

## **PEMBUATAN KONSTRUKSI CRISPR/Cas9 UNTUK MUTASI GEN *SLENDER RICE1* PADA PADI HITAM (*Oryza sativa* L. ‘Cempo ireng’)**

**Rosy Feraningsih Patigu**  
**18/432406/PBI01564**

### **INTISARI**

Padi merupakan salah satu makanan pokok yang paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat dunia dibandingkan gandum dan jagung. Padi hitam cempo ireng memiliki banyak khasiat terhadap kesehatan salah satunya adalah kandungan antosianin. Besarnya manfaat padi hitam mengakibatkan meningkatnya permintaan masyarakat terhadap ketersediannya. Salah satu kendala produksi beras hitam adalah masa panen yang relatif lebih lama. Masa panen yang lama berkorelasi dengan masa pembungaan padi hitam yang salah satunya diregulasi oleh jalur giberelin dengan adanya gen *SLENDER RICE1* (*SLR1*). Penelitian ini bertujuan untuk mendesain konstruksi plasmid yang akan digunakan untuk mengedit *SLR1* dengan metode *CRISPR-Cas9*, sehingga diharapkan terjadinya mutasi pada urutan basanya menghasilkan padi yang memiliki masa pembungaan relatif lebih cepat. Penelitian ini diawali dengan mendesain sekuen *single guide* RNA dengan *CHOPCHOP web tool* untuk penyuntingan genom. Selanjutnya *sgRNA* dipotong dan diligasikan ke dalam plasmid pRGEB32 dan ditransformasikan ke dalam bakteri *Escherichia coli*. Stabilitas *sgRNA* didalam plasmid pRGEB32 dianalisis menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang divisualisasikan dengan elektroforesis. Selanjutnya analisis kualitatif dilakukan dengan sekuensing. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat *sgRNA* pada hasil sekuensing. Kestabilan *sgRNA* didalam vektor pRGEB32 belum terkonfirmasi di dalam koloni bakteri *Escherichia coli* generasi pertama.

Kata kunci: *sgRNA*, Transformasi, *Escherichia coli*

## ESTABLISHMENT OF CRISPR/Cas9 FOR *SLENDER RICE1* GENE MUTATION ON BLACK RICE (*Oryza sativa* L. ‘Cempo ireng’)

**Rosy Feraningsih Patigu**  
**18/432406/PBI01564**

### Abstract

Rice is one of the main staple foods that most consumed in the world rather than wheat and corn. Black rice ‘cempo ireng’ has anthocyanin content. This characteristic makes high demand for black rice but unfortunately unparaleled with their productivity. One of the reasons of that issue is long harvesting period that related to the flowering period, which regulated by *SLENDER RICE1* gene in gibberellin pathway. This research aims to analyse the plasmid construction design that will be used in the CRISPR-Cas9 method. This research was initiated by designing sgRNA sequences with CHOPCHOP web tool for genome editing. Furthermore, the sgRNA was cut and ligated into the plasmid pRGEB32 and transformed into *Escherichia coli*. The stability of sgRNA in the pRGEB32 plasmid was analyzed using *Polymerase Chain Reaction* (PCR) which was visualized by electrophoresis. Furthermore, qualitative analysis was carried out by sequencing. The sequencing findings revealed that there was no sgRNA present in first generation *Escherichia coli*, the stability of sgRNA in the pRGEB32 vector has not been confirmed.

Keyword : sgRNA, Transformation, *Escherichia coli*