

Artikel Review :

***Agrobacterium tumefaciens* SEBAGAI AGEN REKAYASA GENETIKA: MEKANISME, KEUNGGULAN, DAN TANTANGAN DALAM TRANSFORMASI GENETIK TANAMAN**

Khusnul Khatimah^{1*}, Thiara Adzkia Muthmainnah¹, Yusminah Hala¹

¹ Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Negeri Makassar Indonesia

Correspondence E-mail: khusnulkhatimah9926@gmail.com

Abstrak

Agrobacterium tumefaciens merupakan bakteri tanah Gram-negatif yang dikenal sebagai agen rekayasa genetika alami karena kemampuannya mentransfer DNA ke dalam sel tanaman. Kemampuan ini dimediasi oleh plasmid Ti yang memungkinkan integrasi DNA asing secara stabil ke dalam genom tanaman inang. Bakteri ini telah banyak dimanfaatkan dalam bioteknologi pertanian untuk menghasilkan tanaman transgenik dengan sifat unggul, seperti ketahanan terhadap hama, penyakit dan cekaman lingkungan. Keunggulan *A. tumefaciens* terletak pada efisiensi transformasi yang tinggi, spesifisitas terhadap tanaman tertentu serta stabilitas ekspresi gen yang baik. Meskipun demikian, terdapat beberapa tantangan dalam penggunaannya seperti keterbatasan jangkauan inang dan tingkat keberhasilan transformasi yang bervariasi antar spesies tanaman. Untuk mengatasi kendala tersebut, berbagai strategi telah dikembangkan termasuk penggunaan *super-Agrobacterium*, rekayasa plasmid Ti dan pendekatan biologi sintesis. Dengan perkembangan teknologi bioteknologi, pemanfaatan *A. tumefaciens* di masa depan diharapkan semakin luas dan berkontribusi dalam pengembangan varietas tanaman unggul yang lebih adaptif terhadap perubahan lingkungan serta mendukung ketahanan pangan global.

Kata kunci: *Agrobacterium tumefaciens*, plasmid Ti, transformasi genetik, rekayasa genetika

Abstract

Agrobacterium tumefaciens is a Gram-negative soil bacterium known as a natural genetic engineering agent due to its ability to transfer DNA into plant cells. This ability is mediated by the Ti plasmid that allows stable integration of foreign DNA into the host plant genome. This bacterium has been widely utilized in agricultural biotechnology to produce transgenic plants with superior traits, such as resistance to pests, diseases, and environmental stress. The advantages of *A. tumefaciens* lie in its high transformation efficiency, specificity to certain plants, and good stability of gene expression. However, there are several challenges in its use, such as limited host range and transformation success rates that vary among plant species. To overcome these obstacles, various strategies have been developed, including the use of *super-Agrobacterium*, Ti plasmid engineering, and synthetic biology approaches. With the development of biotechnology, the utilization of *A. tumefaciens* in the future is expected to expand and contribute to the development of improved crop varieties that are more adaptive to environmental changes and support global food security.

Keywords: *Agrobacterium tumefaciens*, Ti plasmid, genetic transformation, genetic engineering.

PENDAHULUAN

Agrobacterium tumefaciens merupakan bakteri tanah gram negatif yang dikenal sebagai agen rekayasa genetika alami. Alasan *Agrobacterium tumefaciens* disebut sebagai agen rekayasa genetika alami karena bakteri ini mempunyai kemampuan dalam mentransfer materi genetik ke dalam sel tanaman (Brown *dkk.*, 2023). Bakteri ini memiliki plasmid Ti, dimana plasmid Ti ini memungkinkan terjadinya transfer segmen DNA spesifik ke genom tanaman inang sehingga mengakibatkan perubahan ekspresi gen pada tanaman. Kemampuan unik yang dimiliki oleh bakteri ini unik, karena tidak banyak organisme yang dapat secara alami memodifikasi materi genetik organisme lain dengan mekanisme yang terarah dan stabil. Dengan demikian, pemanfaatan *A. tumefaciens* dalam rekayasa genetika banyak dilakukan terutama dalam bidang bioteknologi pertanian dan biologi molekuler (Agrawal, 2022).

Secara alami, *Agrobacterium tumefaciens* dapat mengakibatkan penyakit *crown gall* pada tanaman dengan cara mentransfer T-DNA dari plasmid Ti ke sel tanaman yang terluka. T-DNA ini mengandung gen-gen yang mendorong sintesis hormon pertumbuhan berlebihan, sehingga menyebabkan pembentukan tumor pada jaringan tanaman (Zhang, *dkk.*, 2015; Hooykaas &

Hooykaas, 2025). Namun, dalam bidang bioteknologi, kemampuan ini dipergunakan untuk memperkenalkan gen-gen tertentu dengan tujuan meningkatkan sifat tanaman seperti ketahanan terhadap hama, peningkatan produktivitas dan toleransi terhadap kondisi lingkungan ekstrem (Hwang & Lai, 2017; Nonaka *dkk.*, 2019).

Mekanisme transfer DNA oleh *A. tumefaciens* melibatkan serangkaian proses kompleks, dimulai dari deteksi sinyal kimia dari tanaman yang terluka, aktivasi gen virulensi, hingga pemindahan T-DNA melalui sistem transfer mirip konjugasi. T-DNA begitu memasuki sel tanaman akan terintegrasi dengan genom inang dan mulai diekspresikan (Lacroix & Citovsky, 2019). Proses ini memungkinkan *Agrobacterium tumefaciens* berperan sebagai agen rekayasa genetika alami dimana DNA asing dapat disisipkan ke dalam genom tanaman secara stabil, membuka peluang bagi pengembangan varietas tanaman dengan sifat unggul yang diinginkan.

Keunggulan *A. tumefaciens* sebagai agen rekayasa genetika terletak pada efisiensi transformasi, spesifisitas terhadap tanaman, serta stabilitas ekspresi gen dalam sel tanaman (Safitri *dkk.*, 2016). Keberhasilan *A. tumefaciens* dalam transformasi genetik telah dibuktikan dalam berbagai penelitian yang telah berhasil dimodifikasi menggunakan sistem ini. Dengan semakin berkembangnya teknologi rekayasa genetika, pemanfaatan *A. tumefaciens* diprediksi akan semakin luas, terutama dalam pengembangan varietas tanaman unggul yang lebih adaptif terhadap perubahan iklim. Meningkatnya kebutuhan global terhadap tanaman dengan ketahanan tinggi terhadap cekaman abiotik dan biotik maka pemanfaatan *A. tumefaciens* dalam rekayasa genetika semakin diperluas (Anjanappa & Gruissem, 2021). Transformasi genetik berbasis *A. tumefaciens* telah berhasil diterapkan pada tanaman pangan utama untuk meningkatkan ketahanan terhadap hama, penyakit dan kondisi lingkungan. Keberhasilan ini menunjukkan bahwa sistem transformasi berbasis *A. tumefaciens* memiliki fleksibilitas tinggi dan potensi besar dalam rekayasa genetika tanaman (Hwang & Lai, 2017).

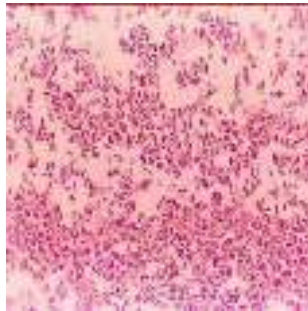
Seiring dengan berkembangnya teknik bioteknologi modern, strategi rekayasa plasmid Ti juga semakin maju. Saat ini, plasmid Ti telah dimodifikasi sedemikian rupa untuk menghilangkan gen penyebab tumor dan menggantikannya dengan gen yang memiliki manfaat agronomis, seperti ketahanan terhadap cekaman lingkungan dan peningkatan hasil panen (Christie & Gordon, 2014). Dengan pendekatan ini, sistem berbasis *A. tumefaciens* dapat digunakan secara lebih luas. Bahkan, penelitian terbaru menunjukkan bahwa pengembangan "super-*Agrobacterium*" telah meningkatkan efisiensi transformasi pada beberapa spesies tanaman yang sebelumnya sulit ditransformasi (Nonaka *dkk.*, 2019).

Di tengah urgensi global untuk meningkatkan ketahanan pangan dan keberlanjutan pertanian, eksplorasi lebih lanjut terhadap mekanisme dan optimalisasi sistem transformasi berbasis *A. tumefaciens* menjadi semakin relevan. Dengan memahami lebih dalam peran dan potensi *A. tumefaciens* sebagai agen rekayasa genetika, diharapkan inovasi dalam pengembangan varietas tanaman unggul dapat semakin berkembang dan memberikan dampak positif bagi sektor pertanian di masa depan.

PEMBAHASAN

1. Morfologi dan Karakteristik *Agrobacterium tumefaciens*

Agrobacterium tumefaciens memiliki koloni berbentuk bulat dengan permukaan yang cembung dan tepi koloni yang rata. Warna koloninya adalah krem dengan nuansa merah muda. Secara umum, koloni *A. tumefaciens* dikenal lembut, berbentuk cembung, tak berpigmen dan memiliki warna pink. *A. tumefaciens* bersifat anaerobik fakultatif dan tumbuh optimal pada kisaran suhu 25° - 28°C. Dinding peptidoglikan pada *Agrobacterium tumefaciens* memiliki karakteristik unik yang mendukung pertumbuhan dan bentuknya. Bakteri ini memiliki lebih dari 50% ikatan silang peptidoglikannya adalah tipe LD (3-3) yang dikatalisis oleh enzim LD-transpeptidase (LDT). Ikatan silang ini memainkan peran penting dalam mempertahankan bentuk sel dan adaptasi terhadap tekanan lingkungan (Aliashkevisch & Cava, 2022). Berikut gambar mikroskopis dari *Agrobacterium tumefaciens*:



Gambar 1. *Agrobacterium tumefaciens* (Sumber : Siitonga dkk, 2014)

A. tumefaciens tumbuh secara unipolar, yang berarti bahwa sintesis peptidoglikan terjadi di salah satu ujung sel. Proses ini melibatkan komponen seperti FtsZ, FtsA, dan LDT, yang berlokasi di kutub sel yang sedang tumbuh serta di septum selama pembelahan sel (Cameron dkk., 2014). Protein seperti FtsZAT memainkan peran kunci dalam mengatur transisi ini, memastikan bahwa sintesis peptidoglikan berhenti di ujung sel dan dimulai di tengah sel untuk mendukung pembelahan. Ketika protein FtsZAT tidak ada, sintesis peptidoglikan tetap aktif di ujung sel, yang menyebabkan pembentukan cabang-cabang baru melalui mekanisme yang disebut *tip splitting*. Sebaliknya, jika protein pembelahan lain seperti FtsA atau FtsW tidak ada, sintesis peptidoglikan di ujung sel berhenti, dan pertumbuhan baru dimulai di tengah sel, serta menghasilkan struktur cabang yang berbeda (Howell dkk., 2019). Struktur dinding peptidoglikan yang kaya akan ikatan silang LD juga memberikan resistensi terhadap enzim seperti lisozim, yang biasanya dapat mendegradasi dinding sel bakteri (Aliashkevich & Cava, 2022).

Agrobacterium tumefaciens sebagai bakteri gram negatif yang sering digunakan dalam transformasi genetik tanaman (Tiwari dkk., 2022). Berikut adalah beberapa karakteristik *Agrobacterium tumefaciens* menurut Silalahi dkk., (2021); Groenewold dkk., (2019); Christie & Gordon (2014).

- Plasmid-Ti: *A. tumefaciens* memiliki plasmid besar yang disebut plasmid-Ti, yang mengandung gen-gen virulensi yang bertanggung jawab atas infeksi dan transfer DNA ke sel tanaman.
- Transfer DNA: Bakteri ini mampu mentransfer DNA-nya ke dalam sel tanaman melalui proses yang melibatkan gen virulensi, seperti gen *acvB*, yang berperan penting dalam transfer DNA.
- Kolonisasi Sel Tanaman: Untuk memulai infeksi, *A. tumefaciens* menempel pada permukaan sel inang dengan memanfaatkan polisakarida yang membantu bakteri mengkolonisasi sel tanaman.
- Penggunaan dalam Bioteknologi: Karena kemampuannya untuk mentransfer gen, *A. tumefaciens* sering digunakan sebagai alat dalam rekayasa genetika untuk menciptakan tanaman transgenik.

2. Cara Kerja Plasmid Ti pada *Agrobacterium tumefaciens*

Plasmid Ti bekerja dengan mekanisme yang kompleks namun terarah dalam proses transformasi genetik tanaman. Proses ini dimulai ketika *Agrobacterium tumefaciens* mendeteksi sinyal kimia yang dilepaskan oleh tanaman yang terluka. Sinyal ini mengaktifkan gen virulensi (gen *vir*) yang terdapat pada plasmid Ti yang kemudian memfasilitasi pemindahan segmen DNA tertentu, yang disebut T-DNA dari bakteri ke dalam sel tanaman. Setelah T-DNA dipotong dari plasmid, ia dibawa menuju sel tanaman melalui sistem transfer yang mirip dengan mekanisme konjugasi bakteri. Begitu memasuki sel tanaman, T-DNA bergerak ke inti sel dan berintegrasi ke dalam genom tanaman dengan bantuan enzim dari tanaman itu sendiri. Setelah terintegrasi, gen-gen dalam T-DNA mulai diekspresikan dengan pembentukan kode produksi hormon pertumbuhan yang memicu pembentukan tumor atau *crown gall* (Hwang & Lai, 2017; Thompson dkk., 2020; Tiwari dkk., 2022).

Proses ini menjadikan *Agrobacterium tumefaciens* sebagai agen alami dalam rekayasa genetika tanaman karena kemampuannya untuk mentransfer DNA asing ke dalam genom tanaman dapat dimanfaatkan dalam bioteknologi untuk menghasilkan tanaman dengan sifat yang diinginkan. Plasmid Ti pada *Agrobacterium tumefaciens* bekerja dengan cara yang sangat spesifik dalam proses transformasi sel tanaman. Untuk lebih jelasnya, berikut adalah uraian mengenai cara kerja Plasmid Ti pada *Agrobacterium tumefaciens* (Hooykaas, 2023; Sunday dkk., 2024).

- Ketika *Agrobacterium* menyentuh tanaman yang terluka, bakteri ini terikat pada sel tanaman. Hal ini terjadi karena adanya sinyal kimia dari tanaman yang terluka, yang menarik bakteri ke area tersebut. Ketika *Agrobacterium tumefaciens* secara alami menyerang tanaman, infeksi

dimulai ketika bakteri mengenali senyawa kimia seperti senyawa fenolik (misalnya asetosiringon) yang dilepaskan oleh jaringan tanaman yang terluka. Sinyal ini mengaktifkan gen virulensi (*vir genes*) pada plasmid Ti (*tumor-inducing*), memungkinkan transfer T-DNA ke dalam genom tanaman dan menyebabkan terbentuknya tumor atau *crown gall* (Subramoni *dkk.*, 2014). Dalam rekayasa genetika, mekanisme ini dimanfaatkan secara buatan. Para peneliti sengaja melukai jaringan tanaman seperti daun, batang atau eksplan lain kemudian menginkubasinya bersama *Agrobacterium* menggunakan metode ko-kultivasi. Luka buatan ini menjadi pintu masuk bagi bakteri untuk mentransfer gen rekombinan yang telah dimodifikasi ke sel tanaman. Oleh karena itu, meskipun secara alami infeksi *Agrobacterium* bergantung pada luka tanaman, dalam praktik rekayasa genetika, luka tersebut dibuat secara terkontrol sebagai bagian dari prosedur transformasi.

- b. Aktivasi gen virulensi, bakteri mengaktifkan gen-gen khusus yang ada dalam plasmid Ti. Gen-gen ini berperan dalam proses pemindahan DNA dari bakteri ke sel tanaman. Senyawa fenolik yang dihasilkan oleh tanaman yang terluka membantu mengaktifkan gen-gen ini.
- c. Plasmid Ti (*tumor-inducing*) pada *Agrobacterium tumefaciens* mengandung segmen DNA yang disebut T-DNA, yang akan dipindahkan ke genom sel tanaman selama proses transformasi. Menurut Hwang & Lai (2017), proses ini dimulai ketika gen virulensi (*vir genes*) diaktifkan oleh sinyal kimia dari tanaman yang terluka, seperti asetosiringon. Protein VirD1 dan VirD2 memainkan peran utama dalam pembentukan T-strand yaitu bentuk untai tunggal dari T-DNA. VirD2 berfungsi sebagai endonuklease yang memotong batas kanan T-DNA dan tetap melekat pada ujung 5' dari T-strand, sementara VirD1 membantu mengenali urutan batas tersebut. Setelah T-strand terbentuk, protein VirE2 akan melapisi *T-strand* dan melindunginya selama proses transfer ke dalam sel tanaman sekaligus memfasilitasi masuknya T-DNA ke inti sel dengan bantuan sinyal lokalisasi inti (*Nuclear Localization Signal*). Selanjutnya, kompleks protein VirB1–VirB11 bersama VirD4 membentuk sistem sekresi tipe IV (*Type IV Secretion System*) yang berfungsi sebagai saluran untuk mengirim *T-strand* dari *Agrobacterium* ke dalam sel tanaman. Sinergi dari protein-protein virulensi ini menjadikan *Agrobacterium* sebagai alat alami yang sangat efektif dalam mentransfer gen secara horizontal pada tumbuhan.
- d. *T-strand* yang sudah terbentuk bergerak ke dalam sel tanaman melalui saluran yang dibentuk oleh bakteri. Di dalam sel tanaman *T-strand* ini akan menuju ke inti sel.
- e. Setelah sampai di inti sel, *T-strand* akan disalin menjadi DNA ganda dan terintegrasi ke dalam kromosom tanaman. Proses ini dibantu oleh enzim dari tanaman itu sendiri.
- f. Setelah T-DNA terintegrasi, gen-gen yang dibawa oleh T-DNA dapat diekspresikan. Gen ini sering kali mengkode hormon tumbuh yang memicu pertumbuhan tumor, yang dikenal sebagai *crown gall*.

Agrobacterium tumefaciens dapat menyebabkan *crown gall* pada tanaman. Hal ini disebabkan karena *Agrobacterium tumefaciens* memiliki plasmid Ti (*tumor-inducing*) yang mengandung T-DNA yang bertanggung jawab menyebabkan tumor pada tanaman. Namun, *Agrobacterium tumefaciens* dapat menjadi agen yang bermanfaat dalam rekayasa genetika. Berikut mekanisme *Agrobacterium tumefaciens* direkayasa genetika untuk menjadi agen yang bermanfaat: (Subramoni *dkk.*, 2014; Kang *dkk.*, 2020).

- a. Tahap pertama pemindahan gen. T-DNA pada plasmid Ti dimodifikasi. Gen yang menyebabkan tumor (gen virulensi) dihapus dan diganti dengan gen yang diinginkan, seperti gen yang memberikan ketahanan terhadap hama atau penyakit.
- b. Penggunaan sebagai vektor, *Agrobacterium tumefaciens* yang dimodifikasi ini kemudian digunakan sebagai vektor untuk mentransfer gen yang diinginkan ke dalam sel tanaman.
- c. Integrasi gen, ketika *Agrobacterium tumefaciens* menginfeksi tanaman, T-DNA yang dimodifikasi akan terintegrasi ke dalam genom tanaman.
- d. Ekspresi gen, gen yang ditransfer akan diekspresikan di dalam tanaman, memberikan sifat baru yang diinginkan, seperti ketahanan terhadap hama atau peningkatan nilai nutrisi.

Agrobacterium tumefaciens direkayasa genetika dengan cara menghapus gen yang menyebabkan tumor dan menggantinya dengan gen yang bermanfaat. Bakteri yang dimodifikasi ini kemudian digunakan sebagai vektor untuk mentransfer gen yang diinginkan ke dalam tanaman, menghasilkan tanaman transgenik dengan sifat yang ditingkatkan.

3. Keunggulan dan Keberhasilan *Agrobacterium tumefaciens* pada Tanaman

Menurut Thompson *dkk* (2020), *Agrobacterium tumefaciens* memiliki beberapa keunggulan utama, terutama dalam bioteknologi tanaman:

- a. Kemampuan Transfer DNA Alami: *Agrobacterium tumefaciens* secara alami mampu mentransfer DNA (T-DNA) ke dalam genom tanaman inangnya. Hal ini menjadikannya sebagai mikroba yang sangat penting dalam transformasi genetik tanaman.
- b. Efisiensi Transformasi: Dengan manipulasi genetik, efisiensi transformasi pada berbagai spesies tanaman dapat ditingkatkan. Ini memungkinkan aplikasi yang lebih luas dalam rekayasa genetika.
- c. Modulasi Virulensi: Ekspresi gen virulensi dapat dimodifikasi untuk meningkatkan keberhasilan transformasi tanaman. Pendekatan ini membuka peluang baru dalam bioteknologi tanaman.
- d. Fleksibilitas dalam Rekayasa Genetik: Dengan pendekatan biologi sintetis, *A. tumefaciens* dapat direkayasa untuk menghasilkan transformasi genetik yang lebih presisi dan berkualitas tinggi pada berbagai jenis tanaman.

Keberhasilan *Agrobacterium tumefaciens* dalam mentransformasi tumbuhan sangat bergantung pada interaksi kompleks antara faktor bakteri dan tumbuhan. Berikut adalah beberapa poin penting yang memengaruhi keberhasilan transformasi:

- a. Faktor Bakteri:
 - 1) *Agrobacterium tumefaciens* menggunakan plasmid Ti untuk mentransfer DNA (T-DNA) ke sel tumbuhan. Proses ini melibatkan protein virulensi seperti VirD2, VirE2, dan VirF yang membantu pengangkutan dan integrasi T-DNA ke dalam genom tumbuhan.
 - 2) Efisiensi transformasi dapat ditingkatkan dengan optimasi galur bakteri, konsentrasi acetosyringone, dan teknik ko-kultivasi.
- b. Faktor Tumbuhan:
 - 1) Respon imun tumbuhan, seperti produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dan ekspresi gen pertahanan, dapat memengaruhi keberhasilan transformasi. Beberapa spesies tumbuhan lebih reseptif terhadap integrasi DNA asing dibandingkan yang lain.
 - 2) Hormon tumbuhan seperti auksin dan asam salisilat juga memainkan peran penting. *Agrobacterium* dapat memanipulasi kadar hormon ini untuk mendukung proses transformasi.
- c. Strategi Bakteri:

Agrobacterium memiliki kemampuan untuk menghindari atau menekan mekanisme pertahanan tumbuhan, seperti dengan memanfaatkan protein VIP1 untuk mengarahkan T-DNA ke nukleus sel tumbuhan,

Agrobacterium tumefaciens dikenal karena kemampuannya menginfeksi tanaman dan memasukkan materi genetik ke dalam sel inangnya. Teknik *Agrobacterium tumefaciens* sering digunakan dalam transformasi genetik pada tanaman. Berikut adalah tabel yang menunjukkan keberhasilan *Agrobacterium tumefaciens* dalam transformasi genetik pada beberapa jenis tanaman:

Tabel 1. Kemampuan *Agrobacterium tumefaciens* dalam transformasi genetik pada beberapa jenis tanaman

No	Sumber	Tanaman yang Berhasil	Tujuan Transformasi genetik	Hasil yang diperoleh
1	Swartwood & Eck (2019)	<i>Physalis pruinosa</i> (groundcherry)	meningkatkan karakteristik agronomis tanaman tersebut, seperti memperbaiki pertumbuhan yang merambat dan mengurangi kerugian buah.	Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa tanaman <i>Physalis pruinosa</i> yang telah ditransformasi mengalami perubahan morfologi yang lebih diinginkan, seperti pertumbuhan yang lebih tegak dan pengurangan kerontokan buah. Selain itu, analisis molekuler mengonfirmasi keberhasilan integrasi gen asing ke dalam genom tanaman, yang berkontribusi pada peningkatan karakteristik agronomisnya.
2	Jawad & Wijayanti (2021)	<i>Solanum lycopersicum</i> (Tomat)	mengatasi berbagai masalah yang dihadapi dalam produksi tomat, seperti penyakit yang	Hasil yang didapatkan bahwa metode transformasi genetik menggunakan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> pada tomat berhasil

				disebabkan oleh virus, bakteri, dan jamur, serta untuk meningkatkan umur simpan buah tomat.	mencapai pencapaian penting. Dari 130 tanaman yang diuji menunjukkan hasil positif untuk gen cry1Ab, menandakan efisiensi transformasi yang cukup baik.
3	Nahirnak dkk., (2022)	<i>Solanum tuberosum</i> (kentang)		meningkatkan ketahanan terhadap hama dan penyakit, serta meningkatkan kualitas nutrisi dan sifat agronomis kentang.	penggunaan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> untuk rekayasa genetik kentang telah berhasil. Metode ini memungkinkan pengenalan gen-gen yang meningkatkan ketahanan terhadap hama dan penyakit, serta memperbaiki kualitas nutrisi dan sifat agronomis kentang.
4	Ye dkk., (2023)	<i>Triticum aestivum</i> (gandum)	L	Mengembangkan metode transformasi langsung embrio matang gandum menggunakan <i>Agrobacterium</i> untuk meningkatkan efisiensi dan konsistensi dalam produksi tanaman transgenik.	Penelitian berhasil menghasilkan tanaman transgenik gandum yang subur dengan tingkat <i>chimeric plants</i> di bawah 5%, menunjukkan bahwa metode transformasi ini efektif dan dapat diandalkan untuk pengembangan varietas gandum baru.

4. Faktor yang Mempengaruhi Efisiensi Transformasi

Keberhasilan transformasi genetik menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik dari sisi bakteri, tanaman target, maupun kondisi lingkungan selama proses transformasi. Meskipun *A. tumefaciens* dikenal sebagai agen transformasi genetik alami yang efisien, tingkat keberhasilannya tidak seragam di semua spesies tanaman. Beberapa tanaman lebih mudah ditransformasi dibandingkan yang lain, yang menyebabkan perlunya optimasi berbagai faktor untuk meningkatkan efisiensi transformasi (Hwang & Lai, 2017; Udayabhanu dkk., 2022; Ouyang dkk., 2024). Oleh karena itu, pemahaman mendalam mengenai faktor-faktor yang berkontribusi terhadap keberhasilan transformasi sangat penting dalam pengembangan teknologi bioteknologi tanaman.

Keberhasilan transformasi genetik menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik dari sisi bakteri maupun kondisi lingkungan selama proses transformasi. Meskipun *A. tumefaciens* dikenal sebagai agen transformasi genetik alami yang efisien, tingkat keberhasilannya tidak seragam di semua spesies tanaman. Beberapa tanaman lebih mudah ditransformasi dibandingkan yang lain yang menyebabkan perlunya optimasi berbagai faktor untuk meningkatkan efisiensi transformasi (Belanger dkk., 2024; Shivashakarappa dkk., 2025). Oleh karena itu, pemahaman mendalam mengenai faktor-faktor yang berkontribusi terhadap keberhasilan transformasi sangat penting dalam pengembangan teknologi bioteknologi tanaman.

Kondisi fisiologis dan perkembangan tanaman target juga berperan dalam menentukan tingkat keberhasilan transformasi (Kaur & Devi, 2019). Tanaman yang berada dalam fase pertumbuhan optimal cenderung lebih mudah ditransformasi dibandingkan tanaman yang terlalu muda atau terlalu tua. Hal ini disebabkan oleh perbedaan tingkat pembelahan sel yang berpengaruh pada kemampuan sel tanaman untuk menerima dan mengintegrasikan T-DNA (Xia dkk., 2023). Selain itu, kondisi fisiologis tanaman seperti kadar hormon pertumbuhan, status nutrisi, serta respons terhadap stres lingkungan juga dapat mempengaruhi efisiensi transformasi (Wang dkk., 2025). Tanaman dengan keseimbangan hormon yang baik seperti auksin dan sitokinin memiliki regenerasi yang lebih cepat setelah transformasi sehingga meningkatkan kemungkinan keberhasilan integrasi T-DNA (Bennur dkk., 2025). Pemilihan stadium perkembangan yang tepat serta pengelolaan kondisi fisiologis tanaman sebelum dan setelah inokulasi juga menjadi faktor kunci dalam meningkatkan efisiensi transformasi berbasis *Agrobacterium tumefaciens*.

Optimasi kondisi kultur jaringan merupakan faktor lain yang berkontribusi pada keberhasilan transformasi *Agrobacterium*. Medium kultur yang kaya akan auksin dan sitokinin dapat

meningkatkan regenerasi tanaman serta mendukung proliferasi sel yang rentan terhadap transformasi (Kuo *dkk.*, 2018; Sandhya *dkk.*, 2022). Selain itu suhu, pH serta suplai nutrisi dalam media kultur juga mempengaruhi viabilitas jaringan tanaman selama proses transformasi (Lin *dkk.*, 2017). Penggunaan agen seleksi seperti antibiotik atau herbisida sering diterapkan untuk memastikan hanya tanaman yang berhasil mengalami transformasi yang dapat bertahan sehingga meningkatkan efisiensi seleksi terhadap individu yang membawa gen target.

Dari sisi bakteri, strain dan virulensi *A. tumefaciens* merupakan faktor kunci dalam efektivitas transfer T-DNA. Strain yang memiliki tingkat ekspresi gen virulensi lebih tinggi akan lebih efisien dalam menginfeksi tanaman dan mentransfer T-DNA (Lacroix & Citovsky, 2022). Induksi senyawa fenolik seperti acetosyringone dapat meningkatkan aktivitas gen vir, sehingga mempercepat proses infeksi dan transfer DNA. Beberapa penelitian terbaru telah mengembangkan galur “super-*Agrobacterium*” yang telah dimodifikasi secara genetik untuk meningkatkan efisiensi transformasi pada spesies tanaman yang sebelumnya sulit ditransformasi (Vats *dkk.*, 2024).

Selain faktor bakteri dan tanaman, metode inokulasi dan ko-kultivasi juga memainkan peran penting dalam menentukan keberhasilan transformasi (Faisal *dkk.*, 2024). Faktor seperti konsentrasi bakteri, durasi ko-kultivasi, suhu inkubasi dan metode inokulasi dapat mempengaruhi tingkat integrasi T-DNA ke dalam genom tanaman (Cody *dkk.*, 2023). Jika ko-kultivasi berlangsung terlalu lama, pertumbuhan berlebih bakteri dapat merusak jaringan tanaman sedangkan jika durasi terlalu singkat peluang transfer T-DNA menjadi lebih rendah. Optimasi teknik inokulasi seperti perendaman, injeksi langsung, atau vakum infiltrasi sangat diperlukan untuk meningkatkan efisiensi transformasi pada berbagai spesies tanaman.

5. Tantangan dan Prospek *Agrobacterium tumefaciens* dalam Rekayasa Genetik

Kemampuan untuk mentransfer DNA ke dalam genom tanaman menyebabkan *Agrobacterium tumefaciens* banyak digunakan dalam rekayasa genetika untuk mengubah tanaman. Namun, beberapa masalah terjadi akibat dari aplikasi dalam rekayasa genetika.

- a. Resistensi Antibiotik: *A. tumefaciens* sangat resisten terhadap berbagai jenis antibiotik, sehingga sulit untuk mengeluarkan bakteri dari jaringan tanaman yang telah berubah tanpa membahayakan tanaman itu sendiri. Produksi β -laktamase yang diinduksi oleh gen tertentu menyebabkan resistensi (Figueroa *dkk.*, 2022).
- b. Efisiensi Transformasi: Tingkat transformasi *A. tumefaciens* yang rendah pada beberapa spesies tanaman merupakan hambatan teknis. Modifikasi genetik bakteri, seperti pembuatan strain *Super-Agrobacterium* yang meningkatkan transfer T-DNA dan tingkat transformasi yang stabil adalah bagian dari upaya untuk meningkatkan efisiensi transformasi (Nonaka *dkk.*, 2019).
- c. Interaksi Biologis yang Kompleks: Dalam proses transformasi yang dimediasi oleh *A. tumefaciens*, terjadi berbagai interaksi antara bakteri dan sel tanaman. Beberapa contoh interaksi ini termasuk perlekatan bakteri, aktivasi gen virulensi, dan integrasi T-DNA ke dalam genom tanaman. Tidak adanya pemahaman menyeluruh tentang interaksi ini dapat mengurangi efisiensi dan prediktabilitas transformasi (Sunday *dkk.*, 2024).
- d. Keterbatasan Jangkauan Inang: *A. tumefaciens* masih sulit untuk mengubah beberapa tanaman yang penting secara ekonomi meskipun dapat mengubah banyak spesies tanaman. Mengoptimalkan protokol transformasi untuk varietas tanaman tertentu seperti jeruk, dapat membantu mengatasi keterbatasan ini (Dominguez *dkk.*, 2022).
- e. Perlunya Kontrol yang Tepat: Terdapat kekurangan alat yang dikarakterisasi dengan baik untuk mengontrol ekspresi gen secara tepat pada *A. tumefaciens* yang membatasi potensi penuhnya dalam rekayasa genetika. Perkembangan terbaru dalam biologi sintesis bertujuan untuk menyediakan alat ekspresi yang lebih tepat untuk memfasilitasi rekayasa rasional bakteri.

Selain tantangan teknis dalam penggunaan *Agrobacterium tumefaciens*, perhatian terhadap keamanan produk tanaman transgenik juga menjadi isu penting dalam rekayasa genetika. Beberapa kekhawatiran yang sering muncul berkaitan dengan potensi risiko kesehatan, terutama kemungkinan munculnya reaksi alergi atau toksisitas akibat ekspresi protein asing dari gen yang ditransfer. Meskipun demikian, hasil kajian ilmiah selama lebih dari dua dekade menunjukkan bahwa tidak ada bukti kuat yang menunjukkan bahwa tanaman transgenik yang disetujui secara regulasi memberikan dampak negatif terhadap kesehatan manusia. Penelitian oleh Nicolia *dkk.*, (2014), yang mereview lebih dari 1700 studi ilmiah, menyimpulkan bahwa tanaman hasil rekayasa genetika tidak

menunjukkan risiko lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman konvensional dalam hal keamanan pangan dan lingkungan.

Disamping aspek kesehatan manusia, isu lingkungan juga menjadi perhatian utama dalam penggunaan tanaman transgenik. Salah satu kekhawatiran yang sering disoroti adalah potensi penyebaran gen transgenik ke spesies liar (*gene flow*) yang dapat menyebabkan gangguan ekosistem atau munculnya gulma super. Namun, risiko ini dapat diminimalkan melalui strategi *biosafety*, seperti penanaman zona penyangga, penggunaan gen sterilitas (*terminator gene*), serta pengembangan varietas dengan ekspresi gen yang terbatas pada bagian tanaman tertentu. Dengan penerapan protokol keamanan yang ketat, produk tanaman hasil transformasi *Agrobacterium tumefaciens* dapat berkontribusi secara signifikan dalam menyediakan solusi pertanian yang berkelanjutan, aman dan ramah lingkungan terutama dalam menghadapi tantangan global seperti perubahan iklim, degradasi lahan dan peningkatan kebutuhan pangan.

Agrobacterium tumefaciens sebagai bakteri yang banyak digunakan dalam rekayasa genetika karena kemampuan alaminya untuk mentransfer DNA ke dalam genom tanaman. Dengan kemampuan ini, bakteri ini dapat digunakan untuk mengembangkan tanaman yang dimodifikasi secara genetik yang memiliki sifat yang lebih baik. Berikut beberapa prospek penggunaan *Agrobacterium tumefaciens* dalam rekayasa genetika.

- a. Alat Transformasi Serbaguna: *Agrobacterium tumefaciens* membantu transformasi tanaman secara sementara dan permanen; hal ini memungkinkan pengembangan protein rekombinan, genomik fungsional, dan pemuliaan ketahanan penyakit (Nonaka *dkk.*, 2019).
- b. Biologi Sintetis dan Manipulasi Genetik: Kemajuan dalam biologi sintetis telah memungkinkan manipulasi genetik yang tepat pada *A. tumefaciens*, yang meningkatkan efisiensi transformasinya dan memperluas jangkauan inangnya. Kemajuan ini termasuk penggunaan rekayasa genom yang ditargetkan melalui sistem CRISPR dan pengembangan perangkat biologi sintetis untuk mengontrol ekspresi gen yang tepat (Aliu & Wang, 2022 ; Thompson *dkk.*, 2020).
- c. Peningkatan Efisiensi Transformasi: Beberapa modifikasi seperti pengenalan gen virulensi penolong dan penggunaan galur dengan aktivitas enzimatis tertentu seperti GABA transaminase, telah meningkatkan efisiensi transformasi pada banyak tanaman termasuk pada tanaman bandel seperti jeruk dan tomat (Dominguez *dkk.*, 2022; Nonaka *dkk.*, 2017).
- d. Aplikasi dalam Perbaikan Tanaman: Transformasi yang dimediasi oleh *Agrobacterium* sangat penting untuk pembuatan organisme hasil rekayasa genetika (GMO) yang dapat melawan hama, meningkatkan kandungan nutrisi dan menyesuaikan diri dengan perubahan iklim. Proses ini sangat penting untuk meningkatkan hasil panen dan mengurangi kebutuhan akan pestisida (Weir & Dalzell, 2020).

6. Strategi mengatasi tantangan dalam transformasi berbasis *Agrobacterium*

Transformasi berbasis *Agrobacterium* adalah metode penting dalam rekayasa genetika tanaman, namun muncul berbagai tantangan seperti efisiensi transformasi yang rendah dan resistensi tanaman terhadap infeksi. Berikut adalah strategi dan solusi untuk mengatasi hal tersebut.

- a. Optimasi Kondisi Transformasi: Meningkatkan efisiensi infeksi dapat dilakukan dengan mengatur konsentrasi *Agrobacterium*, media suspensi, dan waktu ko-kultivasi. Misalnya, dengan konsentrasi *Agrobacterium* OD₆₅₀ = 0,6 dan media yang mengandung dithiothreitol, efisiensi infeksi pada kedelai mencapai lebih dari 96%. Pada terong, konsentrasi *Agrobacterium* OD₆₀₀ = 0,6 dan ko-kultivasi selama dua hari meningkatkan efisiensi transformasi (Khatun *dkk.*, 2021; Li *dkk.*, 2017).
- b. Penggunaan Vektor Ternary *Super-Infective*: Sistem vektor ternary yang menggabungkan enzim pengurai asam salisilat, GABA dan etilen telah terbukti meningkatkan efisiensi transformasi dengan menetralkan mekanisme pertahanan tanaman (Jeong *dkk.*, 2024).
- c. Strain *Agrobacterium* yang ditingkatkan: Strain yang dimodifikasi secara genetik untuk meningkatkan efisiensi transformasi dan mengurangi rekombinasi plasmid yang tidak diinginkan. Hal ini termasuk penggunaan enzim seperti ACC deaminase dan GABA transaminase (De Saeger *dkk.*, 2021; Nonaka *dkk.*, 2019).
- d. Kombinasi Hormon yang Tepat: Kombinasi hormon yang optimal seperti penggunaan GA₃ dan IAA, dapat meningkatkan laju elongasi tunas dan efisiensi transformasi (Li *dkk.*, 2017).
- e. Kombinasi Metode Transformasi: Menggabungkan metode transformasi *Agrobacterium* dengan biolistik dapat meningkatkan efisiensi transformasi seperti yang terlihat pada kapas (Schropfer

dkk., 2022). Biolistik adalah metode transformasi genetik yang dilakukan dengan cara "menembakkan" partikel-partikel mikroskopis (biasanya emas atau tungsten) yang telah dilapisi DNA ke dalam sel tanaman menggunakan alat yang disebut *gene gun* atau *particle bombardment*. Metode ini memungkinkan DNA menembus dinding dan membran sel untuk mencapai inti sehingga dapat berintegrasi dengan genom tanaman. Biolistik sangat berguna terutama pada tanaman yang sulit ditransformasi menggunakan *Agrobacterium* saja. Ketika digabungkan, *Agrobacterium* dapat digunakan untuk memfasilitasi integrasi gen yang stabil sementara biolistik membantu memasukkan DNA ke sel-sel yang sebelumnya sulit dijangkau sehingga efisiensi dan cakupan transformasi dapat ditingkatkan.

- f. Penggunaan Teknologi Penyuntingan Genom: Teknologi penyuntingan genom seperti CRISPR/Cas9, dapat digunakan untuk meningkatkan presisi modifikasi genetik dan efisiensi transformasi (Schropfer dkk., 2022; Khatun dkk., 2021).

KESIMPULAN

Agrobacterium tumefaciens merupakan agen rekayasa genetika alami yang memiliki kemampuan tinggi dalam mentransfer DNA ke dalam genom tanaman secara stabil. Keunggulan utamanya terletak pada efisiensi transformasi, spesifisitas terhadap tanaman serta stabilitas ekspresi gen yang dihasilkan. Teknologi ini telah berhasil diterapkan dalam berbagai penelitian untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap hama, penyakit dan kondisi lingkungan ekstrem. Namun, terdapat beberapa tantangan dalam penggunaannya seperti keterbatasan jangkauan inang, efisiensi transformasi yang bervariasi antar spesies tanaman, serta mekanisme pertahanan alami tanaman yang dapat menghambat proses transformasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, S. E. R. (2022). A review: *Agrobacterium*-mediated gene transformation to increase plant productivity. *J Phytopharm*, 11, 111-117.
- Aliashkevich, A., & Cava, F. (2022). LD-transpeptidases: the great unknown among the peptidoglycan cross-linkers. *The FEBS journal*, 289(16), 4718–4730.
- Aliu, E., Lee, K., & Wang, K. (2022). CRISPR RNA-guided integrase enables high-efficiency targeted genome engineering in *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Biotechnology Journal*, 20, 1916 - 1927. <https://doi.org/10.1111/pbi.13872>.
- Anjanappa, R. B., & Gruissem, W. (2021). Current progress and challenges in crop genetic transformation. *Journal of Plant Physiology*, 261, 153411.
- Belanger, J. G., Copley, T. R., Hoyos-Villegas, V., Charron, J. B., & O'Donoghue, L. (2024). A comprehensive review of in planta stable transformation strategies. *Plant Methods*, 20(1), 79.
- Bennur, P. L., O'Brien, M., Fernando, S. C., & Doblin, M. S. (2025). Improving transformation and regeneration efficiency in medicinal plants: insights from other recalcitrant species. *Journal of Experimental Botany*, 76(1), 52-75.
- Brown, P. J. B., Chang, J. H., & Fuqua, C. (2023). *Agrobacterium tumefaciens*: a Transformative Agent for Fundamental Insights into Host-Microbe Interactions, Genome Biology, Chemical Signaling, and Cell Biology. *Journal of Bacteriology*. 205(4), 1-14.
- Cameron, T. A., Anderson-Furgeson, J., Zupan, J. R., Zik, J. J., & Zambryski, P. C. (2014). Peptidoglycan synthesis machinery in *Agrobacterium tumefaciens* during unipolar growth and cell division. *mBio*, 5(3), e01219-14.
- Christie, P. J., & Gordon, J. E. (2014). The *Agrobacterium* Ti Plasmid. *Microbiol Spectr*. 2(6), 1-29.
- Cody, J. P., Maher, M. F., Nasti, R. A., Starker, C. G., Chamness, J. C., & Voytas, D. F. (2023). Direct delivery and fast-treated *Agrobacterium* co-culture (Fast-TrACC) plant transformation methods for *Nicotiana benthamiana*. *Nature Protocols*, 18(1), 81-107.
- De Saeger, J., Park, J., Chung, H. S., Hernalsteens, J. P., Van Lijsebettens, M., Inzé, D., ... & Depuydt, S. (2021). *Agrobacterium* strains and strain improvement: Present and outlook. *Biotechnology advances*, 53, 107677.
- Dominguez, M., Padilla, C., & Mandadi, K. (2022). A versatile *Agrobacterium*-based plant transformation system for genetic engineering of diverse citrus cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 13.

- Faisal, S. M., Haque, M. S., Nasiruddin, K. M., & Rownok, N. F. (2024). Genetic Transformation in Cucumber as Influenced by Inoculation Time and Co-cultivation Period. *International Journal of Advance Research and Innovation (IJARI)*, 12(4), 33-39.
- Figueroa-Cuilan, W. M., Howell, M., Richards, C., Randich, A., Yadav, A. K., Cava, F., & Brown, P. J. (2022). Induction of AmpC-mediated β -lactam resistance requires a single lytic transglycosylase in *Agrobacterium tumefaciens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(12), e00333-22.
- Groenewold, M. K., Hebecker, S., Fritz, C., Czolkoss, S., Wiesselmann, M., Heinz, D. W., & Moser, J. (2019). Virulence of *Agrobacterium tumefaciens* requires lipid homeostasis mediated by the lysyl-phosphatidylglycerol hydrolase AcvB. *Molecular microbiology*, 111(1), 269-286.
- Hooykaas, P. J. (2023). The Ti plasmid, driver of *Agrobacterium* pathogenesis. *Phytopathology*, 113(4), 594-604.
- Hooykaas, M. J., & Hooykaas, P. J. (2025). Crown Gall Induced by a Natural Isolate of *Brucella* (*Ochrobactrum*) *pseudogrignonense* Containing a Tumor-Inducing Plasmid. *Microorganisms*, 13(1), 102.
- Howell, M., Aliashkevich, A., Sundararajan, K., Daniel, J. J., Lariviere, P. J., Goley, E. D., Cava, F., & Brown, P. J. B. (2019). *Agrobacterium tumefaciens* divisome proteins regulate the transition from polar growth to cell division. *Molecular microbiology*, 111(4), 1074–1092.
- Hwang, H. H., Yu, M., & Lai, E. M. (2017). *Agrobacterium*-mediated plant transformation: biology and applications. *The arabidopsis book*, 15, e0186.
- Jawad & Wijayanti, N. (2021). *Agrobacterium*-Mediated Transformation Improvement in Tomato. *Journal of Biology and Today's World*. 10(5), 1-4.
- Jeong, J., Jeon, E., Hwang, M., Song, Y., & Kim, J. (2024). Development of super-infective ternary vector systems for enhancing the *Agrobacterium*-mediated plant transformation and genome editing efficiency. *Horticulture Research*, 11.
- Kang, B., Maeshige, T., Okamoto, A., Kataoka, Y., Yamamoto, S., Rikiishi, K., & Suzuki, K. (2020). The presence of the hairy-root-disease-inducing (Ri) plasmid in wheat endophytic rhizobia explains a pathogen reservoir function of healthy resistant plants. *Applied and environmental microbiology*, 86(17), e00671-20.
- Kaur, R. P., & Devi, S. (2019). In planta transformation in plants: a review. *Agricultural Reviews*, 40(3), 159-174.
- Khatun, M., Borphukan, B., Alam, I., Keya, C., Reddy, M., Khan, H., & Salimullah, M. (2021). An improved *Agrobacterium* mediated transformation and regeneration protocol for successful genetic engineering and genome editing in eggplant. *Scientia Horticulturae*.
- Kuo, W. H., Hung, Y. L., Wu, H. W., Pan, Z. J., Hong, C. Y., & Wang, C. N. (2018). Shoot regeneration process and optimization of *Agrobacterium*-mediated transformation in *Sinningia speciosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 134, 301-316.
- Lacroix, B., & Citovsky, V. (2019). Pathways of DNA transfer to plants from *Agrobacterium tumefaciens* and related bacterial species. *Annual review of phytopathology*, 57(1), 231-251.
- Lacroix, B., & Citovsky, V. (2022). Genetic factors governing bacterial virulence and host plant susceptibility during *Agrobacterium* infection. *Advances in genetics*, 110, 1.
- Li, S., Cong, Y., Liu, Y., Wang, T., Shuai, Q., Chen, N., Gai, J., & Li, Y. (2017). Optimization of *Agrobacterium*-Mediated Transformation in Soybean. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Lin, C. Y., Donohoe, B. S., Ahuja, N., Garrity, D. M., Qu, R., Tucker, M. P., & Wei, H. (2017). Evaluation of parameters affecting switchgrass tissue culture: toward a consolidated procedure for *Agrobacterium*-mediated transformation of switchgrass (*Panicum virgatum*). *Plant Methods*, 13, 1-19.
- Nahirnak, V., Almasia, N. I., González, M. N., Massa, G. A., Décima Oneto, C. A., Feingold, S. E., ... & Vazquez Rovere, C. (2022). State of the art of genetic engineering in potato: from the first report to its future potential. *Frontiers in Plant Science*, 12, 768233.
- Nicolia, A., Manzo, A., Veronesi, F., & Rosellini, D. (2014). An overview of the last 10 years of genetically engineered crop safety research. *Critical reviews in biotechnology*, 34(1), 77-88.
- Nonaka, S., Someya, T., Kadota, Y., Nakamura, K., & Ezura, H. (2019). Super-*Agrobacterium* ver. 4: improving the transformation frequencies and genetic engineering possibilities for crop plants. *Frontiers in plant science*, 10, 1204.

- Nonaka, S., Someya, T., Zhou, S., Takayama, M., Nakamura, K., & Ezura, H. (2017). An *Agrobacterium tumefaciens* Strain with Gamma-Aminobutyric Acid Transaminase Activity Shows an Enhanced Genetic Transformation Ability in Plants. *Scientific Reports*, 7.
- Ouyang, C., Jin, X., Guo, Q., Luo, S., Zheng, Y., Zou, J., & Li, D. (2024). Highly Efficient *Agrobacterium tumefaciens* Mediated Transformation of Oil Palm Using an EPSPS-Glyphosate Selection System. *Plants*, 13(23), 3343.
- Safitri, F. A., Ubaidillah, M., & Kim, K. M. (2016). Efficiency of transformation mediated by *Agrobacterium tumefaciens* using vacuum infiltration in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Biotechnology*, 43(1), 66-75.
- Sandhya, D., Jogam, P., Venkatapuram, A. K., Savitikadi, P., Peddaboina, V., Allini, V. R., & Abbagani, S. (2022). Highly efficient *Agrobacterium*-mediated transformation and plant regeneration system for genome engineering in tomato. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(6), 103292.
- Schropfer, S., Lempe, J., Emeriewen, O., & Flachowsky, H. (2022). Recent Developments and Strategies for the Application of *Agrobacterium*-Mediated Transformation of Apple *Malus × domestica* Borkh. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.928292>.
- Shivashakarappa, K., Marriboina, S., Dumenyo, K., Taheri, A., & Yadegari, Z. (2025). Nanoparticle-mediated gene delivery techniques in plant systems. *Frontiers in Nanotechnology*, 7.
- Silalahi, D. A. R. W. I. N., Wirawan, I. G. P., & Sritamin, M. A. D. E. (2021). Transformasi genetik tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) dengan gen *acvb* menggunakan vektor *Agrobacterium tumefaciens*. *Agrotrop: Journal on Agriculture Science*, 11(1), 63.
- Subramoni, S., Nathoo, N., Klimov, E., & Yuan, Z. C. (2014). *Agrobacterium tumefaciens* responses to plant-derived signaling molecules. *Frontiers in plant science*, 5, 322.
- Sunday, G., Nwaneri, G., Ugwu, C. M., Onyekachi, O. I., Ruth, C. C., Ebenene, I. N., Nedum, C. H. Oli, A. N. (2024). *Agrobacterium tumefaciens*: Biology and application in genetic engineering. *GSC Advanced Research and Reviews*, 2024, 20(01), 389–398.
- Swartwood, K., & Eck, J. V. (2019). Development of plant regeneration and *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation methodology for *Physalis pruinosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 137, 465-472.
- Thompson, M. G., Moore, W. M., Hummel, N. F. C., Pearson, A. N., Barnum, C. R., Scheller, H. V., & Shih, P. M. (2020). *Agrobacterium tumefaciens*: A Bacterium Primed for Synthetic Biology. *BioDesign Research*, 1-16.
- Tiwari, M., Mishra, A. K., Chakrabarty, D. (2022). *Agrobacterium*-mediated gene transfer: recent advancements and layered immunity in plants. *Planta*, 256(2), 21-13.
- Udayabhanu, J., Huang, T., Xin, S., Cheng, J., Hua, Y., & Huang, H. (2022). Optimization of the transformation protocol for increased efficiency of genetic transformation in *Hevea brasiliensis*. *Plants*, 11(8), 1067.
- Vats, S., Kaur, S., Chauhan, A., Biswas, D. K., & Deshmukh, R. (2024). Advancement in Delivery Systems and Vector Selection for CRISPR/Cas-Mediated Genome Editing in Plants. *Applications of Genome Engineering in Plants*, 52-77.
- Wang, P., Si, H., Li, C., Xu, Z., Guo, H., Jin, S., & Cheng, H. (2025). Plant genetic transformation: achievements, current status and future prospects. *Plant Biotechnology Journal*.
- Weir, R., & Dalzell, J. (2020). *Agrobacterium*: Soil Microbe, Plant Pathogen, and Natural Genetic Engineer. 8. <https://doi.org/10.3389/frym.2020.00064>.
- Xia, Y., Cao, Y., Ren, Y., Ling, A., Du, K., Li, Y., & Kang, X. (2023). Effect of a suitable treatment period on the genetic transformation efficiency of the plant leaf disc method. *Plant Methods*, 19(1), 15.
- Ye, X., Shrawat, A., Moeller, L., Rode, R., Rivlin, A., Kelm, D., & Armstrong, C. L. (2023). *Agrobacterium*-mediated direct transformation of wheat mature embryos through organogenesis. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1202235.
- Zhang, Y., Lee, C. W., Wehner, N., Imdahl, F., Svetlana, V., Weiste, C., & Deeken, R. (2015). Regulation of oncogene expression in T-DNA-transformed host plant cells. *PLoS pathogens*, 11(1), e1004620.