

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii
<b>INTISARI</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	ix
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1. Latar Belakang .....	1
2. Tujuan Penelitian .....	4
3. Manfaat .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
1. Pemuliaan Tanaman Padi .....	5
2. Keracunan Kadmium pada Tanah dan Tanaman .....	6
3. Gen <i>OsNRAMP5</i> pada Tumbuhan.....	7
4. Sistem CRISPR .....	8
5. Transformasi dengan metode ko-transformasi.....	10
6. Transformasi dengan Metode Buluh Serbuk Sari .....	12
7. Padi ‘Ciherang’ .....	14
<b>III. METODE PELAKSANAAN PENELITIAN</b> .....	15
1. Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian .....	15
2. Alat dan Bahan Penelitian.....	15
3. Metode Penelitian .....	15
3.1 Konstruksi kaset vektor CRISPR/ <i>Cas-9</i> untuk pengeditan gen <i>OsNRAMP5</i> .....	15
3.2 Introduksi konstruk CRISPR- <i>Cas9</i> gen <i>OsNRAMP5</i> ke tanaman padi untuk validasi fungsi melalui transformasi menggunakan metode buluh serbuk sari. ....	18
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	20
4.1 Konstruksi kaset vektor CRISPR/ <i>Cas-9</i> untuk pengeditan bagi gen <i>OsNRAMP5</i> .....	21

4.1.1 Perancangan primer RNA penuntun (gRNA) gen <i>OsNRAMP5</i> .....	21
4.1.2 Penempelan oligonukleotida .....	22
4.1.3 Pemotongan vektor pENTR4:gRNA4 dengan enzim restriksi dan pemisahan hasil pemotongan.....	22
4.1.4 Penggabungan gRNA bagi <i>OsNRAMP5</i> pada vektor pENTR4:gRNA4 dan transformasi bakteri <i>E. coli</i> .....	25
4.1.5 Konfirmasi hasil penggabungan gRNA bagi <i>OsNRAMP5</i> pada vektor pENTR4:gRNA4.....	25
4.1.6 Rekombinasi plasmid pBY02- <i>Cas9</i> -ccDB dan pENTR4:gRNA4- <i>OsNRAMP5</i> .....	28
4.2 Introduksi konstruk CRISPR-Cas9 gen <i>OsNRAMP5</i> ke tanaman padi untuk validasi fungsi melalui kotransformasi menggunakan metode buluh serbuk sari .....	30
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>35</b>
5.1 Kesimpulan .....	35
5.2 Saran.....	35
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>36</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>45</b>