UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Konstruksi Plasmid Sistem CRISPR/Cas9 Genome Editing dan Analisis Off-target In silico Pada Gen MTMR3 dalam Sel Kanker Payudara
RAHMI NAFI'IMAMA, apt. Dyaningtyas Dewi Pamungkas Putri, M.Sc., Ph.D; Prof. Dr.rer.nat. apt. Adam Hermawan, S
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ii
HALAMAN PENGESAHAN iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI iv
PRAKATA v
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL x
DAFTAR GAMBAR xi
DAFTAR LAMPIRAN xii
DAFTAR SINGKATAN xiii
INTISARI xv
ABSTRACT xvi
BAB I PENDAHULUAN 17
1.1. Latar Belakang 17
1.2. Rumusan Masalah 22
1.3. Tujuan Penelitian 23
1.4. Manfaat Penelitian 23
1.4.1. Manfaat teoritis 23
1.4.2. Manfaat praktis 24
1.5. Ruang Lingkup Penelitian 24
1.6. Keaslian Penelitian 25
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 27
2.1. Kajian Pustaka 27
2.1.1. Kanker Payudara 27
2.1.2. *Myotubularin-Related Protein* 3 (MTMR3) 29
2.1.3. Sistem Penyuntingan Genom CRISPR/Cas9 33
2.1.4. *Single Guide* RNA (sgRNA) dan Prinsip Desain sgRNA 35
2.1.5. Efek *off-target* dan Prediksi *In silico* 38
2.1.6. Konstruksi Vektor Plasmid pX459 39
2.2. Landasan Teori 41
2.3. Hipotesis 45
BAB III METODE PENELITIAN 46
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian 46
3.2. Alat 46
3.3. Bahan 47
3.4. Prosedur Penelitian 48
3.4.1. Desain *single-guide* RNA (sgRNA) 48
3.4.2. Deteksi *off-target* sgRNA 49
3.4.3. Media kultur bakteri *Escherichia coli* DH5α 50
3.4.4. Kultur *Escherichia coli* DH5α 51
3.4.5. Pembuatan sel kompeten *Escherichia coli* DH5α 52
3.4.6. Konstruksi plasmid ekspresi pX459 53
3.4.7. Desain oligonukleotida sgRNA 54
3.4.8. Digesti plasmid pX459 55
3.4.9. Purifikasi DNA 55

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Konstruksi Plasmid Sistem CRISPR/Cas9 Genome Editing dan Analisis Off-target In silico Pada Gen MTMR3 dalam Sel Kanker Payudara
RAHMI NAFI'IMAMA, apt. Dyaningtyas Dewi Pamungkas Putri, M.Sc., Ph.D; Prof. Dr.rer.nat. apt. Adam Hermawan,
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

3.4.10. Elektroforesis dan ekstraksi DNA 56
3.4.11. *Annealing* oligonukleotida sgRNA 57
3.4.12. Ligasi oligonukleotida ke plasmid PX459 58
3.4.13. Transformasi plasmid PX459-sgRNA ke dalam sel kompeten *Escherichia coli* DH5α 58
3.4.14. Perbanyakan plasmid PX459-sgRNA 59
3.4.15. Isolasi plasmid PX459-sgRNA dari *Escherichia coli* DH5α 59
3.4.16. PCR koloni 61
3.4.17. Sanger Sekuensing 62
3.5. Analisis Data 63
3.6. Rancangan Penelitian 68
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 69
4.1. Desain *single-guide* RNA (sgRNA) pada Gen *MTMR3* 69
4.2. Analisis *In silico* Prediksi *Off-target* pada sgRNA target gen *MTMR3* .. 74
4.3. Konstruksi Plasmid pX459 dan Optimasi PCR Koloni 91
4.4. Analisis Sekuensing Plasmid Rekombinan pX459-sgRNA *MTMR3* ... 103
BAB V SIMPULAN DAN REKOMENDASI 106
5.1. Simpulan 106
5.2. Rekomendasi 107
DAFTAR PUSTAKA 108
LAMPIRAN 117