

BAB V KESIMPULAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa transformasi p53 yang membawa fragmen Cas9 ke *Agrobacterium tumefaciens* telah berhasil dilakukan menggunakan metode *freeze thawing* yang telah dimodifikasi. Keberhasilan transformasi dikonfirmasi berdasarkan hasil amplifikasi bakteri *Agrobacterium tumefaciens* menggunakan primer spesifik dan *in-out*. Adapun modifikasi yang dilakukan yaitu pada teknik beku-dicairkan, dimana sampel diinkubasi pada kulkas -80°C selama 24 jam, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit.

Selanjutnya transformasi *Agrobacterium tumefaciens* yang membawa plasmid p53/Cas9 ke kalus cabai telah berhasil dilakukan dengan metode perendaman kalus pada suspensi bakteri. Keberhasilan transformasi ini dikonfirmasi berdasarkan hasil amplifikasi kalus transforman menggunakan primer spesifik dan *in-out*.

B. Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya diperlukan analisis lanjutan pada kalus transforman dan non transforman, sehingga kesulitan kalus transforman untuk beregenerasi dapat diidentifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidawati, N. 2001. Kisaran Inang Geminivirus Asal Tanaman Cabai dari Guntung Payung, Kalimantan Selatan [abstrak]. Di dalam: Perhimpunan Fitopatologi Indonesia. Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah; Bogor, 22-24 Agustus 2001. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Aisyah, S.N., Syukriani, L., Asben, A., dan Jamsari, J. 2016. PCR-Based Cloning of Pre Coat Protein (V2) Gene Pepper Yellow Leaf Curl Virus From Chilli Pepper (*Capsicum annum* L.) Res. *Journal of Pharmaceutica Biology and Chemistry Sains*. 2268-2273.
- Bakti, A. 2018. Balitbangtan Siapkan Cabai Tahan Virus Gemini. <http://biogen.litbang.pertanian.go.id/2018/06/balitbangtan-siapkan-cabai-tahan-virus-gemini/> (Diakses pada tanggal 20Juni 2020).
- Borah, P. 2011. Primer Designing for PCR. *Science Vision*. 134-136.
- Brown, T.A. 2006. *Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction*. Fifth edition. Wiley Blackwell. 408
- Budaya, M. S., Mursyanti, E., dan Yuda, P. 2022. Transformasi Genetik pada Kalus Embriogenik Tanaman Suku Rubiaceae. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 94-107.
- Callaway, E. 2015. DNA Clock Proves Tough to Set. *Nature*.139-140.
- Carroll, D. 2013. *Recombinant DNA*. 79–80 in *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*. 79-80.
- Capecchi, M. R. 2005. Gene targeting in Mice: Functional Analysis of The Mammalian Genome for The Twenty-First Century. *Nature Reviews Genetics*. 507–512.
- Cheng, M., Hu, T., Jeanne, L., Chong-Nong, L., dan Joyce, E. F. 2003. Dessition of Plant Tissues Post Agrobacterium Infection Enhances T-DNA Delivery and Increase Stable Transformation Efficiency In Wheat. *In Vitro Cell. Dev. Biology Plantation*. 595-604.
- Christian, M., T. Cermak, E. L. Doyle, C. Schmidt, F. Zhang, A. Hummel, A. J. Bogdanove, dan D. F. Voytas. 2010. Targeting DNA Double-Strand Breaks with TAL Effector Nucleases. *Genetics*.756–761.
- Datsenko, K. A., Pougach, K., Tikhonov, A., Wanner, B. L., Severinov, K., dan Semenova, E. 2012. Molecular Memory of Prior Infections Activates The CRISPR/Cas Adaptive Bacterial Immunity System. *Nature Communications*. 1–7
- Duriat, A. S. 2009. *Pengendalian Penyakit Kuning Keriting Pada Tanman Cabai Kecil*. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Bandung. 43-45.

- Dwiyani, R., Yuswanti, H., Darmawati, I. A. P., dan Mayadewi, N. N. A. 2016. *Transformasi Genetik Pada Tanaman*. Denpasar: Swasta Menulis. 75.
- Fatchiyah, F. 2005. PCR: *Dasar Teknik Amplifikasi DNA dan Aplikasinya*. <http://fatchiyah.lecture.ub.ac.id/teaching-responsibility/general/dna-isolation/>. (Diakses pada tanggal 10 Maret 2023)
- Francis, K. E. dan Spiker, S. 2005. Identification of *Arabidopsis thaliana* Transformants without Selection Reveals A High Occurrence of Silenced T-DNA Integrations. *The Plant Journal*. 464-477.
- Gelvin, S. B. 2003. *Agrobacterium*-Mediated Plant Transformation: The Biology Behind The “Gen-Jockeying” Tool. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 16-37.
- George, E. F., Hall, M. A., dan De Klerk, G. J. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition. *The Netherland, The Back Ground Springer*.
- Gonsalves, D. 2002. Transgenic Papaya: A Case Study on The Theoretical and Practical Application of Virus Resistance. *Plant Biotechnology 2002 and Beyond Springer*. 115-118.
- Hasyim, A., Setiawati, W., dan Lukman, L. 2015. Inovasi Teknologi Pengendalian OPT Ramah Lingkungan pada Cabai: Upaya Alternatif Menuju Ekosistem Harmonis. *Pengembangan Inovasi Pertanian*. 1-10.
- Hickman-Davis, J. M., dan Davis, I. C. 2006. Transgenic Mice. *Paediatric Respiratory Reviews*. 49–53.
- Hutami, S., Mariska, I. Dan Supriati, Y. 2016. Peningkatan Keragaman Genetik Tanaman melalui Keragaman Somaklonal. *Jurnal AgroBiogen*. 81-88.
- Jamir, S., Maiti, C. S., dan Wailing, I. 2019. Planlet Regeneration of Naga King Chilli (*Capsicum chinese* JACQ) from Nodal Segments through In Vitro Technique. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 553-558.
- Jamsari, J. 2013. *Rekayasa Genetika untuk Analisis Genom dan Produksi Organisme Transgenik*. Pekanbaru: UR Press. 418 hal.
- Jamsari, J., dan Pedri, J. 2013. Complete Nucleotide Sequence of DNA A-like Genome and DNA- β of Monopartite Pepper Yellow Leaf Curl Virus, A Dominant *Begomovirus* Infecting *Capsicum annuum* in West Sumatera Indonesia. *Asian Journal of Plant Pathology*. 1-14.
- Jena, R. C., Samal, K. C., dan Das, B. K. 2010. Optimization of DNA Isolation and PCR Protocol for RAPD Analysis of *Mangifera indica* L. *Journal of Agricultural Technology*. 559-571.
- Junairiah, J., Sofiana, D. A., Manuhara, Y. S. W., dan Surahmaida, S. 2018. Induksi Kalus *Piper retrofractum* Vahl. Dengan Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Sitokinin. *Journal of Pharmacy and Science*. 2549-3558.

- Karjadi, A. K., dan Buchory, A. 2008. Pengaruh Auksin dan Sitokinin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Jaringan Mersitem Kentang Kultivar Granola. *Jurnal Hortikultura*. 380-384.
- Kerven, G.L., Asher, C.J, Edwards, D.G. dan Ostatek, B.Z. 1991. Sterile solution culture techniques for aluminium toxicity studies involving organic acids. *Journal Plant Nutrition*. 975-986.
- Kim, H., dan Lim, J. 2019. Leaf-Induced Callus Formation in Two Cultivars: Hot Pepper 'CM334' and Bell Pepper 'Dempsey'. *Plant Signalling & Behaviour*. 1604016.
- Koetle, M. J., Finnie, J. F., Balázs, E., dan Van Staden, J. 2015. A review on factors affecting the Agrobacterium-mediated genetic transformation in ornamental monocotyledonous geophytes. *South African Journal of Botany*. 37-44.
- Kumar, A. O., Subba Tatta, S., dan Rupavati, T. 2010. In Vitro Induction of Callusogenesis of Chilli Peppers (*capsicum annum*, L.). *International Journal of Current Research*. 042-045.
- Kumar, S., Mehta, N., Singh, J. K, Kumar, M., dan Kumar, A. 2017. A Protocol for Callus Induction in Chilli Genotype from Hypocotyls as Explant. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. 4937-4942 .
- Lestari, E. G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakkan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. 63-68
- Manzila, I., Hidayat, S. H., Mariska, I., dan Sujiprihati, S. 2010. Pengaruh Perlakuan *Ethyl Methane Sulfonate* pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum* L.) dan Ketahanannya terhadap *Chilli Veinal Mottle Virus* (ChiVMV). *Jurnal Agronomi Indonesia*. 205-211.
- Mardini, I., Zahrani, A., Pane, E. R., dan Wijayanti, F. 2022. Desain Primer Gen Cytochrome Oxidase Subunit I (Cox1) Secara in Silico Untuk Mengidentifikasi Cemaran Daging Babi (*Sus Scrofa*). In *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan*. 364-375.
- Mardhiyetti, Z. S., Jamarun, N., dan Suliansyah, I. 2015. Pengaruh BAP (Benzil Adenin Purin) Dan Naa (Naphthalen Acetic Acid) Terhadap Eksplan Tanaman Turi (*Sesbania grandiflora*) dalam Media Multiplikasi In Vitro. *Vitro. Pasture*. 35-38.
- Margareta, M. 2004. Transgenic Resistance to Pathogenes and Pests. [Disertasi]. Departement of Crop Science, SLU. Acta Universitatis Agriculturae Suecia. Agraria.
- Matthews, R. 2012. *Fundamentals of Plant Virology*. United Kingdom: Academic Press. 387.

- Miransari, M., dan Smith, D. L. 2014. Plant Hormones and Seed Germination. *Environmental and Experimental Botany*. 99. 110–121.
- Nurhasanah, N, Wattimena, G. A, Purwito, A, Wiendi, N. M. A, dan Suharsono, S. 2003. Transformasi Genetik Tanaman Kentang CV. Atlantik dengan Mengintroduksi Gen Hordothionin untuk Mendapatkan Ketahanan terhadap Penyakit Bakteri. *Indonesian Journal of Agronomy*. 31
- Okkels, F.T. dan Pedersen, M.G. 1988. The toxicity to plant tissue and to *Agrobacterium tumefaciens* of some antibiotics. *Acta Horticultura*. 199-207.
- Pardal, S. J., Ika, M., Lestari, E. G., dan Slamet, S. 2004. Regenerasi Tanaman dan Transformasi Genetik Salak Pondoh untuk Rekayasa Buah partenokarpi. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*.
- Padlamantha, K., dan Prasad, M. N. V. 2006. Optimization of DNA Isolation and PCR Protocol for RAPD Analysis of Selected Medicinal and Aromatic Plants of Conservation Concern From Peninsula India. *African Journal of Biotechnology*. 230-234.
- Phillips, G. C., dan Garda, M. 2019. Plant Tissue Culture Media dan Practices: an Overview. *In Vitro Cellular and Development Biology-Plant*. 242-257.
- Platt, R. J., Chen, S., Zhou, Y., Yim, M. J., Swiech, L., Kempton, H. R., Dahlman, J. E., Parnas, O., Eisenhaure, T. M., Jovanovic, M., Graham, D. B., Jhunjhunwala, S., Heidenreich, M., Xavier, R. J., Langer, R., Anderson, D. G., Hacohen, N., Regev, A., Feng, G., Sharp, P. A., dan Zhang, F. 2014. CRISPR- Cas9 knockin mice for genome editing and cancer modeling. *Cell*. 440– 455.
- Renfiyeni, R. 2015. *Studi Regenerasi In Vitro dan Transformasi Genetik Gen Coat Protein dan Beta Component Geminivirus melalui Agrobacterium tumefaciens pada Tiga Genotipe Cabai Merah (Capsicum annum L.)*. [Disertasi]. Padang. Program Pascasarjana. Universitas Andalas. 181.
- Riyadi, I. 2014. Media Tumbuh: Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh dan Bahan-bahan Lain. Materi disampaikan pada Pelatihan Kultur Jaringan Tanaman Perkebunan. BPBPI Bogor 19 – 23 Mei 2014.
- Rizwan, M., Sharma, R., Soni, P., Gupta, N. K., dan Singh, G. 2013. Regeneration Protocol for Chilli (*Capsicum annum L*) Variety Mathania. *Journal of Cell and Tissue Research*. 3513.
- Roy, A., Ghosh, S., Chaudhuri, M., dan Saha, P. K. 2008. Effect of different plant hormones on callus induction in *Gymnema sylvestris* R. Br. (Asclepiadaceae). *African Journal of Biotechnology*. 13.
- Ru, Z., Y, Lai., C, Xu., dan L, Li. 2013. Polyphenol Oxidase (PPO) In Early Stage of Browning of Phalaenopsis Leaf Explant. *Journal of Agricultural Science*. 57-64.

- Saeed, M. 2006. *The Role of A Geminiviral DNA β Satellite in Viral Pathogenicity and Movement*. [Dissertation]. Australia. Faculty of Sciences. University of Adelaide. 6-14.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., dan Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York. Cold Spring Harbor Laboratory Press.154.
- Sari, R. P., Melsandi, M., Fransiska, N., dan Fauzi, A. 2018. Hormon Auksin dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Cabai Rawit (*Capsicum frutescens*) dan Cabai Keiriting (*Capsicum annum*). Di dalam: Peran Biologi dan Pendidikan Biologi dalam Revolusi Industri 4.0 dan Mendukung Pencapaian Sustainability Development Goal's (SDGs). Prosiding Seminar Nasional IV Pendidikan Biologi.
- Sasmitha, L. V., Yustiantara, P. S., Yowani, S. C., MDR-TB, K. S., dan Jimbaran, B. 2018. Desain DNA primer secara in silico sebagai pendeteksi mutasi gen *gyrA* *Mycobacterium tuberculosis* untuk metode polymerase chain reaction. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. 8: 63-69.
- Sasmito, D. E. K., Kurniawan, R., dan Muhimmah, I. (2014). Karakteristik primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk sekuensing DNA: mini review. In *Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed)*. 93-102.
- Satria, D. B. R., Sugiharto, B., dan Restanto, D. P. 2015. Transformasi Gen SoSPS1 Menggunakan Vektor *Agrobacterium tumefaciens* dan Eksplan Tunas Apikal Padi *Indica* cv. Inpari 14 SS. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa Tahun 2015.
- Satyavathi, V.V., Jauhar, P.P, Elias, E.M., dan Rao, M.B. 2004. Genomics, Molecular Genetic and Biotechnology Effects of Growth Regulators on *In Vitro* Plant Regeneration. *Crop Science*.1839-1846.
- Silva, J. D., dan Fukai, S. 2001. The impact of carbenicillin, cefotaxime and vancomycin on chrysanthemum and tobacco TCL morphogenesis and *Agrobacterium* growth. *Journal Application Horticultura*. 3-12.
- Sisharmini, A., Purwoko, B. S., Khumaida, N., dan Trijatmiko, K. R. 2018. Optimasi konsentrasi asetosiringon dan higromisin dalam transformasi genetik padi fatmawati dengan perantara *Agrobacterium tumefaciens*. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*. 223-230.
- Sukanto, S., Kon, T., Hidayat, S. H., Ito, K., Hase, S., Takahashi, H., dan Ikegami, M. 2005. Begomoviruses Associated with Leaf Curl Disease of Tomato in Java, Indonesia. *Journal of Phytopathology*. 562-566.
- Sulandari, S. 2004. Karakterisasi Biologi, Serologi, dan Analisis Sidik Jari DNA Virus Penyebab Penyakit Kuning pada Tanaman Cabai. [Disertasi] Bogor. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Sulistyaningsih, E. 2007. Polymerase Chain Reaction (PCR): era baru diagnosis dan manajemen penyakit infeksi. *Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Jember*. 16-25.
- Syafriani, E. 2016. *Kloning Gen CI (Rep) Virusgemini ke dalam Escherichia coli BL21*. [Skripsi]. Padang. Program Studi Agroekoteknologi. Universitas Andalas. 181.
- Tran, N.T., dan Shanan-Mishra, N. 2015. Effect of antibiotic on callus regeneration during transformation of IR64 rice. *Biotechnology Report*. 143-149.
- Tripathi, L., Mwaka, H., Tripathi, J. N., dan Tushemereirwe, W. K. 2010. Expression of sweet pepper Hrap gene in banana enhances resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum*. *Molecular Plant Pathology*. 721-731.
- Tu, Q., Yin, J., Fu, J., Herrmann, J., Li, Y., Yin, Y., dan Zhang, Y. 2016. Room temperature electrocompetent bacterial cells improve DNA transformation and recombineering efficiency. *Scientific reports*. 1-8.
- Urnov, F. D., Miller, J. C., Lee, Y. L., Beausejour, C. M., Rock, J. M., Augustus, S., Jamieson, A. C., Porteus, M. H., Gregory, P. D., dan Holmes, M. C. 2005. Highly efficient endogenous human gene correction using designed zinc-finger nucleases. *Nature*. 646-651.
- Verma, S., Kumar, A. dan Modgil, M. 2023. Impact of cefotaxime and kanamycin on in vitro regeneration via *Agrobacterium* mediated transformation in apple cv. Red Chief. *Plant Physiology Report*.
- Verma, S., Dhiman, K., dan Srivastava, D. K. 2013. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of bell pepper (*Capsicum annuum* L. cv. California Wonder) with gus and npt-II genes. *International Journal of Advanced Biotechnology Research*. 397-403.
- Wetter, L. R., dan Constabel, F. 1991. Metode kultur jaringan tanaman. Edisi kedua, Penerbit ITB, Bandung. 1-13.
- Wise, A. A., Liu, Z., dan Binns, A. N. 2006. Three methods for the introduction of foreign DNA into *Agrobacterium*. *Agrobacterium protocols*. 43-54.
- Yusniwati. 2008. Galur Cabai Transgenik Toleran Kekeringan dengan Gen P5C5 Penyandi Enzim Kunci Biosintesis Prolina: Regenerasi dan Karakterisasi Regenerasi. [Disertasi]. Bogor. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. 199.
- Yustinadewi, P. D., Yustiantara, P. S., dan Narayani, I. 2018. MDR-1 gene 1199 variant primer design techniques in pediatric patient buffy coat samples with LLA. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*.

