

# RESPON BEBERAPA KULTIVAR KEDELAI TERHADAP TRANSFORMASI GENETIK MENGGUNAKAN *Agrobacterium tumefaciens*

## RESPONSE OF DIFFERENT SOYBEAN CULTIVARS ON GENETIC TRANSFORMATION MEDIATED BY *Agrobacterium tumefaciens*

Azeri Gautama Arifin<sup>1\*)</sup>, Takahiro Gondo<sup>2)</sup>, Ryo Akashi<sup>2)</sup>, Andy Soegianto<sup>1)</sup> dan Nur Basuki<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Malang 65145 Jawa Timur, Indonesia

<sup>2)</sup>Frontier Science Research Center, University of Miyazaki  
Miyazaki, Japan

<sup>\*)</sup>E-mail: [azeri\\_gautama@yahoo.com](mailto:azeri_gautama@yahoo.com)

### ABSTRAK

Kedelai adalah komoditas pangan penting di Indonesia setelah padi dan jagung. Penelitian dengan tujuan mengetahui kemampuan regenerasi masing-masing kultivar kedelai yang diuji sebagai indikator dalam menjadikan tanaman transgenik serta untuk mengetahui respon beberapa kultivar kedelai pada pelaksanaan transformasi genetik menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* telah dilaksanakan pada bulan Agustus – Oktober 2014 di Laboratorium *Bioresource*, Universitas Miyazaki, Jepang. Terdapat dua kegiatan utama yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu kultur kotiledon dan transformasi genetik. Penelitian kultur kotiledon dianalisis menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap), perlakuan berupa kultivar dengan ulangan sebanyak tiga kali. Pada penelitian transformasi genetik, data yang diperoleh dianalisis menggunakan perhitungan persentase efisiensi transformasi dan persentase intensitas ekspresi gen GUS. Hasil analisis pembentukan *multiple shoot* menunjukkan bahwa pada dasarnya semua kultivar dapat menghasilkan *multiple shoot* meskipun jumlah dan panjangnya beragam. Hasil uji ragam (ANOVA) jumlah eksplan yang menghasilkan *multiple shoot* adalah tidak berbeda nyata antar perlakuan, sedangkan pada analisis jumlah *multiple shoot* yang dihasilkan per eksplan terdapat perbedaan yang nyata pada uji F dengan taraf 5%. Kultivar Detam memiliki rerata *multiple shoot* per eksplan tertinggi dengan rerata sebesar 9.93. Pada analisis keberhasilan transformasi, dapat diketahui bahwa semua

kultivar memiliki persentase efisiensi transformasi yang tinggi. Meskipun demikian, Willis adalah kultivar yang memiliki persentase efisiensi transformasi tertinggi yaitu sebesar 84%. Sedangkan pada persentase ekspresi gen GUS kuat, Williams 82 adalah kultivar yang memiliki persentase tertinggi yaitu sebesar 67.6%. Oleh karena itu, Kultivar Willis dan Williams 82 dapat dijadikan sebagai pilihan yang baik dalam melakukan transformasi genetik.

Kata kunci: Kedelai, Transformasi Genetik, GUS, Kultur Kotiledon

### ABSTRACT

Soybean is an important food commodities in Indonesia after rice and corn. The purpose of this research was to analyse the regeneration ability of Indonesian soybean's cultivars as indicators to make a genetically modified crops and to analyse the response of some cultivars of soybean in genetic transformation mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. This research was carried out in the laboratory of BioResource, Miyazaki, Japan from August to October 2014. There are two main activities in this study, cotyledon culture and genetic transformation. The data of cotyledon culture were analyzed using the Completely Randomized Design. There were seven treatment (cultivars) and three times of replications. The data of genetic transformation were analyzed using the percentage of transformation efficiency and the percentage of intensity of GUS staining. All cultivars can produce multiple shoot although the number and length of multiple

shoots are different. The results of the ANOVA shows that the number of explant that produces multiple shoot are not significantly different between the treatments. Whereas, in the analysis of multiple shoot that generated per explant, there is a significantly different on the F-test (5%). Based on the DMRT test, Detam has highest rate of *multiple shoot* per explant with 9.93. Based on analysis of genetic transformation, Willis has the highest percentage in the analysis of transformation efficiency with 84%. Meanwhile, Williams 82 is the cultivar that has the highest result in analysis of strong GUS staining which amounted 67.6%.

Keywords: Soybean, Genetic Transformation, GUS, Cotyledone Culture

## PENDAHULUAN

Kebutuhan kedelai terus meningkat sebagai konsekuensi kesadaran masyarakat terhadap menu makanan yang bergizi. Data statistik pada BPS (2014) menunjukkan bahwa kebutuhan kedelai pada tahun 2013 mencapai 2,5 juta ton, sementara produksi dalam negeri hanya dapat memenuhi kebutuhan masyarakat sebesar 807.568 ton. Hal ini menunjukkan bahwa Indonesia masih mengalami defisit yang cukup besar dalam memenuhi kebutuhan kedelai dalam negeri. Pemenuhan kebutuhan akan kedelai dapat melalui program intensifikasi dan ekstensifikasi. Salah satu cara yang dapat dilakukan dalam program intensifikasi adalah penggunaan bibit unggul, namun sayangnya Indonesia memiliki masalah dalam penyediaan bibit unggul dikarenakan produktivitas yang rendah (Woo *et al.*, 2011).

Kemajuan teknologi pertanian, khususnya bidang bioteknologi memberi peluang untuk merakit kultivar tanaman sesuai yang kita harapkan melalui proses transformasi genetik yaitu dengan cara menyisipkan gen asing ke dalam genom tanaman. Gen asing yang disisipkan tidak hanya terbatas dalam satu spesies melainkan dapat juga dari ordo lain (Webb dan Morris, 1992). Terdapat dua metode yang sering digunakan dalam pelaksanaan

transformasi kedelai, yaitu transformasi dengan menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* dan transformasi dengan menggunakan *particle bombardment*. Metode transformasi dengan perantara *Agrobacterium* merupakan metode yang sederhana dan tidak membutuhkan peralatan khusus jika dibandingkan dengan menggunakan *particle bombardment* (Hansen dan Wright, 1999).

Kedelai adalah tanaman dikotiledon dan merupakan inang dari *Agrobacterium*, namun spesies ini telah dibuktikan sulit untuk ditransformasi menggunakan vektor biologis ini. Interaksi antara tanaman dan bakteri yang tepat harus diutamakan dalam proses transformasi karena DNA harus diintroduksi ke dalam sel yang tidak hanya rentan terhadap *Agrobacterium* tetapi juga mampu beregenerasi (Gelvin, 2003). Jenis jaringan, umur tanaman, genotip, dan kerentanan terhadap *Agrobacterium* berperan penting dalam efektifitas infeksi bakteri (Farias dan Ana, 2008).

Beberapa penelitian transformasi kedelai telah berhasil dilakukan dan dipublikasikan oleh para peneliti di dunia (Herman *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2004; Madan Wu, 2008; Lee *et al.*, 2012). Beberapa kultivar kedelai yang telah berhasil ditransformasi menggunakan *Agrobacterium* diantaranya adalah Jack, Williams 82, Heihe, Heinong, Yuechun, Thorne dan Zhonghuang (Paz *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2013). Meskipun demikian, belum ada laporan yang menjelaskan tentang respon kultivar kedelai komersial di Indonesia terhadap transformasi genetik. Terdapat beberapa pertanyaan yang perlu dijawab untuk maksud penelitian ini, diantaranya adalah a) apakah kultivar kedelai Indonesia mampu ditransformasi menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*?; b) apakah terdapat perbedaan persentase keberhasilan transformasi antar kultivar?; c) apakah terdapat perbedaan kemampuan regenerasi antar kultivar kedelai Indonesia?. Oleh karena itu, perlu diadakan pengujian mengenai respon pada beberapa kultivar kedelai di Indonesia terhadap transformasi genetik dengan menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*.

## BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioresearch, Miyazaki, Jepang pada bulan Agustus hingga Oktober 2014. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kotiledon dari kedelai kultivar Williams 82, Wilis, Grobogan, Detam 2, Dering, Argomulyo, dan Anjasmoro; HCl, clorox, media SIM, media CM, media YEP, NaOH, SDW, strain bakteri EHA105, vector pB7WG, pBS, vetanole,  $K_3Fe(CN)_5$ ,  $K_4Fe(CN)_6$ , TrifonX, dan X-Gluc.

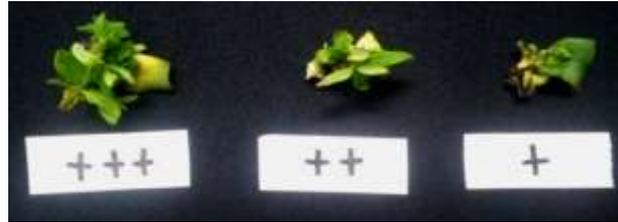
Terdapat dua kegiatan utama yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu kultur kotiledon dan transformasi genetik. Penelitian kultur kotiledon dilakukan untuk mengetahui kemampuan regenerasi masing-masing kultivar yang diuji sedangkan transformasi genetik dilakukan untuk mengetahui efisiensi transformasi serta intensitas ekspresi gen GUS yang dihasilkan. Metode pelaksanaan kultur kotiledon dilakukan dengan cara menumbuhkan kotiledon dari beberapa kultivar dalam media SIM selama 21 hari kemudian diamati pertumbuhan *multiple shoot*-nya. Sedangkan pelaksanaan transformasi genetik dilakukan dengan cara mengkulturkan *strain* bakteri EHA105 yang telah terinduksi dengan vektor pB7WG dengan *reporter gene* berupa gen GUS dan menginfeksikannya ke dalam eksplan (kotiledon). Kotiledon yang telah terinfeksi dikulturkan pada media CM selama tujuh hari kemudian dilakukan uji gen GUS menggunakan larutan X-Gluc.

Penelitian diawali dengan persiapan eksplan untuk kultur kotiledon dan transformasi genetik. Benih kedelai yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu dengan menggunakan uap dari HCl dan Sodium hipochlorite selama  $\pm 20$  jam didalam *Safety cabinet*. Kemudian benih dilembabkan dengan cara dimasukkan ke dalam kotak yang berisi air steril sebanyak 30 ml dan disimpan didalam *cold room* yang bersuhu  $4-6^\circ C$  selama 3-5 hari. Benih yang telah dilembabkan kemudian dimasukkan dalam petridish dan diletakkan diatas *hard wiping* yang telah dibasahi dengan 15 ml SDW kemudian ditutup dengan *hard wiping*

kembali dan dibasahi dengan SDW sebanyak 15 ml. Benih direndam selama 1 hari dan disimpan didalam incubator yang bersuhu  $26-27^\circ C$ .

Pada kegiatan kultur kotiledon, benih dipotong pada bagian hilumnya sehingga menjadi 2 bagian kemudian hipokotil dipotong dan kulit biji dibuang. Kemudian, dibelah kembali menjadi dua sehingga menghasilkan dua kotiledon dari satu benih. Setelah pemotongan, eksplan ditanam dalam media SIM dengan kemiringan penanaman sebesar  $45^\circ$ . Eksplan ditumbuhkan dalam ruang kultur yang bersuhu  $28-29^\circ C$  selama 21 hari.

Pada kegiatan transformasi genetik, hal pertama yang dilakukan adalah inokulasi bakteri dengan cara mengambil *Agrobacterium tumefaciens* menggunakan jarum inokulum (ose) dan mencorengnya (*streaking*) pada media YEP padat. Kemudian media yang telah tercoreng dengan *Agrobacterium tumefaciens* tersebut disimpan di inkubator dengan suhu  $26-27^\circ C$  selama 3 hari. Kemudian dilakukan kultur bakteri dengan cara memasukkan *single colony* dari hasil *streaking Agrobacterium tumefaciens* ke dalam media YEP cair dan dikocok dengan kecepatan 110 rpm selama 24-26 jam didalam incubator dengan suhu  $27^\circ C$  hingga *optical density* pada 650 nm ( $OD_{650}$ ) mencapai 0.7-0.8. Kemudian Silwet 77 ditambahkan dalam *Agrobacterium tumefaciens* untuk menurunkan tekanan permukaan pada *Agrobacterium tumefaciens* sehingga meningkatkan keberhasilan transformasi. Kegiatan berikutnya adalah infeksi kotiledon dengan cara menggosokkan *microbrush* yang telah dicelupkan kedalam *Agrobacterium tumefaciens* pada kotiledon. Kotiledon yang telah diinfeksi kemudian dikulturkan di media CM yang telah dilapisi dengan *filter paper*. Kotiledon dikulturkan di dalam ruang kultur dengan suhu  $29^\circ C$  selama 7 hari. Kotiledon yang telah dikulturkan dipotong menjadi dua dan diambil bagian *cotiledone node*-nya lalu dimasukkan ke dalam larutan GUS *assay*. Kemudian *cotiledone node* beserta larutan GUS *assay* disimpan didalam inkubator dengan suhu  $37^\circ C$  selama 1 hari.



**Gambar 1** Kriteria dasar pengamatan panjang *shoot*

Untuk mempermudah pengamatan, *cotyledone node* yang telah diuji dimasukkan kedalam ethanol 99% selama 10 jam. Hal ini menyebabkan warna dari kotiledon menjadi lebih putih pucat sehingga warna biru dari gen GUS menjadi lebih jelas.

Penelitian kultur kotiledon dianalisis menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap), perlakuan berupa kultivar dengan ulangan sebanyak tiga kali. Data yang didapatkan selanjutnya dianalisis menggunakan analisis ragam (uji F) dengan taraf 5% dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Peubah yang diamati adalah jumlah eksplan yang memiliki *multiple shoot*, *multiple shoot* per eksplan, dan panjang *shoot*. Pada peubah panjang *shoot*, planlet dibagi menjadi tiga golongan yaitu pendek (+), panjang (++), dan sangat panjang (+++) (Gambar 1). Panjang *shoot* untuk (+) adalah  $10 \pm 2$  mm, (++) adalah  $15 \pm 2$  mm, dan (+++) adalah  $20 \pm 2$  mm. Sedangkan pada penelitian transformasi genetik, data yang diperoleh dianalisis menggunakan perhitungan persentase efisiensi transformasi dan intensitas ekspresi gen GUS kemudian dilanjutkan dengan pengelompokan hasil analisa seperti berikut: a) 0-50% : Efisiensi Transformasi Rendah (R); b) 51-100% : Efisiensi Transformasi Tinggi (T); c) 0-50% : intensitas ekspresi gen GUS kuat Rendah (R); d) 51-100% : intensitas ekspresi gen GUS kuat Tinggi (T).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian kultur kotiledon menunjukkan bahwa pada dasarnya semua kultivar dapat menghasilkan *multiple shoot* meskipun jumlah dan panjangnya beragam. Pada hasil uji ragam (ANOVA) jumlah eksplan yang menghasilkan *multiple shoot*,

tidak berbeda nyata antar perlakuan. Sedangkan pada analisis jumlah *multiple shoot* yang dihasilkan per eksplan, diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada uji F dengan taraf 5%. Detam memiliki rerata *Multiple shoot* per eksplan tertinggi, sedangkan Grobogan adalah yang terendah. Pada analisis panjang *shoot*, planlet dari kultivar Wilis adalah yang terpanjang. Hasil penelitian kultur kotiledon dapat dilihat pada Tabel 1.

Regenerasi tanaman sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah jenis eksplan, genotip kultivar kedelai, kondisi lingkungan dan komposisi media tanam yang digunakan (Pardal, 2002). Genotip kultivar kedelai merupakan faktor terpenting pada regenerasi kedelai terutama yang ditumbuhkan melalui kultur jaringan. Hal ini dikarenakan perbedaan genotip tanaman turut mempengaruhi pemilihan hormon pertumbuhan (Joyner *et al.*, 2010). Pada penelitian ini, jenis eksplan, kondisi lingkungan dan komposisi media tanam yang digunakan adalah sama atau homogen untuk semua perlakuan (kultivar), sehingga faktor yang membedakan hasil analisis regenerasi tanaman hanyalah genotip tanaman.

Ukuran benih kedelai yang digunakan sebagai bahan tanam atau eksplan juga dapat mempengaruhi viabilitas dan vigor benih kedelai. Hasil penelitian Asrar (2013) menunjukkan ukuran benih kedelai berpengaruh terhadap viabilitas dan vigor pada tolak ukur daya berkecambah, potensi tumbuh maksimum, keserempakan tumbuh dan indeks vigor. Benih yang berukuran besar dapat menghasilkan bibit yang cepat pertumbuhannya dibandingkan yang berukuran kecil karena benih yang berukuran besar memiliki cadangan makanan yang lebih banyak sehingga akan

menghasilkan bibit yang lebih besar (Ichsan *et al.*, 2013). Sedangkan menurut Thelma dan Mitchell (1990), varietas benih yang memiliki ukuran benih kecil memiliki daya kecambah dan daya simpan yang tinggi dibandingkan dengan benih besar. Didukung dengan pernyataan dari Mugnisjah *et al.* (1987) bahwa benih yang berukuran kecil mempunyai viabilitas lebih tinggi karena kerusakan membran yang dialaminya lebih ringan daripada benih berukuran besar. Hal ini menunjukkan bahwa benih yang berukuran besar mempunyai kulit benih yang lebih peka terhadap kerusakan membran.

Pada penelitian ini, hasil dari kultur kotiledon mendukung pernyataan dari Thelma dan Mitchell (1990). Benih yang memiliki ukuran atau bobot kecil menghasilkan tanaman yang memiliki kemampuan regenerasi lebih baik dibandingkan dengan tanaman yang berasal dari benih besar. Kultivar Grobogan adalah kultivar yang memiliki bobot 100 benih terbesar yaitu 18 gram, sedangkan kultivar lain memiliki bobot 100 benih bervariasi dengan rentang bobot sebesar 10-15 gram seperti yang ditunjukkan pada Lampiran 3. Hal ini dapat menjelaskan bahwa perbedaan kemampuan regenerasi masing-masing kultivar diakibatkan oleh perbedaan ukuran benih. Hal ini pula yang dapat menjelaskan mengapa kultivar Grobogan memiliki kemampuan regenerasi yang lebih rendah dibandingkan dengan kultivar-kultivar lainnya.

Pada hasil analisis efisiensi transformasi (Tabel 1), kultivar Wilis memiliki persentase tertinggi yaitu sebesar 84% sedangkan Detam memiliki persentase terendah yaitu sebesar 58%. Rendahnya efisiensi transformasi pada tanaman biasanya dibarengi dengan rendahnya kemampuan beregenerasi terutama jika melalui kalus (Farias dan Ana, 2008). Menurut Bhat *et al.* (2002), efisiensi transformasi dipengaruhi oleh kemajuan kultur jaringan dan teknologi transformasi. Kultur jaringan sangat dibutuhkan dalam sebagian besar kegiatan transformasi untuk memulihkan tanaman setelah infeksi. Selain itu, efisiensi transformasi juga dipengaruhi oleh genotip tanaman, vigor eksplan, strain

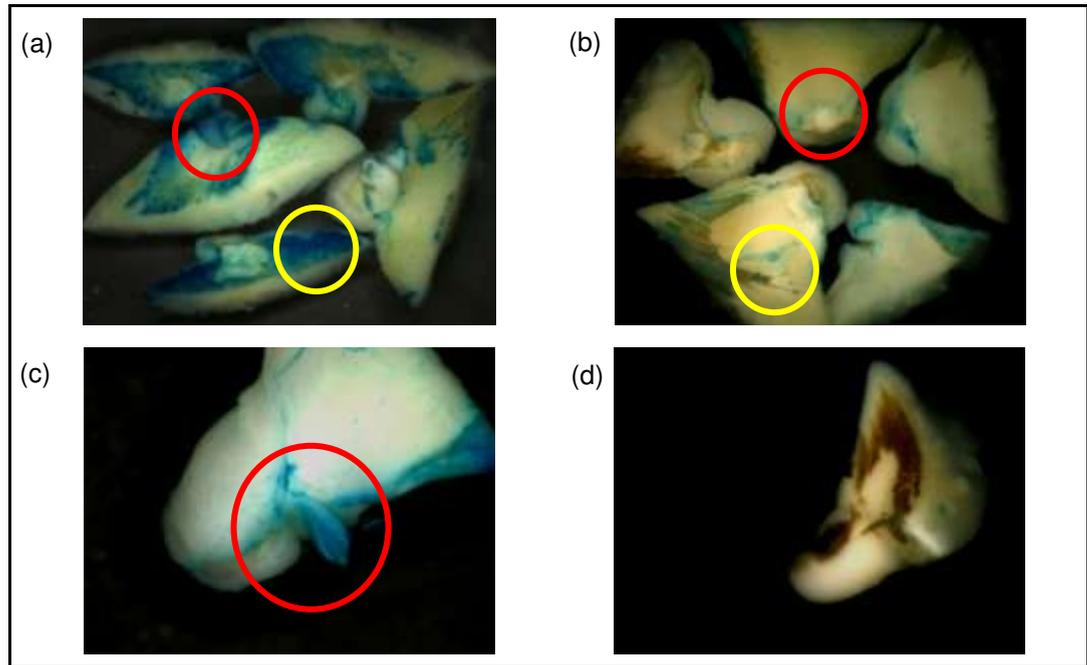
*Agrobacterium*, vektor, sistem seleksi dan kondisi kultur (Santarem *et al.*, 1998 dan Zhang *et al.*, 2000).

Hasil *cotyledone node* yang berhasil ditransformasi dibagi menjadi dua yaitu *cotyledone node* yang memiliki intensitas ekspresi gen GUS kuat dan lemah (Gambar 2). *Cotyledone node* dengan intensitas ekspresi gen GUS kuat memiliki banyak sel yang tertransformasi sehingga dapat meningkatkan kemampuan beregenerasi lebih tinggi. Oleh karena itu, perbedaan hasil transformasi genetik berdasarkan intensitas ekspresi gen GUS perlu dilakukan.

Pada analisis ekspresi gen GUS berdasarkan intensitasnya (Gambar 2), dapat diketahui bahwa Williams 82 memiliki persentase ekspresi gen GUS kuat tertinggi yaitu sebesar 67.6% sedangkan Grobogan adalah kultivar yang memiliki ekspresi gen GUS kuat terendah yaitu sebesar 27.5%. Ekspresi berupa bintik biru yang dihasilkan dalam penelitian ini disebabkan oleh pembelahan enzimatik pada substrat artificial saat dilakukan uji gen GUS menggunakan X-Gluc. Ekspresi yang disebabkan penambahan gen GUS pada intron tanaman ini hanya muncul pada jaringan tanaman (Ohta *et al.*, 1990).

Penggunaan gen GUS sebagai *reporter gene* banyak dilakukan dikarenakan ekspresi gen tersebut mudah untuk diamati dengan uji fluorometrik. Metode pengujian ini relatif tidak mahal, dan merupakan metode yang sensitif untuk menguji ekspresi gen meskipun dalam penggunaannya jaringan yang telah diuji tidak dapat dianalisis kembali dikarenakan pengujian ekspresi gen GUS bersifat destruktif (Farias dan Ana, 2008).

Meskipun dari hasil analisis efisiensi transformasi dan regenerasi tanaman pada beberapa kultivar menunjukkan hasil yang berbeda. Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa semua kultivar memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi pada persentase eksplan yang menghasilkan *multiple shoot*. Namun pada rerata *multiple shoot* per eksplan, Detam adalah kultivar yang memiliki rerata tertinggi. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa Detam adalah



**Gambar 2** Klasifikasi standar intensitas ekspresi gen GUS

Keterangan: a) Ekspresi gen GUS kuat pada kotiledon (lingkar kuning) dan *cotyledon node* (lingkar merah) kultivar Detam yang dicirikan dengan warna biru gelap (perbesaran 20x); b) Ekspresi gen GUS lemah pada kotiledon (lingkar kuning) dan *cotyledon node* (lingkar merah) kultivar Grobogan yang dicirikan dengan warna biru muda (perbesaran 20x); c) ekspresi gen GUS kuat pada *cotyledon node* kultivar Argomulyo yang dicirikan dengan terdapatnya warna biru pada hipokotil (perbesaran 50x); d) kotiledon dan *cotyledone node* yang tidak tertransformasi pada kultivar Argomulyo yang dicirikan dengan tidak terdapatnya bercak biru (perbesaran 30x).

**Tabel 1** Hasil Transformasi Genetik

| Kultivar    | Kemampuan Regenerasi Tanaman |                    |               | Keberhasilan Transformasi Genetik |                           |
|-------------|------------------------------|--------------------|---------------|-----------------------------------|---------------------------|
|             | Rerata MS Eksplan (%)        | Rerata MS /Eksplan | Panjang Shoot | ET (%)                            | Ekspresi Gen GUS Kuat (%) |
| Williams 82 | 90                           | 7.07ab             | +             | 74 (T)                            | 67.6 (T)                  |
| Grobogan    | 74.7                         | 7.5ab              | ++            | 80 (T)                            | 27.5 (R)                  |
| Argomulyo   | 76.7                         | 4.77a              | ++            | 72 (T)                            | 33.3 (R)                  |
| Anjasmoro   | 82.3                         | 6.57ab             | +++           | 68 (T)                            | 55.9 (T)                  |
| Detam       | 80.7                         | 9.93b              | ++            | 58 (T)                            | 62.1 (T)                  |
| Dering      | 79.5                         | 7.03ab             | +             | 74 (T)                            | 51.4 (T)                  |
| Wilis       | 75.3                         | 7.63ab             | ++            | 84 (T)                            | 54.8 (T)                  |

Keterangan:

- Rerata MS eksplan (%) adalah rerata eksplan yang menghasilkan *multiple shoot* dalam persen.
- Rerata MS/eksplan adalah rerata *multiple shoot* yang dihasilkan per eksplan.
- ET (%) adalah persentase efisiensi transformasi
- Ekspresi gen GUS kuat (%) adalah persentase *cotyledone node* yang memiliki ekspresi gen GUS kuat seperti pada Gambar 5 (a-b).
- Pengelompokan hasil analisa keberhasilan transformasi:
  - 0-50% : Efisiensi Transformasi Rendah (R)
  - 51-100% : Efisiensi Transformasi Tinggi (T)
  - 0-50% : intensitas ekspresi gen GUS kuat Rendah (R)
  - 51-100% : intensitas ekspresi gen GUS kuat Tinggi (T)

kultivar yang memiliki kemampuan regenerasi tertinggi.

Tabel 1 juga dapat menjelaskan bahwa semua kultivar memiliki persentase efisiensi transformasi yang tinggi. Meskipun demikian, Willis adalah kultivar yang memiliki persentase efisiensi transformasi tertinggi. Sedangkan pada persentase ekspresi gen GUS kuat, Williams 82 adalah kultivar yang memiliki persentase tertinggi. Oleh karena itu, Kultivar Willis dan Williams 82 dapat dijadikan sebagai pilihan yang baik dalam melakukan transformasi genetik.

Berdasarkan hasil analisa kemampuan regenerasi tanaman dan keberhasilan transformasi genetik, dapat disimpulkan bahwa bentuk morfologi *shoot* tidak dapat dijadikan tolak ukur untuk regenerasi tanaman dan keberhasilan transformasi genetik.

### KESIMPULAN

Terdapat perbedaan kemampuan regenerasi tanaman pada masing-masing kultivar yang diuji. Kultivar Detam memiliki kemampuan regenerasi terbaik dan memiliki peluang yang baik dalam dijadikan sebagai tanaman transgenik. Terdapat perbedaan keberhasilan transformasi genetik antar kultivar yang diuji. Kultivar Willis memiliki tingkat keberhasilan transformasi tertinggi dilihat dari efisiensi transformasinya. Sementara itu, Williams 82 memiliki keberhasilan transformasi tertinggi dilihat dari intensitas ekspresi gen GUS kuat. Sehingga kultivar Willis dan Williams memiliki peluang yang baik dalam dijadikan sebagai tanaman transgenik.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh Frontier Science Research Center, University of Miyazaki, Miyazaki, Jepang.

### DAFTAR PUSTAKA

**Asrar, A. 2013.** Pengaruh Ukuran Benih terhadap Produksi, Viabilitas dan Vigor dari dua Varietas Kedelai. Skripsi. Fakultas Pertanian

Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.

**Bhat, S., P. Maheswari, S. Kumar, dan A. Kumari. 2002.** Mentha Species: In Vitro Regeneration and Genetic Transformation. *Molecular Biology Today* 3(1): 11-23.

**BPS. 2014.** Kebutuhan Kedelai. <http://www.bps.go.id/>. Diakses tanggal 20 Februari 2014.

**Farias, P.C.M., dan L.S.C. Ana. 2008.** Advances in *Agrobacterium*-mediated Plant Transformation with Emphasis on Soybean. *Science Agriculture*. 65(1): 95-106.

**Herman, M., S.J. Pardal, E. Listanto, T.I.R. Utami, dan D. Damayanti. 2001.** Evaluasi Tanaman Kedelai Generasi R1 Hasil Transformasi dengan gen Proteinase Inhibitor II. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor.

**Gelvin, S.B. 200.** *Agrobacterium*-mediated Plant Transformation: The Biology Behind The "Gene-Jockeying" Tool. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 67(1):16-37.

**Hansen, G., dan M. S. Wright. 1999.** Recent advances in the transformation of plants. *Trends in Plant Science*. 4(6), 226-231.

**Ichsan, C.N., I.H. Agam, B. Lina. 2013.** Kajian Warna Buah dan Ukuran Benih terhadap Viabilitas Benih Kopi Arabika Varietas Gayo 1. *Jurnal Floratek* 8: 110-117.

**Joyner, E.Y., S. LaShonda, Boykin, dan A.L. Muhammad. 2010.** Callus Induction and Organogenesis in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cv. Pyramid from Mature Cotyledons and Embryos. *The Open Plant Science Journal*. 4:18-21.

**Lee, H., S.Y. Park, dan Z.J. Zhang. 2012.** An Overview of Genetic Transformation of Soybean. Chapter 23. Intech.

**Liu, HK., C. Yang, dan Z.M. Wie. 2004.** Efficient *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of soybeans using an embryonic Tip regeneration system. *Planta* 219:1042-1049.

- Ma, X.H., dan T.L. Wu. 2008.** Rapid and efficient regeneration in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] from whole cotyledonary node explants. *Acta Physiologiae Plantarum*. 30:209-216.
- Mugnisjah, W.Q., I. Shimano, dan S. Matsumoto. 1987.** Studies on The Vigour of Soybean Seeds: 1 Varietal Difference in Seed Vigour. *Journal Faculty of Agriculture. Kyushu University*. 31: 213-226.
- Ohta, S., S. Mita, T. Hattori, dan K. Nakamura. 1990.** Construction and Expression in Tobacco of a  $\beta$ -glucuronidase (GUS) Reporter Gene Containing an Intron within The Coding Sequence. *Plant Cell Physiology* 31: 805-813.
- Pardal, S.J. 2002.** Perkembangan Penelitian Regenerasi dan Transformasi pada Tanaman Kedelai. *Buletin AgroBio* 5(2): 37-44.
- Paz, M.M., C.M. Juan, B.K. Andrea, M.F. Tina, dan W. Kan. 2006.** Improved Cotyledonary Node Method Using an Alternative Explant Derived from Mature Seed for Efficient *Agrobacterium*-mediated Soybean Transformation. *Plant Cell Report* 25: 206-213.
- Santarem, E.R., H.N. Trick, J.S. Essig, dan J.J. Finer. 1998.** Sonication-assisted *Agrobacterium*-mediated transformation of soybean immature cotyledons: optimization of transient expression. *Plant Cell Reports* 17:752-759.
- Song, Z., J. Tian, W. Fu, L. Li, L. Lu, L. Zhou, Z. Shan, G. Tang, dan H. Shou. 2013.** Screening Chinese Soybean for *Agrobacterium*-mediated Genetic Transformation Suitability. *Journal of Zhejiang University-Science* 14(4): 289-298.
- Thelma, E.R. dan B.J. Mitchell. 1990.** Comparison of Seed Dispersal by Guenons in Kenya and Capuchins in Panama. *Journal of Tropical Ecology*. 7: 269-274.
- Webb, K.J., and P. Morris. 1992.** Methodologies of Plant Transformation. *Plant Genetic Manipulation for Crop Protection*.
- Woo, J.H., S.H. Kong, dan J.K. Soon. 2011.** Development of Efficient Transformation Protocol for Soybean (*Glycine max* L.) and Characterization of Transgene Expression after *Agrobacterium*-mediated Gene Transfer. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 54(1): 37-45.
- Zhang, Z., Z. Guo, H. Shou, S.E. Pegg, T.E. Clemente, P.E. Staswick, dan K. Wang. 2000.** Assessment of conditions affecting *Agrobacterium*-mediated soybean transformation and routine recovery of transgenic soybean. *Elsevier Science*. 5: 88-94.