

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
INTISARI	ix
ABSTRACT.....	x
I.PENDAHULUAN	1
1.Latar Belakang.....	1
2.Tujuan Penelitian	2
3.Kegunaan Penelitian	3
II.TINJAUAN PUSTAKA	4
1.Krisan (<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat.)	4
2.Kultur Jaringan Krisan	5
3.Transformasi Genetik pada Krisan Menggunakan Infeksi <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	8
4.Konstruksi Gen Reporter (<i>Green Fluorescent Protein</i>).....	11
5.Penanda Molekuler SRAP (<i>Sequence-Related Amplified Polymorphism</i>)	13
III.METODE PENELITIAN	14
1.Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian	14
2.Alat dan Bahan	14
2.1 Alat dan Bahan untuk Multiplikasi Eksplan	14
2.2 Alat dan Bahan untuk Transformasi Genetik.....	14
2.3 Alat dan Bahan untuk Analisis Molekuler Gen NPT II dan GFP	15
2.4 Alat dan Bahan untuk Analisis Molekuler dengan Penanda SRAP	15
3.Rancangan Percobaan	15
4.Tata Laksana Penelitian	16
4.1 Perbanyak Eksplan.....	16
4.2 Persiapan <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	16
4.3 Infeksi Eksplan dengan Suspensi <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	16
4.4. Eliminasi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (<i>Resting</i>)	17
4.5 Seleksi.....	17
4.6 Analisis Molekuler menggunakan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) untuk Gen nptII dan GFP	17
4.7 Analisis Molekuler menggunakan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) dengan Penanda SRAP	19
4.8 Variabel Pengamatan.....	21
4.9 Analisis Data.....	21
IV.HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
1.Perbanyak Eksplan Krisan untuk Persiapan Transformasi.....	22
2.Konfirmasi Gen GFP dalam plasmid pRI101AN.....	25
3.Transformasi Gen GFP pada Krisan Varietas Awanis Agrihorti	26
3.1 Transformasi Genetik Pertama.....	26

3.2 Transformasi Genetik Kedua	28
3.3 Transformasi Genetik Ketiga	30
3.4 Deteksi Molekuler Tanaman Putatif Transforman	32
3.5 Seleksi Primer	34
V.PENUTUP.....	41
1.Kesimpulan.....	41
2.Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	48
Lampiran 1. Komposisi Media.....	48
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Krisan varietas Awanis Agrihorti	5
Gambar 2. Tunas pucuk krisan dengan 3-4 daun.....	6
Gambar 3. Tunas hasil regenerasi pada media MS + 0,5 mg/L BAP pada umur 1,5 bulan setelah kultur	7
Gambar 4. Subkultur dengan menggunakan eksplan : (A) tunas pucuk (B) nodus pada media ½ MS-0.....	7
Gambar 5. Tunas yang sudah siap untuk diaklimatisasi.....	8
Gambar 6. Plasmid pRI101AN	10
Gambar 7. Proses transformasi genetik melalui <i>Agrobacterium</i>	10
Gambar 8. Ubur-ubur (<i>Aequorea victoria</i>).....	12
Gambar 9. Ilustrasi visualisasi eksplan yang mengekspresikan GFP (tanaman yang mengekspresikan GFP menunjukkan fluoresensi hijau dan tanaman non transforman berwarna merah apabila disinari UV)	12
Gambar 10. Eksplan internodus yang akan disubkultur	23
Gambar 11. Perbanyakkan eksplan krisan di media (A) ½ MS + ½ BAP (B) ½ MS + 3 BAP (C) MS + ½ BAP (D) MS + 3 BAP pada 21 hari setelah subkultur.....	24
Gambar 12. Perbanyakkan eksplan pada media MS + 3 BAP (A) induksi tunas (B) roset	24
Gambar 13. Planlet pada media MS.....	25
Gambar 14. Hasil visualisasi elektroforesis gel pada <i>Agrobacterium tumefaciens</i> strain GV3101	25
Gambar 15. Grafik pertumbuhan <i>Agrobacterium</i> pada berbagai fase	26
Gambar 16. Kondisi eksplan pada transformasi genetik pertama (A) Eksplan <i>overgrowth</i> pada media resting (B) Eksplan terkontaminasi bakteri	28
Gambar 17. Kondisi eksplan pada transformasi genetik kedua (A) Ukuran eksplan kecil pada saat diinfeksi (B) Eksplan albino, browning, dan tidak berakar.....	29
Gambar 18. Ukuran eksplan yang digunakan untuk transformasi lebih besar (A) Internodus (B) Tunas apikal	30
Gambar 19. Eksplan yang mulai berakar di media resting (A) Internodus selama 10 menit (B) Tunas apikal selama 10 menit (C) Internodus selama 15 menit (D) Tunas apikal selama 15 menit	31
Gambar 20. Hasil elektroforesis tanaman krisan putatif transforman untuk : (A) gen nptII (B) gen GFP.....	32
Gambar 21. Visualisasi gen GFP pada eksplan tunas apikal dengan waktu infeksi selama 15 menit	33
Gambar 22. Hasil seleksi 16 kombinasi primer SRAP	35
Gambar 23. Hasil elektroforesis berdasarkan kombinasi primer terpilih.....	36

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Respon induksi tunas krisan pada berbagai media perbanyakan.....	24
Tabel 2. Jumlah eksplan pada transformasi genetik pertama	27
Tabel 3. Jumlah eksplan pada transformasi genetik kedua	28
Tabel 4. Jumlah eksplan pada transformasi genetik ketiga	30
Tabel 5. Efisiensi transformasi genetik ketiga.....	33
Tabel 6. Primer SRAP	34
Tabel 7. Skoring pita DNA primer K5	36
Tabel 8. Skoring pita DNA primer K7	37
Tabel 9. Skoring pita DNA primer K9	37
Tabel 10. Skoring pita DNA primer K10	38
Tabel 11. Skoring pita DNA primer K12	38
Tabel 12. Skoring pita DNA primer K13	39