

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan Penelitian	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Keaslian Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	
2.1 Tinjauan Pustaka	6
2.1.1 Padi Hitam dan Manfaatnya	7
2.1.2 Transformasi Genetik	10
2.1.3 Vektor dalam Transformasi Gen	14
2.1.4 Embriogenesis Somatik	16
2.1.5 <i>OsRKD4</i> (<i>RWP-RK Domain 4</i>)	21
2.2 Landasan Teori	25
2.3 Hipotesis	26
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	28
3.2 Alat dan Bahan	28
3.3 Cara Kerja	30
3.3.1 Pembuatan Sel Kompeten dan Transformasi Plasmid	30
3.3.2 Skrining sel <i>E. coli</i> Transforman dengan Koloni PCR	32
3.3.3 Isolasi Plasmid dan Skrining Gen <i>OsRKD4</i>	33
3.3.4 Pembuatan Sel Kompeten <i>Agrobacterium</i> EHA105 dan Transformasi Plasmid ke <i>Agrobacterium</i>	34
3.3.5 Inisisasi Kalus	35
3.3.6 Infeksi <i>Agrobacterium</i> dan Seleksi Kandidat Kalus Transforman	36
3.3.7 Isolasi DNA dan RNA Kalus untuk Skrining Kalus Transforman	37
3.3.8 Pembuatan Preparat Kalus Transforman dan Non Transforman	39
3.3.9 Regenerasi Kalus Transforman dan Skring Tanaman Transgenik	40
3.3.10 Induksi Ekspresi <i>OsRKD4</i> Menggunakan Dexamethasone	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Transformasi Plasmid ke <i>E.coli</i> DH5 α	42



4.2	Pembuatan Sel Kompeten <i>Agrobacterium tumefaciens</i> EHA105 dan Transformasi Plasmid ke <i>Agrobacterium</i>	44
4.3	Inisiasi Kalus Padi Hitam (<i>Oryza sativa</i> L. ‘Cempo Ireng’)	45
4.4	Infeksi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> EHA105 ke dalam Kalus Padi Hitam (<i>Oryza sativa</i> L. ‘Cempo Ireng’)	47
4.5	Skrining Kalus Transforman dengan Teknik PCR	50
4.6	Pengamatan Anatomi kalus Kandidat Transforman	52
4.7	Regenerasi Kalus Transforman Menjadi Plantlet	53
4.8	Induksi Ekspresi <i>OsRKD4</i> Menggunakan Dexamethasone	55
4.9	Aklimatisasi Tanaman Transforman	57
4.10	Skrining Tanaman Putative Transforman (Generasi T0)	59
BAB V KESIMPULAN DAN REKOMENDASI		
5.1	Kesimpulan	62
5.2	Rekomendasi	62
DAFTAR PUSTAKA		64
LAMPIRAN		70



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

**OVEREKSPRESI GEN *OsRKD4* PADA PADI HITAM (*Oryza sativa* L.
Ã¢ï¿½ï¿½Cempo
IrengÃ¢ï¿½ï¿½) UNTUK INDUKSI
EMBRIOGENESIS**

ANISA NAZERA FAUZIA, Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si; Dr. Tri Rini Nuringtyas, M. Sc
Universitas Gadjah Mada, 2017 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Media yang Digunakan	29
Tabel 2. Primer yang digunakan untuk amplifikasi gen <i>OsRKD4</i> dan <i>HPT</i>	30
Tabel 3. Komposisi Reaksi PCR	33
Tabel 4. Siklus Reaksi PCR Gen <i>OsRKD4</i>	33
Tabel 5. Komposisi Bahan RT-PCR	39
Tabel 6. Program Reaksi RT-PCR	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Padi Cempo Ireng	8
Gambar 2. Mekanisme transfer gen pada tanaman menggunakan <i>Agrobacterium</i>	13
Gambar 3. Plasmid pTA7002	16
Gambar 4. Tahapan/fase embriogenesis	20
Gambar 5. Overekspresi <i>AtRKD4</i> pada <i>Arabidopsis thaliana</i>	23
Gambar 6. Jalur ekspresi gen-gen yang mengatur proliferasi dan kematian sel selama embriogenesis	24
Gambar 7. <i>RKD4</i> sebagai faktor transkripsi pada embriogenesis memicu pembentukan kalus	25
Gambar 8. Konstruksi T-DNA plasmid pTA7002	30
Gambar 9. Koloni hasil transformasi plasmid ke <i>E. coli</i> dan hasil elektroforesis	43
Gambar 10. Hasil isolasi plasmid dan PCR plasmid	44
Gambar 11. Koloni hasil transformasi dan koloni PCR	45
Gambar 12. Morfologi pertumbuhan kalus padi Cempo Ireng hari ke 0-6	46
Gambar 13. Kurva pertumbuhan kalus Cempo Ireng	47
Gambar 14. Kalus di medium 2N6 C setelah ko-kultivasi	49
Gambar 15. Kalus di medium seleksi (2N6-C dan higromisin)	49
Gambar 16. Kalus kandidat transforman di medium 2N6-C	49
Gambar 17. Deteksi gen <i>OsRKD4</i> dan <i>HPT</i> pada DNA kalus transforman	50
Gambar 18. Deteksi gen <i>OsRKD4</i> dan <i>HPT</i> pada RNA kalus transforman	51
Gambar 19. Preparat kalus kandidat transforman	52
Gambar 20. Kalus di medium regenerasi	54
Gambar 21. Kalus di medium N6+DEX	56
Gambar 22. Kalus di medium N6 tanpa DEX	56
Gambar 23. Inisiasi akar tanaman transforman	57
Gambar 24. Aklimatisasi tanaman transforman	58
Gambar 25. Deteksi gen <i>OsRKD4</i> dan <i>HPT</i> pada DNA tanaman transforman	60
Gambar 26. Deteksi gen <i>OsRKD4</i> dan <i>HPT</i> pada RNA tanaman transforman	61



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

**OVEREKSPRESI GEN *OsRKD4* PADA PADI HITAM (*Oryza sativa* L.
Ã¢ï¿½ï¿½Cempo
IrengÃ¢ï¿½ï¿½) UNTUK INDUKSI
EMBRIOGENESIS**

ANISA NAZERA FAUZIA, Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si; Dr. Tri Rini Nuringtyas, M. Sc
Universitas Gadjah Mada, 2017 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Deskripsi padi hitam Cempo Ireng	70
Lampiran 2. Uji kematian kalus terhadap antibiotik higromisin	71
Lampiran 2. Komposisi medium N6 <i>powder</i> dan MS <i>powder pack</i>	72
Lampiran 3. Sekuens gen <i>OsRKD4</i> dan posisi penempelan primer	73