

Transformasi Ubi Jalar dengan Gen *pinII* dan Gen *CP-SPFMV* melalui *Agrobacterium tumefaciens*

A. Dinar Ambarwati, Atmitri Sisharmini, Tri J. Santoso, M. Herman, dan Minantyorini

Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Perakitan varietas ubi jalar transgenik tahan hama atau penyakit dapat dilakukan dengan rekayasa genetika melalui teknologi transformasi. Pada tahun 2002 dilakukan penelitian transformasi ubi jalar dengan gen *pinII* atau *CP-SPFMV* untuk mendapatkan ketahanan terhadap hama boleng atau penyakit virus. Transformasi dilakukan dengan mengintroduksi gen *pinII* atau *CP-SPFMV* dengan teknik transformasi melalui *Agrobacterium tumefaciens*. Transformasi melalui *Agrobacterium* menggunakan strain LBA4404 yang berisi pGApin (*pinII*, *nptII*) atau plasmid biner pMON10574 atau pMON10575 yang berisi gen *CP-SPFMV*, *gus*, dan *nptII*. Eksplan daun dan petiol varietas Jewel dan BIS 182-81 digunakan sebagai jaringan target. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi asetosiringon 100 µM dan lama inokulasi 60 menit diketahui meningkatkan efisiensi transformasi dengan rata-rata spot biru sebesar 2,9-4,4 per eksplan pada transformasi dengan gen *CP-SPFMV* baik pada varietas Jewel maupun BIS 182-81. Media R2 (MS + 0,2 mg/l 2ip) lebih responsif dalam meregenerasikan eksplan petiol secara organogenesis pada transformasi ubi jalar dengan gen *pinII*. Sedangkan perlakuan dengan karborundum sebelum transformasi diperlukan untuk meningkatkan efisiensi transformasi pada eksplan petiol yang ditransformasi dengan gen *pinII*. Telah diperoleh 5 tanaman putatif transgenik varietas Jewel hasil transformasi dengan gen *CP-SPFMV* dan 21 tanaman varietas Jewel dengan gen *pinII*.

Kata kunci: Transformasi, ubi jalar, gen *pinII*, gen *CP-SPFMV*

ABSTRACT

The development of transgenic sweet potato resistant to pest and virus diseases can be done by genetic engineering through transformation techniques. In the year 2002 the experiment on sweet potato transformation was conducted to obtain their resistance to weevil *Cylas formicarius* and Sweet Potato Feathery Mottle Virus (SPFMV). Transformation was performed by introducing proteinase inhibitor (*pinII*) or coat protein (*CP*)-SPFMV genes with transformation techniques of *Agrobacterium tumefaciens*. Transformation through *A. tumefaciens* used LBA4404 strain containing pGApin (*pinII*, *nptII*) or binary plasmid pMON10574/pMON10575 containing *CP-SPFMV*, *gus*, and *nptII* genes. Explants from petiole and leaf pieces of sweet potato cv. Jewel and Bis 182-81 were used as target tissue. The results indicate that 100 µM of acetosyringone concentration and 60 minutes inoculation times could increase transformation efficiency, which the mean of blue spot was 2.9-4.4 per explant both on Jewel and Bis 182-81. R2 media (MS + 0.2 mg/l 2ip) more responsive in regenerating petiole explant transformed with *pinII* gene through organogenesis pathways. Pre treatment of explant before transformation by wounding with carborundum was needed to increase transformation efficiency on petiole explants. Transformation result in 5 putative transgenic plants of Jewel transformed with *CP-SPFMV* gene and 21 putative transgenic plants transformed with *pinII* gene.

Key words: Transformation, sweet potato, *pinII* gene, *CP-SPFMV* gene

PENDAHULUAN

Hama boleng (*Cylas formicarius*) merupakan salah satu hama penting yang menyerang tanaman ubi jalar dan mempunyai daerah penyebaran yang sangat luas. Gejala awal serangan hama ini berupa lubang-lubang kecil pada permukaan umbi, yang kemudian meluas ke bagian dalam dan menyebabkan umbi menjadi busuk dan terasa pahit. Serangan hama ini dapat menimbulkan kerugian yang sangat besar (60-100%) (Chalfont *et al.*, 1990). Di antara 15 macam penyakit virus pada ubi jalar, *Sweet Potato Feathery Mottle Virus* (SPFMV) merupakan penyakit virus utama yang menyerang daun dan menimbulkan bercak klorotik dengan tepi bercak berwarna ungu, dan tingkat kerusakan yang parah dapat menurunkan hasil hingga 30% (Nakano *et al.*, 1994).

Pengembangan varietas tahan terhadap hama maupun penyakit virus dengan rekayasa genetika, yaitu melalui teknologi transformasi merupakan alternatif yang tepat untuk pengendalian. Sebagian besar penelitian transformasi untuk menghasilkan tanaman yang tahan terhadap serangga, difokuskan pada protein yang mengandung kode gen tunggal, seperti *proteinase inhibitor (pin)* II (Ryan, 1990) karena protein dengan kode gen tunggal lebih mudah diintroduksi ke dalam tanaman. Sedangkan transformasi untuk menghasilkan tanaman yang tahan terhadap virus, dapat dilakukan dengan mengintroduksi gen *coat protein (cp)* virus tersebut.

Teknik transformasi dapat dibedakan atas transformasi secara tidak langsung melalui *Agrobacterium tumefaciens* dan transformasi secara langsung misalnya dengan mikroinjeksi, elektroporasi, protoplas maupun dengan penembakan partikel (Prakash dan Varadarajan, 1992; Songstad *et al.*, 1995; Oliveira *et al.*, 1996). Sistem transformasi dengan *A. tumefaciens* telah banyak digunakan karena efisien, relatif lebih murah, dan stabil dalam mengintroduksi suatu gen (Songstad *et al.*, 1995; Siemens dan Schieder, 1996; Gama *et al.*, 1996).

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam proses transformasi melalui *A. tumefaciens* adalah transfer T-DNA ke inti tanaman target, integrasi T-DNA tersebut ke genom tanaman target serta ekspresi gen yang ditransformasi (Chang *et al.*, 1992; Sheng dan Citovsky, 1996). Sedangkan kemampuan jaringan target untuk menerima gen asing dan kemampuan beregenerasi setelah ditransformasi merupakan faktor utama dalam mendukung produksi tanaman transgenik (Sanford *et al.*, 1993).

Penelitian transformasi ubi jalar tahun 2001 melalui penembakan partikel belum menghasilkan tanaman putatif transgenik, sedangkan melalui *A. tumefaciens* telah menghasilkan beberapa tanaman putatif transgenik yang ditransformasi dengan gen *pinII* atau gen *CP-SPFMV*. Untuk selanjutnya penelitian difokuskan pada transformasi melalui *A. tumefaciens* dengan memodifikasi beberapa parameter transformasi, dengan tujuan untuk

memperoleh jumlah tanaman transforman yang lebih banyak sehingga kemungkinan untuk mendapatkan tanaman transgenik akan lebih besar.

BAHAN DAN METODE

Kegiatan transformasi dicoba pada ubi jalar varietas Jewel dan BIS 182-81. Pada penelitian sebelumnya varietas Jewel telah berhasil diregenerasi dan ditransformasi, sedangkan Bis 182-81 sistem regenerasinya belum optimal. Strain *A. tumefaciens* yang digunakan adalah LBA4404. Transformasi untuk ketahanan terhadap hama menggunakan *Agrobacterium* strain LBA4404 yang mengandung pGA 643pin dan gen ketahanan terhadap antibiotik kanamisin. Sedangkan transformasi untuk ketahanan terhadap virus SPFMV menggunakan pMON10574-1 atau pMON10575-2 yang mengandung gen *nptII*, *uidA* dan *CP (Coat Protein)-SPFMV* dari Dr. Jeff M. Lowe (Monsanto, USA). Beberapa parameter transformasi diamati pada penelitian ini adalah perlakuan karborundum (0,1 g/20 ml MSO), konsentrasi asetosiringon (0, 100, 200 μ M), dan lama inokulasi (30 dan 60 menit).

Kultur *In Vitro* untuk Sumber Eksplan (*Mother Stock*)

Ubi jalar Jewel dan Bis 182-81 ditanam di rumah kaca. Tanaman dipotong-potong pada antarbuku batang sebagai eksplan dan dicuci sampai bersih. Sterilisasi dilakukan dengan alkohol 70% selama 30 detik dilanjutkan larutan HgCl₂ 0,05% selama 5-10 menit, NaClO 35% selama 15 menit, kemudian dicuci dengan akuades steril 3-4 kali. Setelah itu, eksplan dikulturkan pada media MSO (Murashiga Skoog tanpa zat pengatur tumbuh) sebagai sumber eksplan.

Kultur Suspensi Bakteri

Isolat *A. tumefaciens* yang mengandung plasmid pGA 643pin maupun pMON 10574-1 atau pMON10575-2, masing-masing ditumbuhkan pada media LB padat yang mengandung antibiotik kanamisin atau streptomisin selama 2 hari pada suhu 27°C. Satu ose koloni bakteri ditumbuhkan pada media LB cair yang mengandung antibiotik (kanamisin atau streptomisin) selama 24 jam pada suhu 27°C sambil digoyang kemudian 2 ml kultur bakteri tersebut ditumbuhkan pada 20 ml media LB cair selama 3 jam dan selanjutnya disentrifugasi serta diambil peletnya. Pelet bakteri dilarutkan dalam media MSO dengan OD = ± 1 dan siap dipakai untuk inokulasi.

Transformasi dan Regenerasi

Sebelum ditransformasi dengan gen *pinII*, sebagian eksplan daun dan petiol diperlakukan dengan karborundum 0,1 g/20 ml media MSO dan dishaker selama 1 menit. Proses transformasi dilakukan dengan merendam eksplan dalam suspensi bakteri selama 30 atau 60 menit dan ditransfer ke media ko-kultivasi 1/10 A3 (1/10 MS *basal salt* + 212,2 mg/l asam galakturonat + 3,9 g/l MES + 30 g/l sukrosa) dan diinkubasi selama 2-3 hari dalam kondisi

gelap. Setelah tahap ko-kultivasi eksplan dicuci dengan akuades steril dengan sefotaksim 250 mg/l dan sebagian akan diuji tingkat keberhasilan transformasinya dengan bufer *gus* (Jefferson *et al.*, 1987). Regenerasi kalus hasil transformasi dengan gen *pinII* dilakukan melalui jalur embriogenesis menggunakan media N1 = MS + 0,5 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin; N2 = MS + 1 mg/l NAA + 0,1 mg/l BAP; N3 = MS + vitamin Staba (Newell *et al.*, 1995) dan secara organogenesis menurut metode Gosukonda *et al.*, (1995) dengan media R1 = MS + 0,2 mg/l Kinetin dan R2 = MS + 0,2 mg/l 2ip. Sedangkan kalus hasil transformasi dengan gen *CP-SPFMV* diregenerasikan secara organogenesis. Pada masing-masing media yang digunakan ditambahkan 250 mg/l sefotaksim dan 50mg/l kanamisin sebagai seleksi. Kultur diinkubasi dalam 16 jam fotoperiodik hingga terbentuk planlet.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Transformasi Ubi Jalar dengan Gen *CP-SPFMV*

Dalam melakukan suatu transformasi gen, pengujian efisiensi/keberhasilan transformasi yang segera dapat dilakukan adalah dengan melakukan analisis histokimia menggunakan enzim β -glucuronidase (*gus*). Eksplan yang berespon positif pada uji *gus* ditandai dengan munculnya warna biru pada sel atau jaringan yang diuji, yang menunjukkan hasil transformasi positif. Uji ekspresi gen *gus* dilakukan pada eksplan petiol ubi jalar varietas Jewel dan Bis 182-81 pada satu bulan setelah ditransformasi. Tabel 1 menunjukkan hasil uji ekspresi gen *gus* dengan konsentrasi asetosiringon yang berbeda.

Asetosiringon merupakan senyawa fenolik yang biasa ditambahkan pada transformasi melalui *A. tumefaciens* untuk penyesuaian kondisi eksplan, sehingga siap ditransformasi dan meningkatkan efisiensi transformasi (Newell *et al.*, 1995). Berdasarkan jumlah spot biru per eksplan, penambahan asetosiringon 100 μ M dapat meningkatkan daerah/luas jaringan yang tertransformasi, meskipun jumlah eksplan yang positif lebih sedikit dibandingkan dengan penambahan asetosiringon 200 μ M. Penelitian Otani *et al.* (1998) menunjukkan dengan penambahan asetosiringon 10 mg/l (± 50 μ M)

Tabel 1. Uji ekspresi gen *gus* pada transformasi ubi jalar Bis 182-81 dan Jewel dengan gen *CP-SPFMV* dan konsentrasi asetosiringon yang berbeda pada satu bulan pengamatan setelah transformasi

Varietas	Asetosiringon (μ M)	Jumlah eksplan	Jumlah eksplan positif ¹	Jumlah spot biru ²
Bis 182-81	0	180	14 (7,8)	22 (1,6)
	100	180	26 (14,4)	114 (4,4)
	200	180	31 (17,2)	118 (3,8)
Jewel	0	180	24 (13,3)	51 (2,1)
	100	180	15 (8,3)	53 (3,5)
	200	180	23 (12,8)	51 (2,2)

Angka dalam kurung: ¹ = menyatakan persentase, ² = menyatakan rata-rata

pada media infeksi dan ko-kultivasi dapat meningkatkan jumlah spot biru pada eksplan kalus embriogenik ubi jalar kultivar Kokei 14 di-bandingkan tanpa asetosiringon.

Perlakuan perbedaan lama inokulasi (30 dan 60 menit) pada uji ekspresi gen *gus* disajikan pada Tabel 2. Inokulasi (perendaman eksplan dalam suspensi bak-teri) selama 60 menit memberikan hasil yang lebih baik terhadap jumlah eksplan positif (13-13,7%) dan jumlah spot biru (2,9-3,6) pada varietas Jewel dan Bis 182-81 dibandingkan dengan perlakuan 30 menit. Penambahan waktu perendaman kemungkinan meningkatkan peluang transformasi menjadi lebih besar. Menurut penelitian Lowe *et al.* (1994), hasil transformasi yang optimal diperoleh pada eksplan petiol ubi jalar dengan periode inokulasi 60 menit.

Materi/kalus yang tidak digunakan untuk uji *gus*, selanjutnya disubkultur dari media induksi kalus MS + 0,2 mg/l 2,4-D ke media regenerasi MS + 0,2 mg/l kinetin dengan menambahkan kanamisin 50 mg/l sebagai seleksi. Jalur regenerasi yang di-tempuh adalah secara organogenesis, di mana regenerasi dimulai dengan terben-tuknya kalus di sekeliling basal petiol, kemudian diikuti dengan tumbuhnya akar, dan tunas yang muncul dari bagian tengah kalus (Ambarwati *et al.*, 2000a). Tanpa penambahan asetosiringon, jumlah eksplan terseleksi dan jumlah eksplan berakar pada varietas Bis 182-81 lebih banyak dibandingkan perlakuan asetosiringon 100 dan 200 μ M. Namun demikian, regenerasi belum menghasilkan tunas (Tabel 3). Pada varietas Jewel diperoleh jumlah eksplan berakar terbanyak dan satu tunas dari perlakuan penambahan 100 μ M asetosiringon.

Pada lama inokulasi 30 maupun 60 menit, varietas Bis 182-81 belum

Tabel 2. Uji ekspresi gen *gus* pada transformasi ubi jalar dengan gen *CP-SPFMV* dengan perbedaan lama inokulasi pada 1 bulan pengamatan setelah transformasi

Varietas	Lama inokulasi (menit)	Jumlah eksplan	Jumlah eksplan positif ¹	Jumlah spot biru ²
Bis 182-81	30	270	19 (7,0)	42 (2,2)
	60	270	37 (13,7)	134 (3,6)
Jewel	30	270	20 (7,4)	34 (1,7)
	60	270	35 (13,0)	101 (2,9)

Angka dalam kurung: ¹ = menyatakan persentase, ² = menyatakan rata-rata

Tabel 3. Transformasi ubi jalar dengan gen *CP-SPFMV* dengan perbedaan konsentrasi asetosiringon

Varietas	Asetosiringon (μ M)	Jumlah eksplan	Jumlah eksplan terseleksi	Jumlah eksplan berakar	Jumlah tunas
Bis 182-81	0	240	109 (45,4)	13 (5,4)	0
	100	240	52 (21,7)	5 (2,1)	0
	200	240	61 (25,4)	4 (1,7)	0
Jewel	0	240	73 (30,4)	6 (2,5)	0
	100	240	56 (23,3)	18 (7,5)	1 (0,4)
	200	240	65 (27,1)	16 (6,7)	0

Seleksi: kanamisin 50 mg/l; angka dalam tanda kurung menyatakan persentase

dapat beregenerasi dan hanya menghasilkan eksplan berakar, sedangkan pada varietas Jewel dihasilkan satu tunas dari perlakuan perendaman 60 menit (Tabel 4). Tampaknya penambahan asetosiringon dan perlakuan lama inokulasi lebih berperan dalam meningkatkan efisiensi terjadinya transformasi daripada proses regenerasi.

Komposisi media regenerasi dan agen seleksi merupakan faktor penentu untuk mendapatkan tanaman putatif transgenik. Hanya eksplan yang dapat tum-buh/bertahan pada media seleksi yang dapat melanjutkan pertumbuhannya untuk beregenerasi membentuk tunas. Dua macam media regenerasi yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu R1 (MS + 0,2 mg/l kinetin) dan R2 (MS + 0,2 mg/l 2ip). Hasil regenerasi selengkapnya ditampilkan pada Tabel 5. Pada varietas Jewel, kalus dapat beregenerasi membentuk tunas pada media R1 maupun R2 (0,3-1,6%), sedangkan varietas Bis 182-81 belum menghasilkan tunas. Namun demikian, per-olehan jumlah tunas ini masih lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kontrol, eksplan ditumbuhkan pada media R1 atau R2 tanpa ditransformasi (30-70%). Penelitian Ambarwati *et al.* (2000b) pada studi regenerasi menghasilkan 32 tunas yang berasal dari 14 eksplan petiol. Dari penelitian ini telah diperoleh 5 tunas dari transformasi dengan gen *CP-SPFMV* dan telah diaklimatisasi di bak semai, untuk selanjutnya ditanam di rumah kaca.

Transformasi Ubi Jalar dengan Gen *pinII*

Regenerasi kalus ubi jalar yang ditransformasi dengan gen *pinII* dilakukan melalui jalur organogenesis dan embriogenesis menggunakan eksplan daun dan petiol ubi jalar varietas Jewel. Seperti halnya transformasi dengan gen *CP-SPFMV*, regenerasi secara organogenesis menggunakan dua

Tabel 4. Transformasi ubi jalar dengan gen *CP-SPFMV* dengan perbedaan lama inokulasi

Varietas	Lama inokulasi (menit)	Jumlah eksplan	Jumlah eksplan terseleksi	Jumlah eksplan berakar	Jumlah tunas
Bis 182-81	30	360	110 (30,6)	9 (2,5)	0
	60	360	114 (31,7)	13 (3,6)	0
Jewel	30	360	83 (23,1)	22 (6,1)	0
	60	360	111 (30,8)	18 (5)	1 (0,3)

Seleksi: kanamisin 50 mg/l; angka dalam kurung menyatakan persentase

Tabel 5. Transformasi ubi jalar dengan gen *CP-SPFMV* dengan perbedaan media regenerasi

Varietas	Media regenerasi	Jumlah eksplan	Jumlah kalus terseleksi	Jumlah kalus berakar	Jumlah tunas
Bis 182-81	R1	128	24 (18,8)	10 (7,8)	0
	R2	212	35 (16,5)	1 (0,5)	0
Jewel	R1	123	10 (8,1)	4 (3,3)	2 (1,6)
	R2	291	80 (27,5)	17 (5,8)	1 (0,3)

Seleksi: kanamisin 50 mg/l; R1 = MS + 0,2 mg/l kinetin; R2 = MS + 0,2 mg/l 2ip; angka dalam kurung menyatakan persentase

macam media, yaitu R1 (MS + 0,2 mg/l kinetin) dan R2 (MS + 0,2 mg/l 2ip). (Tabel 6). Pada media R1 dan R2, eksplan petiol menghasilkan 15,4-33,3% kalus yang dapat bertahan pada media seleksi dengan kanamisin 50 mg/l dan selanjutnya dapat beregenerasi membentuk 14 tunas. Sedangkan dari eksplan daun diperoleh 7 tunas atau 27% dari eksplan yang ditransformasi dapat beregenerasi menggunakan media R1. Penelitian tahun 2000 (Ambarwati *et al.*, 2000) menggunakan media dengan penambahan kinetin hanya menghasilkan 2,4% kalus daun yang bisa beregenerasi. Menurut Prakash dan Varadarajan (1992) petiol merupakan bagian tanaman ubi jalar yang lebih cocok atau sesuai digunakan untuk transformasi melalui *Agrobacterium tumefaciens*. Sebanyak 21 tunas hasil transformasi dengan gen *pinII* telah berhasil diaklimatisasi dan ditanam di rumah kaca Fasilitas Uji Terbatas (FUT).

Regenerasi kalus hasil transformasi melalui jalur embriogenesis disajikan pada Tabel 7. Eksplan daun dan petiol ditumbuhkan pada media induksi kalus N1 (MS + 0,5 mg/l 2,4-D + 0,1 mg/l kinetin) selama 3 minggu. Sebelum diinokulasi, sebagian eksplan diberi perlakuan karborundum 0,1 g/20 ml media MSO dan disaker selama 1 menit sedangkan eksplan yang lain tanpa perlakuan karborundum. Penambahan karborundum pada perlakuan ini dimaksudkan untuk menambah perlukaan pada eksplan sehingga akan memperbesar kemungkinan terjadinya transformasi (Ying *et al.*, 1999).

Pada eksplan daun, jumlah eksplan yang terseleksi dengan perlakuan tanpa karborundum sebesar 72,4% sedangkan pada perlakuan karborundum 26,9%. Hal ini diduga disebabkan karena jaringan daun bersifat lunak, sehingga dengan adanya pelukaan oleh karborundum menyebabkan rusaknya jaringan yang pada akhir-nya eksplan menjadi mati setelah ditransformasi. Pada eksplan petiol, jumlah eksplan terseleksi tanpa perlakuan karborundum sebesar 36,2%, sedangkan pada perlakuan karborundum 84,4%. Hal ini mungkin disebabkan sifat jaringan petiol lebih keras dibandingkan daun sehingga dengan bantuan pelukaan oleh karborundum akan memperbesar peluang terjadinya transformasi. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa karborundum diperlukan untuk pelukaan jaringan petiol sebelum dilakukan transformasi.

KESIMPULAN

1. Penambahan asetosiringon 100 μ M dan lama waktu inokulasi 60 menit pada transformasi dengan gen *CP-SPFMV* dapat meningkatkan efisiensi transformasi pada varietas Jewel dan BIS 182-81.
2. Media R2 (MS+ 0,2 mg/l 2ip) lebih responsif dalam meregenerasikan eksplan petiol secara organogenesis pada transformasi ubi jalar dengan gen

Tabel 6. Transformasi ubi jalar dengan gen *pinII* melalui jalur regenerasi secara organogenesis

Eksplan	Media	Jumlah Eksplan	Jumlah Kalus Terseleksi	Jumlah Tunas
Daun	R1	26	12 (46,2)	7 (26,9)
	R2	29	0	0
Petiol	R1	26	4 (15,4)	4 (15,4)
	R2	30	10 (33,3)	10 (33,3)

pGApin: *pinII*, *nptII*; seleksi: kanamisin 50 mg/l; R1 = MS + 0,2 mg/l kinetin; R2 = MS + 0,2 mg/l 2ip; angka dalam tanda kurung menyatakan persentase

Tabel 7. Transformasi ubi jalar dengan gen *pinII* melalui jalur regenerasi secara embriogenesis

Eksplan	Perlakuan	Jumlah eksplan	Jumlah eksplan terseleksi
Daun	Tanpa karborundum	29	21 (72,4)
	Karborundum	26	7 (26,9)
Petiol	Tanpa karborundum	58	21 (36,2)
	Karborundum	128	108 (84,4)

pGApin: *pinII*, *nptII*; seleksi: kanamisin 50 mg/l; angka dalam tanda kurung menyatakan persentase

- pinII*.
3. Perlakuan dengan karborundum sebelum transformasi diperlukan untuk meningkatkan efisiensi transformasi pada eksplan petiol yang ditransformasi dengan gen *pinII*.
 4. Telah diperoleh 5 tanaman ubi jalar putatif transgenik varietas Jewel hasil transformasi dengan gen *CP-SPFMV* dan 21 tanaman ubi jalar varietas Jewel dengan gen *pinII*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, A.D., A. Sisharmini, B. Santosa, M. Herman, dan Minantyorini. 2000a. Regenerasi tanaman ubi jalar melalui embriogenesis dan organogenesis. *Jurnal AgroBiotek* (1):1-6.
- Ambarwati, A.D., D.W. Utami, D. Damayanti, M. Herman, A. Sisharmini, T.J. Santoso, dan Minantyorini. 2000b. Transformasi tanaman ubi jalar untuk ketahanan terhadap hama dan penyakit. Laporan Hasil Penelitian TA 2000, Balitbio, Bogor.
- Chalfont, R.B., R.K. Janson, D.R. Seal, and J.M. Schalk. 1990. Ecology and management of sweet potato insects. *Annu. Rev. Entomol* 35: 157-180.
- Chang, N.L., Q.L. Xiou, and S.B. Gelvin. 1992. Multiple copies of *virG* enhance the transient transformation of celery, carrot, and rice tissues by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Mol. Biol.* 20:1071-1087.
- Gama, M.I.C.S., R.P. Leite Jr, A.R. Cordeiro, and D.J. Cantliffe. 1996. Transgenic sweet potato plants obtained by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 46:237-244.
- Gosukonda, R.M., A. Parobodessai, E. Blay, C.S. Prakash, and C.M. Peterson. 1995. Thidiazuron-induced adventitious shoot regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 31: 65-71.
- Jefferson, R.A., T.A. Kavanagh, and M.W. Bevan. 1987. Gus fusions: Glucuronidase as a versatile gene fusion marker in higher plants. *EMBO J.* 6:3901-3907.
- Lowe, J.M., W.D.O. Hamilton, and C.A. Newell. 1994. Genetic transformation in *Ipomoea batatas* (L.) Lam (sweet potato). In Y.P.S. Bajaj (Ed). *Biotechnology in Agriculture and Forestry. Plant protoplasts and genetic engineering* 29:308-320.
- Nakano, N., S. Fuentes, and L.F. Salazar. 1994. Spot virus diseases detected in the tropics of South and Central America and South East Asia. *JIRCAS Paper* 1:58-65.

- Newell, C.A., J.M. Lowe, A. Merryweather, L.M. Rooke, and W.D.O. Hamilton. 1995.** Transformation of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] with *Agrobacterium tumefaciens* and regeneration of plants expressing cowpea trypsin inhibitor and snowdrop lectin. *Plant Science* 107:215-227.
- Oliveira, M.M., C.M. Miquel, and M.H. Raquel. 1996.** Transformation studies in woody fruit species. *Plant Tissue Culture and Biotechnology* 2(2):76-93.
- Otani, M., T. Shimada, T. Kimura, and A. Saito. 1998.** Transgenic plant production from embryogenic callus of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] using *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Biotechnology* 15(1):11-16.
- Prakash, C.S. and U. Varadarajan. 1992.** Genetic transformation of sweet potato by particle bombardment. *Plant Cell Rep.* 11:53-57.
- Ryan, C.A. 1990.** Protease inhibitors in plants: genes for improving defences against insects and pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.* 28:425-449.
- Sanford, J.C., F.D. Smith, and J.A. Russell. 1993.** Optimizing the biolistic process for different biological applications. *Methods in Enzimology* 217:483-509.
- Siemens, J. and O. Schieder. 1996.** Transgenic plants: Genetic transformation-recent developments and the state of the art. *Plant Tissue Culture and Biotech.* 2(2):66-75.
- Songstad, D.D., D.A. Somers, and R.J. Grusbach. 1995.** Advances in alternative DNA delivery techniques. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* 40:1-15.
- Sheng, J. and V. Citovsky. 1996.** *Agrobacterium*-Plant Cell DNA transport: Have virulence proteins, will travel. *The Plant Cell* 8:1699-1710.
- Ying, Z., X. Yu, and M.J. Davis. 1999.** New method for obtaining transgenic papaya plants by *Agrobacterium*-mediated transformation of somatic embryos. *Proc. Fla. State. Hort. Soc.* 112:201-205.