

## DAFTAR ISI

SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI .....	iii
PRAKATA .....	iv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
INTISARI .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Permasalahan .....	2
C. Tujuan Penelitian .....	2
D. Manfaat Penelitian .....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS .....	4
A. Tinjauan Pustaka .....	4
1. Anggrek Bulan ( <i>Phalaenopsis amabilis</i> (L.) Blume) .....	4
a. Klasifikasi .....	4
b. Deskripsi Morfologi <i>P. amabilis</i> .....	5
c. Habitat .....	7
d. Persyaratan Tumbuh .....	8
2. Peran Gen <i>EFL2</i> dalam Regulasi Gen Pembungan .....	10
3. Filogenetik Gen <i>PaEFL2</i> .....	11
4. <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	11
5. Vektor Plasmid pRGEB32 .....	14
6. Transformasi Plasmid dengan Metode <i>Freeze-Thaw</i> .....	15
7. Teknik Agroinfiltrasi .....	16
8. Sistem Pertahanan Terinduksi pada Tanaman .....	17
9. <i>Reactive Oxygen Species</i> .....	18
10. Senyawa Antioksidan pada Tanaman .....	18
11. Vitamin C .....	19
12. Salep Balsam Zam-Buk .....	20
13. Isolasi DNA dengan Metode CTAB .....	21
14. Teknologi CRISPR/Cas9 .....	22
B. Hipotesis .....	23
BAB III. METODE PENELITIAN .....	25
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	25
B. Bahan .....	25
C. Alat .....	26
D. Cara Kerja .....	27
1. Pembuatan Larutan Stok Antibiotik .....	27
2. Pembuatan Media LB Padat dan Cair .....	27
3. Sterilisasi Alat dan Teknik Aseptis .....	28
4. Perbanyak Stok Bakteri <i>A. tumefaciens</i> GV3101 .....	29

5.	Pembuatan Sel Kompeten Bakteri <i>A. tumefaciens</i> GV3101 .....	29
6.	Transformasi Bakteri <i>A. tumefaciens</i> GV3101 .....	30
7.	Konfirmasi Masuknya Plasmid pRGEB32 ke dalam Sel Bakteri .....	31
8.	Konfirmasi Integrasi gRNA pada pRGEB32 dalam Sel Bakteri .....	32
9.	Konfirmasi Keberadaan Sekuen DNA Target pada Tanaman .....	33
10.	Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Vitamin C .....	34
11.	Pembuatan Buffer MMA (Tanpa Asetosiringon).....	34
12.	Preparasi <i>A. tumefaciens</i> GV3101 dan Agroinfiltrasi <i>P. amabilis</i> .....	35
13.	Uji Klorofil Daun yang Mengalami Pencoklatan.....	36
14.	Isolasi DNA Genom Anggrek <i>P. amabilis</i> .....	37
15.	Konfirmasi Integrasi T-DNA .....	38
16.	Perhitungan Efisiensi Transformasi Genetik.....	38
17.	Analisis Molekuler Transforman pada Gen Target <i>PaEFL2</i> .....	39
18.	Analisis Hasil Sekuensing DNA Fragmen Gen <i>PaEFL2</i> .....	39
19.	Analisis Desain sgRNA secara <i>In Silico</i> .....	40
20.	Karakterisasi Gen <i>PaEFL2</i> dan Analisis Mutasi.....	40
E.	Analisis Data .....	41
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....		42
A.	Transfer Plasmid ke dalam Sel <i>A. tumefaciens</i> GV3101 .....	42
B.	Konfirmasi Konstruksi CRISPR/Cas9 dan gRNA Gen <i>PaEFL2</i> pada T-DNA plasmid pRGEB32 .....	44
C.	Agroinfiltrasi <i>Midrib</i> Daun <i>P. amabilis</i> .....	46
D.	Pengaruh Penggunaan Daun Muda, Vitamin C, dan Balsam Zam-Buk terhadap Efek Luka Agroinfiltrasi .....	47
E.	Pengaruh Balsam Zam-Buk terhadap Penutupan Luka Agroinfiltrasi.....	50
F.	Uji Kandungan Klorofil dan Karotenoid pada Daun <i>P. amabilis</i> .....	52
G.	Efisiensi Transformasi T-DNA ke dalam Genom <i>P. amabilis</i> .....	54
H.	Distribusi T-DNA pada <i>P. amabilis</i> Transforman .....	55
I.	Perkembangan Morfologi <i>P. amabilis</i> Setelah Perlakuan Penyuntingan Genom dengan CRISPR/Cas9 .....	57
J.	Analisis Molekuler <i>P. amabilis</i> Setelah Perlakuan CRISPR/Cas9 .....	58
K.	Analisis <i>In Silico</i> Desain sgRNA <i>PaEFL2</i> T1 dan T2 .....	60
L.	Karakterisasi Mutasi pada Gen <i>PaEFL2</i> secara <i>In Silico</i> .....	63
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....		68
A.	Kesimpulan .....	68
B.	Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA .....		69
LAMPIRAN.....		78