

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
ABSTRAK	xv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang	1
B. Rumusan permasalahan.....	4
C. Tujuan penelitian.....	4
D. Manfaat penelitian.....	5
E. Ruang Lingkup Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Morfologi dan Sistematika Tanaman Tomat.....	6
B. Jalur Perkembangan Mikrospora.....	9
C. Prinsip Dasar Induksi Haploid Ganda.....	11
D. Faktor terjadinya Androgenesis	15
E. Embriogenesis Mikrospora	18
F. Gen Embrio <i>RKD4</i> Homolog.....	20
BAB III. LANDASAN TEORI DAN HIPOTESIS	24
A. Landasan Teori.....	24
B. Hipotesis.....	26

BAB IV. METODOLOGI PENELITIAN	27
A. Waktu dan tempat penelitian.....	27
B. Alat.....	27
C. Bahan.....	28
D. Rancangan penelitian	31
E. Prosedur kerja.....	33
1. Penyediaan tanaman donor tomat	33
2. Penentuan Kriteria Sumber Eksplan	33
3. Prosedur Pembuatan Preparat Anatomis Perkembangan Mikrospora	34
4. Prosedur Isolasi Mikrospora	35
5. Analisa ekspresi gen yang terlibat dalam embriogenesis mikrospora.....	37
F. Analisa Data	44
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	46
A. Analisa perkembangan mikrospora berdasarkan ukuran kuncup bunga	46
B. Pengaruh stress pada kultur isolasi mikrospora tomat	54
C. Analisa ekspresi gen homolog <i>RKD3</i> pada tomat.....	60
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	71
A. Kesimpulan.....	71
B. Saran.....	71
RINGKASAN	73
SUMMARY	74
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN	83

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rancangan Percobaan.....	32
Tabel 2. Primer yang digunakan untuk amplifikasi gen pada DNA genome mikrospora tomat.....	40
Tabel 3. Komponen untuk amplifikasi gen dengan PCR	40
Tabel 4. Komponen Purifikasi RNA	42
Tabel 5. Komponen pre-annealing	42
Tabel 6. Komponen mix sintesis cDNA	43
Tabel 7. Program sintesis cDNA oligo dT.....	43
Tabel 8. Komponen untuk analisis ekspresi gen secara semi kuantitatif dengan PCR	44
Tabel 9. Primer yang digunakan untuk amplifikasi ekspresi gen pada cDNA mikrospora tomat.....	44
Tabel 10. Perkembangan kuncup bunga, antera, dan mikrospora tomat F1 Comodor dan F1 Fortuna-23.	49
Tabel 11. Persentase pembelahan sel mikrospora setelah tujuh hari kultur di bawah berbagai perlakuan stres.	57
Tabel 12. Perbandingan analisa pembelahan sel mikrospora dan ekspresi gen SIRKD3	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Morfologi tanaman tomat,	6
Gambar 2.	Struktur bunga tomat	8
Gambar 3.	Varietas tomat PT. BISI International, Tbk.	9
Gambar 4.	Tahap mikrosporogenesis dan mikrogametogenesis pada tomat.....	10
Gambar 5.	Induksi haploid ganda dalam pemuliaan tanaman.	12
Gambar 6.	Pembelokan jalur gametofitik menuju jalur sporofitik pada mikrospora.	13
Gambar 7.	Perkembangan mikrospora.	14
Gambar 8.	Tipe perkembangan mikrospora embriogenik	19
Gambar 9.	Faktor transkripsi yang mengatur proses embriogenesis tanaman ..	22
Gambar 10.	Tanaman donor tomat.	29
Gambar 11.	Alur penelitian induksi embriogenesis pada tomat.....	31
Gambar 12.	Perhitungan kerapatan mikrospora	36
Gambar 13.	Perkembangan kuncup bunga tomat..	47
Gambar 14.	Tahap perkembangan mikrospora.....	48
Gambar 15.	Perkembangan mikrospora dalam mikrosporangium.	50
Gambar 16.	Penampang melintang bunga tomat pada tahap 1.....	51
Gambar 17.	Anatomi dinding antera tomat pada berbagai tahap perkembangan.	52
Gambar 18.	Pembelahan sel mikrospora setelah tujuh hari kultur pada beberapa perlakuan stres.	55
Gambar 19.	Mekanisme induksi embriogenesis mikrospora.....	59
Gambar 20.	Elektroforegram hasil PCR fragmen gen SIRKD3 pada DNA genome tomat dengan primer RKD3	61
Gambar 21.	Posisi pembacaan primer SLRKD3	61
Gambar 22.	Alignment sekuens asam amino dari protein AtRKD4 <i>A. thaliana</i> dan SIRKD3 <i>S. lycopersicum</i>	62
Gambar 23.	Filogenetik dari gen SIRKD3 pada tomat dengan RKD dari <i>Solanaceae</i> dan <i>Brassicaceae</i>	63

Gambar 24. Ekspresi gen SIRKD3 pada tomat. 64

Gambar 25. Ekspresi housekeeping gene 18s rRNA sebagai kontrol internal. ... 65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi larutan buffer Media B	83
Lampiran 2. Komposisi Media NLN	84
Lampiran 3. Komposisi larutan buffer Arumuganathan	85
Lampiran 4. Deskripsi varietas	86

ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

BA	: 6-Benzyladenine
BLAST	: <i>The Basic Local Alignment Search Tool</i>
BPS	: Badan Pusat Statistika
cDNA	: <i>Complementary DNA</i>
CI	: Larutan 24 kloroform : 1 isoamil alkohol
CTAB	: <i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide</i>
DAPI	: <i>4', 6-Diamidine-2'-phenylindole dihydrochloride</i>
DH	: <i>Double haploid</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
ELS	: <i>Embryo-Like Structure</i>
FAA	: Formalin - asam asetat glasial - alkohol absolut
FAO	: <i>Food and Agricultural Organization</i>
HCL	: <i>Hydrochloric acid</i>
LAF	: <i>Laminar Air Flow</i>
NaOH	: <i>Sodium hydroxide</i>
NCBI	: <i>National Center for Biotechnology Information</i>
NFW	: <i>Nuclease Free Water</i>
NLN	: <i>Nitsch medium modified by Litcher</i>
PCD	: <i>Programmed Cell Death</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PM I/ PM II	: Pollen Mitosis I/ Pollen Mitoais II
RKD	: <i>RWP-RK Domain-containing Protein</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid</i>
TAE	: Tris-acetate-EDTA
TE	: Tris-EDTA
TF	: <i>Transcription Factor</i>
ZE	: <i>Zigotic Embryogenesis</i>
ZPT	: Zat Pengatur Tumbuh