

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
INTISARI	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Keaslian Penelitian	6
1.6 Ruang Lingkup Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tanaman Anggrek <i>Arachnis flos-aeris</i>	8
2.2 Tanaman dengan Fenotip <i>Dwarf</i>	11
2.3 Gen <i>GAI</i> dan Pengaruhnya terhadap Regulasi <i>Gibberelic Acid</i> (GA)	17
2.4 <i>Genome Editing</i> dengan Sistem CRISPR/ <i>Cas9</i>	23
2.5 Transformasi dengan <i>A. tumefaciens</i>	27
2.6 Landasan Teori	32
2.7 Hipotesis	35
BAB III METODE PENELITIAN	36
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	36
3.2 Alat dan Bahan	36
3.2.1. Alat	36
3.2.2. Bahan	37
3.3 Prosedur Kerja	39
3.3.1. Karakterisasi Morfologis dan Anatomis Anggrek <i>A. flos-aeris</i>	39
3.3.2. Sterilisasi dan Perkecambahan Biji <i>A. flos-aeris</i>	39
3.3.3. Isolasi DNA Genom Daun <i>Arachnis flos-aeris</i>	40
3.3.4. Amplifikasi dan Visualisasi Gen <i>GAI</i> dan <i>ACTIN</i> dari Genome DNA tanaman Anggrek <i>A. flos-aeris</i>	42
3.3.5. <i>Sequencing</i> dan Analisis Motif Protein pada Gen <i>GAI</i> sebagai Sekuens Target untuk <i>Knock Out</i> dengan CRISPR/ <i>Cas9</i>	44
3.3.6. Desain sgRNA pada Plasmid pRGEB32	45
3.3.7. <i>Self-Annealing</i> dan Kloning sgRNA pada Plasmid pRGEB32	46
3.3.8. Pembuatan Sel Kompeten <i>A. tumefaciens</i> GV3101	50
3.3.9. Transformasi Plasmid pRGEB32 pembawa sgRNA ke <i>A. tumefaciens</i> GV3101	51
3.3.10. Konfirmasi insersi plasmid pRGEB32 ke <i>A. tumefaciens</i> strain GV3101 dengan primer <i>Cas9</i> dan <i>HPT</i>	52
3.3.11. Transformasi Genetik Berbasis <i>A. tumefaciens</i> GV3101 yang mengandung pRGEB32 pembawa T-DNA	

<i>UBI::CRISPR/Cas9::U3::GAI</i> ke Protokorm <i>A. flos-aeris</i> melalui Metode Perendaman	53
3.3.12 Eliminasi <i>A. tumefaciens</i> , Seleksi dan Regenerasi Tanaman <i>A. flos-aeris</i> Transforman.....	54
3.3.13 Identifikasi Hasil <i>Genome Editing</i> pada Tanaman Anggrek <i>A. flos-aeris</i> Transforman dengan primer gen <i>GAI</i> , <i>Cas9</i> , dan <i>ACTIN</i>	56
3.3.14 Analisis Fenotip meliputi Analisis Morfologis dan Anatomis Tanaman <i>A. flos-aeris</i> Transforman	58
3.4 Analisis Data	59
3.5 Diagram Alir Penelitian	61
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	62
4.1 Karakter Morfologis dan Anatomis anggrek <i>A. flos-aeris</i>	63
4.2 Perkecambahan <i>In Vitro A. flos-aeris</i>	69
4.3 Isolasi Genom DNA dan Amplifikasi Gen <i>GAI</i> serta <i>ACTIN</i> pada Tanaman Anggrek <i>Arachnis flos-aeris</i>	81
4.4 Karakterisasi Gen <i>GAI</i> dan Desain sgRNA sebagai Sekuens Target untuk <i>Knock Out</i> dengan CRISPR/ <i>Cas9</i>	85
4.5 <i>Self-Annealing</i> dan Kloning sgRNA pada Plasmid pRGEB32	91
4.6 Transformasi Plasmid pRGEB32 pembawa T-DNA <i>UBI::CRISPR/Cas9::U3::GAI</i> ke <i>A. tumefaciens</i> GV3101 dengan Metode <i>Freeze-Thaw</i> dan Konfirmasi Inseri Plasmid dengan Primer <i>Cas9</i>	94
4.7 Transformasi Genetik T-DNA <i>UBI::CRISPR/Cas9::U3::GAI</i> Berbasis <i>A. tumefaciens</i> GV3101 ke Anggrek <i>A. flos-aeris</i> melalui Metode Perendaman.....	99
4.8 Analisis Fenotipe meliputi Analisis Morfologis dan Anatomis Tanaman Anggrek <i>A. flos-aeris</i> Hasil Transformasi	104
4.9 Konfirmasi Integrasi T-DNA <i>UBI::CRISPR/Cas9::U3::GAI</i> dan Analisis Sekuens gen <i>GAI</i> pada genome Tanaman Anggrek <i>A. flos-aeris</i> Hasil Transformasi	110
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	118
5.1 Kesimpulan	118
5.2 Saran	119
DAFTAR PUSTAKA	120
LAMPIRAN	133