

Pemanfaatan *Agrobacterium tumefaciens* Pada Transgenesis Tumbuhan

Halifah

Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Muhammdiyah Maluku

halifah642@gmail.com

ABSTRAK

Abstrak : Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pemanfaatan *Agrobacterium tumefaciens* dalam proses transgenesis tumbuhan. Metode yang digunakan adalah kajian literatur melalui pengumpulan, analisis, dan sintesis berbagai sumber ilmiah relevan guna menjawab pertanyaan penelitian. Hasil kajian menunjukkan bahwa *A. tumefaciens* merupakan bakteri gram negatif aerob obligat yang hidup secara alami di tanah serta dikenal sebagai penyebab penyakit crown gall pada berbagai tanaman. Dalam bidang bioteknologi, bakteri ini dimanfaatkan sebagai vektor transformasi genetik karena kemampuannya mentransfer DNA dari plasmid Ti ke dalam genom tanaman target. Transformasi yang diperantarai *A. tumefaciens* telah terbukti efektif pada berbagai tanaman dikotil maupun monokotil, dengan tingkat keberhasilan tinggi, kestabilan integrasi gen yang baik, serta biaya yang relatif lebih ekonomis dibandingkan metode transformasi lainnya.

Kata kunci: *Agrobacterium tumefaciens*, transformasi genetik, tanaman transgenik.

ABSTRACT

Abstract: This study aims to examine the utilization of *Agrobacterium tumefaciens* in plant transgenesis. A literature review method was applied, involving the collection, analysis, and synthesis of relevant scientific sources to address the research questions. The findings indicate that *A. tumefaciens* is a gram-negative obligate aerobic bacterium naturally found in soil and is widely known as the causal agent of crown gall disease in many crops. In biotechnology, this bacterium serves as a genetic transformation vector due to its ability to transfer DNA from the Ti plasmid into the genome of target plants. *A. tumefaciens*-mediated transformation has been proven effective in both dicotyledonous and monocotyledonous species, offering high success rates, stable gene integration, specificity, and cost efficiency compared to other transformation techniques.

Keywords: *Agrobacterium tumefaciens*, genetic transformation, transgenic plants

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Rekayasa genetik telah menjadi salah satu strategi utama dalam pemuliaan tanaman modern karena memungkinkan perbaikan sifat tanaman secara lebih cepat, terarah, dan spesifik dibandingkan metode pemuliaan konvensional. Melalui pendekatan ini, gen yang mengendalikan karakter unggul, seperti toleransi terhadap kekeringan, ketahanan terhadap hama, maupun resistensi penyakit, dapat diintroduksi langsung ke genom tanaman target. Dengan demikian, rekayasa genetika memberikan peluang besar dalam pengembangan varietas tanaman unggul untuk mendukung ketahanan pangan dan adaptasi terhadap perubahan iklim global. Keberhasilan pengembangan tanaman transgenik sangat dipengaruhi oleh tersedianya sistem transformasi dan regenerasi tanaman yang efisien serta rancangan konstruksi gen (misalnya penggunaan promotor kuat dan gen penanda seleksi), serta kemampuan eksplan tanaman untuk beregenerasi menjadi tanaman utuh setelah proses transformasi. Faktor-faktor ini menentukan stabilitas integrasi gen serta ekspresi karakter yang diinginkan pada tanaman hasil transformasi. Metode transformasi genetik tanaman yang paling banyak digunakan hingga saat ini adalah transformasi yang diperantarai oleh *Agrobacterium tumefaciens*. Bakteri tanah ini memiliki kemampuan biologis unik untuk mentransfer segmen DNA tertentu yang disebut *transfer-DNA* (T-DNA) dari plasmid Ti (*tumor-inducing plasmid*) ke dalam sel tanaman. T-DNA tersebut kemudian berintegrasi secara stabil ke dalam genom tanaman target, sehingga memungkinkan ekspresi sifat baru yang diwariskan pada generasi berikutnya (Azizi-Dargahlou & pouresmaeil, 2024). Transformasi berbasis *A. tumefaciens* memiliki beberapa keunggulan dibandingkan metode lain seperti biolistik, antara lain tingkat integrasi gen yang lebih stabil, jumlah salinan transgen yang relatif rendah, serta biaya yang lebih ekonomis. Selain itu, metode ini kompatibel dengan teknologi bioteknologi modern seperti *genome editing* berbasis CRISPR/Cas9, sehingga semakin memperluas aplikasinya dalam pengembangan tanaman unggul (Azizi-Dargahlou & pouresmaeil, 2024). Penerapan transformasi yang diperantarai *A. tumefaciens* telah berhasil dilakukan pada berbagai tanaman dikotil maupun monokotil dengan optimasi protokol kultur jaringan. Beberapa penelitian terbaru melaporkan bahwa efisiensi transformasi dipengaruhi oleh jenis strain bakteri, konsentrasi inokulum, lama ko-kultivasi, serta penggunaan asetosiringon untuk menginduksi gen virulensi (*vir genes*) pada bakteri (Aggarwal et al., 2024). Studi pada tanaman obat *Eclipta alba* menunjukkan bahwa penggunaan strain LBA4404 dengan vektor pBI121 mampu menghasilkan tanaman transgenik yang terverifikasi melalui analisis molekuler gen penanda seleksi (Aggarwal et al., 2024). Selain itu, penelitian pada tanaman hias *Kalanchoe blossfeldiana* juga membuktikan bahwa transformasi stabil melalui *A. tumefaciens* memberikan hasil pertumbuhan tanaman yang lebih normal dibandingkan transformasi menggunakan *A. rhizogenes*, sehingga memperkuat peran bakteri ini sebagai agen utama dalam transgenesis tanaman modern (W. Yu et al., 2025). Secara keseluruhan, pemanfaatan *Agrobacterium tumefaciens* dalam transgenesis tumbuhan tetap menjadi pendekatan dominan dalam bioteknologi tanaman karena efisiensi transfer gen yang tinggi, kestabilan integrasi transgen, serta fleksibilitas aplikasinya dalam pengembangan varietas unggul berbasis rekayasa genetika. Dengan perkembangan teknologi molekuler terkini, metode ini diprediksi akan terus menjadi fondasi penting dalam inovasi pemuliaan tanaman berkelanjutan. Oleh karena itu, **sintesis literatur berikut menekankan** peran *Agrobacterium tumefaciens* dalam transgenesis tanaman serta aspek teknis yang memengaruhi keberhasilan transformasi.

2. Perumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut dapat dirumuskan permasalahan yaitu : bagaimana penelitian dengan judul Pemanfaatan *Agrobacterium tumefaciens* Pada Transgenesis Tumbuhan dapat dilaksanakan dengan benar dan tepat waktu.

3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari pada penelitian ini adalah memperoleh hasil penelitian dari judul Pemanfaatan *Agrobacterium tumefaciens* Pada Transgenesis Tumbuhan.

4. Manfaat Penelitian

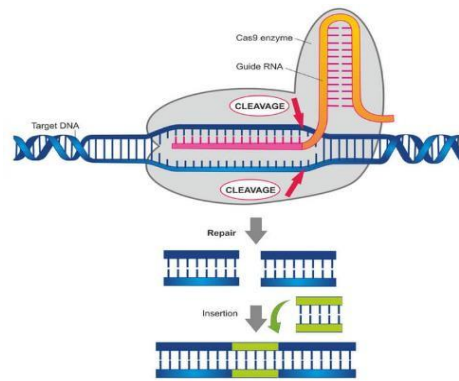
Manfaat penelitian ini adalah : dapat mengimplikasikan hasil penelitian dari judul Pemanfaatan *Agrobacterium tumefaciens* Pada Transgenesis Tumbuhan kepada dunia pendidikan terutama ilmu biologi dan sebagai sumber literatur akademis penelitian selanjutnya.

II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode kajian literatur dengan mengumpulkan data pustaka melalui pembacaan kritis, seleksi, dan pengelolaan sumber ilmiah yang relevan (Zed, 2008). Proses kajian dilakukan mengikuti pedoman literature review modern untuk menghasilkan sintesis ilmiah yang sistematis dan terstruktur (Snyder, 2019; Tranfield et al., 2003). Literatur diperoleh melalui penelusuran pada berbagai basis data akademik bereputasi, seperti Scopus, ScienceDirect, SpringerLink, PubMed, Taylor & Francis serta Google Scholar sebagai sumber pendukung. Kata kunci yang digunakan dalam pencarian meliputi *Agrobacterium tumefaciens*, *plant genetic transformation*, *transgenesis*, *T-DNA integration*, dan *Agrobacterium-mediated transformation*. Artikel yang diperoleh kemudian diseleksi berdasarkan relevansi topik, kredibilitas sumber, serta keterbaruan publikasi. Data yang terkumpul dianalisis menggunakan pendekatan deskriptif untuk menginterpretasikan temuan dan menyusun sintesis terkait pemanfaatan *Agrobacterium tumefaciens* dalam transgenesis tumbuhan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penerapan CRISPR-CAS 9 dalam rekayasa genetika buah tomat (*Solanum lycopersicum*) Teknologi CRISPR/Cas9 merupakan salah satu metode *genome editing* yang berkembang pesat dalam rekayasa genetika tanaman karena memungkinkan penyuntingan genom secara presisi untuk menghasilkan varietas dengan sifat-sifat baru. Sistem ini bekerja melalui kombinasi enzim nuklease Cas9 dan *guide RNA* (gRNA) yang berfungsi mengenali sekuens DNA target pada lokasi yang berdekatan dengan **protospacer adjacent motif** (PAM). Setelah target dikenali, Cas9 menginduksi pemotongan DNA berupa *double-strand break* (DSB), yang selanjutnya diperbaiki melalui mekanisme perbaikan DNA endogen tanaman sehingga memungkinkan terbentuknya mutasi terarah maupun modifikasi gen tertentu (Jinek et al., 2012; Manghwar et al., 2020). Skema mekanisme pemotongan DNA oleh sistem CRISPR/Cas9 disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Teknik pemotongan gen CRISPR-CAS9 (Carvalho, 2022)

Protein Cas9 memiliki dua domain nuklease utama, yaitu **RuvC** dan **HNH**, yang masing-masing memotong salah satu untai DNA. Mekanisme ini menjadikan CRISPR/Cas9 sebagai sistem yang efisien untuk menghasilkan perubahan genomik yang stabil pada berbagai tanaman budidaya, termasuk tomat (*Solanum lycopersicum*) (Nekrasov et al., 2017). Dalam penerapannya, konstruksi plasmid rekombinan yang membawa kaset CRISPR/Cas9 umumnya diperbanyak terlebih dahulu melalui transformasi ke dalam *Escherichia coli*, kemudian dipindahkan ke dalam strain ***Agrobacterium tumefaciens*** seperti LBA4404 sebagai vektor transformasi tanaman. Keberhasilan penyisipan konstruk dapat dikonfirmasi melalui analisis molekuler, misalnya PCR atau restriksi enzim (Gelvin, 2017). Pemanfaatan *A. tumefaciens* sebagai vektor transformasi didasarkan pada kemampuannya mentransfer **DNA** secara stabil ke dalam genom tanaman, menghasilkan jumlah salinan transgen yang relatif rendah, serta kompatibilitasnya dengan sistem *genome editing* modern. Selain itu, vektor transformasi biasanya dilengkapi dengan elemen penting seperti *origin of replication*, *multiple cloning site*, serta gen penanda seleksi untuk memudahkan identifikasi transforman (Hwang et al., 2017). Tahap selanjutnya meliputi inokulasi eksplan atau kecambah tomat menggunakan suspensi *A. tumefaciens* yang ditumbuhkan pada medium selektif, diikuti proses ko-kultivasi dalam kondisi gelap selama beberapa hari untuk memfasilitasi transfer DNA. Efisiensi transformasi dipengaruhi oleh kondisi inokulasi, durasi ko-kultivasi, serta respons regenerasi jaringan tanaman (D. Yu et al., 2020). Keberhasilan introduksi sistem CRISPR/Cas9 kemudian divalidasi melalui PCR menggunakan primer spesifik gen Cas9 maupun target gRNA, sehingga memastikan konstruksi telah terintegrasi pada tanaman tomat transforman (Nekrasov et al., 2017). Kekurangan dan kelebihan tomat hasil rekayasa *Agrobacterium tumefaciens* Pemanfaatan rekayasa genetika menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* tentu saja memiliki dua sisi yang berbeda yaitu sisi keberhasilan (kelebihan) dan sisi kegagalan (kekurangan).

Penerapan gen cryIII melalui *Agrobacterium tumefaciens* untuk mengatasi serangan hama boleng pada ubi jalar (*Ipomea batatas*)

Proses transformasi plasmid ke dalam sel bakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu heat shock dan elektroforasi. Dalam penelitian ini metode transformasi yang digunakan adalah elektroforasi. *A. tumefaciens* yang berhasil tertransformasi dengan plasmid rekombinan akan menghasilkan single colony di dalam media agar yang mengandung antibiotik rifampisin 50 ppm, streptomisin 30 ppm dan antibiotik yang ada di plasmid berupa kanamisin 50 ppm dan neomisin 10 ppm. Tahapan awal dalam proses transformasi dengan menggunakan metode elektroporasi adalah dengan mempersiapkan sel agar kompeten. Sel kompeten adalah kemampuan sel untuk memasukan DNA asing (Zako et al., 2016). Pembuatan sel kompeten merupakan langkah yang krusial dalam proses transformasi (Green & Sambrook, 2017). Dalam penelitian ini, digunakan Transformation

Storage Solution (TSS) sebagai tambahan untuk pembuatan sel kompeten. Komposisi TSS terdiri dari PEG, MgCl₂, dan MgSO₂ (Zako et al., 2016). Penambahan unsur garam dapat membuat lebih efisien dalam transformasi. Dengan adanya kation bivalen Mg²⁺ yang dapat meningkatkan fusi membran sehingga akan mempercepat interaksi DNA dengan permukaan *A. tumefaciens*. Pemberian PEG akan menginduksi transformasi genetik tanpa merusak dinding sel. Setelah didapatkan sel kompeten, plasmid rekombinan dicampur dalam tube yang sama lalu dihomogenkan dan kemudian diinkubasi pada es. Hal ini bertujuan untuk plasmid dapat menempel pada membran sel dan untuk menjaga stabilitas dari permeabilitas membran sel sebelum dilakukannya transformasi (Rotinsulu et al., 2019). Sel yang akan dibuat kompeten dilihat pertumbuhannya dengan mengukur optical density (OD) atau berdasarkan kekeruhan dari pertumbuhan bakteri. Tanda adanya pertumbuhan bakteri dapat terlihat dari kekeruhan yang semakin meningkat dan menandakan meningkatnya jumlah sel bakteri (Rotinsulu et al., 2019). Pertumbuhan sel bakteri dengan melihat OD menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Panjang gelombang 600 nm digunakan untuk pengukuran pertumbuhan. Panjang gelombang ini menyerap warna kuning-oranye sehingga memudahkan untuk pengukuran OD (Wacogne et al., 2024). Dalam penelitian ini OD₆₀₀ sebesar 0,4 yang dicapai setelah inkubasi overnight pada suhu 30 °C. Pemilihan OD₆₀₀ sebesar 0,4 sebagai sel kompeten karena termasuk dalam fase eksponensial atau disebut juga periode steady state (Wahyuni et al., 2022). Dalam penelitian ini, plasmid rekombinan berhasil tertransformasi ke dalam sel *A. tumefaciens*. Sekuen DNA berhasil teramplifikasi dengan primer CryIII yang spesifik. Pemilihan primer menentukan hasil dari produk PCR. Untuk memaksimalkan amplifikasi gen, dilakukan desain primer terlebih dahulu dengan parameter sebagai berikut: panjang primer tidak lebih dari 18–22 bp, Temperature melting (T_m) 52–58 °C, GC Content berkisar 40–60%, GC clamp minimal 3 dan maksimal 5, Produk PCR idealnya berkisar 100–500 bp, dan perbedaan T_m dari setiap primer tidak lebih dari 5 °C. Primer dengan panjang basa lebih dari 22 pasang basa akan menyebabkan penempelan primer menjadi tidak spesifik. Karakteristik kedua yang perlu diperhatikan adalah selisih T_m sekitar 5 °C. Hal ini ditujukan agar tidak terjadi penurunan pada proses amplifikasi. Selain itu, prosentase basa G dan C juga harus diperhatikan karena jumlah basa G dan C dapat mempengaruhi T_m (Jeon et al., 2019). Klon transforman yang tumbuh dipilih secara acak untuk diambil single colony dan ditumbuhkan ke dalam media LB cair dengan volume 25 mL dan ditambah antibiotik kanamisin 50 ppm dan neomisin 10 ppm. Kultur cair diambil 20 mL untuk proses isolasi dan sisanya dibuat stok gliserol dan sebagai template PCR koloni.

Penerapan gen pBI-P5CS melalui *Agrobacterium* sebagai Transformasi Tebu

Gen **P5CS** yang telah dimasukkan ke dalam *Agrobacterium tumefaciens* selanjutnya **diintroduksi** ke dalam eksplan tebu, yaitu kalus yang berasal dari media padat, kalus embriogenik, serta embrio somatik hasil kultur **SPS**. Transformasi dilakukan menggunakan metode yang dikembangkan oleh (Compton, 1994) dengan penambahan asetosiringon sebanyak 100 ppm dan tahap ko-kultivasi dalam kondisi gelap selama dua hari. Setelah ko-kultivasi, kalus dipindahkan ke media **Murashige and Skoog (MS)** untuk induksi pertumbuhan tunas yang mengandung antibiotik kanamisin sebagai agen seleksi. Pertumbuhan kalus pada media seleksi diamati di ruang kultur dengan kondisi terang sejak hari ke-1 hingga hari ke-28, kemudian dilakukan subkultur setiap empat minggu hingga terbentuk planlet. Transformasi gen **P5CS** berhasil dilakukan pada tanaman tebu menggunakan *A. tumefaciens* strain GV3101, LBA4404, dan AGL1 dengan eksplan berupa kalus dari media padat, embrio somatik, serta kalus asal kultur **SPS**. Pertumbuhan eksplan dan tunas transforman dari embrio somatik dan kalus embriogenik kultur **SPS** menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan eksplan kalus biasa. Selain itu, eksplan

transforman dari varietas **Kidang Kencana** menghasilkan pertumbuhan tunas yang paling optimal dibandingkan varietas lainnya. Hasil uji **GUS** dan analisis **PCR** mengonfirmasi bahwa konstruk gen **P5CS** telah berhasil terintegrasi ke dalam tanaman tebu. Dengan demikian, transformasi gen P5CS dan regenerasi transgeniknya berpotensi menghasilkan tanaman tebu toleran terhadap cekaman kekeringan (MINARSIH et al., 2015)

Penerapan gen Csp melalui *Agrobacterium* sebagai Transformasi *Nicotiana tabacum* L.

Transformasi genetik tembakau kultivar Samsun dilakukan dengan menggunakan eksplan yang berupa potongan daun **Samsun**. Gen *Csp* disisipkan ke dalam pCambia 1300int di bawah kendali promotor ubiquitin membentuk plasmid pCambia 1300int-*CspB*. kemudian Plasmid pCambia 1300int-*CspB* dimasukkan ke dalam *A. tumefaciens* LBA 4404 uUntuk menguji peranan gen *Csp* dalam toleransi tanaman terhadap cekaman panas, maka gen ini diintroduksi ke dalam genom tembakau. Hal ini dilakukan untuk mengevaluasi transformasi genetik *N. tabacum* L. cv. Samsun dengan gen *CspB* di bawah kendali promotor pUbiquitin dan terminator NosT yang diperantarai *A. Tumefaciens* (Waluyo, 2013). Gen *Csp* terinduksi pada kondisi panas (Phadtare & Severinov, 2010) dan dingin (Wouters et al., 1999) untuk melindungi RNA. Gen *Csp* telah berhasil diisolasi dari berbagai organisme, seperti *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, gandum dan *Arabidopsis thaliana* (Willimsky et al., 1992), Gen *Csp* dari *B. subtilis* dan *B. caldolyticus* mampu diinduksi pada kondisi panas (Phadtare & Severinov, 2010). Dengan demikian, Transformasi gen *CspB* yang diperantarai *A. tumefaciens* telah berhasil dilakukan dengan menghasilkan tembakau transgenik putatif (Waluyo, 2013)

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

Tanaman transgenik dapat dihasilkan melalui teknologi rekayasa genetik dengan memanfaatkan gen dari berbagai organisme melalui metode transformasi yang diperantarai *Agrobacterium tumefaciens*, karena kemampuannya mentransfer DNA secara stabil ke dalam genom tanaman target. Pemanfaatan bakteri ini terbukti efektif dalam menghasilkan tanaman dengan sifat unggul seperti ketahanan terhadap hama, toleransi cekaman lingkungan, serta peningkatan kualitas nutrisi

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal, D., Datta, V., Tuli, H. S., Kumar, P., & Ramniwas, S. (2024). *Agrobacterium tumefaciens*-Mediated Genetic Transformation of *Eclipta alba*. *International Journal of Plant Biology* 2024, Vol. 15, Pages 641-651, 15(3), 641–651.
- Azizi-Dargahlou, S., & pouresmaeil, M. (2024). *Agrobacterium tumefaciens*-Mediated Plant Transformation: A Review. *Molecular biotechnology*, 66(7), 1563–1580.
- Bawa, A. S., & Anilakumar, K. R. (2012). Genetically modified foods: safety, risks and public concerns—a review. *Journal of Food Science and Technology* 2012 50:6, 50(6), 1035–1046.
- Compton, M. E. (1994). Statistical methods suitable for the analysis of plant tissue culture data. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 37(3), 217–242.
- Gelvin, S. B. (2017). Integration of *Agrobacterium* T-DNA into the Plant Genome. *Annual Review of Genetics*, 51(Volume 51, 2017), 195–217. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-035320>
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2017). Isolation of High-Molecular-Weight DNA Using Organic Solvents. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2017(4), pdb.prot093450.
- Hwang, H.-H., Yu, M., & Lai, E.-M. (2017). *Agrobacterium* -Mediated Plant Transformation: Biology and Applications . *The Arabidopsis Book*, 15(15), e0186.

- Jeon, H., Bae, J., Hwang, S. H., Whang, K. Y., Lee, H. S., Kim, H., & Kim, M. S. (2019). MRPrimerW2: An enhanced tool for rapid design of valid high-quality primers with multiple search modes for qPCR experiments. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W614–W622. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz323>
- Lee, J. A., Baugh, A. C., Shevalier, N. J., Strand, B., Stolyar, S., & Marx, C. J. (2021). Cross-feeding of a toxic metabolite in a synthetic lignocellulose-degrading microbial community. *Microorganisms*, 9(2), 1–20.
- Lorenz, T. C. (2012). Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategies. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 63, 3998.
- MINARSIH, H., SUBIYARTI, D., RIYADI, I., PUTRA, S. M., & AMBARSARI, L. (2015). Evaluasi varietas, sumber eksplan dan strain *Agrobacterium* terhadap keberhasilan transformasi tebu dengan gen P5CS Evaluation of varieties, explant sources, and *Agrobacterium* strains for successful sugarcane transformation using P5CS gene. *Menara Perkebunan*, 83(1).
- Møller, T. A., Booth, T. J., Shaw, S., Møller, V. K., Frandsen, R. J. N., & Weber, T. (2025). ActinoMation: A literate programming approach for medium-throughput robotic conjugation of *Streptomyces* spp. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 10(2), 667–676.
- Nekrasov, V., Wang, C., Win, J., Lanz, C., Weigel, D., & Kamoun, S. (2017). Rapid generation of a transgene-free powdery mildew resistant tomato by genome deletion. *Scientific Reports*, 7(1), 1–6.
- Phadtare, S., & Severinov, K. (2010). RNA remodeling and gene regulation by cold shock proteins. *RNA Biology*, 7(6), 788–795.
- Qaim, M. (2020). Role of New Plant Breeding Technologies for Food Security and Sustainable Agricultural Development. *Applied Economic Perspectives and Policy*, 42(2), 129–150.
- Rotinsulu, S., Fatimawali, F., & Tallei, T. E. (2019). TRANSFORMASI PLASMID YANG MENGANDUNG GEN merB PADA BAKTERI *Escherichia coli* TOP-10. *PHARMACON*, 8(2), 290–297. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29294>
- Snyder, H. (2019). Literature review as a research methodology: An overview and guidelines. *Journal of Business Research*, 104, 333–339.
- Tranfield, D., Denyer, D., & Smart, P. (2003). Towards a Methodology for Developing Evidence-Informed Management Knowledge by Means of Systematic Review. *British Journal of Management*, 14(3), 207–222. <https://doi.org/10.1111/1467-8551.00375>
- Wacogne, B., Belinger Podevin, M., Vaccari, N., Koubevi, C., Codjiová, C., Gutierrez, E., Davoine, L., Robert-Nicoud, M., Rouleau, A., & Frelet-Barrand, A. (2024). Concentration vs. Optical Density of ESKAPEE Bacteria: A Method to Determine the Optimum Measurement Wavelength. *Sensors*, 24(24), 60
- Wahyuni, F. D., Sidiq, M. A., Seprianto, S., & Saraswati, H. (2022). TRANSFORMASI PLASMID REKOMBINAN pRI_101-AN MEMBAWA SISIPAN GEN cryIII MELALUI *Agrobacterium tumefaciens*. *BERITA BIOLOGI*, 21(1), 71–78.

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
04 September 2025	12 September 2025	20 September 2025	Ya