

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Densitas kultur *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 sebesar 0,5 pada OD<sub>600</sub> dapat meningkatkan efisiensi transformasi plasmid pTA7002-*AtRKD4* sebesar  $3,39 \times 10^3$  CFU/ $\mu$ g. Hasil ini berbeda dengan hipotesis yang menyatakan bahwa densitas kultur *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 pada OD<sub>600</sub> yang paling optimum untuk meningkatkan efisiensi transformasi plasmid pTA7002-*AtRKD4* adalah 0,3.
2. Waktu inkubasi pada nitrogen cair yang optimum untuk proses transformasi plasmid pTA7002-*AtRKD4* ke dalam *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 dengan metode *freeze thaw* sesuai dengan hipotesis awal yaitu selama 5 menit, dengan efisiensi transformasi yang dihasilkan sebesar  $2,40 \times 10^3$  CFU/ $\mu$ g.

### B. Saran

Saran yang dapat dilakukan untuk penelitian lanjutan adalah:

1. Pengamatan pola pertumbuhan *Agrobacterium tumefaciens* EHA 105 dapat dilakukan hingga diperoleh fase kematian agar diperoleh data yang lengkap mengenai fase pertumbuhan bakteri ini.
2. Pengenceran dapat dilakukan ketika akan menginokulasikan kultur suspensi *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 hasil transformasi ke medium selektif, untuk mempermudah perhitungan jumlah bakteri transforman yang berhasil tumbuh.

3. Penelitian lanjutan berupa optimasi konsentrasi  $\text{CaCl}_2$  pada tahap pembuatan sel kompeten dan optimasi suhu *thawing* pada proses transformasi dapat dilakukan untuk meningkatkan efisiensi transformasi.
4. Penelitian lanjutan berupa uji stabilitas gen *AtRKD4* dan *HPT* pada beberapa generasi perlu dilakukan untuk mengetahui secara pasti sampai generasi ke berapa gen tersebut masih stabil.



## DAFTAR PUSTAKA

- Acquaah, G. 2004. Understanding *Biotechnology, An Integrated and Cyber-based Approach*. Prentice Hall, New Jersey. Halaman 5 dan 30.
- Addgene. 2016. *pTA7002avrPto*. <https://www.addgene.org/49156/>. 16 Juni 2016.
- Aoyama, T. dan Chua, N.H. 1997. A glucocorticoid-mediated transcriptional induction system in transgenic plants. *Plant J.* 11:605–612.
- Assaduzzaman, M., Bari, M.A., Rahman, M., Minami, M., Matsushima, K. dan Nemoto, K. 2008. GUS gene transformation in rice (*Oryza sativa L.*,) variety BBRI Dhan-30 mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Biotechnology* 7(3): 530-536.
- Benson. 2001. *Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology Eighth Edition*. The McGraw-Hill Companies, New York. Halaman 42, 64, 168. 169.
- Bins, A., dan Campbell, A. 2001. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated Transformation of Plant Cells. Nature Publishing Group, USA. Halaman 1.
- Bio Basic. 2017. *Luria Bertani Broth*. <https://store.biobasic.com/resources/productinfo/info.SD7002.pdf>. Diakses pada 16 Juni 2016.
- Calvin, N.M. dan Hanawalt, P.C. 1988. High-efficiency transformation of bacterial cells by electroporation. *Journal of Bacteriology* 170 (6): 2796-2801.
- Cao-Hoang, L., Dumont, F., Marechal, P. A., dan Gervais, P. 2010. Inactivation of *Escherichia coli* and *Lactobacillus plantarum* in Relation to Membrane Permeabilization Due to Rapid Chilling Followed by Cold Storage. *Arch Microbiol* 192, 299–305.
- Casali, N. dan Preston, A. 2003. *E. coli Plasmid Vectors : Methods and Application*. Humana Press, New Jersey. Halaman 1, 169-174.
- Chardin, C., Girin, T., Roudier, F., Meyer, C. dan Krapp, A. 2014. *Journal of Experimental Botany* doi:10.1093/jxb/eru261. <http://jxb.oxfordjournals.org>. 16 Juni 2016.
- Chetty, V.J., Ceballos, N., Garcia, D., Narvaez-Vasques, J., Lopez, W. dan Orozco-Cardenaz, M.L. 2012. Evaluation of four *Agrobacterium tumefaciens* strains for the genetic transformation of tomato (*Solanum lycopersicum L.*) cultivar micro-tom. *Plant Cell Rep.* 32(2): 239–247.

- Corredoira, E., San-Jose M. C., Ballester, A., dan Vieitez, A. M. 2005. Genetic transformation of *Castanea sativa* Mill. by *Agrobacterium tumefaciens*. *Acta Hort* 693:387–394.
- Das, S., dan Dash, H. R. 2015. *Microbial Biotechnology-A Laboratory Manual for Bacterial Systems*. Springer, India. Halaman 35-39.
- Ditta, G., Stanfield, S., Corbin, D. dan Helinski, D. R. 2001. Broad host range DNA cloning system for gram-negative bacteria: construction of a gene bank of *Rhizobium meliloti*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:7347–7351.
- Dutt, M., dan Grosser, J. W. 2009. Evaluation of parameters affecting *Agrobacterium*-mediated transformation of citrus. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 98:331–340.
- GE. 2007. *NanoVue<sup>TM</sup> User Manual*. med.fsu.edu/userFiles/file/NanoVue\_Manual.pdf. Diakses pada tanggal 4 April 2017.
- Geneaid Biotech Ltd. 2016. *Presto<sup>TM</sup> Mini Plasmid Kit*. <http://www.geneaid.com/sites/default/files/PDH11.pdf>. Diakses pada tanggal 19 September 2016.
- Hanahan, D. 1983. Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *Journal of Molecular Biology* 166:557-580.
- Harley, J. P. dan Prescott, L. M. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology* Fifth Edition. McGraw-Hill, New York. Halaman 43-47,76-78, 99-102, 117-120, 127.
- Hinnebusch, J., dan Tilly, K. 1993. Linear plasmid and chromosomes in bacteria. *Molecular Microbiology* 10(5):917-922.
- Hofgen, R. dan Willmitzer, L. 1988. Storage of competent cells for *Agrobacterium tumefaciens*. *Nucleic Acids Res.* 16: 9877.
- Hogg, S. 2005. *Essential Microbiology*. John Willey & Sons Ltd, Inggris. Halaman 101-105.
- Holsters, M., de Waele, D., Depicker, A., Messens, E., van Montagu, M. dan Schell, J. 1978. Transfection and transformation of *Agrobacterium tumefaciens*. *Mol Gen Gene* 163 (2):181-187.
- Holt J.C. dan Bergey, D.H. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore. Halaman 288-289.
- Iganacimuthu, S., Arockiasamy, S. dan Terada, R. 2000. Genetic transformation of rice: current status and future prospect. *Current Science* 79(2):186-192.

- Inoue, H., Nojima, H., dan Okayama, H. 1990. High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmid. *Gene* 96:23-28.
- Janjua, S., Younis, S., Deeba, F. dan Naqvi, S.M.S. 2014. High efficiency DNA transformation protocol for *Escherichia Coli* using combination of physico-chemical methods. *Int. J. Agric. Biol* 16: 132–138.
- Jutono, J.S., Hartadi, S., Kabirutn, S., Darmosuwito, S. dan Soesanto. 1980. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi untuk Perguruan Tinggi*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Jyothishwaran, G., Kotresha, D., Selvaraj, T., Srideshikan, S.M., Rajvanshi, P.K. dan Jayabaskaran, C. 2007. A modified freeze-thaw method for efficient transformation of *Agrobacterium tumefaciens*. *Current Science* 93(6):770-772.
- Kang, H., Fang, Y., dan Singh K.B. 1999. A glucocorticoid-inducible transcription system cause severe growth defects in *Arabidopsis* and induces defense-related genes. *The Plant Journal* 20(1):127-133.
- Klug, W. S., dan Cummings, M. R. 1994. *Concepts of Genetics*. 4<sup>th</sup> ed. Prentice-Hall Englewood, New Jersey. Halaman 397.
- Közegi, D., Johnston, A.J., Rutten, T., Chizal, A., Altshcmied, L., Kumhlen, J., Wüst, S.E.J., Kiriukhova, O., Gheyselinck, J., Grossniklaus, U., dan Bäumlein, H. 2011. Members of the RKD transcription factor family induce an egg cell-like gene expression program. *The Plant Journal* 67: 280-291.
- MacFarland, T.W. 2014. *Introduction to Data Analysis and Graphical Presentation in Biostatistics with R Statistics in the Large*. Springer, New York.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., dan Clark, D. P. 2012. *Brock Biology of Microorganisms* 13<sup>th</sup> Edition. Pearson Education, Inc., United States of America. Halaman 125, 126.
- Mazur P. 1977. The Role of Intracellular Freezing in the Death of Cells Cooled at Supraoptimal Rates. *Cryobiology* 14: 251–272.
- Mazur, P., dan Schmidt, J. J. 1968. Interactions of Cooling Velocity, Temperature, and Warming Velocity on the Survival of Frozen and Thawed Yeast. *Cryobiology* 5: 1–17.
- Merserean, M., Gregory, J., Pazour dan Das, A. 1990. Efficient transformation of *Agrobacterium tumefaciens* by electroporation. *Gene* 90: 149–151.
- Miljkovic-Selimovic, B., Babic, T., Kocic, B., Stojanovic, P., Ristic, L., dan Dinic, M. 2007. Bacterial plasmid. *Acta Medica Medianae* 46:61-65.

- Movahedi, A., Zhang, J., Amirian, R. dan Zhuge, Q. 2014. An efficient Agrobacterium-mediated transformation system for poplar. *Int. J. Mol. Sci* 15:10780-10793.
- Mursyanti, E., Purwantoro, A., Moeljopawiro, S., dan Semiarti, E. 2015. Induction of somatic embryogenesis through overexpression of *AtRKD4* genes in *Phalaenopsis* "Sogo vivien". *Indonesian Journal of Biotechnology* 20 (1):42-53.
- Nogard, M. V., Keem, K., dan Monahan, J. J. 1978. Factors affecting the transformayion of *Escherichia coli* strain chil776 by pBR322 plasmid DNA. *Gene* 3:279-292.
- Panja, S., Aich, P., Jana, B., dan Basu, T. 2008. Plasmid DNA binds to the core ligosaccharide domain of LPS molecules of *E. coli* cell surface in the CaCl<sub>2</sub>-mediated transformation process. *Biomacromolecules* 9(9):2501-2509.
- Parija, S.C. 2012. *Textbook of Microbiology and Immunology* Edisi Ke-2. Elsevier, New Delhi. Halaman 25, 41-43.
- Park, C., Canlas, P.E. dan Ronald, P.C. 2012. Establishment of glucocorticoid-mediated transcriptional induction of the rice XA21 pattern recognition receptor. *Journal of Plant Biology* 55:43-49.
- Pratheesh, P. T., Shonima, G. M. Thomas, J., Abraham, C. L. dan Muraleedhara Kurup, G. 2012. Study on efficacy of different *Agrobacterium tumefaciens* strains in genetic transformation of microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Advances in Applied Science Research* 3(5):2679-2686.
- Primrose, S.B., Twyman, R.M. dan Old, R.W. 2001. *Principles of Gene Manipulation* Sixth Edition. Blackwell Publishing, Oxford. Halaman 26, 27, 28, 29, 55, 56, 57.
- Promega. 2009. *Technical bulletin: Griess reagent system*. Promega corporation, Madison. Halaman 2 dan 6
- Rahmawati, S. 2006. Status Perkembangan perbaikan sifat genetik padi menggunakan transformasi Agrobacterium. *Jurnal AgroBiogen* 2(1):36-44.
- Reece, J. B. Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., Jackson, R. B., dan Campbell, N. A. 2011. *Campbell Biology 9<sup>th</sup> Edition*. Pearson Education, Inc., San Francisco. Halaman 443-444.
- Sambrook, J. dan Russel, D. W. 2001. *Molecular Cloning-A Laboratorium Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York. Halaman 8.4-8.24, 5.1-5.17, A8.21.

- Sharma, K.K., Marthur, P.B. dan Thrope, T.A. 2005. Genetic transformation technology: status and problem. *In Vitro Cell Development Biology-Plant* 41:102-112.
- Sigma-Aldrich. 2016. *KAPA Taq EXtra HotStart ReadyMix*. <http://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Roche/Datasheet/1/t�hsrmkbdat.pdf>. Diakses pada tanggal 19 September 2016.
- Singh, M., Yadav, A., Ma, X., dan Amoah, E. 2010. Plasmid DNA transformation in *Escherichia Coli*:effect of heat shock temperature, duration, and cold incubation of CaCl<sub>2</sub> treated cells. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry* 6(4):561-568.
- Strange, R. E., dan Postgate, J. R. 1964. Penetration of substances into cold-shocked bacteria. *Journal of General Microbiology* 36:393-403.
- ThermoFisher. 2017. *LB Agar, Powder (Lennox LAgar)*. <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/22700025>. Diakses pada tanggal 16 Juni 2016.
- Thiel, T. 1999. *Nutrient Broth, Agar Plates, and Slants*. Departement of Biology, University of Missouri-St. Louis. Halaman 59.
- Thieman, W.J. dan Palladino, M.A. 2004. *Introduction to Biotechnology*. Pearson Benjamin Cummings. Inc., San Fransisco. Halaman 59-61
- Trinh, T.H., Ratet, P., Kondorosi, E., Durand, P., Kamate, K., Bauer, P. dan Kondorosi, A. 1998. Rapid and efficient transformation of diploid *Medicago truncatula* and *Medicago sativa* ssp falcata lines improved in somatic embryogenesis. *Plant Cell Rep.* 17: 345-355.
- Tunner P. C., McLennan, A. G., Bates, A. D., dan White, M. R. H. 2000. *Instant Notes in Molecular Biology*. Springer Verlag, Singapore.
- Waki, T., Hiki, T., Watanabe, R., Hashimoto, T. dan Nakajima, K. 2011. The *Arabidopsis* RWP-RK protein RKD4 triggers gene expression and pattern formation in early embryogenesis. *Current Biology* 21:1277–1281.
- Wang, D., He, D., Li, G., Gao, S., Lv, H., Shan, Q. dan Wang, L. 2014. An efficient tool for random insertional mutagenesis : *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of the filamentous fungus *Aspergillus terreus*. *Journal of Microbiological Methods* 98:114–118.
- Wang, K. 2006. *Agrobacterium Protocols*. Humana Press Inc., New Jersey. Halaman 7, 43-53, 176
- Widyasari, W.B. dan Suhandono, S. 2007. Konstruksi vektor biner untuk ekspresi gen *dip22* (yang diisolasi dari tebu varietas *M 442-52*) pada tanaman. *Berk. Penel. Hayati* 13:15-26.

- Winnacker, E-L. 1987. *From Genes to Clones. Introduction to Gene Technology*. Dalam: Widyasari, W.B. dan Suhandono, S. 2007. Konstruksi vektor biner untuk ekspresi gen *dip22* (yang diisolasi dari tebu varietas *M 442-52*) pada tanaman. *Berk. Penel. Hayati* 13:15-26.
- Yang, J., Yi, J., Yang, C. dan Li, C. 2013. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of *Salix matsudana* koidz. using mature seeds. *Tree Physiology* 33: 628–639.
- Yoo, L. 2010. The Effect of *rpoH* for Heat Shock Gene Expression on Plasmid Transformation. *Jurnal of Experimental Microbiology and Immunology* 14: 108-111.
- Yuwono, T. 2006. *Teori dan Aplikasi: Polymerase Chain Reaction*. Andi offset, Yogyakarta. Halaman 237.
- Ziemienowicz, A. 2014. Agrobacterium-mediated plant transformation: factors, applications and recent advances. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 3: 95–102.

## LAMPIRAN

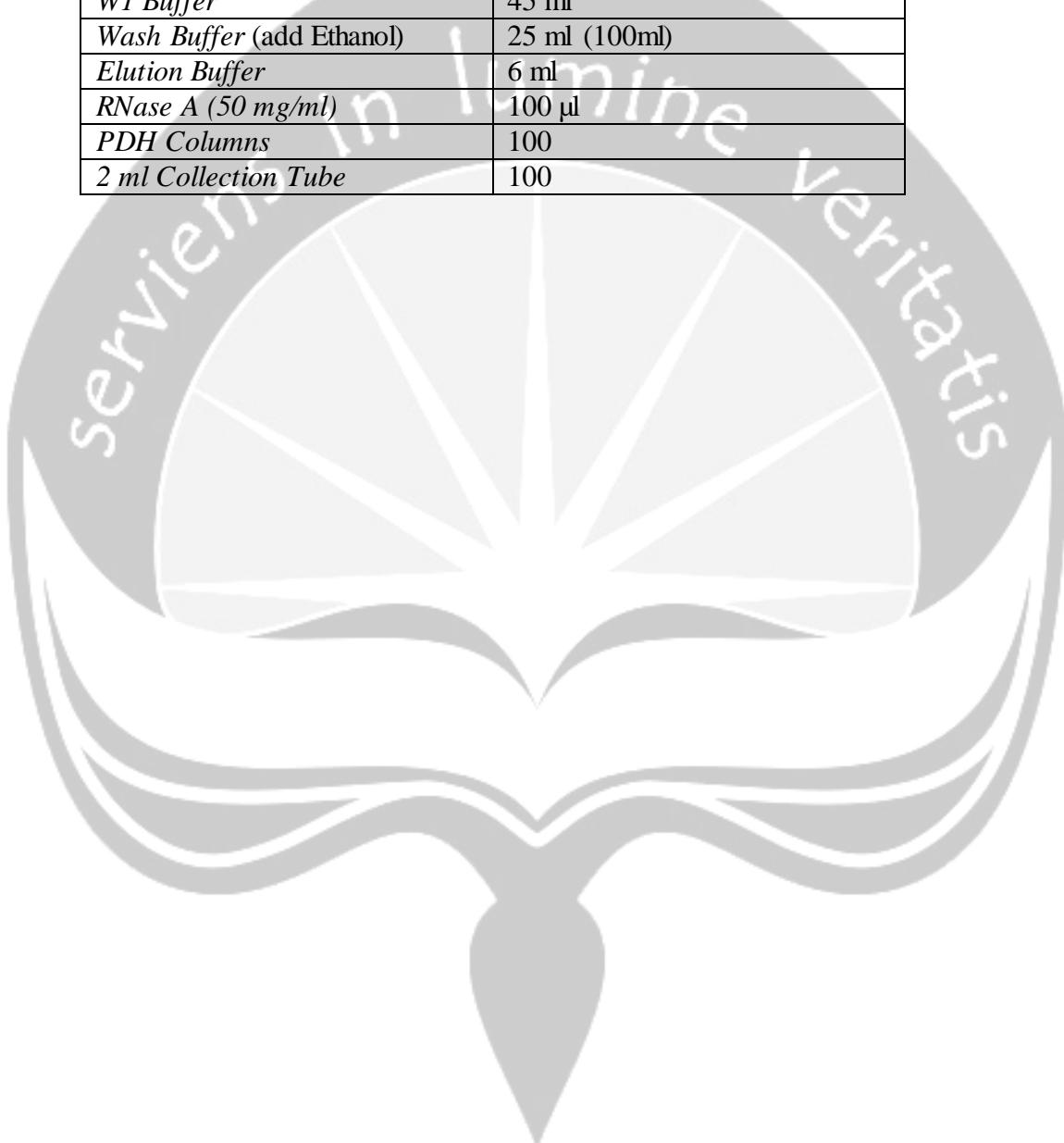
Lampiran 1. Jadwal pelaksanaan penelitian

Kegiatan	Bulan				
	September	Oktober	November	Desember	Januari
Pembuatan medium					
Sterilisasi					
Kemurnian bakteri					
Stok kultur					
Pola pertumbuhan					
Isolasi plasmid					
Kegiatan	Bulan				
	Februari	Maret	April	Mei	Juni
Isolasi plasmid					
Deteksi plasmid					
Kuantifikasi plasmid					
Transformasi I					
Konfirmasi					
Transforman I					
Transformasi II					
Konfirmasi					
Transforman II					
Analisis Data					
Penyelesaian					
Naskah					

**KKN**

**Lampiran 2. Komponen Geneaid Presto™ Mini Plasmid Kit PDH 100**

<b>Komponen</b>	<b>Volume</b>
<i>PD 1 Buffer</i>	25 ml
<i>PD 2 Buffer</i>	25 ml
<i>PD 3 Buffer</i>	45 ml
<i>TrueBlue Lysis Buffer</i>	250 µl
<i>W1 Buffer</i>	45 ml
<i>Wash Buffer (add Ethanol)</i>	25 ml (100ml)
<i>Elution Buffer</i>	6 ml
<i>RNase A (50 mg/ml)</i>	100 µl
<i>PDH Columns</i>	100
<i>2 ml Collection Tube</i>	100



### Lampiran 3. Pembuatan gel agarosa 1,4% dan elektroforesis

Pembuatan gel agarose dan metode elektroforesis mengacu pada Sambrook dan Russel (2001) dengan modifikasi. Gel agarose dibuat dengan memasukkan serbuk agarose 0,42 gram dan 30 ml buffer TBE (1x) ke dalam Erlenmeyer, kemudian dipanaskan menggunakan *microwave* selama ± 60 detik sampai larutan jernih. Larutan dibiarkan sebentar hingga hangat, setelah itu ditambahkan 2 µl Florosafe DNA gel stain, kemudian diaduk rata. Larutan agarose dituang ke dalam cetakan yang telah dilengkapi *comb*, kemudian didiamkan selama ± 20 menit hingga membeku membentuk gel. Setelah gel membeku, tanggalkan *comb* secara perlahan. Gel dipindahkan ke dalam bak elektroforesis horizontal, kemudian bak elektroforesis diisi dengan buffer TBE (1x) hingga gel terendam seluruhnya.

Proses elektroforesis dilakukan dengan cara sampel DNA hasil amplifikasi PCR diambil sebanyak 5 µl kemudian dimasukkan ke dalam sumuran gel agarose menggunakan mikropipet. Elektroforesis dijalankan selama 50 menit dengan besaran arus listrik 50 V. Setelah itu gel diamati pita-pita DNA-nya menggunakan GelDoc transilluminator. Hasil visualisasi diamati dan difoto.

Lampiran 4. Data efisiensi transformasi plasmid pTA7002-*AtRKD4* pada *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 menggunakan metode *freeze thaw* dengan variasi nilai OD<sub>600</sub> kultur

Nilai OD <sub>600</sub>	Pengulangan	Jumlah Koloni Transforman(CFU)	Konsentrasi DNA Plasmid (µg)	Faktor Pengenceran	Efisiensi Transformasi (CFU/µg)
0.2	1	174	0.297	1	$1.17 \times 10^3$
	2	63	0.297	1	$4.24 \times 10^2$
	3	142	0.297	1	$9.56 \times 10^2$
0.3	1	248	0.297	1	$1.67 \times 10^3$
	2	176	0.297	1	$1.19 \times 10^3$
	3	158	0.297	1	$1.06 \times 10^3$
0.4	1	427	0.297	1	$2.88 \times 10^3$
	2	382	0.297	1	$2.57 \times 10^3$
	3	309	0.297	1	$2.08 \times 10^3$
0.5	1	755	0.297	1	$5.08 \times 10^3$
	2	331	0.297	1	$2.23 \times 10^3$
	3	424	0.297	1	$2.86 \times 10^3$
0.6	1	376	0.297	1	$2.53 \times 10^3$
	2	403	0.297	1	$2.71 \times 10^3$
	3	294	0.297	1	$1.98 \times 10^3$
0.7	1	332	0.297	1	$2.24 \times 10^3$
	2	315	0.297	1	$2.12 \times 10^3$
	3	328	0.297	1	$2.21 \times 10^3$

Lampiran 5. Hasil ANAVA efisiensi transformasi plasmid pTA7002-*AtRKD4* pada *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 menggunakan metode *freeze thaw* dengan variasi nilai OD<sub>600</sub> kultur

Variabel Bebas: Efisiensi transformasi

	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Rerata Kuadrat	F	Sig.
Antar Kelompok	12377244.444	5	2475448.889	5.298	.008
Dalam Kelompok	5606645.333	12	467220.444		
Total	17983889.778	17			

#### Deskriptif

Variabel Bebas: Efisiensi transformasi

Variasi Nilai OD600 Kultur	Ulangan	Rata-rata Efisiensi Transformasi	Standar Deviasi	Standar error	Interval Rata-rata Efisiensi Transformasi pada Tingkat kepercayaan 95%		Minimum	Maksimum
					Batas Bawah	Batas Atas		
0.2	3	850.00	384.130	221.778	-104.23	1804.23	424	1170
0.3	3	1306.67	321.299	185.502	508.51	2104.82	1060	1670
0.4	3	2510.00	403.361	232.881	1508.00	3512.00	2080	2880
0.5	3	3390.00	1497.097	864.349	-329.00	7109.00	2230	5080
0.6	3	2406.67	380.307	219.570	1461.93	3351.40	1980	2710
0.7	3	2190.00	62.450	36.056	2034.87	2345.13	2120	2240
Total	18	2108.89	1028.531	242.427	1597.41	2620.37	424	5080

Lampiran 6. Hasil DMRT efisiensi transformasi plasmid pTA7002-*AtRKD4* pada *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 menggunakan metode *freeze thaw* dengan variasi nilai OD<sub>600</sub> kultur

Efisiensi Transformasi					
Nilai OD600 Kultur		Pengulangan	Subset		
			1	2	3
0.2	3	850.00			
0.3	3	1306.67	1306.67		
0.7	3		2190.00	2190.00	
0.6	3		2406.67	2406.67	
0.4	3		2510.00	2510.00	
0.5	3	.429	.068	.069	
Sig.					

Lampiran 7. Data efisiensi transformasi plasmid pTA7002-*AtRKD4* pada *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 menggunakan metode *freeze thaw* dengan variasi waktu inkubasi dalam nitrogen cair

Waktu Inkubasi Nitrogen Cair	Ulangan	Jumlah Koloni Transforman(CFU)	Konsentrasi DNA Plasmid (ug)	Faktor Pengenceran	Efisiensi Transformasi (CFU/ $\mu$ g)
3 Menit	1	61	0.297	1	$4.11 \times 10^2$
	2	134	0.297	1	$9.02 \times 10^2$
	3	119	0.297	1	$8.01 \times 10^2$
4 Menit	1	243	0.297	1	$1.64 \times 10^3$
	2	129	0.297	1	$8.69 \times 10^2$
	3	270	0.297	1	$1.82 \times 10^3$
5 Menit	1	585	0.297	1	$3.94 \times 10^3$
	2	260	0.297	1	$1.75 \times 10^3$
	3	222	0.297	1	$1.49 \times 10^3$
6 Menit	1	278	0.297	1	$1.87 \times 10^3$
	2	318	0.297	1	$2.14 \times 10^3$
	3	252	0.297	1	$1.70 \times 10^3$
7 Menit	1	167	0.297	1	$1.12 \times 10^3$
	2	77	0.297	1	$5.19 \times 10^2$
	3	205	0.297	1	$1.38 \times 10^3$

Lampiran 8. Hasil ANAVA efisiensi transformasi plasmid pTA7002-*AtRKD4* pada *Agrobacterium tumefaciens* EHA105 menggunakan metode *freeze thaw* dengan variasi waktu inkubasi dalam nitrogen cair

#### **ANOVA**

Variabel Bebas: Efisiensi transformasi

	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Rerata Kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	5524026.267	4	1381006.567	2.912	.078
Dalam Kelompok	4741705.333	10	474170.533		
Total	10265731.600	14			

#### **Deskriptif**

Variabel Bebas: Efisiensi Transformasi

	Ulangan	Rata-rata Efisiensi Transfor masi	Standar Deviasi	Sandar Error	Interval Rata-rata Efisiensi Transformasi pada Tingkat kepercayaan 95%		Minimum	Maksimum
					Batas Bawah	Batas Atas		
3 Menit	3	704.67	259.288	149.700	60.56	1348.77	411	902
4 Menit	3	1441.00	503.656	290.786	189.85	2692.15	869	1818
5 Menit	3	2395.00	1343.256	775.529	-941.83	5731.83	1495	3939
6 Menit	3	1903.33	223.652	129.126	1347.75	2458.92	1697	2141
7 Menit	3	1008.00	442.263	255.341	-90.64	2106.64	519	1380
Total	15	1490.40	856.310	221.098	1016.19	1964.61	411	3939