

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN TIM PENGUJI DISERTASI.....	i
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
Intisari.....	viii
<i>Abstract</i>	x
Daftar Singkatan.....	xi
BAB I. Pendahuluan.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Permasalahan.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Keaslian Penelitian.....	5
E. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II. Tinjauan Pustaka.....	7
A. Tinjauan Pustaka.....	7
1. Tanaman anggrek <i>Dendrobium capra</i> J.J.Smith.....	7
2. Kultur <i>in vitro</i> anggrek.....	8
3. Peranan zat pengatur tumbuh dalam induksi pembungaan.....	11
4. Teknologi <i>genome editing</i> CRISPR/Cas9.....	18
B. Landasan Teori.....	28
C. Hipotesis.....	30
BAB III. Metode Penelitian.....	31
A. Bahan.....	31
B. Alat.....	32
C. Cara kerja.....	32
D. Analisis data.....	47
BAB IV. Hasil Penelitian dan Pembahasan.....	49
1. Perkecambahan <i>in vitro</i> <i>D. capra</i>	49
2. Induksi pembungaan <i>D. capra</i> dengan zat pengatur tumbuh.....	58
3. Isolasi dan kloning gen <i>GAI</i> pada <i>D. capra</i>	64
4. <i>Screening</i> hasil <i>genome editing</i> gen <i>GAI</i> pada genom <i>D. capra</i>	72
BAB V. Pembahasan Umum.....	78
BAB VI. Simpulan dan Saran.....	84
A. Simpulan.....	84
B. Saran.....	84
BAB VII. Ringkasan.....	86
Daftar Pustaka.....	91
Lampiran.....	102

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Variasi komponen medium untuk induksi pembungaan <i>in vitro</i> pada berbagai jenis anggrek.....	5
Tabel 2.	Kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan untuk induksi pembungaan <i>D. capra</i>	35
Tabel 3.	Komposisi reaksi PCR untuk amplifikasi gen <i>GAI</i>	36
Tabel 4.	Komposisi reaksi <i>A-tailing</i> gen <i>GAI</i>	38
Tabel 5.	Komposisi reaksi kloning dengan metode Gateway.....	38
Tabel 6.	Komposisi reaksi restriksi pRGEB32 dengan enzim <i>BsaI</i> -HF.....	41
Tabel 7.	Komposisi reaksi ligasi oligo sgRNA pada vektor pRGEB32.....	42
Tabel 8.	Komposisi <i>mix</i> PCR untuk amplifikasi gen <i>GAI</i>	47
Tabel 9.	Pertumbuhan eksplan <i>D. capra</i> pada medium MS dengan variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh.....	59
Tabel 10.	Sekuen primer yang digunakan untuk isolasi gen <i>GAI</i>	65
Tabel 11.	Daftar oligo yang digunakan untuk mendesain sgRNA.....	73
Tabel 12.	Daftar primer yang digunakan untuk amplifikasi transforman.....	74
Tabel 13.	Jumlah peristiwa mutasi pada sekuen target transforman.....	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Tanaman <i>Dendrobium capra</i> J.J. Smith.....	8
Gambar 2.	Empat jalur pembungaan utama pada tanaman.....	13
Gambar 3.	Struktur dari DELLA <i>family</i>	15
Gambar 4.	Peranan DELLA dalam regulasi respon tanaman <i>Arabidopsis</i> terhadap giberelin.....	16
Gambar 5.	Mekanisme molekular eliminasi pengaruh represi DELLA melalui proteolisis dan proteolisis independen.....	17
Gambar 6.	Mekanisme kerja pada CRISPR/Cas9.....	19
Gambar 7.	Mekanisme <i>repair</i> yang dapat terjadi setelah <i>genome editing</i> dengan CRISPR/Cas9.....	22
Gambar 8.	Mekanisme HDR melalui SDSA dan DSBR.....	24
Gambar 9.	Mekanisme HDR melalui BIR.....	25
Gambar 10.	Plasmid pCR TM 8/GW/TOPO [®] (Invitrogen) yang digunakan untuk kloning gen <i>GAI</i>	37
Gambar 11.	Plasmid pRGE32 yang digunakan untuk <i>genome editing</i> dan titik pengenalan <i>BsaI</i> untuk insersi gRNA.....	41
Gambar 12.	Morfologi tanaman anggrek <i>D. capra</i> yang digunakan sebagai sumber eksplan.....	50
Gambar 13.	Perkecambahan biji <i>D. capra</i> secara umum pada semua jenis medium...	51
Gambar 14.	Persebaran fase perkembangan embrio pada <i>D. capra</i> secara umum pada semua jenis medium.....	54
Gambar 15.	Pengaruh variasi konsentrasi air kelapa (NPCW) dan tomat (NPTE) terhadap ukuran embrio <i>D. capra</i>	56
Gambar 16.	Dinamika pertumbuhan planlet <i>D. capra</i> pada medium dengan variasi zat pengatur tumbuh.....	60
Gambar 17.	Pembungaan <i>D. capra</i> secara <i>in vitro</i> pada bulan ke 11.....	61
Gambar 18.	Isolasi dan kloning gen <i>GAI</i> pada <i>D. capra</i>	67
Gambar 19.	Sekuen nukleotida <i>GAI</i> dari <i>D. capra</i>	69
Gambar 20.	<i>Alignment</i> sekuen <i>GAI</i> hasil amplifikasi dari genom <i>D. capra</i>	70
Gambar 21.	Desain sgRNA yang digunakan sebagai target <i>genome editing</i> pada gen <i>GAI D. capra</i>	73
Gambar 22.	Amplifikasi fragmen gen <i>GAI</i> pada transforman <i>D. capra</i>	74
Gambar 23.	Analisis produk PCR menggunakan MultiNA.....	75
Gambar 24.	Hasil sekuensing gen <i>GAI</i> transforman.....	76