—a miniature dwarf tomato. Florida Agric. Exp. Station Circ. 370: 1–6.
- Sun HJ, Uchii S, Watanabe S, Ezura H. 2006. A highly efficient transformation protocol for ‘MicroTom’, a model cultivar for tomato functional genomics. Plant Cell Physiol. 47 (39) : 426-431.
- Van Roekel, J.S.C., Damm, B., Melchers, L.S. and Hoekema, A. 1993. Factors influencing transformation frequency of tomato (*Lycopersicon esculentum*) expressed sequence tags from the laboratory-grown miniature tomato. Plant Cell Rep. 12 : 644–647.
- Vidya, C.S.S., Manoharan, M., Kumar, C.T R., Savithri, H.S. and Sita, G.L. 2000. *Agrobacterium*-mediated transformation of tomato (*Lycopersicon esculentum* var. Pusa Ruby) with coat-protein gene of *Physalis mottle tymovirus*. J. Plant Physiol. 156 : 106–110.