

Rekayasa Genetik Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume) dengan CRISPR/Cas9 Genome Editing System

Sri Nopitasari
17/417047/PBI/01484

INTISARI

Penggunaan rekayasa genom *editing* menggunakan CRISPR/Cas9 telah berkembang dan mulai dimanfaatkan pada tumbuhan, salah satunya anggrek yang mampu menghasilkan varietas dengan karakter tertentu. Anggrek Bulan merupakan puspa pesona Indonesia yang banyak diminati masyarakat karena keindahan bunganya. Beberapa anggrek memiliki waktu berbunga yang relatif lama, sehingga mulai dikembangkan karakter lain yang unggul dan unik dengan metode CRISPR/Cas9 misalnya tanaman berdaun varigata sebagai gen introduksi yang dapat diterapkan untuk gen fungsional. Varigata disebabkan oleh mutasi gen nuklear resesif yang memiliki sektor putih atau kuning dan hijau pada daun atau mutasi kloroplas dan mitokondria. Penelitian ini bertujuan untuk menghitung persentase efisiensi transformasi gen *VAR2* dalam genom protokorm dan *seedling*, mengetahui pengaruh pertumbuhan *seedling* dan protokorm *P. amabilis* dengan penambahan vitamin C dan mengetahui fenotip tanaman transforman hasil *genom editing* dengan *CRISPR/Cas9*. Hasil penelitian menunjukkan dengan penambahan Vitamin C pada pasca kokultivasi meningkatkan efisiensi transformasi dengan konsentrasi terbaik 15 ppm. Persentase efisiensi transformasi sebesar 1.2% pada protokorm. *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA105 yang membawa konstruksi T-DNA UBI::Cas9::U3::VAR2 di plasmid pRGEB32 terkonfirmasi masuk terintegrasi di dalam genom *P. amabilis* dan terjadi *genom editing* dengan CRISPR/Cas9 pada genom protokorm anggrek dengan adanya mutasi (insersi dan delesi) pada sekuens genom transforman ditunjukkan adanya perubahan warna dari hijau menjadi hijau kekuningan, dideteksi menggunakan RHS *colour chart* dan medium yang efektif untuk pertumbuhan tanaman transforman adalah dengan ½ NP + ZPT (0.5 ppm NAA: 1 ppm BA).

Kata Kunci: *P. amabilis*, CRISPR/Cas9, transformasi genetik, *varigata*

Genetic Engineering of Moth Orchids (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume) with CRISPR / Cas9 Genome Editing System

Sri Nopitasari
17/417047/PBI/01484

ABSTRACT

Genome editing engineering using CRISPR / Cas9 has evolved and begun to be used in plants, one of which is the orchid that is able to produce varieties with certain characters. Moth Orchid is a symbol of Indonesia, that much like because of the beauty of the flowers. Some orchids have a relatively long flowering time, so other superior and unique characters have begun to be developed by the CRISPR / Cas9 method, for example variegated plants as introduced genes that can be applied to functional genes. Varigata is caused by a recessive nuclear gene mutation that has white or yellow and green sectors in the leaf or chloroplasts and mitochondria mutations. This study aims to calculate the percentage efficiency of the transformation of the VAR2 gene in the protocorm and seedling genomes, determine the effect of *P. amabilis* seedling growth and protocorm with the addition of vitamin C and determine the phenotype of transformant plants from the genome editing with CRISPR / Cas9. The results showed the addition of Vitamin C in post-cultivation increased the efficiency of transformation with the best concentration of 15 ppm. Percentage of transformation efficiency of 1.2% on the protocorm. *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA105 which carries UBI T-DNA construction :: Cas9 :: U3 :: VAR2 in pRGEB32 plasmid confirmed to be integrated in the *P. amabilis* genome and editing genome with CRISPR / Cas9 in the orchid protocorm with mutation (insertion and insertion) deletion) in the transformant genome sequence showed a change in color from green to yellowish green, detected using the RHS color chart and an effective medium for the growth of transformant plants is $\frac{1}{2}$ NP + ZPT (0.5 ppm NAA: 1 ppm BA).

Keywords: *P. amabilis*, CRISPR/Cas9, genetic transformation, variegata